

UNIVERSITÄT DER BUNDESWEHR MÜNCHEN
Fakultät für Elektrotechnik
(Energie- und Informationstechnik)

Hochempfindliche akustische Sensorelemente für die Flüssigkeits- und Biosensorik

Erich Josef Uttenthaler

| | |
|---|-------------------------------|
| Vorsitzender des Promotionsausschusses: | Prof. Dr.-Ing. K. Landes |
| 1. Berichterstatter: | Prof. Dr. rer. nat. I. Eisele |
| 2. Berichterstatter: | Prof. Dr. rer. nat. H. Wolf |

Tag der Prüfung: 26.3.2002

Mit der Promotion erlangter akademischer Grad:
Doktor-Ingenieur
(Dr.-Ing.)

Neubiberg, den 1. Juni 2002

Buchveröffentlichung erschienen im Herbert Utz Verlag 2002

ISBN 3-8316-0132-1

Zusammenfassung

Akustische Sensoren reagieren äußerst empfindlich auf Änderungen der physikalischen Eigenschaften anliegender Schichten oder Flüssigkeiten mit einer Verstimmung ihrer Resonanzfrequenz. In dieser Arbeit wurden neuartige hochfrequente 39-110 MHz Schwingquarze (HFF), realisiert als „inverted mesa“-Strukturen, und 10 bzw. 19 MHz Standard-schwingquarze (QCM) sowie horizontal-polarisierte 69 bzw. 102 MHz Oberflächenwellensensoren (SAW), hergestellt in Dünnschichttechnologie, für die Flüssigkeits- und Biosensorik verwendet. Die Abhängigkeiten der Sensorsignale von wichtigen Einflüssen wie der Massenbelegung, der Viskosität, Dichte und Elastizität des anliegenden Mediums, der Stoffkonzentration, der Assoziations- und Dissoziationsrate, der Temperatur sowie des Fluiddruckes ebenso wie den geometrischen Abmessungen der Messzelle wurden experimentell und theoretisch betrachtet.

Motivation für diese Arbeit war es, neue Anwendungsfelder für akustische Sensoren zu erarbeiten, die Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu verbessern sowie Wege zur deutlichen Empfindlichkeitssteigerung aufzuzeigen.

Die Verwendung eines Fließinjektionsanalysesystems mit einer temperierbaren Wechselzelle sowie minimierten Sensormesskammern ermöglicht die weitgehende Eliminierung störender Viskositäts- und Temperatureinflüsse sowie eine Optimierung der Analytanlagerung. Die Beachtung wichtiger Designkriterien bei der Herstellung der Transducer ist für den späteren Einsatz in der Sensorik eine wichtige Voraussetzung. Ersatzschaltbildmodelle zur Sensormodellierung haben sich zur Berechnung der notwendigen Parameter für das Sensordesign bewährt.

Der Einsatz der Sensoren als Rheometer zeigte den erwarteten $\sqrt{\rho\eta}$ -Einfluss der Flüssigkeitsparameter für newtonsche Glycerinlösungen. Die Frequenzabhängigkeit der Viskosität und Elastizität, welche aus Relaxationseffekten in viskoelastischen Polyethylenglykollösungen resultiert, konnte durch Verwendung verschieden frequenter Sensoren untersucht werden. Der Federmodul von 10% PEG 35000 wurde zu etwa 10 MPa und die Relaxationszeit zu etwa 1 ns abgeschätzt. Akustische Sensoren, insbesondere druckunempfindliche SAW-Sensoren, ermöglichen im Gegensatz zu konventionellen Rheometern durch die miniaturisierte Bauweise und hohe Abtastfrequenz die kontinuierliche und kostengünstige Überwachung rheologischer Parameter.

In der Biosensorik konnte am Beispiel des Nachweises von Bakteriophagen in dieser Arbeit erstmals gezeigt werden, dass hochfrequente Schwingquarze aufgrund der hohen Empfindlichkeit für den Analytnachweis hervorragend geeignet sind. Die Nachweisgrenze konnte für 56 MHz HFF-Sensoren mit $5 \cdot 10^6$ Phagen/ml gegenüber Standardschwingquarzen um den Faktor 200 verbessert werden. Beim Nachweis großer Analyten, wie etwa der Legionella-Bakterien ist die geringe Eindringtiefe bei hohen Sensorfrequenzen nachteilig für den Messeffekt. Die Echtzeitdetektion biologischer Moleküle erlaubt, aus den Sensorsignalen in der Assoziations- und Dissoziationsphase auf die Affinität der komplementären Bindungspartner zu schließen. Untersuchungen mit Virusprotein 73 und komplementären Antikörpern lieferten eine Dissoziationskonstante von 170 nmol/l. Die Ergebnisse zeigen, dass akustische Sensoren vielversprechend in schnellen Screeningverfahren zur Beurteilung von Bindungseigenschaften eingesetzt werden können.

Summary

Acoustic sensors react very sensitive to changes of the physical properties of adjacent layers or fluids with a shift of their resonant frequency. A new quartz crystal variant, high fundamental frequency 39-110 MHz quartz crystals (HFF) realized as inverted mesa structures and standard 10 and 19 MHz quartz crystal microbalance sensors (QCM) as well as horizontally polarized 69 and 102 MHz surface acoustic wave sensors (SAW) fabricated in thin film technology were used throughout liquid and biosensing applications. The dependence of the sensor signals on important influences like mass accumulation, viscosity, density and elasticity of the adjacent medium, the analyte concentration, the association and dissociation rate, temperature and fluid pressure as well as the geometry of the fluid chamber was experimentally and theoretically investigated.

The motivation for this work was to demonstrate new application fields for acoustic sensors, to improve accuracy and comparability of the results and to indicate ways for improving sensor sensitivity.

The use of a flow injection analysis system with a temperature-stabilized plug-in mount in combination with minimized fluid chambers facilitates to a large extent the elimination of perturbing viscosity and temperature influences as well as optimization of the analyte adsorption. The observation of important design criteria in transducer development is a crucial prerequisite for the use in sensor applications. Appropriate equivalent circuits for sensor modeling proved their suitability for calculation of the necessary parameters for the sensor design.

The use of the sensors as rheometers showed the expected $\sqrt{\rho\eta}$ -influence of the liquid parameters of newtonian glycerol solutions. The frequency dependence of viscosity and elasticity resulting from relaxation effects in viscoelastic polyethylenglycol solutions was investigated by the use of sensors with different resonant frequencies. The high-frequency modulus of 10% PEG 35000 was found to be approximately 10 MPa and the relaxation period 1 ns. Acoustic sensors, especially pressure-insensitive SAW-sensors, in contrast to conventional rheometers allow for a continuous and cost saving control of rheological parameters due to the minimized set-up and high sampling rate.

In biosensing the excellent suitability of HFF-sensors for analyte detection could be shown for the first time in this work with the detection of bacteriophages due to the high sensitivity. The detection limit of 56 MHz HFF-sensors showed to be $5 \cdot 10^6$ phages/ml, which is an improvement by a factor of 200 compared to standard QCM sensors. The lower penetration depth of high frequent sensors is a drawback for sensitivity in the detection process of big analytes, like legionella-bacteria. The real time detection of biological particles allows to calculate the binding affinity of complementary binding partners from the frequency signals in the association and dissociation phase. Investigations with virus protein 73 and complementary antibodies produced a dissociation constant of 170 nmol/l. The results showed that acoustic sensors are a promising tool for the use in rapid screening procedures for evaluation of binding affinity.

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter im Bereich „Chemische Sensoren und Systeme“ des Fraunhofer-Instituts für Mikroelektronische Schaltungen und Systeme (IMS) München, ehemals Fraunhofer-Institut für Festkörpertechnologie, in den Jahren 1997 bis 2001.

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Herrn Prof. Dr. I. Eisele gilt mein besonderer Dank für die fachliche Betreuung dieser Dissertation an der Universität der Bundeswehr München und sein damit verbundenes stetiges Interesse und seine Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. H. Wolf vom Institut für Mikrobiologie und Hygiene des Klinikums Regensburg (RIMMH) danke ich für die Übernahme des Koreferats sowie für die sehr gute Zusammenarbeit mit seiner Forschungsgruppe im Bereich der Biosensorentwicklung.

Meinem Abteilungsleiter Dr. S. Drost danke ich für die Möglichkeit diese Dissertation in der Abteilung Chemische Sensoren und Systeme des Fraunhofer IMS München neben der Projektarbeit durchzuführen.

Besonders danken möchte ich auch meinem ehemaligen Gruppenleiter Dipl.-Phys. C. Kößlinger, der mich in das Gebiet der akustischen Sensorik eingeführt hat und stets für fruchtbare Diskussionen zur Verfügung stand sowie das Korrekturlesen dieser Arbeit übernommen hat. Herzlich gedankt sei allen Praktikanten, Diplomanden und Werkstudenten I. Biswas, M. Blask, M. Gotschy, C. Heise, M. Janko, J. Kastner, A. Lazic, J. Mandel, A. Nibu, S. Rieger sowie M. Schräml ohne deren Beiträge diese Dissertation nicht zustande gekommen wäre.

Allen Kollegen der Abteilung Chemische Sensoren und Systeme, den Mikrotechnologen Dipl.-Phys. A. Drost und Dipl.-Ing. U. Schaber sowie den Kollegen des RIMMH Dr. E. Prohaska und Dipl.-Biol. U. Schaible danke ich für sehr nützliche Diskussionen, eine sehr angenehme Arbeitsatmosphäre sowie die erfolgreiche Zusammenarbeit in gemeinsamen Projekten.

München im Mai 2002

Erich Uttenthaler*

* E-Mail: erich.uttenthaler@gmx.de

In lieber Erinnerung an meine Mutter

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|------------|
| Zusammenfassung | v |
| Summary | vi |
| Vorwort | vii |
| Inhaltsverzeichnis | xi |
| Kapitel 1 Einleitung | 1 |
| Kapitel 2 Theorie der akustischen Sensorelemente | 5 |
| 2.1 Der piezoelektrische Effekt | 5 |
| 2.2 Klassifizierung akustischer Sensorelemente..... | 6 |
| 2.2.1 Elastische Volumenwellen..... | 6 |
| 2.2.2 Oberflächenwellen | 7 |
| 2.2.3 Plattenmoden..... | 9 |
| 2.3 Der physikalische Messeffekt..... | 10 |
| 2.3.1 Schwingquarzsensoren..... | 10 |
| 2.3.2 Oberflächenwellenbauelemente..... | 12 |
| 2.4 Akustische Impedanz | 15 |
| 2.4.1 Definition der akustischen Impedanz | 15 |
| 2.4.2 Stehende und laufende akustische Wellen..... | 17 |
| 2.4.3 Impedanz einer viskoelastischen Schicht | 18 |
| 2.4.4 Impedanz einer idealen elastischen Schicht..... | 19 |
| 2.4.5 Impedanz einer viskoelastischen Flüssigkeit..... | 20 |
| 2.4.6 Newtonsche Flüssigkeiten | 22 |
| 2.5 Schwingquarzsensoren..... | 24 |
| 2.5.1 Akustische Lasten | 24 |
| 2.5.2 Schichtsysteme..... | 25 |
| 2.5.3 Flüssigkeitslasten | 27 |
| 2.6 Oberflächenwellensensoren | 29 |
| 2.6.1 Akustische Lasten | 29 |

| | | |
|------------------|--|-----------|
| 2.6.2 | Flüssigkeitslasten | 30 |
| 2.6.3 | Schichtsysteme | 32 |
| 2.7 | Empfindlichkeiten | 36 |
| Kapitel 3 | Modellierung des Transducerverhaltens | 39 |
| 3.1 | Schwingquarzsensoren | 39 |
| 3.1.1 | Akustisches Ersatzschaltbild nach Mason | 40 |
| 3.1.2 | Ersatzschaltbild für den freien Quarz | 42 |
| 3.1.3 | Ersatzschaltbild für einen Quarzresonator mit Last | 44 |
| 3.1.4 | Modellrechnungen | 45 |
| 3.1.5 | Modenspektrum | 49 |
| 3.1.6 | Laterale Empfindlichkeitsverteilung | 51 |
| 3.2 | Oberflächenwellenbauelemente | 52 |
| 3.2.1 | Interdigitaltransducer | 52 |
| 3.2.2 | Elektrische Anregung einer akustischen Welle | 53 |
| 3.2.3 | Übertragungsstrecke | 55 |
| 3.2.4 | Elektrisches Ersatzschaltbild des SAW | 56 |
| 3.2.5 | Reflektierte Volumenwellen | 58 |
| 3.2.6 | Modellrechnungen | 59 |
| 3.3 | Diskussion | 63 |
| Kapitel 4 | Sensorelemente und Messmethodik | 65 |
| 4.1 | Schwingquarzsensoren | 65 |
| 4.1.1 | Aufbau der Schwingquarze | 65 |
| 4.1.2 | Mikrotechnologische Herstellung | 67 |
| 4.2 | Oberflächenwellensensoren | 69 |
| 4.2.1 | Sensordesign | 69 |
| 4.2.2 | Mikrotechnologische Herstellung | 70 |
| 4.3 | Elektrische Messmethoden | 71 |
| 4.3.1 | Impedanzmessung | 71 |
| 4.3.2 | Übertragungsmessung | 73 |
| 4.3.3 | Oszillatormethode | 75 |
| 4.4 | Fließinjektionsanalyse und Messsystem | 78 |
| 4.5 | Akustische Sensorelemente als Immunoassay | 80 |
| 4.5.1 | Immunreaktion | 81 |
| 4.5.2 | Immobilisierungsmethoden | 83 |
| 4.6 | Immunologische Analyseverfahren | 85 |
| 4.6.1 | Etablierte Methodik – ELISA | 85 |
| 4.6.2 | Realzeitmethoden der instrumentellen Analytik | 86 |
| 4.7 | Adsorptionskinetik und Detektionsgrenze | 88 |
| 4.7.1 | Adsorption und Desorption | 88 |
| 4.7.2 | Gleichgewichtskinetik | 89 |
| 4.7.3 | Detektionsgrenze | 91 |

| | | |
|------------------|--|------------|
| Kapitel 5 | Störeinflüsse | 93 |
| 5.1 | Baelementspezifische Einflüsse | 94 |
| 5.1.1 | Quarzresonatoren | 96 |
| 5.1.2 | Oberflächenwellenbauelemente | 97 |
| 5.2 | Äußere physikalische Einflüsse | 101 |
| 5.2.1 | Temperatureinfluss | 101 |
| 5.2.2 | Einfluss des Fluiddrucks | 105 |
| 5.3 | Systembedingte Störeinflüsse | 107 |
| 5.3.1 | Diffusion und Konvektion des Analyten | 107 |
| 5.3.2 | Kompressionswellen in der Flüssigkeitszelle | 110 |
| 5.4 | Diskussion | 113 |
| Kapitel 6 | Flüssigkeitscharakterisierung | 115 |
| 6.1 | Newtonsche Flüssigkeiten | 115 |
| 6.1.1 | Konzentrationsabhängigkeit – Gesetz von Kanazawa | 117 |
| 6.1.2 | Frequenzabhängigkeit | 120 |
| 6.2 | Viskoelastische Flüssigkeiten | 122 |
| 6.2.1 | Konzentrationsabhängigkeit und Verlustwinkel | 123 |
| 6.2.2 | Relaxationseffekte | 128 |
| 6.2.3 | Modelrechnungen zum Maxwellmodell | 129 |
| 6.3 | Diskussion | 133 |
| Kapitel 7 | Akustische Sensoren als Biosensoren | 135 |
| 7.1 | Nachweis von M13-Bakteriophagen | 136 |
| 7.1.1 | Empfindlichkeitssteigerung beim Phagennachweis | 137 |
| 7.1.2 | Bewertung von SAW- und HFF-Sensoren | 140 |
| 7.2 | Viskoelastisches Verhalten von Antikörperschichten | 142 |
| 7.2.1 | Antikörpermultilayer | 142 |
| 7.2.2 | Eindringtiefe für Antikörperschichten | 146 |
| 7.2.3 | Bewertung | 147 |
| 7.3 | Belegungsdichte und Stabilität der Rezeptorschicht | 148 |
| 7.3.1 | Belegungsdichte | 148 |
| 7.3.2 | Stabilität der Rezeptorschicht | 149 |
| 7.4 | Bakteriennachweis mit akustischen Sensoren | 151 |
| 7.4.1 | Nachweis von Legionella pneumophila | 152 |
| 7.4.2 | Betrachtung der Sensorempfindlichkeit | 153 |
| 7.4.3 | Bewertung des Bakteriennachweises | 154 |
| 7.5 | Bestimmung von Bindungsaffinitäten | 155 |
| 7.6 | Antikörpernachweis in Blutserum | 158 |
| 7.7 | Diskussion | 161 |
| Kapitel 8 | Diskussion und Ausblick | 163 |
| Anhang A | Piezoelektrische Eigenschaften von Quarz | 167 |

| | |
|--|------------|
| Anhang B Simulationsprogramm für SAW-Sensoren | 172 |
| Anhang C Polyethylenglykollösungen | 174 |
| Anhang D Chemikalien und Bioreagenzien | 175 |
| Anhang E Abkürzungen und Symbole | 177 |
| Literaturverzeichnis | 181 |

Kapitel 1

Einleitung

Schwingquarze und Oberflächenwellenbauelemente sind in allen elektronischen Geräten, die stabile Frequenzen benötigen, weitverbreitete Bauelemente. Deshalb finden sie in Funk-, Radioanlagen, Quarzuhren und anderen Geräten Verwendung. Wegen der weiten Verbreitung sind diese frequenzgebenden Bauelemente in vielen Variationen kostengünstig erhältlich. Neuere Anwendungen wie die moderne Telekommunikationstechnik erfordern die Verwendung immer höherer frequenzgebender Bauelemente. Aus diesem Grund werden seit den 70er Jahren auch Oberflächenwellenbauelemente, die Frequenzen bis in den GHz-Bereich erlauben, eingesetzt. Seit einigen Jahren gibt es zudem eine neue Generation von hochfrequenten Schwingquarzsensoren, die Frequenzen bis zu einigen 100 MHz ermöglichen [KAS98]. Die physikalischen Eigenschaften und der zugrunde liegende piezoelektrische Effekt sind gut erforscht. Schwingquarze und Oberflächenwellenbauelemente basieren auf dem Prinzip einer Kristallschwingung im Volumen bzw. an der Oberfläche eines piezoelektrischen Kristalls. Aus diesem Grund spricht man auch von akustischen Bauelementen.

Neben der rein elektronischen Anwendung können diese akustischen Bauelemente wegen der Wechselwirkung der elektroakustischen Kristallschwingung mit den elektrischen und akustischen Eigenschaften angrenzender Medien auch für sensorische Zwecke eingesetzt werden. Die heute existierenden, schnellen integrierten Schaltungen sind in der Lage, die Resonanzfrequenz akustischer Sensoren sehr genau und zuverlässig zu messen. Außerdem machte es die Miniaturisierung der elektronischen Bauelemente möglich, die für ein Schwingquarzmesssystem notwendige Elektronik in einem handlichen Gehäuse unterzubringen. Diese Tatsachen halfen der akustischen Sensorik sich neue Anwendungsgebiete zu erschließen. Dazu zählen die Flüssigkeitscharakterisierung, elektrochemische Anwendungen sowie die Gas- und Biosensorik.

Historische Entwicklung

Der überwiegende Anteil an Beiträgen zur akustischen Sensorik stammt aus dem Gebiet der Schwingquarzensensorik. In den 50er Jahren wurden Schwingquarze (AT-Schnitt) erstmals wegen ihrer Massensensitivität — sie reagieren mit Verstimmung ihrer Resonanzfrequenz bei Massebelegung an ihrer Oberfläche — in der Sensorik eingesetzt. Sauerbrey etablierte 1959 die Schichtdicken-Messung in Bedampfungsanlagen [SAU59]. Ausgehend von einem Modell, das die Massebelegung nur als zusätzliche Quarzlage beschreibt, konnte er eine lineare Beziehung zwischen dem Frequenzabfall und der Massebelegung herleiten. Er prägte den Begriff der Quarzkristall-Mikrowaage. Genauigkeiten von 0,1 ng konnten damals bereits erreicht werden. 1964 benutzte King einen beschichteten Schwingquarz, um einen empfindlichen und selektiven Detektor für die Gaschromatographie zu konstruieren [KIN64]. Er beschichtete die Quarze mit verschiedenen Substraten aus gaschromatographischen Säulen und untersuchte die sorbierenden Komponenten des vorbeiströmenden Gasflusses. Guilbault et al. konnten mit dieser Technik Schwefeldioxid mit einer Empfindlichkeit von 5 ppm nachweisen [GUI75]. Später wurden verschiedenste Gase auf diese Weise untersucht.

Der erste Einsatz eines Schwingquarzsensors als Immunosensor wurde 1972 von Shons et al. berichtet [SHO72]. Shons konnte mit einem Albumin-beschichteten Schwingquarz spezifische Antikörper detektieren. Die Messungen erfolgten nach der Inkubation am trockenen Quarz. Die direkte Messung in Flüssigkeiten war lange Zeit mit Schwierigkeiten behaftet. 1973 wurden von Schulz et. al. Aerosoltröpfchen aus einem Flüssigkeitschromatographen auf die Sensoroberfläche gesprüht und nach Verdampfung des Lösungsmittels, die gelöste Komponente detektiert [SCH73]. Erst in den 80er Jahren erschienen Berichte über Messungen, in denen eine Seite eines Schwingquarzes in direktem Kontakt mit einer Flüssigkeit stand und dieser gleichzeitig vermessen wurde [KON80][NOM80]. Kanazawa leitete 1985 aus einem einfachen Modell, welches das Eindringen einer evaneszenten, akustischen Scherwelle in die anliegende Flüssigkeit beschreibt, eine Beziehung zwischen dem Frequenzabfall und den physikalischen Eigenschaften (Viskosität, Dichte) von Flüssigkeit und Quarz ab [KAN85]. In den 80er Jahren erschienen überdies Beiträge zum elektrochemischen Einsatz der Schwingquarzmikrowaage [DEA88][GRZ87][SCH85].

In der Immunsensorik bieten akustische Sensoren im Vergleich zu etablierten Techniken den Vorteil, biologische Partikel in Realzeit zu detektieren und damit Erkenntnisse über den Bindungsvorgang zu liefern. Durch Verwendung von geeigneten Fließsystemen konnte die Leistungsfähigkeit der Schwingquarzmikrowaage im Bereich der Mikrowägung in der flüssigen Phase stark verbessert werden. Dies ermöglichte in den 90er Jahren immunologische Nachweise für eine Vielzahl von Analyten, z.B. der Nachweis von Enterobakterien [GUI92], die Detektion von HIV-positiven Humanserumproben [ABE94][KÖS94], der Nachweis von Atrazin [SKL97] sowie von Toxinen [HAR97]. Thompson konnte sogar die Hybridisierung von DNA-Einzelsträngen auf dem Sensor untersuchen [THO95]. Die Sensitivität dieser „Mikrowaagen“ war immer wieder Gegenstand von Optimierungsversuchen. Ward stellte 1993 eine neue Art von sehr empfindlichen hochfrequenten Schwingquarzsensoren für den Einsatz in Flüssigkeiten vor [WAR93]. Diese zentrisch dünngeätzten Schwingquarze wurden zur elektrochemischen Mikrowägung eingesetzt.

Die erfolgreiche Entwicklung des Interdigital-Transducers (IDT) durch White und Volmer im Jahr 1965 [WHI65] erlaubte die direkte piezoelektrische Anregung von Oberflächenwellen und setzte damit den Grundstein für die Entwicklung einer Vielzahl von Sensorelementen, die auf oberflächengenerierten akustischen Wellen beruhen (Abbildung 2.2). Wohltjen und Dessy stellten 1979 den ersten chemischen Sensor auf Basis eines Rayleigh-Oberflächenwellensensors (SAW) vor [WOH79]. Dieser mit einem sensitiven Polymer beschichtete Sensor wurde für die Gassensorik eingesetzt. Es zeigte sich jedoch, dass diese Rayleigh-Oberflächenwelle, wegen ihrer Auslenkung normal zur Sensoroberfläche und Laufrichtung und einer damit verbundenen Energieabstrahlung, nicht für Flüssigkeitsanwendungen geeignet ist. Zwar wurde 1983 eine Studie über Antigen-Antikörper-Reaktionen auf Rayleigh-SAW-Sensoren [BAS83] vorgestellt, später wurde von Calabrese et al. [CAL87] jedoch gezeigt, dass anstelle der Rayleigh-SAW Mode eine akustische Plattenmode (Kapitel 2.2) vermessen wurde. Für Flüssigkeitsanwendungen sind transversal polarisierte Wellenformen (Scherwellen) besser geeignet, da sie zwar mit dem flüssigen Medium in Wechselwirkung treten, aber keine Energie durch Modenkonzersion einkoppeln. Wichtige Entwicklungen sind hier akustische Plattenmodensensoren [SHA91] [MAR89] sowie transversal polarisierte Oberflächenwellensensoren [DRO93][KON93] [LEI98]. Wichtige Beiträge zu immunosensorischen Anwendungen mit transversalen SAW-Sensoren wurden 1996 von Schickfus et al. [SCH96] und Wessa [WES96] vorgestellt.

Ziele und Organisation der Arbeit

Viele der im historischen Abriss beschriebenen Techniken und Anwendungen mit akustischen Sensoren haben in wichtigen Punkten entscheidende Nachteile. So reicht die Verwendung von Laboraufbauten oder Modellanalysen zwar aus, die prinzipielle Eignung akustischer Sensoren für gewisse Anwendungen aufzuzeigen, ein reeller Einsatz in der modernen Analytik und Diagnostik stellt jedoch höhere Anforderungen an die Sensortechnik, das Fluidsystem, aber auch an die genaue Kenntnis der Störeinflüsse. Weitere Problemfelder der beschriebenen Anwendungen sind die Quantifizierbarkeit und Genauigkeit der Messungen, die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener akustischer Sensortechniken sowie anderer Messtechniken. Nicht zuletzt ist die bisher erzielte Empfindlichkeit und Nachweisgrenze für bestimmte Analytnachweise unzureichend.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einsatz der akustischen Sensorelemente, Schwingquarzmikrowaagen und Oberflächenwellensensoren, für die Flüssigkeitscharakterisierung und für die Mikrowägung in der Biosensorik mit dem Ziel beschrieben, neue Anwendungsfelder aufzuzeigen, höhere Ansprüche an die Genauigkeit, Quantifizierbarkeit und Vergleichbarkeit der Messungen zu stellen, sowie Wege zur deutlichen Empfindlichkeitssteigerung aufzuzeigen.

Für die Durchführung verschiedener Sensoranwendungen ist ein genaues Verständnis des Sensorprinzips und der zugrunde liegenden physikalischen Vorgänge von großer Bedeutung. Die theoretische Auswertung des physikalischen Messeffektes erlaubt die Charakterisierung des an den wellenführenden Bereich anliegenden Messmediums (Kapitel 2). Dabei wird der aus der Literatur bekannte Formalismus für Schichtsysteme mit Schwingquarzsensoren in dieser Arbeit bei Berücksichtigung eines Korrekturterms um-

fassend auch für Schichtsysteme mit horizontal polarisierten Oberflächenwellensensoren eingesetzt. Das Transducerverhalten wird weitgehend modelliert und erlaubt so Aussagen über die Auswirkung verschiedener Designgrößen und physikalischer Einflussfaktoren zu machen (Kapitel 3). Die Modellierung des Transducerverhaltens kann dabei durch den in dieser Arbeit erstellten Formalismus für beliebige Sensor-Schichtsysteme erfolgen. Als Sensorelemente werden neuartige hochfrequente Grundtonschwingquarze sowie horizontal-polarisierte Oberflächenwellenbauelemente mit spezieller Aufbau- und Kontaktierungstechnik eingesetzt. Die Wahl einer geeigneten Messmethodik beeinflusst entscheidend die Anzahl der Messparameter sowie die Auswertbarkeit für theoretische Berechnungen (Kapitel 4).

Im experimentellen Teil der Arbeit werden die Stärken und Schwächen der verschiedenen Sensorelemente in den verschiedenen Anwendungen und unter dem Einfluss von Störgrößen aufgezeigt. Ein störungsfreies Fluidsystem, ein optimiertes Transducerdesign sowie die Kontrolle externer physikalischer Störeinflüsse sind für Messungen unbedingt erforderlich (Kapitel 5). Akustische Sensoren eignen sich sehr gut für den Einsatz in der Rheologie. Neben der Bestimmung der Viskosität und Dichte newtonscher Glycerinlösungen können auch Relaxationseffekte viskoelastischer Polyethylenglykollösungen charakterisiert und quantifiziert werden. Die Verwendung der akustischen Sensoren als Rheometer wird im Vergleich zu kommerziellen Rheometern erörtert (Kapitel 6). Der Einsatz akustischer Sensoren zur Mikrowägung in der Biosensorik wird anhand der spezifischen Detektion reeller Analyten, wie des Hüllproteins *VP73* des Erregers der afrikanischen Schweinepest, des Bakteriophagen *M13* sowie des Bakteriums *Legionella pneumophila* erläutert. Die theoretisch vorhergesagte Sensitivitätssteigerung für höhere Arbeitsfrequenzen der verwendeten hochfrequenten Grundtonschwingquarze und Oberflächenwellenbauelemente wird experimentell überprüft. Anhand vergleichbarer Ergebnisse etablierter analytischer Methoden und neuer Realzeitmethoden, wie der Oberflächenplasmonenresonanz, wird die Leistungsfähigkeit akustischer Sensoren im klassischen Analytnachweis, der Klassifizierung von Serumproben sowie der Affinitätsbestimmung bewertet (Kapitel 7).

Kapitel 2

Theorie der akustischen Sensorelemente

In diesem Kapitel werden die Grundlagen der akustischen Sensorik aufgezeigt. Der physikalische Messeffekt der verwendeten Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren wird erklärt und die Grundlagen zur Charakterisierung verschiedener Messmedien (Schichten, Flüssigkeiten) werden dargestellt. Wichtige Kenngrößen wie die akustische Impedanz, die Viskosität und Elastizität werden eingeführt. Die Verknüpfung der akustischen Impedanz des Messmediums mit den Messparametern der verwendeten Sensoren erlaubt die exakte Berechnung der physikalisch-mechanischen Eigenschaften des Messmediums (Dichte, Viskosität, Elastizitätsmodul, Massebelegung). Während diese Vorgehensweise in der Literatur nur für Schwingquarzsensoren beschrieben ist [BAN99], wird dieser Formalismus in dieser Arbeit erstmalig umfassend auch für Scherwellen-Oberflächenwellensensoren angewendet. Mithilfe der theoretisch abgeleiteten Zusammenhänge wird die Empfindlichkeit der verschiedenen in dieser Arbeit entwickelten Sensoren verglichen.

2.1 Der piezoelektrische Effekt

Der piezoelektrische Effekt wurde 1880 von den Brüdern Pierre und Jacques Curie an Quarz, Rochelle-Salz und Turmalin entdeckt. Sie hatten die Kristalle mit Gewichten belastet und die induzierten Spannungen gemessen [CUR80]. Ein Jahr später bestätigten sie experimentell den inversen Effekt, die Deformation der Kristalle bei von außen angelegter Spannung [MAS50]. Voraussetzung für den Piezo-Effekt ist eine polare Achse im Kristallgitter, die also keine Inversionssymmetrie aufweist. Die verwendeten Kristallschnitte und deren Materialparameter sind in Anhang A dargestellt.

Durch das Anlegen eines elektrischen Feldes verschieben sich Ladungen, welche durch das Kristallgitter gebunden sind. Folge ist eine Deformation des Kristalls. Über die Oberfläche kann ein Einfluss auf das Verhalten des Systems erfolgen. Das Anlegen einer harmonischen Wechselspannung führt dann zu einer periodischen Schwingung, deren Schwingungsform abhängig ist vom Kristallschnitt.

Der piezoelektrische Effekt ist zu unterscheiden von der Elektrostriktion, einem Effekt zweiter Ordnung, der analog zum Kerr-Effekt in der Optik, eine Deformation des Materials proportional zum Quadrat der anliegenden Spannung und unabhängig von deren Vorzeichen beschreibt. In Quarz hat die Elektrostriktion kleine Koeffizienten und wird deshalb nicht betrachtet.

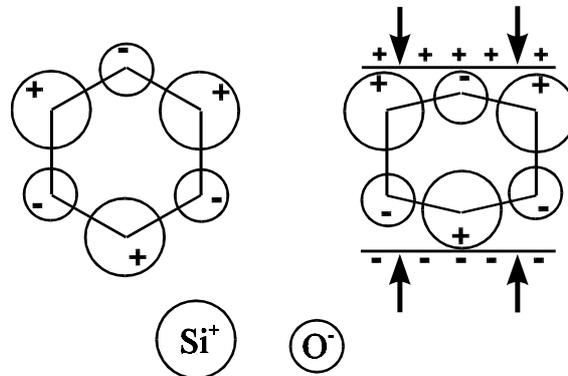


Abbildung 2.1: Piezoelektrischer Effekt dargestellt anhand der Einheitszelle eines Quarzkristalls. Bei Druckanwendung verkleinert sich das Dipolmoment der Einheitszelle in Druckrichtung.

2.2 Klassifizierung akustischer Sensorelemente

Akustische Wellen (elastische Kristallschwingungen) können bezüglich sensorischer Anwendung in elastische Volumenwellen und oberflächengenerierte Wellen unterteilt werden [AND94]. Oberflächengenerierte Wellen können wiederum unterschieden werden in verschiedene Typen von Oberflächenwellen und Plattenmoden. Abbildung 2.2 führt die für die Sensorik relevanten Wellentypen auf.

2.2.1 Elastische Volumenwellen

Elastische Volumenwellen, engl.: bulk acoustic wave (BAW), breiten sich im Volumen eines piezoelektrischen Kristalls aus und wechselwirken nur an den entgegengesetzten Oberflächen des Kristalls. Zu dieser Wellenform gehören Schwingquarzsensoren. Die Untergruppe der Torsionsschwinger ist vor allem für die Viskositätsmessung bei niedrigen Frequenzen (<100 kHz) und hohen Arbeitsdrücken von Bedeutung. Die Gruppe der Scherschwinger umfasst alle sonstigen Schwingquarzsensoren höherer Frequenz. Alle im historischen Abriss aufgezählten Schwingquarzsensoren sowie die in dieser Arbeit verwendeten Schwingquarzsensoren zählen zur Gruppe der Dickenschwinger mit einem AT-Schnitt (Kapitel 4.1 und Anhang A).

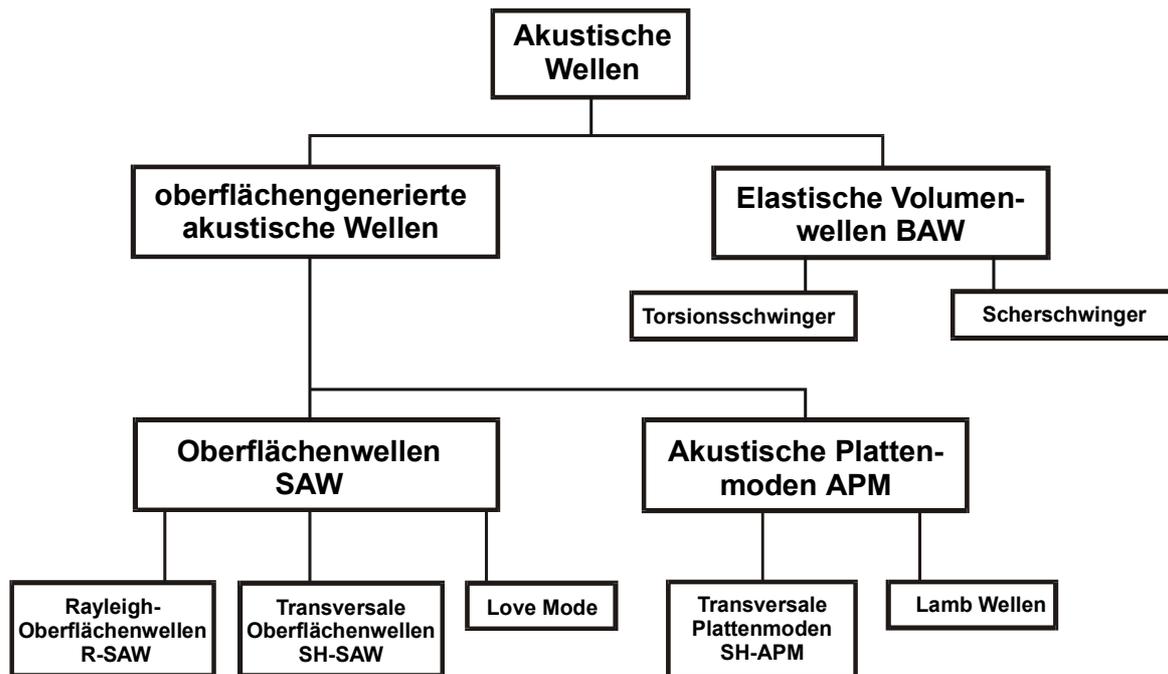


Abbildung 2.2: Verschiedene Typen akustischer Wellen mit Bedeutung für die Sensorik.

2.2.2 Oberflächenwellen

Akustische Oberflächenwellen, engl.: surface acoustic wave (SAW), werden durch Interdigitaltransducer (IDT) auf einer Seite eines piezoelektrischen Kristalls angeregt. Es handelt sich dabei um Schallwellen, die sich an der Oberfläche eines Festkörpers ausbreiten. An dessen Oberfläche wirken kleinere Rückstellkräfte als im Inneren eines Kristalls, woraus eine kleinere Schallgeschwindigkeit resultiert. Die Welle bleibt somit an der Oberfläche gebunden und konvertiert nicht im Kristall zu Volumenwellen. Als Substratmaterialien finden vor allem α -Quarz (SiO_2), Lithiumniobat (LiNbO_3) und Lithiumtantalat (LiTaO_3) Verwendung. Je nach Ausbreitungsmedium und Richtung der mechanischen Auslenkungsrichtung werden verschiedene Arten akustischer Oberflächenwellen unterschieden:

- Rayleighwellen

Oberflächenwellen auf freien, rein elastischen isotropen Festkörpern wurden erstmals 1885 von Lord Rayleigh beschrieben [RAY85]. Dieser klassische Typ von Oberflächenwellen propagiert entlang der Sagittalebene, die durch den Wellenvektor in Ausbreitungsrichtung und den Normalenvektor auf die Oberfläche aufgespannt wird (Abbildung 2.3). Dadurch ergibt sich bei Rayleighwellen eine Auslenkungskomponente senkrecht zur Oberfläche und Ausbreitungsrichtung. Will man Rayleighwellen in flüssigen Medien anregen, so kann die Auslenkungskomponente in y -Richtung an Kompressionsmoden der Flüssigkeit ankoppeln und die Welle wird zum großen Teil in die Flüssigkeit abgestrahlt. Wegen der daraus resultierenden starken Dämpfung, ist diese Oberflächenwelle für Flüssigkeitsanwendungen nicht geeig-

net. Die Eindringtiefe der Welle in das Substrat beträgt nur etwa ein Fünftel der Wellenlänge. Da diese Welle auf sehr vielen Substraten angeregt werden kann, wird sie am häufigsten in der Hochfrequenzfiltertechnik und in der Gassensorik benutzt.

- **Transversale Oberflächenwellen**

Transversale Oberflächenwellen besitzen eine Auslenkung senkrecht zur Laufrichtung und parallel zur Oberfläche (Abbildung 2.3). Es handelt sich also um horizontal polarisierte Scherwellen. Transversale Oberflächenscherswellen existieren nur in piezoelektrischen Materialien [DIE80] und können bei speziellen Schnitten in Lithiumniobat und Lithiumtantalat sowie in allen YZ-rotierten Quarzschnitten angeregt werden. Eine solche Welle kann in Flüssigkeiten keine Kompressionsmoden anregen, sondern koppelt nur eine, für den sensorischen Messeffekt wichtige, evaneszente Scherwelle in die Flüssigkeit ein und wird daher nur minimal bedämpft. Die Eindringtiefe in das piezoelektrische Substrat ist etwas größer als eine Wellenlänge. Oberflächenscherswellen existieren in YZ-rotiertem Quarz nur für einen Schnittwinkelbereich von ca. -48° bis -103° (Bleustein-Gulyaev-Welle [BLE68]). Für alle anderen Schnitte wird die Oberflächenlokalisierung erst durch Beschichtungen erreicht [LEI98]. Die in dieser Arbeit verwendeten Sensorelemente wurden auf einem -36° -Quarzschnitt hergestellt (Kapitel 4.2 und Anhang A).

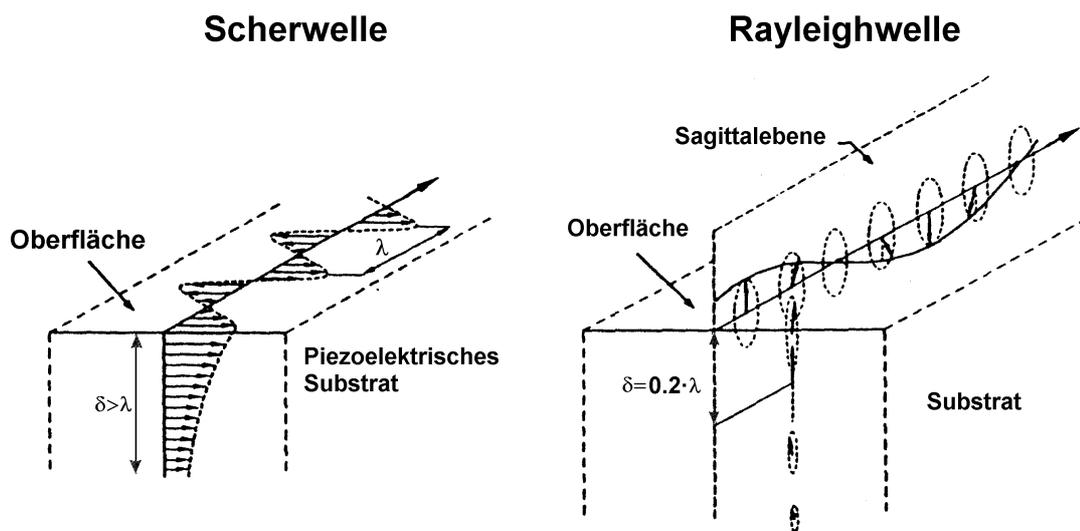


Abbildung 2.3: Akustische Oberflächenschwelle mit Auslenkung parallel zur Oberfläche und Rayleighwelle mit Auslenkung normal zur Oberfläche [DIE80].

- **Love-Wellen**

Eine weitere horizontal polarisierte Wellenform ist die „surface skimming bulk wave – SSBW“, die unter einem kleinen Winkel ins Substrat abgestrahlt wird und vom Empfänger-IDT aufgenommen wird, bevor die Welle die Substratunterseite erreicht. Durch Beschichtung des Oberflächenwellenbauelements mit Metallen oder amorphem Siliziumdioxid kann die SSBW in eine geführte Oberflächenwelle konvertiert werden, die als Love Mode bezeichnet wird. Voraussetzung dafür ist, dass die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Oberflächenschwelle in der Schicht kleiner ist als im

Substrat. Love Mode Sensoren sind wegen ihrer guten Empfindlichkeit von Bedeutung für die Sensorik [GIZ93].

2.2.3 Plattenmoden

Im Spektrum der verschiedenen Moden, die ein Interdigitaltransducer erzeugt, gibt es neben der reinen Oberflächenwelle und der SSBW auch Volumenmoden, die an der Substratunterseite reflektiert werden. Damit ist das ganze Substrat von der Resonanz erfasst und sowohl die Bauelementoberseite als auch die Unterseite wird zu Schwingungen ange-regt.

- Horizontal polarisierte Plattenmoden
Für die Flüssigkeitssensorik sind am besten die horizontal polarisierten Plattenmo-den, engl.: shear horizontal acoustic plate modes (SH-APM), nutzbar, bei denen die Auslenkung senkrecht zur Laufrichtung und parallel zur Oberfläche erfolgt [MAR89]. Als Substrate eignen sich besonders Quarz (ST-Schnitt) und Lithiumniob-at (ZX-Schnitt). Als Vorteil erweist sich hier die Möglichkeit, auf der den IDT-Transducern abgewandten Seite die Flüssigkeitsmessungen durchzuführen.
- Lamb-Wellen
Wird die Substratdicke stark verkleinert ($< \lambda$), dann resultieren aus den Plattenmo-den die beiden Lamb-Moden, eine symmetrische Dickenschwingung und eine anti-metrische Biegeschwingung. Letztere wird oft auch als „flexural plate wave (FPW)“ bezeichnet und wird wegen ihrer guten Empfindlichkeit zur Mikrowägung in der flüssigen Phase eingesetzt [LAU00]. Da in diesen dünnen Membranen die Wellenge-schwindigkeit kleiner als die Kompressionswellengeschwindigkeit in Wasser ist, werden selbst bei Biegeschwingungen keine Kompressionsmoden in Wasser ange-regt und das Bauelement wird in Wasser nur gering bedämpft.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass alle akustischen Bauelemente, die in die anlie-gende Flüssigkeit horizontal polarisierte Scherwellen einkoppeln, gut für die Flüssigkeits-sensorik geeignet sind, da ansonsten Kompressionsmoden in der Flüssigkeit angeregt wer-den und das Sensorelement stark bedämpft werden würde. Das FPW Bauelement kann hiervon, wegen seiner geringen Wellengeschwindigkeit im Substrat ausgenommen werden.

In der vorliegenden Arbeit werden in den Experimenten ausschließlich Schwingquarz-sensoren, im folgenden mit QCM¹ bezeichnet, und Oberflächenscherswellen-Bauelemente, im folgenden nur mit SAW bezeichnet, verwendet. Ebenso beziehen sich die theoretischen Betrachtungen sowie die Bewertungen auf diese beiden Sensortypen.

¹ In der Sensorik wird oftmals die Bezeichnung Schwingquarzmikrowaage, engl.: quartz crystal microbalance (QCM), verwendet.

2.3 Der physikalische Messeffekt

In diesem Abschnitt wird der physikalische Messeffekt von Schwingquarzsensoren und Oberflächenwellensensoren erläutert sowie prinzipielle Abhängigkeiten der Messparameter von den Eigenschaften des Messmediums aufgezeigt.

Es zeigt sich, dass die Art der akustischen Wechselwirkung von Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren mit dem anliegenden Medium nahezu identisch ist, da in beiden Fällen an der Sensoroberfläche eine Scherschwingung vorliegt und diese ins anliegende Medium eingekoppelt wird. Durch das tangential Einkoppeln der akustischen Transversalwelle in anliegende elastische Schichten wird ein maximaler Energieübertrag erreicht. Die Sensitivität gegenüber Massenbelegung ist so am größten. Beim Eindringen der akustischen Transversalwelle in Flüssigkeiten ist diese evaneszent, wobei das Abklingverhalten von den mechanischen Flüssigkeitsparametern (Viskosität, Dichte und Elastizitätsmodul) abhängt. Die Wechselwirkung der Transversalwelle mit dem anliegenden Medium beeinflusst direkt das Schwingverhalten des Quarzresonators bzw. des Oberflächenwellensensors und damit die im folgenden näher erläuterten Messparameter. Diese akustische Wechselwirkung wird im folgenden als physikalischer Sensoreffekt bezeichnet. Darüber hinaus reagieren die Sensorelemente unter gewissen Umständen auch auf Änderung der elektrischen Eigenschaften (Dielektrizität, Leitfähigkeit).

2.3.1 Schwingquarzsensoren

Die in dieser Arbeit verwendeten Schwingquarze sind Dickenscherschwinger. Eine an den beiden Elektroden angelegte Wechselspannung führt somit zu einer Dickenscherschwingung der Quarzplatte (Abbildung 2.4). In der Quarzscheibe bildet sich eine stehende Transversalwelle aus, wobei die beiden Stirnflächen Orte maximaler Amplitude sind.

Bei der Dickenscherschwingung wird die Amplitude der elastischen Transversalwelle tangential in das zu messende Medium eingekoppelt. Durch die Wechselwirkung der Transversalwelle mit dem anliegenden Medium ändert sich das Schwingverhalten des Quarzresonators und damit die zwei unabhängigen Messparameter, nämlich die Dämpfung Γ und die Resonanzfrequenz f_0 (Kapitel 2.5.1). Die messtechnische Erfassung dieser Messgrößen ist die Basis für die Auswertung des physikalischen Messeffekts und wird in Kapitel 4.3 dargestellt.

Die Dicke der Quarzscheibe d_q bestimmt neben der mechanischen Stabilität auch die Wellenlänge λ und damit die Resonanzfrequenz f_0 über die Beziehung $\lambda/2 = d_q$ und damit:

$$f_0 = \frac{v}{\lambda} = \frac{1}{2d_q} \cdot \sqrt{\frac{c_{66}}{\rho_q}} \quad (2.1)$$

mit der Wellenlänge λ , der Dicke der Quarzscheibe d_q , der Schersteifigkeit von Quarz c_{66} , der Dichte von Quarz ρ_q , der Resonanzfrequenz f_0 sowie der Schallgeschwindigkeit in Quarz $v = 3340 \text{ m/s}$.

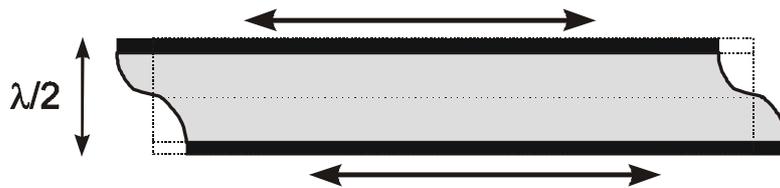


Abbildung 2.4: Querschnitt durch eine Quarzscheibe vom AT-Schnitt (Dickenschwingung) mit aufgetragenen Elektroden (schwarz).

Mechanische Eigenschaften des Messmediums

Sauerbrey zeigte 1959, dass die Verstimmung der Resonanzfrequenzen von Schwingquarzen bei Beladung einer Oberfläche mit einer dünnen Schicht genutzt werden kann, um diese Schichten zu wiegen [SAU59]. Die Empfindlichkeit dieser Schwingquarz-Mikrowaage erlaubt den Nachweis einer Masse von weniger als 1 ng auf der gesamten sensitiven Fläche. Sauerbrey gibt in einer linearen Näherung folgende, in Gleichung 2.42 näher erläuterte Beziehung an:

$$\Delta f = -C_f \cdot \Delta m \quad (2.2)$$

mit der Frequenzerniedrigung Δf , der Schichtwägemempfindlichkeit C_f und der Massebelegung Δm .

Im Modell von Sauerbrey wurde nur der Einfluss dünner elastischer Schichten auf die Resonanzfrequenz eines Schwingquarzes untersucht. Kanazawa et al. stellten ein Modell auf, welches die viskosen Eigenschaften von newtonschen Flüssigkeiten berücksichtigt. Durch die Kopplung der Scherwelle im Quarz mit einer evaneszenten Scherwelle in der Flüssigkeit erhält man folgende, in Gleichung (2.48) näher erläuterte Beziehung:

$$\Delta f = -C_l \sqrt{\rho_l \eta_l} \quad (2.3)$$

mit der Frequenzerniedrigung Δf , der Flüssigkeitsempfindlichkeit C_l sowie der Flüssigkeitsdichte ρ_l und -viskosität η_l .

In Abschnitt 2.5 wird der Einfluss der mechanischen Eigenschaften des Messmediums näher untersucht und erläutert.

Elektrische Eigenschaften des Messmediums

Eine Beeinflussung des Sensorverhaltens durch die elektrischen Eigenschaften von Flüssigkeiten konnte phänomenologisch beobachtet werden [PEL94], allerdings konnte keine analytische Abhängigkeit gefunden werden. Eine Änderung der Dielektrizität der Flüssigkeit führt bei Quarzen mit asymmetrischer Elektrodengeometrie, vermutlich aufgrund des inhomogenen elektrischen Feldes, zu Änderungen der Sensorsignale. Bei symmetrischer Elektrodengeometrie ist kein Effekt zu beobachten. Eine Änderung der Leitfä-

higkeit führt auch bei symmetrischen Elektrodengeometrien zu einer Beeinflussung der Sensorsignale.

Darüber hinaus zeigen sich beim Betrieb in einem Fließsystem auch Abhängigkeiten der Sensorsignale vom Fluiddruck sowie von nicht zu vernachlässigenden Temperatureinflüssen. Diese Störeffekte werden in Kapitel 5 näher untersucht.

2.3.2 Oberflächenwellenbauelemente

Mit Hilfe von Interdigitaltransducern (IDT) können bei Oberflächenwellenbauelementen durch Anlegen eines elektrischen Hochfrequenzsignals akustische Oberflächenwellen generiert werden; in dem Fall der hier verwendeten Bauelemente sind das Scherwellen. Die Oberflächenwellen werden in der Konfiguration einer Verzögerungsleitung (delay line) durch einen Sender-IDT generiert und nach Durchlaufen der Messstrecke als sensitivem Bereich von einem Empfänger-IDT wieder aufgenommen (Kapitel 3.2 sowie Abbildung 2.5). Der Begriff Verzögerungsleitung leitet sich aus der Tatsache ab, dass sich akustische Wellen wesentlich langsamer ausbreiten als elektromagnetische Wellen und es damit zu einer Signalverzögerung zwischen Sende- und Empfangstransducer kommt [NIE89]. Alternativ zur Anordnung von zwei Interdigitaltransducern in einer Verzögerungsleitung gibt es auch die Möglichkeit, einen Transducer zwischen zwei akustisch reflektierenden Spiegeln zu positionieren. Die Strecke zwischen den Spiegeln erlaubt dann konstruktive Interferenz zwischen nacheinanderfolgenden Reflektionen. Im Transmissionspektrum erreicht man dadurch eine scharfe Kennlinie, während bei der Verzögerungsleitung ein Übertragungsband resultiert (Abbildung 3.13). Die Anregung und Detektion der akustoelektrischen Welle, die Basis für die elektrische Auswertung des physikalischen Messeffekts, werden in Kapitel 3.2 sowie Kapitel 4.3 dargestellt.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit v und Dämpfung α der akustischen Oberflächenwelle wird hauptsächlich durch die Eigenschaften des Substratmaterials bestimmt. Über die physikalischen Randbedingungen beeinflusst aber auch das an den wellenführenden Bereich angrenzende Messmedium die Ausbreitungseigenschaften der akustoelektrischen Welle, die somit gedämpft und phasenverschoben am Empfänger-IDT ankommt [MAR89] [LEI98]. Dies wird als Sensoreffekt genutzt. Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Anwendungen dient nur der Bereich der Wellenlaufstrecke zwischen dem Sender- und Empfänger-IDT als Messstrecke.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit v und die durch den Elektrodenabstand der IDTs eingeprägte Wellenlänge λ (Abbildung 3.10) bestimmen die Resonanzfrequenz f_0 der IDTs und damit die Anregungsfrequenz der Oberflächenwellenbauelemente. Mit der Geschwindigkeit der Oberflächenscherwelle $v = 5092 \text{ m/s}$ und einer Wellenlänge von $48 \mu\text{m}$ für verwendete SAW-Sensoren folgt: $f_0 = v/\lambda = 106 \text{ MHz}$. Die tatsächliche Frequenz liegt allerdings wegen des verlangsamenden Einflusses der Metallisierung auf die Wellengeschwindigkeit etwas niedriger bei ungefähr 102,5 MHz (Gleichung 3.19).

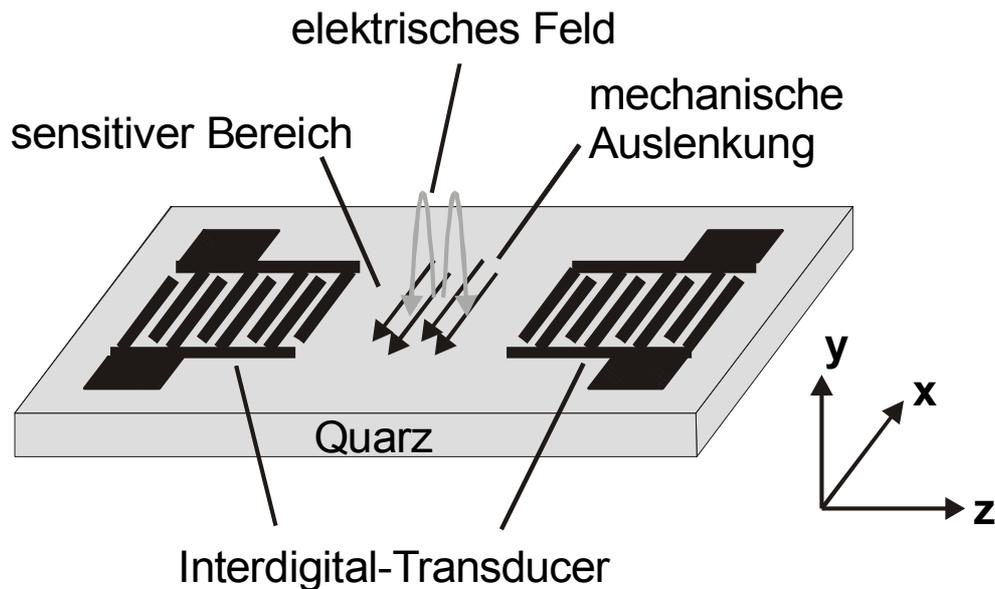


Abbildung 2.5: Prinzip eines „delay-line“ Oberflächenwellensensors.

Neben den mechanischen und elektrischen Einflüssen auf das Sensorsignal können Temperatureinflüsse nicht vernachlässigt werden. Sie werden als Störeffekt in Kapitel 5 näher untersucht.

Mechanische Eigenschaften des Messmediums

Die theoretischen Betrachtungen in Kapitel 2.6.3 zeigen, dass die Änderung der Resonanzfrequenz eine Funktion der Massenbelegung ist, jedoch kann nur in Grenzfällen eine lineare Beziehung wie für Quarzresonatoren angegeben werden. Für weiche Schichten folgt der in Gleichung (2.58) näher erläuterte Zusammenhang:

$$\frac{\Delta v}{v} \cong -C_M \cdot \Delta m \quad (2.4)$$

mit der Geschwindigkeitsänderung der Oberflächenwelle $\Delta v/v$, der Empfindlichkeitskonstanten C_M und der Massebelegung Δm .

Durch die Kopplung der Scherwelle im Quarzsubstrat mit einer evaneszenten Scherwelle in der Flüssigkeit erhält man folgende, in Gleichung (2.55) näher erläuterte Beziehung:

$$\frac{\Delta v}{v} = -C_L \sqrt{\rho_l \eta_l} \quad (2.5)$$

mit der Geschwindigkeitsänderung der Oberflächenwelle $\Delta v/v$, der Flüssigkeitsempfindlichkeit C_L sowie der Flüssigkeitsdichte ρ_l und -viskosität η_l .

In Abschnitt 2.6 wird der Einfluss der mechanischen Eigenschaften des Messmediums näher untersucht und erläutert.

Elektrische Eigenschaften des Messmediums

Niemczyk et al. konnten für die elektrische Wechselwirkung der Flüssigkeitseigenschaften mit der elektroakustischen Oberflächenwelle ein Ersatzschaltbild angeben, aus dem sich die Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ und die Dämpfungsänderung $\Delta\alpha/k$ der Oberflächenwelle ergibt zu [NIE88]:

$$\begin{aligned}\frac{\Delta v}{v} &= -\frac{K^2}{2} \cdot \frac{\varepsilon_S + \varepsilon_0}{\varepsilon_{eff}} \cdot \frac{\sigma_l^2}{\sigma_l^2 + \omega^2 \varepsilon_{eff}^2} \\ \frac{\Delta\alpha}{k} &= \frac{K^2}{2} \cdot \frac{\varepsilon_S + \varepsilon_0}{\varepsilon_{eff}} \cdot \frac{\sigma_l \omega \varepsilon_{eff}}{\sigma_l^2 + \omega^2 \varepsilon_{eff}^2}\end{aligned}\tag{2.6}$$

mit der Koppelkonstante K (Kapitel 3.2.2), der Kreisfrequenz ω , den Dielektrizitätszahlen von Vakuum ε_0 , Substrat ε_S (Quarz 5,5) und Flüssigkeit ε_l , der effektiven Dielektrizität $\varepsilon_{eff} = \varepsilon_S + \varepsilon_l$ und der Leitfähigkeit der Flüssigkeit σ_l .

Unterhalb einer Grenzleitfähigkeit $\sigma_{GR} = \omega \varepsilon_{eff}$ hängen die Geschwindigkeitsänderung und die Dämpfungsänderung linear von der Leitfähigkeit ab. Oberhalb dieses Grenzwertes nähert sich die Geschwindigkeitsänderung einem Sättigungswert, der von den Dielektrizitätskonstanten bestimmt wird; die Dämpfungsänderung geht dann langsam wieder zurück. Der Sensor reagiert also nur auf geringe Leitfähigkeiten, ansonsten dominiert der Einfluss der Dielektrizitätskonstanten bzw. der mechanischen Einflüsse.

2.4 Akustische Impedanz

In den folgenden Abschnitten wird ein akustisches Modell für das Sensor-Probe-System entwickelt, das es erlaubt bei Beladung des Sensors mit beliebigen Schichtsystemen die physikalischen Parameter der Probe mit den Messparametern in Beziehung zu setzen. Da die akustische Impedanz der Sensoroberfläche die zentrale Messgröße darstellt, soll auf die Definition der akustischen Impedanz in diesem Abschnitt gesondert eingegangen werden.

Zunächst sollen homogene Medien, danach Schichtsysteme betrachtet werden. Alle Modelle sind eindimensional in dem Sinn, dass die Wellen und Medien als lateral unendlich ausgedehnt betrachtet werden, also keine Randeffekte auftreten. Zunächst werden nur elastische Medien betrachtet. Die Erweiterung auf viskoelastische Medien geschieht durch komplexe Verallgemeinerung der Gleichungen. Von der akustischen Impedanz einer viskoelastischen Schicht ausgehend, können die Impedanzen von elastischen Schichten sowie newtonschen und maxwellschen Flüssigkeiten als Spezialfälle abgeleitet werden. Die für die Beschreibung der verschiedenen Medien notwendigen physikalischen Zusammenhänge werden in diesem Abschnitt erläutert. Der Unterschied für Quarzresonatoren und Oberflächenwellenbauelemente wird herausgestellt. Während in der Literatur bisher nur das Verhalten von Schwingquarzen mit beliebiger akustischer Last beschrieben ist, wird in dieser Arbeit diese theoretische Beschreibung durch Einführung eines Korrekturterms auch für Scherwellen-Oberflächenwellensensoren mit beliebiger akustischer Last erweitert.

2.4.1 Definition der akustischen Impedanz

Gegeben ist ein elastisches Medium mit der Dichte ρ und dem Elastizitätsmodul G . Die Auslenkung der Volumenelemente in x -Richtung um ihre Ruhelage ist $u_x(y, t)$. Im folgenden wird dem Formalismus in Johannsmann gefolgt [JOH91]. Zur Definition des Koordinatensystems siehe Abbildung 2.6.

Ein Gradient der Auslenkung $\partial u_x / \partial y$ führt zu der Spannung T_{xy} :

$$T_{xy} = G \frac{\partial u_x}{\partial y} \Big|_{y=0} \quad (2.7)$$

$u_x(y, t)$ muss die Wellengleichung [ROS88] erfüllen:

$$\rho \frac{\partial^2 u_x}{\partial t^2} = \frac{\partial T_{xy}}{\partial y} = G \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} \quad (2.8)$$

Die Lösung der Wellengleichung sind ebene Wellen der Form

$$u_x(y, t) = (Ae^{iky} + Be^{-iky})e^{i\omega t} \quad (2.9)$$

mit den Amplituden A , B , der Wellenzahl k und der Dichte ρ .

Diese Wellenfunktion beschreibt stehende Wellen, wie sie für Quarzresonatoren typisch sind. Es gilt:

$$v = \sqrt{\frac{G}{\rho}} \quad (2.10)$$

Die Schallgeschwindigkeit ist eine Materialkonstante, die von der Art der Auslenkung und der Ausbreitungsrichtung abhängen kann.

Aus Gründen der Vollständigkeit soll an dieser Stelle auch die Spannung für ein nicht rein elastisches Medium angegeben werden. Die Spannung ist in dissipativen Medien proportional zur zeitlichen Auslenkungsänderung, welche oft auch als Schergeschwindigkeit, oder Scherrate bezeichnet wird:

$$T_{xy} = \eta \frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial u_x}{\partial y} \right) \Big|_{y=0} \quad (2.11)$$

mit der dynamischen Viskosität η als Proportionalitätskonstante.

Neben der Schallgeschwindigkeit ist die akustische Impedanz des Mediums Z_{spez} eine wichtige Materialkonstante. Sie wird im folgenden als spezifische Impedanz bezeichnet, um sie von der nachfolgend definierten „Grenzflächenimpedanz“ unterscheiden zu können. Sie ist definiert als:

$$Z_{spez} \stackrel{def}{=} \rho \cdot v = \sqrt{\rho \cdot G} \quad (2.12)$$

Die akustische Impedanz einer Grenzfläche, in dieser Arbeit vornehmlich die Fläche zwischen Sensor und anliegendem Medium, wird allgemein definiert als Quotient aus mechanischer Spannung T_{xy} und der Auslenkungsgeschwindigkeit $\partial u_x / \partial t$:

$$Z_y \stackrel{def}{=} \frac{T_{xy}}{\partial u_x / \partial t} \quad (2.13)$$

und ist damit analog zur elektrischen Impedanz definiert:

$$Z_{el} \stackrel{def}{=} \frac{U_{el}}{\partial Q_{el} / \partial t} \quad (2.14)$$

Dabei entsprechen sich zum einen mechanische Spannung und elektrische Spannung, zum anderen Auslenkungsgeschwindigkeit und elektrischer Strom.

Wegen der Eindimensionalität ist die akustische Impedanz nur von der Variablen y in Normalenrichtung zur Oberfläche abhängig. Man kann daher von der Impedanz einer Fläche, hier der Sensoroberfläche, sprechen.

Für homogene Medien ist die akustische Impedanz gleich der spezifischen Impedanz; mit Gleichung(2.8) und (2.9) folgt nämlich:

$$Z_y = \frac{T_{xy}}{\partial u_x / \partial t} = \frac{G \cdot \partial u_x / \partial y}{\partial u_x / \partial t} = \frac{G i k u_x}{i \omega u_x} = \sqrt{\rho \cdot G} = Z_{spez} \quad (2.15)$$

Es gibt unterschiedliche Konventionen bzgl. der Behandlung der Ausbreitungsebene A der Scherwelle. Kräfte und akustische Impedanzen werden in dieser Arbeit auf die Fläche A normiert, elektrische Impedanzen jedoch nicht. Die hier verwendete, nicht auf die Fläche A normierte akustische Impedanz $A \cdot Z$ soll mechanische Impedanz Z_{mech} heißen.

Die akustische Impedanz verknüpft die Partikelgeschwindigkeit $\partial u_x / \partial t$ der Welle mit der Impulsstromdichte P und der Energiestromdichte I über die Gleichungen:

$$P = Z_{spez} \cdot \frac{\partial u_x}{\partial t} \quad I = \frac{1}{2} Z_{spez} \cdot \left(\frac{\partial u_x}{\partial t} \right)^2 \quad (2.16)$$

Physikalisch relevant wird die akustische Impedanz an der Grenzfläche zweier Medien. Dort müssen Impuls- und Energiestromdichte erhalten sein. Dieses ist äquivalent zu der Stetigkeit der Auslenkungen $u_x(y, t)$ und der Spannung T_{xy} an der Grenzfläche [JOH91].

In dieser Arbeit werden nur eindimensionale Modelle mit jeweils einer Schwingungsmoden betrachtet, deshalb ist immer nur ein Tensorelement von Bedeutung und der Tensorcharakter der Impedanz und der anderen komplexen Größen braucht nicht berücksichtigt werden.

2.4.2 Stehende und laufende akustische Wellen

Sämtliche in dieser Arbeit verwendete Sensoren führen an der Grenzfläche zum anliegenden Messmedium Scheroszillationen (x-Richtung in Abbildung 2.6) aus. Dennoch unterscheiden sich Oberflächenwellensensoren und Schwingquarzsensoren darin, dass ein Schwingquarzsensoren ein Resonator mit stehenden akustischen Wellen ist, während auf einem Oberflächenwellensensoren in der hier verwendeten Delay-line-Anordnung eine kontinuierliche Ausbreitung der akustischen Wellen in z-Richtung stattfindet.

Die unterschiedliche Art der Wellenausbreitung wirkt sich auf die Berechnung der akustischen Impedanz aus. Die Wellenfunktion $u_x(y, z, t)$ beschreibt eine Scherwelle (Auslenkung in x-Richtung), die sich in z-Richtung ausbreitet. Sie muss folgende Wellengleichung erfüllen [AUL90][MAR94] :

$$\rho \frac{\partial^2 u_x}{\partial t^2} = \frac{\partial T_{xy}}{\partial y} + \frac{\partial T_{xz}}{\partial z} = G \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} + G \frac{\partial^2 u_x}{\partial z^2} \quad (2.17)$$

Eine harmonische Zeitabhängigkeit $e^{i\omega t}$ und Ausbreitung in z-Richtung $e^{-ik_0 z}$ der Welle vorausgesetzt ($k_0 = \omega/v_0$), ergibt sich

$$\underbrace{\left(\rho - \frac{G}{v_0^2}\right)}_{\rho_{korr}} \frac{\partial^2 u_x}{\partial t^2} = \frac{\partial T_{xy}}{\partial y} = G \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} \quad (2.18)$$

dabei ist v_0 die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Oberflächenwelle.

Gleichung (2.18) ist damit bis auf den Korrekturfaktor ρ_{korr} identisch mit der Wellengleichung für stehende Wellen (2.8) und kann mit dem Lösungsansatz (2.9) gelöst werden.

In der Literatur wird das Konzept zur Ableitung von Schichteigenschaften durch die Beziehung zwischen den Messparametern und der akustischen Impedanz zwar des öfteren für Quarzresonatoren angegeben, kaum aber für Oberflächenwellensensoren. In dieser Arbeit wird mithilfe des Korrekturfaktors ρ_{korr} dieses Konzept auch auf Oberflächenwellensensoren angewendet.

Zur Berechnung der akustischen Impedanz verschiedener Schichten im folgenden Abschnitt wird der Korrekturfaktor in folgender Weise definiert:

$$\rho_{korr} = \begin{cases} \rho & \text{für QCM (stehende Wellen)} \\ \rho - \frac{G}{v_0^2} = \rho \left(1 - \frac{v_S^2}{v_0^2}\right) & \text{für SAW (laufende Wellen)} \end{cases} \quad (2.19)$$

mit der Dichte ρ und dem Elastizitätsmodul G des Ausbreitungsmediums sowie den Wellengeschwindigkeiten v_S im anliegenden Medium und v_0 der Oberflächenwelle.

Die Beschränkung auf elastische Systeme wird im folgenden nicht weitergeführt und viskose Energiedissipation erlaubt. Dies geschieht über den Imaginärteil G'' des komplexen Elastizitätsmoduls $\hat{G} = G' + iG''$. Wellenzahl \hat{k} , Schallgeschwindigkeit \hat{v} und die akustische Impedanz \hat{Z} werden komplex².

2.4.3 Impedanz einer viskoelastischen Schicht

In diesem Abschnitt wird die Impedanz einer viskoelastischen Schicht mit einer definierten Dicke abgeleitet. Abbildung 2.6 verdeutlicht schematisch die Verhältnisse.

Eine Schicht ist akustisch endlich dick, wenn die Dicke kleiner als einige Eindringtiefen ist [BAN99]. Dann wird die an der Grenzfläche Sensor/Schicht erzeugte akustische Welle an der Grenzfläche Schicht/Luft reflektiert und die Schwingung des Resonators wird durch die Dicke des Films beeinflusst.

² Komplexe Größen werden im folgenden mit dem Operator „ $\hat{}$ “ versehen.

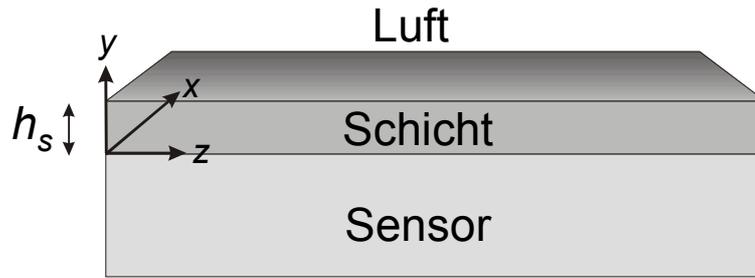


Abbildung 2.6: Viskoelastische Schicht auf einem Sensor.

Die Wellengleichung lautet (2.8):

$$\rho_{korr} \cdot \ddot{u}_x = \hat{G} \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} \quad (2.20)$$

mit dem komplexen Elastizitätsmodul der Schicht $\hat{G} = G' + iG''$, wobei G' die Energiespeicherung (Speichermodul) und $G'' = \omega \cdot \eta$ die Energieverluste (Verlustmodul) beschreibt. ρ_{korr} ist die korrigierte Schichtdichte aus Gleichung (2.19).

Als Lösung der Wellengleichung ergeben sich ebene Wellen (2.9) mit der komplexen Wellenzahl:

$$\hat{k} = \omega \sqrt{\rho_{korr} / \hat{G}} \quad (2.21)$$

Durch folgende zwei Randbedingungen werden die Integrationskonstanten A , B in Gleichung (2.9) bestimmt:

- i) $u_x(0) = u_{x0}$ d.h. Kontinuität der Auslenkung an der Grenzfläche Sensor/Schicht
- ii) $\hat{T}_{xy}(h_s) = 0$ d.h. die obere Grenzfläche Schicht/Luft ist spannungsfrei, dabei ist h_s die Schichtdicke.

Die Lösung der Wellengleichung lautet dann:

$$u_x(y, t) = u_{x0} \left(\frac{e^{i\hat{k}(h_s-y)} + e^{-i\hat{k}(h_s-y)}}{e^{i\hat{k}h_s} + e^{-i\hat{k}h_s}} \right) e^{i\omega t} \quad (2.22)$$

Mit $v_x = \dot{u}_x = i\omega u_x$ sowie $-\tanh(ix) = \tanh(-ix) = i \cdot \tan(x)$ und (2.22) in (2.13) ergibt sich die akustische Impedanz der Grenzfläche Sensor/viskoelastische Schicht zu:

$$\hat{Z}_s = \sqrt{\hat{G} \cdot \rho_{korr}} \cdot \tanh(-i\hat{k} \cdot h_s) = i\sqrt{\hat{G} \cdot \rho_{korr}} \cdot \tan(\hat{k} \cdot h_s) \quad (2.23)$$

Die Eindringtiefe δ der akustischen Welle in das viskoelastische Medium wird in dieser Arbeit durch folgende Beziehung abgeschätzt:

$$\delta = \frac{1}{\text{Re}(\hat{k})} \quad (2.24)$$

mit der komplexen Wellenzahl \hat{k} .

2.4.4 Impedanz einer idealen elastischen Schicht

Ein Film, der genügend dünn und starr ist, um keine akustische Phasenänderung innerhalb der Schicht zu erzeugen, kann als ideale elastische Schicht angesehen werden. In diesem Fall schwingt die ganze Schicht synchron mit der Quarzoberfläche.

Für kleine Schichtdicken h_s kann der Tangens in Gleichung (2.23) linearisiert werden ($\tan x \approx x$).

Mit Gleichung (2.13) ergibt sich die akustische Impedanz einer idealen elastischen Schicht:

$$\hat{Z}_s = i\omega h_s \rho_{korr} \quad (2.25)$$

mit ρ_{korr} der korrigierten Schichtdichte aus Gleichung (2.19).

2.4.5 Impedanz einer viskoelastischen Flüssigkeit

Eine viskoelastische Flüssigkeit zeigt im Gegensatz zur im Anschluss behandelten newtonschen Flüssigkeit viskose und elastische Eigenschaften. Aus diesem Grund kann sie physikalisch wie eine viskoelastische Schicht mit unendlich großer Dicke behandelt werden. Eine Serienschaltung eines viskosen und eines elastischen Mediums dient im sogenannten Maxwellmodell zur Beschreibung des physikalischen Verhaltens einer viskoelastischen oder maxwellschen Flüssigkeit (Abbildung 2.7).

Eine maxwellsche Flüssigkeit zeigt unter Scherbeanspruchung einen Relaxationsprozess erster Ordnung, d. h. die Reorientierungszeit τ_s der Moleküle nach Scherbelastung ist zu berücksichtigen.

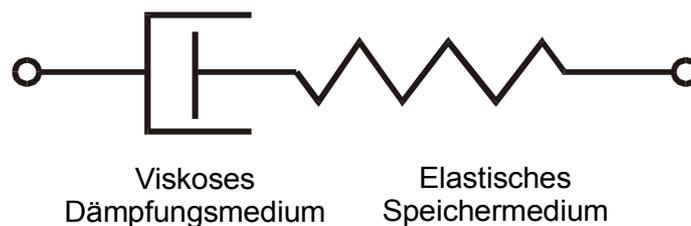


Abbildung 2.7: Maxwell-Modell für eine viskoelastische Flüssigkeit

Der Elastizitätsmodul nimmt bei oszillierender Scherbeanspruchung folgende Form an:

$$\hat{G}(\omega) = G' + iG'' = G'(\omega) + i\omega\eta'(\omega) \quad (2.26)$$

mit dem dynamischen Elastizitätsmodul $G'(\omega)$, der dynamischen Viskosität $\eta'(\omega)$. Sowohl der Elastizitätsmodul als auch die Viskosität werden frequenzabhängig.

Zuweilen wird auch eine komplexe Viskosität definiert [BÖH81]:

$$\hat{\eta}(\omega) = \eta'(\omega) - i\eta''(\omega) \text{ mit } \hat{G}(\omega) = i\omega\hat{\eta} \quad (2.27)$$

Eine wichtige Größe ist ferner der Verlustwinkel ξ , welcher definiert ist als:

$$\tan \xi \stackrel{\text{def}}{=} \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} = \frac{\omega\eta''(\omega)}{G'(\omega)} = \frac{1}{\omega\tau_s} \quad (2.28)$$

Mason zeigt, dass unter Berücksichtigung der Relaxation bei Scherbeanspruchung Gleichung (2.26) folgende Form annimmt [MAS65].

$$\hat{G}(\omega) = G'(\omega) + i\omega\eta'(\omega) = \frac{G_\infty\omega^2\tau_s^2}{1 + \omega^2\tau_s^2} + i\omega\frac{G_\infty\tau_s}{1 + \omega^2\tau_s^2} \quad (2.29)$$

mit den nachfolgend definierten Größen:

- frequenzunabhängiger Hochfrequenz-Elastizitätsmodul (Federmodul) $G_\infty = \lim_{\omega \rightarrow \infty} G'(\omega)$
- statische Viskosität (auch Nullviskosität) $\eta_l = \lim_{\omega \rightarrow 0} \eta'(\omega)$
- Relaxationszeitkonstante τ_s aus der Beziehung (2.28) bzw. $\tau_s = \eta_l/G_\infty$

Abbildung 2.8 zeigt den auf G_∞ normierten Real- bzw. Imaginärteil des Elastizitätsmoduls als Funktion des Produkts $\omega\tau_s$.

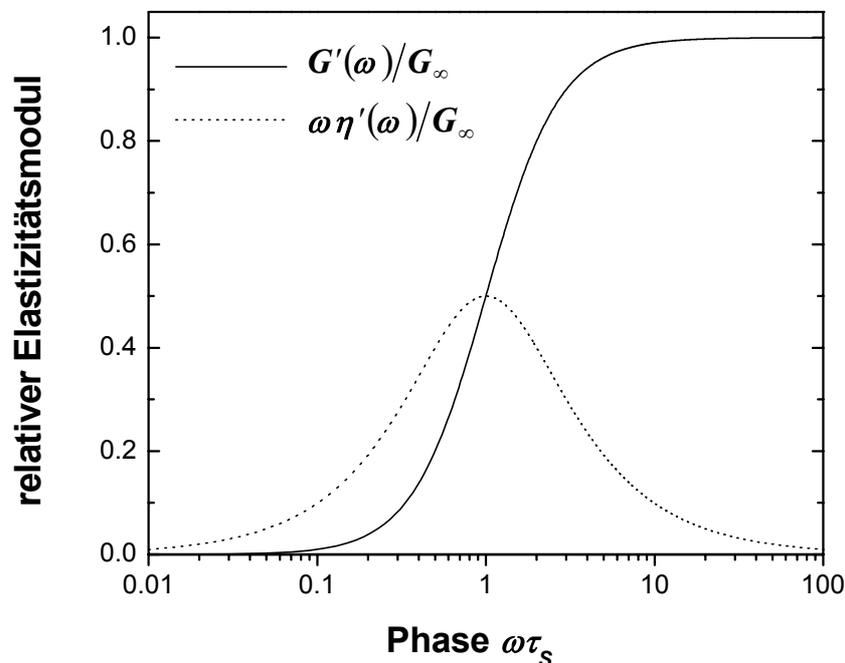


Abbildung 2.8: Der Einfluss des Relaxationseffekts nach dem Maxwellmodell auf den dynamischen Elastizitätsmodul $\hat{G} = G' + i\omega\eta'$.

Ein wichtiges Kriterium zur Charakterisierung des Messmediums ist das Produkt $\omega\tau_s$. Folgende Grenzfälle einer maxwellschen Flüssigkeit können unterschieden werden:

- i) $\omega\tau_s \ll 1$: Newtonsche Flüssigkeit mit $G'(\omega)=0$, $\eta'(\omega)=\eta_l$, $G_\infty=\infty$
- ii) $\omega\tau_s \approx 1$: Maxwellsche Flüssigkeit mit elastischen und dissipativen Eigenschaften
- iii) $\omega\tau_s \gg 1$: Elastischer Festkörper mit $G'(\omega)=G_\infty$, $\eta'(\omega)=0$

Eine maxwellsche Flüssigkeit ist durch die Relaxationskonstante τ_s bzw. den Hochfrequenz-Elastizitätsmodul G_∞ und die Nullviskosität η_l eindeutig bestimmt. Die durch herkömmliche niederfrequente Viskosimeter [SCH95] bestimmte Viskosität ist mit der Nullviskosität η_l identisch.

Die akustische Impedanz einer viskoelastischen Flüssigkeit kann ausgehend von der Impedanz eines viskoelastischen Films gefunden werden. Die Flüssigkeitsschicht habe unendliche Dicke. Die korrigierte Dichte ρ_{korr} aus Gleichung (2.19) ist ungefähr die Flüssigkeitsdichte ρ_l , da die Wellengeschwindigkeit in Flüssigkeit kleiner ist als im Quarzsubstrat³. Die Wellenausbreitung ist unidirektional und Gleichung (2.22) vereinfacht sich zu:

$$u_x(y,t) = u_{x0} e^{-i\hat{k}y} e^{i\omega t} \quad (2.30)$$

mit der komplexen Wellenzahl

$$\hat{k} \cong \omega \sqrt{\rho_l / \hat{G}} = \sqrt{\frac{\omega^2 \rho_l}{G_\infty} - i \frac{\omega \rho_l}{\eta_l}} \quad (2.31)$$

In dieser Arbeit wird die Eindringtiefe der akustischen Welle in das viskoelastische Fluid aus der komplexen Wellenzahl (2.31) nach Gleichung (2.24) bestimmt.

Wegen $\tanh(-i\hat{k}h_s) \approx 1$ für große Schichtdicken h_s folgt mit Gleichung (2.23) die akustische Impedanz eines viskoelastischen Fluids zu:

$$\hat{Z}_s = \sqrt{\hat{G} \cdot \rho_l} = \sqrt{\frac{\rho_l G_\infty \omega^2 \tau_s^2}{1 + \omega^2 \tau_s^2} + i \omega \frac{\rho_l G_\infty \tau_s}{1 + \omega^2 \tau_s^2}} \quad (2.32)$$

mit der Flüssigkeitsdichte ρ_l .

2.4.6 Newtonsche Flüssigkeiten

Newtonsche Flüssigkeiten zeigen rein viskose (dissipative) Eigenschaften und können als Grenzfall einer viskoelastischen Flüssigkeit mit $\omega\tau_s \ll 1$ angesehen werden. Dann folgt $G'(\omega)=0$, $\eta'(\omega)=\eta_l$ sowie $G_\infty=\infty$.

³ Diese Näherung ist für die verwendeten Sensoren bis 102 MHz und maximalen Viskositäten von 100 mPa·s sicher gültig.

Der komplexe Wellenvektor wird zu:

$$\hat{k} = i \sqrt{\frac{\omega \rho_l}{2 \eta_l}} \cdot (1 + i) \quad (2.33)$$

und beschreibt eine evaneszente Scherwelle, die in das Fluid eindringt mit einer Eindringtiefe von:

$$\delta = \sqrt{\frac{2 \eta_l}{\omega \rho_l}} \quad (2.34)$$

Die akustische Impedanz ergibt sich aus Gleichung (2.32) zu:

$$\hat{Z}_s = \sqrt{\frac{\omega \rho_l \eta_l}{2}} \cdot (1 + i) \quad (2.35)$$

mit der Flüssigkeitsdichte ρ_l und der Flüssigkeitsviskosität η_l .

Real- und Imaginärteil der akustischen Impedanz sind im Fall newtonscher Flüssigkeiten gleich groß.

2.5 Schwingquarzsensoren

Die Messgrößen Frequenzänderung und Dämpfung eines Quarzresonators werden mit den im vorigen Abschnitt definierten akustischen Impedanzen des angrenzenden Mediums verknüpft. Auf diese Weise können die mechanischen Eigenschaften (Dichte, Viskosität, Elastizität) des anliegenden Mediums direkt bestimmt werden. Die Gleichungen von Sauerbrey und Kanazawa können als Grenzfälle gewonnen werden.

2.5.1 Akustische Lasten

Zur Auswertung der Experimente ist es notwendig, die akustische Last mit den Messparametern in Beziehung zu setzen. Dazu werden die Eigenfrequenzen des gekoppelten Quarz-Probe-Systems mit den Wellengleichungen der Probe (2.8) und des Quarzes (3.2) bestimmt. Aus der Forderung nach Stetigkeit der Auslenkung und der mechanischen Spannung an der Grenzschicht Sensor-Probe ergibt sich die charakteristische Gleichung [EGG87]⁴:

$$\tan k_q d_q = \tan \pi \frac{f}{f_0} = i \frac{\hat{Z}_{Last}}{Z_q} \quad (2.36)$$

mit der spezifischen akustischen Impedanz von Quarz $Z_q = \sqrt{c_{66} \rho_q}$ und der elektrisch gemessenen Serienresonanzfrequenz des belasteten und unbelasteten Quarzes f bzw. f_0 .

Die Resonanzfrequenz wird bei Berücksichtigung der Dämpfung komplex [SCH69]:

$$\hat{f} = f + i\Gamma \quad (2.37)$$

Die Dämpfung entspricht der halben Halbwertsbreite der Resonanzkurve: $\Gamma = \Delta f_{HBW} / 2$ (Kapitel 5.3.1).

Für kleine Änderungen von der Resonanzfrequenz ist $\hat{f} = f_0 + \Delta \hat{f}$, mit der Resonanzfrequenzänderung:

$$\Delta \hat{f} = \Delta f + i\Delta \Gamma \quad (2.38)$$

Der Tangens in Gleichung (2.36) kann bei kleinen Änderungen linearisiert werden und es ergibt sich:

$$\frac{\Delta \hat{f}}{f_0} \cong \frac{i}{\pi} \frac{\hat{Z}_{Last}}{Z_q} \quad (2.39)$$

⁴ Die charakteristische Gleichung kann auch aus dem Mason-Modell in Kapitel 3.1 abgeleitet werden [JOH91].

Diese wichtige Beziehung erlaubt es, die akustische Impedanz der Probe und damit deren physikalischen Eigenschaften direkt mit Frequenzverschiebung Δf und Dämpfungsänderung $\Delta\Gamma$ von Quarzresonatoren in Beziehung zu setzen:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{\text{Im}(\hat{Z}_{Last})}{\pi Z_q} \quad \text{und} \quad \frac{\Delta\Gamma}{f_0} = \frac{\text{Re}(\hat{Z}_{Last})}{\pi Z_q} \quad (2.40)$$

2.5.2 Schichtsysteme

Viskoelastische Schichten

Für viskoelastische Schichtsysteme folgt mit der Beziehung (2.39) und der akustischen Impedanz (2.23) die komplexe Frequenzänderung für eine viskoelastische Schicht:

$$\hat{\Delta f} = \Delta f + i\Delta\Gamma = -f_0 \frac{\sqrt{\hat{G}_s \cdot \rho_s}}{\pi \sqrt{c_{66} \cdot \rho_q}} \cdot \tan\left(2\pi f_0 h_s \sqrt{\frac{\rho_s}{\hat{G}_s}}\right) \quad (2.41)$$

mit ρ , G der Dichte und dem Elastizitätsmodul und den Indices q , s für Quarz und Schicht.

Frequenzänderung Δf und Dämpfung $\Delta\Gamma$ können somit bei bekannten physikalischen Schichtparametern numerisch bestimmt werden. Abbildung 2.9 zeigt den berechneten Imaginärteil und Realteil der akustischen Impedanz bei vorgegebener Dicke von $1 \mu\text{m}$ und Frequenz ω von 10^8 s^{-1} als Funktion des Elastizitätsmoduls $\hat{G} = G + i\omega\eta$. Der Speichermodul G wurde von 0 bis 7 MPa und der Verlustmodul $\omega\eta$ von 0 bis 10 MPa variiert. Der Imaginärteil der akustischen Impedanz ist dabei proportional zur Frequenzänderung und der Realteil zur Dämpfungsänderung. Elastische Filme liegen über der G -Achse ($\eta=0$), Flüssigkeiten liegen über der $\omega\eta$ -Achse ($G=0$). Ist $\hat{k} \cdot h_s = n\pi/2$, dann tritt das Phänomen der Schichtresonanz auf [LUC97][MAR94]. An der Resonanzstelle steigt, wie am berechneten Graphen in Abbildung 2.9 zu sehen ist, die Resonanzfrequenz sprunghaft an und kann sogar die Frequenz des freien Quarzes übersteigen. Die Dämpfung wird an der Resonanzstelle maximal.

Dünne Schichten

Aus der akustischen Impedanz für dünne homogene Schichten (2.25) folgt mit Gleichung (2.40):

$$\Delta f \cong -\frac{2f_0^2}{\sqrt{c_{66} \cdot \rho_q}} \underbrace{\rho_s h_s}_{\Delta m} \stackrel{def}{=} -C_f \cdot \Delta m \quad (2.42)$$

$$\Delta\Gamma \cong 0$$

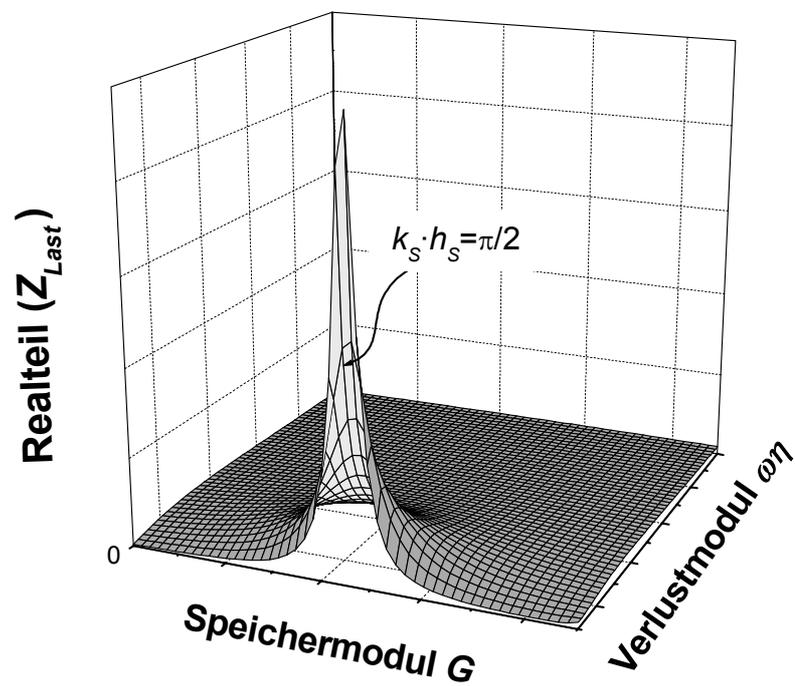
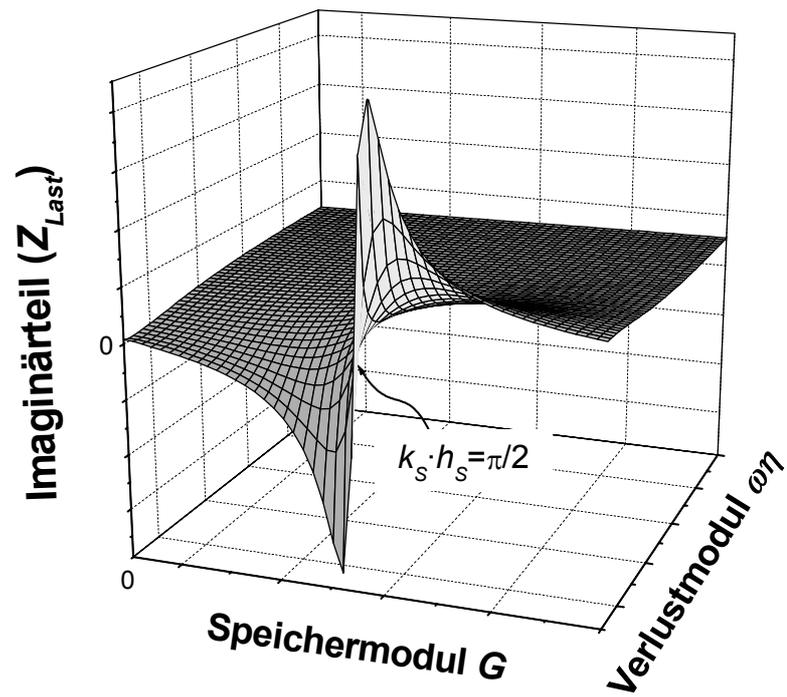


Abbildung 2.9: Berechnung der Schichtresonanz einer viskoelastischen Schicht als Funktion des Elastizitätsmoduls $\hat{G} = G' + i\omega\eta$. Die Frequenzänderung und Dämpfung eines Quarzresonators ist proportional zum dargestellten Imaginärteil bzw. Realteil der akustischen Impedanz der Schicht.

Dabei ist f_0 die Resonanzfrequenz der Grundschiwingung, Δm die Massenbelegung pro Fläche [ng/cm^2], ρ_q die Quarzdichte, c_{66} die Schersteifigkeit des Quarzes, ρ_s die Dichte, h_s die Schichtdicke und C_f die Schichtwäageempfindlichkeit [$cm^2 \cdot Hz/ng$]⁵.

Dies ist die von Sauerbrey vorgestellte Näherung für dünne Filme [SAU59]. Eine elastische Schichtanlagerung führt zu keiner Dämpfung des Quarzresonators. Die Schichtwäageempfindlichkeiten der, in dieser Arbeit verwendeten, Sensoren sind in Tabelle 2.1 angegeben. Es liegt eine quadratische Abhängigkeit der Empfindlichkeitskonstanten von der Resonanzfrequenz vor.

| QCM | 10 | 19 | 39 | 56 | 63 | 70 | 111 |
|------------------------------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| C_f [$cm^2 \cdot Hz/ng$] | 0,23 | 0,81 | 3,45 | 7,12 | 8,91 | 11,12 | 27,98 |

Tabelle 2.1: Schichtwäageempfindlichkeiten der verwendeten Schwingquarzsensoren.

Betrachtet man nun keine homogene, den ganzen Quarz bedeckende Fremdschicht, sondern nur punktuelle Massenbelegung (mit der Masse ΔM [ng]) auf einer Quarzscheibe, dann ist die differentielle Schichtwäageempfindlichkeit definiert als:

$$c_f = \frac{\Delta f}{\Delta M} \quad (2.43)$$

Die integrale Schichtwäageempfindlichkeit aus Gleichung (2.42) ergibt sich dann durch Integration über die gesamte Plattenoberfläche F :

$$C_f = \int_F c_f dF \quad (2.44)$$

2.5.3 Flüssigkeitslasten

Maxwellsche Flüssigkeiten

Das Maxwellmodell (2.32) liefert mit der Beziehung (2.39) die komplexe Frequenzverschiebung für maxwellsche Flüssigkeiten

$$\Delta \hat{f} = \Delta f + i\Delta \Gamma = i \cdot f_0 \frac{\sqrt{\rho_l (G'(\omega) + i\omega \eta'(\omega))}}{\pi \sqrt{c_{66} \cdot \rho_q}} \quad (2.45)$$

mit der Resonanzfrequenz der Grundschiwingung f_0 , der Kreisfrequenz $\omega = 2\pi f_0$, der Dichte ρ_q und der Schersteifigkeit c_{66} des Quarzes sowie der Flüssigkeitsdichte ρ_l .

⁵ Formel (2.42) gilt nur für die Grundschiwingung. Für die n-te Oberschiwingung ist f_0^2 durch $n \cdot f_0^2$ zu ersetzen.

Die frequenzabhängige Viskosität $\eta'(\omega)$ und Elastizität $G'(\omega)$ der Flüssigkeit können aus (2.45) direkt bestimmt werden:

$$\begin{aligned} G'(\omega) &= \frac{\pi^2 \rho_q c_{66}}{f_0^2 \rho_l} (\Delta\Gamma^2 - \Delta f^2) \\ \eta'(\omega) &= -\frac{\pi \rho_q c_{66}}{f_0^3 \rho_l} (\Delta\Gamma \cdot \Delta f) \end{aligned} \quad (2.46)$$

In dieser Arbeit wird die Zeitkonstante der Relaxation τ_s , die statische Viskosität η_l und der Hochfrequenz-Elastizitätsmodul G_∞ sukzessive mithilfe von Gleichung (2.29) aus (2.46) berechnet.

$$\tau_s = \frac{G'(\omega)}{\omega^2 \eta'(\omega)}, \quad \eta_l = \eta'(\omega) (1 + \omega^2 \tau_s^2) \quad \text{und} \quad G_\infty = \frac{\eta_l}{\tau_s} \quad (2.47)$$

Auf diese Weise kann eine maxwellsche Flüssigkeit durch Messung der Frequenzänderung Δf und der Dämpfungsänderung $\Delta\Gamma$ bei bekannter Flüssigkeitsdichte vollständig charakterisiert werden.

Newtonsche Flüssigkeiten

Im Fall von newtonschen Flüssigkeiten (rein viskose Eigenschaften) folgt mit der akustischen Impedanz (2.35) und der Beziehung (2.40) die Frequenz- und Dämpfungsänderung:

$$\begin{aligned} \Delta f &= -f_0^{\frac{3}{2}} \cdot \sqrt{\frac{\rho_l \eta_l}{\pi \cdot \rho_q c_{66}}} \stackrel{def}{=} -C_l \sqrt{\rho_l \eta_l} \\ \Delta\Gamma &= f_0^{\frac{3}{2}} \cdot \sqrt{\frac{\rho_l \eta_l}{\pi \cdot \rho_q c_{66}}} \stackrel{def}{=} C_l \sqrt{\rho_l \eta_l} \end{aligned} \quad (2.48)$$

mit der Resonanzfrequenz der Grundschiwingung $f_0 = \omega_0 / (2\pi)$, der Dichte ρ_q und der Schersteifigkeit c_{66} von Quarz, der Dichte ρ_l und die Viskosität η_l der Flüssigkeit sowie der Flüssigkeitsempfindlichkeit $C_l [m^2 / kg \sqrt{s}]$.

Dies ist die von Kanazawa et al. abgeleitete Beziehung für rein viskose Flüssigkeiten [KAN85]⁶.

⁶ Diese Formel gilt für die Grundschiwingung. Für die n-te Oberschiwingung ist $f_0^{3/2}$ durch $\sqrt{n} \cdot f_0^{3/2}$ zu ersetzen.

2.6 Oberflächenwellensensoren

Bei den in dieser Arbeit verwendeten Oberflächenwellensensoren wird die Oberflächenlokalisierung der horizontal polarisierten Oberflächenscherwelle und damit auch die Empfindlichkeit stark von der Metallisierung beeinflusst. Ein transzendentes Modell zur Beschreibung der Sensoreigenschaften ist deshalb schwierig zu erstellen. In dieser Arbeit werden jedoch, ähnlich wie bei Schwingquarzen, die Messgrößen, nämlich die Änderung der Geschwindigkeit und der Dämpfung der laufenden Oberflächenwelle, mit den in Abschnitt 2.4 definierten akustischen Impedanzen der angrenzenden Medien verknüpft. Die Proportionalitätskonstanten für die verwendeten SAW-Sensoren werden in dieser Arbeit durch Simulationsrechnungen bestimmt. Ein von Leidl und Drobe entwickeltes Simulationsprogramm gestattet es, die Messgrößen, Geschwindigkeitsänderung und Dämpfung, für beliebige Schichtsysteme numerisch zu berechnen (Anhang B). Auf diese Weise kann der Einfluss der mechanischen Eigenschaften (Dichte, Viskosität, Elastizität, Schichthöhe) des anliegenden Mediums auf die Sensorsignale modelliert werden. Im Gegensatz zu den in der Literatur erwähnten Modellen ist in dieser Arbeit mithilfe der modellierten Empfindlichkeitskonstanten eine exakte Beschreibung des anliegenden Mediums auf SAW-Sensoren möglich. Bei Kenntnis der Messgrößen kann somit auf die physikalischen Eigenschaften des anliegenden Mediums geschlossen werden.

2.6.1 Akustische Lasten

Zur Auswertung der Experimente ist es notwendig, die physikalischen Eigenschaften der akustischen Lasten mit den Messparametern in Beziehung zu setzen. Eine Oberflächenwelle kann durch die Wellenzahl $k = \omega/v$ sowie die Dämpfung α charakterisiert werden ($\omega = 2\pi f$, v Ausbreitungsgeschwindigkeit). Wie in den vorherigen Abschnitten wird die Dämpfung als Imaginärteil einer komplexen Größe, in diesem Fall der komplexen Wellenzahl aufgefasst [AUL90]:

$$\hat{k} \stackrel{def}{=} -k + i\alpha \quad (2.49)$$

Die ebene Welle $e^{i\hat{k}z + i\omega t}$ beschreibt dann die örtliche und zeitliche Ausbreitung der Oberflächenwelle in z-Richtung. Die Wechselwirkung der Oberflächenwelle mit anliegenden Medien resultiert in einer Änderung der Wellenausbreitung:

$$\frac{\Delta\hat{k}}{k} = \frac{\Delta v}{v} + i \frac{\Delta\alpha}{k} \quad (2.50)$$

Gleichung (2.50) wurde durch Bildung des totalen Differentials von $\hat{k} = \hat{k}(v, \alpha)$ erhalten. Die relative Änderung der Ausbreitungsgeschwindigkeit $\Delta v/v$ sowie die relative Änderung der Dämpfung $\Delta\alpha/k$ können experimentell bestimmt werden.

Auld konnte folgenden Zusammenhang zwischen den Messparametern und der akustischen Impedanz \hat{Z}_{Last} anliegender Medien aufzeigen [AUL90]:

$$\frac{\Delta \hat{k}}{k} \cong i C(\omega) \cdot \hat{Z}_{Last} \quad (2.51)$$

dabei ist $C(\omega)$ eine frequenzabhängige Konstante, die abhängig vom Leistungsfluss aus dem Quarzsubstrat in das angrenzende Medium ist. $C(\omega)$ wird in den folgenden Abschnitten durch Simulation des Sensorverhaltens bestimmt. \hat{Z}_{Last} ist die in Abschnitt (2.4) bestimmte akustische Impedanz angrenzender Medien.

Für die Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ und Dämpfungsänderung $\Delta \alpha/k$ folgt somit:

$$\frac{\Delta v}{v} = -C(\omega) \cdot \text{Im}(\hat{Z}_{Last}) \quad \text{und} \quad \frac{\Delta \alpha}{k} = C(\omega) \cdot \text{Re}(\hat{Z}_{Last}) \quad (2.52)$$

2.6.2 Flüssigkeitslasten

Newtonsche Flüssigkeiten

Im Fall von newtonschen Flüssigkeiten (rein viskose Eigenschaften) folgt mit der akustischen Impedanz (2.35) und der Beziehung (2.52) die Änderung der Geschwindigkeit $\Delta v/v$ und Dämpfung $\Delta \alpha/k$ der Oberflächenwelle:

$$\begin{aligned} \frac{\Delta v}{v} &\cong -C(\omega) \sqrt{\frac{\omega \rho_l \eta_l}{2}} \stackrel{def}{=} -C_{Lv}(\omega) \sqrt{\rho_l \eta_l} \\ \frac{\Delta \alpha}{k} &\cong C(\omega) \sqrt{\frac{\omega \rho_l \eta_l}{2}} \stackrel{def}{=} C_{L\alpha}(\omega) \sqrt{\rho_l \eta_l} \end{aligned} \quad (2.53)$$

mit ρ_l und η_l Dichte und Viskosität der Flüssigkeit. $C_{L\alpha}$, C_{Lv} sind die frequenzabhängigen Flüssigkeitsempfindlichkeiten [$m^2 \sqrt{s/kg}$].

Die Flüssigkeitsempfindlichkeiten der verwendeten SAW-Sensoren wurden mithilfe des Simulationsprogramms bestimmt, indem die Geschwindigkeitsänderung und die Dämpfungsänderung zwischen zwei angenommenen Flüssigkeiten mit $\eta=1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ und $\eta=4 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, $\rho=1000 \text{ kg/m}^3$ berechnet wurde. Die Empfindlichkeitskonstanten $C_{L\alpha}$ und C_{Lv} sind aufgrund der Simulationsergebnisse nicht identisch. Abbildung 2.10 zeigt diese berechneten Empfindlichkeiten in Abhängigkeit der Metallisierungshöhe von SAW-Sensoren. Es ist zu dabei zu beachten, dass die Resonanzfrequenz der Sensoren abhängig ist von der Wellenlänge der Sensoren und von der Höhe der Metallisierung h_M (Gleichung 3.19).

In Tabelle 2.2 sind die berechneten Flüssigkeitsempfindlichkeiten $C_{L\alpha}$, C_{Lv} für die in dieser Arbeit verwendeten Oberflächenwellensensoren mit Wellenlängen von 48 und 72 μm und einer Metallisierungshöhe von 385 nm angegeben.

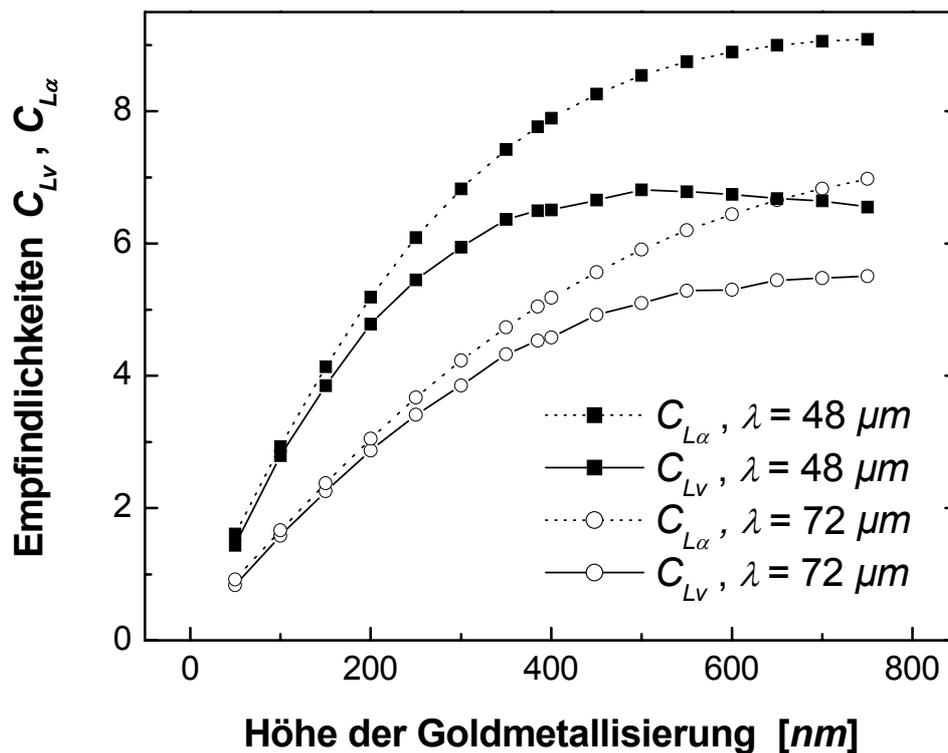


Abbildung 2.10: Berechnete Flüssigkeitsempfindlichkeiten $C_{L\alpha}$, C_{Lv} [$10^{-4} \cdot \sqrt{s/m^2 kg}$] in Abhängigkeit der Metallisierungshöhe für SAW-Sensoren mit Wellenlängen von 48 und 72 μm .

| SAW-Sensor | C_{Lv} | $C_{L\alpha}$ |
|---|----------|---------------|
| 102 MHz ($\lambda=48 \mu m$, $h_M=385 nm$) | 6,50 | 7,76 |
| 69 MHz ($\lambda=72 \mu m$, $h_M=385 nm$) | 4,53 | 5,05 |

Tabelle 2.2: Flüssigkeitsempfindlichkeiten $C_{L\alpha}$, C_{Lv} [$10^{-4} \cdot \sqrt{s/m^2 kg}$] der in dieser Arbeit verwendeten Sensoren mit der Wellenlänge λ und der Metallisierungshöhe h_M .

Durch numerische Rechnungen mithilfe des Simulationsprogramms wurde die Frequenzabhängigkeit der Empfindlichkeitskonstanten zu C_{Lv} , $C_{L\alpha} \propto \omega^{3/2}$ bestimmt.

Maxwellsche Flüssigkeiten

Das Maxwellmodell (2.32) liefert mit der Beziehung (2.51) die komplexe Geschwindigkeits- und Dämpfungsänderung $\Delta \hat{k}/k$ für maxwellsche Flüssigkeiten:

$$\frac{\Delta \hat{k}}{k} = i \cdot C(\omega) \sqrt{\rho_l (G'(\omega) + i\omega \eta'(\omega))} \quad (2.54)$$

Die Proportionalitätskonstante $C(\omega)$ kann in guter Näherung durch die für newtonsche Flüssigkeiten gefundenen Empfindlichkeitskonstanten ausgedrückt werden, da es sich bei newtonschen Flüssigkeiten um einen Spezialfall viskoelastischer Flüssigkeiten handelt:

$$\begin{aligned}\frac{\Delta v}{v} &= -C_{Lv} \frac{2}{\sqrt{\omega}} \cdot \operatorname{Im}\left(\sqrt{\rho_l(G'(\omega) + i\omega\eta'(\omega))}\right) \\ \frac{\Delta\alpha}{k} &= C_{L\alpha} \frac{2}{\sqrt{\omega}} \cdot \operatorname{Re}\left(\sqrt{\rho_l(G'(\omega) + i\omega\eta'(\omega))}\right)\end{aligned}\quad (2.55)$$

Die frequenzabhängige Viskosität $\eta'(\omega)$ und Elastizität $G'(\omega)$ der Flüssigkeit wird in dieser Arbeit damit direkt bestimmt zu:

$$\begin{aligned}G'(\omega) &= \frac{\omega}{2 \cdot C_{L\alpha} C_{Lv} \rho_l} \left(\left(\frac{\Delta\alpha}{k} \right)^2 - \left(\frac{\Delta v}{v} \right)^2 \right) \\ \eta'(\omega) &= -\frac{1}{C_{L\alpha} C_{Lv} \rho_l} \left(\frac{\Delta\alpha}{k} \cdot \frac{\Delta v}{v} \right)\end{aligned}\quad (2.56)$$

Genau wie für Quarzresonatoren (2.47) kann die Zeitkonstante der Relaxation τ_s , die statische Viskosität η_l und der Hochfrequenz-Elastizitätsmodul G_∞ aus Gleichung (2.56) berechnet werden. Eine maxwellsche Flüssigkeit wird durch Messung der Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ und der Dämpfungsänderung $\Delta\alpha/k$ bei bekannter Flüssigkeitsdichte vollständig charakterisiert.

2.6.3 Schichtsysteme

Dünne Schichten

Die Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ und Dämpfungsänderung $\Delta\alpha/k$ durch Aufbringen einer dünnen Schicht auf dem wellenführenden Bereich folgt aus der akustischen Impedanz einer dünnen Schicht (2.25) und der Beziehung (2.52) unter Berücksichtigung der korrigierten Dichte (2.19):

$$\begin{aligned}\frac{\Delta v}{v} &\cong -C(\omega) \cdot \omega \left(\rho_s - \frac{G}{v^2} \right) h_s \\ \frac{\Delta\alpha}{k} &\cong 0\end{aligned}\quad (2.57)$$

mit der Ausbreitungsgeschwindigkeit v der Oberflächenwelle, einer frequenzabhängigen Konstante $C(\omega)$, der Dichte ρ_s und der Höhe h_s der Schicht.

Weiche Schichten

Ist der Elastizitätsmodul der Schicht G viel kleiner als derjenige des Quarzsubstrates c_{66} , so spricht man von einer weichen Schicht, hierfür gilt⁷ $\rho_s - G/v^2 \approx \rho_s$ und damit folgt für die Geschwindigkeitsänderung:

$$\frac{\Delta v}{v} \cong -C(\omega) \cdot \underbrace{\omega \rho_s h_s}_{\Delta m} \stackrel{def}{=} -C_M(\omega) \cdot \Delta m \quad (2.58)$$

mit der Massenbelegung pro Fläche Δm und der Empfindlichkeitskonstanten C_M .

Die Schichtempfindlichkeit C_M für weiche Schichten konnte in dieser Arbeit mithilfe des Simulationsprogramms bestimmt werden, indem die Geschwindigkeitsänderung und die Dämpfungsänderung zwischen einem beschichteten Sensor und einem unbeschichteten Sensor berechnet wurde. Die angenommene Schicht habe dabei eine Dichte von 1000 kg/m^3 , sei 10 nm dick, und besitze einen Elastizitätsmodul von 10^6 Pa . Abbildung 2.11 zeigt diese Schichtempfindlichkeit für SAW-Sensoren in Abhängigkeit der Metallisierungshöhe.

In Tabelle 2.3 sind die berechneten Schichtempfindlichkeiten C_M für die in dieser Arbeit verwendeten Oberflächenwellensensoren mit Wellenlängen von 48 und $72 \mu\text{m}$ und einer Metallisierungshöhe von 385 nm angegeben.

| SAW-Sensor | C_M |
|---|-------|
| 102 MHz ($\lambda = 48 \mu\text{m}$, $h_M = 385 \text{ nm}$) | 22,80 |
| 69 MHz ($\lambda = 72 \mu\text{m}$, $h_M = 385 \text{ nm}$) | 13,15 |

Tabelle 2.3: Schichtempfindlichkeiten $C_M [\text{m}^2/\text{kg}]$ für weiche Schichten der in dieser Arbeit verwendeten Sensoren mit der Wellenlänge λ und der Metallisierungshöhe h_M .

Diese Ergebnisse eignen sich sehr gut, den Einfluss weicher Schichten, wie sie etwa in der Biosensorik (Kapitel 8) vorliegen, zu untersuchen. Für metallische Schichten trifft jedoch die in (2.58) gemachte Näherung nicht zu. Insbesondere ist der Interdigitaltransducer zur Erzeugung der Oberflächenwellen selber eine metallische Schicht (Kapitel 3.2). Es ist deshalb notwendig, den Einfluss der Goldmetallisierung der verwendeten Sensoren abzuschätzen.

⁷ Gültigkeit der Näherung: $\rho_s - \frac{G}{v^2} \approx \rho_s \left(1 - \frac{G/\rho_s}{c_{66}/\rho}\right) = \rho_s \left(1 - \frac{v_s^2}{v^2}\right) \approx \rho_s$ ist erfüllt, wenn

$G/\rho_s < 10^{-2} \cdot c_{66}/\rho$. Diese Annahme ist für dünne biologische Schichten oder Polymerschichten sicher erfüllt. Für metallische Schichten gilt dies im Allgemeinen nicht!

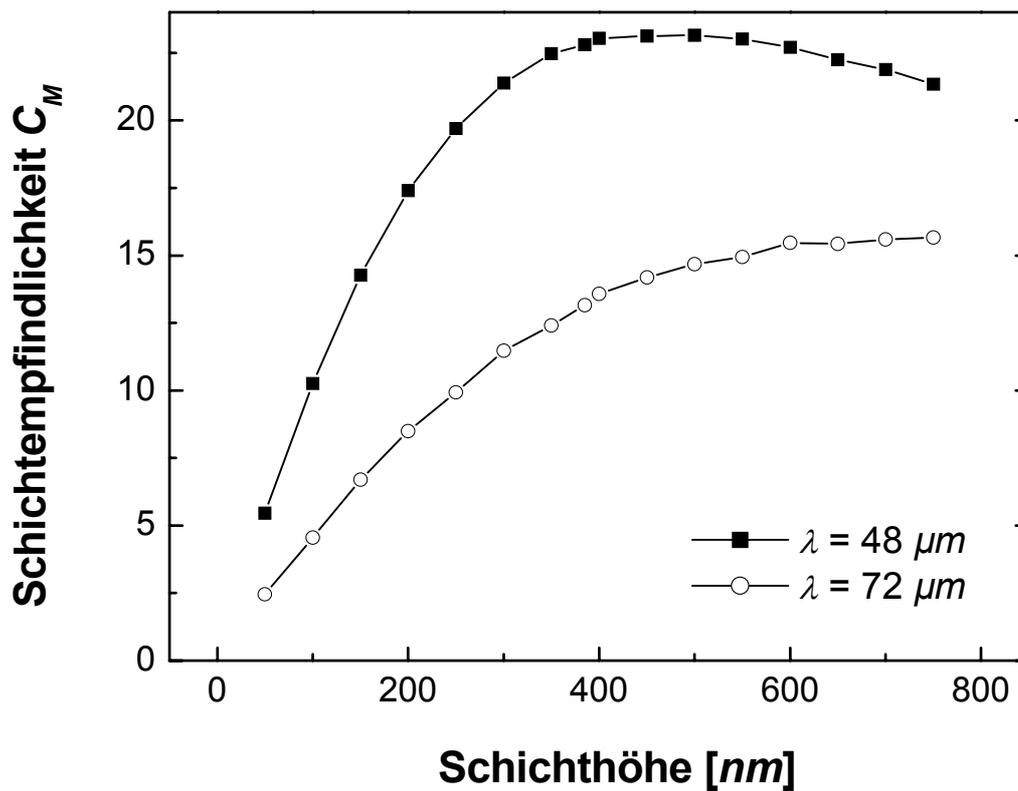


Abbildung 2.11: Berechnete Schichtempfindlichkeiten C_M [m^2/kg] für weiche Schichten in Abhängigkeit der Metallisierungshöhe für SAW-Sensoren mit Wellenlängen von 48 und 72 μm .

Goldmetallisierungen

In Abbildung 2.12 sind die Messwerte für die relative Geschwindigkeitsänderung als Funktion der effektiven Goldhöhe für SAW-Sensoren aus der Arbeit von Leidl [LEI98] sowie dieser Arbeit dargestellt.

Die Ergebnisse der numerischen Berechnung für die Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ als Funktion der normierten effektiven Goldhöhe \bar{h}_{eff} lassen sich durch ein Polynom 3. Grades darstellen [LEI98]:

$$\frac{\Delta v}{v} = -0.0083 \cdot \bar{h}_{\text{eff}} - 0.221 \cdot \bar{h}_{\text{eff}}^2 + 0.096 \cdot \bar{h}_{\text{eff}}^3 \quad (2.59)$$

mit der normierten effektiven Metallisierungshöhe $\bar{h}_{\text{eff}} = 100 \cdot \gamma \cdot h_M / \lambda$, wobei γ die Metallisierungsrate der SAW-Sensoren ist (Kapitel 3.2.2).

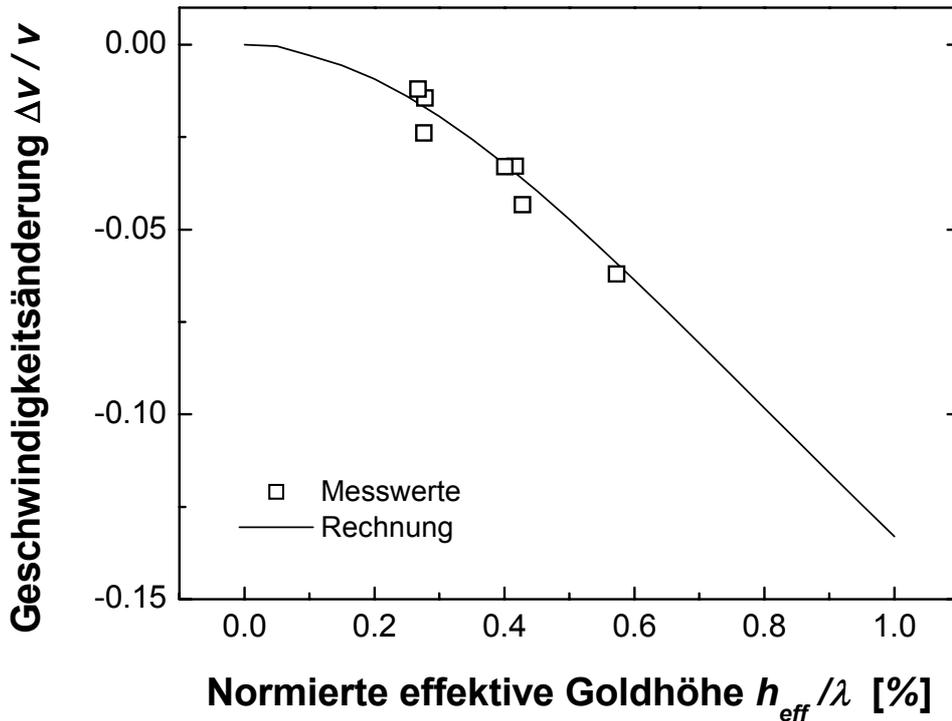


Abbildung 2.12: Berechneter und gemessener Einfluss der effektiven Goldhöhe auf die Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ der Oberflächenwelle.

Viskoelastische Schichten

Für beliebige viskoelastische Schichten auf dem wellenführenden Bereich folgt mit der Beziehung (2.51) und der akustischen Impedanz (2.23) unter Berücksichtigung der korrigierten Dichte (2.19) die komplexe Geschwindigkeits- und Dämpfungsänderung $\Delta \hat{k}/k$ für eine viskoelastische Schicht:

$$\frac{\Delta \hat{k}}{k} = \frac{\Delta v}{v} + i \frac{\Delta \alpha}{k} = -C(\omega) \sqrt{\hat{G}_s} \cdot \left(\rho_s - \frac{\hat{G}_s}{v^2} \right) \cdot \tan \left(\frac{\omega h_s}{\sqrt{\hat{G}_s}} \sqrt{\rho_s - \frac{\hat{G}_s}{v^2}} \right) \quad (2.60)$$

mit dem Elastizitätsmodul der Schicht $\hat{G}_s = G_s + i\omega\eta_s$, der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Oberflächenwelle im Quarzsubstrat v und einer frequenzabhängigen Konstante $C(\omega)$.

Die Geschwindigkeitsänderung ist somit proportional zum Imaginärteil der akustischen Impedanz, während die Dämpfungsänderung proportional zum Realteil der akustischen Impedanz ist. Die Konstante $C(\omega)$ kann in diesem Fall nicht direkt bestimmt werden. Dennoch können durch Gleichung (2.60) durch Regressionsanalyse experimenteller Daten Aussagen über die Schichtparameter gefunden werden, ohne $C(\omega)$ explizit zu bestimmen [SCH98]. Genau wie für Quarzresonatoren tritt an den Polen des Tangens $\hat{k} \cdot h_s = n \cdot \pi/2$ das Phänomen der Schichtresonanz auf (siehe Abbildung 2.9).

2.7 Empfindlichkeiten

Für die Grenzfälle dünner Schichten sowie newtonscher Flüssigkeitslasten konnten für Quarzresonatoren als auch für SAW-Sensoren explizit Empfindlichkeitskonstanten angegeben werden. Zur besseren Vergleichsmöglichkeit muss allerdings die Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ für SAW-Sensoren in eine relative Frequenzänderung $\Delta f/f$ umgerechnet werden, was nach folgender Beziehung einfach möglich ist (Kapitel 4.3.3):

$$\frac{\Delta f}{f} = \frac{d_s}{d_{IDT}} \cdot \frac{\Delta v}{v} \quad (2.61)$$

mit dem Mittenabstand der IDT-Transducer d_{IDT} und der Länge der Messstrecke d_s (Abbildung 3.11).

Massenempfindlichkeit

Die Empfindlichkeit für Massenbeschichtung wird in dieser Arbeit definiert als:

$$S_M \stackrel{def}{=} \lim_{\Delta m \rightarrow 0} \frac{\Delta f}{\Delta m} \quad (2.62)$$

mit der Massenbelegung pro Fläche Δm und der Massenempfindlichkeit $S_M [Hz \cdot cm^2/ng]$.

Für die in dieser Arbeit verwendeten Sensoren ergeben sich die in Abbildung 2.13 angegebenen Massenempfindlichkeiten. Für SAW-Sensoren werden nur weiche Schichten nach Gleichung (2.58) betrachtet. Die Zahlen über den Balken geben die relative Änderung in Bezug auf einen 10 MHz-Schwingquarzsensoren an.

Eine absolute Steigerung des Messwertes durch eine höhere Empfindlichkeit garantiert noch keine Verbesserung der minimal detektierbaren Massenbelegung, oder unteren Detektionsgrenze, beim Analytnachweis (Kapitel 7). Hier ist zu untersuchen, inwieweit Störeffekte (Kapitel 5) bei empfindlicheren Sensoren das Signalrauschen erhöhen. Aussagekräftiger in Bezug auf die Detektionsgrenze ist das in Gleichung 4.20 definierte Signal/Rauschverhältnis. Empfindlichere Sensoren bieten jedoch das Potential, bei gleichzeitiger Unterdrückung der Störeffekte eine deutliche Verbesserung der Detektionsgrenze zu erzielen (Kapitel 7.1).

Flüssigkeitsempfindlichkeit

Die Empfindlichkeit für newtonsche Flüssigkeitslasten wird in dieser Arbeit definiert als:

$$S_L \stackrel{def}{=} \lim_{\Delta \sqrt{\rho_l \eta_l} \rightarrow 0} \frac{\Delta f}{\Delta \sqrt{\rho_l \eta_l}} \quad (2.63)$$

mit der Dichte ρ_l und der Viskosität η_l der Flüssigkeit sowie der Flüssigkeitsempfindlichkeit $S_L [m^2/kg\sqrt{s}]$.

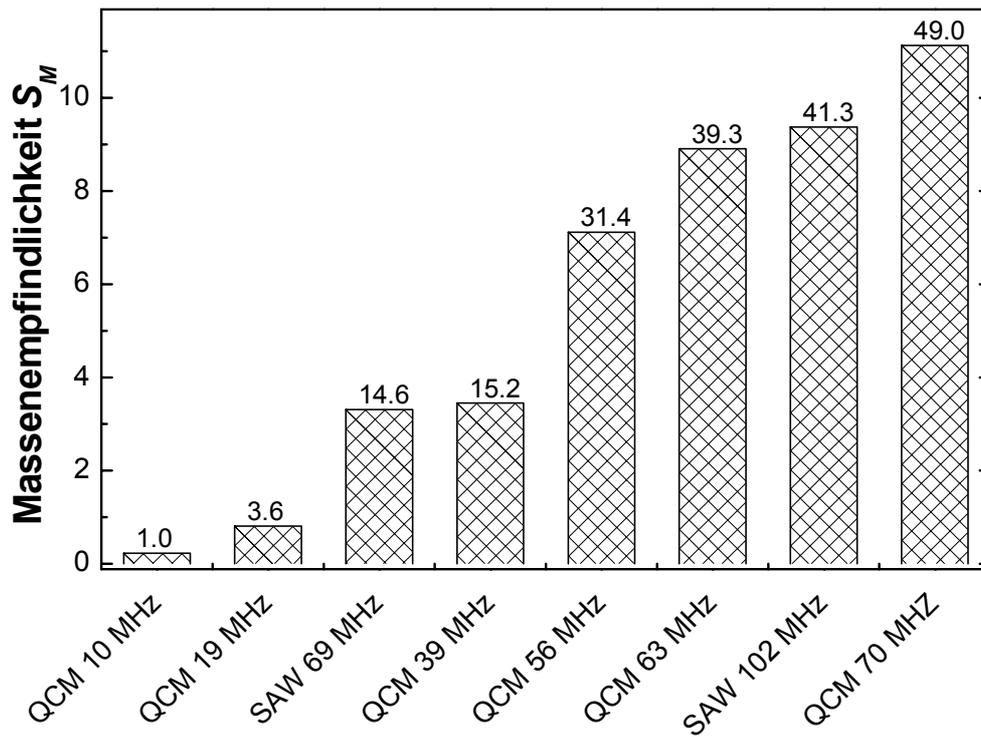


Abbildung 2.13: Vergleich der verwendeten Sensoren in Bezug auf die berechnete bzw. modellierte theoretische Massensensitivität S_M [$\text{Hz} \cdot \text{cm}^2 / \text{ng}$].

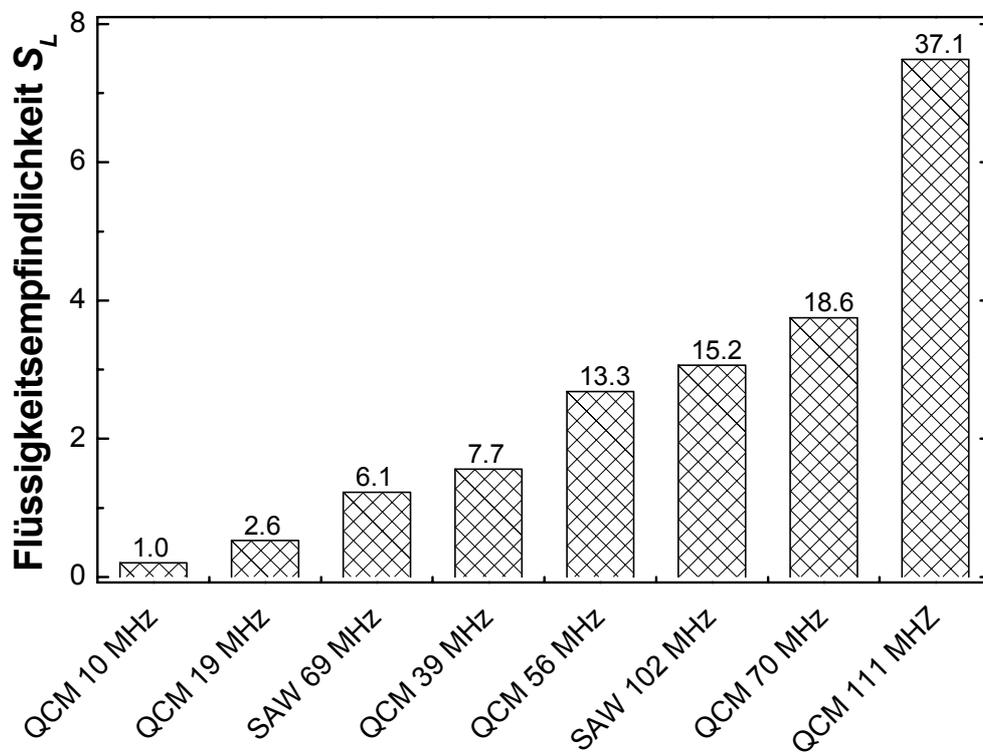


Abbildung 2.14: Vergleich der verwendeten Sensoren in Bezug auf die berechnete bzw. modellierte theoretische Flüssigkeitsempfindlichkeit S_L [$10^4 \text{m}^2 / \text{kg} \sqrt{\text{s}}$].

Für die in dieser Arbeit verwendeten Sensoren ergeben sich die in Abbildung 2.14 angegebenen Flüssigkeitsempfindlichkeiten. Die Zahlen über den Balken geben die relative Änderung in Bezug auf einen 10 MHz-Schwingquarzsensoren an.

Eine hohe Empfindlichkeit akustischer Sensoren für die Flüssigkeitscharakterisierung ist nur dort ausschlaggebend, wo geringe Konzentrationsunterschiede erkannt werden sollen. In den meisten Anwendungsfällen ist dies jedoch nicht erforderlich. Wichtiger sind hier die Reproduzierbarkeit der Messwerte und die Gültigkeit der Theorie, d.h. die Gültigkeit des wurzelförmigen Verhaltens aus den Gleichungen (2.48) und (2.53) für newtonsche Flüssigkeiten, über einen großen Viskositätsbereich. Die Untersuchung viskoelastischer Flüssigkeiten mit Sensoren unterschiedlicher Frequenz bietet die Möglichkeit, frequenzabhängige Größen, wie die Viskosität und Elastizität, zu bestimmen und dadurch die Relaxationsprozesse viskoelastischer Flüssigkeiten zu charakterisieren (Kapitel 6).

Der Vergleich von Abbildung 2.13 und Abbildung 2.14 zeigt für die verschiedenen Sensortypen unterschiedliche Abhängigkeiten von der Resonanzfrequenz (Tabelle 2.4).

| Sensor | S_M | S_L |
|-------------------------|---------------|-------------------|
| Oberflächenwellensensor | $\propto f^2$ | $\propto f^{5/2}$ |
| Schwingquarzsensoren | $\propto f^2$ | $\propto f^{3/2}$ |

Tabelle 2.4: Theoretischer Vergleich der Abhängigkeit der Massenempfindlichkeit S_M und der Flüssigkeitsempfindlichkeit S_L von der Resonanzfrequenz f der beiden Sensortypen.

Die theoretische Auswertung zeigt, dass die Massenbelegung für die verwendeten Sensoren quadratisch von der Resonanzfrequenz abhängig ist. Die Abhängigkeit der Flüssigkeitsempfindlichkeit von der Resonanzfrequenz ist für die verwendeten Oberflächenwellensensoren ausgeprägter als für Quarzresonatoren.

Kapitel 3

Modellierung des Transducerverhaltens

Ein erfolgreicher Einsatz akustischer Transducer in sensorischen Anwendungen setzt ein vertieftes Verständnis des Transducerverhaltens voraus. Nur dann können spezielle Designkriterien zur Vermeidung von Störeffekten abgeleitet werden (Kapitel 5.1). Eine theoretische Simulation des Einflusses verschiedener Messgrößen erlaubt ferner die Sensorempfindlichkeit für bestimmte Anwendungen zu optimieren. In diesem Kapitel werden sowohl für Schwingquarzresonatoren als auch für Oberflächenwellenbauelemente bekannte theoretische Zusammenhänge der Transducertheorie aus der Hochfrequenztechnik zusammengestellt und daraus elektrische Ersatzschaltbildmodelle zur Signalübertragung entwickelt, die es erlauben, das Sensorverhalten zu simulieren. In dieser Arbeit wurde zusätzlich zur rein elektrischen Übertragungscharakteristik der Einfluss beliebiger akustischer Lasten (Kapitel 2) mit in das Modell aufgenommen. Auf diese Weise konnte die Übertragungscharakteristik freier und akustisch belasteter QCM- und SAW-Sensoren modelliert werden⁸. Während in der Literatur für Quarzresonatoren bereits Ersatzschaltbildmodelle zur Beschreibung des Einflusses beliebiger akustischer Medien auf das Signalverhalten des Transducers erwähnt wurden, wird im Fall der Oberflächenwellenbauelemente nur von einem Ersatzschaltbildmodell zur Beschreibung des akustisch unbelasteten Transducers berichtet. In dieser Arbeit wird dieses Modell für SAW-Transducer so erweitert, dass auch der Einfluss eines beliebigen anliegenden Mediums auf das Signalverhalten des Transducers erfasst wird.

3.1 Schwingquarzsensoren

Im folgenden wird ein eindimensionales akustisches Modell zum besseren Verständnis von Quarzresonatoren bei Belegung mit beliebigen viskoelastischen Schichtsystemen ent-

⁸ Die Modellrechnungen in diesem Kapitel wurden basierend auf den angegebenen theoretischen Beziehungen mit Mathcad 2000 (MathSoft, Inc.) durchgeführt.

wickelt [JOH91][KÖS94][NAK90]. Die Eindimensionalität ist in dem Sinn zu verstehen, dass Quarz und Schichten lateral als unendlich ausgedehnt betrachtet werden. Die Eindimensionalität legt den Formalismus elektrischer Ersatzschaltkreise aus der Theorie der Signalübertragung nahe. Das Modell selbst basiert auf dem Mason-Ersatzschaltbild, das akustische und elektrische Impedanzen verbindet [MAS48]. Elektrische Ersatzschaltbildmodelle für Schwingquarzsensoren wurden bereits an anderer Stelle vorgestellt [FIL94][GRA94].

3.1.1 Akustisches Ersatzschaltbild nach Mason

Eine Quarzplatte vom AT-Typ mit der Dichte ρ_q ist in zwei Dimensionen unendlich ausgedehnt und weist in y -Richtung die Dicke d auf. Es liegt eine Auslenkung der Volumenelemente um ihre Ruhelage $u(y,t)$ vor. Das Koordinatensystem ist in Abbildung 2.6 veranschaulicht.

Unter Berücksichtigung der Kristallsymmetrie ergeben sich die piezoelektrischen Gleichungen für die Grundmode der Dickenscherschwungung in Quarz [Anhang A, DIE80]:

$$\begin{aligned} T_6 &= c_{66}S_6 + \eta_q \dot{S}_6 + e_{26}E_2 & S_6 &= \frac{\partial u}{\partial y} & \text{(a)} \\ D_2 &= e_{26}S_6 + \varepsilon_{22}E_2 & E_2 &= \frac{\partial \varphi_{el}}{\partial y} & \text{(b)} \end{aligned} \quad (3.1)$$

T_6 ist hier die wirksame Spannungskomponente (engl.: stress) und S_6 die entsprechende Dehnung (engl.: strain). Aus Gründen der Allgemeingültigkeit ist in der Spannungs-Dehnungsbeziehung ein Viskositätsterm mit der phänomenologischen Quarzviskosität η_q eingefügt. c_{66} , e_{26} und ε_{22} sind die in den AT-Schnitt gedrehte Schersteifigkeit⁹ des Quarzes, die relevante Komponente des piezoelektrischen Tensors bzw. die dielektrische Konstante. Dabei wurde die reduzierte Schreibweise verwendet (Anhang A). Ferner beschreibt D_2 die dielektrische Verschiebung, E_2 das elektrische Feld sowie φ_{el} das elektrische Potential.

Aus der Bewegungsgleichung und unter der Annahme einer harmonischen Zeitabhängigkeit $e^{i\omega t}$ folgt die Wellengleichung für die Dickenscherschwungung im Quarz:

$$\rho_q \ddot{u} = \frac{\partial T_6}{\partial y} = \hat{c}_{66} \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} \quad \text{mit} \quad \hat{c}_{66} = c_{66} + \frac{e_{26}^2}{\varepsilon_{22}} + i\omega\eta_q \quad (3.2)$$

hierbei ist \hat{c}_{66} die effektive Schersteifigkeit, deren Realteil die piezoelektrisch verstärkte Schersteifigkeit darstellt.

Die Lösung dieser Wellengleichung sind ebene Wellen, wie in Gleichung (2.9), mit dem

⁹ Die Komponente c_{66} des Elastizitätsmoduls von Quarz wird in dieser Arbeit von nun an als Schersteifigkeit bezeichnet, da es sich, wegen der Eindimensionalität des Systems, nur noch um eine Zahl handelt.

Wellenvektor $\hat{k}_q = \omega / \hat{v}_q = \omega \cdot \sqrt{\rho_q / \hat{c}_{66}}$ wobei ρ_q die Dichte und v_q die Schallgeschwindigkeit in Quarz mit AT-Schnitt sind.

Für Quarz ergibt sich die mechanische Impedanz nach Kapitel 2.4.1:

$$\hat{Z}_{mech} = A \cdot \hat{Z} = A \sqrt{\rho_q \cdot \hat{c}_{66}} \quad (3.3)$$

Das elektroakustische Ersatzschaltbild für eine Quarzscheibe mit endlicher Dicke d und aktiver Elektrodenfläche A , begrenzt durch die Flächen bei $y = 0$ und $y = d$, lässt sich von den Beziehungen zwischen den Kräften F_1, F_2 und den Teilchengeschwindigkeiten \dot{u}_1, \dot{u}_2 ableiten. Die beiden Seiten werden durch die Indices 1 und 2 gekennzeichnet. Dabei ist auch die piezoelektrische Kopplung zu berücksichtigen [ROS88].

Die Kräfte an den beiden Quarzoberflächen mit der Elektrodenfläche A werden bestimmt durch die Beziehung:

$$F_{1,2} = A \cdot T_6 \Big|_{y=0,d} \quad (3.4)$$

Aus den Beziehungen (3.1) bis (3.4) ergibt sich:

$$\begin{aligned} \hat{F}_1 = \hat{F}(y=0) &= \frac{\hat{Z}_{mech}}{i \cdot \sin(\hat{k}_q d)} (\dot{u}_1 - \dot{u}_2) + i \hat{Z}_{mech} \tan\left(\frac{\hat{k}_q d}{2}\right) \dot{u}_1 + \frac{(e_{26} / \varepsilon_{22}) \cdot I}{i \omega} \\ \hat{F}_2 = \hat{F}(y=d) &= \frac{\hat{Z}_{mech}}{i \cdot \sin(\hat{k}_q d)} (\dot{u}_1 - \dot{u}_2) - i \hat{Z}_{mech} \tan\left(\frac{\hat{k}_q d}{2}\right) \dot{u}_2 \end{aligned} \quad (3.5)$$

mit dem Verschiebungsstrom $I = i \omega D A = i \omega C_o V - (e_{26} / \varepsilon_{22}) C_o (\dot{u}_1 - \dot{u}_2)$ und der Elektrodenkapazität $C_o = \varepsilon_{22} A / d$. Die Spannung V zwischen den Elektroden berechnet sich nach:

$$V = - \int_0^d E_2 dy = \frac{D d}{\varepsilon_{22}} - \frac{e_{26}}{\varepsilon_{22}} (u_2 - u_1) \quad (3.6)$$

Die Beziehungen (3.5) und (3.6) erhält man auch, wenn die Kirchhoffschen Gesetze auf den folgenden Schaltkreis angewendet werden.

Das Ersatzschaltbild besitzt zwei akustische und einen elektrischen Ausgang. Es enthält keine Näherungen außer der angenommenen unendlichen lateralen Ausdehnung des piezoelektrischen Kristalls. Der elektrische Ausgang ist mit den mechanischen Ausgängen über einen elektromechanischen Transformator mit dem Transformationsverhältnis Φ verbunden. Der Transformator repräsentiert den piezoelektrischen Effekt. Die Kräfte entsprechen den elektrischen Spannungen, die Teilchengeschwindigkeiten den elektrischen Strömen und die mechanischen Impedanzen den elektrischen Impedanzen:

$$\Phi = \frac{e_{26} A}{d_q} \begin{bmatrix} N \\ V \end{bmatrix} \quad (3.7)$$

$$\begin{aligned}
 V &= \Phi^{-1} \cdot F \\
 I &= \Phi \cdot \frac{\partial u}{\partial t} \\
 Z_{el} &= \Phi^{-2} \cdot Z_{mech}
 \end{aligned}
 \tag{3.8}$$

mit dem Transformationsverhältnis Φ , der elektrischen Spannung V , dem elektrischen Strom I und der elektrischen Impedanz Z_{el} .

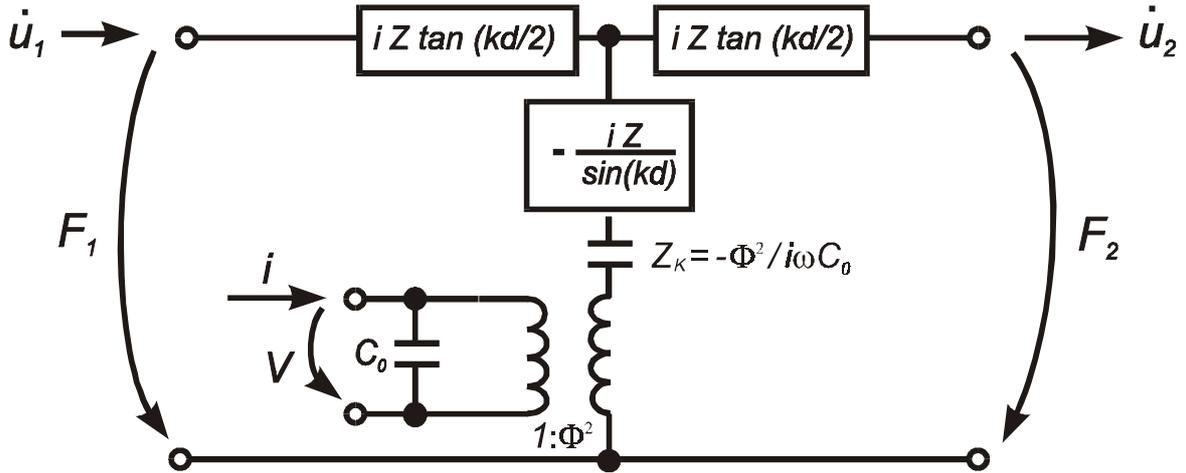


Abbildung 3.1: Masons Ersatzschaltbild mit einem elektrischen und zwei mechanischen Toren. Z ist die mechanische Impedanz von Quarz. F_1, F_2 sind die Kräfte und \dot{u}_1, \dot{u}_2 die Teilchengeschwindigkeiten an der Quarzoberfläche [MAS48] [THU84].

3.1.2 Ersatzschaltbild für den freien Quarz

Bei einem freien Quarz sind beide Oberflächen unbelastet und beide mechanischen Ports können wegen der geringen akustischen Impedanz von Luft kurzgeschlossen werden. In der Nähe der Resonanzfrequenz der Grundmode ist $\lambda=2d$ und daher $kd/2 = \pi/2$. Die sich nach den trigonometrischen Additionstheoremen ergebende Kotangensfunktion der Gesamtimpedanz ist klein und lässt sich in eine Taylorreihe entwickeln. Rosenbaum leitet daraus das elektrische Ersatzschaltbild in Abbildung 3.2 mit der Gesamtimpedanz Z_{ser} des seriellen dynamischen Zweiges ab [ROS88]:

$$Z_{ser} = \underbrace{\left(\frac{\eta_q d_q}{e_{26}^2 A} \right)}_R + \frac{1}{i\omega} \underbrace{\left(\frac{8(c_{66} + e_{26}^2/\epsilon_{22})d_q}{\pi^2 e_{26}^2 A} \right)}_{1/C} + i\omega \underbrace{\left(\frac{\rho_q d_q^3}{8e_{26}^2 A} \right)}_L
 \tag{3.9}$$

mit der Viskosität η_q , der Dicke d_q , der Dichte ρ_q sowie der piezoelektrisch verstärkten Schersteifigkeit $c_{66} + e_{26}^2/\epsilon_{22}$ des Quarzes (Quarzkonstanten in Anhang A).

Die serielle Impedanz bildet zusammen mit der Kapazität C_0 einen Schwingkreis. Das vereinfachte Ersatzschaltbild eines Schwingquarzes in Abbildung 3.2 ist auch unter dem Namen Butterworth-Van Dyke (BVD) Ersatzschaltbild bekannt.

Die elektrische Gesamtimpedanz des Schaltbildes ergibt sich zu:

$$Z_{ges}^{el} = \frac{Z_{ser} \cdot Z_0}{Z_{ser} + Z_0} \quad (3.10)$$

mit der Parallelimpedanz $Z_0 = 1/i\omega C_0$

Die statische Kapazität C_0 repräsentiert die Elektrodenkapazität. C , R und L sind dynamische Größen des schwingenden Quarzes:

C beschreibt die elastischen Eigenschaften des Kristalls.

R beschreibt die Dissipation elektrischer Energie durch innere Reibung.

L beschreibt die Trägheit der schwingenden Quarzmasse.

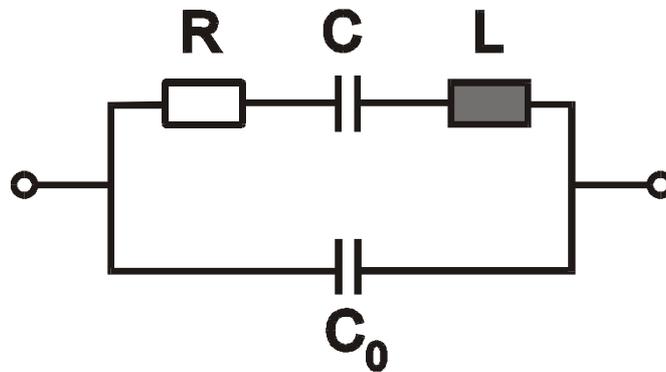


Abbildung 3.2: Elektrisches BVD-Ersatzschaltbild eines Schwingquarzes

Parasitäre Elemente

Vor allem für hohe Resonanzfrequenzen ist das einfache Ersatzschaltbild für den freien Quarz nicht mehr gültig, da parasitäre Effekte berücksichtigt werden müssen [NEU97].

- der elektrische Widerstand R_E der Metallelektroden muss als serielles Element zum Schwingkreis berücksichtigt werden. Für hohe Frequenzen werden in der Regel dünnere Elektroden gewählt, um die Massenbelastung zu verringern. Wegen der schlechteren Leitfähigkeit ergibt sich jedoch ein erhöhter Widerstand.
- die Streukapazität C_{Streu} zwischen den Elektroden und den Zuführungsdrähten bzw. dem Gehäuse wird als paralleles Element zum Schwingkreis berücksichtigt.

3.1.3 Ersatzschaltbild für einen Quarzresonator mit Last

Das Mason Ersatzschaltbild kann für eine zusätzliche, den Quarz bedeckende Schicht und mit Abschluss durch eine Flüssigkeit wie in Abbildung 3.3, ergänzt werden [DIE80]. Der freie akustische Port des Quarzes ist durch die geringe akustische Impedanz von Luft kurzgeschlossen. Das akustische Verhalten des Quarzes wird durch den piezoelektrischen Effekt über die Kapazität Z_k elektrisch beeinflusst. Ein schwacher piezoelektrischer Effekt begünstigt daher die Frequenzstabilität von piezoelektrischen Resonatoren.

Die Impedanzen in Abbildung 3.3 ergeben sich zu :

$$\begin{aligned} \hat{Z}_1 &= i \cdot \hat{Z}_{mech_q} \tan\left(\frac{1}{2} k_q d_q\right) & \hat{Z}_2 &= -i \cdot \frac{\hat{Z}_{mech_q}}{\sin(k_q d_q)} & \hat{Z}_K &= -\frac{\Phi^2}{i\omega C_0} \\ \hat{Z}_3 &= i \cdot \hat{Z}_{mech_s} \tan\left(\frac{1}{2} \hat{k}_s d_s\right) & \hat{Z}_4 &= -i \cdot \frac{\hat{Z}_{mech_s}}{\sin(\hat{k}_s d_s)} & \hat{Z}_L &= A\sqrt{\rho_l(G' + i\omega\eta_l)} \end{aligned} \quad (3.11)$$

mit den Wellenvektoren k , den Dicken d , der Flüssigkeitsdichte ρ_l , dem Elastizitätsmodul G' der Flüssigkeit und der Flüssigkeitsviskosität η_l , den mechanischen Impedanzen nach Kapitel 2.4.1 und der Schwingungsfläche A . Es beziehen sich die Indizes q auf den Quarz und s auf die Schicht.

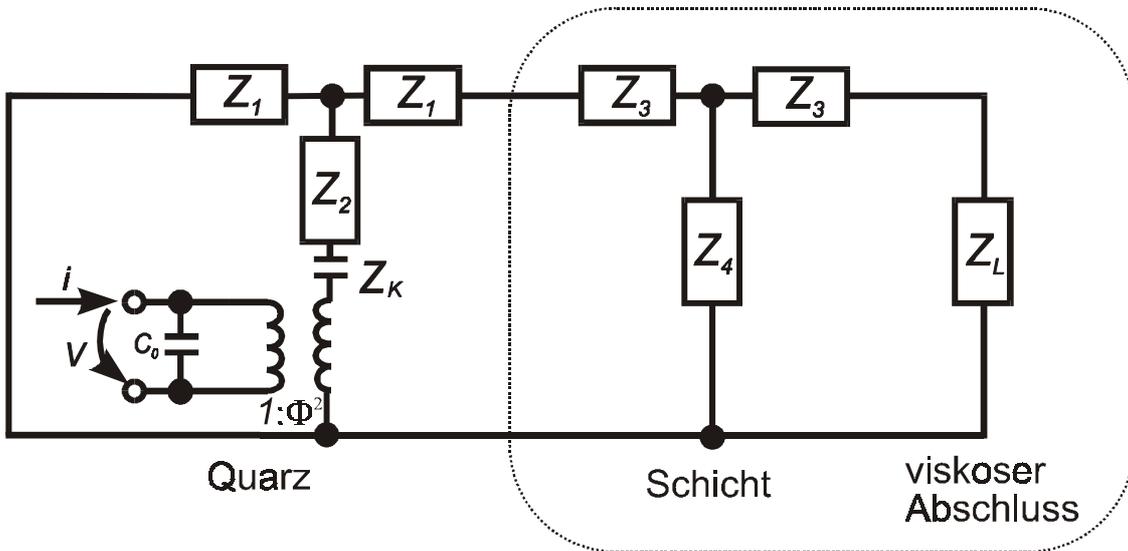


Abbildung 3.3: Ersatzschaltbild eines Quarzes mit einseitiger akustischer Last bestehend aus Schicht und Flüssigkeit.

Die Gesamtimpedanz der akustischen Last beträgt¹⁰: $\hat{Z}_{Last} = \hat{Z}_3 + \frac{\hat{Z}_4(\hat{Z}_3 + \hat{Z}_L)}{\hat{Z}_3 + \hat{Z}_4 + \hat{Z}_L}$

¹⁰ Die im Kapitel 5.3.2 betrachteten Kompressionswellen resultieren aus longitudinalen Schwingungsbeiträgen aufgrund der lateral endlichen Ausdehnung der Schwingquarzscheibe. Das Ma-

Aus dieser akustischen Gesamtlast können an der Resonanzstelle die akustischen Impedanzen für viskoelastische und ideale elastische Schichten (Kapitel 2.4.3 bzw. 2.4.4) sowie maxwellsche und newtonsche Flüssigkeiten (Kapitel 2.4.5 bzw. 2.4.6) abgeleitet werden.

3.1.4 Modellrechnungen

Die Gesamtimpedanz von unbelasteten 19 MHz sowie hochfrequenten 70 MHz Schwingquarzen wurde gemessen (Kapitel 4.3.1) und mit der berechneten Gesamtimpedanz nach Gleichung (3.10) verglichen.

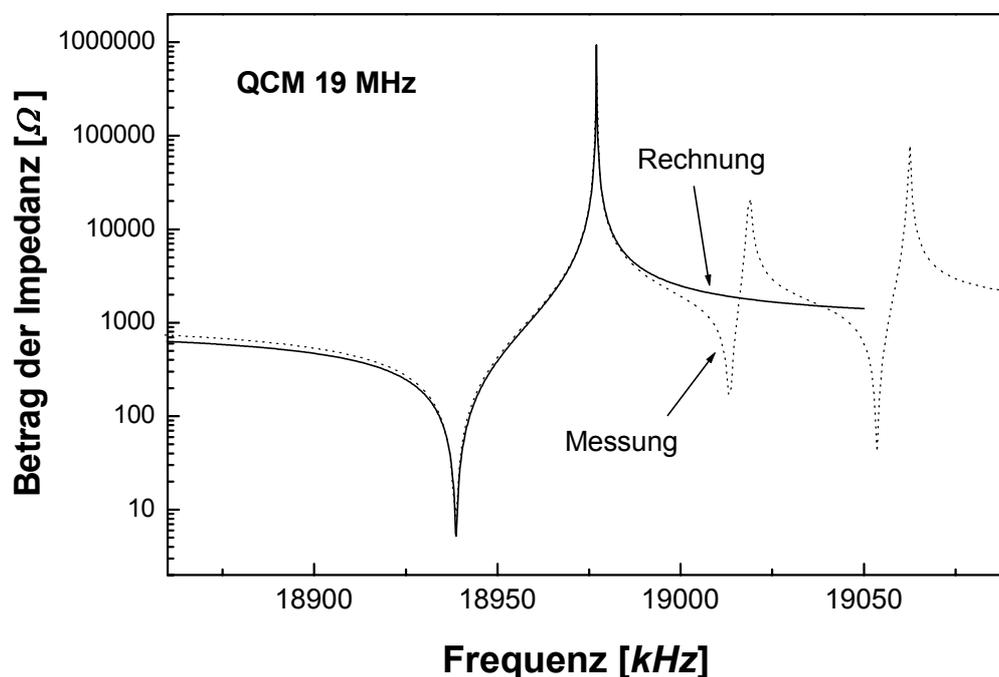


Abbildung 3.4: Gemessene und berechnete Impedanz eines Standard-19 MHz Schwingquarzes.

Der Betrag der elektrischen Impedanz eines 19 MHz und eines 70 MHz Schwingquarzes ist in Abbildung 3.4 bzw. Abbildung 3.5 dargestellt. Auf Basis von Gleichung (3.10) wurden die Messungen angefitet und die Regressionsparameter in Tabelle 3.1 angegeben. Ferner wurden die Ersatzschaltbildparameter mithilfe von (3.9) direkt berechnet, um die Qualität des BVD-Schaltbildes zu überprüfen. Dazu wurden die in Tabelle 3.1 angegebenen Sensorparameter verwendet. Die Ergebnisse der Berechnungen sind grafisch in den Abbildungen sowie numerisch in der Tabelle dargestellt.

sonmodell mit Last bleibt weiterhin gültig, falls zur dargestellten transversalen akustischen Last eine longitudinale akustische Last addiert wird [JOH91].

Es zeigt sich, dass für 19 MHz-Quarze die Messergebnisse und Berechnungen gut übereinstimmen. Der berechnete Widerstandswert R (Impedanzminimum in den Abbildungen) ist jedoch viel niedriger als experimentell erwartet, weshalb aus dem Vergleich mit der Messung ein parasitärer Widerstand R_E von $4,5 \Omega$ resultiert. Dieser parasitäre Widerstand hat seine Ursache in einer begrenzten elektrischen Leitfähigkeit der Elektroden sowie in einer Dämpfung bei der Verklebung des Quarzes auf dem Trägerchip. Darüber hinaus ergibt sich aus der Berechnung eine parallele Streukapazität von $3,5 pF$.

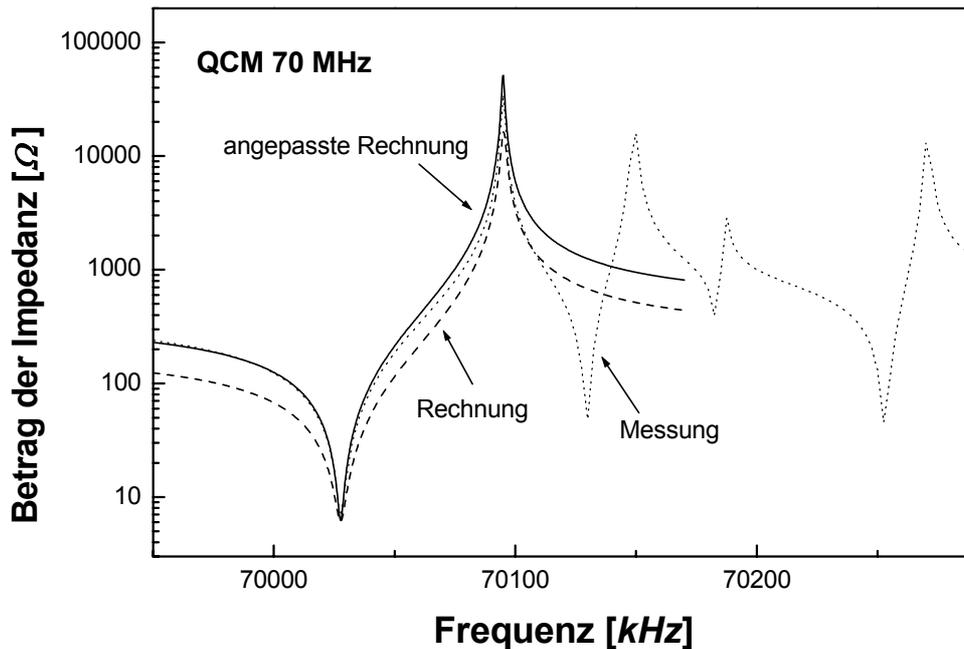


Abbildung 3.5: Gemessene und berechnete Impedanz eines 70 MHz HFF-Schwingquarzes.

Ebenso wie bei Standardquarzen ist bei dem hochfrequenten Schwingquarz ein parasitärer Widerstand zu berücksichtigen. Das berechnete Ergebnis für den hochfrequenten 70 MHz Quarz stimmt erst nach einer angenommenen Verkleinerung des Elektrodendurchmessers mit der Messung überein (Abbildung 3.5, Rechnung und angepasste Rechnung). Dieses Ergebnis ist so zu interpretieren, dass zwar eine Metallisierung mit $1,5 mm$ Durchmesser aufgebracht wurde, der Quarz sich jedoch so verhält, als ob nur ein effektiver Elektrodendurchmesser (entspricht der Schwingungsfläche) von $1,1 mm$ vorliegt. Die Ursache könnte eine Abweichung des zugrunde liegenden Modells bei hohen Frequenzen sein, zu berücksichtigen ist jedoch auch die sehr effektive Bündelung der Schwingungsenergie in der Quarzmitte („energy trapping“), wie sie in Abschnitt 3.1.6 näher betrachtet wird, so dass nur eine reduzierte Schwingungsfläche vorliegt.

Die Berechnungen berücksichtigen nur die Hauptresonanz, nicht jedoch die Nebenresonanzen, die in Abbildung 3.4 und Abbildung 3.5 zu sehen sind und in Abschnitt 3.1.5 näher diskutiert werden.

Nachdem gezeigt wurde, dass das BVD-Schaltbild unter Berücksichtigung parasitärer Elemente eine Simulation von unbelasteten Quarzen erlaubt, wird nun ein 70 MHz Quarz-

resonator mit verschiedenen akustischen Lasten mithilfe des Ersatzschaltbildes für einen Quarzresonator mit akustischer Last (Abbildung 3.3) modelliert. Mit den parasitären Elementen R_E und C_{Streu} sowie der Quarzdicke d_q , und dem effektiven Elektrodendurchmesser D_E liefert die Rechnung die elektrische Impedanz des Sensorelements in Abhängigkeit verschiedener akustischer Lasten.

| Parameter | 19 MHz | | 70 MHz | | angepasste Rechnung |
|----------------------|--------|----------|--------|----------|------------------------|
| | Fit | Rechnung | Fit | Rechnung | |
| R [Ω] | 4,766 | 0,264 | 6,145 | 0,507 | 0,943 |
| C [fF] | 33,47 | 36,44 | 10,96 | 18,95 | 10,19 |
| L [mH] | 2,11 | 1,938 | 0,471 | 0,273 | 0,507 |
| C_0 [pF] | 8,36 | 5,732 | 5,70 | 2,98 | 1,603 |
| R_E [Ω] | - | 4,5 | - | 5,63 | 5,297 |
| C_{Streu} [pF] | - | 3,5 | - | 6,85 | 3,70 |
| d_q [μm] | - | 88,13 | - | 23,84 | 23,84 |
| D_E [mm] | - | 4,0 | - | 1,5 | 1,1 |

Tabelle 3.1: Sensor- und Ersatzschaltbildparameter von 19 und 70 MHz Quarzresonatoren. Die Fitparameter (R , C , L , C_0) wurden aus den Messungen gewonnen, während die berechneten Ergebnisse auf Basis von Gleichung (3.9) und (3.10) unter Berücksichtigung der Sensorparameter (parasitärer Widerstand R_E , Streukapazität C_{Streu} , Quarzdicke d_q , Elektrodendurchmesser D_E) gefunden wurden.

In Abbildung 3.6 ist als Ergebnis der Modellrechnungen der Betrag der elektrischen Impedanz der verschiedenen akustischen Lasten im Bereich des Impedanzminimums dargestellt, da dieses zum einen die Resonanzfrequenz (Frequenz am Minimum) und zum anderen die Bedämpfung als Widerstandswert am Minimum beschreibt. Die Bedämpfung des Quarzes ist über Gleichung 4.3 mit dem Widerstandswert verknüpft.

Die Impedanzkurve wurde bei Belastung des Sensors mit Wasser, mit einer maxwellischen Flüssigkeit, entsprechend 10% PEG 35000 aus Kapitel 6.2, und mit einer viskoelastischen Schicht, entsprechend dem Antikörpermultilayer aus Kapitel 7.3, berechnet. Als Referenz wurde die Impedanzkurve für einen unbelasteten Quarzresonator an Luft berechnet. Die physikalischen Parameter der Lasten sind in Tabelle 3.2 zusammengefasst bzw. wurden Tabellen entnommen [WEA87][KUC88].

Tabelle 3.2 gibt auch die Ergebnisse der Modellierung für die Frequenz und die Impedanz am Minimum der Impedanzkurve an. Die Rechnung zeigt, dass sich die Resonanzfrequenz in Abhängigkeit der Belastung von Luft zu Wasser um 53 kHz verringert und der Widerstandswert von 7 auf 203 Ω zunimmt. Für die maxwellsche Flüssigkeit beträgt die Frequenzerniedrigung lediglich 31,5 kHz, jedoch nimmt die Bedämpfung auf 263 Ω zu. Dieses Verhalten basiert auf der Beziehung 2.45 und wird in Kapitel 6 näher erörtert. Für die viskoelastische Schicht ergibt sich eine höhere Frequenzerniedrigung (123,5 kHz) sowie eine stärkere Bedämpfung (313 Ω) entsprechend der Beziehung 2.41.

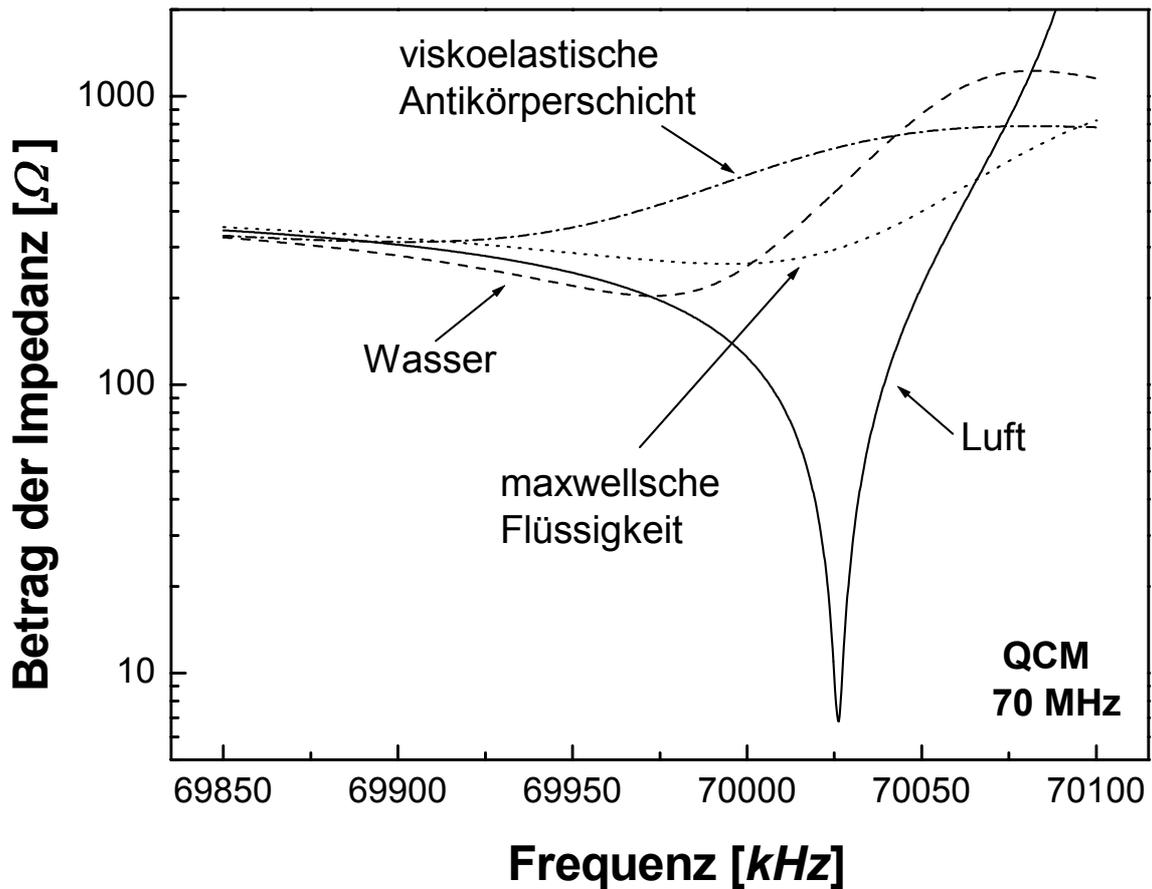


Abbildung 3.6: Modellierte elektrische Impedanz eines hochfrequenten 70 MHz Schwingquarzes mit verschiedenen akustischen Lasten (Luft, dest. Wasser, maxwellsche Flüssigkeit, viskoelastische Schicht).

| Akustische Last | Resonanzfrequenz [kHz] | Impedanz [Ω] |
|--|---------------------------|-----------------|
| Luft | 70026,0 | 7 |
| Wasser | 69973,0 | 203 |
| maxwellsche Flüssigkeit ($\rho = 930 \text{ kg/m}^3$, $\eta = 24,7 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, $G_\infty = 5 \cdot 10^5 \text{ N/m}^2$) | 69994,5 | 262 |
| viskoelastische Antikörperschicht ($d_s = 420 \text{ nm}$, $\rho = 930 \text{ kg/m}^3$, $G' = 2 \cdot 10^5 \text{ N/m}^2$, $G'' = 2 \cdot 10^6 \text{ N/m}^2$) | 69902,5 | 313 |

Tabelle 3.2: Modellierte Resonanzfrequenz und Impedanz am Minimum der elektrischen Impedanzkurve eines 70 MHz Quarzresonators für verschiedene akustische Lasten.

3.1.5 Modenspektrum

Die experimentell beobachteten Nebenresonanzen (Abbildungen 3.4 und 3.5) lassen sich aus folgender Beziehung für die Eigenresonanzen eines Quarzresonators mit kreisförmiger Elektrode gewinnen [NEU97]:

$$f_{nmp} = \frac{1}{2\sqrt{\rho}} \sqrt{\frac{c_{66}n^2}{d_q^2} + \frac{c_{11}m^2}{D_E^2} + \frac{c_{55}p^2}{D_E^2}} \quad (3.12)$$

mit der Hauptresonanz $n=1, 2, \dots$ und den Nebenresonanzen $m=0, 1, \dots$ $p=0, 1, \dots$, den Komponenten des Elastizitätsmoduls c_{11} , c_{55} und c_{66} (Anhang A) sowie der Quarzdicke d_q , der Quarzdichte ρ_q und dem Elektrodendurchmesser (effektive Schwingungsfläche) D_E .

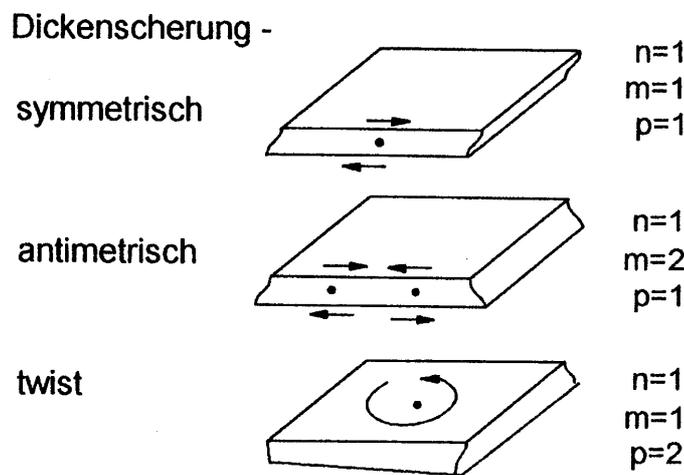


Abbildung 3.7: Antimetrische Dickenscherschwung und Dickentwistschwung als Ursache für Nebenresonanzen [NEU97].

Nebenresonanzen resultieren aus der endlichen lateralen Ausdehnung von Quarzresonatoren und der damit verbundenen antimetrischen Dickenscherschwung sowie der Dickentwistschwung (Abbildung 3.7) und folgen im Frequenzspektrum der Hauptresonanz des Grundtones ($n=1$) oder des Obertones ($n=2, 3, \dots$). Das Eigenresonanzspektrum eines Standard-19 MHz sowie eines HFF-70 MHz Quarzresonators aus (3.12) ist in Abbildung 3.8 als Funktion der normierten Resonanzfrequenz f_{1mp}/f_{111} dargestellt. Es zeigt sich, dass die Eigenresonanzen des HFF-Quarzes dichter liegen, als für den Standardquarz.

Nur bei einer Unterdrückung der Nebenresonanzen um 3 dB ist im Oszillatorbetrieb (Kapitel 4.3.3) gewährleistet, dass die Oszillatorelektronik nicht auf einer Nebenresonanz anschwingt [NEU97]. Dies gilt umso mehr bei HFF-Quarzen mit einem engeren Eigenresonanzspektrum.

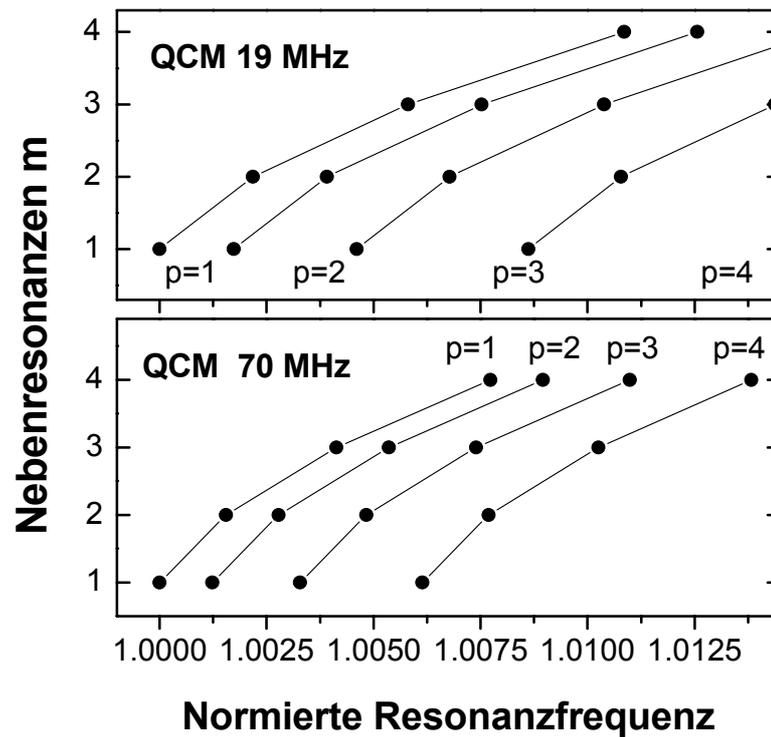


Abbildung 3.8: Eigenresonanzspektrum nach Gleichung (3.12) eines Standard-19 MHz sowie eines HFF-70 MHz Quarzresonators als Funktion der normierten Resonanzfrequenz f_{1mp}/f_{111} für die Grundmode ($n=1$, $m, p=1, 2, 3, 4$).

Durch Optimierung des Elektrodendurchmessers können störende Nebenresonanzen unterdrückt werden [BEC61], außerdem kann insbesondere bei HFF-Quarzen der Mindestabstand zu Nebenresonanzen durch den Elektrodenradius eingestellt werden [KAS98]. Aus den Forderungen zur Optimierung für hochfrequente, dünne Quarze folgt ein kleiner Elektrodenradius und eine dünne Plattierung [NEU97].

Bei den verwendeten Quarzresonatoren sind auch die Hauptresonanzen der Obertöne ausreichend unterdrückt, um ein Anschwingen der Oszillatorschaltung auf einem Oberton zu vermeiden. Im Gegensatz dazu kann bei Impedanzmessungen gezielt ein Oberton ausgewählt werden, um bei höherer Frequenz zu messen und damit eine höhere Empfindlichkeit zu erzielen. In Kapitel 2.5 wurde jedoch gezeigt, dass die Empfindlichkeit mit der Frequenz eines Obertones nicht so stark steigt, wie mit der Frequenz eines Grundtones (Fußnoten 2 und 3), deshalb wurde dieser Ansatz in der vorliegenden Arbeit nicht weiter verfolgt.

3.1.6 Laterale Empfindlichkeitsverteilung

Für die bisherigen theoretischen Modelle wurde ein lateral unendlich ausgedehntes Quarzsubstrat mit einer gleichmäßigen Auslenkung der Scherschwingung angenommen. Berücksichtigt man die endlichen Abmessungen des Schwingungsbereiches, dann folgt daraus eine lateral ungleichmäßige Verteilung der Schwingungsamplitude.

Die Schwingungsamplitude ist proportional zur Massenempfindlichkeit und kann daher experimentell gefunden werden, indem die Empfindlichkeitsverteilung auf einer Schwingquarzscheibe bestimmt wird. Abbildung 3.9 zeigt die elektrochemisch durch Masseabscheidung bestimmte Empfindlichkeitsverteilung eines Standard 20 MHz Quarzresonators ($\varnothing 8 \text{ mm}$) mit einem Elektrodendurchmesser von 4 mm [UTT95] [KÖS95].

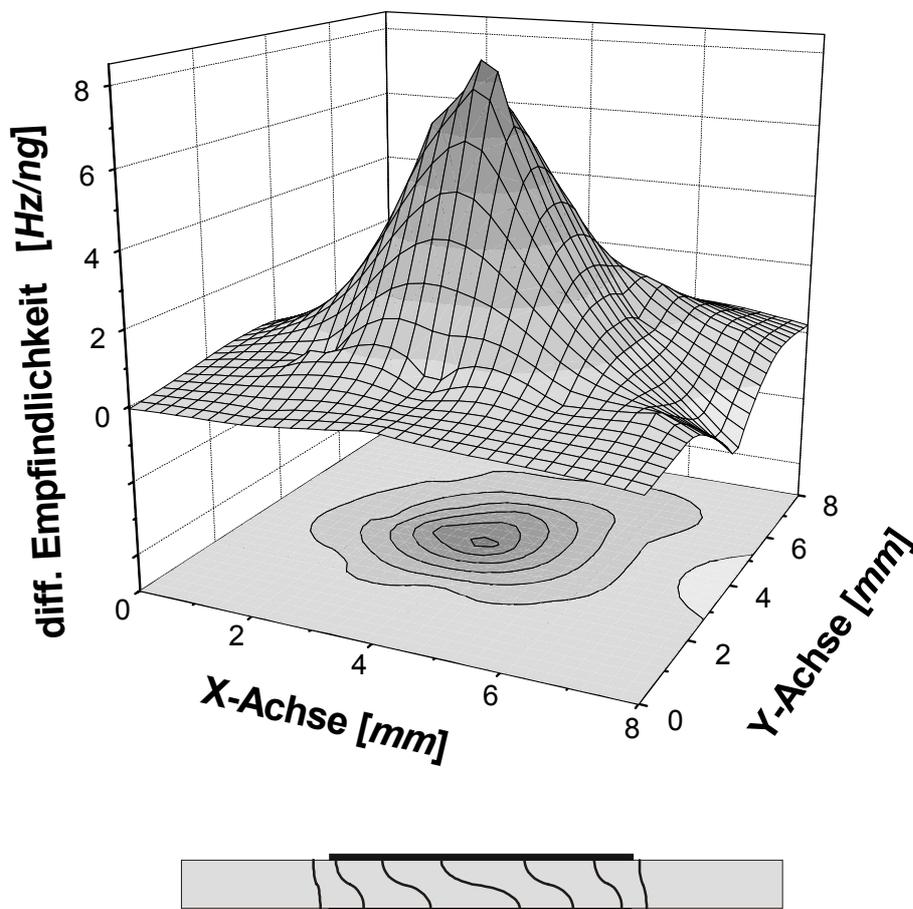


Abbildung 3.9: Räumliche Verteilung der differentiellen Empfindlichkeiten über der Quarzscheibe. Darunter ist schematisch der Querschnitt einer Quarzscheibe mit Elektroden und mit der lateral nach außen hin kleiner werdenden Grundton-Schwingungsamplitude der Dickscherschwingung dargestellt.

In dieser Arbeit werden ausschließlich gleichmäßig dicke Schichten über dem Schwingungsbereich betrachtet. Die Schichtwägemempfindlichkeit ergibt sich nach Gleichung (2.44) als Flächenintegral über die in Abbildung 3.9 dargestellten differentiellen Empfindlichkeiten. Daher kann für gleichmäßige Schichten ohne Einschränkung die in Gleichung (2.42) definierte Schichtwägemempfindlichkeit verwendet werden.

3.2 Oberflächenwellenbauelemente

In diesem Abschnitt soll, ausgehend von der theoretischen Beschreibung der Anregung von akustischen Oberflächenwellen in piezoelektrischen Festkörpern, ein elektrisches Ersatzschaltbild entwickelt werden, welches das Signalverhalten der verwendeten Oberflächenwellenbauelemente beschreibt [LEI92][FIL95][MOR85]. Es wird in dieser Arbeit so erweitert, dass zusätzlich der Einfluss beliebiger akustischer Lasten auf der Messstrecke auf das Signalverhalten des Transducers modelliert werden kann.

3.2.1 Interdigitaltransducer

Interdigitaltransducer (IDT) bestehen aus in Laufrichtung der Welle hintereinander angeordneten Fingerstrukturen, die periodisch abwechselnd an Potentiale unterschiedlicher Polarität angeschlossen werden. Ein IDT erzeugt ein ganzes Spektrum an verschiedenen akustischen Moden (Kapitel 2.2). Von Interesse sind in dieser Arbeit Oberflächenscherswellen, da sie den Messeffekt vermitteln sowie wegen der Störeffekte Volumenmoden.

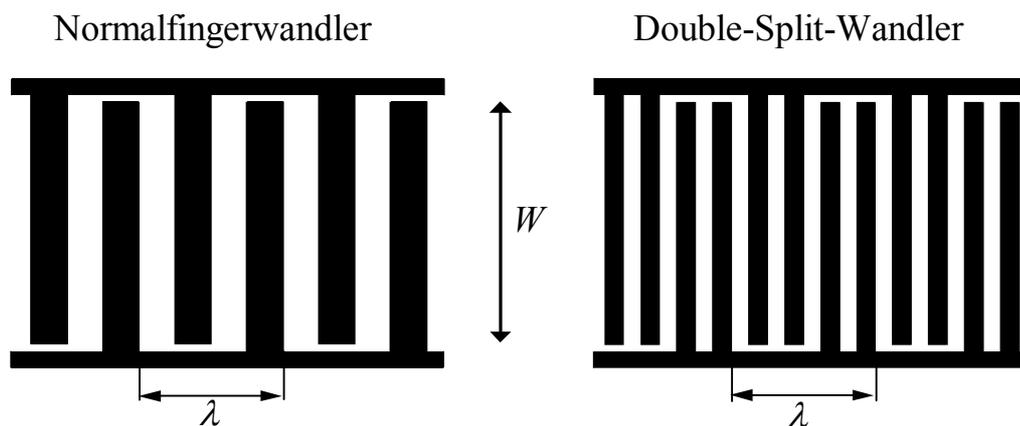


Abbildung 3.10: Single- bzw. double-split Interdigitaltransducer zur Erzeugung einer Oberflächenwelle mit der Wellenlänge λ .

In der Delay-line-Anordnung mit zwei IDT wird kontinuierlich ein elektrisches Hochfrequenz-Signal in eine akustische Welle und wieder zurück gewandelt (Kapitel 2.3.2). Für diesen Zweck sind uniforme Wandler mit gleicher Geometrie und sogenannten double-split-Strukturen, wegen geringer Störungen durch Reflexionen am besten geeignet [LEI98]. Abbildung 3.10 zeigt einen Normalfingerwandler (zwei Finger pro Wellenlänge) und einen double-split Wandler (vier Finger pro Wellenlänge). Die Überlappung der Finger wird im folgenden mit W bezeichnet.

3.2.2 Elektrische Anregung einer akustischen Welle

Die piezoelektrischen Gleichungen (Anhang A) beschreiben die Anregung von Kristallschwingungen durch äußere elektrische Felder. Erzeugt man das Feld über Elektroden auf der Oberfläche, beschreibt eine Greensfunktion den Zusammenhang zwischen Potential und Ladungsdichte [MOR85]. Der Zusammenhang der angelegten elektrischen Potentialdifferenz V_t und dem Strom I über die Sammelschiene der Fingerelektroden wird von der Admittanz Y beschrieben. Die Frequenz wird im folgenden mit $\omega = 2\pi f$ bezeichnet. Neben der akustischen Oberflächenwelle (SAW) werden von einem Interdigitaltransducer parallel auch Volumenwellen (SSBW) angeregt, welche zur Berechnung der Admittanz berücksichtigt werden müssen:

$$\hat{Y} = \frac{\hat{I}}{\hat{V}_t} = G_{SAW}(\omega) + G_{SSBW}(\omega) + i \cdot (\omega \cdot C + B_{SAW}(\omega) + B_{SSBW}(\omega)) \quad (3.13)$$

Die Admittanz besteht aus drei wichtigen Termen:

- Kapazität C , verursacht durch die statische Ladungsverteilung auf den Elektroden. Für double-split-Strukturen ist $C = \sqrt{2} \cdot N_P \cdot W (\epsilon_0 + \epsilon_S)$, mit der Anzahl der Fingerquartette N_P , der Fingerüberlappung W und den Dielektrizitätszahlen von Luft ϵ_0 und des Substrats ϵ_S .
- Konduktanz $G(\omega)$, verursacht durch die Anregung der akustischen Welle.
- Suszeptanz $B(\omega)$, bestimmt durch die Hilberttransformation¹¹: $B(\omega) = -G(\omega) * 1/\pi\omega$.

Im folgenden werden die drei Terme C , $G(\omega)$ und $B(\omega)$ einzeln betrachtet und berechnet.

Konduktanz und Suszeptanz einer Oberflächenwelle

Die Strahlungskonduktanz $G_{SAW}(\omega)$ eines Interdigitaltransducers beschreibt die Wechselwirkung eines elektrischen Signals mit einer akustischen Welle. $G_{SAW}(\omega)$ ist proportional zur Stärke der erzeugten Welle und setzt sich aus drei Faktoren zusammen, die aus der Berechnung von Strom und Ladungsverteilung der Elektroden folgen [MOR85]:

$$G_{SAW}(\omega, \gamma) = G_S(\omega) \cdot e_G^2(\omega, \gamma) \cdot a_G^2(\omega) \quad (3.14)$$

mit der Metallisierungsrate γ [%] (Verhältnis der Fingerbreite zu Spaltbreite, Abbildung 3.10), sowie den drei Faktoren:

- Materialfaktor $G_S(\omega)$: Materialfaktoren und Designparameter

¹¹ Der Operator $*$ bezeichnet eine Faltung der beiden Funktionen: $B(\omega) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{G(u)}{u - \omega} du$

- Elementfaktor $e_G(\omega, \gamma)$: Wechselwirkung der einzelnen Elektrode mit allen anderen, als geerdet angenommenen Elektroden [DAT80].
- Array-Faktor $a_G(\omega)$: Überlagerung der von einzelnen Elektroden erzeugten akustischen Partialwellen. Finger werden als hintereinander angeordnete Deltaquellen betrachtet [MOR85].

Die genaue Rechnung liefert die Konduktanz $G_{SAW}(\omega)$ und Suszeptanz $B_{SAW}(\omega)$ in der Nähe der Resonanzfrequenz ω_0 und einer Metallisierungsrate von 50 % [LEI98]:

$$G_{SAW}(x) = G_0 \cdot \left[\frac{\sin(x)}{x} \right]^2$$

$$B_{SAW}(x) = G_0 \cdot \left[\frac{\sin(2 \cdot x) - 2 \cdot x}{2 \cdot x^2} \right] \quad (3.15)$$

mit

$$G_0 = 3.111 \cdot \omega_0 \cdot N_P^2 \cdot W \cdot (\varepsilon_0 + \varepsilon_S) \cdot \left(\frac{\kappa^2}{2} \right) \quad \text{und} \quad x = N_P \cdot \pi \cdot \frac{\omega - \omega_0}{\omega_0}$$

mit der Anzahl der Fingerquartette N_P , der Fingerüberlappung W , und der Koppelkonstante κ .

Die Koppelkonstante ist abhängig von der effektiven Goldhöhe (Gleichung 2.59) und der Wellenlänge der Sensoren. Sie wurde für die verwendeten Sensoren experimentell bestimmt und ist in Tabelle 3.3 angegeben:

| SAW-Sensor | κ |
|---|----------|
| 102 MHz ($\lambda = 48 \mu\text{m}$, $h_M = 385 \text{ nm}$) | 0,058 |
| 69 MHz ($\lambda = 72 \mu\text{m}$, $h_M = 385 \text{ nm}$) | 0,053 |

Tabelle 3.3: Koppelkonstante der in dieser Arbeit verwendeten SAW-Sensoren.

Konduktanz und Suszeptanz einer Volumenwelle

Neben den beschriebenen Oberflächenwellen werden von den Interdigitaltransducern auch Volumenwellen angeregt. Dies geschieht durch Konversion der SAW in „surface skimming bulk waves“ (SSBW-Moden) an den Diskontinuitäten der Oberfläche. Jede Elektrode (bzw. Fingerkante) wirkt so als Linienquelle einer sich ins Substrat ausbreitenden Welle. Die Superposition der einzelnen Partialwellen bestimmt dann das Frequenzverhalten der Anregung von Volumenwellen.

Lee berechnet den Leitwert der SSBW-Moden abhängig von dem der SAW [LEE81]:

$$\begin{aligned} G_{SSBW}(\omega) &= G_0 \cdot CR \cdot I(\omega) \\ B_{SSBW}(\omega) &= G_0 \cdot CR \cdot \hat{H}[I(\omega)] \end{aligned} \quad (3.16)$$

mit der Hilberttransformation $\hat{H}(x)$, dem Faktor G_0 aus (3.15) und der Konversationsrate $CR = G_{Bulk}(\omega_0)/G_{SAW}(\omega_0)$.

Die Frequenzabhängigkeit der Funktion $I(\omega)$ ist ähnlich der Konduktanz der Oberflächenwelle eine Funktion von $(\sin(x)/x)^2$, nur wird hier bei einer höheren Resonanzfrequenz ω_b über alle Halbraumrichtungen im Substrat integriert [LEE81].

3.2.3 Übertragungsstrecke

Eine SAW-Verzögerungsleitung („delay line“) besteht für die verwendeten Sensoren aus zwei identischen IDT, die durch die akustische Welle miteinander gekoppelt sind. Diese Kopplung lässt sich mit der Konduktanz $G(\omega)$ eines IDT ausdrücken.

Die Kurzschlusstransferadmittanz Y_{12} gibt das Verhältnis zwischen dem Strom I_2 in einem kurzgeschlossenen IDT 2 und der Spannung V_1 an einem zweiten IDT 1, der eine akustische Welle erzeugt, an:

$$\hat{Y}_{12}(\omega) = \frac{\hat{I}_2}{\hat{V}_1} = G(\omega) \cdot a \cdot e^{-i\omega\tau} \quad (3.17)$$

mit dem Dämpfungsfaktor a (0 bis 1) und der Laufzeit τ ,

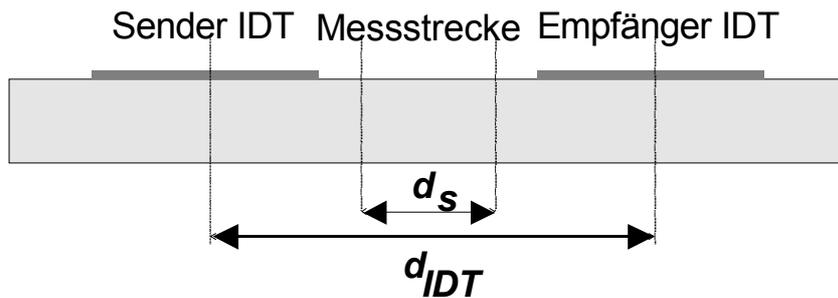


Abbildung 3.11: Übertragungsstrecke d und Messstrecke d_s .

Bei der Anwendung von Oberflächenwellenbauelementen als Sensor kommt es zur Wechselwirkung des anliegenden Mediums mit einem Teil des Sensors (Messstrecke mit Länge d_s). Die mechanischen und elektrischen Eigenschaften bewirken den erwünschten Messeffekt, nämlich eine Dämpfungsänderung $\Delta\alpha$ und eine Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$ der akustischen Welle (Kapitel 2.6). Über die Beziehung 2.51 sind $\Delta\alpha/k$ und $\Delta v/v$ direkt mit der akustischen Impedanz einer beliebigen viskoelastischen Last \hat{Z}_{Last}

gekoppelt. Ein Einfluss des Messmediums ist nur bei der Oberflächenwelle zu erwarten, nicht bei der SSBW-Mode. Für die Transferadmittanzen folgt deshalb [MOR85][LEE81]:

$$\hat{Y}_{12SAW}(\omega) = G_{SAW}(\omega) \cdot e^{-i \cdot kd_{IDT}} \cdot a_{SAW} \cdot \underbrace{e^{ikd_s \left(\frac{\Delta v}{v} + i \frac{\Delta \alpha}{k} \right)}}_{\approx e^{-kd_s \cdot C(\omega) \cdot \hat{Z}_{Last}}} \quad (3.18)$$

$$\hat{Y}_{12SSBW}(\omega) = \left(G_0 \cdot C_R \cdot \left(\frac{\sin(y)}{y} \right)^2 \right) \cdot a_{SSBW} \cdot e^{-i \cdot kd_{IDT} \cdot \left(\frac{\omega_0}{\omega_c} \right)}$$

mit den Dämpfungsfaktoren a_{SAW} und a_{SSBW} , der Wellenlänge λ_0 , der Wellenzahl $k = 2\pi/\lambda_0$ den Faktoren G_0 und C_R aus Gleichung (3.15) bzw. (3.16), den Resonanzfrequenzen der Oberflächenwelle ω_0 und der SSBW-Mode ω_b sowie $y = \pi \cdot N_P \cdot (\omega - \omega_b)/\omega_b$.

Der Ansatz die Transferadmittanz der Übertragungsstrecke von Oberflächenwellenbauelementen direkt mit der akustischen Impedanz eines beliebigen anliegenden Mediums zu verknüpfen wurde in dieser Arbeit erstmals verfolgt. Auf diese Weise ist es möglich die Auswirkung beliebiger akustischer Medien auf der Messstrecke auf das Signalverhalten des SAW-Sensors zu modellieren.

Die Frequenzen der Oberflächenwelle f_0 sowie der Volumenwelle f_b sind durch folgende Beziehungen gegeben:

$$f_b = \frac{v_b}{\lambda} \quad \text{und} \quad f_0 = \frac{v_b \left(1 + (\Delta v/v)_m \right)}{\lambda} \quad (3.19)$$

mit der durch die IDT vorgegebenen Wellenlänge λ , der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Volumenwelle $v_b = 5090$ m/s und der durch die Metallisierung verursachten relativen Änderung der SAW-Ausbreitungsgeschwindigkeit $(\Delta v/v)_m$ (Gleichung 2.59).

3.2.4 Elektrisches Ersatzschaltbild des SAW

Mit einem kompletten Ersatzschaltbild der Messanordnung (Abschnitt 4.3.2) kann man die Messgrößen Übertragungsdämpfung IL und Phasenverschiebung ϕ berechnen und so das Übertragungsverhalten des SAW-Sensors simulieren [FIL95][LEI98].

Der SAW-Sensor wird durch ein Zweitor charakterisiert, dessen Matrix-Elemente die vorher berechneten Leitwerte des IDT und der Übertragungsstrecke darstellen. Y_{11} und Y_{22} stehen als Kurzschlussadmittanzen für die Leitwerte eines einzelnen IDT (3.13); die Transferadmittanzen Y_{12} und Y_{21} sind wegen der Reziprozität piezoelektrischer Netzwerke gleich und stehen für die Übertragungsstrecke (3.18). Sie enthalten auch den Einfluss eines beliebigen akustischen Mediums auf der Messstrecke. Zur Bestimmung des Übertragungsverhaltens ist es notwendig, den Sender bzw. Empfänger und eine eventuelle Anpassung in die Berechnungen mit einzubeziehen [MAT75].

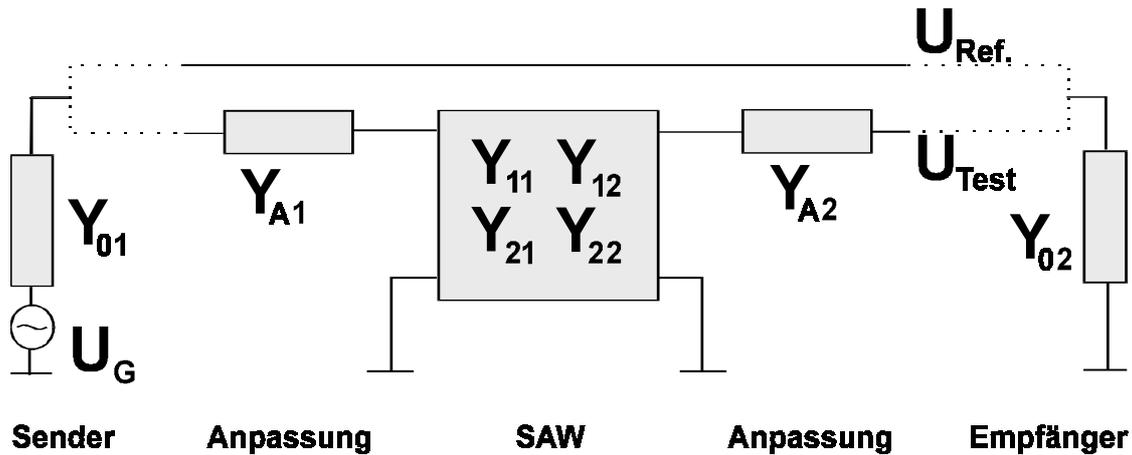


Abbildung 3.12: Ersatzschaltbild eines Oberflächenwellensensors mit Messanordnung.

Das Übertragungsverhalten des akustisch belasteten oder unbelasteten Transducers berechnet sich aus dem komplexen Verhältnis der Spannungen am Empfänger von Referenzpfad zum Testpfad:

$$\frac{\hat{U}_{Ref}}{\hat{U}_{Test}} = \left(\frac{\hat{Y}_{01} \cdot \hat{Y}_{02}}{\hat{Y}_{01} + \hat{Y}_{02}} \right) \cdot \frac{(\hat{Y}_{11} + \hat{Y}_1)(\hat{Y}_{22} + \hat{Y}_2) - \hat{Y}_{12}^2}{\hat{Y}_1 \cdot \hat{Y}_2 \cdot \hat{Y}_{12}} \quad (3.20)$$

mit der Lastadmittanz: $\hat{Y}_{1/2}^{-1} = \hat{Y}_{01/02}^{-1} + \hat{Y}_{A1/A2}^{-1}$, wobei $\hat{Y}_{01/02}$ für die Admittanzen von Sender bzw. Empfänger und $\hat{Y}_{A1/A2}$ für die Admittanzen der Anpassungselemente stehen.

Die Übertragungsdämpfung (insertion loss IL) ist durch das Verhältnis der Wirkleistungen im Empfänger, die Phasenverschiebung ϕ durch das Argument des Spannungsverhältnisses definiert:

$$IL = 20 \cdot \log \left(\left| \frac{\hat{U}_{Test}}{\hat{U}_{Ref}} \right| \right) \quad [\text{dB}]$$

$$\phi = \arg \left(\frac{\hat{U}_{Test}}{\hat{U}_{Ref}} \right) \quad [\text{rad}] \quad (3.21)$$

Mit dem Modell lässt sich durch Berechnung von IL und ϕ das Übertragungsverhalten eines Oberflächenwellensensors an Luft sowie unter dem Einfluss anliegender Medien simulieren.

Anpassungselemente

Bei Hochfrequenz-Anwendungen behandelt man Ströme und Spannungen nicht mehr separat, sondern benutzt das Wellenbild. Jede Fehlanpassung verursacht Reflexionen und damit Störungen bzw. Verluste. Die Anpassungselemente dienen dazu, die Impedanz eines SAW-Filters an die geforderte Lastimpedanz für die Hochfrequenz-Quelle bzw. den Empfänger anzupassen (hier 50Ω).

Eine Anpassung, die auf maximale Leistungsübertragung ausgelegt ist, muss die imaginären, vor allem kapazitive, Anteile der Anschlussimpedanz des SAW kompensieren [MOR85]. Dazu dient eine Serieninduktivität L_A , die zusammen mit der Fingerkapazität C einen Schwingkreis bildet, der die gleiche Resonanzfrequenz f_0 wie die akustische Welle hat¹².

$$L_A = \frac{1}{(2\pi \cdot f_0)^2 \cdot C^2} \quad (3.22)$$

Parasitäre Elemente

Neben den beschriebenen Elementen des Ersatzschaltbildes müssen noch zusätzliche Elemente eingeführt werden, um bisher nicht genannte Effekte, wie sie etwa durch den Aufbau entstehen, zu berücksichtigen:

- Der Elektrodenwiderstand R_E muss bei dünnen Metallbeschichtungen trotz hoher Leitfähigkeit (etwa bei Gold) berücksichtigt werden. Dieser Widerstand liegt in Serie zum SAW und wird in Y_A mit eingerechnet.
- Die Streukapazität C_{Streu} bildet sich zwischen Kontaktpads bzw. Fingerelektroden und der Gehäusemasse bzw. Kontaktplatte über das dünne Substratmaterial. Sie wird als Parallelkapazität zu $Y_{11/22}$ mit in das Modell einbezogen.
- Die Übersprechkapazität C_{cross} kann als Paralleleitwert mit in Y_{12} berücksichtigt werden. Sie entsteht durch kapazitives Übersprechen zwischen den Metallflächen der IDT; insbesondere eine (evtl. schlecht geerdete) Goldschicht auf der Laufstrecke zwischen den Transducern wirkt dabei als Koppelkondensator.

3.2.5 Reflektierte Volumenwellen

Neben der Reflexion von Oberflächenwellen kommt es an den Diskontinuitäten der Oberfläche auch zur Konversion in Volumenwellen. Wegen der höheren Laufgeschwindigkeit werden diese bei der Resonanzfrequenz der Oberflächenwelle in das Substrat hinein abgestrahlt. Durch Reflexion an der Rückseite, bzw. Mehrfachreflexion an beiden Oberflächen (Plattenmoden) tragen sie als "reflected bulk modes" zur Übertragung bei (Abbildung 3.13).

Nimmt man vereinfacht isotropes Material an, so gilt das allgemeine Reflexionsgesetz und die Resonanzfrequenzen der Plattenmoden f_m berechnen sich aus der Bauelementgeometrie zu einem Vielfachen der Resonanzfrequenz der ersten Volumenwelle f_b [MAR89]:

¹² In der Praxis werden auch Anpassungen, bestehend aus induktiven und kapazitiven Elementen, verwendet, mit denen zudem die ohmschen und induktiven Einflüsse der Zuleitung ausgeglichen werden können. Die Berechnung der Anpassung gestaltet sich dann jedoch weitaus aufwendiger.

$$f_m = f_b \cdot \sqrt{1 + m^2 \cdot \left(\frac{\lambda}{2 \cdot h_{substr}} \right)^2} \quad m = 1, 2, \dots \quad (3.23)$$

mit der Resonanzfrequenz der m -ten Plattenmode f_m , der Resonanzfrequenz der ersten Volumenmode $f_b = v_b/\lambda$, der Substratdicke h_{substr} und der durch die IDT-Strukturen vorgegebenen Wellenlänge λ .

Die ersten Plattenmodenresonanzen liegen noch innerhalb des Hauptmaximums der SAW-Resonanz der Oberflächenwelle und können dort Interferenzen verursachen. Sie treten in einem weiten Frequenzbereich auf; für den verwendeten 69 MHz Sensor beispielsweise bis zu einer Frequenz von 140 MHz. Gleichung (3.23) gibt in etwa die Frequenzabfolge der Resonanzen wieder, berücksichtigt jedoch nicht die Anisotropie des piezoelektrischen Substrates. Interferenzen zwischen der Oberflächenwelle und Volumenwellen können durch Beachtung spezieller Kriterien beim Sensordesign vermieden werden (Kapitel 5.1.2).

Es wird von Sensorikanwendungen berichtet, in denen Plattenmoden gezielt zur Detektion verwendet werden [MAR89]. Vorteilhaft ist dies dann, wenn auf der den IDT-Strukturen abgewandten Seite gemessen werden soll, um beispielsweise die Flüssigkeit von den elektrischen Zuleitungen zu trennen. Plattenmoden können durch stark absorbierende Beläge auf der Sensorrückseite unterdrückt werden (Abbildung 3.14).

3.2.6 Modellrechnungen

Auf Basis der in diesem Abschnitt abgeleiteten Beziehungen (3.20) und (3.21) wurde das elektrische Übertragungsverhalten eines SAW-Sensors modelliert und mit Übertragungsmessungen an den Sensorelementen verglichen.

Abbildung 3.13 zeigt die gemessene und berechnete Übertragungsdämpfung eines 69 MHz SAW-Sensors. Dieser wurde als ungehäuster Sensor (Goldmetallisierung, ohne Passivierung, unbeschichtete Rückseite) im Schnellwechselmodul mithilfe eines Netzwerkanalysators (Kapitel 4.3.2) vermessen. Die numerischen Ergebnisse der Messung sowie des angepassten Modells für die verwendeten Sensoren sind in Tabelle 3.4 aufgeführt. Die theoretischen Berechnungen wurden durch Veränderung der parasitären Elemente sowie der Anpassungsinduktivität den Messungen angepasst. Abbildung 3.13 zeigt das durch den Array-Faktor der Konduktanz bestimmte typische $\sin x/x$ -Verhalten eines Oberflächenwellenbauelements. Die SAW-Mode (-11 dB) ist, wie erwartet, am wenigsten gedämpft, der Beitrag der Volumenmode (SSBW) ist nur sehr schwach und im Graphen nicht mehr zu erkennen. Die durch das Übersprechen verursachte Grundlinie fällt bis zu -70 dB ab. Stark ausgeprägt sind jedoch die reflektierten Volumenmoden (-35 dB, Plattenmoden, Abschnitt 3.2.5).

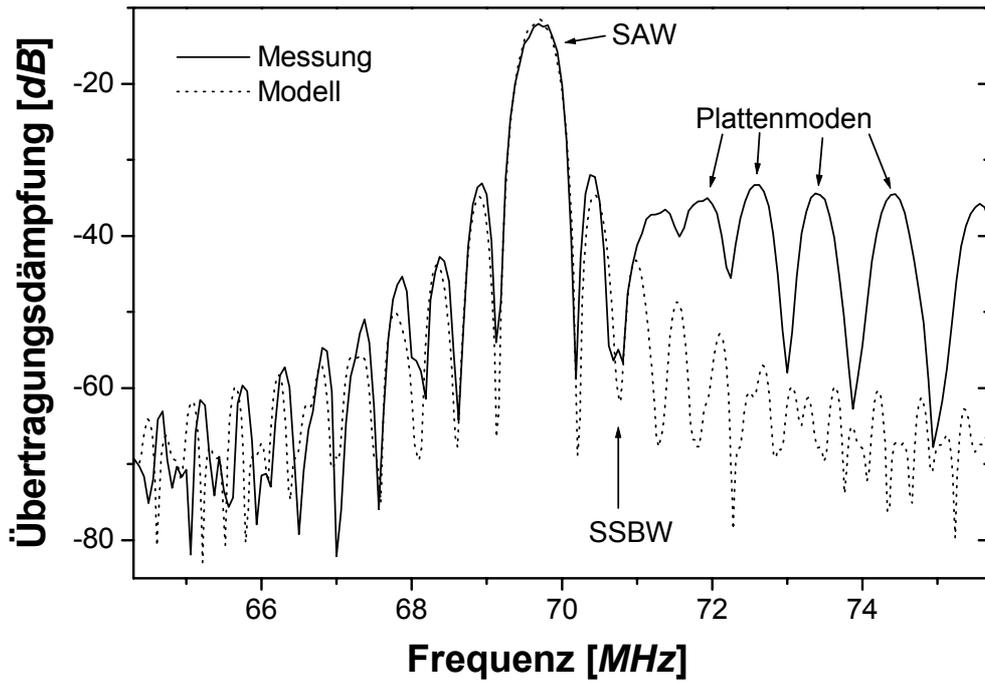


Abbildung 3.13: Gemessenes und simuliertes Übertragungsverhalten eines 69 MHz- Oberflächenwellensensors (Goldmetallisierung, keine Passivierung).

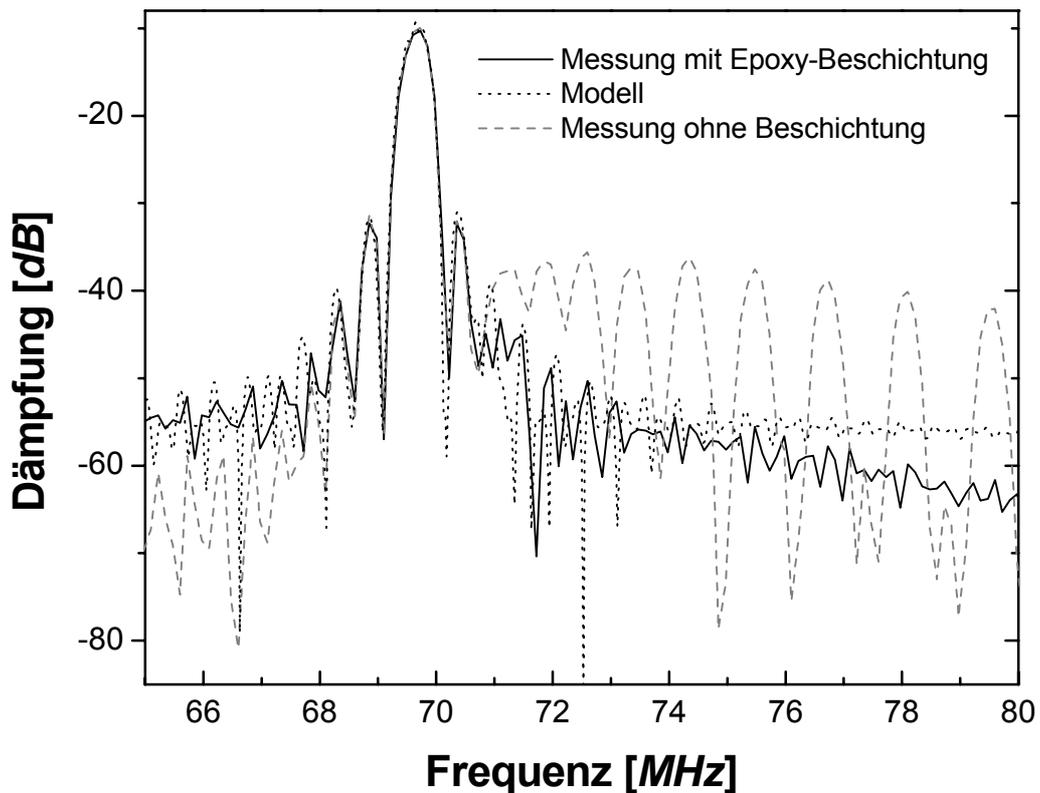


Abbildung 3.14: Gemessenes und simuliertes Übertragungsverhalten eines 69 MHz- Oberflächenwellensensors (Vorderseite: Goldmetallisierung, keine Passivierung; Rückseite: Epoxyharz). Die Plattenmoden (Messung ohne Beschichtung) werden durch die Rückseitenbeschichtung unterdrückt.

Es ist möglich, die Plattenmoden durch Beschichtung der Sensorrückseite mit einem stark dämpfenden Material („akustischer Sumpf“) komplett zu unterdrücken. In Abbildung 3.14 ist das Messergebnis des 69-MHz Sensors dargestellt, welcher auf der Rückseite mit einem Epoxydharz beschichtet wurde. Die Dämpfung der SAW-Mode entspricht ungefähr dem Wert vor der Beschichtung. Durch Veränderung der parasitären Elemente wurde das Modell der Messung angepasst (Tabelle 3.). Es zeigt sich, dass vor allem die Änderung der Streukapazität von 5 auf 9 pF sowie der Übersprechkapazität von 6 auf 19 fF für das veränderte Verhalten verantwortlich ist. Ferner erhöht sich die Anpassungsinduktivität.

Neben dem Übertragungsverhalten kann mit dem Modell auch die Resistanz und Reaktanz eines IDT bei offenem bzw. belastetem zweiten IDT berechnet werden. Der Elektrodenwiderstand R_E ist dabei durch die Grundlinie der Resistanzkurve bestimmt. Die Streukapazität erhält man aus der Gesamtkapazität, welche den linearen Verlauf der Reaktanzkurve bestimmt, durch Abziehen der berechneten Fingerkapazität.

| Parameter | 69 MHz | | 102 MHz | |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| | Messung | Modell | Messung | Modell |
| λ [μm] | 72 | 72 | 48 | 48 |
| f_{SAW} [MHz] | 69,76 | 69,67 | 102,64 | 102,68 |
| f_{SSBW} [MHz] | - | 70,67 | - | 106,0 |
| IL [dB] | -11,4 (-10,3) | -12,1 (-11,3) | -12,6 (-11,6) | -11,8 (-9,8) |
| h_M [nm] | 385 | 355 | 385 | 375 |
| K [I] | 0,053 | 0,052 | 0,058 | 0,058 |
| R_E [Ω] | - | 7 (10) | - | 15 |
| C_{Streu} [pF] | - | 5 (9) | - | 10 (16) |
| C_{cross} [fF] | - | 6 (19) | - | 8 (40) |
| C_{Stat} [pF] | - | 16,3 | - | 12,5 |
| L_A [μH] | - | 0,09 (0,18) | - | 0,06 |

Tabelle 3.4: Sensor- und Ersatzschaltbildparameter von 69 und 102 MHz SAW-Sensorelementen: Wellenlänge λ , Resonanzfrequenz der Oberflächenwelle f_{SAW} sowie der Volumenwelle f_{SSBW} , Dämpfung IL , Goldmetallisierungshöhe h_M , Koppelkonstante K , Elektrodenwiderstand R_E , Streukapazität C_{Streu} , Übersprechkapazität C_{cross} , statische Fingerkapazität C_{Stat} , Anpassungsinduktivität L_A . Die Zahlen beziehen sich auf die in den Abbildungen 3.13 und 3.14 dargestellten Messungen und Berechnungen für einen 69 MHz Sensor sowie auf einen ebenfalls verwendeten 102 MHz-Sensor. Die geklammerten Zahlen beziehen sich auf SAW-Sensoren mit Rückseitenbeschichtung zur Unterdrückung von Plattenmoden.

Nachdem gezeigt wurde, dass das theoretische Modell gute Berechnungen für das Übertragungsverhalten der verwendeten Sensoren liefert, kann nun auch die Veränderung des Signals bei verschiedenen akustischen Lasten untersucht werden. Die anliegende akustische Last wird dabei in der Transferadmittanz aus Gleichung (3.18) berücksichtigt. In Abbildung 3.15 ist als Ergebnis der Modellrechnungen das Übertragungsverhalten eines 102 MHz SAW-Sensors mit verschiedenen akustischen Lasten dargestellt. Nach Gleichung 4.4 ist die gemessene elektrische Übertragungsdämpfung am Dämpfungsminimum der

Kurve proportional zur akustischen Bedämpfung des Sensors. Die Phase ist bei der gleichen Frequenz proportional zur Geschwindigkeitsänderung durch die akustische Last. Das theoretische Modell berücksichtigt nur Einflüsse des Messmediums auf die Messstrecke zwischen den IDT, so wie dies im verwendeten Fließsystem der Fall ist¹³.

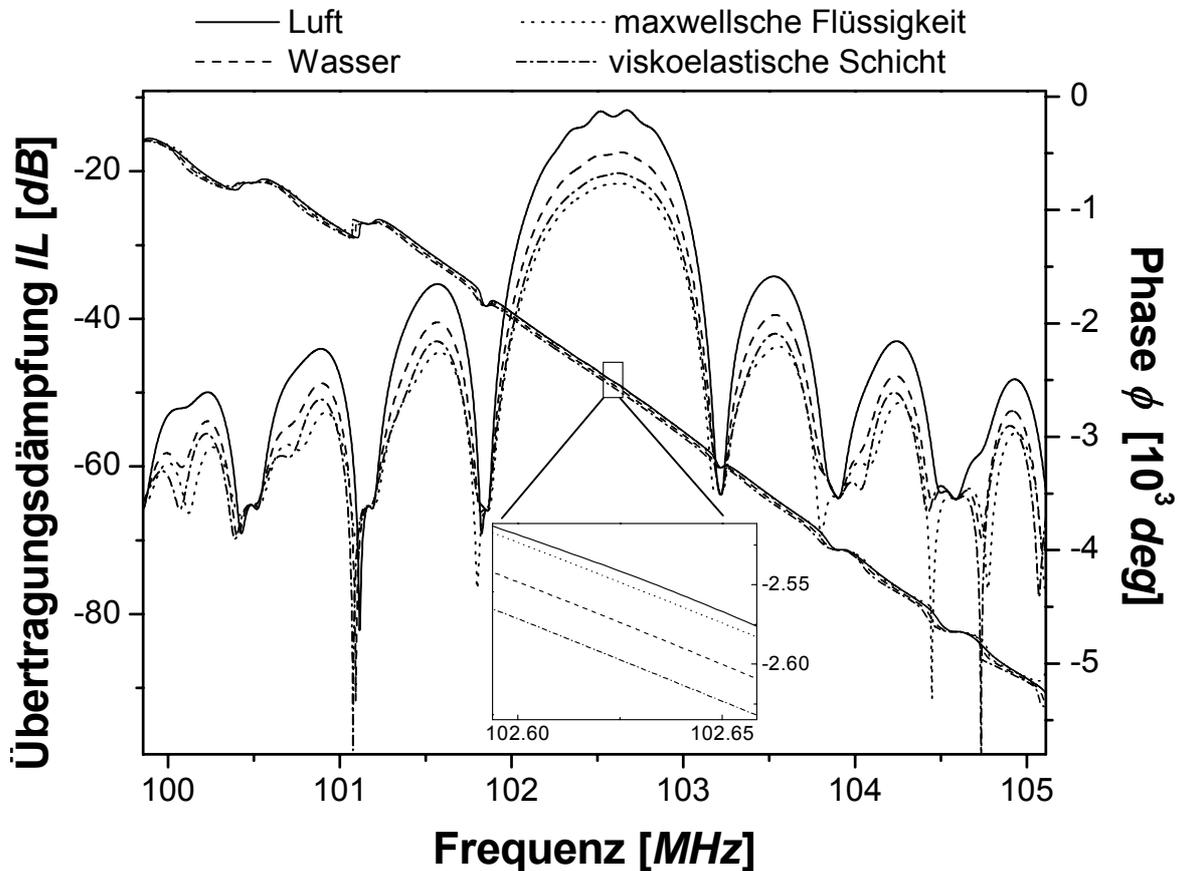


Abbildung 3.15: Modelliertes Übertragungsverhalten eines 102 MHz SAW-Sensors mit verschiedenen akustischen Lasten auf der Messstrecke (Luft, dest. Wasser, maxwellsche Flüssigkeit, viskoelastische Schicht).

Das Übertragungsverhalten wurde bei akustischer Belastung des Sensors mit Wasser, mit einer maxwellschen Flüssigkeit, entsprechend 10% PEG 35000 aus Kapitel 6.2, und mit einer viskoelastischen Schicht, entsprechend dem Antikörpermultilayer aus Kapitel 7.3, berechnet. Als Referenz wurde das Übertragungsverhalten für einen unbelasteten Quarzresonator an Luft berechnet. Die physikalischen Parameter der akustischen Lasten sind in Tabelle 3.5 zusammengefasst bzw. wurden Tabellen entnommen [WEA87] [KUC88].

¹³ Ein Einfluss des Messmediums auf die Fingerstrukturen würde zudem die Resonanzfrequenz des Sensors ändern, da dann direkt die Anregung und Detektion der elektroakustischen Wellen beeinflusst wird. Eine Interpretation der Messsignale würde dadurch stark erschwert.

Tabelle 3.5 gibt auch die Ergebnisse der Modellierung für die Übertragungsdämpfung und Phase am Dämpfungsminimum an. Es ist zu erkennen, dass sich die Dämpfung in Abhängigkeit der Belastung von Luft zu Wasser um 4,5 dB verstärkt und sich die Phase um 30° verringert. Für die maxwellsche Flüssigkeit beträgt die Phasenänderung lediglich 4°, jedoch nimmt die Bedämpfung um 9.6 dB zu. Dieses Verhalten wurde aus der Beziehung 2.55 abgeleitet. Für die viskoelastische Schicht ergibt sich eine Phasenänderung von 54° sowie eine Zunahme der Bedämpfung um 8,1 dB entsprechend der Beziehung 2.60.

| Akustische Last | Übertragungs- dämpfung [dB] | Phase [deg] |
|--|--------------------------------|----------------|
| Luft | -12,1 | -2601 |
| Wasser | -17,5 | -2632 |
| maxwellsche Flüssigkeit ($\rho = 930 \text{ kg/m}^3$, $\eta = 24,7 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, $G_\infty = 5 \cdot 10^5 \text{ N/m}^2$) | -21,7 | -2605 |
| viskoelastische Antikörper- schicht ($d_s = 420 \text{ nm}$, $\rho = 930 \text{ kg/m}^3$, $G' = 2 \cdot 10^5 \text{ N/m}^2$, $G'' = 2 \cdot 10^6 \text{ N/m}^2$) | -20,2 | -2655 |

Tabelle 3.5: Modelliertes Übertragungsverhalten mit der Dämpfung und Phase am Dämpfungsminimum eines 102 MHz SAW-Sensors für verschiedene akustische Lasten.

3.3 Diskussion

Die für Quarzresonatoren und Oberflächenwellensensoren abgeleiteten Ersatzschaltbildmodelle erlauben eine sehr gute Simulation des elektrischen Verhaltens. Durch spezielle Erweiterungen können auch akustische Lasten im Modell berücksichtigt werden.

Die theoretische Annahme unendlich ausgedehnter piezoelektrischer Substrate ist in der Praxis nicht zutreffend und führt bei Quarzresonatoren zu den betrachteten Nebenresonanzen. Es zeigt sich, dass diese bei HFF-Quarzen wesentlich dichter und näher an der Hauptresonanz liegen, allerdings in der Regel ebenso wie die harmonischen Obertöne stärker bedämpft sind, als die erste Hauptresonanz und somit in der Oszillatormessmethode nicht zu Frequenzsprüngen zwischen verschiedenen Moden führen. Für SAW-Sensoren trifft die Annahme unendlich ausgedehnter Substrate, insbesondere die Dicke betreffend, nicht zu. Bei den verwendeten Sensoren beträgt die Dicke nur 7 bzw. 10 Wellenlängen (69 MHz bzw. 102 MHz) und ein Einfluss der Substratunterseite kann nicht mehr vernachlässigt werden. Als Folge treten die betrachteten Plattenmoden auf, welche in der Regel stark bedämpft sind und zudem durch geeignete absorbierende Beläge komplett unterdrückt werden können. Die Übertragung über Volumenwellen (SSBW-Mode) ist in der Messung

kaum nachweisbar, zeigt sich aber ebenso wie die Übertragung über Plattenmoden in Interferenzerscheinungen mit der SAW-Mode [LEI98]. In Kapitel 5.1.2 werden weitere Störfaktoren behandelt sowie daraus resultierende Designvorgaben abgeleitet.

Die verwendeten Modelle sind für die Entwicklung und Analyse von Quarzresonatoren und SAW-Sensorelementen sehr hilfreich. Sie zeigen klar die Auswirkungen von Veränderungen im Bauelemente-Design auf das elektrische Verhalten. Unter Zuhilfenahme von korrigierten Parametern aus Messungen an bereits vorhandenen Bauelementen lässt sich das Verhalten von Neuentwicklungen vorhersagen und deren Design optimieren.

Die Modelle erlauben eine Auswertung des Messeffektes anliegender akustischer Lasten in einem großen Frequenzbereich um die eigentliche Resonanzstelle. Durch die genaue Vorhersage der Größe des Messeffektes ist es bereits im Vorfeld beim Sensordesign möglich, die Sensorempfindlichkeit für bestimmte Anwendungen, wie z.B. die Charakterisierung verschieden viskoser Flüssigkeiten oder der Analytnachweis, zu optimieren. Die Kenntnis der Auswirkungen des Messeffektes über einen großen Frequenzbereich erlaubt zudem die richtige Wahl der Messmethode in späteren Experimenten. Impedanz- und Übertragungsmessungen erlauben die exakte Bestimmung der Frequenz und Dämpfung des Sensors, während mit der Oszillatormethode lediglich die Frequenz exakt, dafür aber sehr schnell mit einer hohen Abtastrate, bestimmt werden kann (Kapitel 4.3). Überdies können mit einer Impedanz- oder Übertragungsmessung im Gegensatz zu einer Oszillatormessung auch noch sehr stark bedämpfte Sensoren vermessen werden.

Kapitel 4

Sensorelemente und Messmethodik

In diesem Kapitel werden die Kenndaten, Herstellungsverfahren sowie Aufbautechniken, der verwendeten Sensoren vorgestellt. Die messtechnische Erfassung der Messgrößen bildet die Grundlage für die Auswertung des physikalischen Messeffektes. Verschiedene angewandte passive und aktive elektrische Messmethoden werden aufgeführt. Das Fließinjektionsanalyzesystem stellt eine spezielle, weit entwickelte Analysentechnik für kleine Probenmengen dar. Das dafür realisierte Analysensystem mit den notwendigen Fluidkomponenten wird ebenso dargestellt, wie das Grundprinzip des immunologischen Analyt-nachweises auf akustischen Sensoren. Die Bindungsvorgänge auf der Sensoroberfläche werden durch die intrinsische Bindungskinetik sowie durch fluidische Transportvorgänge beeinflusst. Die zum Verständnis der Bindungsvorgänge nötigen theoretischen Zusammenhänge werden angegeben. Der Vergleich akustischer Sensoren mit wichtigen, in diesem Kapitel dargestellten Methoden der instrumentellen Analytik ermöglicht eine Bewertung der Leistungsfähigkeit der verwendeten Sensorelemente.

4.1 Schwingquarzsensoren

4.1.1 Aufbau der Schwingquarze

In dieser Arbeit wurden hochfrequente Grundton-Schwingquarze, engl.: high fundamental frequency (HFF), verwendet. Diese neuartigen Schwingquarze wurden bisher vorwiegend in der Hochfrequenztechnik, jedoch kaum in der Sensorik eingesetzt [WAR92]. Es handelt sich dabei um Schwingquarzscheiben, die im mittleren Bereich technologisch gedünnt werden. Da die Dicke der Quarze beim hier verwendeten AT-Schnitt (Anhang A) die Frequenz festlegt, können auf diese Weise mechanisch stabile Schwingquarze mit hohen Resonanzfrequenzen hergestellt werden. Die von der Fa. Vectron International/Neckarbischofsheim gelieferten Quarze sind in Abbildung 4.2 dargestellt. Beim Aufbau der gedünnten Schwingquarze auf einen Kunststoffträger mittels Silikonkleber wird der ge-

dünnte Bereich einer Seite als fluidische Messkammer, die durch Fluidkanäle im Kunststoff mit Flüssigkeit befüllt werden kann, verwendet (Abbildungen 4.1 und 4.2). Die elektrische Kontaktierung erfolgt durch eine wedge-bond-Technik mit Gold-Bonddrähten. Die Abmessungen der verwendeten Quarze sowie die resultierende Höhe der Messkammer sind in Tabelle 4.1 angegeben.

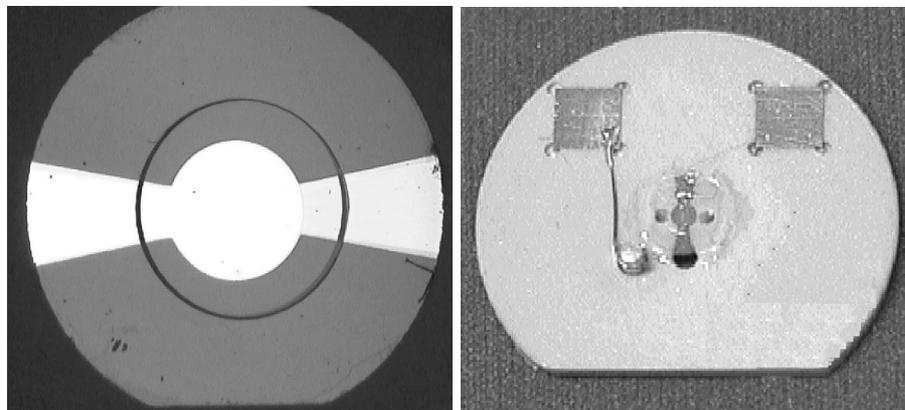


Abbildung 4.1: HFF-Schwingquarz als Quarzblank (links) und als aufgebauter Sensorchip (Aufsicht, rechts).

| QCM Sensortyp | 10 | 19 | 39 | 56 | 63 | 70 | 111 |
|--|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Frequenz an Luft [MHz] | 9,85 | 18,89 | 38,94 | 56,06 | 62,61 | 69,89 | 110,97 |
| Membrandicke ¹⁴ [μm] | 167 | 88 | 43 | 30 | 27 | 24 | 15 |
| Randdicke [μm] | 167 | 88 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| \emptyset -Quarz D_q [mm] | 8 | 8 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| \emptyset -Membran [mm] | - | - | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| \emptyset -Elektrode D_E [mm] | 4 | 4 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Elektroden Dicke [nm] | 350 | 350 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Messzellenhöhe h_z [μm] | 40 | 40 | 19 | 25 | 27 | 28 | 33 |
| Güte in Luft | 7880 | 6120 | 23870 | 16570 | 27830 | 9850 | 12180 |
| Güte in Wasser | 1820 | 1580 | 630 | 630 | 980 | 690 | 1000 |

Tabelle 4.1: Übersicht über die Kenndaten sowie Güten der verwendeten Schwingquarzsensoren. 10 und 19 sind Standardschwingquarze; 39 bis 110 sind HFF-Quarze.

Zu Vergleichszwecken wurden neben den HFF-Schwingquarzen (39 bis 110 MHz) auch Standard-Schwingquarze (10 und 19 MHz) benutzt. Die Messkammer wurde in diesem Fall feinwerktechnisch als Vertiefung im Kunststoff bei ansonsten gleicher Aufbautechnik realisiert. Als Elektrodenmaterial wurde wegen der guten chemischen Resistenz und biolo-

¹⁴ Die Membrandicke wurde aufgrund der gemessenen Resonanzfrequenz der Sensoren berechnet. Die Massenbelastung der Goldmetallisierung wurde dabei nicht berücksichtigt.

gischen Verträglichkeit ausschließlich Gold mit den in Tabelle 4.1 angegebenen Dicken verwendet. Für eine optimale Elektrodenbeschichtung erweist sich eine dünne Haftschrift aus Nickel-Chrom als erforderlich. Neben den Kenndaten sind in Tabelle 4.1 auch die mittels Impedanzmessung bestimmten Güten der Quarze in Luft und Wasser aufgeführt.

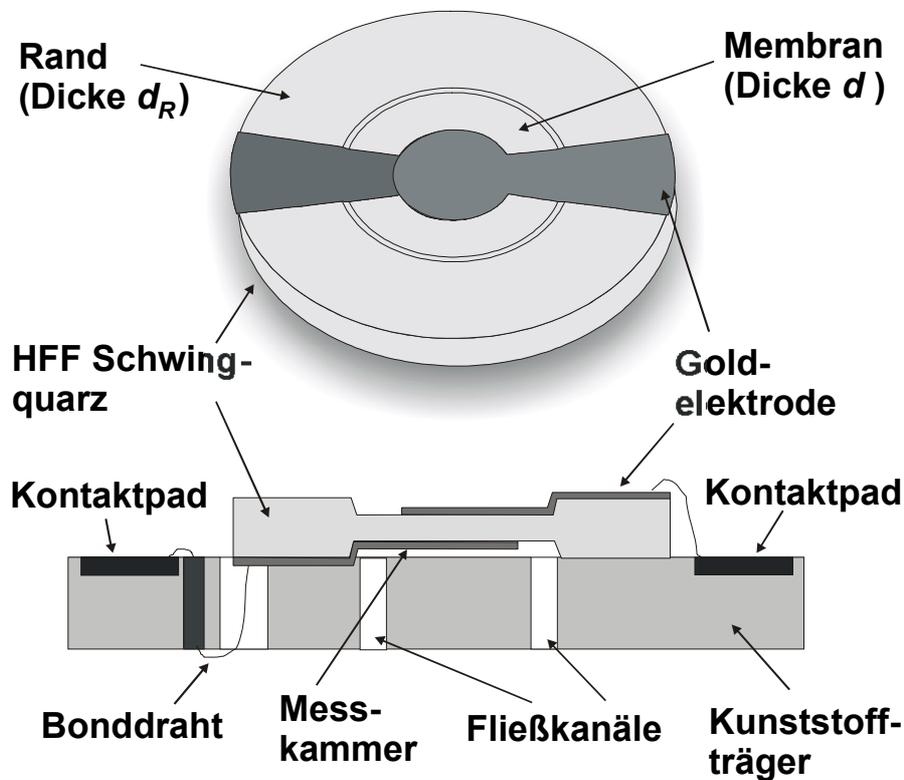


Abbildung 4.2: HFF-Schwingquarz als Quarzblank und als aufgebauter Sensorchip im Querschnitt [UTT01].

4.1.2 Mikrotechnologische Herstellung

Unterschiedlichste Techniken können zur Herstellung von hochfrequenten Quarzscheiben eingesetzt werden. Neben wirtschaftlichen Aspekten sind vor allem die Planparallelität und die Oberflächenrauigkeit im strukturierten Gebiet ausschlaggebende Kriterien, nach denen diese Techniken zu beurteilen sind (Kapitel 5.1).

Folgende Techniken werden zur Herstellung gedünnter Bereiche, die auch als „inverted mesa“-Strukturen bezeichnet werden, eingesetzt [KAS98]:

- Teilchenspur-Ätztechnik: Das Prinzip beruht auf der lokalen Zerstörung der chemischen Quarzbindungen im Kristall mit Hilfe hochenergetischer Schwerionen im MeV -Bereich. Entlang der Flugbahnen der Schwerionen ist die Ätzgeschwindigkeit wesentlich höher als im übrigen nicht bestrahlten Gebiet. Auf diese Weise hergestellte inverted-mesa-Strukturen weisen allerdings eine hohe Oberflächenrauigkeit auf.

- Mechanische Strukturierung mittels einer Mikroschleifmaschine: Diese Technik basiert auf einer mit Diamantsplittern beschichteten Stahlkugel, die magnetisch auf einer rotierenden Achse befestigt ist und damit beliebige Strukturen in einen angelegten Schwingquarz schleifen kann. Nachteilig sind hier die hohe Oberflächenrauigkeit sowie der zeitliche Fertigungsaufwand.
- Plasmaätzen (Trockenätzen): keV -Ionen aus einem Plasma werden durch ein elektrisches Feld beschleunigt und treffen auf die gekühlten Quarzscheiben. Die hochenergetischen Teilchen zerstäuben das Target, in dem sie Energie durch Stoß auf dessen Atome übertragen. Mit Argon als Sputtergas erreicht man dadurch eine Ätzrate von $12 \mu m/h$. Durch Beimischung eines chemisch reaktiven Gases (z.B. C_6F_6) kann die Ätzrate auf $30 \mu m/h$ gesteigert werden.
- Strukturierung durch nasschemisches Ätzen in Kombination mit Lithographie: Ausgangsmaterial ist ein bei starken Feldstärken gelagertes spezielles Quarzmaterial („swept quartz“). Die Oberfläche der Quarzscheiben wird vor dem Ätzen sehr glatt poliert, da sich sonst eventuelle Rauigkeiten durch den Ätzschritt noch verstärken. Der Bereich außerhalb der inverted-mesa-Struktur wird durch eine lithographisch aufgebraute Chrom-Gold-Schicht geschützt, welche gegen die in der Regel verwendeten Ätzflüssigkeiten (z.B. Flußsäure, Natronlauge) resistent ist. Dieses Verfahren ermöglicht die Herstellung sehr glatter Oberflächen mit einem Rauigkeitswert von $1,5 nm$ auch nach $35 \mu m$ Ätztiefe.

Die hier verwendeten HFF-Quarze wurden nach dem nasschemischen Ätzverfahren hergestellt. Der mittlere Rauigkeitswert der Oberfläche verwendeter HFF-Quarze konnte mithilfe von eigenen AFM-Untersuchungen zu unter $1 nm$ bei maximalen Rauigkeiten von bis zu $10 nm$ festgestellt werden (Tabelle 5.2).

4.2 Oberflächenwellensensoren

4.2.1 Sensordesign

Zwei verschiedene Sensordesigns eines Oberflächenwellensensors mit verschiedenen Resonanzfrequenzen, aber mit gleichen geometrischen Abmessungen wurden im Rahmen dieser Arbeit realisiert (Abbildung 4.3).

Die Sensoren wurden auf 500 μm dicken Quarzsubstraten mit -36° -Schnitt gefertigt (Anhang A). Bei dem Design der Finger wurde das double-split-Design (Abbildung 3.10) verwendet. Die Kantenwinkel betragen 23° . Die Sensoren wurden mit und ohne Siliziumkarbidpassivierung hergestellt. Die Passivierung ist nur als Schutz für die feinen Strukturen der Interdigitaltransducer konzipiert. Kontaktpads und Messstrecke werden nicht passiviert. Auf der Messstrecke ermöglicht dies direkt die Ankopplung von Rezeptorschichten auf der Goldmetallisierung, was auf der SiC-Passivierung nicht direkt möglich wäre. Die übrigen Daten zum Sensordesign sind in Tabelle 4.2 zusammengestellt.

| SAW Sensordesign | 69 MHz | 102 MHz |
|---|---------------|----------------|
| Frequenz an Luft ohne SiC-Passivierung [MHz] | 69,76 | 102,64 |
| Frequenz an Luft mit SiC-Passivierung [MHz] | 69,66 | 102,32 |
| Wellenlänge [μm] | 72 | 48 |
| Dämpfung in Luft [dB] | 11,4 | 12,6 |
| Dämpfung in Luft mit Dichtung [dB] | 12,6 | 17,9 |
| Dämpfung in Wasser [dB] | 14,3 | 23,2 |
| Metallisierungshöhe [nm] | 385 | 385 |
| Passivierungshöhe [nm] | 500 | 500 |
| Fingeranzahl (Quartetts) | 130 | 150 |
| Fingerüberlappung [μm] | 1800 | 1200 |
| IDT-Mittenabstand d_{IDT} [mm] | 17,022 | 14,808 |
| Sensitive Messstrecke d_S [mm] | 6,3 | 6,3 |
| Verhältnis d_S / d_{IDT} | 0,370 | 0,425 |

Tabelle 4.2: Übersicht über die Designdaten und Übertragungsdämpfungen der verwendeten Oberflächenwellensensoren.

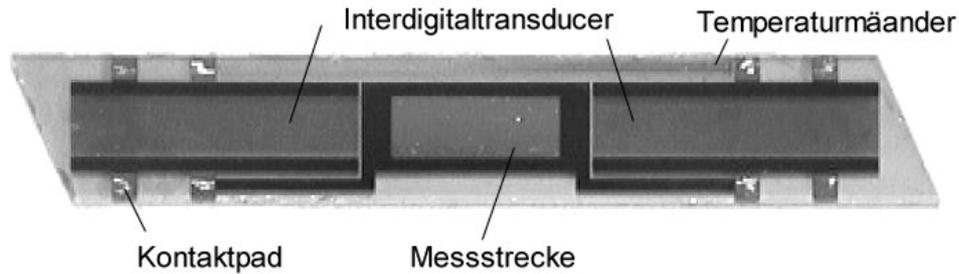


Abbildung 4.3: Oberflächenwellensensor als Verzögerungsleitung („delay-line“) mit zwei Interdigitaltransducern und zwischenliegender Messstrecke.

4.2.2 Mikrotechnologische Herstellung

Die Sensoren wurden mikrotechnologisch am Fraunhofer-Institut IMS München in Dünnschichttechnik hergestellt. Die Prozessfolge gestaltet sich folgendermaßen:

- Reinigen der 4“-Quarzwafel in einer wässrigen Ammoniak-Wasserstoffperoxid-Lösung
- Sputtern der Haftsicht aus Titan-Wolfram (35 nm) sowie der Goldmetallisierung (350 nm)
- Kontakt-Lithographie mit Metallisierungsmaske, Lackdicke 1,5 μm
- Plasmaätzen (Trockenätzen) sowie nasschemisches Ätzen (30% H_2O_2) zum Entfernen der Titan-Wolfram-Reste (58°C, 10 sec)
- Sauerstoff-Lackveraschen (3 min) sowie chemische Lackentfernung
- Plasmaabscheidung (PECVD) Siliziumkarbid 500 nm als Passivierung bei 200 °C
- Lithographie mit Passivierungsmaske, Lackdicke 1,5 μm
- Plasmaätzen (Trockenätzen) (16 min)
- nasschemische Lackentfernung (45 min)
- Wafersägen

Der mittlere Rauigkeitswert der Goldmetallisierung auf der Messstrecke konnte mithilfe von AFM-Untersuchungen zu unter 2 nm bei maximalen Rauigkeiten von bis zu 20 nm festgestellt werden (Tabelle 5.2).

4.3 Elektrische Messmethoden

Die messtechnische Erfassung der Messgrößen bildet die Grundlage für die Auswertung des physikalischen Messeffektes. Es können passive und aktive elektrische Messmethoden unterschieden werden. In einer passiven Messmethode wird das zu untersuchende Sensorelement in einem großen Frequenzbereich durch Bestimmung der Impedanz, in dieser Arbeit von Schwingquarzsensoren, oder durch Bestimmung des Übertragungsverhaltens, in dieser Arbeit von Oberflächenwellenbauelementen, charakterisiert. Die passiven Messungen wurden in dieser Arbeit mithilfe eines Netzwerkanalysators HP4195A von Hewlett Packard durchgeführt. Er ermöglicht die Untersuchung von Bauelementen im Frequenzbereich von 0 bis 500 MHz und besitzt zwei Ports mit je einer variablen Hochfrequenzquelle. Der Messablauf und die Datenverarbeitung werden von einem internen Mikroprozessor gesteuert. Die Messdaten können über einen IEEE-Bus an einen Personalcomputer übertragen werden. In der aktiven Messmethode wird das zu untersuchende Sensorelement als frequenzbestimmendes Glied einer Oszillatorschaltung betrieben.

Während in passiven Messmethoden charakteristische Daten des Sensorelements in einem großen Frequenzbereich gewonnen werden können, ist dies in der aktiven Messmethode nur an der Resonanzfrequenz möglich, zudem ist das Dämpfungssignal einer Oszillatorschaltung oft nicht linear zur Bedämpfung des Sensors. Der große Vorteil der Oszillortechnik liegt in einem geringen technischen Aufwand bei deutlich verkürzten Abtastraten im Sekundenbereich im Vergleich zu einem Minutenbereich bei passiven Messmethoden. Zudem ist der Platzbedarf einer Oszillatorelektronik klein, was für eine Miniaturisierung des Gesamtgerätes eine notwendige Voraussetzung ist.

4.3.1 Impedanzmessung

In dieser Betriebsart wird der komplexe Wellenwiderstand eines Bauteils über seinen Reflexionsfaktor bestimmt. Die Anschlüsse des Netzwerkanalysators werden dazu auf einen Richtkoppler geführt, der vor- und zurücklaufende Wellenanteile trennt. Die Messung wird mittels definierter Impedanzen ($0, 50, \infty \Omega$) am Ausgang (DUT, device under test) kalibriert. Die Darstellung der Messwerte erfolgt als Scheinwiderstand (Impedanz) \hat{Z}_{el} oder als Scheinleitwert (Admittanz) \hat{Y} .

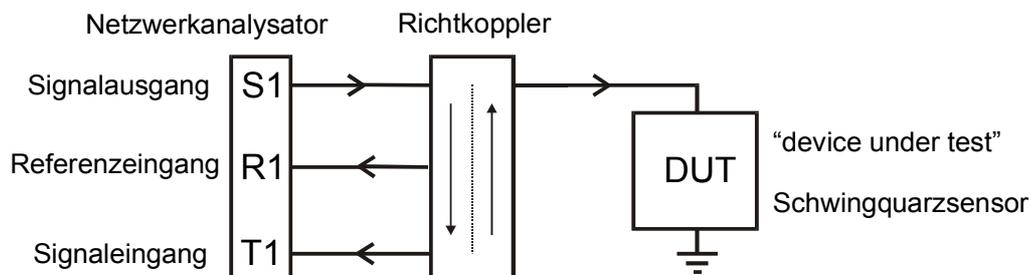


Abbildung 4.4: Prinzip der Impedanzmessung mit einem Netzwerkanalysator

Die elektrische Impedanz eines Schwingquarzes $\hat{Z}_{el} = |Z_{el}|e^{i\phi}$ ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Zur Auswertung der experimentellen Ergebnisse wird auch die Admittanzdarstellung herangezogen. Aus dem Ersatzschaltbild eines Quarzes (Abbildung 3.2) ergibt sich folgende Admittanzgleichung:

$$\hat{Y}(\omega) = \frac{1}{\hat{Z}_{el}(\omega)} = \frac{1}{R + i\omega L + 1/i\omega C} + i\omega C_0 \quad (4.1)$$

Diese Gleichung kann als Ortskurve in der komplexen Ebene G - B dargestellt werden (Abbildung 4.5). Die Admittanz \hat{Y} wird dabei als Realteil G (Konduktanz) und Imaginärteil B (Suszeptanz) dargestellt. Die rein akustische Resonanzfrequenz ist die Serienresonanzfrequenz f_S , für die gilt:

$$f_S = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \quad (4.2)$$

Die meisten Oszillatorschaltungen arbeiten jedoch bei reeller Admittanz Y , d. h. entweder auf der Resonanzfrequenz f_R oder auf der Antiresonanzfrequenz f_A wie Gleichung (4.7) verdeutlicht.

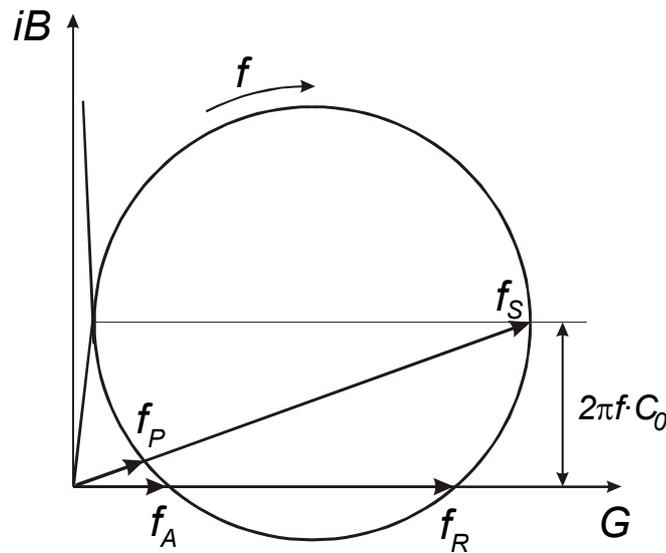


Abbildung 4.5: Ortskurve der Quarzadmittanz $\hat{Y} = G + iB$.

Als zweiter unabhängiger Messwert neben der Serienresonanzfrequenz f_S liefert die Halbwertsbreite f_{HBW} eine Aussage über die Güte Q des Quarzes, denn es gilt:

$$Q = \frac{1}{\omega CR} = \frac{\omega L}{R} = \frac{f_S}{\Delta f_{HBW}} \quad (4.3)$$

mit Ersatzschaltbildparametern R , L , C . Die Halbwertsbreite wird bei 50% des Wertes von G_{Max} bestimmt.

Zur Bestimmung der Messparameter f_S sowie f_{HBW} (Abbildung 4.6) wird nur die Konduktanz G herangezogen, da zum einen das Maximum G_{Max} der Konduktanz bei Abwesenheit ohmscher Verluste ($R = 0$) genau der Serienresonanzfrequenz f_S entspricht. Zum anderen ist die Konduktanz frei von elektrischen Einflüssen. Die Kapazität C_0 und die Zuleitungseinflüsse gehen nur in die Suszeptanz B ein.

Die in Gleichung 2.37 definierte Dämpfung Γ ergibt sich zu: $\Gamma = \Delta f_{HBW} / 2$. Für die später gezeigten Messungen sind die Änderungen der charakteristischen Messgrößen Δf_S und $\Delta \Gamma$ von Bedeutung.

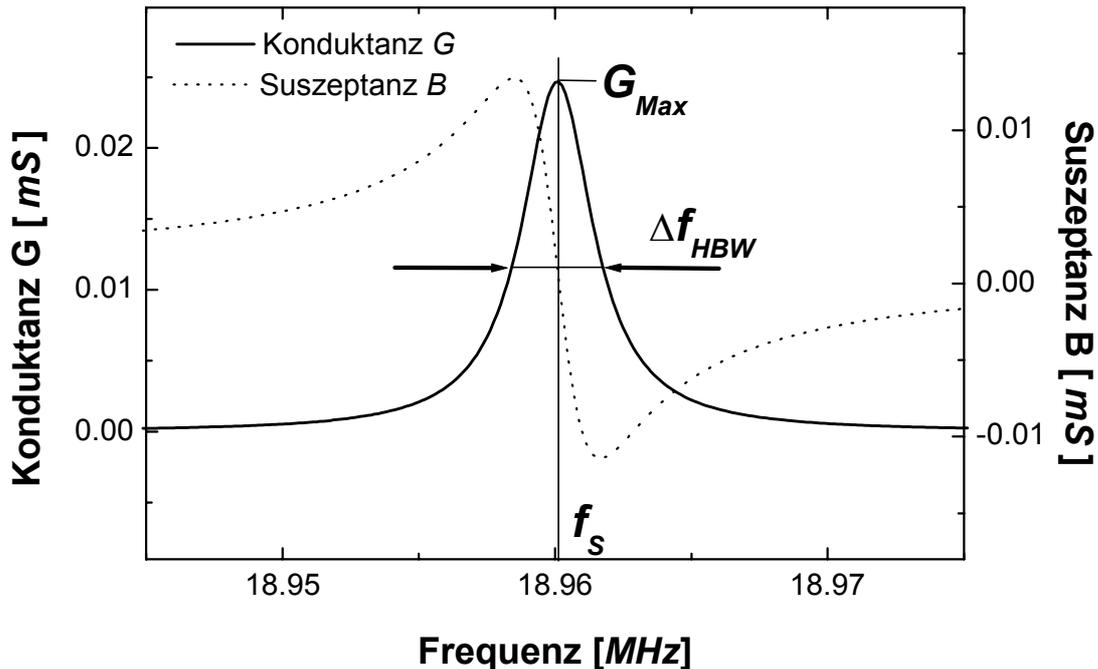


Abbildung 4.6: Darstellung der Admittanz eines 20-MHz-Schwingquarzes in G-B Darstellung.

4.3.2 Übertragungsmessung

In dieser Betriebsart wird das Übertragungsverhalten von Oberflächenwellenbauelementen als Funktion der Frequenz vermessen. Mit einem sogenannten Powersplitter wird ein Teil des Ausgangssignals auf einen Referenzeingang geleitet, der andere Teil fließt über das zu untersuchende Bauteil (Abbildung 4.7). Nach einer Kalibrierung mit einem Leerlauf (0Ω) wird aus dem komplexen Amplitudenverhältnis der beiden Eingänge die Übertragungsfunktion bestimmt.

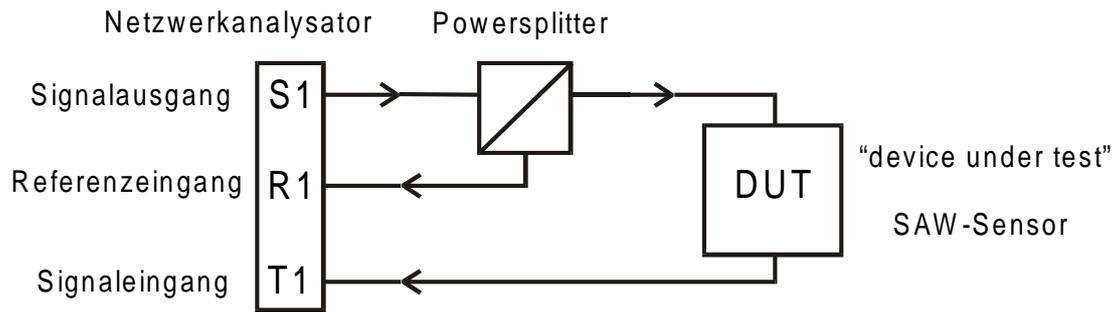


Abbildung 4.7: Prinzip der Übertragungsmessung mit einem Netzwerkanalysator.

Ein elektrisches Ersatzschaltbild des Aufbaus zur Übertragungsmessung ist in Abbildung 3.12 dargestellt. Die Darstellung der Messwerte erfolgt als Amplitudenverhältnis sowie als Phasenverschiebung des Bauteils relativ zur direkten Verbindung. Die Umrechnung des Leistungsverhältnisses erfolgt dabei nach Gleichung 3.21.

Abbildung 4.8 zeigt das Übertragungsverhalten eines 102 MHz SAW-Sensors mit den charakteristischen Messgrößen IL und ϕ bei vorgegebener Frequenz f_0 .

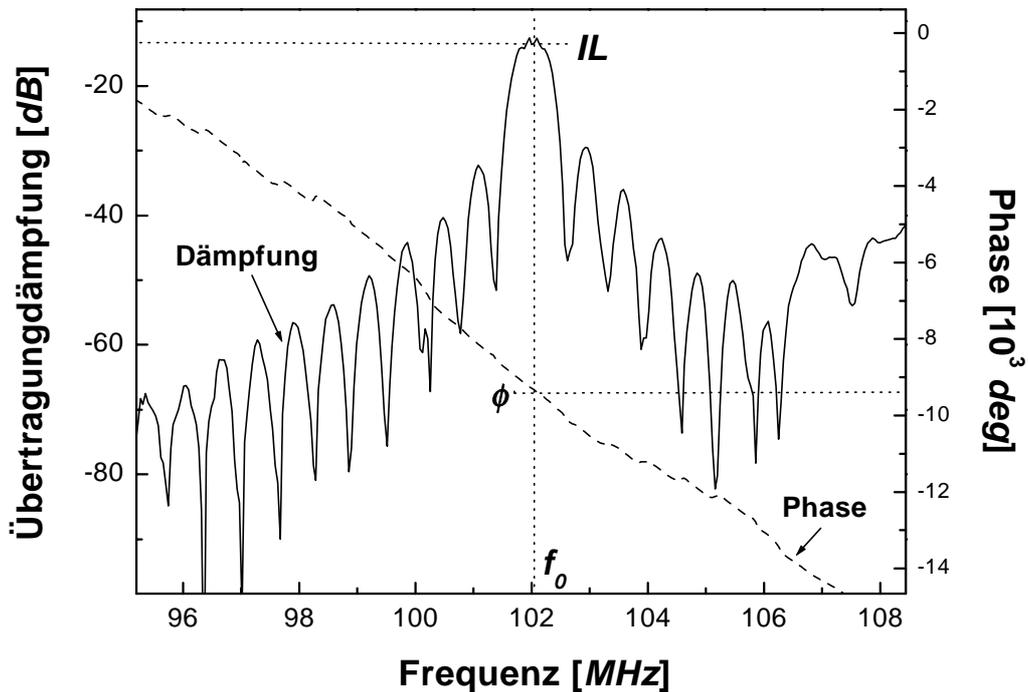


Abbildung 4.8: Darstellung des Übertragungsverhaltens eines 102-MHz-SAW-Sensors.

Unter der Voraussetzung, dass die Störeffekte durch Reflexionen und Echos vernachlässigbar sind, resultiert die Umsetzung des Messeffekts in die Messgrößen ΔIL und $\Delta\phi$ zu:

$$\begin{aligned}\Delta IL &= IL\left(\alpha, \frac{\Delta v}{v}\right) - IL_0 = -\frac{20}{\ln 10} \cdot d_s \cdot \alpha \\ \Delta \phi &= \phi\left(\alpha, \frac{\Delta v}{v}\right) - \phi_0 = 2\pi \cdot \frac{d_s}{\lambda} \cdot \frac{\Delta v}{v}\end{aligned}\quad (4.4)$$

mit der Übertragungsdämpfung IL_0 und Phase ϕ_0 ohne Messeffekt, der Wellenlänge des Sensorelements, der Geschwindigkeitsänderung $\Delta v/v$, der Dämpfung α und der Länge der Laufstrecke d_s .

4.3.3 Oszillatormethode

Die verwendeten Oszillatorschaltungen für Schwingquarz und SAW-Sensoren basieren auf dem Prinzip eines Festphasenoszillators, der im Dämpfungsminimum bzw. Impedanzminimum des Sensorelements schwingt [KÖS92][LAN97].

Im Falle eines SAW-Oszillators wird ein Verstärker durch den Sensor rückgekoppelt. Das Ausgangssignal des Verstärkers liegt damit bandpassgefiltert am Eingang desselben wieder an. Im Falle eines Quarzoszillators wird die Verstärkung durch die Impedanz der Serienresonanz des einseitig geerdeten Quarzes und durch den über einen Transistor einstellbaren Arbeitspunkt bestimmt. Der Quarz liegt einseitig auf Masse, um eine gute elektrische Abschirmung zur anliegenden Flüssigkeit zu erreichen. Die Frequenz wird im Falle des Quarzoszillators über Verstärker direkt aus dem Oszillatorkreis herausgeführt (Abbildung 4.9).

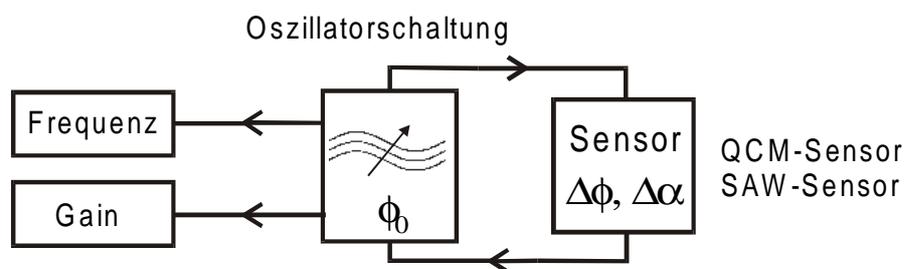


Abbildung 4.9: Prinzip eines Festphasenoszillators:

Für beide Oszillatorarten müssen zwei grundlegende Bedingungen erfüllt sein:

- Amplitudenbedingung: $|\hat{V}| \cdot |\hat{\alpha}| = 1$

mit der Verstärkung \hat{V} und der Dämpfung $\hat{\alpha}$. Diese Bedingung wird durch den Regelkreis, bestehend aus dem Leistungsmesser, dem Regler und dem regelbaren Verstärker, eingehalten. Am Verstärkerausgang liegt somit stets eine konstante Leistung an. Die Regelspannung des Verstärkers ist als Spannung „Gain“ herausgeführt (Abbildung 4.9). Sie gibt die Dämpfung des Sensors an.

- Phasenbedingung: $\arg(\hat{V}) + \arg(\hat{\alpha}) = n \cdot 2\pi$

Bei der oben beschriebenen Regelung stellt sich die Phasenbedingung automatisch ein. Eine Änderung der Phasenverschiebung $\Delta\phi$ durch den SAW wird über seine lineare Phasensteilheit $\frac{d\phi}{df} = \frac{2 \cdot \pi}{f_0} \cdot \frac{d_{IDT}}{\lambda_0}$ in eine Frequenzänderung Δf übertragen.

Im Falle des Quarzoszillators resultiert der physikalische Messeffekt direkt in einer Änderung des Frequenz- und Dämpfungssignals der Oszillatorschaltung; im Falle des SAW-Oszillators wird die charakteristische Geschwindigkeitsänderung der Oberflächenwelle (Phasenänderung) aufgrund des Betriebs bei fester Phase ϕ_0 in eine Frequenzänderung umgesetzt, wie Abbildung 4.10 verdeutlicht:

$$\Delta f = \frac{f_0}{2 \cdot \pi} \cdot \frac{\lambda_0}{d_{IDT}} \Delta\phi \quad (4.5)$$

mit der Resonanzfrequenz f_0 ohne physikalischen Messeffekt und der Wellenlänge λ_0 . Es ist zu berücksichtigen, dass ϕ_0 abhängig ist von der Frequenz, der Dämpfung sowie der Temperatur.

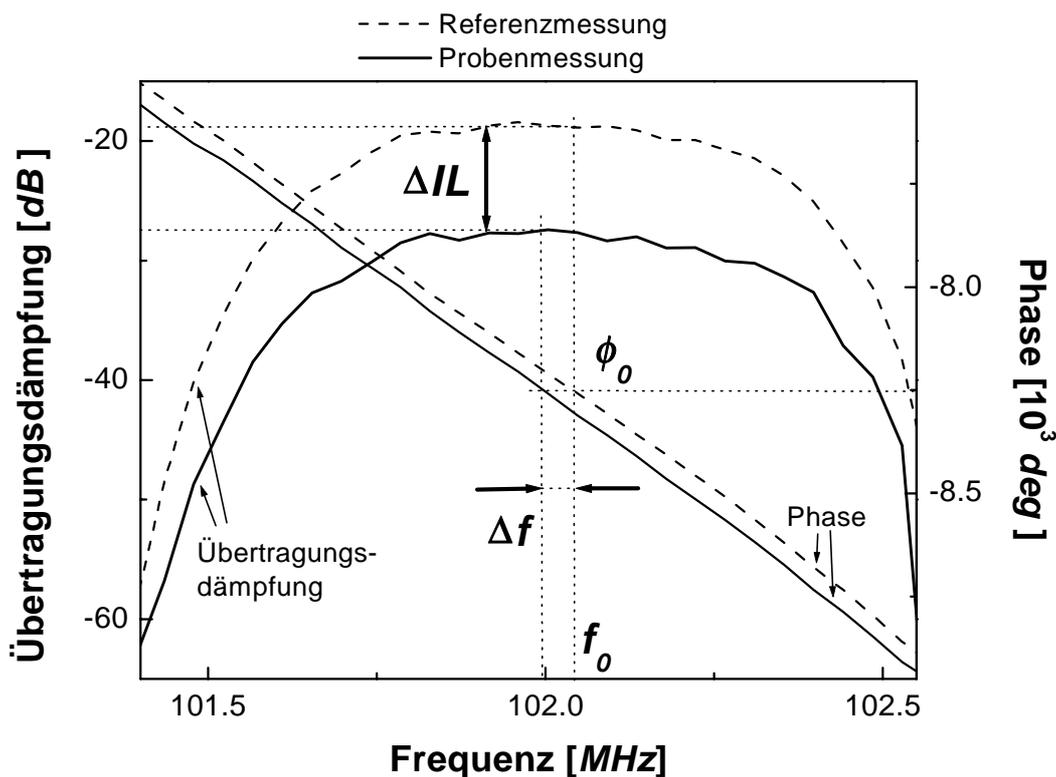


Abbildung 4.10: Messgrößen bei der Oszillatormessung für SAW-Sensoren. Umsetzung der Phasenänderung in eine Frequenzverschiebung (Festphasenprinzip).

Mit Gleichung (4.4) resultiert für SAW-Sensoren:

$$\frac{\Delta f}{f} = \frac{d_S}{d_{IDT}} \cdot \frac{\Delta v}{v} \quad (4.6)$$

mit der Länge der Laufstrecke d_S und der Übertragungsstrecke d_{IDT} (siehe Abbildung 3.11).

Aufgrund der Ausführung der Sensorelektronik als Festphasenoszillator beeinflussen die Kabellängen und die Buchsen das Verhalten, da sie die Phasen drehen. Es kann im Allgemeinen nicht erwartet werden, dass die Absolutfrequenzen nach dem Abtrennen und Wiedermontieren des Sensors exakt reproduziert werden können. Die Frequenzschwankungen können im Bereich von $\pm 2 \text{ ppm}$, die Dämpfungsschwankungen im Bereich von $\pm 0,5 \text{ dB}$ liegen.

Oszillatorschaltungen arbeiten in der Regel bei reeller Admittanz, d. h. entweder auf der Resonanzfrequenz f_R oder auf der Antiresonanzfrequenz f_A . Es gilt dabei:

$$f_R = f_S \left(1 + \frac{C_0}{2CQ^2} \right) \quad (4.7)$$

mit den Bezeichnungen nach Abbildung 4.5.

Die Frequenz f_R wird daher neben den akustischen auch von ungewollten elektrischen Einflussfaktoren beeinflusst. Zudem geht die Bedämpfung über die Güte Q in die Messung ein [JOH91].

4.4 Fließinjektionsanalyse und Messsystem

Abbildung 4.11 zeigt den Aufbau des Fluidsystems und des elektrischen Messsystems, wie es für Experimente in flüssiger Phase verwendet wurde. In dieser Konfiguration wurde vor allem die aktive Oszillatormesstechnik eingesetzt.

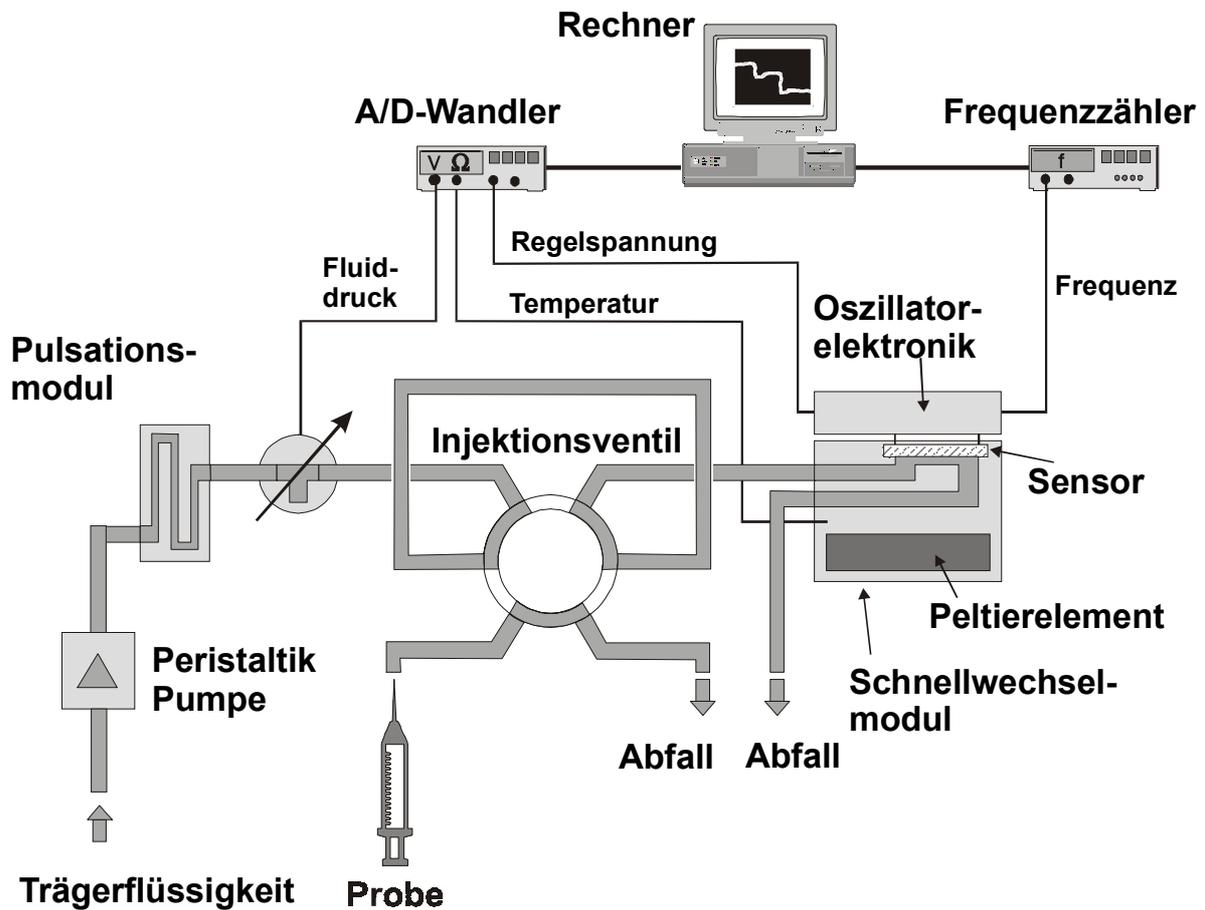


Abbildung 4.11: Fließinjektionsanalyzesystem mit Schnellwechselhalterung für die Sensoren und angeschlossenen Messgeräte.

Der Aufbau des Fließinjektionsanalyzesystems (FIA-Systems) besteht zum einen aus dem Flüssigkeitskreislauf mit der Sensorschnellwechselhalterung, dem Injektionsventil, einem Pulsationsdämpfer, einem Drucksensor und der Peristaltikpumpe und zum anderen aus den elektrischen Komponenten mit der Oszillatorschaltung, den Messgeräten und dem Messrechner. Die kontinuierlich arbeitende Peristaltikpumpe in Kombination mit einem Pulsationsdämpfer sorgt für einen pulsationsarmen Flüssigkeitsstrom mit konstanter Durchflussgeschwindigkeit (0 - 100 $\mu\text{l}/\text{min}$, in der Regel 30 $\mu\text{l}/\text{min}$). Die Probenflüssigkeit kann über ein motorgetriebenes Zweiwege-Ventil in eine Probenschleife (100 μl) aufgegeben werden. Das spezielle Ventil ist wegen seiner chemischen Resistenz und mechanischen Robustheit aus Edelstahl angefertigt. Durch Umschalten des totvolumenarmen Ventils wird der Inhalt der Probenschleife luftblasenfrei in den kontinuierlichen Flüssigkeits-

strom eingekoppelt. Die Probe erreicht den Sensor als definiertes Volumen zu einem exakten Zeitpunkt. Der Vorteil der Fließinjektionsanalyse liegt darin, dass der kontinuierliche Trägerstrom mit Fließpuffer ein Referenzmesssignal erzeugt, auf das spätere Messsignale bei Probenzugabe bezogen werden können. Es wird somit immer nur eine Differenz der Probenviskositäten oder Massebelegungen bestimmt. In der Biosensorik erlaubt dieses Prinzip daher den unerwünschten Einfluss der Probenviskosität zu eliminieren, vorausgesetzt die Probenviskosität und die Viskosität des Trägerpuffers sind etwa gleich groß.

Der Sensor befindet sich in einer Schnellwechselhalterung mit einer integrierten Temperierung auf Basis von Peltierelementen. Außerdem sind die Fluidzuführungen sowie die elektrischen Kontakte in diesem Schnellwechselmodul integriert. Dies gewährleistet ein schnelles Austauschen der Sensoren. Die elektrische Kontaktierung erfolgt im Fall der Quarzresonatoren mittels vergoldeten Federkontakten, die in der Oszillatorschaltung verlötet sind, und im Fall von SAW-Sensoren mittels vergoldeten Druckfedern, die über eine Lötpaste direkt auf eine Kontaktplatine gelötet sind. Diese Kontaktplatine enthält auch die HF-Anpassungselemente und stellt über HF-Stecker die Verbindung zur Oszillatorschaltung oder den Netzwerkanalysator her.

Alle Fluidkomponenten sind aus chemisch resistenten Materialien, wie z.B. Teflon, Polyetheretherketon oder Edelstahl gefertigt.

Die Messwertaufnahme erfolgt über einen Frequenzzähler (Kontron 6030) sowie ein Multimeter (Keithley DMM 199). Die Werte können mittels einer IEEE-Verbindung durch einen PC aufgezeichnet werden. Neben der Messwertaufnahme erlaubt das verwendete Messprogramm auch die Steuerung des Ventils und der Pumpe.

4.5 Akustische Sensorelemente als Immunoassay

Ein Immunoassay ist eine Versuchsmethodik, die dazu dient Analyten immunologisch nachzuweisen, d.h. Antikörper oder Antigene mit Hilfe des komplementären Partners in einer Immunreaktion nachzuweisen. Das Prinzip der Antigen-Antikörperreaktion wird in dieser Arbeit für den hochspezifischen Analytnachweis mit akustischen Sensoren eingesetzt.

Akustische Sensoren sind massensensitiv und können Massenbelegungen in Flüssigkeit bis in den Subnanogrammbereich nachweisen, deshalb werden sie auch, insbesondere der Schwingquarzsensoren, oft als Mikrowaagen bezeichnet. Massenlagerungen führen aufgrund einer Zunahme der akustischen Impedanz zu einer Erniedrigung der Resonanzfrequenz. Die Immunreaktion zwischen auf der Sensoroberfläche immobilisierten Antikörpern und den freien Antigenen, kann auf diese Weise spezifisch nachgewiesen werden.

Abbildung 4.12 zeigt schrittweise die Vorgänge auf einem gereinigten, massensensitiven akustischen Sensor zum spezifischen Analytnachweis.

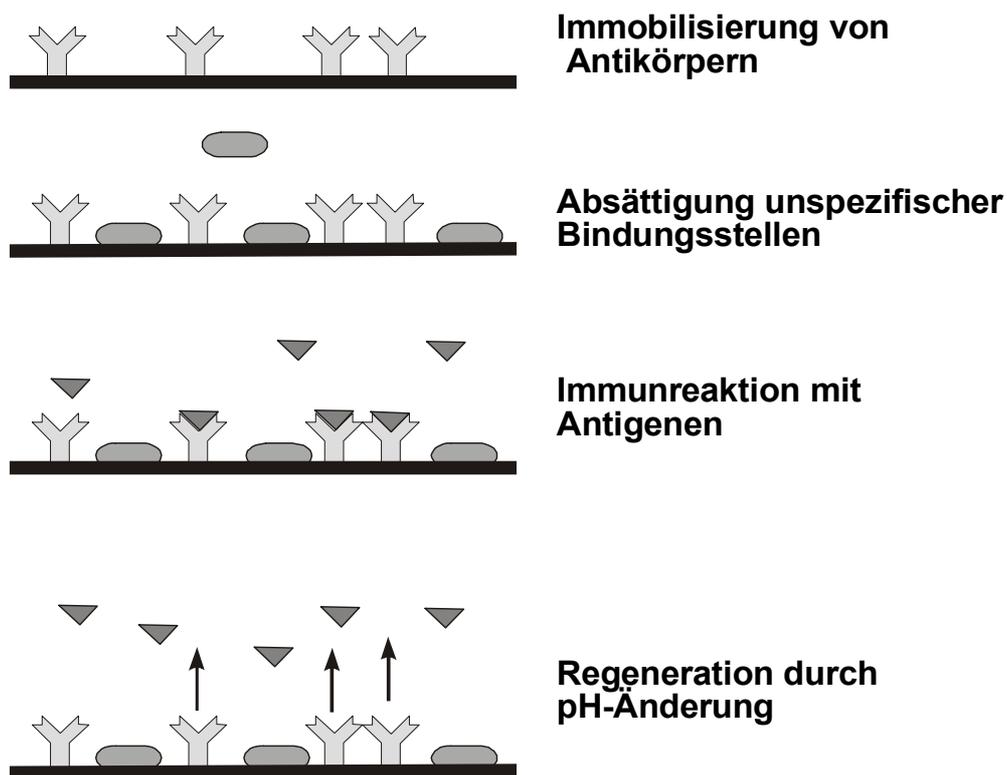


Abbildung 4.12: Akustische Sensorbauelemente als Biosensoren.

- Im ersten Schritt werden Antikörper auf der Oberfläche immobilisiert (Abschnitt 4.3).
- Im nächsten Schritt werden unspezifische Bindungsstellen abgesättigt („geblockt“), um zu vermeiden, dass sich während der Messung der Analyt oder andere Substanzen unspezifisch an die Oberfläche anlagern und ein falsches Messsignal erzeugen.

Vor der Antigenzugabe wird dazu ein neutrales Protein (Gelatine, Rinderalbumin) in hoher Konzentration zugegeben, um alle unspezifischen Bindungsstellen zu besetzen.

- Im nächsten Schritt kann nach Analytzugabe die eigentliche, spezifische Immunreaktion zwischen Antikörper und Antigen ablaufen und wegen der Massenzunahme als Sensorsignal erfasst werden (Kapitel 8).
- Im letzten optionalen Schritt kann durch eine Änderung des pH-Wertes oder Zugabe chaotroper Reagenzien (z.B. Harnstoff, Glycin) eine Regeneration, d.h. eine Ablösung des gebundenen Antigens, durchgeführt werden. Der regenerierte Sensor steht dann wieder für Experimente zur Verfügung.

4.5.1 Immunreaktion

Mithilfe des Immunsystems ist der menschliche und tierische Organismus in der Lage körperfremde und körpergefährdende Substanzen zu eliminieren [BEN88]. Die erworbene Immunität läuft im wesentlichen so ab, dass bestimmte Lymphozyten bei Erstkontakt mit einem Fremdkörper zur Synthese von speziellen Proteinen, den Antikörpern, mit einer Spezifität gegenüber dem Fremdkörper (Antigen) angeregt werden. Dadurch ist der Organismus in der Lage, einer darauffolgenden Exposition mit dem schädlichen Antigen (zumeist Makroproteine) zu widerstehen und dieses sogar zu eliminieren.

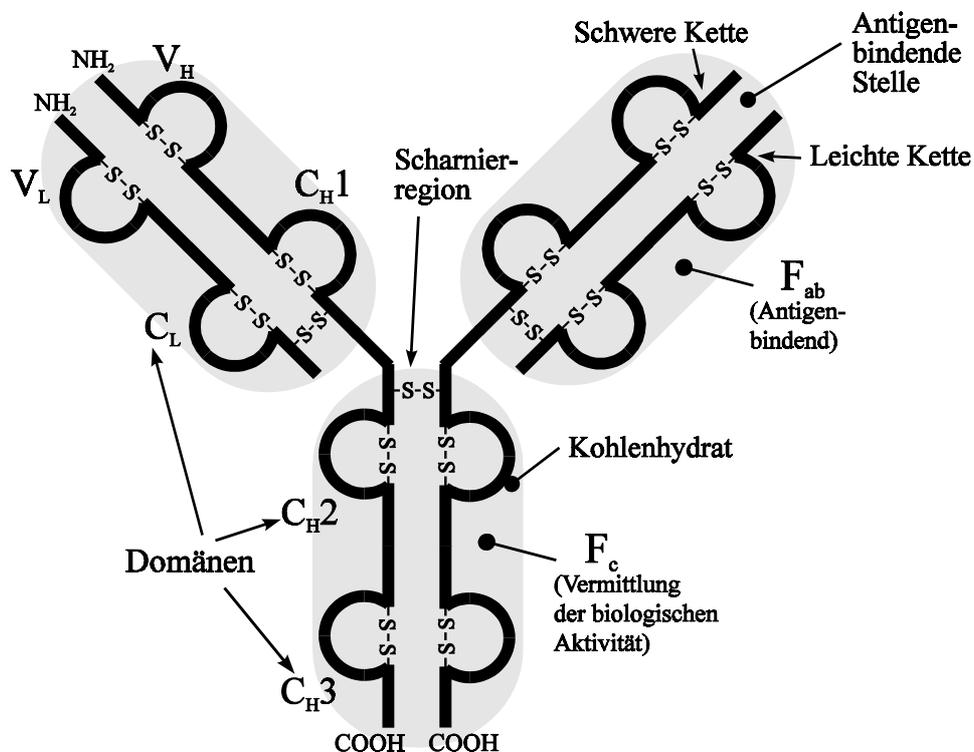


Abbildung 4.13: Struktur eines IgG-Antikörpers [BEN88].

Das Prinzip der Antigen-Antikörperreaktion wird in dieser Arbeit für den hochspezifischen Analytnachweis mit akustischen Sensoren eingesetzt. Verschiedene Substanzen – Makroproteine, Viren, Bakterien, aber auch Antikörper – wurden in dieser Arbeit als Antigene eingesetzt (Kapitel 7).

Antikörper werden in dieser Arbeit als hochspezifische, immobilisierte Rezeptormoleküle eingesetzt. Alle Antikörper sind Serumglobuline, die wegen ihrer immunologischen Fähigkeiten auch Immunglobuline genannt werden. Sie haben ein Molekulargewicht von etwa 150 *kDa* und eine Größe von etwa 10 *nm*. Die Grundlage der biologischen Wirksamkeit der Antikörper ist die Bindung der Antikörper mit den Antigenen in einer Immunreaktion zu einem Antigen-Antikörper-Komplex. Man unterscheidet fünf Hauptgruppen der Immunglobuline, deren wichtigster Vertreter das Immunglobulin G (IgG) ist (Abbildung 4.13).

IgG besteht aus 4 Polypeptidketten. Der Zusammenhalt wird durch Inter-Ketten-Disulfidbrücken vermittelt. Das Enzym Papain zerlegt das IgG-Molekül in drei gleichgroße Fragmente (je 45 *kDa*). Zwei dieser Fragmente sind identisch und in der Lage Antigene spezifisch zu binden (F_{ab} = Fragment antigen binding). Das dritte Fragment, das aus der Lösung auskristallisiert werden kann (F_c = Fragment crystallizable) ist für die biologischen Funktionen des Moleküls verantwortlich. Zusätzlich zu den Inter-Ketten-Disulfidbrücken existieren auch Intra-Ketten-Disulfidbrücken, die im Abstand von etwa 100 Aminosäuren Schleifen in den Polypeptidketten bilden. Jede Schleife formt eine kompakt gefaltete globuläre Domäne, wobei sich die Domänen gegenüberliegender Ketten jeweils zu homologen Paaren mittels hydrophober Wechselwirkung verbinden.

Das IgG wird in eine konstante Region mit fester Aminosäuresequenz (\rightarrow C-Domänen) und in eine variable Region mit wechselnder Aminosäuresequenz (\rightarrow V-Domänen) unterteilt. Drei hypervariable Regionen der variablen Region bilden den Bindungsort (Paratop), der für das Antigen-Epitop (Bindungsstelle des Antigens) komplementär ist.

Antikörper sind sich derart ähnlich, dass sie aufgrund ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften nicht getrennt werden können. Deshalb werden Antikörper einer Art isoliert erzeugt. Dieses erfolgt durch Verschmelzung von aus B-Lymphozyten hervorgegangenen Plasmazellen mit Myelomzellen (unsterbliche Tumorzellen). Diese Hybridzellen lassen sich einzeln zu Klonen züchten, die jeweils eine Art von sogenannten monoklonalen Antikörpern bilden. Bei den in dieser Arbeit verwendeten Antikörpern handelt es sich ausschließlich um monoklonale Antikörper.

Die Bindung erfolgt zwischen dem Paratop des Antikörpers und dem Epitop des Antigens. Es handelt sich dabei um keine kovalente Bindung, sondern um eine Affinitätsbindung. Diese wird durch elektrostatische Wechselwirkungen, hydrophobe Wechselwirkungen (beruhen auf Verringerung der Grenzflächenenergie in wässriger Lösung), Wasserstoffbrücken-Bindungen und van der Waalsche Kräfte vermittelt. Diese Bindekräfte verlangen alle eine sehr große Nähe zwischen den interagierenden Teilchen. Dafür ist ein sehr enges Aneinanderpassen zwischen Epitop und Antikörper erforderlich (Schlüssel-Schloss-Prinzip). Wegen der niedrigen Energieniveaus, die an der Wechselwirkung beteiligt sind, können die Antikörper-Antigenkomplexe leicht durch extreme pH-Werte ($\text{pH} < 2$ oder $\text{pH} > 11.5$), durch hohe Salzkonzentrationen oder chaotrope Substanzen, wie Harnstoff oder

Cyanate, die stark mit den Wasserstoffbindungen der Wassermoleküle konkurrieren, dissoziiert werden [BEN88].

4.5.2 Immobilisierungsmethoden

Die Immobilisierung ("Anhaftung") von biologischen Makromolekülen, wie z.B. Antikörpern kann durch physikalische Adsorption, die sogenannte Physisorption, oder durch kovalente Bindung an die Trägeroberfläche, die sogenannte Chemisorption, erfolgen.

Physisorption

Treibende Kraft für die Adsorption von Proteinen aus wässriger Lösung auf einem Trägermaterial (in dieser Arbeit ausschließlich Gold) sind hydrophobe Wechselwirkungen. Die Adsorption ist unabhängig vom Molekulargewicht, dem isoelektrischen Punkt oder der Ladung der Proteine. Eine leichte Denaturierung ist der Adsorption förderlich, weil innere hydrophobe Bereiche freigelegt werden. Im speziellen Fall eines Trägermaterials aus Gold sind neben den hydrophoben Wechselwirkungen auch Gold-Thiol-Wechselwirkungen für die Adsorption verantwortlich [HOR84].

Die Stärke der Adsorption wird bestimmt durch die Adsorptionskinetik (Kapitel 4.7) und den Stofftransport in der Probenkammer (Kapitel 5.3.1).

Die Massenbelegung bei der Antikörper-Adsorption liegt bei etwa 1.5 ng/mm^2 . Diese entspricht einer Belegung eines Drittels der Fläche. Eine zusätzliche Belegung führt zu unstabileren Protein-Protein-Wechselwirkungen [HER92].

Chemisorption

Bei der kovalenten Immobilisierung werden Biomoleküle durch kovalente chemische Bindungen direkt oder über einen Spacer an ein entsprechend vorbehandeltes Trägermaterial gebunden. Die biologische Aktivität der immobilisierten Proteinschicht wird durch den Flüssigkeitsstrom in einem FIA-System (Kapitel 4.4) nur wenig herabgesetzt, da wegen der starken chemischen Bindungen kaum Proteine ausgewaschen werden. Längerfristig wirkende Faktoren wie Denaturierung oder Zerstörung durch Mikroorganismen stehen dann im Vordergrund.

In dieser Arbeit wurden Antikörper mithilfe des Crosslinkers DSP kovalent auf den Goldoberflächen der Sensoren immobilisiert. Das kommerziell erhältliche Dithiobis-Succinimidyl-Propionat (DSP), dargestellt in Abbildung 4.14, besitzt neben den aktiven NHS-Gruppen (N-Hydroxy-Succinimid) eine Disulfidbrücke, die sehr schnell auf Goldoberflächen als Thiolbindung chemisorbiert [HER92]. Eine so aktivierte Goldoberfläche reagiert sehr effektiv und fast ausschließlich mit Liganden, die Aminogruppen enthalten (z.B. Antikörper). Es entsteht eine stabile Peptidbindung.

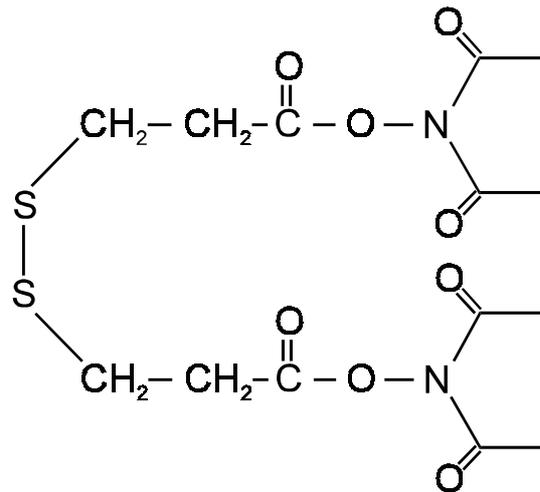


Abbildung 4.14: Struktur von DSP

Die Immobilisierung von DSP läuft in folgenden Schritten ab:

- Reinigung der Goldfläche durch Lösungsmittel, 1 mol/l Natronlauge oder Piranha-Lösung (1 Teil H₂O₂ und 4 Teile H₂SO₄).
- Inkubation von DSP (4 mg/ml in Dimethylacetamid) auf der gereinigten Goldfläche für 15 min bei Raumtemperatur zur Ausbildung der Gold-Thiol-Bindungen.
- Inkubation der DSP-aktivierten Matrix mit der spezifischen Antikörperlösung (1 mg/ml) für 12 h bei 4 °C (Abbildung 4.15 oben).
- Spülen des aktivierten Sensors mit Pufferlösung PBS und Einbau in das Analysensystem oder Lagerung in PBS.

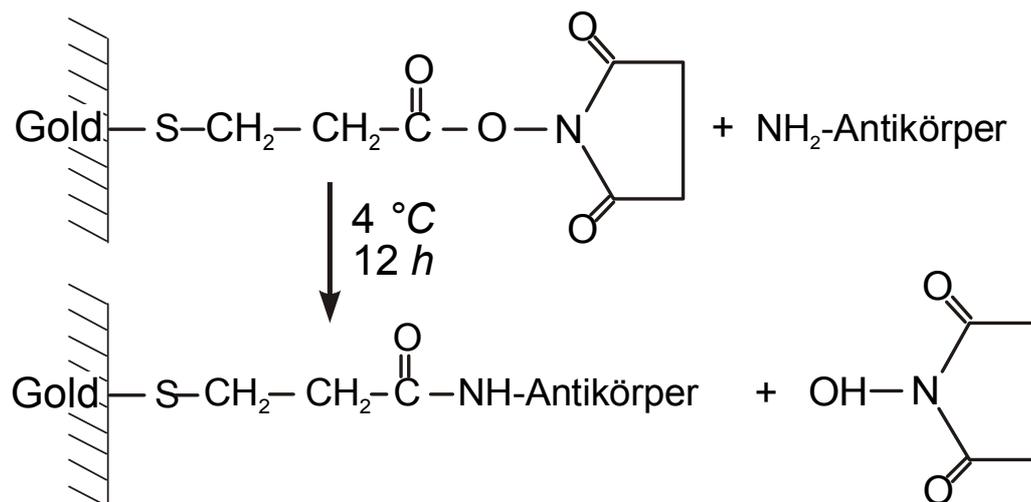


Abbildung 4.15: Kovalente Anbindung von Antikörpern an eine DSP-aktivierte Matrix.

4.6 Immunologische Analyseverfahren

Zur Bewertung akustischer Sensoren als Immunoassay ist es notwendig, diese mit etablierten immunologischen Verfahren sowie mit neuartigen Realzeitdetektionsmethoden zu vergleichen.

4.6.1 Etablierte Methodik – ELISA

Die Bildung von Immunkomplexen kann durch die Markierung der spezifischen Antikörper mit Fluoreszenzfarbstoffen, Radionukliden oder Enzymen nachgewiesen werden.

Der ELISA-Test (enzyme linked immunosorbent assay) basiert auf enzymmarkierten Antikörpern und existiert in verschiedenen Formen (Abbildung 4.16).

Bei der Sandwich-Methode wird der spezifische Antikörper an eine feste Phase adsorbiert und mit einer Antigenlösung unbekanntes Gehalts inkubiert. Nach einem Spülschritt wird der gebildete Immunkomplex mit einem zweiten spezifischen Antikörper inkubiert, der mit einem Enzym markiert ist. Der Sandwich-Komplex wird erneut gewaschen, bevor der Substratumsatz des gebundenen Enzyms gemessen wird. Der Umsatz ist proportional zur Menge des gebundenen Antigens. Bei der direkten Methode des ELISA-Tests lässt man mit Enzymen gekoppelte Antigene mit einem spezifischen Antikörper reagieren, der an eine feste Phase gebunden ist. Im Gegensatz zur direkten Methode wird bei der indirekten Methode das spezifische Antigen an eine Festphase gebunden und die Reaktion mit einem enzymmarkierten Antikörper ausgewertet.

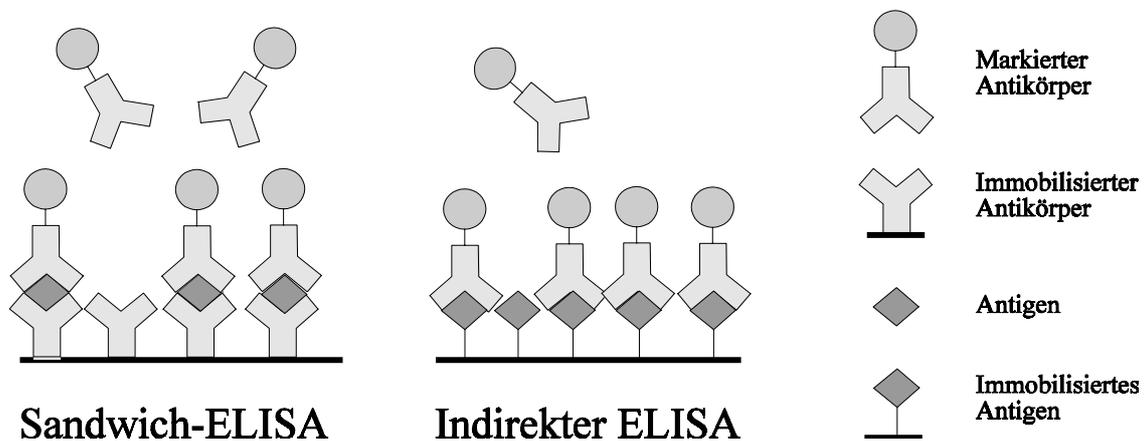


Abbildung 4.16: Allgemeines Prinzip eines indirekten und eines Sandwich-ELISA-Tests

In den meisten Fällen wird das ELISA-Ergebnis optisch mittels Absorptions-, Chemilumineszenz- oder Fluoreszenzmessungen erfasst und ausgewertet.

4.6.2 Realzeitmethoden der instrumentellen Analytik

Oberflächenplasmonenresonanz - SPR

Wird in einem dünnen Goldfilm monochromatisches Licht eingestrahlt, so kann man bei richtiger Polarisierung erreichen, dass das Licht unter einem bestimmten Einfallswinkel mit den freien Elektronen des Edelmetalls in Resonanz tritt (SPR surface plasmon resonance). Die Intensität der an der Metalloberfläche reflektierten Strahlung zeigt hier ein scharfes Minimum. Da die elektromagnetische Strahlung bei der Reflexion nicht auf den dünnen Metallfilm beschränkt bleibt, sondern über das evaneszente Feld mit den ersten 100 bis 300 nm des darüber liegenden Mediums wechselwirkt, wird der SPR-Winkel stark vom Brechungsindex der unmittelbar über dem Metall liegenden Schicht beeinflusst. An der Oberfläche des Metallfilms stattfindende Affinitätsreaktionen lassen sich somit über die Verschiebung der Resonanzkurve sehr empfindlich detektieren (Abbildung 4.17). Eine Proteinbelegung im Subnanogrammereich (pro cm^2) entsprechend einer Brechungsindexänderung von 1 ppm lässt sich noch erfassen [GED98]. Kretschmann drückt den Messeffekt als Änderung des SPR-Wellenvektors k_{SPR} , welcher durch den Einfallswinkel ϑ_{SPR} bestimmt wird, aus [KRE71]:

$$\Delta k_{SPR} = \Delta k_{SPR}(\omega, \lambda, \varepsilon_{Metall}, d_{Schicht}, \varepsilon_{Schicht}) \quad (4.8)$$

mit der Frequenz ω und Wellenlänge λ des Lichtstrahls, den Dielektrizitätskonstanten des Metalls ε_{Metall} und der Schicht $\varepsilon_{Schicht}$ sowie der Dicke der Schicht $d_{Schicht}$.

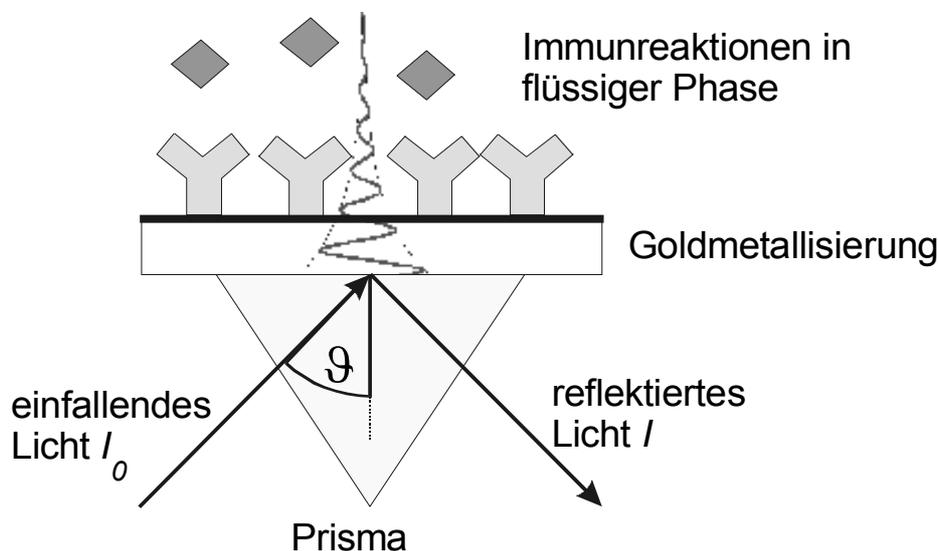


Abbildung 4.17: Prinzip der Oberflächenplasmonenresonanz

Ähnlich der Eindringtiefe der evaneszenten Scherwelle akustischer Sensoren ergibt sich eine Eindringtiefe δ_{SPR} der evaneszenten SPR-Welle in das zu untersuchende Medium:

$$\delta_{SPR} = \frac{\lambda}{2\pi\sqrt{\varepsilon_{Schicht}}} \quad (4.9)$$

mit der Dielektrizitätskonstanten $\varepsilon_{Schicht}$ der zu untersuchenden Schicht.

Gitterkoppler

Wie bei der SPR-Methode wird die Änderung des Brechungsindex aufgrund der Moleküladsorption erfasst. Allerdings wird bei einem Gitterkoppler (grating coupler) diese Änderung des Brechungsindex über die Änderung des Koppelwinkels für eine Wellenleitermode bestimmt [POL96].

Totale interne Reflektionsfluoreszenz - TIRF

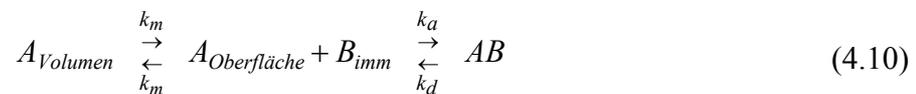
Bei der TIRF-Methode (total internal reflection fluorescence) wird ein optisch zu Abbildung 4.17 analoger Aufbau verwendet. Die biochemische Reaktion findet allerdings auf unmetallisierten Glaträgern statt. Fluoreszenzlicht wird eingestrahlt und an der Grenzfläche totalreflektiert mit Ausnahme eines kleinen Teils, der evaneszent in den biologischen Messbereich eindringt und dort fluoresceinmarkierte Biomoleküle anregt. Aus dem Verhältnis des eingestrahnten Lichts und des angeregten Lichts (mit unterschiedlicher Wellenlänge) kann auf die Adsorption an der Grenzfläche geschlossen werden [AHL91].

4.7 Adsorptionskinetik und Detektionsgrenze

Die Nachweisgrenzen eines Systems sind neben den Grenzen der jeweiligen Messmethoden grundsätzlich durch die Reaktionskinetik, die endliche Belegung der Sensorfläche mit Antikörpern und die Transportvorgänge bestimmt. Für die Betrachtung dieser Phänomene sollen hier in diesem Abschnitt die theoretischen Grundlagen dargestellt werden.

4.7.1 Adsorption und Desorption

Man betrachtet die Reaktion zwischen Antigenen A in Lösung und immobilisierten Antikörpern B_{imm} zum Antigen-Antikörperkomplex AB nach der Probenaufgabe im verwendeten Fluidsystem:



mit der Transportrate (Diffusion und Konvektion) k_m [cm/s] für Antigene im Volumen $A_{Volumen}$ und an der Oberfläche $A_{Oberfläche}$, der Anlagerungsrate k_a [$l/(mol \cdot s)$] und der Desorptionsrate k_d [l/s] [BIA94].

Die Antigenkonzentration beträgt c_0 [mol/l]. Der Belegungsgrad θ beschreibt das Verhältnis der besetzten Bindungsplätze (Antigen-Antikörper-Komplexe) Λ [mol/cm^2] zu den maximal verfügbaren Bindungsplätzen Λ_{max} . Mit Gleichung (2.2) und (2.4) folgt für das Sensorsignal $\Delta f \propto \Lambda$ und damit:

$$\theta = \Lambda / \Lambda_{max} = \Delta f / \Delta f_{max} \quad (4.11)$$

mit dem maximalen Sensorsignal Δf_{max} bei kompletter Belegung aller Bindungsstellen.

Es können zwei, für die Analytik interessante, Grenzfälle unterschieden werden:

Transportlimitierte Anlagerung

Ist die Anlagerung durch den Massentransport limitiert, dann folgt $k_a(\Lambda_{max} - \Lambda) \gg k_m$. Der zeitliche Verlauf der Anlagerung kann dann durch folgende Beziehung charakterisiert werden [BIA94]:

$$\frac{d\Lambda}{dt} = k_m c_0 - \frac{k_m k_d}{k_a (\Lambda_{max} - \Lambda)} \Lambda \quad (4.12)$$

Für die hier verwendeten Messzellen (Kapitel 4.1 und Abbildung 5.8) nimmt die Transportrate k_m folgende Form an [LOK83].

$$k_m = 0.98 \cdot \left(\frac{D_K^2 \cdot \dot{V}}{h_Z^2 \cdot A} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (4.13)$$

mit der Flussrate \dot{V} [$\mu\text{l}/\text{min}$], der Höhe der Messzelle h_Z , der Sensorfläche A , der Diffusionskonstante D_K [cm^2/sec].

Kinetiklimitierte Anlagerung

Ist die Anlagerung durch die Reaktionskinetik an der Sensoroberfläche bestimmt, dann folgt $k_a(\Lambda_{max} - \Lambda) \ll k_m$. Der zeitliche Verlauf der Anlagerung kann dann charakterisiert werden durch:

$$\frac{d\Lambda}{dt} = k_a c_0 \cdot (\Lambda_{max} - \Lambda) - k_d \Lambda \quad (4.14)$$

Nach Integration von Gleichung (4.14) ergibt sich mit Gleichung (4.11) das Sensorsignal für die Assoziationsphase während der Probenaufgabe (Beginn bei $t=0$):

$$\Delta f(t) = -\frac{k_a c_0 \cdot \Delta f_{max}}{k_a c_0 + k_d} \left(1 - e^{-(k_a c_0 + k_d)t} \right) \quad (4.15)$$

Analog folgt das Sensorsignal für die reine Desorptionsphase nach Beendigung der Probenaufgabe:

$$\Delta f(t - t_0) = -\Delta f_0 \cdot e^{-k_d(t-t_0)} \quad (4.16)$$

mit dem Sensorsignal Δf_0 zum Zeitpunkt t_0 .

Aus den Beziehungen (4.15) und (4.16) können durch Auswertung experimenteller Realzeitkurven die Anlagerungs- und Desorptionsrate und damit die Dissoziationskonstante aus Gleichung (4.18) bestimmt werden.

4.7.2 Gleichgewichtskinetik

Im reaktionskinetischen Gleichgewicht ist $d\Lambda/dt = 0$ und aus Gleichung (4.14) folgt der Belegungsgrad der Sensoroberfläche als Funktion der Analytkonzentration [EDD88]:

$$\theta_{eq} = \frac{c_0^{eq}}{c_0^{eq} + K_D} \quad (4.17)$$

mit der Gleichgewichtskonzentration c_0^{eq} . Die Gleichgewichts-Dissoziationskonstante K_D ist dabei definiert als:

$$K_D = \frac{k_d}{k_a} \quad (4.18)$$

Die Beziehung (4.17) definiert die Langmuir-Adsorptionsisotherme in Abbildung 4.18.

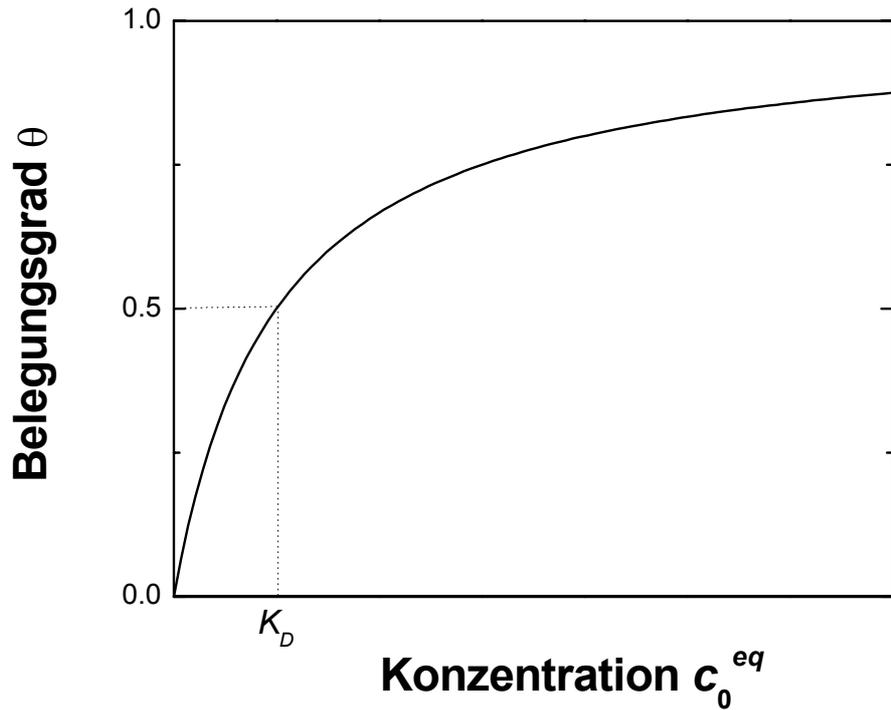


Abbildung 4.18: Langmuir-Adsorptionsisotherme.

Wie in Abbildung 4.18 dargestellt bietet die experimentell bestimmte Kurve die Möglichkeit die Dissoziationskonstante K_D bei 50% der Maximalbelegung zu bestimmen. Die Langmuirbeziehung gilt nur für die Gleichgewichtskonzentration des Analyten. Liegt keine Reaktionslimitierung durch den Stofftransport vor, dann ist die Gleichgewichtskonzentration des Analyten ungefähr gleich der Anfangskonzentration und die Langmuirbeziehung gilt auch für die Anfangsanalytkonzentration.

Aufgrund des großen dynamischen Bereiches der Konzentration erweist es sich oft als günstig, die Sensorsignale über eine logarithmische Konzentrationsskala aufzutragen und mit einer sigmoidalen Funktion auszuwerten (Abbildung 4.19):

$$\theta = \frac{\Delta f}{\Delta f_{\max}} = 1 - \frac{1}{1 + (c_0/c_m)^p} \quad (4.19)$$

mit der Analytkonzentration c_0 , dem Testmittelpunkt c_m bei halbmaximalem Sensorsignal und dem Parameter p .

Im Falle einer Gleichgewichtsreaktion ohne Transportlimitierung entspricht der Testmittelpunkt der Dissoziationskonstante.

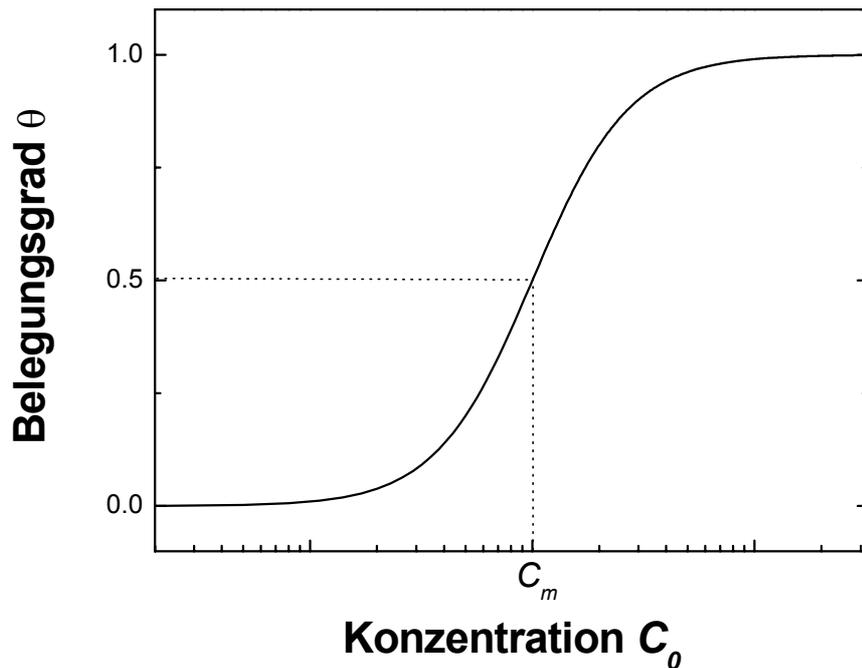


Abbildung 4.19: Sigmoidale Verdünnungskurve für den Analytnachweis.

4.7.3 Detektionsgrenze

Abbildung 4.19 zeigt, dass die Verdünnungskurve für sehr kleine und sehr hohe Konzentrationen in Sättigung geht. Eine Quantifizierung des Sensorsignals ist nur im zwischenliegenden linearen (dynamischen) Bereich möglich. Eine Klassifizierung ist darüber hinaus auch in den Sättigungsbereichen möglich.

In der Regel interessiert beim Analytnachweis nur die untere Detektionsgrenze. Im Falle einer kompletten Absättigung unspezifischer Bindungsstellen ist die Detektionsgrenze allein durch die Sensitivität des Sensors sowie durch das Frequenzrauschen gegeben:

$$\frac{\Delta f_{\text{Signal}}}{\Delta f_{\text{Rauschen}}} \geq 3 \quad (4.20)$$

mit dem Frequenzsignal Δf_{Signal} und dem Frequenzrauschen:

$$\Delta f_{\text{Rauschen}} = 3 \cdot \sigma_{2\text{min}} \quad (4.21)$$

wobei $\sigma_{2\text{min}}$ die Standardabweichung des Frequenzsignals in einem 2-Minutenintervall ist¹⁵.

Tabelle 4.3 zeigt das experimentell bestimmte Frequenzrauschen für die verwendeten Sensoren.

¹⁵ Das 2-Minutenintervall wurde in dieser Arbeit aus praktischen Erwägungen gewählt, denn die Assoziations- und Desorptionsphase der Analytanlagerung liegen zeitlich etwa im Bereich von 2 Minuten.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | | | SAW | | |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------|-----|-----|
| | 10 | 19 | 39 | 56 | 63 | 70 | 110 | 69 | 102 |
| $\Delta f_{\text{Rauschen}}$ [Hz] | 0,3 | 0,8 | 1,6 | 2,6 | 5,1 | 11,8 | 108,5 | 3,6 | 4,8 |

Tabelle 4.3: Frequenzrauschen der verwendeten QCM- und SAW-Sensoren.

Kapitel 5

Störeinflüsse

In diesem Abschnitt werden Störeffekte näher betrachtet, welche Einfluss auf den Mess-effekt nehmen können. Die wichtigsten Störeinflüsse sind in Tabelle 5.1 dargestellt und werden in dieser Arbeit unterteilt in die bauelementspezifischen Einflüsse, in die äußeren physikalischen Einflüsse, welche in ihrer Größe von der Sensorfrequenz abhängen, sowie in die systembedingten Einflüsse, welche abhängig sind vom Fluid- und Messsystem.

| Störeinflüsse | QCM | SAW |
|---|---|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> • Elektroden • Nebenschwingungen | <ul style="list-style-type: none"> • Metallisierung • Volumenwellen • El.magn. Übersprechen • Triple Transit Echo |
| Bauelement-spezifische Einflüsse | <ul style="list-style-type: none"> • Substrat (T) • Reflexionen • Aging • Oberflächentopographie • mech. Verspannung (Einbau) | |
| Äußere physikalische Einflüsse | <ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Fluiddruck (η) • Viskosität (T) • Fluiddichte (T) • Massebelegung • Eindringtiefe (η) | |
| Systembedingte Einflüsse | <ul style="list-style-type: none"> • Diffusion, Konvektion des Analyten (D_K, η, h_Z) • Kompressionswellen (h_Z, ρ) • Rezeptordichte • Messelektronik | |

Tabelle 5.1: Übersicht über Störeffekte bei Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren. Funktionelle Abhängigkeiten sind von den in Klammern angegebenen Parametern zu beachten.

5.1 Bauelementspezifische Einflüsse

Bauelementspezifische Einflüsse auf das Sensorverhalten ergeben sich zum einen aufgrund nicht verfügbarer idealer Materialien sowie durch technologisch nicht realisierbare Anforderungen bezogen auf die Bauelementgeometrie oder der physikalischen Eigenschaften. Daneben sind beim Bauelementdesign viele Parameter mehreren Kriterien unterworfen, die teilweise gegensätzliche Anforderungen stellen, so dass schon das Design oft einen Kompromiss zur Minimierung von Störeinflüssen darstellt und diese nicht vollständig ausschließen kann. Insbesondere bei Oberflächenwellensensoren sind aufgrund ihrer Komplexität eine Vielzahl von Einflussfaktoren zu berücksichtigen. Zunächst sollen für beide Bauelemente zutreffende Störeinflüsse besprochen werden.

Einen wichtigen Einfluss auf das Sensorverhalten hat die Oberflächentopographie, z.B. Rauigkeit auf den Sensoreffekt. Die verschiedenen Transducer (QCM und SAW) besitzen alle im sensitiven Bereich eine Goldmetallisierung, jedoch sind die Herstellungsmethoden unterschiedlich, so dass nicht zu erwarten ist, dass die Oberflächen mikroskopisch identisch sind. Zur Überprüfung wurden mit einem Rasterkraftmikroskop Aufnahmen der verschiedenen Goldoberflächen gemacht [MER00].

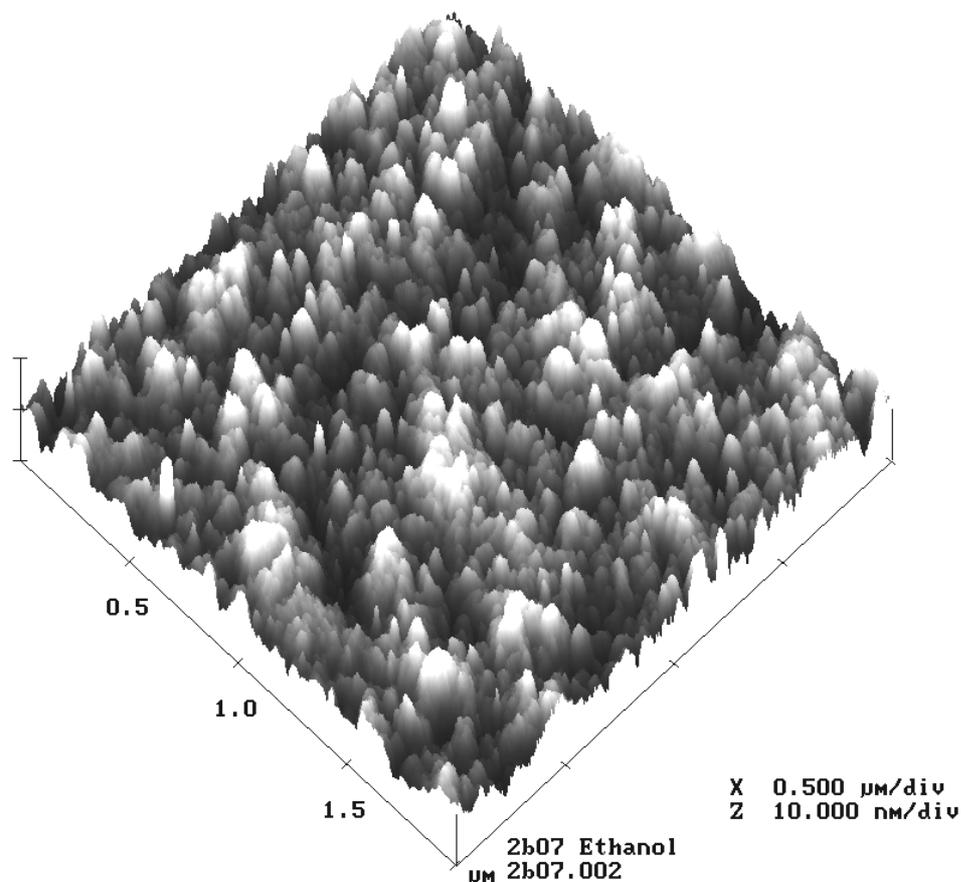


Abbildung 5.1: Höhenprofil eines $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$ großen Ausschnitts der Laufstrecke aus gesputtertem Gold eines SAW-Sensors.

Abbildung 5.1 zeigt das Höhenprofil eines $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$ großen Bereiches einer Ethanolgereinigten Goldoberfläche der SAW-Laufstrecke. Aus den Oberflächenaufnahmen kann eine mittlere Rauigkeit errechnet werden. Diese gibt den Mittelwert des Abstands der Oberfläche von der errechneten Mittelebene an. Die maximale Rauigkeit ist der maximale Abstand eines Punktes von der Mittelebene. Tabelle 5.2 fasst die Ergebnisse der durchgeführten Oberflächenuntersuchungen an verschiedenen behandelten QCM und SAW-Sensoren zusammen.

| Oberfläche | mittl. Rauigkeit | max. Rauigkeit |
|--|------------------|----------------|
| 1) SAW Laufstrecke Gold | 2,39 nm | 19,77 nm |
| 2) SAW Laufstrecke Gold gereinigt mit Piranha-Lösung | 1,98 nm | 23,93 nm |
| 3) SAW Laufstrecke Gold belegt mit Antikörperschicht | 0,64 nm | 9,50 nm |
| 4) Standard-Quarz ohne Gold | 0,48 nm | 2,01 nm |
| 5) Standard-Quarz mit Gold | 0,37 nm | 2,62 nm |
| 6) HFF-Quarz mit Gold | 0,87 nm | 10,70 nm |

Tabelle 5.2: Ergebnisse der AFM-Oberflächenuntersuchungen von SAW und QCM-Sensoren.

Tabelle 5.2 lässt folgende Schlussfolgerungen zu:

- Schwingquarze besitzen eine weniger raue Oberfläche als SAW-Sensoren (1-3 verglichen mit 4-6).
- Das Besputtern der Schwingquarzblanks mit Gold (Fraunhofer IMS) lieferte eine homogen glatte Schicht, ohne dass die Rauigkeit zunimmt (4 und 5).
- Die HFF-Quarze (Vectron) besitzen eine rauere Oberfläche als Standardquarze.
- Die Reinigung von SAW-Sensoren mit Piranha-Lösung (Kapitel 4.5.2) glättet die Oberfläche (1-2). Allerdings ist eine hohe maximale Rauigkeit zu beobachten, welche wahrscheinlich auf Restmaterial (Titan-Wolfram) zurückzuführen ist, welches während der mikrotechnologischen Herstellung nicht vollständig abgetragen wurde.
- Eine Beschichtung mit Antikörpern führt zu einer Glättung der Oberfläche (1-3).

Rauhigkeiten können zu Störungen in der Ausbreitung akustischer Wellen führen, denn an diesen können akustische Wellen reflektiert werden und so störende Moden angeregt werden. In der Flüssigkeitssensorik führen Rauigkeiten zu Flüssigkeitseinschlüssen in Oberflächenhohlräumen, welche von der Scheroszillation mitgezogen und somit erfasst werden. Dies führt zu Messsignalen, die mit der Masse der eingelagerten Flüssigkeitsmenge korrelieren [SCH90]. Sensoren mit einer rauen Oberfläche täuschen somit eine nicht vorhandene Massenlagerung vor. Dies kann zu einer Fehlinterpretation der Messergebnisse führen. Beispielsweise führt eine 1 nm hohe eingefangene Flüssigkeitsschicht auf dem 102 MHz SAW-Sensor zu einem Signal von etwa 300 Hz und liegt damit im Bereich der Messsignale. Die tatsächlich eingeschlossene Flüssigkeitsmenge dürfte geringer sein.

Ein weiterer Störeinfluss auf die Sensoren sind mechanische Verspannungen. Diese können von der aufgebrachtten Elektrode herrühren. Zumindest bei Schwingquarzen überwiegt sicher der Einfluss der Verspannung durch die Verklebung (Abbildung 4.1). Diese Effekte sind jedoch für die Flüssigkeitssensorik als klein anzusehen und werden als Teil des Sensorrauschens erfasst (Kapitel 4.7.3). Der weit größere Beitrag des Fluiddrucks zur mechanischen Verspannung wird in Abschnitt 5.2.2 behandelt.

Ebenfalls als vernachlässigbar sind Langzeiteffekte („aging“) anzusehen. Als Ursachen sind hier das Ausgasen von Quarz, die Veränderung mechanischer Verspannungen sowie Langzeitveränderungen in der Oszillatorelektronik zu nennen [VIG94].

5.1.1 Quarzresonatoren

Bei Schwingquarzsensoren stehen, im Vergleich zum SAW-Sensor, weniger Möglichkeiten zur Verfügung, durch das Design das Sensorverhalten zu beeinflussen. Das hat jedoch den Vorteil, dass es weniger bauelementspezifische Störeffekte gibt, die das Sensorverhalten negativ beeinflussen können.

Die vorher angesprochene niedrige Oberflächenrauigkeit ist ein wichtiges Kriterium für Quarzresonatoren. Dies stellt insbesondere an die technologische Herstellung von HFF-Quarzen hohe Ansprüche. Für die verwendeten HFF-Quarze wird jedoch auch bei Ätztiefen von $30 \mu\text{m}$ noch eine mittlere Rauigkeit von etwa 1 nm erreicht. Eine Beeinflussung des Sensorsignals durch diese Rauigkeit ist nicht zu erwarten.

Neben der Oberflächenrauigkeit ist die kreisförmige Konturierung einer Seite von Schwingquarzblanks ein wichtiges Kriterium für die Erzeugung stabiler Frequenzen in der Filtertechnik [DET95]. Eine Konturierung muss jedoch in der Regel nur bei Frequenzen unter 10 MHz , als Ausgleich für die nicht erfüllten Bechmannkriterien (5.1), vorgenommen werden und trifft damit für die verwendeten Sensoren nicht zu.

Ein wesentliches Kriterium für einen optimalen Betrieb von Schwingquarzsensoren ist die Gestaltung der Elektrodenmetallisierung in Bezug auf Material, Dicke und lateralen Abmessungen. Bechmann fordert für Quarzresonatoren folgende Verhältnisse für kreisförmige Geometrien zwischen dem Quarzdurchmesser D_q (Membrandurchmesser für HFF-Quarze), dem Elektrodendurchmesser D_E und der Quarzdicke d_q , um störende Nebenmoden um mindestens 40 dB zu unterdrücken [BEC61]:

$$\frac{D_q}{d_q} \geq 50 \quad \text{und} \quad \frac{D_E}{d_q} \geq 18 \quad (5.1)$$

Diese Kriterien sind für die verwendeten Standard- und HFF-Quarze erfüllt. Die Optimierung des Elektrodendurchmessers für HFF-Quarze wurde bereits ausführlich erläutert [KAS98].

Als Elektrodenmaterial ist für die Flüssigkeits- und Biosensorik Gold allen anderen Materialien vorzuziehen, weil es chemisch sehr resistent ist und die Möglichkeit bietet, direkt Biomoleküle zu immobilisieren. Wegen seiner hohen Dichte verursacht es allerdings eine hohe Massenbelastung insbesondere bei hohen Resonanzfrequenzen. Die minimale Dicke

von Gold sollte 100 nm nicht unterschreiten, um den Elektrodenwiderstand nicht über einige Ohm anwachsen zu lassen (R_E in Tabelle 3.1). Für HFF-Quarze berechnet sich daraus ein Elektrodenwiderstand von 2,4 Ω . Der spezifische Widerstand von gesputtertem Gold wurde dabei experimentell zu 5,9 $\Omega \cdot cm$ bestimmt [DRO00]. Der in Tabellenwerken angegebene Wert beträgt 2,2 $\Omega \cdot cm$ [KUC88].

Mit den in Tabelle 4.1 angegebenen Elektrodendicken (auf jeder Schwingquarzseite) wurde der Einfluss der Elektrodenmasse ($\rho_{Gold} = 19290 \text{ kg/m}^3$) nach Gleichung 2.42 abgeschätzt. Die Ergebnisse in Tabelle 5.3 zeigt, dass die relative Frequenzverschiebung bei hohen Frequenzen stark zunimmt. In der Hochfrequenzelektronik wird aus diesem Grund oft Aluminium als Elektrodenmaterial eingesetzt, für die Sensorik es jedoch, wegen seiner chemischen Unbeständigkeit, nicht geeignet.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | | | SAW | |
|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 10 | 19 | 39 | 56 | 70 | 110 | 69 | 102 |
| Elektrodendicke [nm] | 350 | 350 | 100 | 100 | 100 | 100 | 385 | 385 |
| Massenbelastung $\Delta f/f$ [%] | 3,0 | 5,8 | 3,4 | 4,9 | 6,1 | 9,7 | 1,5 | 3,2 |

Tabelle 5.3: Relative Frequenzverschiebung durch die Elektrodenmasse bei den verwendeten QCM- und SAW-Sensoren.

5.1.2 Oberflächenwellenbauelemente

Bei Oberflächenwellenbauelementen treten Signale auf, die der direkten Übertragung durch das Hauptsignal, der Oberflächenwelle, überlagert sind. Durch längere Laufstrecken oder durch höhere Laufgeschwindigkeiten haben diese Signale zum Hauptsignal verschiedene Laufzeiten und somit am Empfänger-IDT unterschiedliche Phasenlagen. Sie interferieren am Empfänger-IDT frequenzabhängig konstruktiv oder destruktiv und erzeugen eine Welligkeit im Phasen- und Dämpfungsgang. Diese Effekte können so stark werden, dass sie das Übertragungsverhalten völlig verändern und die Nutzung des Bauelements als Sensor unmöglich machen. Eine genaue Analyse dieser Effekte für -36° y-rotierte SAW-Sensoren wurde bereits in der Arbeit von Leidl aufgezeigt [LEI98]. Aus diesem Grund soll an dieser Stelle nur eine Zusammenstellung der wichtigsten Ergebnisse und eine Übertragung auf die in dieser Arbeit verwendeten Sensoren vorgenommen werden.

Ein wichtiger Themenkomplex für Oberflächenwellenbauelemente sind Reflexionen. Die Reflexionen an den Substratkanten und den Fingerelektroden ebenso wie die reflektierten Volumenwellen werden von dem in Kapitel 3 erstellten Modell nicht erfasst. Jedoch können die Störungen durch designtechnische Maßnahmen weitgehend unterdrückt werden.

Die durch einen Sender-IDT generierten akustischen Wellen werden sowohl in Richtung Empfänger-IDT, als auch in die entgegengesetzte Richtung abgestrahlt. Durch Verwendung von Bauelementen mit abgeschrägten Chipkanten (23° , Abbildung 4.3) wird vermieden, dass dieses entgegengesetzt laufende Signal nach einer einfachen Reflexion an der Substrat-

kante mit dem Messsignal interferiert. Eine Mehrfachreflexion an den Kanten schwächt das Signal sehr stark ab und dieses ist daher für Interferenzen nicht mehr problematisch.

Ein weiteres Echo entsteht durch Erzeugung von sekundären Wellen an den einzelnen Fingern. Die Laufgeschwindigkeit unter den metallisierten Fingern ist geringfügig verschieden von der unter der freien Oberfläche. Analog zur Optik, wird an jedem Übergang ein kleiner Teil der Welle zurückgeworfen.

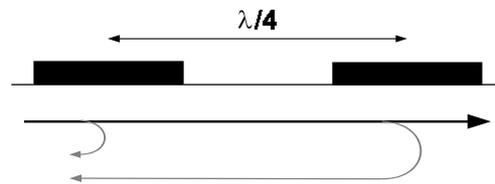


Abbildung 5.2: Anordnung von zwei Fingern mit einem Abstand von einer Viertelwellenlänge bei der double-split Fingerstruktur.

Die reflektierten Signale überlagern sich und konkurrieren mit dem Hauptsignal. Dies kann neben der Störung des Übertragungsverhaltens eine erhöhte Dämpfung verursachen. Beim Normalfingerwandler sind die einzelnen Finger im Abstand einer halben Wellenlänge angeordnet. Die einzelnen reflektierten Wellenanteile haben dann eine Phasenverschiebung von 360° und überlagern sich damit konstruktiv. Die so erzeugten rücklaufenden Wellen haben zum Hauptstrahl verschiedene Phasenlagen und löschen dieses Signal teilweise aus. Im Gegensatz dazu sind beim verwendeten Double-Split-Wandler die einzelnen Finger im Abstand einer viertel Wellenlänge angeordnet, die Phasenlage zweier reflektierter Signale ist damit 180° und sie interferieren destruktiv (Abbildung 5.2). Die Reflexion an den Fingern wird unterdrückt und das Signalverhalten verbessert.

Neben den reflektierten Oberflächenwellen gibt es auch die in Abschnitt 3.2.5 vorgestellten, reflektierten Volumenwellen, welche aber durch eine geeignete Rückseitenbeschichtung (z.B. Epoxydharz), wie in Abbildung 3.14 gezeigt, hinreichend unterdrückt werden können.

Weitere wichtige Störeinflüsse bei SAW-Sensoren sind die Regeneration an der Lastimpedanz (Triple-Transit-Echo, TTE) sowie das elektromagnetische Übersprechen (EM). Das Triple-Transit-Echo erreicht erst nach zwei zusätzlichen Reflektionen an Empfangs- und Sender-IDT den Empfangs-IDT und interferiert dort mit dem Messsignal. Über die Metallfläche zwischen den IDT-Strukturen bzw. über eine Rückseitenmetallisierung als Koppelkondensator kann es zu einem elektromagnetischem Übersprechen kommen. Das TTE kann durch eine hohe Übertragungsdämpfung des Sensors unterdrückt werden, während das EM durch niedrige Übertragungsdämpfungen klein gehalten werden kann. Die Übertragungsdämpfung IL muss daher derart gewählt werden, dass die Amplituden des TTE und des EM gleich groß sind. Die Stärke des TTE in dB wird üblicherweise in Relation zur Übertragungsdämpfung angegeben, so dass $IL[dB]+TTE[dB]$ der tatsächlichen Amplitude des TTE entspricht. Es muss somit gelten [LEI98]:

$$\begin{aligned}
 IL[dB] + TTE[dB] &= EM[dB] \\
 \text{mit } TTE[dB] &\cong 2 \cdot IL[dB] + 12dB
 \end{aligned}
 \tag{5.2}$$

Das elektromagnetische Übersprechen kann in der Praxis mit 70 dB bis 80 dB unterdrückt werden. Damit ergeben sich ideale Einfügedämpfungen IL mit Dichtung und Messflüssigkeit im Bereich von 20 dB bis 23 dB, entsprechend 11-14 dB an Luft für die verwendeten Sensoren. Je stärker das elektromagnetische Übersprechen unterdrückt werden kann, desto höher kann die Dämpfung des Sensorsignals gewählt werden und desto kleiner ist die Auswirkung des elektromagnetischen Übersprechens und des Triple-Transit-Echos auf die Messergebnisse.

Ein wichtiges Designkriterium für SAW-Sensoren ergibt sich aus der Tatsache, dass eine Überlagerung des Hauptmaximums der OFW sowie der SSBW unbedingt vermieden werden muss. Die SSBW hat im Vergleich zur Oberflächenwelle eine etwas höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit und somit eine höhere Anregungsfrequenz bei einer Dämpfung von nur 35 dB (Abbildung 3.13). Liegt diese Anregungsfrequenz innerhalb der Bandbreite $(\Delta f/f)_{N_P}$ der Oberflächenwelle, dann werden beide Wellen angeregt und sie interferieren am Empfangs-IDT. Eine Aussage über den physikalischen Sensoreffekt ist dann nicht mehr möglich. Die Massenbelastung durch die Metallisierung beeinflusst zwar die Oberflächenwelle, nicht jedoch die SSBW-Volumenwelle. Dadurch ist es möglich die Anregungsfrequenzen relativ zueinander zu verschieben. Das Designkriterium kann in der folgenden Form angegeben werden [MOR85, LEI98]:

$$\frac{1}{2} \left(\frac{\Delta f}{f} \right)_{N_P} = \frac{1}{N_P} < \left(\frac{\Delta f}{f} \right)_m \quad (5.3)$$

mit der Anzahl der Fingerquartetts N_P , der SAW-Bandbreite $(\Delta f/f)_{N_P}$ und der relativen Frequenzverschiebung $(\Delta f/f)_m$ aufgrund der Massenbelastung. Letztere kann für die verwendeten Sensoren mit Gleichung 2.59 genähert werden. Die verwendeten SAW-Sensoren mit 120 und 150 Fingerquartetts erfüllen das Kriterium (5.3), welches eine Mindestfingerzahl von 28 und 50 Fingerquartetts für eine Resonanzfrequenz von 69 bzw. 102 MHz bei einer Metallisierungshöhe von 385 nm fordert.

Die Metallisierungshöhe und das Metallisierungsmaterial sind wichtige Parameter, um die Empfindlichkeit von -36° -Scherwellensensoren zu optimieren. Nach Abschnitt 2.6 stellt die tatsächlich realisierte Höhe der Goldmetallisierung von 385 nm für 102 MHz-Sensoren ein Optimum in der Empfindlichkeit dar, für 69 MHz-Sensoren liegt das Optimum dagegen etwas höher bei ungefähr 600 nm. Die Metallisierungshöhe und das Material sind also ein Kompromiss zwischen der Optimierung der Empfindlichkeit und der Trennung der SAW und SSBW.

Die Metallisierung legt bei Oberflächenscherswellen auch die Eindringtiefe in das Substrat fest. Diese sollte kleiner als die tatsächliche Substratdicke sein, um eine Dämpfung der OFW zu vermeiden. Aus den Berechnungen von Leidl kann gefolgert werden [LEI98], dass die Eindringtiefe für die hier verwendeten Sensoren etwa 55 μm beträgt und damit wesentlich kleiner als die Substratdicke von 500 μm ist. Die Massenbelastung, also die relative Verschiebung der Resonanzfrequenz durch die Metallisierung, ist in Tabelle 5.3 angegeben. Bei gleicher Schichthöhe und Sensorfrequenz ist sie für SAW-Sensoren geringer als für Quarzresonatoren.

Für die in der Flüssigkeits- und Biosensorik eingesetzten Bauelemente wurde auch der Bereich zwischen den IDT-Strukturen mit Gold metallisiert, um die elektrischen Eigenschaften, Dielektrizität und Leitfähigkeit, (Gleichung 2.6) der Flüssigkeit von der elektromechanischen Welle abzuschirmen. Damit ist gewährleistet, dass nur die mechanischen Eigenschaften des Messmediums sich im Messeffekt widerspiegeln. Für den praktischen Gebrauch der Sensoren ist es unerlässlich, die empfindliche Goldmetallisierung der Fingerstrukturen zu passivieren, im Fall der in dieser Arbeit verwendeten Sensoren mit einer etwa 500 nm hohen Siliziumkarbid (SiC)-Schicht. In der Biosensorik ist eine Passivierung auf der Messstrecke nicht erwünscht, da die Rezeptormoleküle direkt auf der Goldmetallisierung immobilisiert werden können, nicht jedoch auf SiC. Als Konsequenz der zusätzlichen Massenbelastung durch SiC erniedrigt sich die Resonanzfrequenz um $0,1$ und $0,3\text{ MHz}$ für 69 - bzw. 102 MHz -Sensoren.

5.2 Äußere physikalische Einflüsse

Während die bauelementspezifischen Einflüsse über das Funktionieren eines Sensors entscheiden, können die äußeren Einflüsse als kleine Störungen des Sensorsignals aufgefasst werden. Der Einfluss von Massenbelegung, Viskosität und Dichte wurde bereits als eigentlicher Messeffekt untersucht. Hier werden die wichtigen äußeren Störeinflüsse Temperatur und Fluiddruck genauer untersucht. Die Sensorfrequenz ist eine Funktion dieser Störgrößen:

$$f = f(T, \eta(T), \rho(T), p) \quad (5.4)$$

mit der Temperatur T , der temperaturabhängigen Viskosität $\eta(T)$ und Dichte $\rho(T)$ und dem Fluiddruck p .

5.2.1 Temperatureinfluss

Der Temperatureinfluss wirkt zum einen direkt auf das Bauelement, zum anderen indirekt über den Messeffekt, da Viskosität und Dichte des anliegenden Mediums temperaturabhängig sind. In diesen Betrachtungen wird Wasser als Kontrollflüssigkeit zur Überprüfung des Temperatureinflusses verwendet, da in den späteren Messungen die Analyten in der Regel in wässrigen Lösungen verdünnt sind.

Schwingquarzsensoren

Für die verwendeten Quarzresonatoren vom AT-Schnitt wird das Frequenz-Temperaturverhalten durch ein kubisches Gesetz beschrieben:

$$\frac{\Delta f}{f} = 0.085 \cdot ((\varphi - 35^\circ 15')(T - T_{inv})) + 1.05 \cdot 10^{-4} (T - T_{inv})^3 \quad (5.5)$$

mit der Frequenzempfindlichkeit $\Delta f/f$, dem Schnittwinkel φ , der Inversionstemperatur $T_{inv} = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ sowie der tatsächlichen Temperatur T .

Abbildung 5.3 zeigt das Frequenz-Temperaturverhalten von Dickenserschwingquarzen. Das Verhalten ist stark abhängig vom Schnittwinkel. Beim verwendeten AT-Schnitt beträgt der Schnittwinkel $35^\circ 15'$ (Anhang A). Die Quarze zeigen bei diesem Schnittwinkel im Bereich von $0 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $50 \text{ }^\circ\text{C}$ nur eine sehr geringe Temperaturabhängigkeit, was für elektronische oder gassensorische Anwendungen wichtig ist. Für die Flüssigkeitssensorik ist jedoch die Temperaturabhängigkeit von Viskosität und Dichte von größerer Bedeutung.

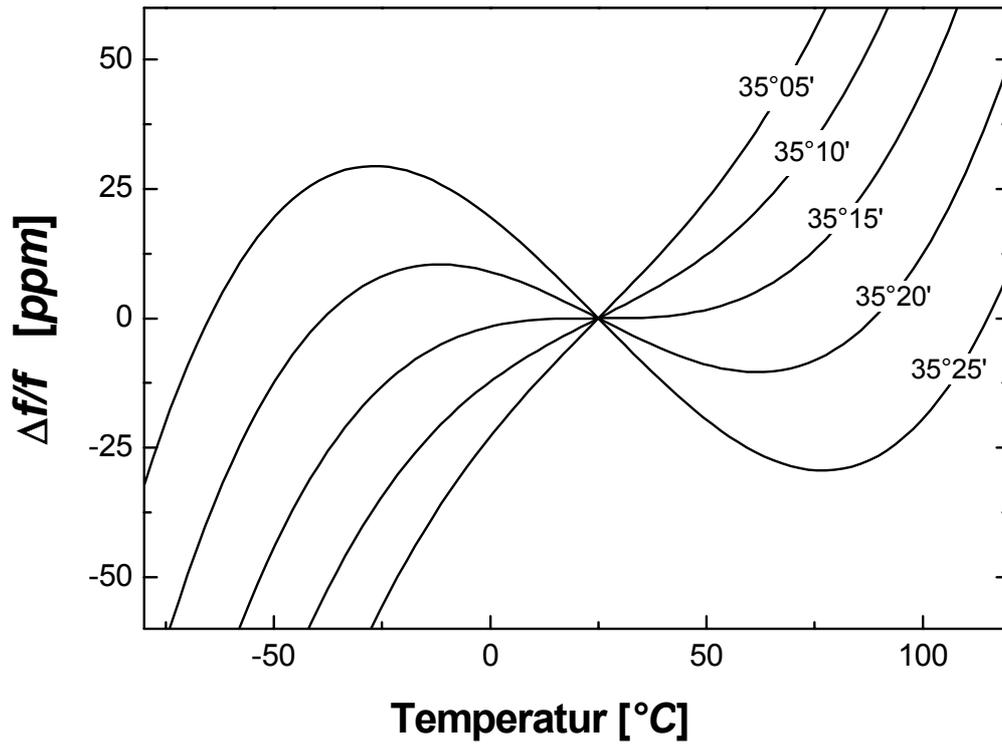


Abbildung 5.3: Frequenzverhalten in Abhängigkeit der Temperatur und des Schnittwinkels für Dickenscherschwingungsquarze.

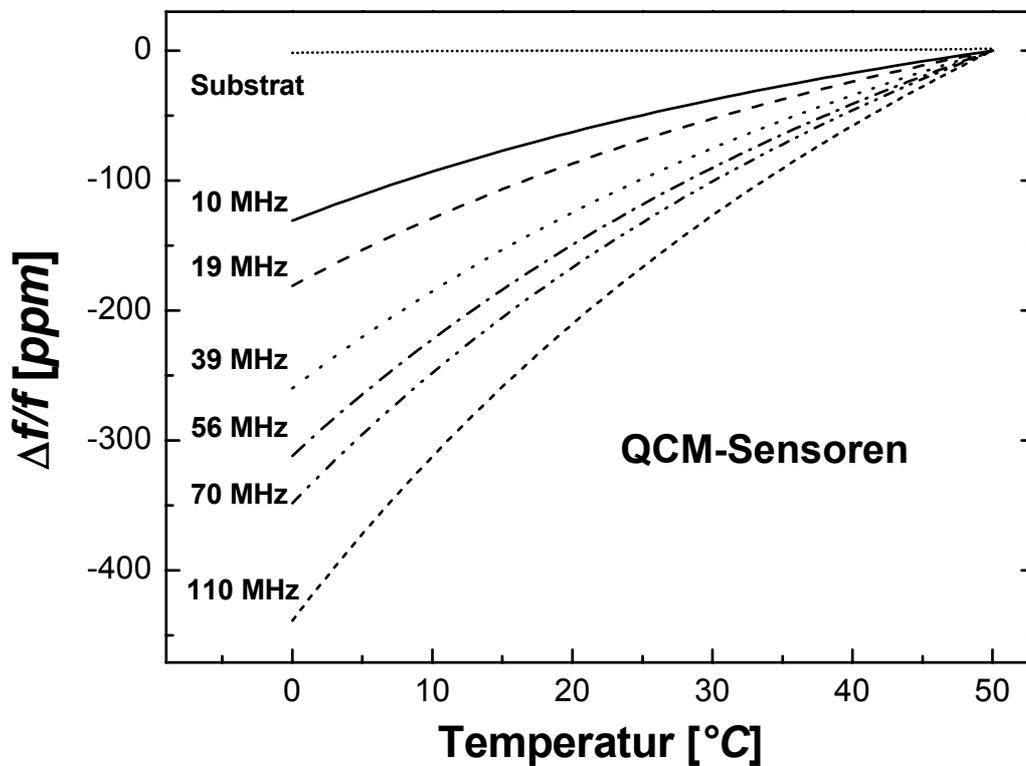


Abbildung 5.4: Frequenzverhalten aufgrund des Viskositäts- und Dichteinflusses von Wasser in Abhängigkeit der Temperatur für die verwendeten Quarzresonatoren.

Abbildung 5.4 zeigt das Temperaturverhalten unter Berücksichtigung der Flüssigkeitseigenschaften nach Gleichung 2.48 am Beispiel von Wasser im relevanten Temperaturbereich von 0 °C bis 50 °C. Es zeigt sich eine deutliche Zunahme der Temperaturabhängigkeit mit der Resonanzfrequenz der QCM-Sensoren. Der $\rho(T)$, $\eta(T)$ -Einfluss auf die Temperaturabhängigkeit überwiegt bei Quarzresonatoren im Vergleich zur reinen Temperaturabhängigkeit der Sensorelemente bei weitem.

Oberflächenwellensensoren

Die Temperaturabhängigkeit der SAW-Sensorelemente zeigt ein parabelförmiges Verhalten. Das Frequenz-Temperatur-Verhalten wurde für die verwendeten SAW-Sensorelemente berechnet und experimentell bestimmt und ist in Abbildung 5.5 dargestellt. Die Berechnung mit dem Simulationsprogramm (Anhang B) zeigt, dass der Temperaturgang stark abhängig von der Metallisierungshöhe ist. Aus diesem Grund wurden die unterschiedlichen effektiven Metallisierungshöhen auf der Laufstrecke und den IDT-Strukturen berücksichtigt, indem die gesamte Temperaturempfindlichkeit als Summe der gewichteten Effekte (Verhältnis d_S/d_{IDT} aus Tabelle 4.2) der Teilstrecken bestimmt wurde. Die Messwerte für den 102 MHz-Sensor stimmen gut mit der Berechnung überein.

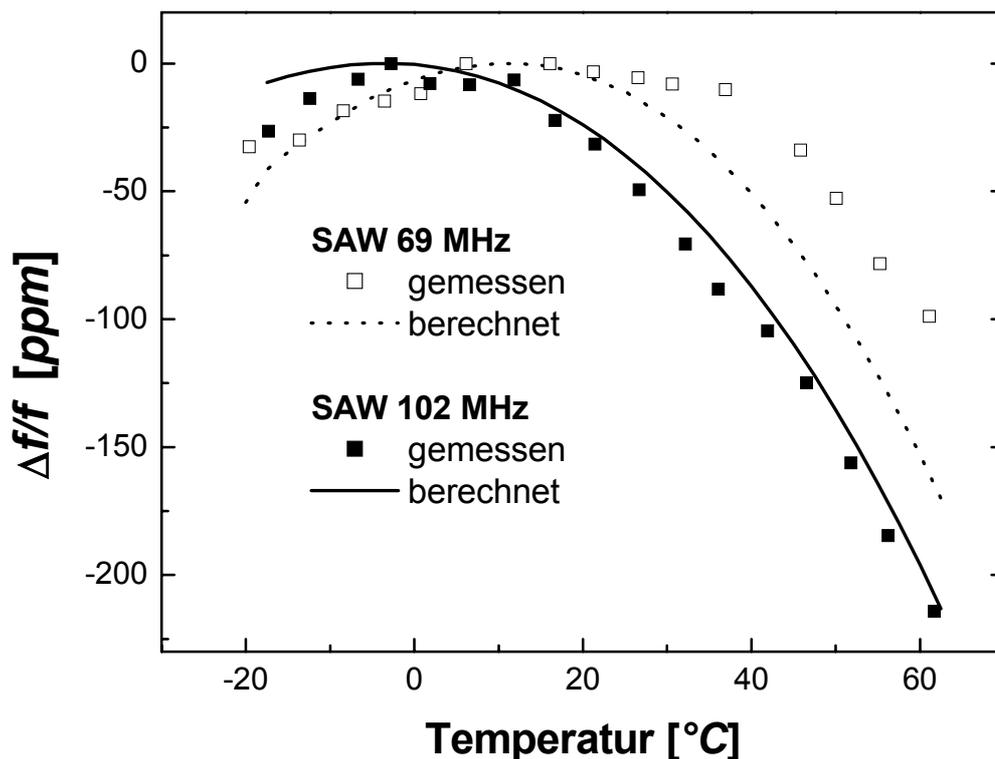


Abbildung 5.5: Frequenzverhalten von SAW-Sensorelementen in Abhängigkeit der Temperatur.

Der Scheitelpunkt liegt bei $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Für den 69 MHz-Sensor stimmt der berechnete und gemessene Scheitelpunkt überein ($11\text{ }^{\circ}\text{C}$), das Experiment zeigt aber in den abfallenden Zweigen eine geringere Temperaturempfindlichkeit als im Modell. Der Scheitelpunkt für höhere Resonanzfrequenzen verschiebt sich bei gleicher Metallisierungshöhe aufgrund der höheren Massenbelastung zu einer niedrigeren Temperatur. Die Berechnungen wurden für Quarzsubstrate mit einem Schnittwinkel von -36° durchgeführt. Eine Änderung des Schnittwinkels führt zu deutlichen Verschiebungen des Scheitelpunktes [LEI92].

Ebenso wie bei Quarzresonatoren ist bei den SAW-Sensorelementen der Einfluss der Flüssigkeitseigenschaften nach Gleichung 2.53 zu beachten. Abbildung 5.6 zeigt zum einen den $\rho(T)$, $\eta(T)$ -Einfluss von Wasser auf die Sensorfrequenz und zum anderen den kombinierten Einfluss der Flüssigkeit und des Sensorelements im relevanten Temperaturbereich von $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

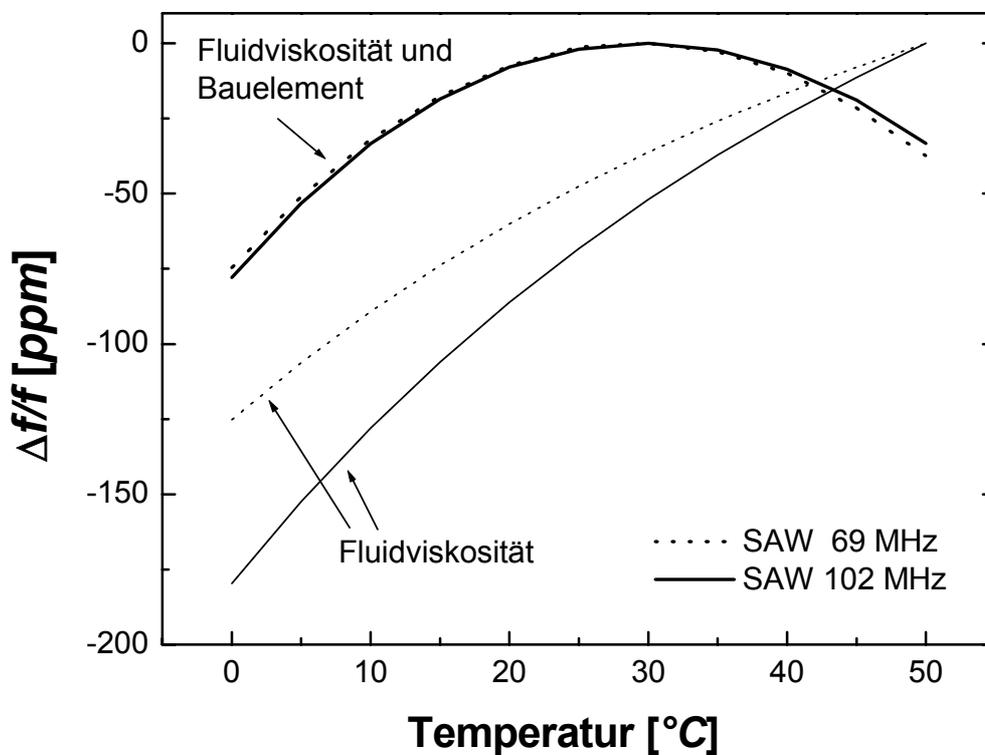


Abbildung 5.6: Frequenzverhalten aufgrund des reinen Viskositäts- und Dichteinflusses von Wasser in Abhängigkeit der Temperatur sowie des überlagerten Einflusses von Wasser sowie der Bauelemente für SAW-Sensorelemente.

Der Einfluss des Sensorelements kann bei SAW-Sensoren nicht, wie bei Quarzresonatoren, gegenüber dem Flüssigkeitseinfluss vernachlässigt werden. Beide Effekte sind gegenläufig. Die kombinierte Temperaturempfindlichkeit zeigt für 69 und 102 MHz-Sensoren ein parabolähnliches Verhalten mit dem Scheitelpunkt bei $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Für Flüssigkeitsexperimente mit wässrigen Fluiden in der Gegend der Raumtemperatur bedeutet dies nur eine geringe Temperaturempfindlichkeit. Ein Vergleich der maximalen Unterschiede der Temperaturempfindlichkeit im Bereich von $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ für die verwendeten Sensoren ist in Tabelle 5.4 dargestellt. Die verwendeten Oberflächenwellenbauelemente sind bei Flüssigkeitsversu-

chen (mit Wasser) deutlich weniger temperaturempfindlich als die verwendeten Quarzresonatoren. Überdies ist in Tabelle 5.4 die Empfindlichkeit bei einer Temperaturänderung von 1 K im Bereich der Raumtemperatur angegeben. Da die Messsignale an der unteren Nachweisgrenze in der Biosensorik bei ungefähr 0,2 ppm liegen (Kapitel 8), ist es notwendig die Temperatur exakt zu stabilisieren, um Störeinflüsse zu vermeiden. Die verwendeten Schnellwechselmodule (Abbildung 5.11) stabilisieren die Temperatur mittels Peltierelementen auf ungefähr 0,01 °C, damit ist selbst in der Biosensorik kein Temperatureinfluss zu erwarten.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | | | SAW | |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 10 | 19 | 39 | 56 | 70 | 110 | 69 | 102 |
| $\Delta f/f_{\max.(0-50\text{ °C})}$ [ppm] | 131 | 181 | 261 | 312 | 348 | 439 | 74 | 78 |
| $\Delta f/f(1\text{ K}, 20\text{ °C})$ [ppm] | 2,7 | 3,8 | 5,4 | 6,5 | 7,2 | 9,2 | 1,2 | 1,2 |

Tabelle 5.4: Maximale Temperaturempfindlichkeit (0 °C-50 °C) der Resonanzfrequenzen sowie die 1-Kelvin-Empfindlichkeit bei Raumtemperatur in Flüssigkeitsexperimenten mit wässrigen Lösungen.

5.2.2 Einfluss des Fluiddrucks

Quarzresonatoren – insbesondere HFF-Quarze – können, wegen ihrer geringen Dicke durch den anliegenden Fluiddruck im *mbar*-Bereich, mechanisch so verspannt werden, dass sich Einflüsse auf die Resonanzfrequenz ergeben. Die auftretenden Fluiddrücke sind jedoch nicht groß genug, um auch bei SAW-Sensoren, welche aus 0,5 mm dicken Quarzsubstraten bestehen, die Sensorfrequenz zu beeinflussen. Der Einfluss des Fluiddrucks auf Quarzresonatoren wurde in dem verwendeten Fluidsystem (Abbildung 5.11) durch Variierung der Flussrate experimentell bestimmt. Nachdem Gesetz von Hagen-Poiseuille ist die Flussrate im Fließsystem direkt proportional zum dynamischen Fluiddruck [KUC88]. Der Fluiddruck wurde mit dem Drucksensor des Fluidsystems erfasst und die Sensorfrequenz wurde nach der Oszillatormethode erfasst.

Abbildung 5.7 zeigt die Druckempfindlichkeit $\partial f/\partial p$ in Abhängigkeit der Resonanzfrequenz der verwendeten Sensoren. Die Druckempfindlichkeit zeigt ein logarithmisches Verhalten in Abhängigkeit der Resonanzfrequenz und ergibt experimentell folgende Beziehung:

$$\frac{\partial f}{\partial p} = 164,3 - 68,5 \cdot \ln f_0 \quad (5.6)$$

mit dem natürlichen Logarithmus \ln und der Resonanzfrequenz f_0 [MHz].

Abbildung 5.7 zeigt ferner, dass die Druckempfindlichkeit eng mit der Dicke der Quarzresonatoren gekoppelt ist.

Heusler et al. berichten von einer parabolischen Abhängigkeit der Frequenz von dem anliegenden Druck [HEU88]. In den hier vorgenommenen Untersuchungen bei kleinen Druck-

änderungen konnte nur eine lineare Abhängigkeit der Sensorfrequenz vom Druck festgestellt werden.

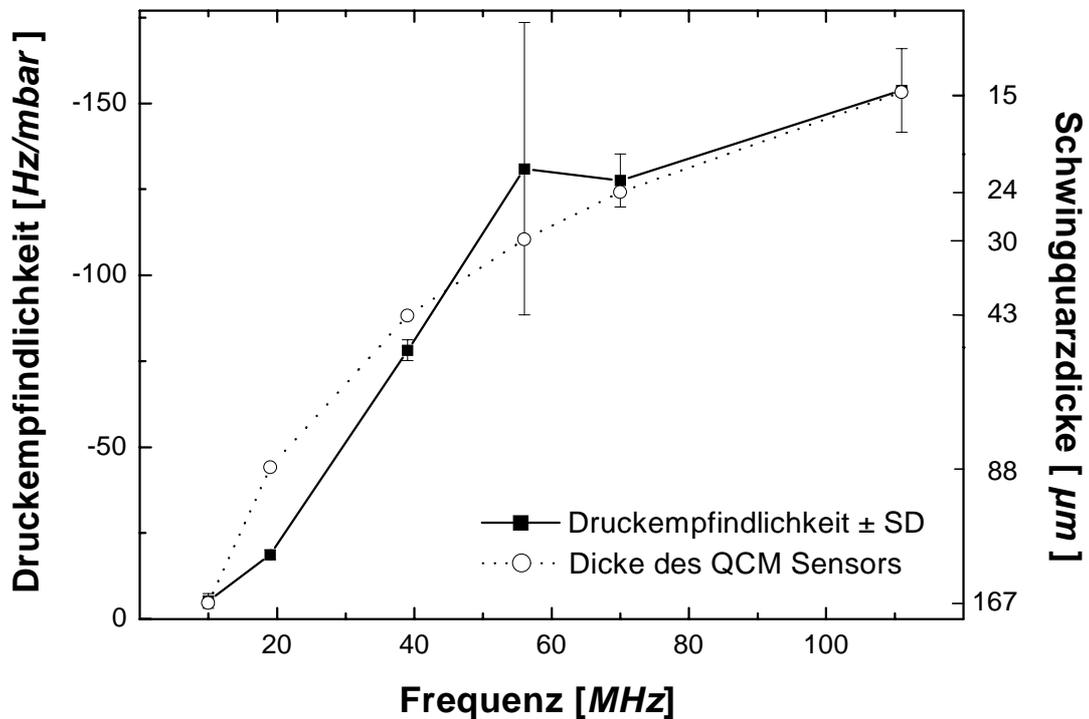


Abbildung 5.7: Druckempfindlichkeit von Quarzresonatoren in Abhängigkeit der Resonanzfrequenz und zum Vergleich die Schwingquarzdicke im logarithmischen Maßstab.

Neben den geometrischen Kapillarabmessungen und der Flussrate, die während der Messungen immer konstant gehalten wird ($30 \mu\text{l}/\text{min}$), kann nach dem Gesetz von Hagen-Poiseuille der dynamische Fluiddruck auch durch die Viskosität des Fluids beeinflusst werden. Dies ist insbesondere dann problematisch, wenn die Messlösung wesentlich viskoser als die Trägerlösung ist. Dem eigentlichen Messeffekt ist dann eine Frequenzänderung aufgrund des geänderten Fluiddrucks überlagert. Dies ist beispielsweise bei der Charakterisierung von Polyethylenglykollösungen im Fließsystem in Kapitel 6.2.1 der Fall. In der kleinen Messzelle von HFF-Sensoren entstehen nämlich aufgrund der Viskositäten der PEG-Lösungen (Anhang C) dynamische Fluiddrücke von 3 bis 150 mbar , welche das eigentliche Messsignal mit bis zu 30 % überlagern können.

5.3 Systembedingte Störeinflüsse

Systembedingte Einflüsse sind zum einen abhängig von der Messelektronik. Diese elektronischen Störungen können einzeln nur schwierig erkannt werden und werden aus diesem Grund lediglich als Teil des Sensorrauschens erfasst (Kapitel 4.5.3)

Zum anderen sind die systembedingten Einflüsse abhängig von den geometrischen Abmessungen des Fluidsystems. Hieraus resultieren Störeinflüsse wie die Transportlimitierung durch Diffusion und Konvektion des Analyten sowie Kompressionswellen in der Messzelle.

Einen weiteren wichtigen Einfluss auf das Messsignal in der Biosensorik hat auch noch, wie in Kapitel 7.2 gezeigt wird, die Rezeptordichte der Sensoren.

5.3.1 Diffusion und Konvektion des Analyten

Für Adsorptionsexperimente in der Biosensorik ist es sehr wichtig, dass der Transport des Analyten durch Diffusion und Konvektion im Fluidsystem, insbesondere in der Messzelle, die Anlagerung nicht limitiert. In einem solchen Fall könnte keine Aussage über die intrinsische Adsorptionskinetik getroffen werden. Eine Bestimmung von Bindungsaffinitäten, wie in Abschnitt 8.5 ist dann nicht mehr möglich. Für die reine Nachweisanalytik würde sich die untere Nachweisgrenze verschlechtern.

Da es sich bei der Transportlimitierung um einen wichtigen Störeffekt handelt, soll dieser am Beispiel der Adsorption von Bakteriophagen (Kapitel 4.1.2) genauer betrachtet werden.

Abbildung 5.8 zeigt die Verhältnisse bei der Konvektion (x-Richtung) durch die vorgegebene Trägerflüssigkeit sowie die Diffusion (y-Richtung). Lévêque konnte für laminare Flüsse den Gleichgewichtszustand¹⁶, durch ein Modell beschreiben [LOK83]. Nach Probenaufnahme ergibt sich eine Oberflächenkonzentration des Analyten an der Grenzfläche Sensorflüssigkeit von:

$$\Delta m = 0.98 \cdot \left(\frac{D_K^2}{h_Z^2 \cdot A \cdot \dot{V}^2} \right)^{\frac{1}{3}} \cdot c_0 \cdot V_0 \quad (5.7)$$

mit der Oberflächenkonzentration des Analyten Δm [Masse bzw. Anzahl /cm²], der Flussrate \dot{V} [ul/min], der Höhe der Messzelle h_Z , der Sensorfläche A , der Diffusionskonstante D_K [cm²/sec], der Analytkonzentration c_0 [Masse bzw. Anzahl /ml] sowie dem Probenvolumen V_0 .

¹⁶ Der Gleichgewichtszustand liegt vor, nachdem die Trägerflüssigkeit durch die analythaltige Probenflüssigkeit ersetzt ist und das Konzentrationsprofil voll ausgebildet ist (hier etwa einige Sekunden).

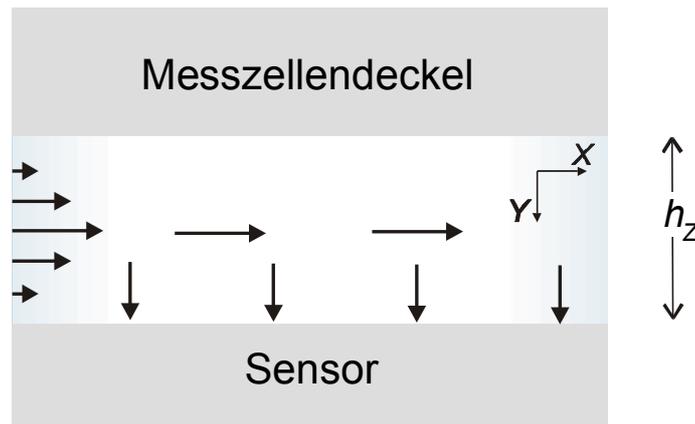


Abbildung 5.8: Verhältnisse bei der Konvektion und Diffusion des Analyten in der Messzelle.

Die berechnete Oberflächenkonzentration gibt nur Auskunft über die Anzahl der Analytmoleküle, welche die Sensoroberfläche erreichen. Die Anzahl der adsorbierenden Moleküle, auch Belegungsdichte genannt, ist zusätzlich noch abhängig von der intrinsischen Bindungskinetik (Abschnitt 4.7).

Gleichung (5.7) zeigt die analytischen Abhängigkeiten der berechneten Oberflächenkonzentration:

- Eine Erhöhung der Dauer der Probenaufgabe $t = V_0/\dot{V}$ erhöht die Oberflächenkonzentration. Bei vorgegebenem Probenvolumen ist dies nur über eine Verringerung der Flussrate zu erreichen, wie Abbildung 5.9 für die verschiedenen Sensoren zeigt.
- Durch eine kleinere Fläche und insbesondere eine kleinere Messzellenhöhe kann die Oberflächenkonzentration bei der Analytadsorption gesteigert werden. Dieser Effekt kann in Abbildung 5.9 anhand der verschiedenen Schwingquarzsensoren mit verschiedenen Messzellenhöhen beobachtet werden (Tabelle 4.1).
- Die Oberflächenkonzentration nimmt linear mit der Ausgangskonzentration zu. Gerade beim Analytnachweis ist es wichtig, dass die Oberflächenkonzentration bei niedrigen Konzentrationen noch so groß ist, dass sie ein Messsignal hervorruft.
- Einen wichtigen Einfluss hat die Diffusionskonstante D_K des Analyten, welche indirekt proportional zum Radius des Analyten und der Viskosität des Mediums ist. Für Phagen, wie sie in Abschnitt 7.1 verwendet werden, ist D_K in Wasser¹⁷ ungefähr $3 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Abbildung 5.9 zeigt die Abhängigkeit der berechneten Oberflächenkonzentration, bei Injektion von $100 \mu\text{l}$ Phagen ($10^9/\text{ml}$), von der Flussrate und damit von der Dauer der Probenaufgabe für die verschiedenen Sensoren.

¹⁷ Zum Vergleich Makromoleküle wie Albumin haben eine Diffusionskonstante von $6 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ in Wasser, Ionen $2 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ und Bakterien $5 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$ [ADA95].

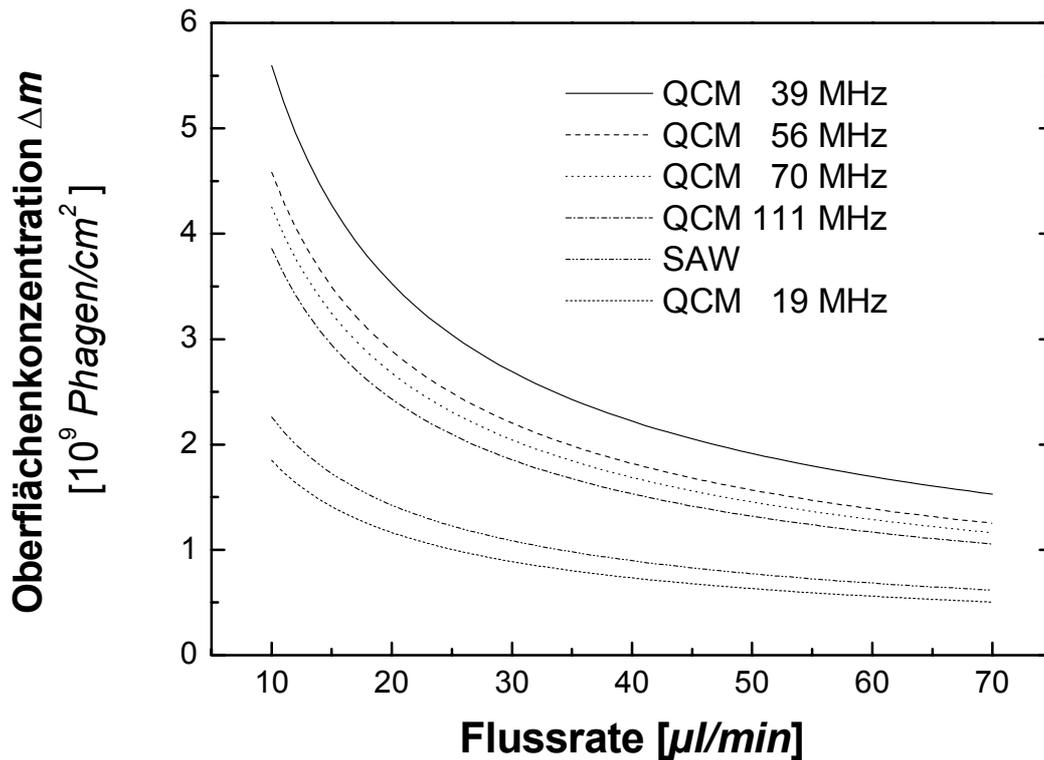


Abbildung 5.9: Abhängigkeit der Belegungsdichte von der Flussrate im Fluidsystem bei vorgegebenem Analytvolumen von $100 \mu\text{l}$ und vorgegebener Analytkonzentration von 10^9 Phagen/ml.

Es zeigen sich deutliche Unterschiede in der Oberflächenkonzentration bei den verschiedenen Sensoren. Dies ist ausschließlich auf die verschiedenen geometrischen Abmessungen der Messzellen zurückzuführen. Die Unterschiede resultieren aus den unterschiedlichen Membrandicken bei HFF-Quarzen sowie den unterschiedlichen Abmessungen von SAW- und QCM-Sensoren. Für eine Flussrate von 30 ml/min sind die Oberflächenkonzentrationen in Tabelle 5.5 angegeben. Ebenso wird die berechnete, relative Anzahl der Phagen $n_{\text{Elektr}}/n_{\text{Probe}}$ auf der sensitiven Elektrodenfläche bezogen auf die Anzahl der Phagen in der Probenlösung aufgeführt.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | | SAW | |
|--|-------|------|------|------|------|------|------|
| | 10/19 | 39 | 56 | 70 | 110 | 69 | 102 |
| Oberflächenkonzentration [10^9 Phagen / cm^2] | 0,8 | 2,7 | 2,2 | 2,0 | 1,9 | 1,1 | 1,1 |
| $n_{\text{Elektr}}/n_{\text{Probe}}$ [%] | 1,1 | 0,47 | 0,39 | 0,36 | 0,33 | 1,23 | 0,82 |

Tabelle 5.5: Berechnete Oberflächenkonzentration aufgrund der Zellgeometrie sowie die relative Anzahl der Phagen auf dem sensitiven Bereich im Vergleich zur Ausgangskonzentration bei einer Flussrate von $30 \mu\text{l/min}$.

Insbesondere bei massereichen Analyten, wie Viren und Bakterien ist wegen der kleinen Diffusionskonstante eine Transportlimitierung zu erwarten. Das Lévêquemodell ist in diesem Fall sehr gut geeignet, den Einfluss der Zellgeometrie und der Analyteigenschaften auf die resultierende Oberflächenkonzentration zu modellieren. Für große Analytkonzentrationen liefert das Modell keine exakten Ergebnisse [LOK83]. Auch die zeitabhängige Ausbildung des Konzentrationsprofils zu Beginn der Probenzugabe (einige Sekunden) wird mit dem Modell nicht erfasst. Angesichts der vorliegenden Adsorptionsphasen im Minutenbereich kann von einem über die ganze Dauer gleichmäßigen Konzentrationsprofil ausgegangen werden.

5.3.2 Kompressionswellen in der Flüssigkeitszelle

Das Verhalten eines 10 MHz Dickenschwingers in der Messzelle wurde untersucht, um den Effekt der Erzeugung von Kompressionswellen in der Flüssigkeitsschicht zu charakterisieren. Der Effekt ist eng verbunden mit der lateral ungleichmäßigen Amplitudenverteilung der Scherschwingung (Abbildung 3.9) [SCH95b] [LUC97b].

Abbildung 5.10 zeigt schematisch die zwischen Sensor und Messzellendeckel eingeschlossene Flüssigkeitsschicht der Höhe h_Z , in der Kompressionswellen generiert werden. Aufgrund der planparallelen Ausrichtung von Sensor und Messzellendeckel kommt es zur Ausprägung von stehenden Wellen.

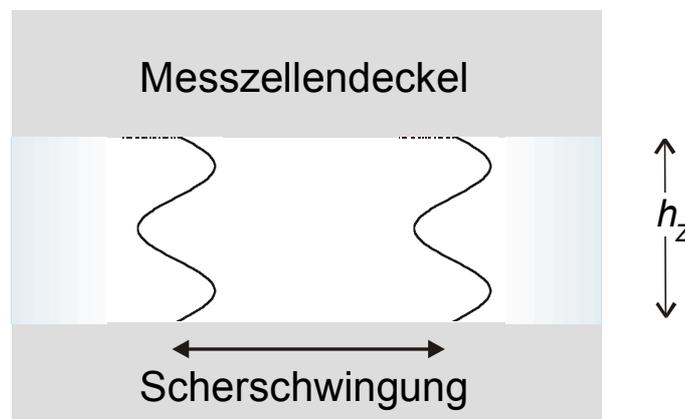


Abbildung 5.10: Stehende Kompressionswellen in der Messzelle.

Durch Verändern des Messzellendeckels kann die Höhe h_Z variiert und charakteristische Sensorsignale mit der Periodizität $\lambda_c/2$ beobachtet werden, die folgender Beziehung genügen:

$$h_Z = n \cdot \frac{\lambda_c}{2}, \quad n = 1, 2, \dots \quad (5.8)$$

Die Kompressionswellenlänge λ_c ist über den Kompressionsmodul K_l und die Dichte ρ_l mit den Flüssigkeitseigenschaften verknüpft:

$$\lambda_c = \frac{v_c}{f_0} = \frac{1}{f_0} \sqrt{\frac{K_l}{\rho_l}} \quad (5.9)$$

mit der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Kompressionswellen v_c und der Sensorfrequenz f_0 .

In einem Experiment wurde ein 10 MHz-Schwingquarz in einer Messzelle, gefüllt mit destilliertem Wasser bei Raumtemperatur, mit verschiebbarem Messzellendeckel aus poliertem Edelstahl untersucht [KÖS97]. Durch Verändern der Messzellenhöhe können durch das im Oszillatorbetrieb gewonnene Frequenz- und Dämpfungssignal die Resonanzstellen nach der Beziehung (5.8) bestimmt werden.

Abbildung 5.11 zeigt das Sensorsignal in Abhängigkeit der Messzellenhöhe. Das Spannungssignal ist dabei umgekehrt proportional zur Dämpfung des Quarzes. An den Resonanzstellen, springt die Frequenz von minimalen zu maximalen Werten und die Dämpfung wird maximal. Aus diesem Ergebnis kann die Kompressionswellenlänge zu $\lambda_c = 150 \mu\text{m}$ bestimmt werden. Nach der Beziehung (5.9) resultiert daraus ein Kompressionsmodul K_l von Wasser zu 2,25 GPa. Dieser stimmt gut mit dem tabelliertem Wert von 2,0 GPa für 20 °C überein [KUC88].

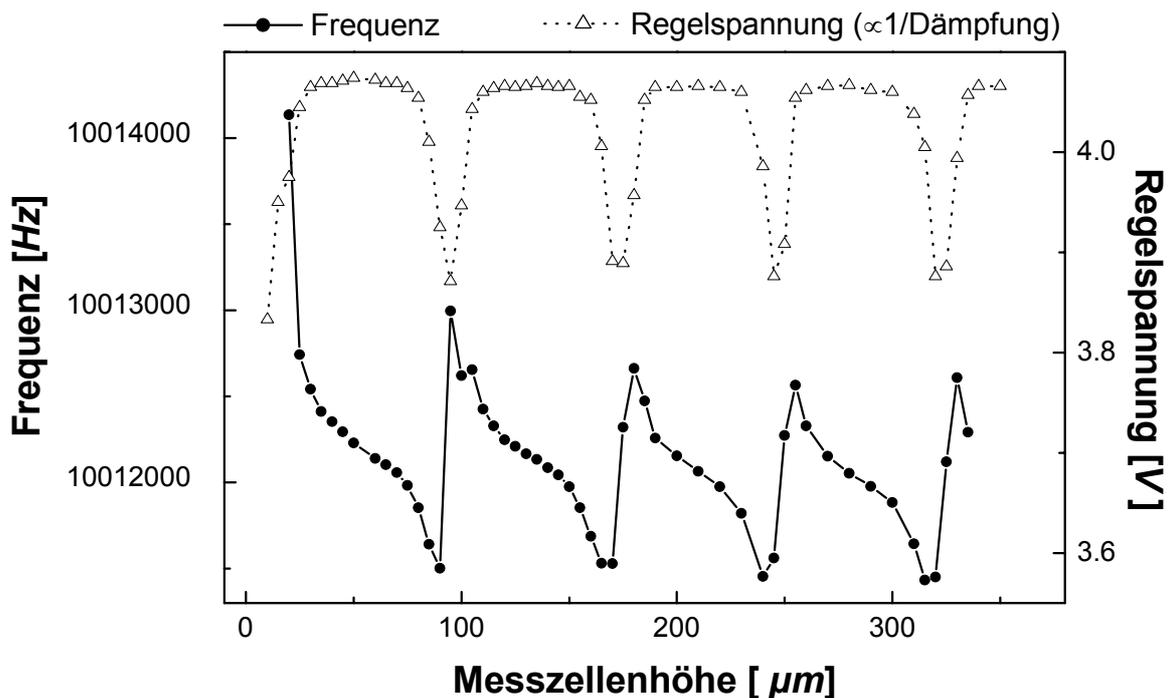


Abbildung 5.11: Resonanzstellen der Frequenz und Dämpfung eines 10-MHz-Quarzresonators aufgrund von Kompressionswellen in der Messzelle [KÖS97].

Auf diese Weise kann für verschiedene Flüssigkeiten in der Messzelle der Kompressionsmodul, im Gegensatz zum Schermodul aus Kapitel 2.4, bestimmt werden. Die Kompressionswellenlänge ist abhängig von der Viskosität der Flüssigkeit.

Für den Betrieb von akustischen Sensoren – für SAW-Sensoren sind ähnliche Ergebnisse zu erwarten – haben diese Ergebnisse einige wichtige Konsequenzen. Ein Betrieb der Sen-

soren an einer Resonanzstelle sollte unbedingt vermieden werden. Eine kleine Änderung der Viskosität der Messflüssigkeit, könnte dann nämlich starke Änderungen der Sensorsignale aufgrund stehender Kompressionswellen verursachen. Eine Gegenmaßnahme könnte sein, Sensor und Messzellendeckel nicht planparallel anzuordnen. Dies zieht allerdings, wegen der Veränderung des Kanalquerschnitts, unerwünschte Änderungen im Fluiddruck nach sich. Bei den in Kapitel 4 vorgestellten Messzellen ist eine Nichtparallelität nicht eingeplant worden, liegt aber wahrscheinlich, wegen der feinwerktechnischen Toleranzen sowie der nichtgleichmäßigen Klebung dennoch vor.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | | | SAW | |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 10 | 19 | 39 | 56 | 70 | 110 | 69 | 102 |
| Messzellenhöhe h [μm] | 40 | 40 | 19 | 25 | 24 | 15 | 50 | 50 |
| $\lambda_c/2$ in H_2O [μm] | 71.2 | 37.1 | 18.0 | 12.5 | 10.0 | 6.3 | 10.1 | 6.9 |
| $\lambda_c/2$ in PBS [μm] | 77.7 | 40.5 | 19.7 | 13.7 | 11.0 | 6.9 | 11.0 | 7.5 |
| $2h/\lambda_c$ (PBS) [1] | 0.52 | 0.99 | 0.96 | 1.8 | 2.18 | 2.17 | 4.55 | 6.67 |

Tabelle 5.6: Vergleich der Messzellenhöhe und der Kompressionswellenlängen für die verwendeten QCM- und SAW-Sensoren.

Tabelle 5.6 zeigt $\lambda_c/2$ für Wasser und für den in der Biosensorik verwendeten Trägerpuffer PBS. Die Schallgeschwindigkeit für Wasser beträgt 1483 m/s bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$, für PBS wurde sie mit dem tabellierten Wert für Meerwasser, 1531 m/s bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$, abgeschätzt [KUC88]. Ergibt das Verhältnis aus Messzellenhöhe und halber Kompressionswellenlänge eine ganze Zahl, dann können, für die Sensorik starke, Störeinflüsse, wegen der Ausbildung stehender Kompressionswellen, resultieren. Eine Gegenmaßnahme zur Vermeidung stehender Wellen ist, die Messzellenhöhe von vorneherein so zu planen, dass sie genau zwischen zwei Resonanzstellen liegt. Dies ist insbesondere bei höheren Frequenzen sehr schwierig, wie auch Tabelle 5.6 zeigt, weil die Resonanzstellen so eng zusammenliegen, dass sie bereits im Toleranzbereich der Messzellenhöhe liegen. Eine Änderung der Messzellenhöhe bei HFF-Quarzen ist aufwendig, da das technologische Herstellungsverfahren geändert werden müsste. Für den niedrigfrequenten 10 MHz -Schwingquarz entsteht keine Störbeeinflussung, da die halbe Kompressionswellenlänge doppelt so groß ist wie die Messzellenhöhe. Beim Design der Fluidzellen von 19 MHz -Sensoren wurde die mögliche Generierung von Kompressionswellen nicht berücksichtigt; die Messzellenhöhe entspricht hier ungefähr der halben Kompressionswellenlänge und damit können Störungen auftreten, falls Sensoroberfläche und Messzellendeckel planparallel sind.

5.4 Diskussion

In diesem Kapitel wurden Störeffekte, die an verschiedenen Stellen der Signaltransduktion einwirken, untersucht und deren Auswirkungen sowie Abhilfemaßnahmen dargestellt.

Es stellte sich heraus, dass beim Transducerdesign bestimmte Designregeln, welche die Metallisierung betreffen, unbedingt eingehalten werden müssen, um Störungen zu unterdrücken. Wegen der Komplexität ist dies für SAW-Sensoren aufwendiger als bei Quarzresonatoren. Die Sensoroberflächen sollten möglichst glatt sein, was für HFF-Quarzresonatoren hohe Anforderungen an die Ätztechnologie bedeutet.

Die physikalischen Einflüsse werden direkt über die Messflüssigkeit vermittelt. Die Störungen können durch geeignete Referenzmessungen oder Temperaturkompensation unterdrückt werden. SAW-Bauelemente zeigen zwar eine höhere Temperaturabhängigkeit an Luft, sind aber in Flüssigkeiten weniger temperaturempfindlich, da der Viskositätseffekt gegenläufig ist. SAW-Sensoren eignen sich aus diesem Grund auch für Flüssigkeitsexperimente ohne exakte Temperaturkompensation, wie dies für Schwingquarzsensoren erforderlich ist. Der Fluiddruck ist für Schwingquarzsensoren, insbesondere HFF-Sensoren, eine Störgröße, die berücksichtigt werden muss. Bei hohen Probenviskositäten kann der sich ändernde Fluiddruck das Messsignal verfälschen. Bei SAW-Sensoren kann dieser Störeinfluss vernachlässigt werden, weshalb diese auch noch bei hohen Probenviskositäten im Fluidsystem gute Ergebnisse liefern. Die Druckunempfindlichkeit ist ein Vorteil für die SAW-Sensoren in der Flüssigkeitscharakterisierung.

Für die durchgeführten Messungen war eine genaue Charakterisierung und Optimierung des Fluidsystems sehr wichtig. Mithilfe eines Fluiddrucksensors konnten Druckschwankungen erkannt und damit eine Fehlinterpretation der Messsignale vermieden werden. Die Messelektronik muss so konzipiert werden, dass sie ein besseres Auflösungsvermögen und Rauschverhalten besitzt, als das Frequenzrauschen des Sensors. Beim Design der Messzelle ist darauf zu achten, die Messzellenhöhe so zu wählen, dass keine stehenden Kompressionsmoden angeregt werden können. Speziell in der Biosensorik ist eine genaue Kenntnis des Konvektions-Diffusionsverhalten des Analyten in der Messzelle für die Optimierung der Anlagerung wichtig. Für die Steigerung der Höhe des Sensorsignals ist es wichtig, die Grenzflächenkonzentration des Analyten, und damit nach der eigentlichen Anlagerung die Belegungsdichte, zu steigern, nicht die absolute Masse des Analyten auf der Sensoroberfläche. Aus diesem Grund sind für die Steigerung der Oberflächenkonzentration die HFF-Sensoren mit kleinen Elektroden und entsprechend kleinen Messzellen mit geringer Zellenhöhe besser geeignet als Standard-Schwingquarze und SAW-Sensoren mit großer Elektrode und entsprechend großen Messzellen. Dies ist ein wichtiger Vorteil für die HFF-Sensoren in der Biosensorik.

Kapitel 6

Flüssigkeitscharakterisierung

Die Viskosimetrie, die Untersuchung newtonscher Flüssigkeiten, und vor allem die Rheologie, die Untersuchung viskoelastischer Fluide, sind wichtige Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Qualität von Ölen, Schmierstoffen, Pasten und Lebensmittel in technischen Anwendungen, in der Prozesskontrolle, in der Diagnostik oder der Lebensmitteltechnologie.

Akustische Sensoren können in diesen Anwendungen die Möglichkeit bieten mit miniaturisierten Sensorelementen und reduziertem technischen Aufwand rheologische Fragestellungen zu beantworten. In diesem Kapitel werden die experimentellen Ergebnisse der Untersuchung newtonscher Glycerinlösungen und viskoelastischer Polyethylenglykollösungen mit den theoretischen Ergebnissen verglichen. Besonderes Augenmerk wird auf den Vergleich von Quarzresonatoren mit SAW-Sensoren gelegt. Die Aussagekraft der Messergebnisse mit passiven und aktiven Messmethoden wird überprüft. Die Konzentrations- und Frequenzabhängigkeit der Sensorsignale wird untersucht. Überdies wird das Relaxationsverhalten viskoelastischer Polyethylenglykol-Lösungen diskutiert.

6.1 Newtonsche Flüssigkeiten

Newtonsche Flüssigkeiten zeigen rein viskose, dissipative Eigenschaften. Die Viskosität ist unabhängig von der Anregungsfrequenz und entspricht der statischen Nullviskosität aus Abschnitt 2.4.5, welche auch mit herkömmlichen Viskosimetern bestimmt werden kann [SCH95].

Glycerin¹⁸ wurde in Konzentrationen von 1 bis 10 Massenprozent (m/m %) in destilliertem Wasser auf die verschiedenen Schwingquarz- und SAW-Sensoren im Fließsystem mit Oszillatormesstechnik beaufschlagt und die Frequenzsignale ausgewertet. Wegen der kleinen Molekülgröße kann Glycerin als newtonsche Flüssigkeit angesehen werden. Die Dämpfungssignale liefern bei newtonschen Flüssigkeiten keine zusätzliche Information (Gleichung 2.48 und 2.53) und werden deshalb in diesem Abschnitt nicht näher betrachtet.

Das Frequenzsignal der Sensoren zeigt bei Zugabe verschiedener Glycerinkonzentrationen Peaks, deren größte Höhe als Sensorsignal ausgewertet wird, wie in Abbildung 6.1 am Beispiel eines 56-MHz HFF-Quarzes gezeigt ist. Die Frequenzänderungen Δf werden als Differenz von Basislinie und maximaler Peakhöhe bestimmt.

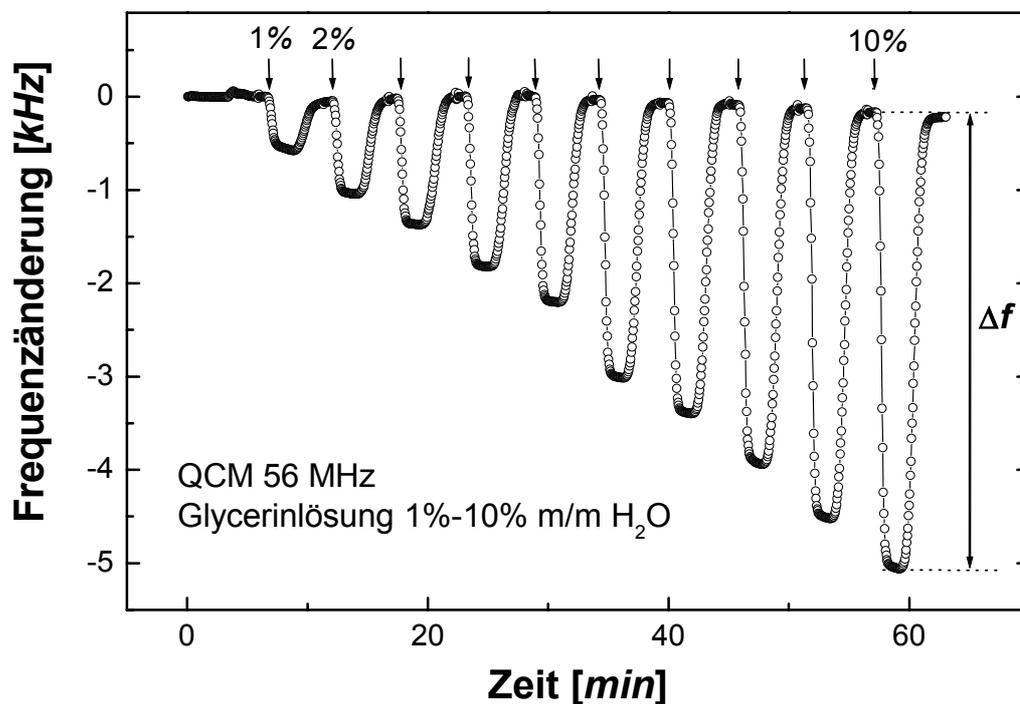


Abbildung 6.1: Frequenzänderung eines 56-MHz HFF-Quarzresonators bei Zugabe von verschiedenen Glycerinkonzentrationen.

Abbildung 6.2 zeigt die Auswertung der Messsignale für die verschiedenen Sensoren der Höhe nach geordnet.

¹⁸ 1,2,3-Propantriol; dreiwertiger, gesättigter Alkohol

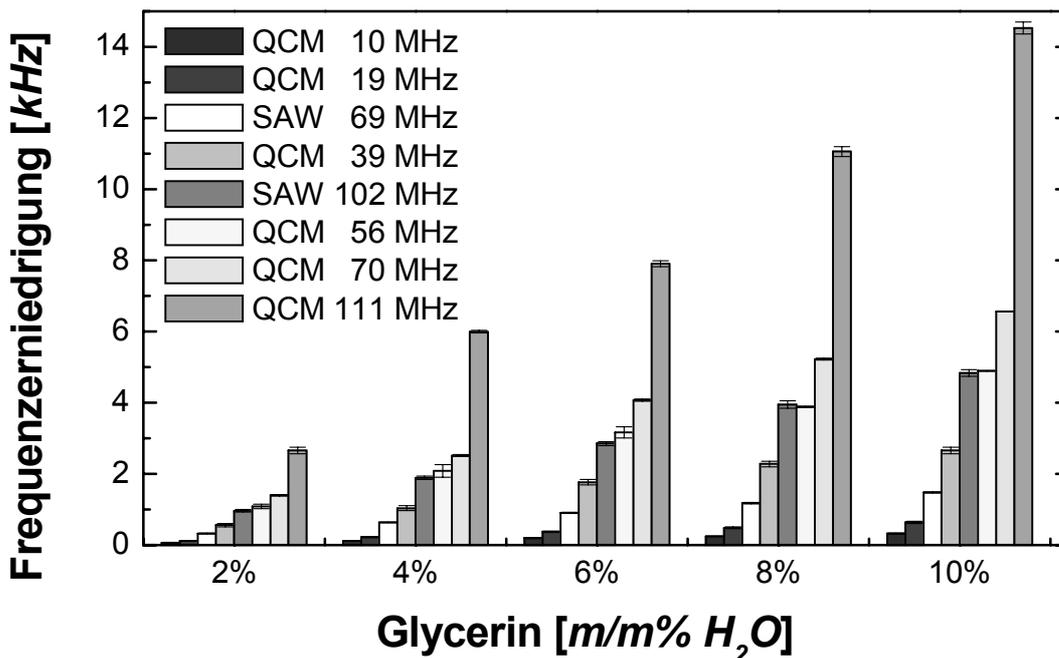


Abbildung 6.2: Untersuchung unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen mittels Quarzresonatoren und Oberflächenwellensensoren.

Es ist eine deutliche Signalzunahme, sowohl in Abhängigkeit der Konzentration, als auch in Abhängigkeit der Arbeitsfrequenz der Sensoren festzustellen. Beide Phänomene sollen genauer untersucht werden.

6.1.1 Konzentrationsabhängigkeit – Gesetz von Kanazawa

Abbildung 6.3 und 6.4 zeigen die Sensorsignale der QCM- bzw. SAW-Sensoren, aufgetragen gegen die Wurzel aus dem Produkt von Dichte und dynamischer Viskosität der Glycerinlösung. Es ergibt sich ein linearer Zusammenhang, wie nach Gleichung 2.48 und 2.53 gefordert:

$$\Delta f = S_L \cdot \sqrt{\rho_l \eta_l} \quad (6.1)$$

mit der Flüssigkeitsempfindlichkeit S_L (Gleichung 2.61).

Die statistischen 95% Konfidenzbereiche der Messwerte sind in den Abbildungen 6.3 und 6.4 eingetragen. Ferner wurden die theoretisch bestimmten Sensorsignale zum Vergleich in den Abbildungen eingetragen. Die Empfindlichkeiten S_L können experimentell als Steigung der linearen Regression bestimmt werden. Die theoretischen Werte für S_L wurden bereits als Flüssigkeitsempfindlichkeit in Abbildung 2.15 angegeben.

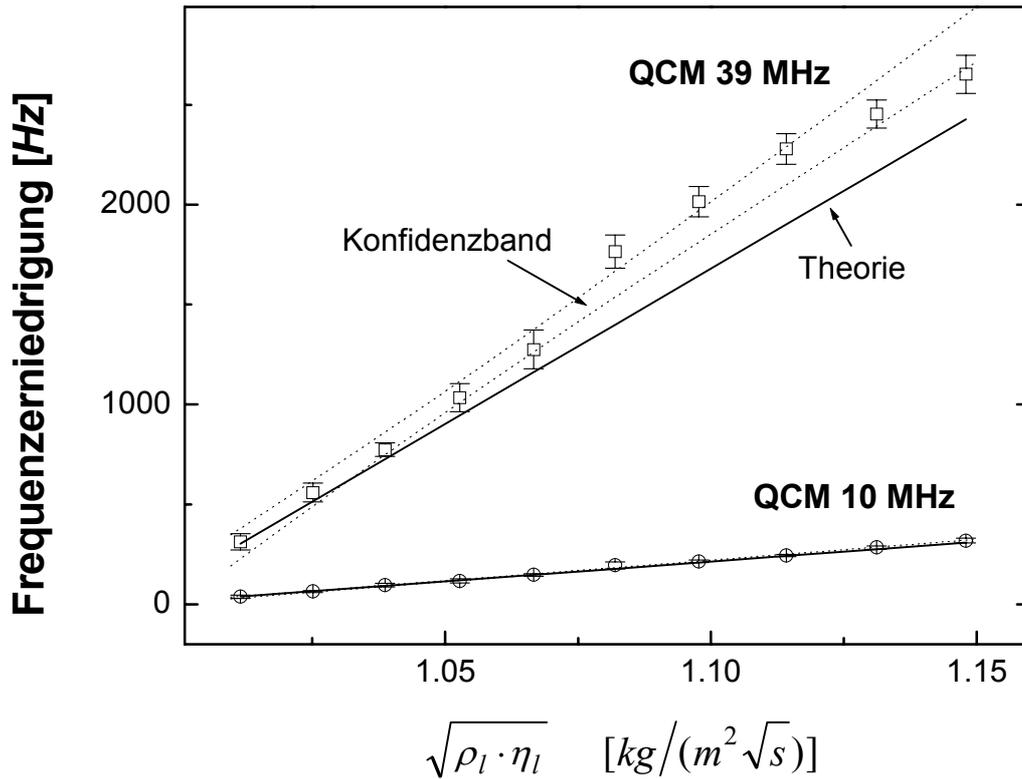


Abbildung 6.3: Konzentrationsabhängigkeit des QCM-Signals am Beispiel eines 10 MHz Sensors und 39 MHz HFF-Sensors.

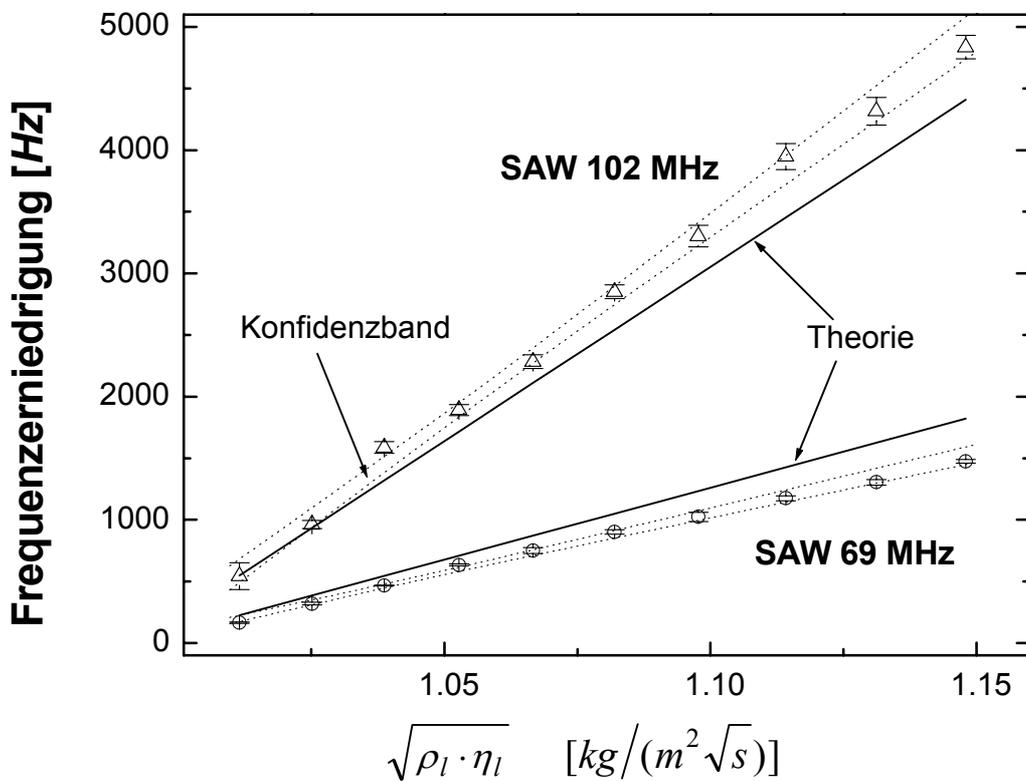


Abbildung 6.4: Experimentelle und theoretische Konzentrationsabhängigkeit des Sensorsignals von 69 MHz und 102 MHz SAW-Sensoren.

Die Ergebnisse für sämtliche verwendete Sensoren sind in Tabelle 6.1 angegeben. Neben den experimentellen und theoretischen Flüssigkeitsempfindlichkeiten ist deren Quotient dargestellt. In der Spalte Konfidenzbereich ist die Anzahl der theoretisch berechneten Messpunkte angegeben, die innerhalb des experimentellen Konfidenzbereiches liegen.

| Sensor [MHz] | exp. Steigung S_L^{exp} | theor. Steigung S_L^{theo} | S_L^{exp}/S_L^{theo} | Konfidenzbereich [max. 10] |
|----------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------|----------------------------|
| QCM 10 | 20,61 ± 0,39 | 19,80 | 1,04 | 7 |
| QCM 19 | 42,77 ± 0,82 | 52,58 | 0,81 | 0 |
| QCM 39 | 180,65 ± 7,29 | 155,61 | 1,16 | 3 |
| QCM 56 | 307,28 ± 7,58 | 268,75 | 1,14 | 0 |
| QCM 70 | 432,34 ± 8,52 | 374,10 | 1,16 | 2 |
| QCM 111 | 923,77 ± 30,32 | 748,43 | 1,23 | 2 |
| SAW 69 | 93,93 ± 2,03 | 116,76 | 0,81 | 1 |
| SAW 102 | 314,78 ± 5,64 | 282,66 | 1,11 | 2 |

Tabelle 6.1: Experimentelle und theoretische Flüssigkeitsempfindlichkeiten S_L [$10^3 \cdot m^2 / kg \sqrt{s}$] der verwendeten Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren.

Es zeigt sich für alle verwendeten Sensoren eine weitgehende, innerhalb statistischer Grenzen liegende, Bestätigung des linearen Zusammenhangs zwischen Sensorsignal und der Wurzel aus dem Produkt von Dichte und dynamischer Viskosität wie nach dem Gesetz von Kanazawa erwartet.

Die Empfindlichkeitskonstanten (Steigungen in Abbildung 6.3 und 6.4) weichen jedoch zum Teil deutlich von den theoretisch erwarteten Werten ab. Während die Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie für kleine Konzentrationen gut ist, d.h. die theoretisch bestimmten Werte liegen innerhalb des experimentellen Konfidenzbereiches, ist für höhere Konzentrationen eine deutliche, systematische Differenz zu beobachten. Die beste Übereinstimmung ist für den 10 MHz Quarzresonator zu beobachten. Die HFF-Quarze erweisen sich bei höherer Frequenz zunehmend empfindlicher als theoretisch erwartet, wie Tabelle 6.1 anhand des Quotienten S_L^{exp}/S_L^{theo} verdeutlicht. Diese Ergebnisse deuten speziell für HFF-Quarze auf eine systematische Abweichung von der einfachen Kanazawa-Theorie hin. Eine Ursache konnte der zusätzliche Beitrag eines longitudinalen Messeffektes sein, wie er in Kapitel 5 als Störeffekt beschrieben wurde. Der 19 MHz Standard-schwingquarz ist trotz gleichem Aufbau wie 10 MHz Schwingquarze unempfindlicher als theoretisch erwartet. Das gleiche gilt für den 69 MHz SAW-Sensor. Der 102 MHz SAW erweist sich dagegen empfindlicher als theoretisch erwartet.

Der Vergleich von QCM und SAW-Sensoren zeigt, dass die Arbeitsfrequenz in Bezug auf die Empfindlichkeit nicht gleich zu bewerten ist, vielmehr erweisen sich QCM-Sensoren bei gleicher Arbeitsfrequenz empfindlicher als SAW-Sensoren. Die Empfindlichkeit eines 56 MHz HFF-Sensors ist nahezu identisch mit der eines 102 MHz SAW-Sensors.

6.1.2 Abhängigkeit von der Resonanzfrequenz

Die Untersuchungen mit Sensoren unterschiedlicher Arbeitsfrequenz ermöglichten es, die Frequenzabhängigkeit der Sensorempfindlichkeit experimentell zu bestimmen.

Die Frequenzabhängigkeit kann aus der Beziehung $\Delta f \propto f_r^x$ durch die einfache Umformung $\ln(\Delta f) \propto x \cdot \ln(f_r)$ als Steigung x der linearen Regression gefunden werden, wie Abbildung 6.5 für die verschiedenen Sensoren veranschaulicht. Die Werte des 19 MHz-Sensors wurden wegen der schon im vorigen Abschnitt beobachteten, starken Abweichung nicht für die Auswertung herangezogen.

Durch lineare Regression ergeben sich die in Tabelle 6.2 angegebenen Frequenzabhängigkeiten. Zum Vergleich wurden die theoretisch ermittelten Abhängigkeiten aus Abschnitt 2.7 ebenfalls angegeben.

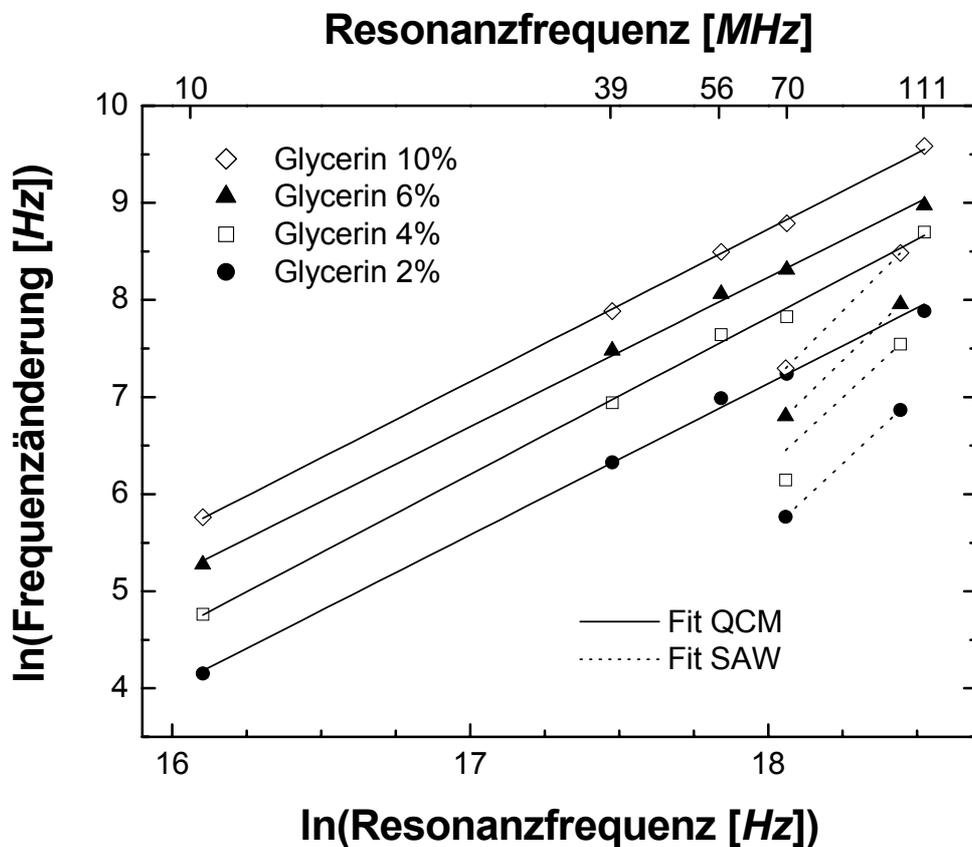


Abbildung 6.5: Experimentell bestimmte Frequenzabhängigkeit der Sensorempfindlichkeit für verschiedene Glycerinkonzentrationen.

Es stellt sich heraus, dass sowohl die Empfindlichkeit der QCM-Sensoren als auch der SAW-Sensoren stärker mit der Resonanzfrequenz zunimmt als theoretisch erwartet. Bei den Quarzresonatoren beträgt die Abweichung von der Theorie 5%, bei den SAW-Sensoren dagegen 20%, wobei es schwierig ist, bei zwei verschiedenen SAW-Arbeitsfrequenzen eine allgemeine Aussage zu treffen. Eine mögliche Ursache könnte eine Überlagerung des transversalen Sensoreffektes durch longitudinale Beiträge, wie sie in

Kapitel 3.1.3 erörtert wurden, mit anderer Frequenzabhängigkeit sein. Eine Trennung der verschiedenen Beiträge im Experiment ist jedoch kaum möglich.

| Sensor | x_{exp} | x_{theo} |
|-------------------------|-----------------|------------|
| Oberflächenwellensensor | $3,01 \pm 0,12$ | 2,5 |
| Schwingquarzsensoren | $1,58 \pm 0,03$ | 1,5 |

Tabelle 6.2: Experimentell und theoretisch bestimmte Frequenzabhängigkeit f_r^x der Sensorempfindlichkeit für die verwendeten Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren.

Experimentell bestätigt kann jedoch die bereits theoretisch bestimmte wesentlich stärkere Abhängigkeit der SAW-Empfindlichkeit von der Arbeitsfrequenz der Sensoren im Vergleich zur QCM-Empfindlichkeit werden.

6.2 Viskoelastische Flüssigkeiten

Polyethylenglykol¹⁹ (PEG) in wässriger Lösung wurde als Beispiel eines viskoelastischen Fluids zur Charakterisierung der QCM- und SAW-Sensoren eingesetzt. Dazu wurden verschiedene Molekülkettenlängen mit der Molmasse: 600, 2000, 6000, 20000 und 35000 g/mol verwendet. Eine größere Molmasse entspricht dabei einem größeren Molekulargewicht und damit einer längeren Molekülkette. Polyethylenglykol zeigt wegen der langen, mit der Molmasse zunehmenden Kettenlänge viskoelastische Eigenschaften, d.h. die Moleküle werden bei Scherszillation zu Schwingungen angeregt.

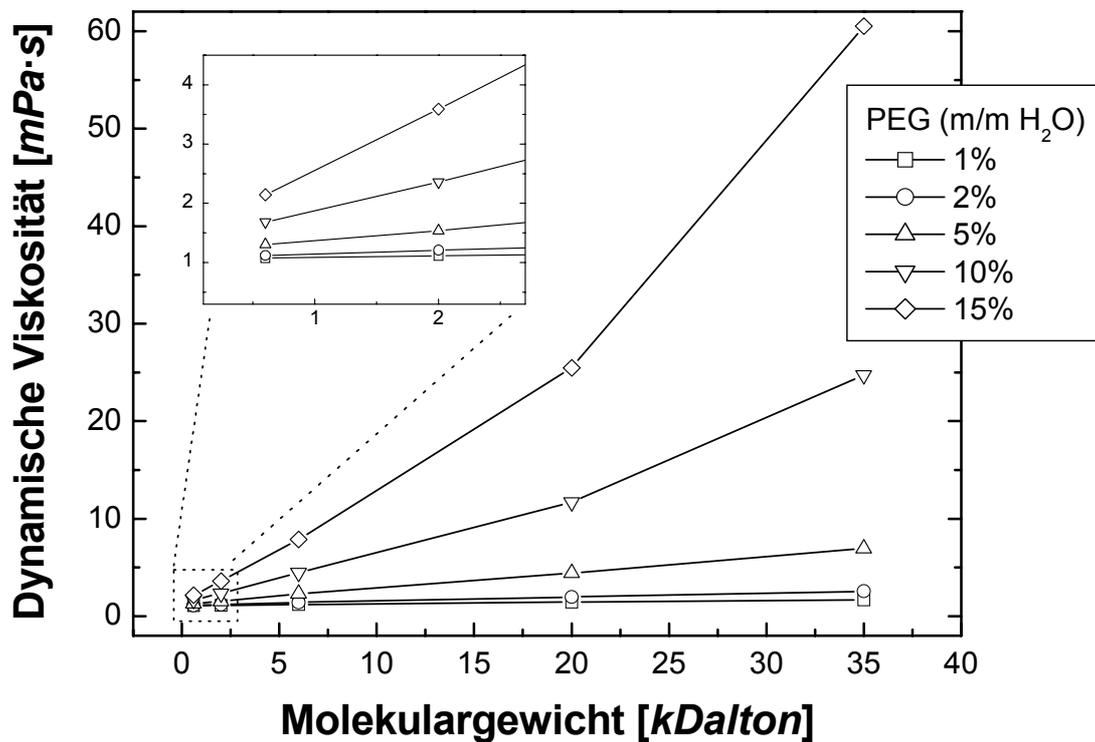


Abbildung 6.6: Dynamische Nullviskosität der verwendeten Polymerlösungen in Abhängigkeit des Molekulargewichts und der Konzentration. Die Werte wurden experimentell mit einem Kapillarviskosimeter bestimmt.

Polyethylenglykol mit verschiedenen Molekulargewichten wurde in Konzentrationen von 1, 2, 5, 10 und 15 Massenprozent in destilliertem Wasser auf die verschiedenen Schwingquarz- und SAW-Sensoren beaufschlagt und die erhaltenen Messsignale ausgewertet. Abbildung 6.6 zeigt die experimentell mithilfe eines Kapillarviskosimeters bei niedrigen Scherraten bestimmte dynamische Viskosität der PEG-Lösungen in Abhängigkeit der Konzentration und des Molekulargewichts (Anhang C).

¹⁹ PEG basiert auf dem Monomer Ethylenglykol (1,2-Ethandiol, zweiwertiger Alkohol).

Verschiedene Messmethoden wurden zur Untersuchung der PEG-Lösungen herangezogen. Die schnelle Oszillatormethode eignete sich gut, viele Lösungen mit verschiedenen Konzentrationen und Molekulargewichten zu untersuchen. Impedanz- und Übertragungsmessungen liefern exaktere Ergebnisse mit mehr Informationen, jedoch ist der zeitliche Aufwand wesentlich größer. In dieser Arbeit wurden deshalb lediglich einzelne Proben mit letzteren Methoden untersucht.

6.2.1 Konzentrationsabhängigkeit und Verlustwinkel

Alle zur Verfügung stehenden PEG-Lösungen wurden im Fließsystem mit Oszillatortechnik mit 39, 56 und 111 MHz QCM-Sensoren sowie mit 69 und 102 MHz SAW-Sensoren untersucht. Die Frequenzänderungen, d. h. die Differenz der Basislinie und der maximalen Peakhöhe, der verwendeten Sensoren für die verschiedenen PEG-Lösungen sind in Abbildung 6.7 grafisch dargestellt.

Sowohl bei Quarzresonatoren, als auch bei SAW-Sensoren sind deutliche Abhängigkeiten der Sensorsignale erkennbar. Die Signale sind, wie erwartet, sehr stark von der Arbeitsfrequenz der Sensoren und der Konzentration der PEG-Lösungen abhängig und werden bei zunehmender Frequenz und höherer Konzentration deutlich größer.

Die verwendeten Proben weisen eine, im Vergleich zu den im letzten Abschnitt verwendeten Glycerinlösungen, sehr hohe dynamische Viskosität auf; diese erreicht Werte bis zur 60-fachen Viskosität von Wasser. Das verwendete Fluidsystem (Abbildung 5.11) ist für diese relativ hohen Viskositäten, wegen der dünnen Fluidkanäle und Fluidkapillaren nur bedingt geeignet. Wie in Abschnitt 5.2.2 gezeigt wird, entstehen für den Viskositätsbereich der verwendeten PEG-Lösungen dynamische Fluiddrücke von ungefähr 3 bis 150 *mbar*. Dies ist natürlich verbunden mit Änderungen der Fließgeschwindigkeit sowie starken zeitlichen Fluiddruckänderungen. Für Quarzresonatoren ist zudem noch die Druckabhängigkeit des Messsignals zu beachten. Die dynamischen Drücke verursachen bei einem 111 MHz HFF-Quarz für die verschieden konzentrierten PEG-Lösungen Frequenzänderungen von 0,4 bis 22 *kHz* und damit bis zu 30% des eigentlichen Messsignals.

Die hohen Standardabweichungen der Messsignale sind aus diesen Gründen auf die Messung im Fluidsystem zurückzuführen. Außerdem ist zu berücksichtigen, dass die eigentlichen Messsignale der QCM-Sensoren wegen des überlagerten Druckeinflusses geringer sind.

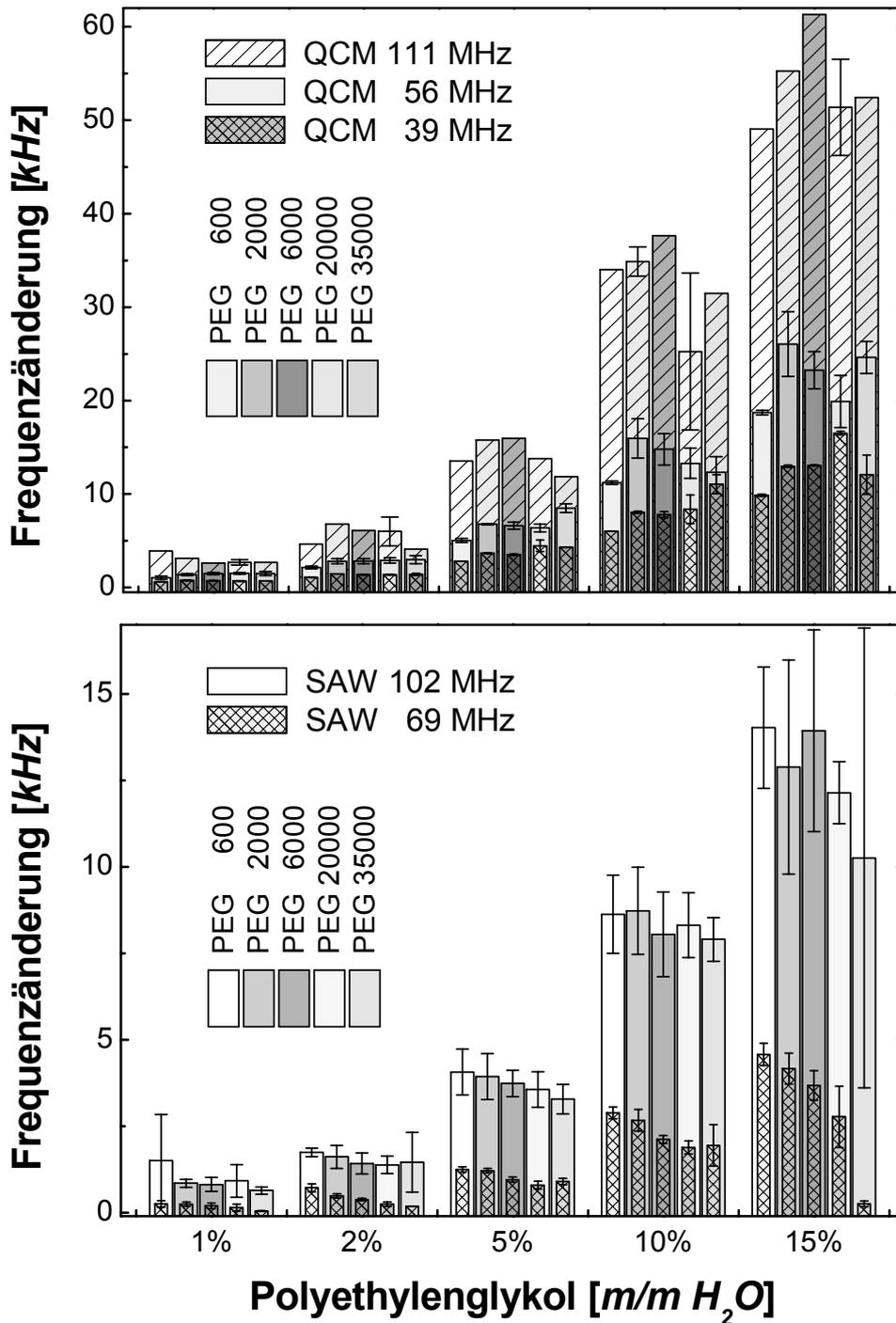


Abbildung 6.7: Untersuchung unterschiedlicher Polyethylenglykolkonzentrationen bei unterschiedlichen Molmassen mittels Quarzresonatoren (Arbeitsfrequenzen 39, 56, 111 MHz) und Oberflächenwellensensoren (Arbeitsfrequenzen 69, 102 MHz).

Der Einfluss des Molekulargewichtes auf die dynamische Viskosität der PEG-Lösungen ist zwar enorm (Abbildung 6.6). Die Frequenzsignale akustischer Sensoren für PEG-Lösungen gleicher Konzentration, aber unterschiedlichem Molekulargewicht unterscheiden sich kaum, wie Abbildung 6.8 verdeutlicht. In dieser Grafik sind die Messergebnisse von einem 56 MHz Quarzresonator und einem 102 MHz Oberflächenwellenbauelement für

15%iges PEG sowie die nach der Theorie für Newtonsche Flüssigkeiten berechneten Signale gegen das Molekulargewicht aufgetragen.

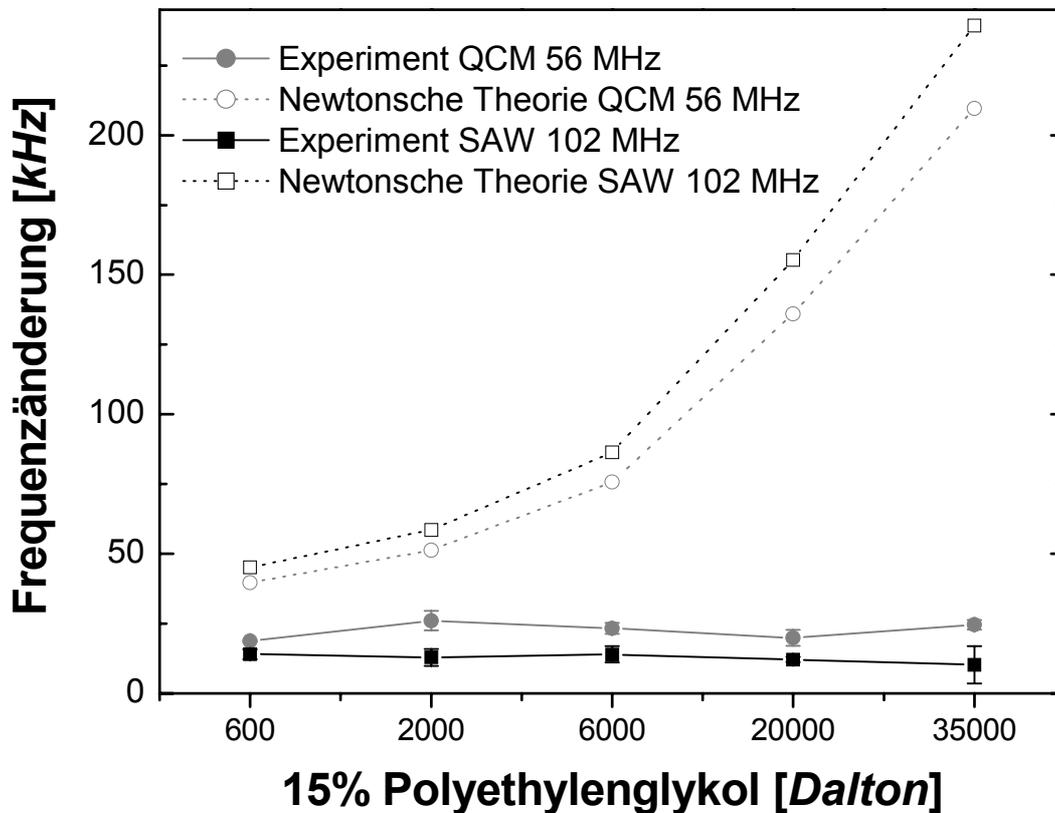


Abbildung 6.8: Vergleich der Messergebnisse und den, nach der Theorie für newtonsche Flüssigkeiten, berechneten Ergebnissen für Polyethylenglykol mit verschiedenen Molekulargewichten.

Diese Effekte können eindeutig der Elastizität der PEG-Lösungen und den damit verbundenen Relaxationsprozessen im Fluid zugeschrieben werden. Aus diesem Grund ist die newtonsche Theorie für Polyethylenglykollösungen nicht anwendbar. Die dynamische Viskosität der Proben ist damit frequenzabhängig und wird für höhere Resonanzfrequenzen, entsprechend höheren Scherraten, kleiner.

Die Messsignale von SAW-Sensoren sind nahezu unabhängig von Druckeinflüssen und spiegeln daher den eigentlichen Messeffekt besser wieder als dies bei QCM-Sensoren der Fall ist. Wie in Kapitel 2.6 gezeigt wurde, kann das viskoelastische Verhalten von Flüssigkeiten durch die Phasen- und die Dämpfungsänderung vollständig charakterisiert werden. Im hier angewandten Oszillatorverfahren sind diese Parameter äquivalent zu den gemessenen Frequenzänderungen und Änderungen der Dämpfung, welche als Spannung bestimmt wird (Kapitel 4.3.3). In Abbildung 6.9 sind die Messwerte eines 69 MHz SAW-Sensors in der durch die zwei Messparameter aufgespannten Ebene aufgetragen. Verschiedene Konzentrationen mit gleichem Molekulargewicht sind jeweils durch Linien verbunden. Zum Vergleich sind die Messwerte von wässrigen Glycerinverdünnungen als newtonsche Fluide aus Abschnitt 6.1 sowie die für größere Viskositäten extrapolierte Regressionsgerade ebenfalls eingetragen. Eine Unterscheidung der Messpunkte ist für die dargestellten Molekular-

gewichte von 600 bis 20000 *Da* möglich, wobei sich allerdings die Messpunkte für PEG 6000 und PEG 20000 sehr nahe kommen. Die Signale für das ebenfalls untersuchte Molekulargewicht von 35000 *Da* streuten bei hohen Konzentrationen, vermutlich wegen des hohen Fluiddrucks im Fluidsystem, sehr stark und sind aus diesem Grund nicht angegeben.

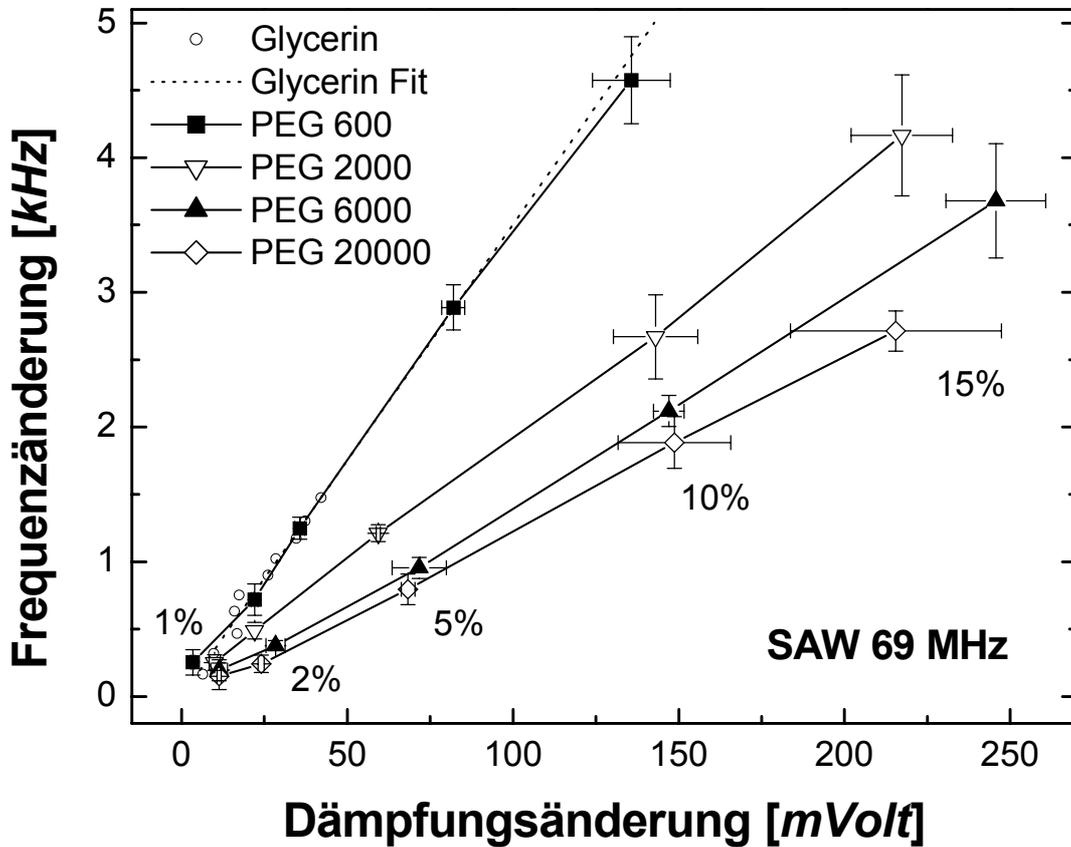


Abbildung 6.9: Charakterisierung der Polymerlösungen durch Berücksichtigung der beiden Messparameter Frequenzänderung und Dämpfungsänderung.

In Abbildung 6.9 zeigt sich deutlich, dass die Messwerte der newtonschen Flüssigkeit Glycerin die Gerade mit der höchsten Steigung bilden, alle Messwerte viskoelastischer PEG-Lösungen liegen mit zunehmender Kettenlänge deutlicher unterhalb dieser Geraden, d.h. aus der Position im Grafen kann auf die Konzentration sowie auf das Molekulargewicht zurückgeschlossen werden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass bei stärkerem viskoelastischem Verhalten in Übereinstimmung mit der Theorie die Frequenzänderung zunehmend geringer ausfällt. Die Dämpfungsänderung nimmt zunächst zu, fällt dann aber ebenfalls ab. Dieses Verhalten ist auch in Abbildung 6.14 theoretisch beschrieben.

Der in Gleichung 2.28 definierte Verlustwinkel ist eine Größe, die es erlaubt, direkt Schlüsse über die Viskoelastizität der untersuchten Flüssigkeiten zu ziehen. Abbildung 6.10 zeigt den Verlustwinkel der vermessenen Polymerlösungen gegen das Molekulargewicht aufgetragen. Zur Berechnung des Verlustwinkels wurde die Beziehung 2.56 sowie die Tatsache verwendet, dass für newtonsche Flüssigkeiten die beiden Messparameter, Frequenz- und Dämpfungsänderung, nach Gleichung 2.53 gleich groß sein müssen. Newtonsche Flüssigkeiten liegen also auf einer Geraden mit der Steigung 1 in Abbildung 6.9.

Die Steigung der PEG-Lösungen kann somit bezogen auf newtonsche Flüssigkeiten bestimmt werden.

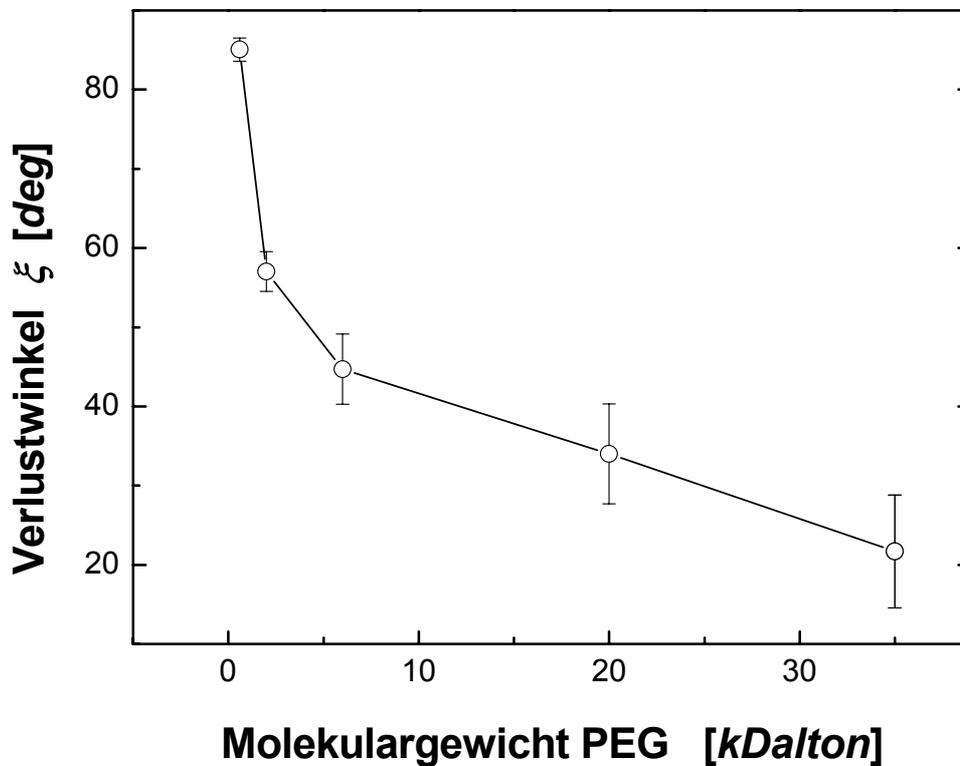


Abbildung 6.10: Der Verlustwinkel als Parameter für die Viskoelastizität einer Flüssigkeit und damit für das Molekulargewicht von Polymerlösungen.

Verschiedene Massenkonzentrationen des gleichen Molekulargewichts liefern den gleichen Verlustwinkel mit der in Abbildung 6.10 eingetragenen Standardabweichung. Für den Verlustwinkel von PEG 35000 standen nur kleine Massenkonzentrationen für die Auswertung zur Verfügung. Glycerinlösungen haben zum Vergleich einen Verlustwinkel von 90° . Die verwendeten Polyethylenglykollösungen mit verschiedenen Molekulargewichten können somit anhand des Verlustwinkels hinsichtlich ihrer Viskoelastizität klassifiziert werden.

6.2.2 Relaxationseffekte

Zur Bestimmung der Relaxationseffekte wurde zunächst die frequenzabhängige, dynamische Viskosität und Elastizität bestimmt. Mithilfe von QCM-Sensoren mit verschiedener Resonanzfrequenz wurden 10 % und 15 % PEG 35000-Lösungen in Impedanzmessungen untersucht. Die PEG-Lösung wurde dabei manuell in die QCM-Durchflusszellen pipettiert, um Störeinflüsse durch variierenden Fluiddruck im Fließsystem zu vermeiden. Die verwendeten Resonanzfrequenzen von 10 bis 111 MHz erlauben dabei eine Untersuchung der Polymerlösung über einen großen Frequenzbereich.

Abbildung 6.11 stellt die gemessene Frequenzabhängigkeit der dynamischen Viskosität und Elastizität dar. Dynamische Viskosität und Elastizität wurden dabei nach Beziehung 2.46 aus der Frequenz- und Dämpfungsänderung bestimmt. Das Verhalten gleicht dem berechneten Verlauf in Abbildung 6.12. Es bestätigt sich damit, dass die maxwellsche Theorie zur Beschreibung viskoelastischer PEG-Lösungen herangezogen werden kann.

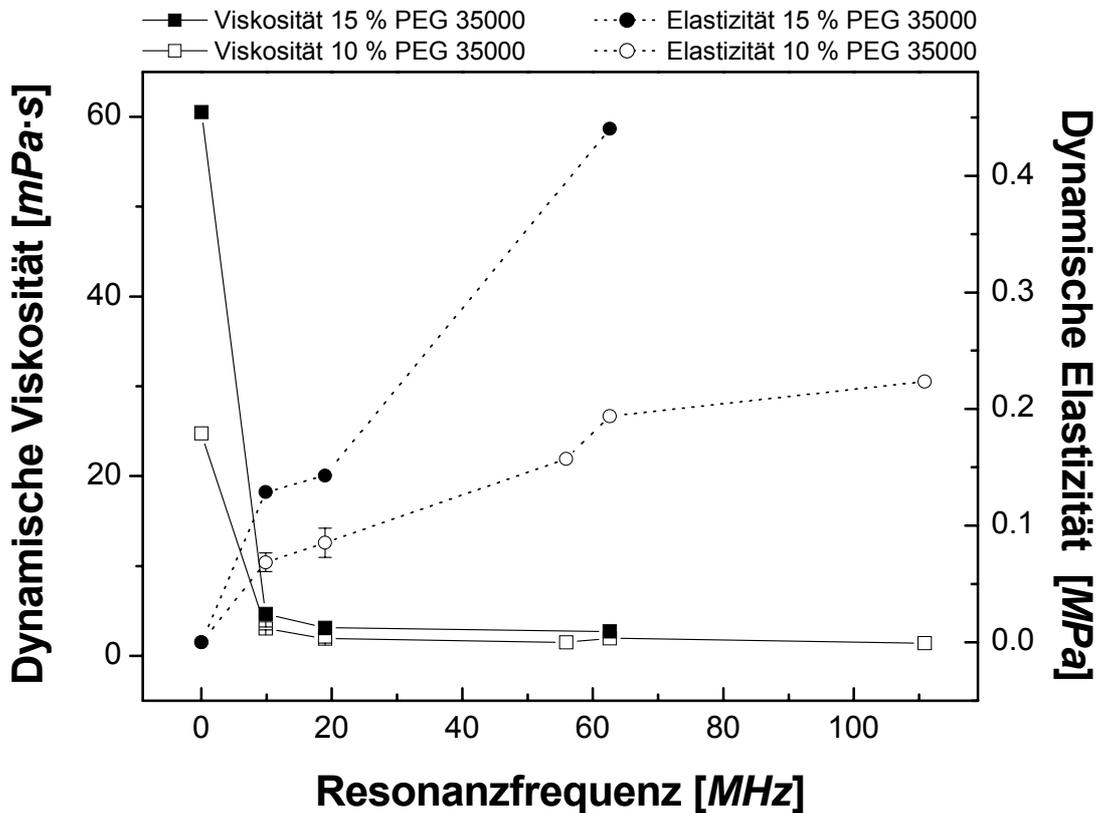


Abbildung 6.11: Gemessene Frequenzabhängigkeit der dynamischen Viskosität und Elastizität von 10% und 15% Polyethylenglykol 35000 auf QCM-Sensoren.

Mit den dargestellten Ergebnissen des 63 MHz QCM-Sensors wurde basierend auf der maxwellschen Theorie nach Gleichung 2.47 der Federmodul sowie die Relaxationszeitkonstante bestimmt. Zusätzlich zu den QCM-Messungen wurde ein 69 MHz SAW-Sensor in Übertragungsmessungen untersucht. Aus der gemessenen Dämpfungs- und Phasenänderung wurden nach Beziehung 2.56 die dynamische Viskosität und Elastizität bestimmt und daraus nach Beziehung 2.47 der Federmodul sowie die Relaxationszeitkonstante (Tabelle 6.3).

Die Ergebnisse stimmen für SAW und QCM-Sensoren gut überein. Es konnte jedoch jeweils nur ein Bereich angegeben werden, da die Ergebnisse verschiedener Sensoren stark streuten. Bei den Quarzresonatoren war überdies festzustellen, dass der Federmodul mit zunehmender Frequenz ebenfalls zunimmt. Dies sollte nach der maxwellschen Theorie nicht sein und kann als Indiz dafür interpretiert werden, dass die Theorie die Polymerflüssigkeit nicht genau beschreibt.

| Sensor [MHz] | Federmodul G_∞ [MPa] | Relaxationskonstante τ_s [ns] |
|-----------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| SAW 69 | 2 - 33 | 0,7 - 12 |
| QCM 63 | 4 - 38 | 0,7 - 6 |

Tabelle 6.3: Experimentell bestimmter Federmodul und Relaxationszeitkonstante für 10% Polyethylenglykol 35000.

Mason berichtet, dass das Maxwellmodell das Verhalten einer viskoelastischen Flüssigkeit qualitativ gut beschreibt. Für quantitative Aussagen ist jedoch oft eine Verteilung von Relaxationszeiten zu berücksichtigen [MAS65].

6.2.3 Modellrechnungen zum Maxwellmodell

Zum besseren Verständnis des im Abschnitt 2.4.5 vorgestellten Maxwellmodells sowie zum Vergleich mit den experimentellen Ergebnissen sollen hier Zusammenhänge zwischen den dynamischen, d.h. frequenzabhängige Elastizität und Viskosität, und den statischen Größen, Nullviskosität sowie Federmodul, dargestellt werden.

Abbildung 6.12 zeigt die Frequenzabhängigkeit der dynamischen Viskosität $\eta'(\omega)$ und Elastizität $G'(\omega)$ einer viskoelastischen Flüssigkeit bei zwei verschiedenen Nullviskositäten und konstant vorgegebenem Federmodul. Die Nullviskositäten entsprechen dabei den experimentell für 10 und 15% PEG 35000 gemessenen Viskositäten. Der vorgegebene Federmodul liegt im experimentell bestimmten Bereich.

Mit zunehmender Anregungsfrequenz ist ein deutlicher Abfall der dynamischen Viskosität zu beobachten. Ausgehend von der Nullviskosität bei der Frequenz Null erreicht sie nahezu den Viskositätswert von Wasser bei einer Arbeitsfrequenz von 100 MHz. Im Gegensatz dazu steigt die dynamische Elastizität mit zunehmender Anregungsfrequenz stark an. Ausgehend vom Wert Null bei der Frequenz Null erreicht sie bei hohen Frequenzen den Wert des Federmoduls. Im Grenzfall einer newtonschen Flüssigkeit entspricht die dynamische Viskosität der Nullviskosität. Die dynamische Elastizität verschwindet über den ganzen Frequenzbereich. Der Federmodul ist dann unendlich groß.

Diesen Sachverhalt veranschaulicht auch Abbildung 6.13, in welcher die theoretisch bestimmte dynamische Viskosität als Funktion der Nullviskosität betrachtet wird. Die angenommene Sensorfrequenz beträgt hier 69 MHz. Die Kurve mit der Steigung 1, entsprechend einem unendlichen Federmodul, beschreibt eine newtonsche Flüssigkeit. Mit abnehmendem Federmodul werden die Kurven zunehmend flacher und außerdem setzt die Abweichung von der Steigung einer newtonschen Flüssigkeit schon bei kleineren Nullviskositäten ein.

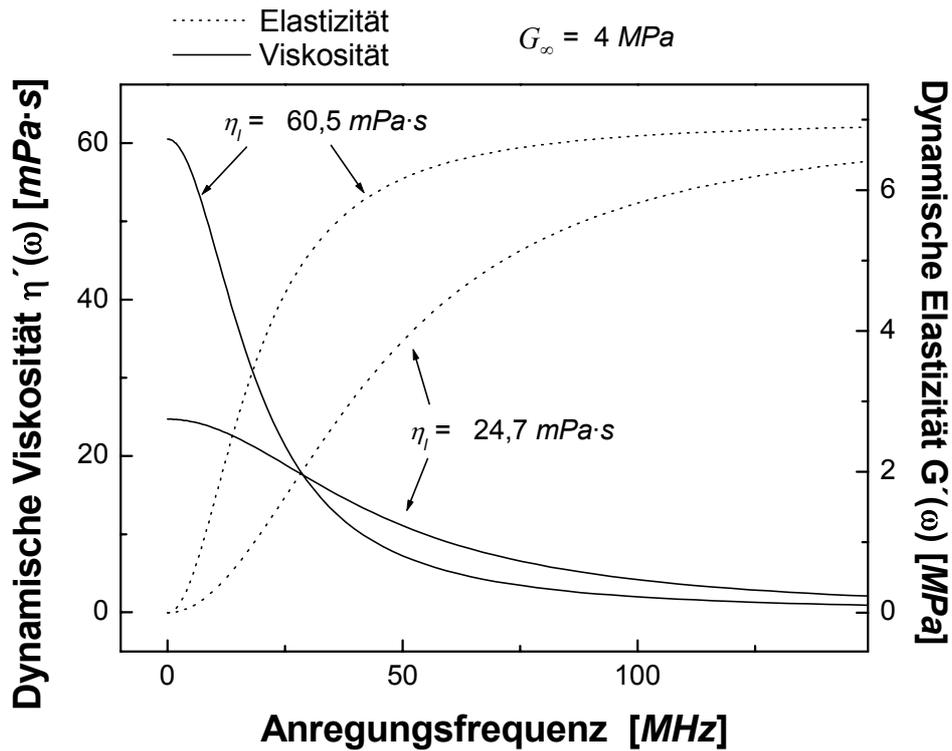


Abbildung 6.12: Theoretische Frequenzabhängigkeit der dynamischen Viskosität $\eta'(\omega)$ und Elastizität $G'(\omega)$ einer viskoelastischen Flüssigkeit bei zwei verschiedenen Nullviskositäten ($\eta_l=24,7$ sowie $60,5$ mPa·s) und konstantem Federmodul G_∞ (4 MPa).

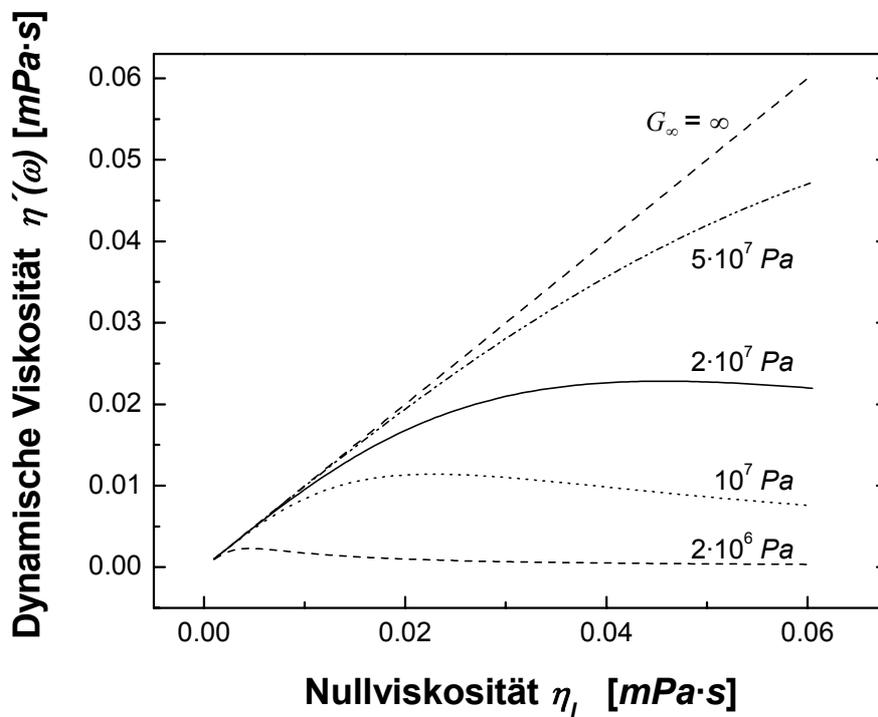


Abbildung 6.13: Theoretische Abhängigkeit der dynamischen Viskosität $\eta'(\omega)$ von der Nullviskosität bei verschiedenen Federmoduln.

Das Verhalten der Geschwindigkeits- und Dämpfungsänderung eines 69 MHz SAW-Sensors konnte basierend auf der maxwellschen Theorie nach Beziehung 2.55 modelliert werden. Die Messparameter sind in Abhängigkeit der statischen Flüssigkeitsparameter in Abbildung 6.14 dargestellt. Die Nullviskosität wurde im Bereich von 1 bis 60,5 $mPa\cdot s$ variiert, entsprechend den Viskositäten von Wasser, 1%, 2%, 5%, 10% und 15% Polyethylenglykol 35000, der Federmodul im Bereich von 0 bis ∞ .

Newtonsche Flüssigkeiten liegen in dieser Darstellung auf einer Geraden mit der Steigung 1, entsprechend einem unendlich großen Federmodul. Viskoelastische Flüssigkeiten liegen unterhalb dieser Geraden. Im Grafen sind verschiedene Kurven dargestellt, für die jeweils die Nullviskosität bzw. der Federmodul konstant gehalten wurde und der andere Parameter variiert wurde. Die konstant gehaltenen Werte sind im Grafen an den Enden der Kurven eingetragen. Dieses Verhalten gilt qualitativ auch für Schwingquarzsensoren.

Zunehmende Viskoelastizität, entsprechend einem kleineren Federmodul, zeigt sich in einer Verringerung der Geschwindigkeitsänderung; die Dämpfungsänderung nimmt zunächst zu und fällt dann aber ebenfalls ab.

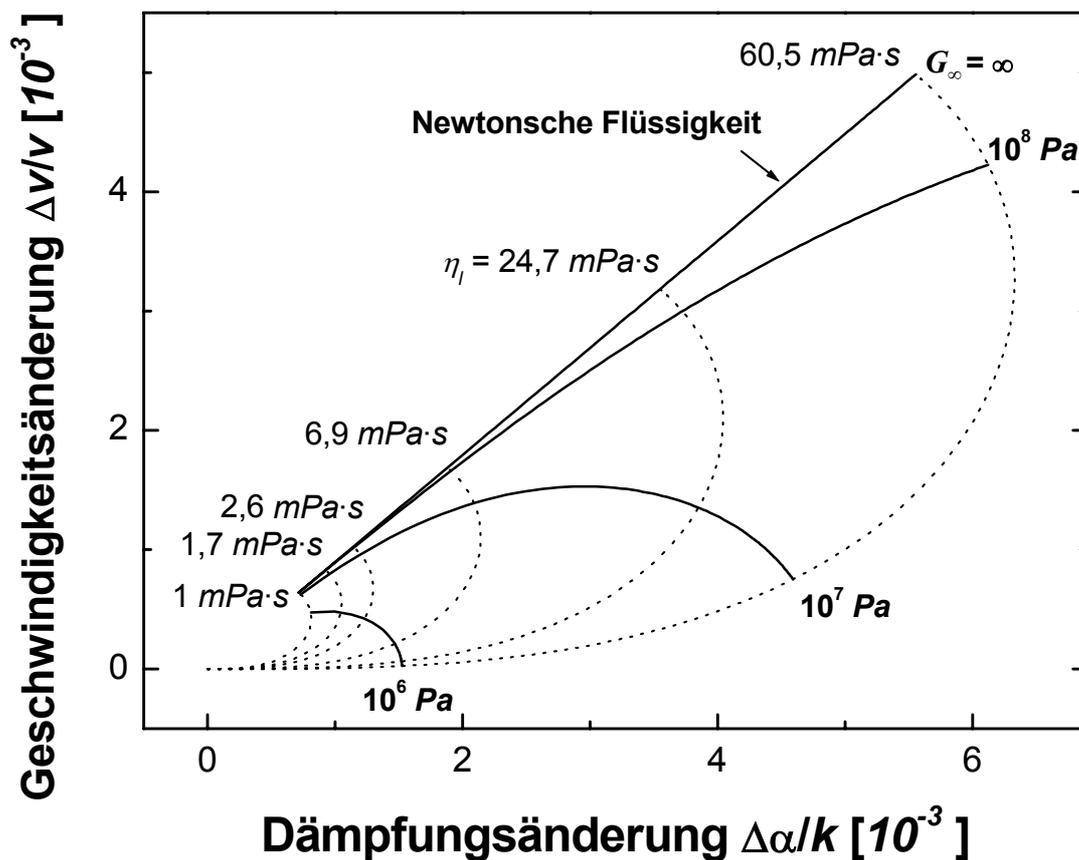


Abbildung 6.14: Simulation der Messparameter eines 69-MHz SAW-Sensors in Abhängigkeit der Nullviskosität sowie des Federmoduls von viskoelastischen Flüssigkeiten.

Bereits in Abschnitt 2.4 wurde gezeigt, dass die Eindringtiefe der evaneszenten Scherwelle in das Fluid den Messeffekt charakterisiert. Die Eindringtiefe kann für newtonsche und viskoelastische Flüssigkeiten nach den Beziehungen 2.34 und 2.31 berechnet werden.

Abbildung 6.15 stellt die Eindringtiefe in Abhängigkeit der Frequenz für Wasser sowie 10% Polyethylenglykol 35000 mit verschiedenen angenommenen Federmoduln dar. Es zeigt sich die erwartete Erniedrigung der Eindringtiefe mit zunehmender Frequenz und abnehmender Nullviskosität sowie abnehmendem Federmodul. Die Eindringtiefe in viskoelastische Fluide mit großer Nullviskosität kann bei hoher Frequenz sogar die Eindringtiefe in Wasser unterschreiten.

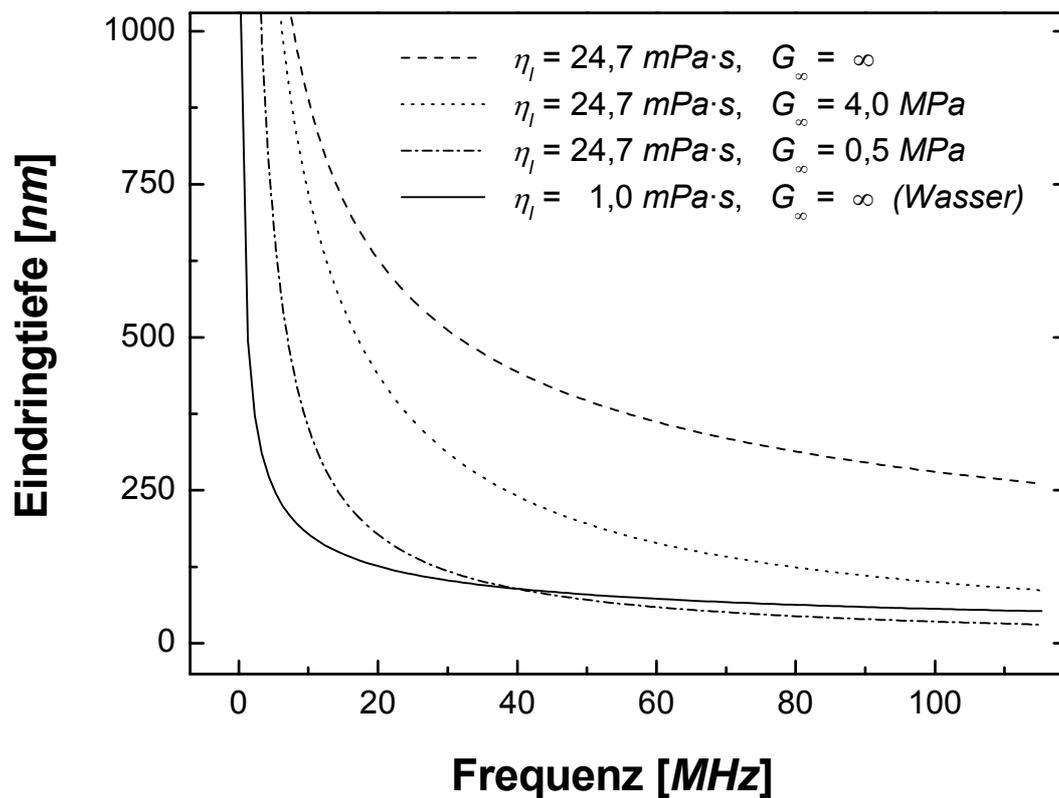


Abbildung 6.15: Eindringtiefe in Abhängigkeit der Frequenz für newtonsche ($G_\infty = \infty$) und viskoelastische Flüssigkeiten ($G_\infty \neq \infty$).

6.3 Diskussion

Newtonsche und viskoelastische Flüssigkeiten am Beispiel des Glycerin sowie wässriger Polyethylenglykollösungen konnten mithilfe der akustischen QCM- und SAW-Sensoren untersucht und charakterisiert werden. Bei leichten Abweichungen kann die lineare Abhängigkeit der Sensorsignale von $\sqrt{\rho\eta}$ newtonscher Fluide bestätigt werden. Ebenfalls bestätigt wurde die starke Empfindlichkeitszunahme bei höherer Arbeitsfrequenz.

Zur Auswertung viskoelastischer Flüssigkeiten muss neben der Frequenzänderung auch die Dämpfungsänderung herangezogen werden. Der Verlustwinkel kann als Parameter die Viskoelastizität des Fluids erfassen. Modellrechnungen zeigen, dass der Federmodul signifikant das viskoelastische Verhalten einer Flüssigkeit beeinflusst. Die Auswertung der QCM-Sensoren in einer Impedanzmessung erlaubt die quantitative Bestimmung der dynamischen Viskosität und Elastizität im Frequenzbereich von 10 bis 111 MHz. Aus diesen Ergebnissen konnte der Federmodul von 10 % PEG 35000 in der Größenordnung von 10 MPa sowie die Relaxationskonstante in der Größenordnung von 1 ns bestimmt werden. Die Ergebnisse konnten aufgrund der Schwankung der Messsignale nur in einem Bereich angegeben werden. Hochfrequente Schwingquarze bieten die Möglichkeit, Flüssigkeiten bei hohen Frequenzen im Grundton zu vermessen; dies ist vorteilhafter als die stärker gedämpften Obertöne niedrigfrequenter Schwingquarze zu vermessen.

Beide Sensortypen, QCM und SAW, lieferten gleichwertige Ergebnisse. Quarzresonatoren, insbesondere HFF-Quarze, haben aber den Nachteil, dass das Messsignal im Fluidsystem bei zunehmendem Fluiddruck, wegen seiner Druckempfindlichkeit verfälscht wird (Kapitel 5.2.2). SAW-Sensoren sind nicht druckempfindlich und können zudem mit Flüssigkeiten höherer Viskosität bedämpft werden. Viskositäten von über 60 mPa·s führen für die verwendeten Schwingquarzsensoren bei der benutzten Oszillatorschaltung zum Abbruch der Oszillation. Bei SAW-Sensoren ist dies erst bei 125 mPa·s der Fall [LEI98]. Natürlich ist es möglich, durch ein angepasstes Sensordesign etwa durch geringere Resonanzfrequenz oder kleinere effektive Messfläche Flüssigkeiten mit wesentlich größeren Viskositäten zu charakterisieren.

Oberflächenwellenbauelemente bieten aufgrund ihrer mechanischen Robustheit den Vorteil, eine Aufbautechnik als direkter Eintauchsensor zu erlauben und damit für den Einsatz in technischen Anwendungen wie z.B. in Motoren, der Prozesskontrolle, der Diagnostik oder der Lebensmitteltechnologie zur Untersuchung von Fluiden geeignet zu sein. Gegenüber konventionellen Rheometern [SCH95], die zumeist komplex aufgebaut sind und auf beweglichen mechanischen Teilen basieren, bieten akustische Sensoren folgende Vorteile:

- miniaturisierter, kompakter Aufbau
- keine mechanisch beweglichen Teile
- schnelle Messabfolge und damit Möglichkeit des „online-monitoring“
- einfache Messwertaufnahme über die Oszillatormessmethode
- Frequenzen im MHz-Bereich ermöglichen die Messung bei hohen Scherraten (10^{-8} s^{-1}), bei denen mit herkömmlichen Rheometern nicht mehr gemessen werden kann

Kapitel 7

Akustische Sensoren als Biosensoren

Die rasante Entwicklung der modernen Molekularbiologie und Gentechnologie ebenso wie der Wunsch nach schneller Vor-Ort-Diagnostik haben in den letzten Jahren eine große Nachfrage nach immer schnelleren und empfindlicheren Diagnostikmethoden entstehen lassen. Es sind sogar völlig neue Anwendungsgebiete, wie die Bestimmung von Bindungsaffinitäten biologisch komplementärer Bindungspartner oder das Screening kompletter kombinatorischer Genbibliotheken entstanden.

Akustische Sensoren erfüllen aufgrund ihres Funktionsprinzips viele dieser Anforderungen. Sie können bei Beschichtung mit geeigneten Rezeptorschichten direkt und hochspezifisch die Anlagerung biologischer Moleküle in Echtzeit detektieren. Aus diesem Grund können sie für den schnellen und empfindlichen Analytnachweis ebenso eingesetzt werden wie für die Affinitätsbestimmung oder moderne Screeningverfahren.

In diesem Kapitel wird der Einsatz akustischer Sensoren für verschiedene biosensorische Anwendungen vorgestellt. Anhand des Nachweises von Bakteriophagen wird das Potential von hochfrequenten Schwingquarzsensoren zur Optimierung der Sensorempfindlichkeit aufgezeigt. Die Möglichkeiten akustischer Sensoren beim Nachweis von Bakterien wird anhand des Nachweises von Legionellen erläutert. Überdies wird der Einsatz eines Schwingquarzsensors zur Klassifizierung von verdünnten Serumproben dargestellt. Die Anwendung der Echtzeitdetektion zur Bestimmung von Bindungsaffinitäten wird diskutiert. Bei diesen Untersuchungen wurde stark auf die praktische Anwendbarkeit geachtet. Darüber hinaus wurden Experimente mit biologischen Modellsystemen zur Klärung grundlegender Fragestellungen, wie etwa der Belegungsdichte, der Stabilität der Rezeptorschicht oder der akustischen Eindringtiefe in eine Antikörperschicht unternommen.

7.1 Nachweis von M13-Bakteriophagen

Der Bakteriophage M13 ist ein Virus der Familie Inoviridae. Ein Bakteriophage infiziert ausschließlich Bakterien, um sich selbst zu replizieren. Wegen der genauen Kenntnis des Aufbaus und seiner Funktionen ist der *E. coli* spezifische M13-Bakteriophage ein wichtiges Instrument der modernen Molekularbiologie. Mit seiner Hilfe ist es möglich rekombinante Antikörper herzustellen. Dabei sind schnelle Screeningverfahren nötig, um Antikörper mit einer geforderten Affinität zu gewinnen. Die Untersuchungen in diesem Kapitel sollen die prinzipielle Eignung akustischer Sensoren für solche Screeningverfahren zeigen.

Außerdem sind sie, wegen einer ähnlichen Masse als ein ungefährlicher Modellanalyt für humanpathogene Viren in biosensorischen Experimenten anzusehen.

M13-Phagen sind filamentös, etwa 900 nm lang und 9 nm dick, und haben ein Gewicht von etwa 20 MDa ($3 \cdot 10^{-17}$ g). Das häufigste Hüllprotein g8p liegt etwa 3000 mal vor und ist daher ein ideales Antigen für die Detektion von M13-Phagen (Abbildung 7.1). In dieser Arbeit wurden monoklonale anti-M13 Maus-Antikörper gegen g8p der Fa. Pharmacia Biotech verwendet.

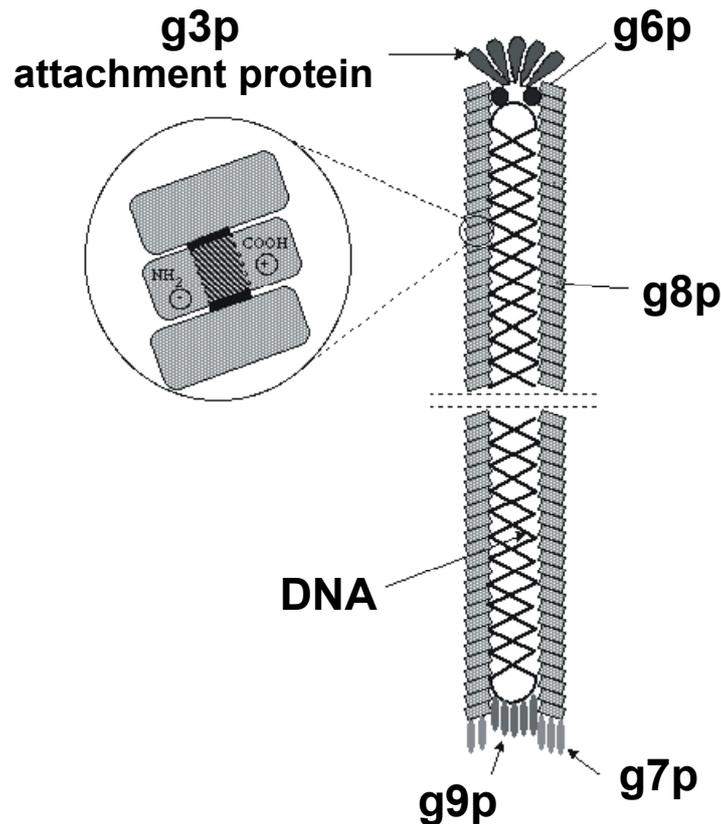


Abbildung 7.1: Aufbau des Bakteriophagen M13.

In diesem Abschnitt wird gezeigt, wie durch Verwendung höherfrequenter Sensorelemente die Nachweisempfindlichkeit akustischer Biosensoren optimiert werden kann.

7.1.1 Empfindlichkeitsoptimierung beim Phagennachweis

QCM-Sensoren wurden, wie in Abschnitt 4.2 erläutert, als Immunoassay zum Phagennachweis eingesetzt [UTT01]. Anti-M13 Antikörper (1 mg/ml) wurden mittels Crosslinker DSP auf den Sensoren immobilisiert (Abschnitt 4.3.2). Abbildung 7.2 zeigt ein Sensogramm – Sensorsignal über der Zeit – eines 39 MHz HFF-Schwingquarzsensors mit typischen Frequenzabfällen bei drei aufeinanderfolgenden Anlagerungen von M13-Phagen (10^9 pfu/ml)²⁰.

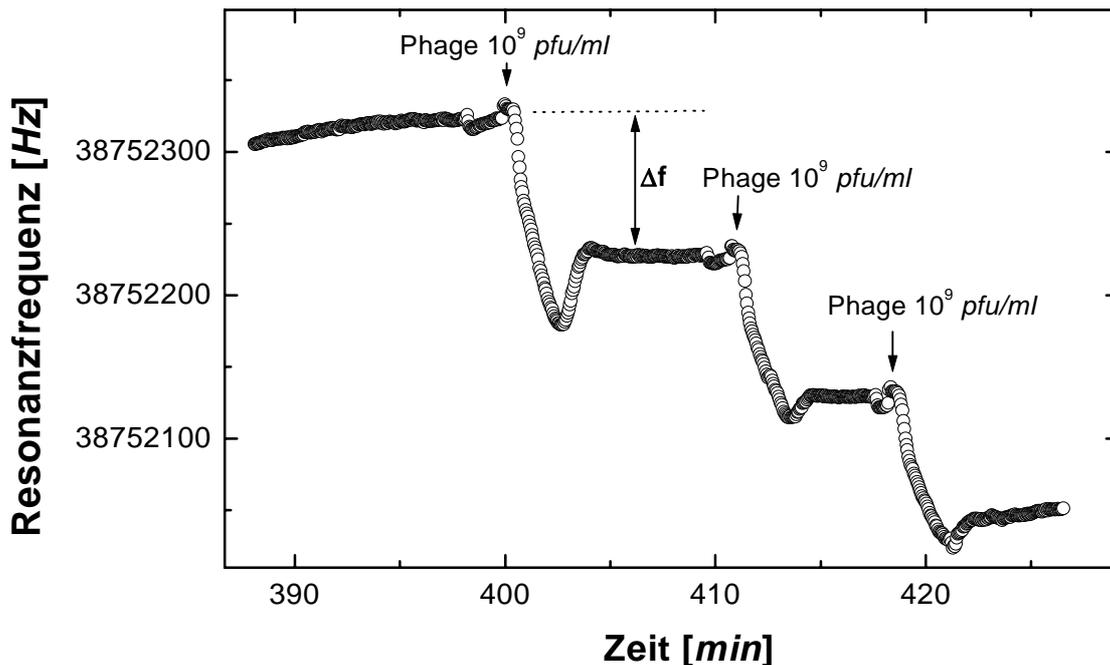


Abbildung 7.2: Sensogramm für den Nachweis von M13-Phagen auf einem 39-MHz HFF-Sensor.

Abbildung 7.3 verdeutlicht den Zuwachs an Empfindlichkeit bei Verwendung von QCM-Sensoren mit höherer Resonanzfrequenz anhand des Vergleichs der Sensorsignale von QCM-Sensoren mit verschiedenen Resonanzfrequenzen bei Zugabe von 10^9 pfu/ml M13-Phagen. Die Abhängigkeit der Höhe der Sensorsignale von der Resonanzfrequenz kann basierend auf Gleichung (2.42) aus der Beziehung $\Delta f \propto f_r^x$ durch die einfache Umformung $\ln(\Delta f) \propto x \cdot \ln(f_r)$ als Steigung x der linearen Regression in einem doppelt-logarithmischen Grafen gefunden werden, wie Abbildung 7.4 für die Messergebnisse der QCM-Sensoren veranschaulicht. Neben der Empfindlichkeitssteigerung ist in Abbildung 7.3 bei Sensoren mit höheren Resonanzfrequenzen auch eine Verlängerung der Adsorptionszeit zu beobachten. Die Flussrate wurde mit $45 \mu\text{l}/\text{min}$ und das Probenvolumen mit $100 \mu\text{l}$ für alle Sensoren jedoch gleich gewählt.

²⁰ pfu = plaque forming units; Die Konzentration von Phagen wird standardmäßig in Anzuchtverfahren bestimmt. Das Zählergebnis gibt eine Mindestanzahl an Phagen an.

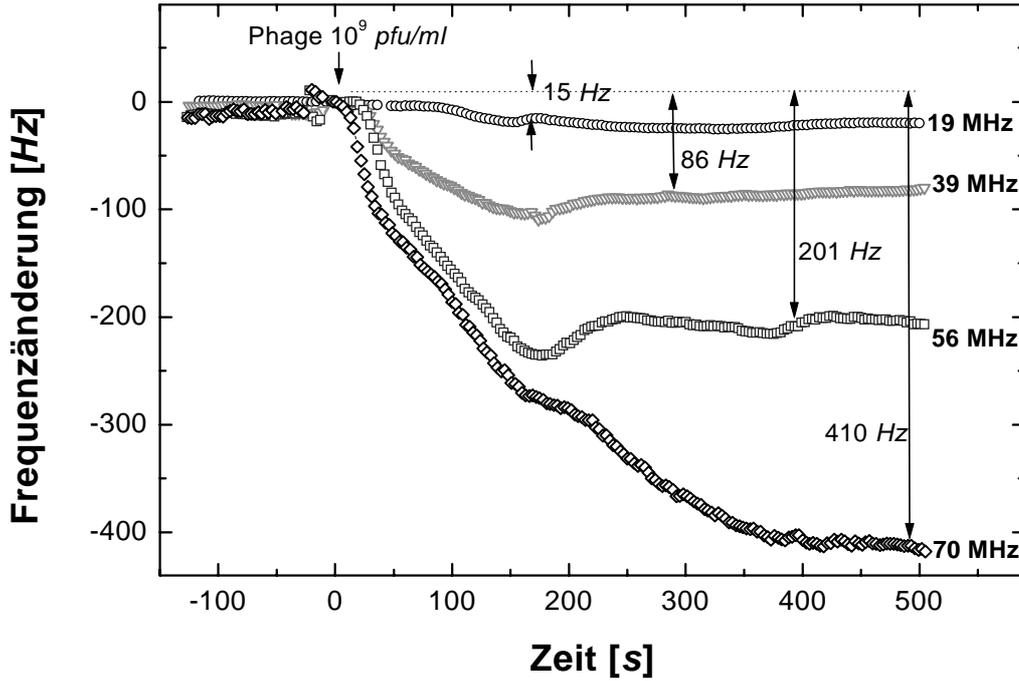


Abbildung 7.3: Nachweis von M13-Phagen (10⁹ pfu/ml) mit QCM-Sensoren verschiedener Sensorfrequenz.

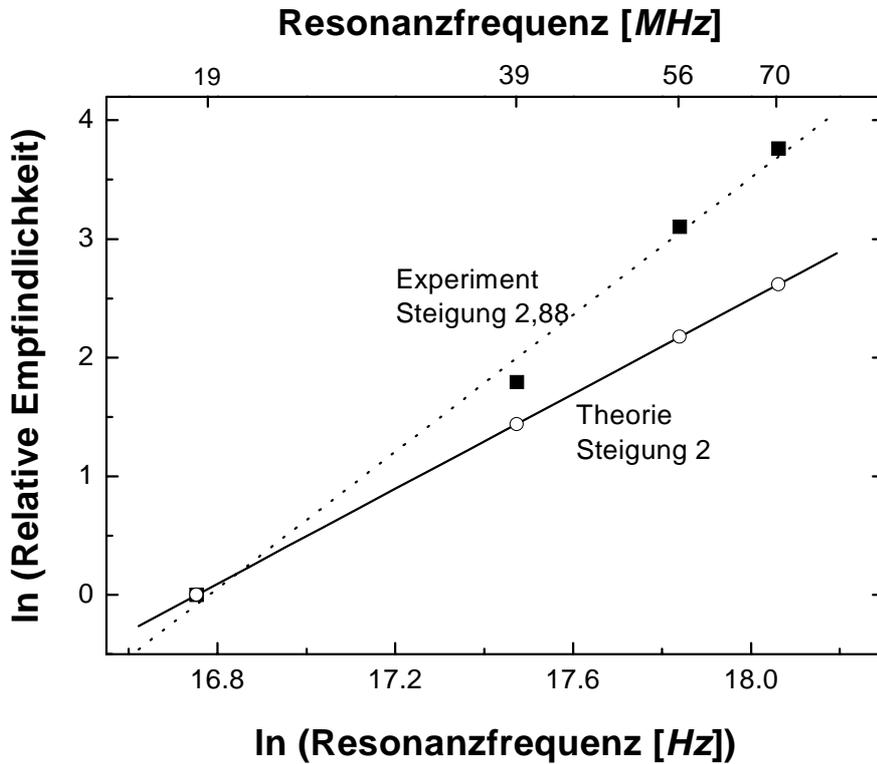


Abbildung 7.4: Doppelt-logarithmische Darstellung der theoretischen und experimentellen Abhängigkeit der Sensorempfindlichkeit von der Resonanzfrequenz. Der Exponent x der Frequenzabhängigkeit f_r^x wird als Steigung bestimmt. Die relativen Empfindlichkeiten beziehen sich auf den Standard 19MHz QCM-Sensor.

Abbildung 7.4 zeigt, dass für die Abhängigkeit der Sensorempfindlichkeit von der Resonanzfrequenz in diesem speziellen Fall des Phagennachweises gilt:

$$\Delta f \propto f_r^{2,9} \text{ (experimentell) sowie } \Delta f \propto f_r^2 \text{ (theoretisch).}$$

Die vollständigen Verdünnungskurven für 19, 39, 56 und 70 MHz QCM-Sensoren sind in Abbildung 7.5 zusammengestellt. Die Messwerte wurden mit einer sigmoidalen Ausgleichsfunktion (Gleichung 4.19) ausgewertet. Es zeigt sich zum einen, dass sich der Testmittelpunkt dieser Kurven bei höherer QCM-Sensorfrequenz zu kleineren Konzentrationen verschiebt (Tabelle 7.2), zum anderen ist über den ganzen Konzentrationsbereich ein Zuwachs an Signalhöhe bei höheren Resonanzfrequenzen zu beobachten.

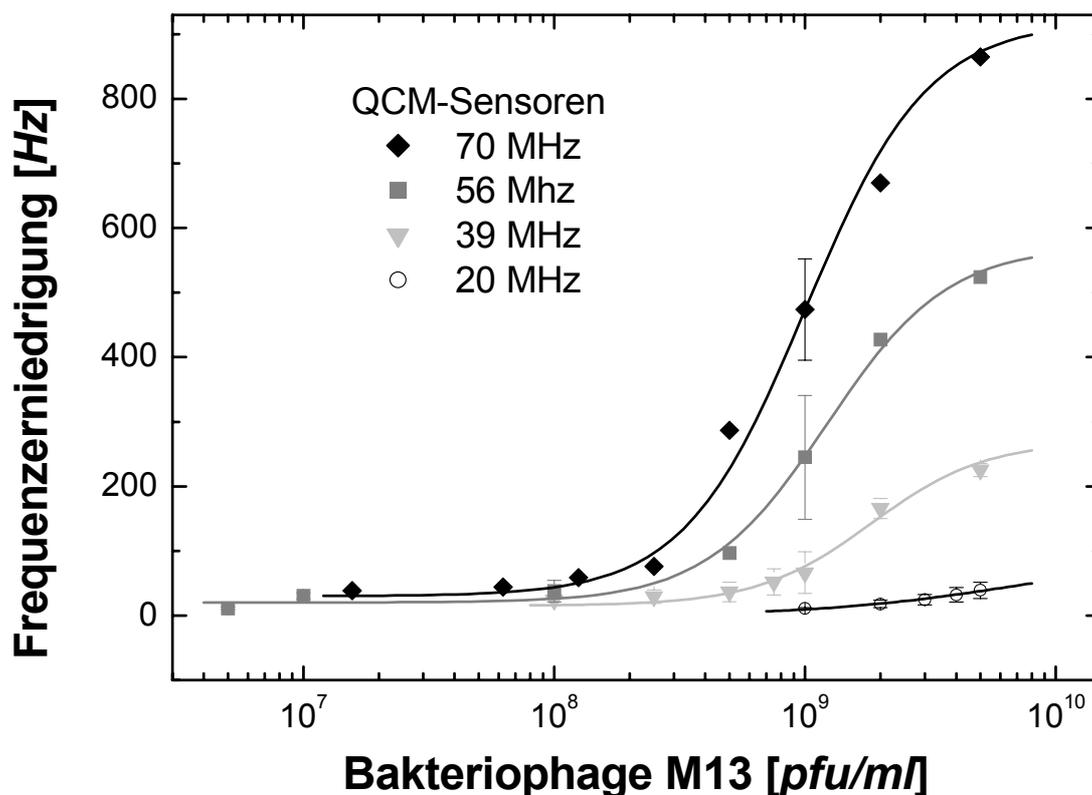


Abbildung 7.5: Verdünnungskurven für den Phagennachweis mit QCM-Sensoren.

Die Nachweisgrenze konnte durch die Verwendung von HFF-Sensoren auf $5 \cdot 10^6$ pfu/ml M13-Phagen für den 56 MHz HFF-Sensor verbessert werden. Dieser Wert ist um den Faktor 200 besser, als bei Standard 19 MHz QCM-Sensoren. Höhere Sensorfrequenzen erlauben aufgrund eines stark erhöhten Sensorrauschens keine weitere Verbesserung mehr (Tabelle 7.2).

Unter identischen Bedingungen wurde der Phagennachweis auch auf SAW-Sensoren durchgeführt. Abbildung 7.6 zeigt die resultierenden Verdünnungskurven. Die Kurven sind im Vergleich zu QCM-Sensoren zu höheren Konzentrationen verschoben, d.h. der Testmittelpunkt liegt bei höheren Konzentrationen (Tabelle 7.2).

Die SAW-Sensoren zeigen ein Rauschen der Sensorfrequenz, das ungefähr zwischen dem von 56 und 70 MHz QCM-Sensoren liegt. Beim Übergang von 69 MHz auf 102 MHz-Sensoren kann eine deutliche Empfindlichkeitssteigerung festgestellt werden. Die Nachweisgrenze konnte gegenüber Standard-QCM-Sensoren verbessert werden.

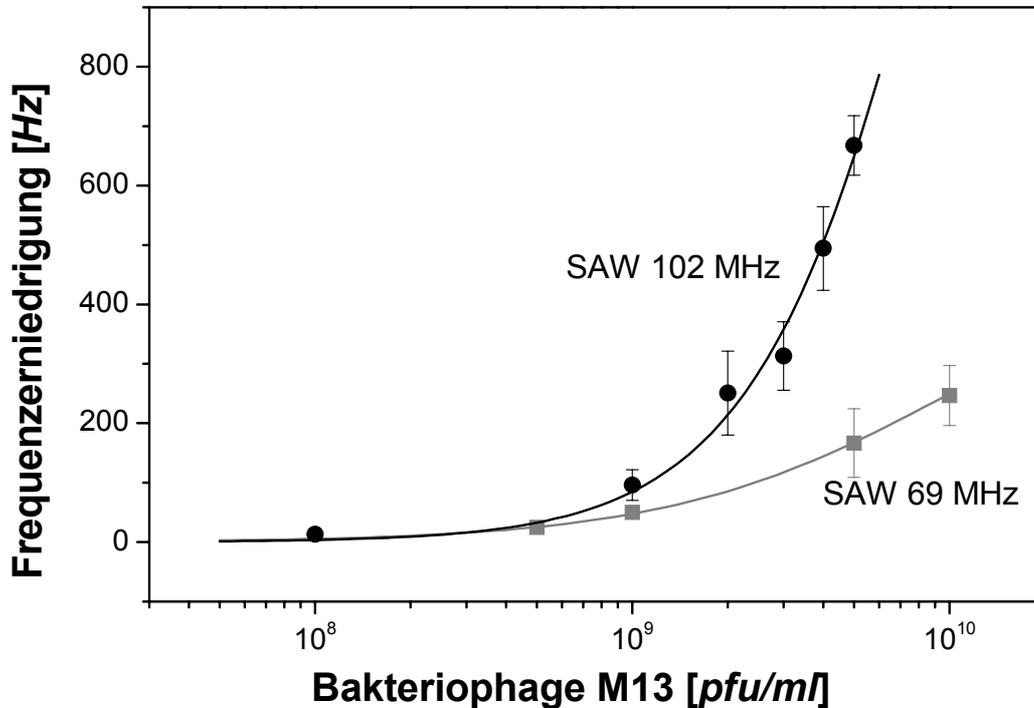


Abbildung 7.6: Verdünnungskurven für den Phagennachweis mit SAW-Sensoren.

7.1.2 Bewertung von SAW- und HFF-Sensoren

Die Empfindlichkeit der verwendeten Sensoren nimmt mit steigender Resonanzfrequenz stärker zu als theoretisch erwartet. Tabelle 7.1 gibt den Exponenten x der Resonanzfrequenz an mit dem die Empfindlichkeit steigt ($\Delta f \propto f_r^x$). Für SAW-Sensoren ist es schwierig, eine allgemeine Aussage zu treffen, da nur zwei Sensorfrequenzen zur Verfügung standen.

| Sensor | x_{exp} | x_{theo} |
|-------------------------|-----------------|------------|
| Oberflächenwellensensor | $2,55 \pm 0,29$ | 2,0 |
| Schwingquarzsensoren | $2,88 \pm 0,10$ | 2,0 |

Tabelle 7.1: Experimentell und theoretisch bestimmte Frequenzabhängigkeit $\Delta f \propto f_r^x$ der verwendeten Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren.

HFF-Sensoren zeigen gegenüber Standard-QCM- und SAW-Sensoren einen Testmittelpunkt bei kleinerer Konzentration. Dies wirkt sich günstig auf die Nachweisgrenze aus und resultiert wahrscheinlich aus dem für den Analyttransport sehr guten Diffusions-Konvektionsverhalten der Messkammern (Kapitel 5.3.1). Die relative Verschiebung der Testmittelpunkte und damit der kompletten Verdünnungskurven zueinander ist vermutlich auch die Ursache für die experimentell beobachtete höhere Sensorempfindlichkeit im Vergleich zur theoretischen Sensorempfindlichkeit. Die Empfindlichkeit wurde durch Vergleich der Sensorsignale bei einer bestimmten Analytkonzentration ausgewertet. Bei dieser weisen HFF-Sensoren mit Testmittelpunkten bei niedrigeren Konzentrationen bereits hohe Signale auf, während der Standard QCM-Sensor und die SAW-Sensoren ihre hohen Signale, wegen Testmittelpunkten bei höheren Konzentrationen erst später erreichen. Ein HFF-Sensor mit einer Resonanzfrequenz von 56 MHz erweist sich insofern als Optimum, weil er bei niedrigem Testmittelpunkt das beste Signal-Rauschverhältnis aufweist.

Es konnte gezeigt werden, dass durch die Verwendung von HFF-Schwingquarzen die Nachweisgrenze für die Phagendetektion gegenüber Standard-Schwingquarzen um den Faktor 200 gesteigert wird. Für die SAW-Sensoren war bei ähnlicher Sensitivität, aber höherem Rauschen nur eine Verbesserung um einen Faktor 10 zu beobachten. Tabelle 7.2 zeigt, dass die Nachweisgrenze stark abhängig vom Signal-Rausch-Verhalten der Sensoren ist.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | SAW | |
|--|------|------|-------|-------|------|------|
| | 19 | 39 | 56 | 70 | 69 | 102 |
| Mittelwert bei 10^9 pfu/ml [Hz] | 11,0 | 66,3 | 244,9 | 473,9 | 50 | 96 |
| Signal/Rauschen bei 10^9 pfu/ml | 14,6 | 41,9 | 95,3 | 40,1 | 13,9 | 20,1 |
| Testmittelpunkt [10^9 pfu/ml] | 5,5 | 1,8 | 1,2 | 1,0 | 10,3 | 12,1 |
| Nachweisgrenze für M13 [10^6 pfu/ml] | 1000 | 100 | 5 | 20 | 500 | 100 |

Tabelle 7.2: Eigenschaften der QCM- und SAW-Sensoren mit verschiedenen Resonanzfrequenzen beim Nachweis von M13-Phagen.

Die experimentellen Ergebnisse zeigen, dass trotz der Störeinflüsse, wie der transportlimitierten Anlagerung oder der begrenzten Eindringtiefe, bei Verwendung höherfrequenter Sensorelemente ein großer Empfindlichkeitszuwachs zu verzeichnen ist. Im Falle des Analyttransports wirkt sich gerade bei HFF-Sensoren die im Vergleich zu Standard-QCM- und SAW-Sensoren kleinere Messzelle positiv auf die Phagenanlagerung und damit auf den Messeffekt aus. Nach Kapitel 7.3.2 beträgt selbst bei einer Sensorfrequenz von 100 MHz die Eindringtiefe in biologische Materie noch etwa 60 nm und ist damit wesentlich größer als eine Monolage von Rezeptorantikörpern sowie eine Lage von angelagerten filamentösen M13-Bakteriophagen, vorausgesetzt letztere lagern sich längsseits an die

Oberfläche. Ein Empfindlichkeitsverlust aufgrund der begrenzten Eindringtiefe ist deshalb beim Nachweis von filamentösen Phagen nicht zu erwarten.

Der Vergleich der Detektionsgrenze für den Phagennachweis eines 56 MHz HFF-Schwingquarzes mit Literaturwerten zeigt, dass die Nachweisgrenzen in etablierten ELISA-Systemen (Abschnitt 4.4.1) mit optischer Absorptionsmessung [KOC00] und Chemilumineszenzmessung [YAC02] in der gleichen Größenordnung liegen. Dies ist bereits als Vorteil für HFF-Sensoren zu werten, denn besitzen wegen ihres kompakten und kostengünstigen Aufbaus sowie der Möglichkeit in Echtzeit zu detektieren weitere Vorteile. Bisherige Standard-QCM-Systeme konnten meist nicht die Empfindlichkeit optischer Systeme erreichen.

7.2 Viskoelastisches Verhalten von Antikörperschichten

7.2.1 Antikörpermultilayer

Zur Untersuchung des viskoelastischen Verhaltens von Antikörperschichten auf akustischen Sensoren wurden Multilayer-Antikörperschichten auf 19-MHz Standard- und 63-MHz HFF-Schwingquarzsensoren in Impedanzmessungen untersucht.

Antikörper werden aus Plasmazellen verschiedener Wirtstiere gewonnen und tragen deshalb charakteristische antigene Strukturen dieser Wirtstiere. Anti-IgG-Antikörper reagieren spezifisch gegen alle Antikörper einer gewissen Tierspezies. Wie alle Immunglobuline G besitzen anti-IgG-Antikörper eine Masse von 150 *kDa*. Zur Realisierung eines Antikörpermultilayers wurden anti-goat-Antikörper (entwickelt in rabbit) sowie anti-rabbit-Antikörper (entwickelt in goat) eingesetzt.

Nach der kovalenten Immobilisierung von rabbit-IgG (1,3 *mg/ml*) über die DSP-Methode wurden abwechselnd anti-rabbit goat-IgG (4,0 *mg/ml*) und anti-goat rabbit-IgG (2,2 *mg/ml*) angelagert (Kapitel 4.5.2). Diese sukzessive Anlagerung wurde durch Pipettieren der Antikörperstammlosung in die QCM-Durchflusszellen und anschließendes Inkubieren für eine halbe Stunde bei Raumtemperatur sowie anschließendes Spülen mit PBS-Puffer, realisiert. Auf diese Weise wurden 20 Antikörperschichten auf der Quarzoberfläche hergestellt.

Abbildung 7.7 zeigt schematisch den Antikörpermultilayer auf der Goldelektrode der Schwingquarzsensoren.



Abbildung 7.7: Multilayer-Antikörperschichten auf Schwingquarzsensoren.

Die elektrische Konduktanz der Schwingquarze wurde nach jedem Schritt mit einem Netzwerkanalysator aufgezeichnet (Kapitel 4.3.1). Abbildung 7.8 zeigt die mit einem 62-MHz HFF-Sensor gemessenen Konduktanzkurven.

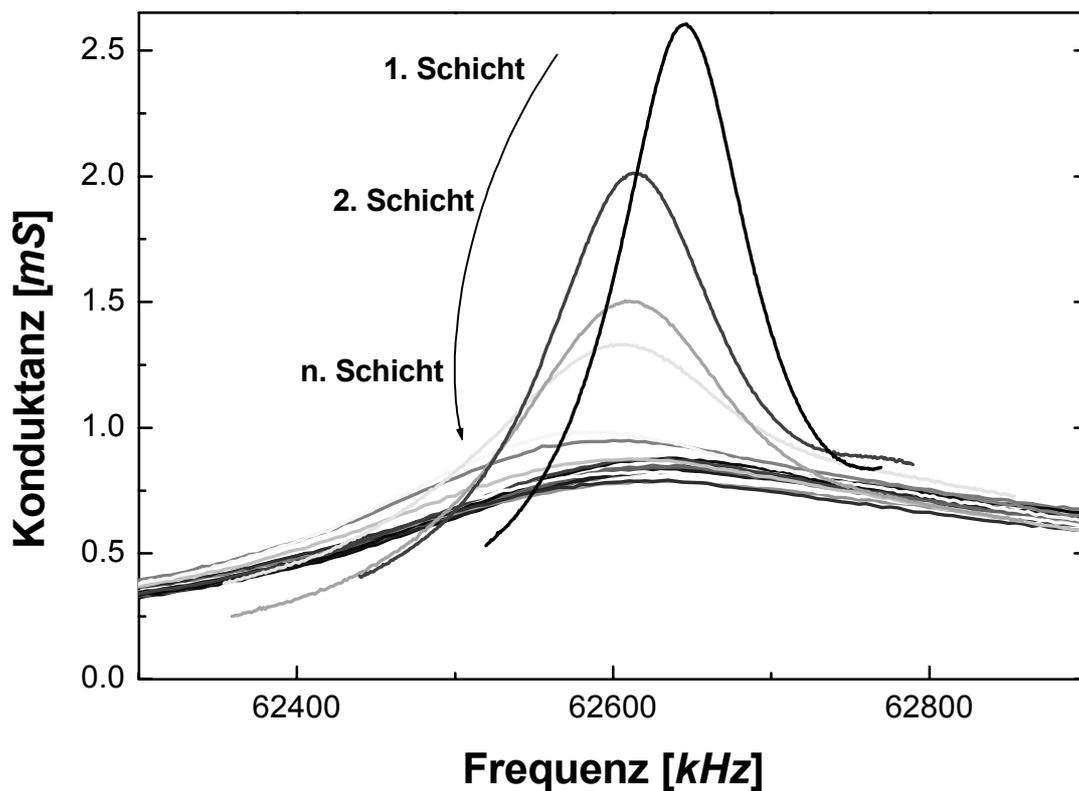


Abbildung 7.8: Konduktanzkurven sukzessiv aufgebrachteter Antikörperschichten auf einem 62-MHz HFF-Schwingquarz.

Die Änderung der Resonanzfrequenz sowie die Änderung der Halbwertsbreite, welche der Bedämpfung des Sensors entspricht wurden für den 19 MHz und den 63 MHz-Sensor ausgewertet. Diese Parameter sind in Abbildung 7.9 und 7.10 gegen die Schichthöhe aufgetragen.

Die Schichthöhe einer Antikörperschicht wurde dabei zu durchschnittlich 21 *nm* abgeschätzt, was etwas mehr als einer Monolage entspricht. Zur Abschätzung wurde für die Resonanzfrequenzänderungen der ersten Schichten auf einem 19 MHz-Sensor eine Ausgleichsfunktion, nach der Formel von Sauerbrey für die Anlagerung einer idealen elastischen Schicht (Gleichung 2.41), angepasst. Die Dichte von Antikörperschichten wurde dabei zu 930 kg/m^3 angenommen (Kugel mit Radius 4 *nm* und Gewicht von 150 *kDa*).

Die Ausgleichsfunktion nach Sauerbrey beschreibt für den 19 MHz-Sensor das Messsignal sehr gut (gestrichelte Linie in Abbildung 7.9). Allerdings ist durch die Zunahme der Halbwertsbreite auch eine Dämpfung des Sensors zu beobachten, die nach dem Sauerbreymodell nicht vorhanden sein sollte. Dies ist bereits als Indiz für das viskoelastische Verhalten von Antikörperschichten zu werten.

Offensichtlich wird das viskoelastische Verhalten bei Betrachtung der Sensorsignale des 63 MHz-Sensors (Abbildung 7.10). Die Resonanzfrequenz steigt nur bis zu einer gewissen Schichtdicke linear an und fällt dann sogar wieder leicht ab. Ähnlich verhält es sich mit der Dämpfung (Halbwertsbreite). Sie steigt bis zu einer gewissen Schichtdicke linear an und bleibt dann konstant.

Dieses Verhalten ist eindeutig auf die viskoelastischen Eigenschaften der Antikörperschichten zurückzuführen, denn eine Ausgleichsfunktion nach Gleichung 2.41 für viskoelastische Schichtsysteme beschreibt dieses Verhalten des 63 MHz Sensors innerhalb der Messwertschwankungen hinreichend gut (Abbildung 7.10: durchgezogene Linie für die Frequenzänderung, gepunktete Linie für die Dämpfungsänderung). Für den 19 MHz-Sensor ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit dem Sauerbreymodell bei leichten Abweichungen für große Schichthöhen. Im Gegensatz zum Sauerbreymodell können mit dem viskoelastischen Modell auch die Dämpfungseffekte beschrieben werden (Abbildung 7.9).

Bei vorgegebener Schichtdicke von 930 kg/m^3 ergibt sich der komplexe Elastizitätsmodul $\hat{G} = G' + iG''$ als Fitparameter der Ausgleichsfunktion nach Gleichung 2.41. Aufgrund der Messwertschwankungen und leichter Abweichungen der Fitparameter für die Resonanzfrequenz und die Halbwertsbreite kann jedoch nur folgender Bereich als Ergebnis angegeben werden:

$$\begin{aligned} G' &= 2 \cdot 10^5 \frac{N}{m^2} - 5 \cdot 10^5 \frac{N}{m^2} \\ G'' &= 2 \cdot 10^6 \frac{N}{m^2} - 1 \cdot 10^7 \frac{N}{m^2} \end{aligned} \quad (7.1)$$

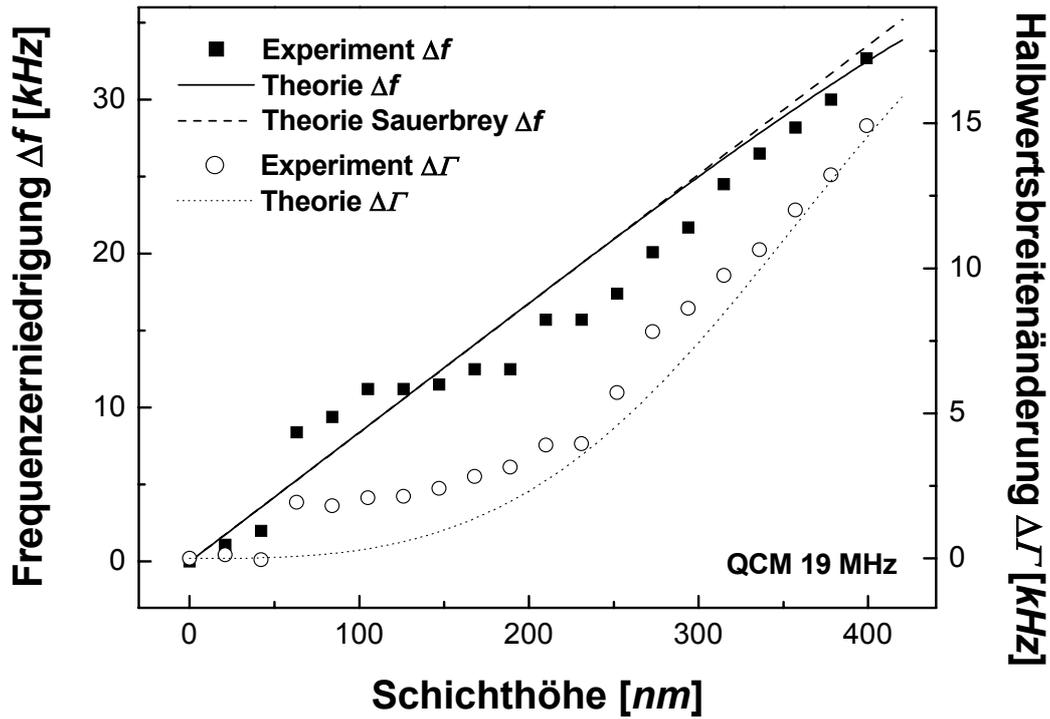


Abbildung 7.9: Charakteristische Änderung der Resonanzfrequenz und der Halbwertsbreite eines 19 MHz-Schwingquarzsensors. Die Höhe einer Antikörperschicht beträgt 21 nm.

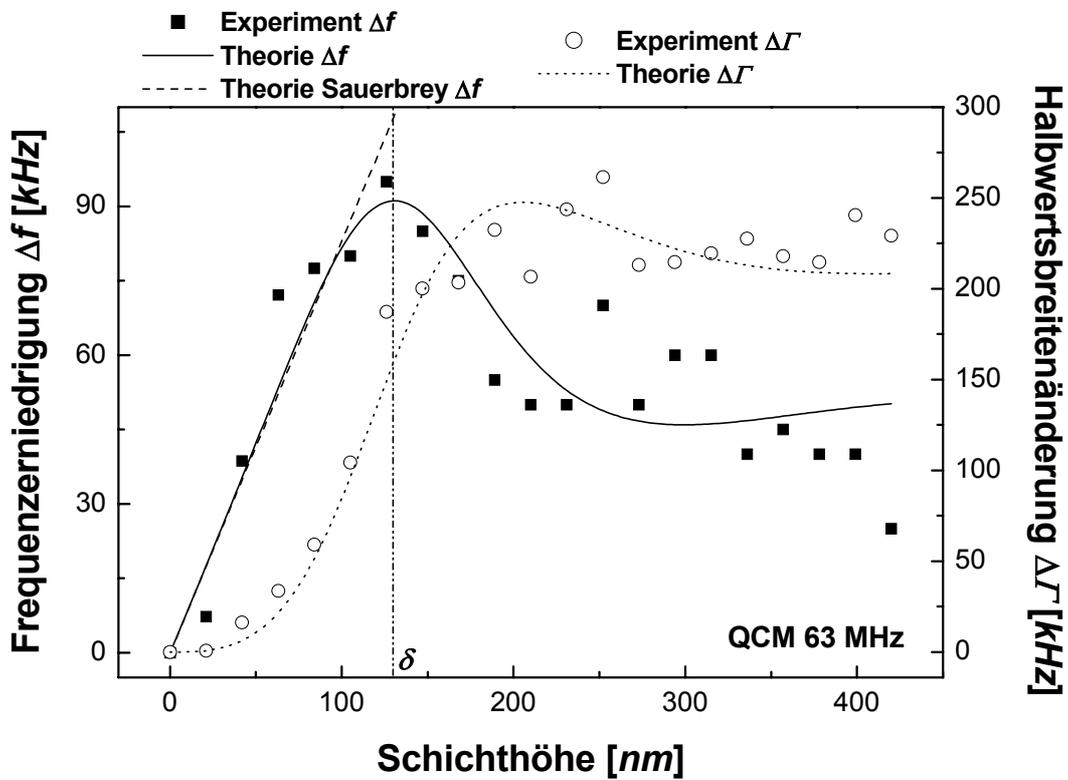


Abbildung 7.10: Charakteristische Änderung der Resonanzfrequenz und der Halbwertsbreite eines 63 MHz-Schwingquarzsensors. Die Höhe einer Antikörperschicht beträgt 21 nm. Die Eindringtiefe δ ist als senkrechte Linie eingetragen.

7.2.2 Eindringtiefe für Antikörperschichten

Die Kenntnis des komplexen Elastizitätsmoduls erlaubt es, die Eindringtiefe der evaneszenten akustischen Welle in die viskoelastische Antikörperschicht nach Gleichung 2.24 zu bestimmen. Abbildung 7.11 zeigt eine minimale und eine maximale Eindringtiefe entsprechend der unteren und oberen Schranke für den Elastizitätsmodul aus Gleichung (7.1).

Die Berechnung der Eindringtiefe wurde für einen größeren Frequenzbereich durchgeführt, so dass diese Ergebnisse auch für die anderen QCM- und SAW-Sensoren anwendbar sind. Dabei gilt im Falle einer Antikörperschicht für SAW-Sensoren $\rho_{korr} \approx \rho_s$ (Gleichung 2.19).

Die Rechnung liefert eine Eindringtiefe von 750 nm für 19 MHz-Sensoren; für 63 MHz-Sensoren ergibt sich eine Eindringtiefe von 130 nm. Innerhalb der Eindringtiefe verhält sich das Sensorsignal annähernd linear zur angelagerten Masse. Erst außerhalb der Eindringtiefe machen sich viskoelastische Effekte deutlich bemerkbar. Für die untersuchten Schichtdicken ist dies nur bei hochfrequenten 63-MHz Sensoren der Fall.

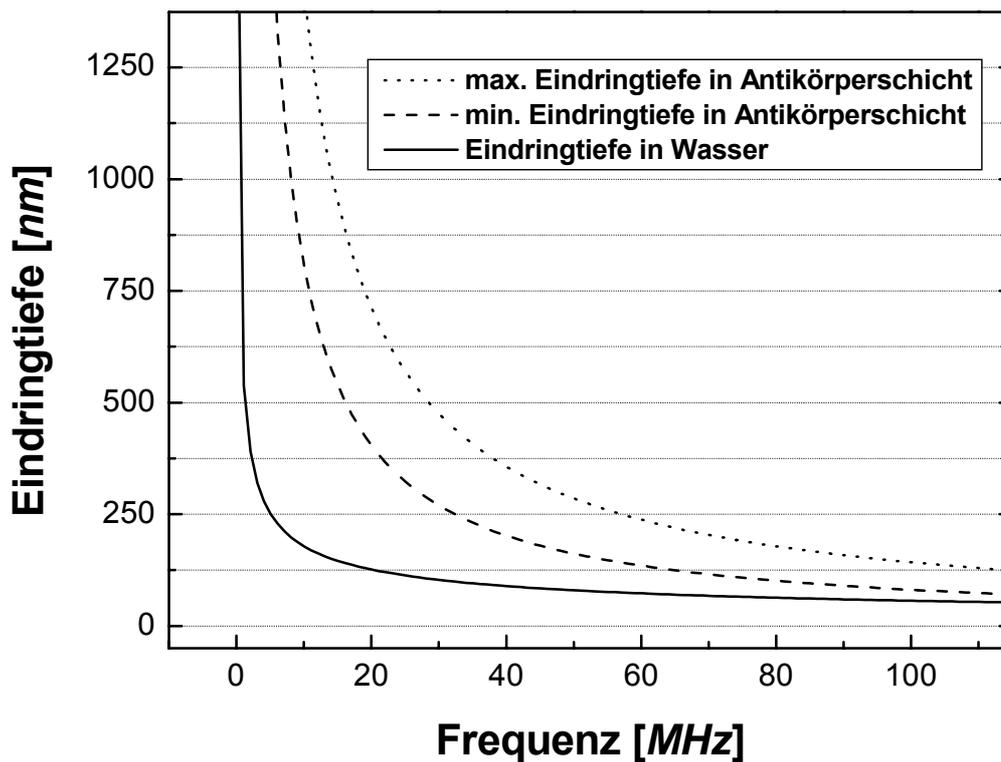


Abbildung 7.11: Eindringtiefe der evaneszenten akustischen Welle in die viskoelastische Antikörperschicht sowie zum Vergleich in Wasser.

7.2.3 Bewertung

Die Ergebnisse der Untersuchung von Antikörpermultilayerschichten zeigen sehr gut die Auswirkungen viskoelastischer Effekte auf den Messeffekt. Eine Charakterisierung des anliegenden Mediums über die Eindringtiefe hinaus ist nicht möglich.

Für die in der Biosensorik üblichen Monolayerschichten ist die Problematik der Eindringtiefe selbst bei hohen Sensorfrequenzen von beispielsweise 100 MHz nicht limitierend. Problematisch werden diese Effekte allerdings, insbesondere bei hohen Sensorfrequenzen, beim Nachweis sehr großer Analyten, wie Viren (Abschnitt 7.1) und vor allem Bakterien (Abschnitt 7.4). Die Wahl der Sensorfrequenz stellt hier einen Kompromiss zwischen der Empfindlichkeitszunahme aufgrund einer höheren Massenempfindlichkeit und der Empfindlichkeitsabnahme aufgrund einer geringeren Eindringtiefe dar.

Die erzielten Ergebnisse stimmen gut mit den Ergebnissen von Schickfus et al. überein, die Antikörpermultilayer auf einem 150 MHz SAW-Sensor untersuchten. Sie beschreiben zusätzlich, wie das Auftreten der viskoelastischen Effekte als Ausbreitung einer Lovewelle (Kapitel 2.2.2) im Antikörperfilm mit sehr niedriger Ausbreitungsgeschwindigkeit interpretiert werden kann [SCH98]. Rickert et al. berichten in Übereinstimmung mit dieser Arbeit, dass für Standard-QCM-Sensoren bei biologischen Schichtdicken bis zu einigen 100 nm keine viskoelastischen Effekte zu beobachten sind [RIC97].

7.3 Belegungsdichte und Stabilität der Rezeptorschicht

Die Untersuchung der Belegungsdichte und der Stabilität der Rezeptorschicht wird hier am Beispiel der Anlagerung von anti-IgG an Antikörper-beschichtete Sensoren erläutert.

7.3.1 Belegungsdichte

Das Sensogramm in Abbildung 7.12 zeigt die Anlagerung von anti-Maus IgG (1:100 in Trägerlösung verdünnt) an einen Mausantikörper-beschichteten 102 MHz SAW-Sensor. Die Frequenzabsenkungen nach Zugabe der anti-IgG-Lösung werden als Messsignal ausgewertet. Nach der dritten Zugabe ist die Frequenzänderung bereits deutlich geringer. Dies ist auf die starke Belegung der Rezeptorschicht und der damit verbundenen geringen Zahl an freien Rezeptorplätzen zurückzuführen. Die gesamte, annähernd maximale, Frequenzabsenkung beträgt 3874 Hz.

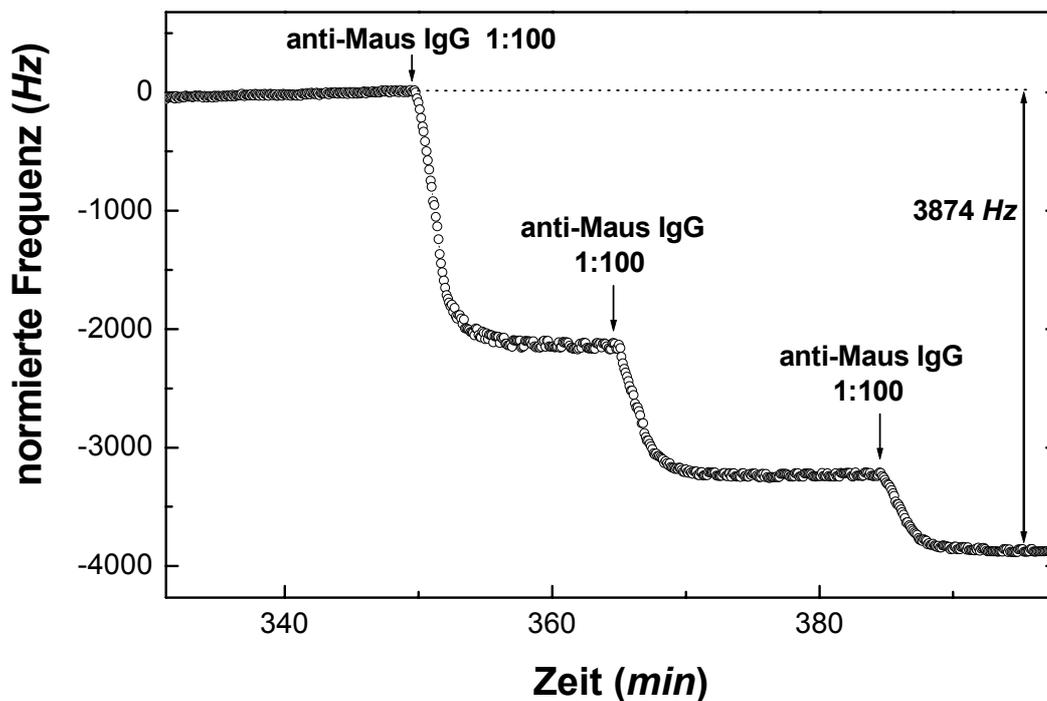


Abbildung 7.12: Sensogramm der Anlagerung von anti-IgG an einen Antikörper-beschichteten 102 MHz SAW-Sensor. Das Frequenznullniveau liegt bei 102004550 Hz.

Ahluwalia zeigte mithilfe optischer Untersuchungsmethoden, dass bei der kovalenten Antikörperbeschichtung maximale Belegungsdichten von 5 ng/mm^2 zu erreichen sind. Dies entspricht einer Monolage von Antikörpern, wobei jedes Molekül etwa eine Fläche von 50 nm^2 – entsprechend einem mittleren Radius von etwa 4 nm – einnimmt [AHL91].

Beim Nachweis von anti-IgG können bei Belegung mit einer Monolage ebenfalls höchstens 5 ng/mm^2 erreicht werden. Kombiniert man die Massenempfindlichkeiten aus den

Tabellen 2.1 und 2.3 mit den Beziehungen 2.42 und 2.58 so führt dies zu den Sensorsignalen bei maximaler Antikörperbelegung. Tabelle 7.3 gibt neben den absoluten Sensorsignalen auch das Signal-Rausch-Verhältnis der verschiedenen Sensoren bei maximaler Antikörperbelegung an.

| Sensor [MHz] | QCM | | | | | SAW | | |
|---|-----|-----|------|------|------|------|------|------|
| | 10 | 19 | 39 | 56 | 63 | 70 | 69 | 102 |
| Signal bei Maximalbelegung [Hz] | 113 | 409 | 1725 | 3564 | 4547 | 5561 | 1657 | 4688 |
| Signal/Rauschen bei Maximalbelegung [I] | 377 | 511 | 1078 | 1371 | 892 | 471 | 281 | 451 |

Tabelle 7.3: Sensorsignal bei maximaler Antikörperbelegung der verwendeten QCM- und SAW-Sensoren.

Die absoluten Sensorsignale und somit die Empfindlichkeit der Sensoren steigt mit der Resonanzfrequenz. Zieht man jedoch das Rauschen mit in die Betrachtungen ein, so ergibt sich das beste Signal-Rausch-Verhältnis wie für den im vorher vorgestellten Phagennachweis bei 56 MHz HFF-Sensoren. Die in Abbildung 7.12 gefundene Frequenzerniedrigung von 3874 Hz entspricht rechnerisch einer 85%-igen Oberflächenbelegung des verwendeten 102 MHz SAW-Sensors.

Diese Betrachtungen gelten in guter Näherung auch für die Detektion anderer Makroproteine.

7.3.2 Stabilität der Rezeptorschicht

Die Stabilität der Rezeptorschicht wurde hinsichtlich der Regeneration durch chaotrope Substanzen bzw. durch extreme pH-Werte untersucht. Die Regeneration einer chemischen Bindung ist in der Regel nur durch eine Denaturierung der Rezeptorschicht und einem damit einhergehenden Sensitivitätsabfall durchführbar. Für die hier dargestellten Messreihen wurden 19 MHz Standardschwingquarze mit der DSP-Methode kovalent mit anti-ASF Mausantikörper (1 mg/ml) beschichtet. Diese aktivierten Sensoren wurden sukzessive mit anti-Maus Antikörpern beaufschlagt und anschließend regeneriert. Abbildung 7.13 zeigt die dabei beobachtbare Abnahme des Sensorsignals in Abhängigkeit des verwendeten Regenerationsmittels. Die Sensorsignale wurden auf das erste Sensorsignal ohne Regeneration normiert.

Bei Verwendung des Regenerationsmittels 6 M Urea (pH 2,7) bleibt nach 20 durchgeführten Regenerationen eine Restempfindlichkeit von 46% der Ausgangsempfindlichkeit erhalten. Für die beiden anderen Regenerationsmittel 1 M Borat (pH 12,3) und 4 M Thiocyanat sind dies jedoch nur maximal 10%. Allerdings unterscheidet sich für diese beiden Substanzen bei etwa gleichem Anfangs- und Endwert das exponentielle Abklingverhalten.

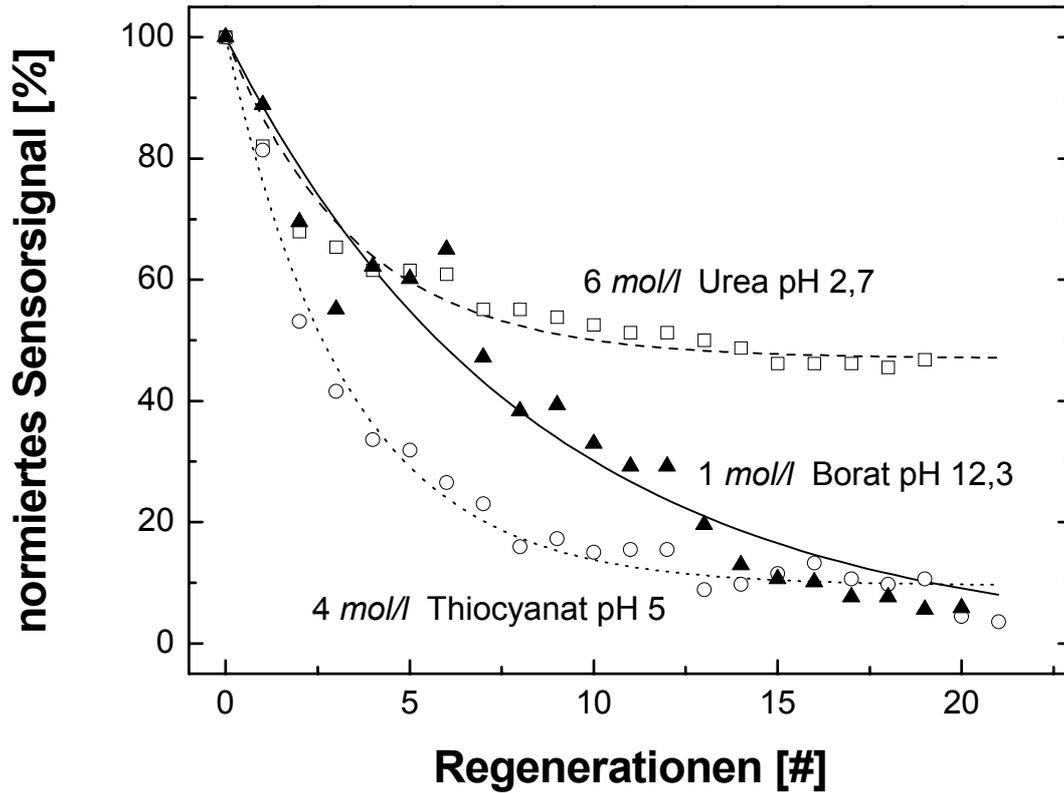


Abbildung 7.13: Exponentieller Empfindlichkeitsverlust für den Nachweis von anti-IgG (10 $\mu\text{g/ml}$) nach 20 Regenerationen der Rezeptorschicht.

Eine geeignete Wahl des Regenerationsmittels für das jeweilige verwendete Antigen-Antikörpersystem ist, wie diese Ergebnisse zeigen, unerlässlich. Ein Verlust an Sensorempfindlichkeit muss jedoch bei mehrmaliger Regeneration in jedem Fall in Kauf genommen werden.

7.4 Bakteriennachweis mit akustischen Sensoren

Die gram-negative Bakterienspezies *Legionella pneumophila* (dt. Legionellen) ist ein gefährlicher Pneumonieerreger für den Menschen. Legionellen sind stäbchenförmige Bakterien mit einer Länge von etwa 2–3 μm und einer Dicke von 0,3 – 0,8 μm . Das Trockengewicht einer Legionelle beträgt etwa 0,2 pg [ÖTT96]. Abbildung 7.14 zeigt *L. pneumophila*-Bakterien eingetrocknet auf einer rauhen Goldoberfläche (oben) und im Flüssigkeitsfilm auf einem Glasobjektträger (unten).

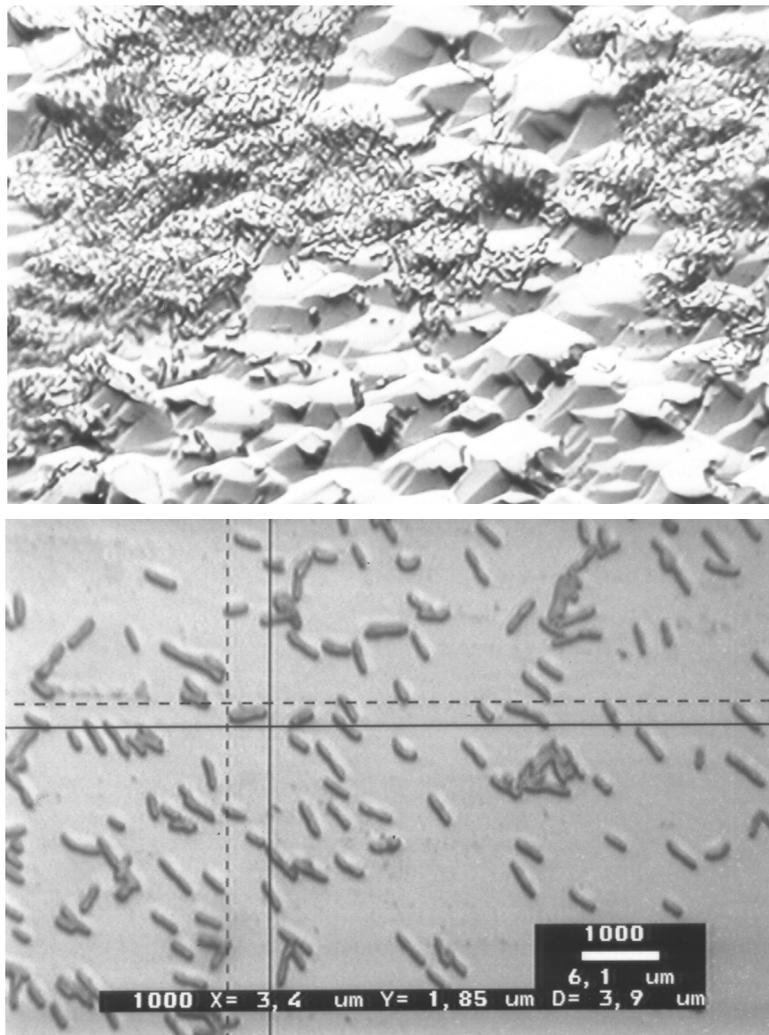


Abbildung 7.14: *Legionella pneumophila*-Bakterien eingetrocknet auf einer rauhen Goldoberfläche (oben, Vergrößerung 500-fach) und im Flüssigkeitsfilm auf einem Glasobjektträger (unten, Vergrößerung 1000-fach).

Eine Infektion mit Legionellen, auch Legionärskrankheit genannt, verläuft häufig letal. Legionellen wurden erst spät entdeckt, da sie kaum auf herkömmlichen Nährmedien wachsen und nur schlecht anfärbbar sind [EHR95]. Eine Infektion erfolgt durch Inhalation erregerrhaltiger Aerosole, beispielsweise aus Duschköpfen oder Klimaanlage. Da häufig

Leitungsrohre und Wassertanks technischer Warmwassersysteme bei Temperaturen unter 45 °C optimale Lebensbedingungen bieten, treten Legionelleninfektionen oft in großen Gebäudekomplexen auf. Der Standardnachweis erfolgt mikrobiologisch durch langwierige Kultivierungsmethoden.

Die Mikroskopaufnahmen in Abbildung 7.14 zeigen, dass aufgrund der Größe der Legionellen keine homogene Verteilung zu erwarten ist, vielmehr sind Agglomerate zu beobachten. Wegen der Größe dieses Analyten ist zudem eine starke Abhängigkeit vom Konvektionsverhalten im Flüssigkeitssystem zu erwarten.

Die Bakterienspezies *Legionella pneumophila* hat Abmessungen im μm -Bereich und ist deshalb ein für die Mikrowägung sehr großer Analyt. Die Masse dieses Analyten kann, wegen der intrazellulären Flüssigkeit nicht als starr angenommen werden. Die Auswirkungen auf den Messeffekt sollen in diesem Abschnitt untersucht werden. Der immunologische Nachweis erfolgt durch anti-*Legionella* Antikörper der Fa. Biogenesis, die sich gegen Legionellen der Serogruppe 1 richten.

7.4.1 Nachweis von *Legionella pneumophila*

Für den immunologischen Nachweis wurden anti-*Legionella* Antikörper (1 mg/ml) auf der Oberfläche eines 19 MHz Standardschwingquarzes und eines 39 MHz-HFF-Quarzes immobilisiert. Abbildung 7.15 zeigt die Sensorreaktionen auf Zugabe einer Bakterienkonzentration von 10^8 Zellen/ml.

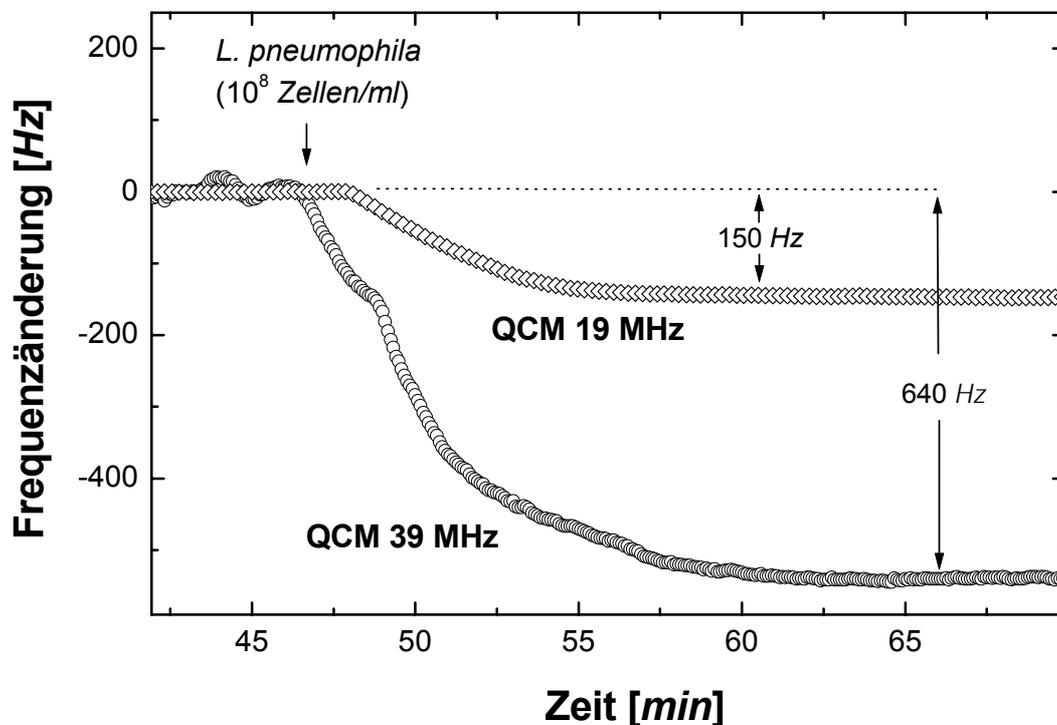


Abbildung 7.15: Nachweis von *Legionella*-Bakterien mit einem 19 MHz-Standardschwingquarz und einem 39 MHz-HFF-Schwingquarzsensoren.

Es konnten für den 19 und 39 MHz-Sensor Signale von 150 Hz bzw. 640 Hz beobachtet werden. Eine Konzentration von $10^6 - 10^7$ Zellen/ml stellt in etwa die Nachweisgrenze dar.

7.4.2 Betrachtung der Sensorempfindlichkeit

Neben der reinen Transducerempfindlichkeit (Abbildung 2.14) muss in die Empfindlichkeitsbetrachtung für große Analyten der Stofftransport an die Sensoroberfläche sowie die Eindringtiefe miteinbezogen werden. Der Stofftransport an die Sensoroberfläche lässt sich analog Abschnitt 5.3.1 mit dem Lévêqueschen Modell beschreiben, wobei für Bakterien eine Diffusionskonstante von $5 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$ angenommen wird [ADA95]. Die Eindringtiefe der akustischen Welle für die Bakteriendetektion kann in guter Näherung mit der maximalen Eindringtiefe für Antikörperschichten abgeschätzt werden (Abbildung 7.11).

Die Ergebnisse der Berechnungen sind in Tabelle 7.4 zusammengestellt. Alle Ergebnisse sind auf das Ergebnis des 19 MHz-Sensors normiert. Die relative theoretische Empfindlichkeit wird hier als Produkt der Massenempfindlichkeit, der Belegungsdichte und der Eindringtiefe abgeschätzt.

Eine Zunahme der Empfindlichkeit mit höherer Resonanzfrequenz ergibt sich rechnerisch, allerdings nicht in dem Maße wie die Massenempfindlichkeit zunimmt. Die rechnerischen Werte liefern nur eine ungefähre Aussage, wie der Unterschied von 50% zwischen theoretischer und experimenteller Empfindlichkeit für den 39 MHz HFF-Sensor zeigt

Rechnerisch ergibt sich das beste Signal-Rausch-Verhältnis für den 39 MHz-Sensor. Das Rauschen der einzelnen Sensoren ist in Tabelle 4.1 angegeben.

| Sensor | QCM | HFF | HFF | SAW |
|---------------------------------|--------|--------|--------|---------|
| | 19 MHz | 39 MHz | 56 MHz | 102 MHz |
| Experim. Empfindlichkeit | 1 | 4,3 | - | - |
| Massenempfindlichkeit | 1 | 4,22 | 8,72 | 11,47 |
| Belegungsdichte | 1 | 3,03 | 2,48 | 1,22 |
| Eindringtiefe | 1 | 0,49 | 0,34 | 0,18 |
| Theoret. Empfindlichkeit | 1 | 6,2 | 7,3 | 2,5 |
| Signal/Rauschen | 1 | 3,1 | 2,3 | 0,2 |

Tabelle 7.4: Empfindlichkeitsbetrachtung für den Nachweis von Bakterien mit akustischen Sensoren. Alle Werte sind auf den Wert für 19 MHz-Sensoren normiert.

Am fehlerbehaftetsten dürfte in diesen Berechnungen die Bestimmung der Belegungsdichte sein, da diese experimentell nur sehr schwer zu überprüfen ist. Aus diesen Ausführungen ist jedoch die Komplexität des Nachweises großer Analyten mit akustischen Sensoren ersichtlich.

7.4.3 Bewertung des Bakteriennachweises

Diese Betrachtungen zeigen, dass die Erhöhung der Transducerfrequenz beim Bakteriennachweis zwar die Massenempfindlichkeit erhöht, andererseits aber die Eindringtiefe reduziert und damit wieder zu einer Empfindlichkeitseinbuße führt. Außerdem ist darauf zu achten, die Zellgeometrie, insbesondere die Zellhöhe, klein zu halten, um eine große Massenbelegung zu erhalten. Bei den hier verwendeten Sensoren sind all diese Faktoren für HFF-Sensoren mit 39 und 56 MHz am Besten erfüllt.

Dennoch reichen die beobachteten Nachweisgrenzen mit etwa $10^6 - 10^7$ Zellen/ml bei weitem nicht aus, um analytisch interessante und vor allem gesetzlich vorgeschriebene Grenzwerte von beispielsweise 10^3 Zellen/l für Legionellen zu erreichen. Dies ist nur in Kombination mit anderen Techniken zu erreichen.

Unter den akustischen Sensortypen sind die Biegeschwinger (FPW, Kapitel 2.2.3), eine spezielle Form der Plattenmodensensoren, besonders für den Nachweis großer Analyte geeignet, da sie eine große Eindringtiefe mit guter Empfindlichkeit kombinieren. Die Detektionsgrenze für den Bakteriennachweis mit FPW-Sensoren (*Escherichia Coli*) liegt bei etwa $10^5 - 10^6$ Zellen/ml [RUF98].

Mit einem optischen Chemilumineszenzmesssystem konnte in einem ELISA-Test eine Nachweisgrenze von 10^5 Zellen/ml erzielt werden [YAC02].

Wilkins et al. berichtet von einer enormen Verbesserung der Nachweisgrenze durch Kombination der Immunfiltrationstechnik und einem ELISA-Test mit amperometrischem Messsystem [WIL99]. Eine Detektionsgrenze von 50 Zellen/ml für *Escherichia Coli* und *Salomonella* konnte auf diese Weise erzielt werden.

7.5 Bestimmung von Bindungsaffinitäten

Akustische Sensoren sind in der Lage, Affinitätsreaktionen an ihrer Oberfläche aufgrund der Änderung der akustischen Grenzflächenimpedanz sehr empfindlich in Realzeit zu detektieren. Diese Eigenschaft ermöglicht es, die Bindungsaffinität der komplementären Antigene und Antikörper zu bestimmen, denn die hohe Abtastrate der Messung erlaubt die intrinsische Bindungskinetik zu erfassen. Eine notwendige Voraussetzung dafür ist, wie in Kapitel 4.7 gezeigt wurde, dass die Anlagerung des Analyten nicht transportlimitiert ist. Für den kleinen, verwendeten Analyten Virusprotein 73 mit einem Gewicht von 73 kDa liegt sicher keine Transportlimitierung vor. Zur Bestimmung der Bindungsaffinität wird die experimentell bestimmte Assoziations- und Desorptionsphase des Messsignals mithilfe der Beziehungen 4.15 und 4.16 ausgewertet.

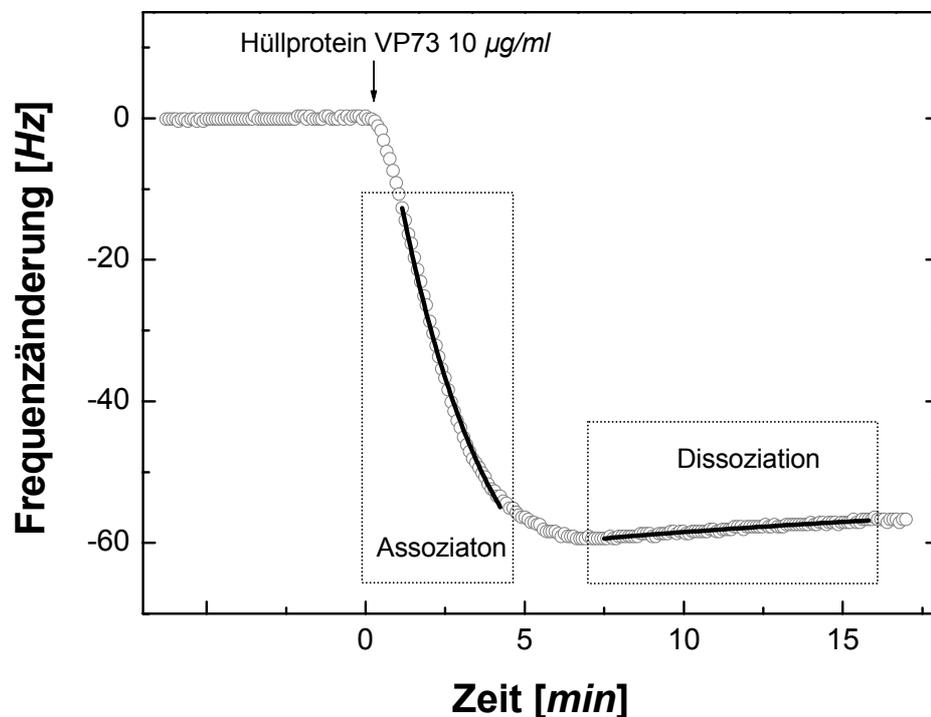


Abbildung 7.16: Bestimmung der Bindungsaffinität aus der Reaktionskinetik.

Die Anlagerung von 10 $\mu\text{g/ml}$ Hüllprotein VP73 des Erregers der afrikanischen Schweinepest (Abschnitt 4.1.2) an einen mit anti-VP73 (1 mg/ml) beschichteten Standard 19-MHz-Sensor ist in Abbildung 7.16 dargestellt. Aus der Assoziations- und Dissoziationsphase konnte die Assoziations- und Dissoziationsrate bestimmt werden (Tabelle 7.5, QCM Kinetik). Nach der Beziehung 4.11 ergibt sich die Dissoziationskonstante als Quotient dieser beiden Größen.

Alternativ kann die Dissoziationskonstante auch aus einer Verdünnungsreihe (Langmuir-Adsorptionsisotherme oder logarithmische Verdünnungskurve) bestimmt werden (Abschnitt 4.7.2). Der Nachweis des Hüllproteins VP73 in verschiedenen Konzentrationen in PBS-Puffer mit Standard 19 MHz-Sensoren ist in Abbildung 7.17 dargestellt [UTT98]. Für die dargestellte Ausgleichsfunktion nach Gleichung 4.12 ergibt sich ein Testmittel-

punkt von $18 \mu\text{g/ml}$ und ein maximales Frequenzsignal von 883 Hz . Der Testmittelpunkt entspricht in diesem Fall der Dissoziationskonstante und ist in Tabelle 7.5 (QCM Langmuir) angegeben.

Die über die Kinetik und die Verdünnungsreihe bestimmten Dissoziationskonstanten weichen etwa um 30% voneinander ab.

Im Zusammenhang mit der Affinitätsbestimmung ist es nicht erforderlich, die Empfindlichkeit durch Verwendung von HFF- oder SAW-Sensoren zu steigern. Der verwendete Sensor sollte jedoch rausch- und driftarm sein, deshalb wurde der Standard 19 MHz-Sensor für die Untersuchungen verwendet. Prinzipiell sind jedoch auch die anderen Sensoren für diese Untersuchungen geeignet.

Für diese Art von Untersuchungen wurden mittlere Konzentrationen verwendet, um ein gutes Sensorsignal weit über der Detektionsgrenze zu erhalten. Die Reaktion darf zudem nicht transportlimitiert sein, was für größere schwerere Analyten ein Problem darstellen kann. In der Theorie sollte die Bindungsaffinität unabhängig von der Konzentration sein, tatsächlich wurden jedoch Schwankungen bis zu 100% beobachtet.

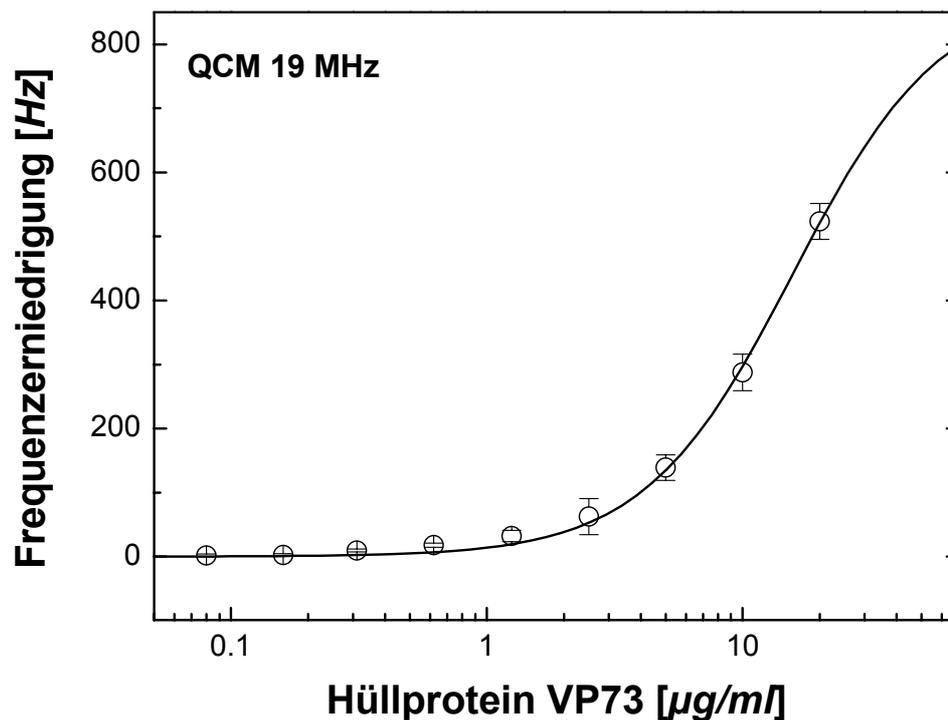


Abbildung 7.17: Verdünnungskurve für den Nachweis von VP73-Hüllprotein mit Standard 19-MHz-Schwingquarzsensoren.

Für die bestimmten Bindungsaffinitäten standen Vergleichswerte aus Untersuchungen mit der Oberflächenplasmonenresonanz SPR (Kapitel 4.6.2) zur Verfügung [KÖS98]. Die Dissoziationskonstante wurde ebenfalls aus der Bindungskinetik sowie aus der Langmuir-Verdünnungskurve bestimmt (Tabelle 7.5, SPR Kinetik bzw. SPR Langmuir).

| Sensor | QCM | QCM | SPR | SPR |
|---|---------|----------|---------|----------|
| | Kinetik | Langmuir | Kinetik | Langmuir |
| Assoziationsrate [$10^4 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$] | 1,02 | - | 1,4 | - |
| Dissoziationsrate [10^{-3} s^{-1}] | 1,7 | - | 1,3 | - |
| Dissoziationskonstante [10^{-7} mol/l] | 1,7 | 2,5 | 0,9 | 2,5 |

Tabelle 7.5: Reaktionskinetik sowie Dissoziationskonstanten bestimmt aus Realzeitkurven bzw. Langmuir-Adsorptionsisothermen für Standard-QCM-Sensoren. Zum Vergleich sind Ergebnisse aus SPR-Messungen angegeben.

Es zeigt sich eine, im Rahmen der vielen Einflussfaktoren, sehr gute Übereinstimmung der Dissoziationskonstante. Die nach der Kinetikmethode bestimmten Konstanten weichen etwa um 30% bzw. 64% von den nach der Langmuirmethode bestimmten Werten voneinander ab; bei der Langmuirmethode ergeben sich in diesem Fall identische Ergebnisse. Für die Beurteilung der Übereinstimmung der Dissoziationskonstanten ist zu berücksichtigen, dass sich diese bei verschiedenen Affinitätssystemen um viele Größenordnungen unterscheiden können.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass akustische Sensoren im Vergleich zur weiter verbreiteten Oberflächenplasmonenresonanz gleichwertige Ergebnisse zur Charakterisierung der Bindungsaffinität liefern. Bei nahezu identischem Fluidsystem ist der apparative Aufwand für akustische Sensoren mit Oszillatormesstechnik geringer als bei optischen Methoden wie SPR, Gitterkoppler oder totaler interner Reflektionsfluoreszenz (Abschnitt 4.6.2), wo monochromatisches Licht eingestrahlt und detektiert werden muss. Beim Gitterkoppler ist zudem die Fertigung feiner, paralleler Gitterstrukturen auf den Wellenleitern ein technologisches Problem. Die TIRF-Methode hat den Nachteil, dass es sich hier nicht um eine markerfreie Methode, wie bei den anderen Methoden handelt. Die notwendige Anlagerung der Markermoleküle stellt eine zusätzliche Störquelle dar.

7.6 Antikörpernachweis in Blutserum

Die bisher in diesem Kapitel vorgestellten biologischen Nachweise wurden in PBS-Fließpuffer durchgeführt. Als Beispiel für eine komplexe Flüssigkeitsmatrix sollen hier die Ergebnisse zum Nachweis von anti-ASF Antikörpern in verdünntem Blutserum vorgestellt werden.

Der Erreger der Afrikanischen Schweinepest (African Swine Fever, ASF) wurde 1921 entdeckt. Seit den 50er Jahren tritt diese Viruskrankheit auch in Spanien und Portugal auf. Die Krankheit, die Infektionen der inneren Organe und innere Blutungen bei den betroffenen Tieren verursacht, führt normalerweise einige Tage nach dem Ausbruch zum Tod. Eine schnelle Detektion dieser hochinfektiösen Krankheit kann durch den Nachweis von anti-ASF Antikörpern im Blut der infizierten Tiere erfolgen.

Das ASF-Virus enthält mindestens 28 Polypeptide. Nach Zugabe von 2-Mercaptoethanol und NaCl verliert es sein Hauptprotein, das Virusprotein 73 (VP73) mit einem Molekulargewicht von 73 *kDa*. VP73 ist ein hervorragendes Antigen in ELISA-Tests oder sonstigen Immunoassays [HES81].

Für die Experimente wurde 1 *mg/ml* VP73 auf Standard-QCM-Sensoren physisorbiert (3 Tage bei Raumtemperatur). Ein so beschichteter Sensor ist geeignet hochspezifisch anti-ASF Antikörper zu detektieren. Für Vorversuche in Puffer und verdünntem Blutserum im Labor wurden monoklonale anti-VP73 Maus-Antikörper der Fa. Ingenasa verwendet.

Blutserum – Vollblut ohne zelluläre Anteile sowie ohne Gerinnungsstoffe – enthält etwa 8% Elektrolyte und Proteine. Die unspezifische Anlagerung dieser Bestandteile an die Sensoroberfläche muss unbedingt verhindert werden; andererseits muss der im Serum gelöste Analyt spezifisch detektiert werden. Durch empirische Untersuchungen zeigte sich, dass, wegen der Kontamination und der extrem starken unspezifischen Anlagerung, eine direkte Verwendung von verdünntem Blutserum als Fließpuffer nicht ratsam ist. Vielmehr erwies sich folgendes Vorgehen als erfolgreich [UTT98]:

- Verwendung eines Fließpuffers mit folgender Zusammensetzung: PBS +0,25% Casein + 4% Glycerin + 0,1% TWEEN 20
- Die zu untersuchende Probe, gelöst in Blutserum, wird zur Probenaufgabe 1:10 in PBS-Puffer verdünnt

Abbildung 7.18 zeigt die Verdünnungskurven für den Nachweis von monoklonalen anti-ASF Antikörpern in 1:10 verdünntem Blutserum und zum Vergleich in PBS-Puffer. Die Messungen wurden mit Standard 19-MHz QCM-Sensoren durchgeführt. Die Nachweisgrenze liegt im Puffer bei 0,1 $\mu\text{g/ml}$ und im verdünnten Serum bei 0,2 $\mu\text{g/ml}$, der Testmittelpunkt bei 14 $\mu\text{g/ml}$ bzw. bei 30 $\mu\text{g/ml}$.

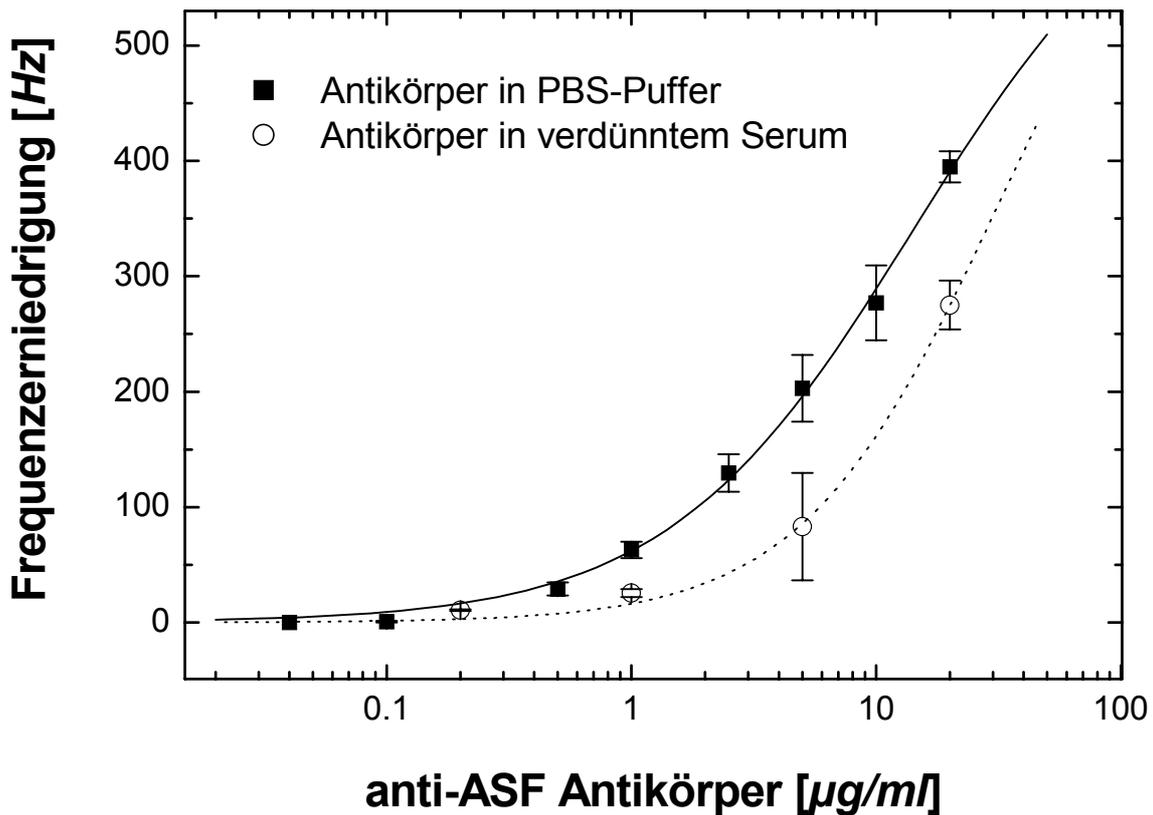


Abbildung 7.18: Verdünnungskurve für den Nachweis von monoklonalen anti-ASF Antikörpern in 1:10 verdünntem Blutserum und zum Vergleich in PBS-Puffer. Die Messungen wurden mit Standard 19-MHz QCM-Sensoren durchgeführt.

Mit dieser Vorgehensweise konnten auch unbekannte Realserumproben charakterisiert werden [UTT98b]. Abbildung 7.19 zeigt das auf negatives Serum Δf_{neg} normierte Frequenzsignal $\Delta f_{nor} = \Delta f / (\Delta f_{neg} + 3\sigma)$. 25 unbekannte Seren wurden auf diese Weise klassifiziert. Parallel durchgeführte ELISA-Tests [COS96] zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit den Klassifizierungsergebnissen akustischer Sensoren. Eine sehr schwach positive Probe konnte mit dem Standardschwingquarz nicht mehr erkannt werden und wurde als falsch negativ klassifiziert. Optische und amperometrische Verfahren erreichten in der gleichen Versuchsreihe, bei höherem apparativen und zeitlichem Aufwand, die nötige Empfindlichkeit, um auch die schwach positive Probe identifizieren zu können [VID97] [STI97].

Untersuchungen in komplexen biologischen Medien mit höherfrequenten HFF- oder SAW-Bauelementen wurden in dieser Versuchsreihe nicht durchgeführt. Dahint et al. berichten, dass die Verwendung höherfrequenter akustischer Plattenmodensensoren eine geeignete Methode ist, die Empfindlichkeit gegenüber unspezifischer Adsorption zu verringern, da in diesem Fall Proteine nur schwach gebunden sind und ein geringeres Sensorsignal verursachen als die spezifisch gebundenen [DAH99].

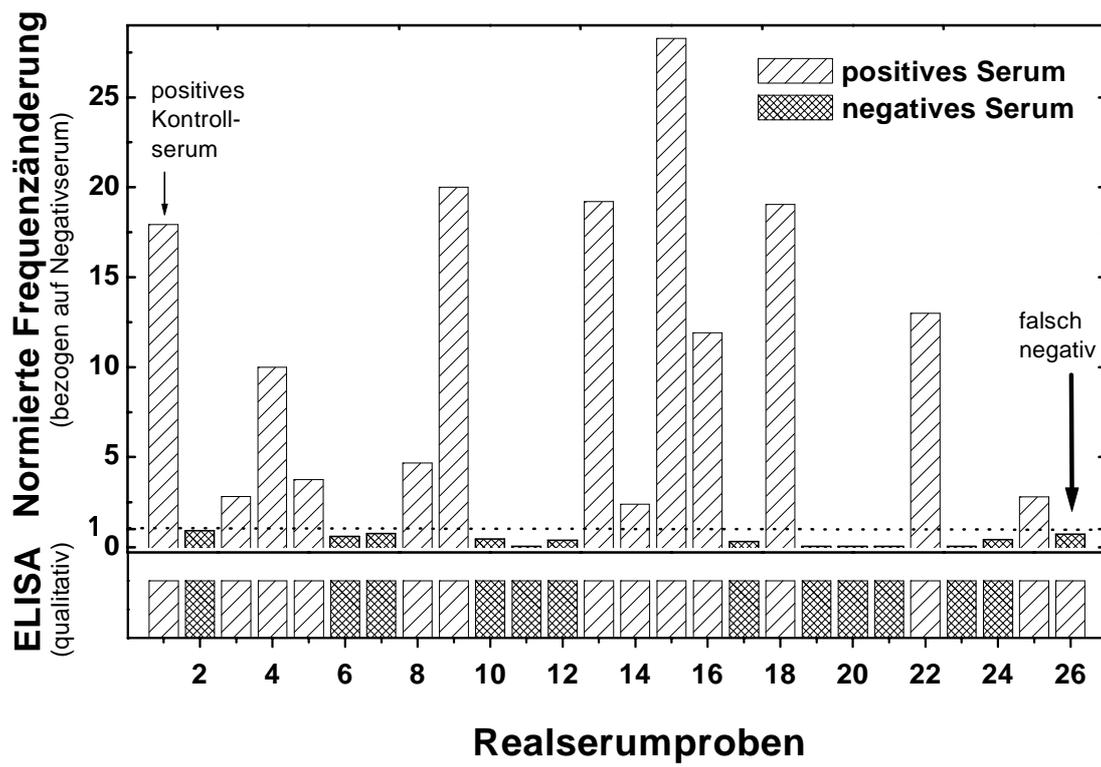


Abbildung 7.19: Klassifizierung unbekannter positiver und negativer Realserumproben.

7.7 Diskussion

In diesem Kapitel wurde versucht ein möglichst breites Anwendungsspektrum akustischer Sensoren in der Biosensorik aufzuzeigen.

Im Rahmen der Versuchsreihe zum Phagennachweis wurden alle in dieser Arbeit vorgestellten akustischen Sensoren eingesetzt und miteinander verglichen. Durch die Verwendung von HFF-Quarzen konnte eine starke Empfindlichkeitszunahme mit höherer Resonanzfrequenz gezeigt werden. Die Detektionsgrenze wurde mit einem 56 MHz-Sensor auf $5 \cdot 10^6$ *pfu/ml* gesenkt. HFF-Quarze liefern auch im Vergleich zu den ebenfalls eingesetzten SAW-Sensoren bessere Ergebnisse. Dies liegt nicht an der eigentlichen Transducerempfindlichkeit, sondern vor allem am höheren Frequenzrauschen der SAW-Sensoren. Falls man dieses Rauschen noch verringern kann ist mit einer deutlichen Empfindlichkeitszunahme bei SAW-Sensoren zu rechnen.

Für Makroproteine ist ebenfalls eine Verbesserung der Detektionsgrenze bei höherer Sensorfrequenz zu erwarten, für Bakterien ist dies, wegen der kleiner werdenden Eindringtiefe nicht zwangsläufig der Fall. Für den Bakteriennachweis erweisen sich indirekte Detektionsmethoden [WIL99] als empfindlicher als direkte akustische Biosensoren.

Neben der Untersuchung der Sensorempfindlichkeit konnte mit dem Phagennachweis auch die prinzipielle Eignung akustischer Sensoren für das Phagenscreening gezeigt werden. Für diese moderne diagnostische Methode besteht in der modernen Molekularbiologie ein zunehmender Bedarf an geeigneten, schnellen Analysemethoden.

Es gibt neben dem Analytnachweis weitere Anwendungen, bei denen die absolute Detektionsgrenze nur eine untergeordnete Rolle spielt. Dazu zählt auch die Bestimmung der Bindungsaffinität immunologisch komplementärer Bindungspartner. Mithilfe von Standard-QCM-Sensoren wurde für das Virusprotein73 – anti-VP73-System aus der Realzeitbindungskurve eine Dissoziationskonstante von 170 nmol/l bestimmt. Dieses Ergebnis wurde mit vernachlässigbarem Unterschied auch mit der etablierten SPR-Methode erhalten. Wegen vergleichbarer Resultate und geringerem technischen Aufwand als bei den etablierten optischen Echtzeitmethoden besitzen akustische Sensoren auf dem Gebiet der Affinitätsbestimmung, ein sehr gutes Einsatzpotential. Neben der Affinität können akustische Sensoren auch die Spezifität verschiedener antigener Strukturen zu einem bestimmten Antikörper aufklären helfen („epitope mapping“).

In dieser Arbeit wurden bisher nur die Antigen-Antikörper-Systeme als Affinitätsbindungen beschrieben; es gibt jedoch noch weitere biologische Affinitätsbindungen die ohne Probleme auf akustischen Sensoren eingesetzt werden können. Dazu zählen das Streptavidin-Biotin-System oder das Protein A –Antikörper-System [UTT98]. Darüber hinaus wurden in neuerer Zeit auch Versuche unternommen, DNA mit akustischen Sensoren zu untersuchen. Dazu werden DNA-Einzelstränge auf der Sensoroberfläche immobilisiert und darauf komplementäre DNA-Stränge hochspezifisch hybridisiert. Dieser Massenzuwachs reicht aus, auswertbare Messsignale auf akustischen Sensoren zu erzeugen [FUR97] [THO95].

Ein großer Vorteil akustischer Sensoren liegt zudem in Anwendungen, in welchen die viskoelastischen Eigenschaften des anhaftenden Analyten untersucht werden müssen. So

eignen sie sich beispielsweise um über die Änderung der Adhäsionskräfte die Reaktion anhaftender, lebender Zellen auf Zugabe von Zellgiften zu untersuchen [MAR00].

Kapitel 8

Diskussion und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wird der Einsatz akustischer Schwingquarz- und Oberflächenwellensensoren als Rheometer für die Flüssigkeitscharakterisierung und als massensensitiver Sensor für die Biosensorik mit dem Ziel beschrieben neue, kommerziell nicht etablierte, Anwendungsgebiete vorzustellen, die Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Messungen zu verbessern sowie Wege zur deutlichen Empfindlichkeitssteigerung aufzuzeigen. Hierzu wurden neuartige hochfrequente 39-110 MHz HFF-Schwingquarze, realisiert als „inverted mesa“-Strukturen, und zu Vergleichszwecken auch 10 bzw. 19 MHz Standardschwingquarze eingesetzt. Diese QCM-Sensoren wurden mit selbstentwickelten, horizontal-polarisierten 69 bzw. 102 MHz SAW-Sensoren verglichen.

Für alle Sensoren wurde eine Aufbautechnik realisiert, die es erlaubt, die Sensoren schnell und zuverlässig elektrisch und fluidisch in einer temperierbaren Wechselzelle zu kontaktieren. Die HFF-Sensoren bieten hier den Vorteil, dass die durch die „inverted mesa“-Struktur erzeugte Kavität selber bereits eine sehr kleine und damit optimierte Messkammer darstellt. Insbesondere in biosensorischen Anwendungen können so, im Vergleich zu Standard-QCM- und SAW-Sensoren mit feinwerktechnisch realisierten Messkammern, hohe Analytbelegungsraten und damit eine Steigerung der Sensorempfindlichkeit erreicht werden. Es zeigte sich, dass neben dem Transducerdesign und der Messelektronik, vor allem die Aufbau- und Verbindungstechnik der Sensoren sowie das Fließsystem entscheidenden Einfluss auf die Qualität des Sensorsignals haben. Der gesamte Einfluss dieser Faktoren wurde als Frequenzrauschen bestimmt. Das Rauschen der QCM-Sensoren steigt zwischen 56 und 70 MHz stark an, für SAW-Sensoren erreicht das Rauschen erst bei 102 MHz-Sensoren mit 5 Hz einen ähnlich hohen Wert wie bei 63 MHz QCM-Sensoren.

Die Untersuchungen zeigten, dass bei gleicher Resonanzfrequenz, QCM-Sensoren wesentlich empfindlicher auf Viskositätsänderungen oder Massebelegungen reagieren als SAW-Sensoren. Die Empfindlichkeit von 102 MHz SAW-Sensoren entspricht in etwa der Empfindlichkeit von 63 MHz QCM-Sensoren. Dies konnte auch theoretisch bestätigt werden.

Durch Modellbetrachtung zur akustischen Impedanz beliebiger anliegender Medien kann das Sensorverhalten simuliert und daraus die Empfindlichkeit abgeleitet werden. Dabei erlauben Ersatzschaltbildmodelle die Modellierung des Sensors durch Überführen der akustischen in elektrische Größen. Die Modellierung ist insbesondere für das Sensordesign notwendig, denn bestimmte Designkriterien, welche das Nebenresonanzverhalten oder die Empfindlichkeit beeinflussen, müssen beim Sensordesign unbedingt beachtet werden.

QCM- und SAW-Sensoren wurden im Fließsystem mit Oszillatortechnik als Rheometer zur Untersuchung newtonscher Glycerinlösungen und viskoelastischer Polyethylenglykollösungen eingesetzt. Für newtonsche Glycerinlösungen konnte bei leichten Abweichungen die typische Abhängigkeit der Sensorsignale vom $\sqrt{\rho\eta}$ -Einfluss der Flüssigkeitsparameter sowie die $f_{res}^{3/2}$ und $f_{res}^{5/2}$ -Abhängigkeit von der Resonanzfrequenz für QCM- bzw. SAW-Sensoren bestätigt werden. Die Abweichungen resultieren vermutlich aus der Überlagerung des transversalen Messeffektes mit longitudinalen Einflüssen. Die Ursache dafür liegt in der lateral begrenzten Ausdehnung der Transducerstrukturen. Experimentell nachgewiesen wurden diese Effekte durch das Auftreten von Kompressionswellen in der Durchflusszelle. Für viskoelastische PEG-Lösungen ist experimentell eine Frequenzabhängigkeit der Viskosität und Elastizität zu beobachten, welche aus Relaxationseffekten resultiert und theoretisch durch das Maxwellmodell beschrieben werden kann. Anhand des Verlustwinkels kann zwischen PEG-Lösungen mit verschiedenen Kettenlängen, entsprechend verschiedener Molekulargewichte, unterschieden werden. Durch Verwendung verschieden frequenter Sensoren konnten in dieser Arbeit Relaxationseffekte beobachtet werden. Der Federmodul von 10% PEG 35000 konnte zu ungefähr 10 MPa und die Relaxationszeit zu ungefähr 1 ns bestimmt werden. Wegen der Fluiddruckabhängigkeit der Sensorsignale im Fließsystem werden vor allem bei hochfrequenten QCM-Sensoren für hochviskose PEG-Lösungen verfälschte, größere Messsignale erhalten. SAW-Sensoren besitzen keine Fluiddruckempfindlichkeit und liefern deshalb für die hochviskosen PEG-Lösungen physikalisch exaktere Werte. Eine zu starke Bedämpfung der Sensoren durch hochviskose Flüssigkeiten ist zu vermeiden. Es ist jedoch denkbar durch ein angepasstes Sensordesign, etwa durch eine geringere Resonanzfrequenz oder durch eine kleinere effektive Messfläche, die Bedämpfung der Sensoren zu reduzieren und Flüssigkeiten mit wesentlich größeren Viskositäten zu vermessen.

In biosensorischen Anwendungen ist zumeist der Nachweis möglichst geringer Analyt-anlagerungen gefordert. In der Versuchsreihe zum Phagennachweis lieferten 56 MHz HFF-Sensoren, aufgrund des großen Signal-Rausch-Verhältnisses, die besten Ergebnisse. Die mit HFF-Sensoren erreichte Nachweisgrenze von $5 \cdot 10^6$ Phagen/ml stellt gegenüber Standardschwingquarzen eine Verbesserung um den Faktor 200 dar, gegenüber 102 MHz SAW-Sensoren eine Verbesserung um den Faktor 20. Das relativ schlechte Ergebnis der SAW-Sensoren ist auf deren hohes Signalrauschen zurückzuführen. Eine Verbesserung der Leistungsfähigkeit von SAW-Sensoren kann nur mit einer Reduzierung des Rauschens einhergehen. Dazu müssen jedoch die genauen Ursachen des Frequenzrauschens geklärt werden. Die Empfindlichkeit der Sensoren konnte bei höheren Resonanzfrequenzen deutlich gesteigert werden, allerdings muss unbedingt berücksichtigt werden, dass bei höherer Resonanzfrequenz die Eindringtiefe der evaneszenten akustischen Welle deutlich kleiner wird; sie beträgt etwa 400 nm bei 20 MHz-Sensoren und nur noch 100 nm bei 100

MHz-Sensoren. Bei der Anlagerung sehr großer Partikel, wie etwa Bakterien oder Zellen, deren Abmessungen im μm -Bereich liegen, ist damit bei hohen Sensorfrequenzen ein Verlust an Empfindlichkeit verbunden.

Die Anlagerung biologischer Moleküle erfolgt auf akustischen Sensoren, im Gegensatz zu den herkömmlichen ELISA-Detektionsprinzipien, in Echtzeit. Aufgrund des Frequenzsignals in der Assoziations- und Dissoziationsphase kann auf die Affinität der komplementären Bindungspartner geschlossen werden. Für diese Anwendung ist vor allem die Signalstabilität der Sensoren entscheidend. Untersuchungen mit Virusprotein 73 und komplementären Antikörpern lieferten gleichwertige Ergebnisse im Vergleich zu Untersuchungen mit der etablierten Oberflächenplasmonenresonanzmethode. Die Dissoziationskonstante wurde zu 170 nmol/l bestimmt.

Bei der Auswahl der Analyten – Bakteriophagen, Legionellen und Virusprotein – wurde auf den Bezug zur praktischen Anwendbarkeit und zum tatsächlichen Bedarf in der Diagnostik geachtet. Modellsysteme wurden, wie bei der Antikörperschichtung oder bei Regenerationsversuchen, nur dort verwendet, wo die Klärung fundamentaler Effekte wie der Eindringtiefe, der Rezeptordichte oder der Stabilität im Vordergrund stand.

Aufgrund der Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit ergeben sich sehr gute Perspektiven für den kommerziellen Einsatz akustischer Sensoren in verschiedenen Anwendungsgebieten:

- HFF-Sensoren konnten in dieser Arbeit ihr großes Potential zur Steigerung der Sensitivität unter Beweis stellen. Sie empfehlen sich deshalb für zukünftige Anwendungen in der Mikrowägung, wo kleinste Mengen eines Stoffes detektiert werden müssen, sei es in der Biosensorik, wie in dieser Arbeit erläutert, oder auch in elektrochemischen Anwendungen sowie der Gassensorik.
- Bei geeigneter Aufbautechnik können akustische Transducer als Rheometer in technischen Anwendungen wie z.B. in Motoren, der Prozesskontrolle, der Diagnostik oder der Lebensmitteltechnologie verwendet werden, da sie deutlich kompakter und kostengünstiger als konventionelle Rheometer sind. Überdies besitzen sie eine sehr hohe Abtastrate der Messsignale und eignen sich daher zum online-monitoring rheologischer Prozesse. Außerdem arbeiten akustische Sensoren bedingt durch die Sensorfrequenzen mit hohen Scherraten, bei denen mit herkömmlichen Rheometern nicht mehr gemessen werden kann.
- Im Bereich der Biosensorik liegt das zukünftige Potential akustischer Sensoren im Bereich schneller Screeningmethoden zur Untersuchung von Bindungseigenschaften biologisch komplementärer Biomoleküle oder auch der Untersuchung lebender Zellen bei Veränderung der Umgebungsbedingungen. Diese Thematiken werden zukünftig im Rahmen der modernen Gentechnologie und Molekularbiologie noch mehr Raum einnehmen.

Anhang A

Piezoelektrische Eigenschaften von Quarz

Kristallschnitt

Das Sensormaterial ist Quarz (SiO_2). Quarz ist kristallines Siliziumdioxid. Unterhalb einer Temperatur von $573\text{ }^\circ\text{C}$ entsteht α -Quarz mit einem trigonalen Kristallgitter.

Die Schwingungsmoden und das Temperaturverhalten eines Schwingquarzes hängen ab von der Art des Kristallschnitts. In dieser Arbeit werden sowohl die QCM- als auch die SAW-Sensoren auf Substraten aus α -Quarz hergestellt. In Abbildung A.1 sind verschiedene Kristallschnitte von α -Quarz mit Schnittwinkel φ dargestellt [IKE90].

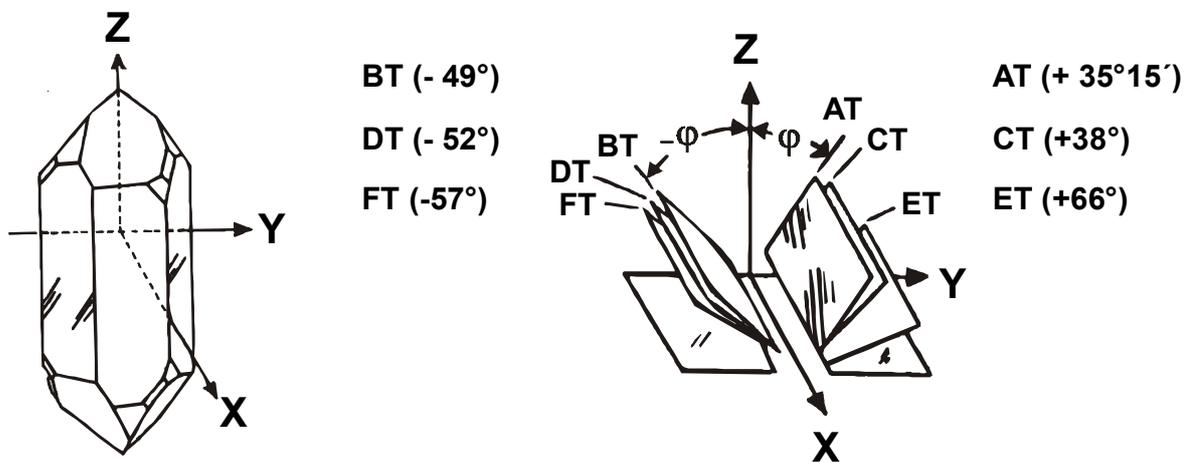


Abbildung A.1: Verschiedene Kristallschnitte von α -Quarz [IKE90].

Folgende Schwingungsformen von Volumenwellen (BAW, Kapitel 2.2.1) bilden sich bei den verschiedenen Quarzschnitten aus:

Flächenschwingung: CT-Schnitt (300 ... 1000 kHz)
DT-Schnitt (180 ... 400 kHz)

Dickenscherschwungung: AT-Schnitt (1 ... 250 MHz)
BT-Schnitt (1 ... 30 MHz)

In anderen nicht abgebildeten Schnitten können ferner Biege- oder Dehnungsschwingungen auftreten. Die in dieser Arbeit verwendeten Schwingquarze sind vom AT-Schnitt ($\varphi = 35^\circ 15'$). Eine angelegte Wechselspannung führt somit zu einer Dickenscherschwungung der Quarzplatte (Abbildung 2.4.).

Oberflächenwellensensoren werden auf verschiedenen Schnitten, je nach gewünschtem Temperaturgang hergestellt. Die in dieser Arbeit verwendeten Oberflächenwellensensoren wurden auf einem Kristallschnitt mit $\varphi = -36^\circ$ hergestellt. Werden die Finger der IDT-Strukturen parallel zur x-Achse aufgebracht, so kann die gewünschte Oberflächenschwingung angeregt werden (Abbildung 2.5.).

Reduzierte Darstellung

Formal wird die Piezoelektrizität (Kapitel 2.1) durch die beiden folgenden Gleichungen beschrieben [DIE80]:

$$\begin{aligned} D_i &= \varepsilon_{ij} E_j + e_{ijk} S_{jk} \\ T_{ij} &= c_{ijkl} S_{kl} + \eta_{ijkl} \dot{S}_{kl} - e_{ijk} E_k \quad i, j, k, l = x, y, z \end{aligned} \quad (\text{A.1})$$

dabei ist D_i die dielektrische Verschiebung in Richtung $i = x, y, z$.

E_i das elektrische Feld in Richtung i

T_{ij} die mechanische Spannung (stress), die j -te Kraftkomponente auf die i -te Einheitsfläche (Gleichung 2.7)

S_{ij} die Dehnung (strain) mit $S_{ij} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_j}{\partial x_k} + \frac{\partial u_k}{\partial x_j} \right)$;

hierbei ist u_j ist die Auslenkung eines Volumenelements aus seiner Gleichgewichtslage und x_j die Ortskoordinate.

ε_{ij} der dielektrische Tensor

e_{ijk} der piezoelektrische Tensor

c_{ijkl} der Elastizitätsmodul (Gleichung 2.7)

In Anlehnung an Dieulesaint kann der mathematische Formalismus in folgender Weise vereinfacht werden [DIE80]:

Aufgrund der Symmetrie der Größen S_{ij} und T_{ij} lässt sich die Anzahl der unabhängigen Tensorelemente durch folgende Transformation verringern. Es gilt mit $i, j = x, y, z$, $\alpha = 1, 2, \dots, 6$ die Transformation $(i, j) \Rightarrow \alpha$ in folgender Weise:

$(x, x) \Rightarrow 1$; $(y, y) \Rightarrow 2$; $(z, z) \Rightarrow 3$; $(y, z) = (z, y) \Rightarrow 4$; $(z, x) = (x, z) \Rightarrow 5$; $(x, y) = (y, x) \Rightarrow 6$;

Dann vereinfachen sich die piezoelektrischen Gleichungen (A.1) zu:

$$\begin{aligned} D_i &= \varepsilon_{ij} E_j + e_{i\alpha} S_\alpha \\ T_\alpha &= c_{\alpha\beta} S_\beta + \eta_{\alpha\beta} \dot{S}_\beta - e_{\alpha i} E_i \quad i, j = x, y, z \quad \alpha, \beta = 1, 2, \dots, 6 \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

In dieser Arbeit wurde für sämtliche Tensoren die reduzierte Darstellung verwendet.

Materialparameter von α -Quarz

Ristic gibt folgende Materialtensoren für rechtshändigen α -Quarz (Trigonales System, Klasse 32) im Kristallkoordinatensystem aus Abbildung A.1 an (Superskript K) [RIS83]:

- Elastizitätsmodul $c_{\alpha\beta}^K$:

$$c^K = \begin{pmatrix} 8,674 & 0,699 & 1,191 & -1,791 & 0 & 0 \\ 0,699 & 8,674 & 1,191 & 1,791 & 0 & 0 \\ 1,191 & 1,191 & 10,72 & 0 & 0 & 0 \\ -1,791 & 1,791 & 0 & 5,794 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 5,794 & -1,791 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & -1,791 & 3,985 \end{pmatrix} \cdot 10^{10} \frac{N}{m^2}$$

- Effektive Viskosität $\eta_{\alpha\beta}^K$:

$$\eta^K = \begin{pmatrix} 1,376 & 0,730 & 0,715 & 0,012 & 0 & 0 \\ 0,730 & 1,376 & 0,715 & -0,012 & 0 & 0 \\ 0,715 & 0,715 & 0,970 & 0 & 0 & 0 \\ 0,012 & -0,012 & 0 & 0,364 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0,364 & 0,012 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0,012 & 0,320 \end{pmatrix} \cdot 10^{-3} Pa \cdot s$$

- Piezoelektrischer Tensor $e_{i\alpha}^K$:

$$e^K = \begin{pmatrix} 0,171 & -0,171 & 0 & 0,044 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & -0,044 & -0,171 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \cdot \frac{C}{m^2}$$

- Dielektrischer Tensor ε_{ij}^K :

$$\varepsilon^K = \begin{pmatrix} 4,5 & 0 & 0 \\ 0 & 4,5 & 0 \\ 0 & 0 & 4,6 \end{pmatrix} \cdot \varepsilon_0$$

- Dichte $\rho_q = 2650 \cdot \text{kg}/\text{m}^3$

Für die verwendeten Kristallschnitte muss die Drehung aus dem System der Kristallachsen berücksichtigt werden. Die Schnittfläche ist eine Ebene senkrecht zur gedrehten Y-Achse, wobei die Kristalle um einen Winkel von φ im Uhrzeigersinn um die X-Achse gedreht sind. Die Transformation des Elastizitätsmoduls und der effektiven Quarzviskosität erfolgt nach Auld durch folgende Matrixmultiplikation mit der sogenannten Bondmatrix M [AUL90]:

$$\begin{aligned} c &= M \cdot c^K \cdot M^T \quad \text{und} \\ \eta &= M \cdot \eta^K \cdot M^T \end{aligned} \tag{A.3}$$

mit der Bondmatrix:

$$M = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos^2 \varphi & \sin^2 \varphi & \sin 2\varphi & 0 & 0 \\ 0 & \sin^2 \varphi & \cos^2 \varphi & -\sin 2\varphi & 0 & 0 \\ 0 & -0,5 \cdot \sin 2\varphi & 0,5 \cdot \sin 2\varphi & \cos 2\varphi & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cos \varphi & -\sin \varphi \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \sin \varphi & \cos \varphi \end{pmatrix}$$

Die relevanten Komponenten des piezoelektrischen und des dielektrischen Tensors transformieren sich folgendermaßen:

$$\begin{aligned} e_{y6} &= e_{x4}^K \sin \varphi \cos \varphi - e_{x1}^K \cos^2 \varphi \\ \varepsilon_{zz} &= \varepsilon_{xx}^K \sin^2 \varphi + \varepsilon_{zz}^K \cos^2 \varphi \end{aligned} \tag{A.4}$$

Die in dieser Arbeit benötigten Materialdaten der verwendeten Kristallschnitte sind in Tabelle A.1 dargestellt.

| Parameter | | AT-Schnitt ($\varphi = 35^\circ 15'$) (QCM-Sensoren) | $\varphi = -36^\circ$ (SAW-Sensoren) |
|----------------------------------|--------------------|--|--|
| Dichte | ρ_q | 2650 kg/m^3 | 2650 kg/m^3 |
| Schersteifigkeit | c_{11} | $8,674 \cdot 10^{10} N/m^2$ | |
| | c_{55} | $6,88 \cdot 10^{10} N/m^2$ | |
| | c_{66} | $2,899 \cdot 10^{10} N/m^2$ | $6,31 \cdot 10^{10} N/m^2$ |
| effektive Viskosität | η_{66} | $3,5 \cdot 10^{-4} Pa \cdot s$ | $3,2 \cdot 10^{-4} Pa \cdot s$ |
| piezoelektr. Koeffizient | e_{y6} | $8,0 \cdot 10^{-2} C/m^2$ | $0,8 \cdot 10^{-2} C/m^2$ |
| piezoelektrische Kopplung | κ | 0,07 | 0,06 |
| dielektrische Konstante | ε_{zz} | $4,54 \cdot \varepsilon_0$ | $4,54 \cdot \varepsilon_0$ |
| Schallgeschwindigkeit | v | 3310 m/s | 5090 m/s |
| spez. akustische Impedanz | Z | $8,86 \cdot 10^6 kg/(s \cdot m^2)$ | $13,49 \cdot 10^6 kg/(s \cdot m^2)$ |

Tabelle A.1: Wichtige Konstanten für die verwendeten Kristallschnitte von α -Quarz.

Sonstige Materialparameter

Die Materialparameter der aufgetragenen Schichten – Gold und Siliziumkarbid (SiC) – von Bedeutung.

- Gold: Dichte: $19290 kg/m^3$
Schersteifigkeit: $2,85 \cdot 10^{10} N/m^2$
- SiC: Dichte: $(2000 \pm 100) kg/m^3$
Schersteifigkeit: $(17,8 \pm 1,6) \cdot 10^{10} N/m^2$

Anhang B

Simulationsprogramm für SAW-Sensoren

Im Simulationsprogramm von Drobe/Leidl [LEI92] wird das Randwertproblem, wie es in Abbildung B.1 dargestellt ist, numerisch gelöst. Dazu werden die elektrischen und mechanischen Bewegungsgleichungen in den einzelnen Schichten aufgestellt. Quarz wird als anisotropes und piezoelektrisches Material betrachtet. Die elektrischen und mechanischen Bewegungsgleichungen sind über den Tensor der Piezoelektrizität verknüpft. Die anderen Schichten werden als isotrop, nicht piezoelektrisch angesetzt. Die Bewegungsgleichungen werden für harmonische Wellen mit einer Wellenlänge λ gelöst. Für die elektrischen und mechanischen Randbedingungen wird die Randwertdeterminante (16x16-Matrix) aufgestellt und deren Nullstellen numerisch gesucht. Quarz und die Beschichtungen werden als unendlich ausgedehnte Platte mit definierter Dicke, die Flüssigkeit bzw. das Gas als Halbraum betrachtet.

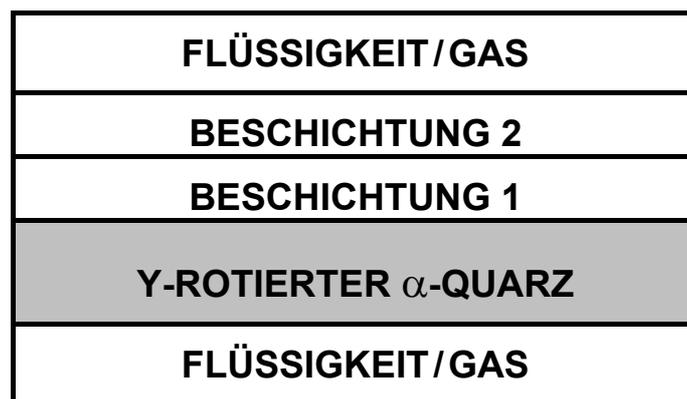


Abbildung B.1: Randwertproblem für die Berechnung der Wellengeschwindigkeit und Dämpfung der Oberflächenwelle in α -Quarz.

Das Simulationsprogramm liefert damit unter anderem die Geschwindigkeit und Dämpfung der harmonischen Welle in Quarz in Abhängigkeit der Materialparameter und Schichthöhen.

Folgende Ein- und Ausgabeparameter ermöglichen die Bedienung des Programms und sind Voraussetzung für die Berechnung der Lösungen.

Eingabeparameter

- Sensorspezifische Parameter: Temperatur, Quarzschnittwinkel, Wellenlänge, Substratdicke, Höhen der Beschichtungen 1 und 2.
- physikalische Parameter für jede Schicht: Dichte, Dielektrizität, Leitfähigkeit, piezoelektrischer Tensor, Elastizitätsmodul, Viskosität sowie Temperaturkoeffizienten aller Materialparameter.
- Vorgaben für den Suchalgorithmus: Anzahl der Lösungen (1. Lösung: SAW, 2. Lösung: SSBW, ab 3. Lösung: alle Plattenmoden), Frequenzsuchbereich, angestrebte Frequenzauflösung, Dämpfungssuchbereich.

Ausgabedaten

- Resonanzfrequenzwerte aller Lösungen
- Dämpfungswerte aller Lösungen
- Fehlerabschätzungen der numerischen Berechnungen

Anhang C

Polyethylenglykollösungen

Dichte und dynamische Viskosität der Polyethylenglykollösungen wurden experimentell bestimmt. Für jeden angegebenen Wert wurden 5 Messungen durchgeführt.

Die Dichte wurde durch Auswiegen abgemessener Volumina bestimmt.

| [m/m] | PEG 600 | PEG 2000 | PEG 6000 | PEG 20000 | PEG 35000 |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1% | 1,0033 ± 0,0029 | 1,0075 ± 0,0020 | 1,0012 ± 0,0038 | 1,0023 ± 0,0023 | 0,9918 ± 0,0037 |
| 2% | 0,9983 ± 0,0001 | 1,0062 ± 0,0044 | 1,0006 ± 0,0020 | 0,9994 ± 0,0021 | 0,9889 ± 0,0031 |
| 5% | 1,0088 ± 0,0014 | 1,0018 ± 0,0034 | 1,0045 ± 0,0059 | 1,0057 ± 0,0017 | 0,9975 ± 0,0050 |
| 10% | 1,0148 ± 0,0021 | 1,0113 ± 0,0032 | 1,0068 ± 0,0001 | 1,0111 ± 0,0029 | 0,9964 ± 0,0186 |
| 15% | 1,0179 ± 0,0103 | 1,0198 ± 0,0022 | 1,0154 ± 0,0093 | 1,0118 ± 0,0073 | 1,0092 ± 0,0049 |

Tabelle C.1: Dichte [g/cm^3] der verwendeten Polyethylenglykollösungen.

Die dynamische Viskosität (= kinematische Viskosität · Dichte) wurde aus den Messungen an einem Kapillarviskosimeter der Fa. Schott (AVS 350/CT1450) bestimmt.

| [m/m] | PEG 600 | PEG 2000 | PEG 6000 | PEG 20000 | PEG 35000 |
|-------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| 1% | 1.076 ± 0,003 | 1.111 ± 0,003 | 1.203 ± 0,003 | 1.440 ± 0,004 | 1.676 ± 0,005 |
| 2% | 1.120 ± 0,001 | 1.208 ± 0,001 | 1.424 ± 0,001 | 1.975 ± 0,001 | 2.552 ± 0,001 |
| 5% | 1.304 ± 0,009 | 1.538 ± 0,009 | 2.319 ± 0,009 | 4.428 ± 0,011 | 6.939 ± 0,013 |
| 10% | 1.685 ± 0,004 | 2.359 ± 0,005 | 4.464 ± 0,009 | 11.704 ± 0,024 | 24.743 ± 0,052 |
| 15% | 2.145 ± 0,022 | 3.588 ± 0,036 | 7.860 ± 0,079 | 25.461 ± 0,258 | 60.532 ± 0,615 |

Tabelle C.2: Dynamische Viskosität [$\text{mPa}\cdot\text{s}$] der verwendeten Polyethylenglykollösungen.

Anhang D

Chemikalien und Bioreagenzien

| Produkt | Hersteller | Katalognr. |
|---|------------------------------|------------|
| anti-goat-Antikörper | Sigma (Deisenhofen) | G4018 |
| anti-Legionella (SG1)-Antikörper | Biogenesis (Großbritannien) | 5625-0056 |
| anti-M13-Antikörper | Pharmacia Biotech (Freiburg) | 27-9420 |
| anti-mouse-Antikörper (rabbit IgG) | DAKO (Dänemark) | P0161 |
| anti-rabbit-Antikörper | Sigma (Deisenhofen) | R5506 |
| anti-VP73-Antikörper, Typ 18BG3 (mouse IgG) | Ingenasa (Spanien) | – |
| Boratpuffer: Pufferlösung pH 11; mit NaOH auf den jeweils benötigten pH-Wert eingestellt. | Merck (Darmstadt) | 1 09462 |
| BSA (Bovine serum albumine) pH 7 | Sigma (Deisenhofen) | A-2153 |
| Casein | Sigma (Deisenhofen) | C7906 |
| DMA (Dimethylacetamid) | Fluka (Deisenhofen) | 38842 |
| DSP (Dithiobis-succinimidyl-propionat) | Sigma (Deisenhofen) | D-3669 |
| Ethanol | Riedel de Haen (Seelze) | 17826 |
| Glycerin | Sigma (Deisenhofen) | G2289 |
| H ₂ O ₂ 30% | Aldrich (Deisenhofen) | 21,676-3 |
| Legionella pneumophila | Univ. Regensburg | – |
| M13 Helferphage | Stratagene (Niederlande) | 200251 |
| NaOH | Merck (Darmstadt) | 9141.1000 |
| PBS (Phosphate buffered saline): | | |
| 8 g/l Natriumchlorid | Merck (Darmstadt) | 1 06404 |
| 0,2 g/l Kaliumchlorid | Fluka (Deisenhofen) | 60132 |
| 1,44 g/l di-Natriumhydrogenphosphat | Fluka (Deisenhofen) | 71640 |
| 0,24 g/l Kaliumdihydrogenphosphat | Fluka (Deisenhofen) | 60230 |

| | | |
|--|---------------------------------|---------|
| Polyethylenglykol MW 600 | Fluka (Deisenhofen) | 81180 |
| Polyethylenglykol MW 2000 | Fluka (Deisenhofen) | 81221 |
| Polyethylenglykol MW 6000 | Fluka (Deisenhofen) | 81253 |
| Polyethylenglykol MW 20000 | Fluka (Deisenhofen) | 81300 |
| Polyethylenglykol MW 35000 | Fluka (Deisenhofen) | 81310 |
| Salzsäure | Merck (Darmstadt) | 1.00316 |
| Schwefelsäure 96% | Merck | 1 00709 |
| Schweineserum | Sigma (Deisenhofen) | S7398 |
| Schweineserum (positive und negative Realproben) | Gulbenkian-Institute (Portugal) | – |
| Natriumthiocyanat | Sigma (Deisenhofen) | S7757 |
| TWEEN 20 | Sigma (Deisenhofen) | 274348 |
| Virusprotein 73 (Hüllprotein des ASF-Erregers) | Ingenasa (Spanien) | – |
| Urea | Sigma (Deisenhofen) | U5378 |

Anhang E

Abkürzungen und Symbole

Wichtige Abkürzungen

| | |
|-------|--|
| AFM | Atomkraftmikroskop („atomic force microscope“) |
| APM | Akustische Plattenmode |
| ASF | Afrikanische Schweinepest (“African Swine Fever“) |
| BAW | Elastische Volumenwellen (“bulk acoustic wave”) |
| BSA | Rinderalbumin (“bovine serum albumine“) |
| BVD | Butterworth-Van Dyke |
| Da | Dalton (1 <i>Da</i> = 1 <i>atomare Masseneinheit u</i>) |
| DSP | Dithiobis-Succinimidyl-Propionat |
| DUT | untersuchtes HF-Element (“device under test“) |
| ELISA | “enzyme linked immunosorbent assay“ |
| FIA | Fließinjektionsanalyse |
| FPW | Biegewellensensor (“flexural plate wave”) |
| HFF | Hochfrequente Grundtonfrequenz („high fundamental frequency“) |
| IDT | Interdigital-Transducer |
| IgG | Immunglobulin G |
| OFW | Oberflächenwelle |
| PBS | “phosphate buffered saline“ (Fließpuffer) |
| PECVD | plasmaunterstützte chemische Gasphasenabscheidung (“plasma enhanced chemical vapor deposition“) |
| PEG | Polyethylenglykol |
| pfu | “plaque forming unit“ (Einheit des Zählergebnis nach Kultivierung) |
| QCM | Schwingquarzmikrowaage (“quartz crystal microbalance“) |
| SAW | Oberflächenwelle (“surface acoustic wave“), hier Scherwellen |
| SPR | Oberflächenplasmonenresonanz (“surface plasmon resonance“) |
| SiC | Siliziumkarbid (“silicon carbide“) |
| SSBW | Volumenwelle (“surface skimming bulk wave“) |
| TIRF | Totale interne Reflektionsfluoreszenz |
| VP 73 | Virusprotein 73 |

Wichtige Symbole

| | | |
|--------------------------|-------------------|---|
| A | m^2 | aktive Sensorfläche, Elektrodenfläche |
| B_{SAW}, B_{SSBW} | S | Suszeptanz |
| C, C_0 | F | dynamische Kapazität bzw. statische Kapazität |
| C_{cross}, C_{Streu} | F | Übersprechkapazität bzw. Streukapazität |
| $C_{L\alpha}, C_{Lv}$ | $s^{0,5}m^2/kg$ | Flüssigkeitsempfindlichkeitskonstanten (SAW-Sensoren) |
| C_M | m^2/kg | Massenempfindlichkeitskonstante (SAW-Sensoren) |
| C_{stat} | F | statische Fingerkapazität |
| c_0 | $mol/l=M$ | Analytkonzentration |
| c_{11}, c_{55}, c_{66} | Pa | Komponenten der Schersteifigkeit von Quarz |
| c_m | mol/l | Testmittelpunkt |
| D | C/m^2 | Dielektrische Verschiebung |
| D_E | m | Elektroden Durchmesser |
| D_k | cm^2/s | Diffusionskonstante |
| D_q | m | Quarzdurchmesser |
| d, d_q | m | Dicke der Quarzscheibe |
| d_{IDT} | m | Mittenabstand der IDT-Transducer |
| d_s | m | Dicke der Schicht |
| d_Z | m | Messzellenhöhe |
| d_S | m | Länge der Laufstrecke |
| e | C/m^2 | piezoelektrischer Tensor |
| E | V/m | Elektrische Feldstärke |
| f_0 | Hz | Resonanzfrequenz |
| f_m, f_b | Hz | Resonanzfrequenz der Volumenwelle bzw. Plattenmoden |
| Δf | Hz | Frequenzänderung |
| Δf_{HBW} | Hz | Halbwertsbreite |
| Δf_{max} | Hz | maximal mögliche Frequenzänderung |
| $\Delta f_{Rauschen}$ | Hz | Frequenzrauschen |
| G | Pa | Elastizitätsmodul |
| G_∞ | Pa | Federmodul |
| G_{SAW}, G_{SSBW} | S | Strahlungskonduktanz |
| h_{eff} | m | effektive Metallisierungshöhe |
| h_s, h_M | m | Schichthöhe bzw. Metallisierungshöhe |
| h_Z | m | Messzellenhöhe |
| I | A | Strom |
| IL | dB | elektrische Bedämpfung |
| K_d | mol/l | Gleichgewichts-Dissoziationskonstante |
| K_l | Pa | Kompressionsmodul der Flüssigkeit |
| k | l/m | Wellenzahl |
| k_a | $l/(mol \cdot s)$ | Assoziationsrate |

| | | |
|--------------------------|----------------------------|---|
| k_d | $1/s$ | Dissoziationsrate |
| k_m | cm/s | Transportrate |
| L | H | Induktivität |
| L_A | H | Anpassungsinduktivität |
| Δm | ng/cm^2 | Massenbelegung, Belegungs-dichte, Oberflächenkonzentration |
| N_P | - | Anzahl der Fingerquartette |
| p | $mbar$ | Fluiddruck |
| Q | - | Güte |
| R | Ω | elektrischer Widerstand |
| S | - | mechanische Dehnung |
| S_L, C_l | $m^2/(kg \cdot s^{0,5})$ | Flüssigkeitsempfindlichkeit |
| S_M, C_f | $Hz \cdot cm^2/ng$ | Massenempfindlichkeit |
| T | $^{\circ}C$ | Temperatur |
| T | Pa | mechanische Spannung |
| t | sec | Zeitvariable |
| u | m | Ortsauslenkung |
| V | V | Spannung |
| \dot{V} | $\mu l/min$ | Flussrate |
| v | m/s | Wellengeschwindigkeit |
| $\Delta v/v$ | - | Relative Geschwindigkeitsänderung |
| v_c | m/s | Wellengeschwindigkeit der Kompressionswelle |
| W | m | Fingerüberlappung |
| x, y, z | - | Ortskoordinaten |
| Y | S | elektrische Admittanz |
| Z | $kg/(s \cdot m^2)$ | akustische Impedanz |
| Z_{el} | Ω | elektrische Impedanz |
| Z_{mech} | $A \cdot Z$ | mechanische Impedanz |
| α | $1/m$ | Dämpfung (SAW-Sensor) |
| $\Delta \alpha/k$ | - | Relative Dämpfungsänderung |
| Γ | Hz | Dämpfung (QCM-Sensor) |
| $\Delta \Gamma$ | Hz | Dämpfungsänderung (QCM-Sensor) |
| γ | $\%$ | Metallisierungsrate |
| δ | m | Eindringtiefe |
| ϵ_0 | $8,854 \cdot 10^{-12} F/m$ | Dielektrische Konstante im Vakuum |
| ϵ_s, ϵ_l | ϵ_0 | Relative Dielektrizitätszahl von Substrat und Flüssigkeit |
| η_q, η_s | $mPa \cdot s$ | Viskosität von Quarz, Schicht |
| η_l | $mPa \cdot s$ | Viskosität der Flüssigkeit (Nullviskosität) |
| θ | - | Belegungsgrad der Sensorfläche |
| κ | - | Koppelkonstante |
| Λ | mol/cm^2 | Besetzte Bindungsplätze |

| | | |
|--------------------------|------------|--|
| Λ_{max} | mol/cm^2 | maximal verfügbare Bindungsplätze |
| λ | m | Wellenlänge |
| λ_c | m | Kompressionswellenlänge |
| ξ | deg | Verlustwinkel |
| ρ_q, ρ_s, ρ_l | kg/m^3 | Dichte von Quarz, Schicht, Flüssigkeit |
| σ_{2min} | Hz | Standardabweichung der Frequenz in 2-Min-Intervall |
| τ_s | sec | Relaxationszeitkonstante |
| Φ | C/m | Transformationsverhältnis |
| ϕ | rad | Phase |
| φ | $grad$ | Schnittwinkel |
| φ_{el} | V | elektrisches Potential |
| ω | $1/s$ | Kreisfrequenz $2\pi f_0$ |

Bemerkungen:

- die komplexe Einheit i ist definiert als $i = \sqrt{-1}$
- komplexe Größen tragen den Operator „ $\hat{}$ “:
 $\hat{a} = a' + ia''$ mit $a' = \text{Re}(\hat{a})$ und $a'' = \text{Im}(\hat{a})$
- alle Einheiten nach SI-System

Literaturverzeichnis

- [ABE94] F. Aberl, H. Wolf, C. Kößlinger, P. Woias, *HIV Serology using Piezoelectric Immunosensors*, Sens. Actuators B 18-19 (1994) 271-275.
- [ADA95] G. Adam, P. Läuger, G. Stark, *Physikalische Chemie und Biophysik*, Springer-Verlag Berlin, 1995.
- [AHL91] A. Ahluwalia, D. De Rossi, C. Ristori, A. Schirone, *A comparative study of protein immobilization techniques for optical immunosensors*, Bios. Bioelectr. 7 (1991) 207-214.
- [AND94] J.C. Andle, J.F. Vetelino, *Acoustic wave biosensors*, Sens. Actuators A 44 (1994), 167-176.
- [AUL90] B.A. Auld, *Acoustic fields and waves in solids*, Krieger publishing company, Malabar/USA, 1990.
- [BAN99] H.L. Bandey, S.J. Martin, R.W. Cernosek, *Modeling the Response of Thickness-Shear Mode Resonators under Various Loading Conditions*, Anal. Chem. 71 (1999) 2205-2214.
- [BAS83] G.J. Bastiaans, J.E. Roederer, *Microgravimetric immunoassay with piezoelectric crystals*, Anal. Chem. 55 (1983) 2333-2336.
- [BEC61] R. Bechmann, *Quartz AT-Type Filter Crystals for the Frequency Range 0.7 to 60 Mc*, Proc. of the IRE, 49,1-3 (1961) 523-524.
- [BEN88] E. Benjamini, S. Leskowitz, *Immunologie - Ein Kurzlehrbuch*, Schwer Verlag, Stuttgart, 1988.
- [BIA94] *BIATechnology Handbook*, Pharmacia Biosensor AB, Uppsala/Schweden, 1994.
- [BLE68] J. Bleustein, *A new surface wave in piezoelectric materials*, Appl. Phys. Lett. 13/12 (1968) 412-413.
- [BÖH81] G. Böhme, *Strömungsmechanik nicht-newtonscher Fluide*, Teubner-Studienbücher, Stuttgart, 1981.
- [CAL87] G.S. Calabrese, H. Wohltjen, M.K. Roy, *Surface acoustic wave devices as chemical sensors in liquids: evidence disputing the importance of Rayleigh wave propagation*, Anal. Chem. 59 (1987) 833-837.
- [COS96] V. Costa, *ELISA-Ergebnisse mit Realsерumproben*, Gulbenkian-Institute, Portugal, 1996.

- [CUR80] M. Curie, P. Curie. *Développement par compression de l'électricité polaire dans les cristaux hémihédres à faces inclinées*. Bull. Soc. Min. Paris 3 (1880) 90-93.
- [DAH99] R. Dahint, F. Bender, F. Morhard, *Operation of acoustic plate mode Immunosensors in complex biological media*, Anal. Chem. 71 (1999) 3150-3156.
- [DAT80] S. Datta, B. Hunsinger, *Element factor for Periodic Transducers*, IEEE Transactions on sonic and ultrasonics, Vol. SU-27, No. 1, (1980) 42-44.
- [DEA88] M. Deakin, T. Li, O. Melroy, *A Study of the electrosorption of bromide and iodide ions on gold using the QCM*. J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem. 243 (1988) 343-351.
- [DET95] J. Détaint, B. Capelle, A. Zarka, Y. Zheng, *A new model for the thickness shear resonators with spherical contours: application to bevelled devices*, IEEE Int. Freq. Control Symp. 1995, 716-726.
- [DIE80] E. Dieulesaint, D. Royer, *Elastic Waves in Solids*, John Wiley & Sons, New York, 1980.
- [DRO00] A. Drost, interne Mitteilung, Mikrotechnologie, Fraunhofer-IMS München, 2000.
- [DRO93] H. Drobe, A. Leidl, M. Rost, I. Ruge, *Acoustic sensors based on surface-localized HPSWs for measurements in liquids*, Sens. Actuators A 37-38 (1993) 141-148.
- [EDD88] M.J. Eddowes, *Direct Immunochemical Sensing*, Biosensors 3 (1987/88) 1-15.
- [EGG87] F. Eggers, T. Funck, *Method for measurement of shear-wave impedance in the MHz region for liquid samples of about 1 ml*, J. Phys. E: Sci. Instrum. 20 (1987) 523-530.
- [EHR95] W. Ehret, *Diagnosis of legionella infection*, Internist. (Berl.), 36 (1995) 106-113.
- [FIL94] C. Filiâtre, C. Bardèche, M. Valentin, *Transmissions-line model for immersed Quartz-crystal sensors*, Sens. Actuators A 44 (1994) 137-144.
- [FIL95] M. Filkorn, *Oberflächenwellenfilter als Flüssigkeitssensoren*, Diplomarbeit in Physik, Technische Universität München, 1995.
- [FUR97] N. Furlong, F. Caruso, E. Rodda, V. Haring, *DNA binding and hybridization on gold and derivatized surfaces*, Sens. Actuators B 41 (1997) 189-197.
- [GED98] E. Gedig, D. Trau, M. Orban, *Echtzeitanalyse biomolekularer Wechselwirkungen*, LaborPraxis 02/1998.
- [GIZ93] E. Gizeli, A. Stevenson, N. Goddard, C. Lowe, *Acoustic Love plate sensors: comparison with other acoustic devices utilizing surface SH waves*, Sens. Actuators B 13-14 (1993) 638-639.
- [GRA94] V. Granstaff, S.J. Martin, *Characterization of a thickness-shear mode quartz resonator with multiple nonpiezoelectric layers*, J. Appl. Phys. 75 (1994) 1319-1329.
- [GRZ87] A. Grzegorzewski, K. Heusler., J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem. 228 (1987) 455.
- [GUI75] G.G. Guilbault, A. Lopez-Roman, Environ. Lett., 2 (1975) 35.
- [GUI92] G. Guilbault, *Development of a piezoelectric immunosensor for the detection of enterobacteria*. Enzyme Microb. Technol. 14 (1992) 230-235.
- [HAR97] J. Harteveld, M. Nieuwenhuizen, E. Wils, *Detection of Staphylococcal Enterotoxin B employing a piezoelectric crystal immunosensor*, Bios. Bioelectr. 12 (1997) 661-667

- [HER92] G.T. Hermanson, *Immobilized Affinity Ligand Techniques*, Academic Press, 1992.
- [HES81] W.R. Hess, *African Swine Fever - A Reassessment*, *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 25 (1981) 39-69.
- [HEU88] K.E. Heusler, A. Grzegorzewski, L. Jäckel, J. Pietrucha, *Measurement of Mass and Surface Stress at one electrode of a quartz oscillator*, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 92 (1988) 1218-1225.
- [HOR84] M. Horisberger, M. Vauthey, *Labelling of colloidal gold with protein*. *Histochemistry* 80 (1984) 13-18.
- [IKE90] T. Ikeda, *Fundamentals of Piezoelectricity*, Oxford University Press, 1990.
- [JOH91] D. Johannsmann, *Einsatz von Quarz-Resonatoren und Ellipsometrie zur viskoelastischen Charakterisierung von dünnen Schichten und Adsorbaten*, Dissertation, Universität Mainz, 1991.
- [KAN85] K.K. Kanazawa, J.G. Gordon II, *The Oscillation Frequency of a Quartz Resonator in Contact with a Liquid*, *Anal. Chim. Acta* 175 (1985) 99-105.
- [KAS98] A. Kassis, *Charakterisierung hochfrequenter Grundtonschwingquarze im Bereich 50-300 MHz*, Dissertation, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 1998.
- [KIN64] W.H. King, *Piezoelectric Sorption Detector*, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 1735-1739.
- [KOC00] S. Koch, H. Wolf, C. Danapel, K. Feller, *Optical flow-cell multichannel immunosensor for the detection of biological warfare agents*, *Bios. Bioelectr.* 14 (2000) 779-784.
- [KON80] P.L. Konash, G.J. Bastiaans, *Piezoelectric Crystals as Detectors in Liquid Chromatography*, *Anal. Chem.* 52 (1980) 1929
- [KON93] J. Kondoh, S. Shiokawa, *A Liquid Sensor based on a shear horizontal SAW device*, *Electronics and Communication in Japan, Part 2*, 76 (1993) 69-82.
- [KÖS92] C. Kößlinger, M. Engelbrecht, *Sensoranordnung zum Nachweisen eines Stoffes in einer Flüssigkeit*, Patent, Deutsches Patentamt 4028500, 1992.
- [KÖS94] C. Kößlinger, S. Drost, H. Wolf, *Quartz crystal microbalance for immunosensing*, *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 349-354.
- [KÖS95] C. Kößlinger, E. Uttenthaler, S. Drost, H. Wolf, et al., *Comparison of the QCM and the SPR method for surface studies and immunological applications*, *Sens. Actuators B* 24-25 (1995) 107-112.
- [KÖS97] C. Kößlinger, K. Öttl, Unveröffentlichte Ergebnisse, Fraunhofer IFT München, 1997.
- [KÖS98] C. Kößlinger, E. Uttenthaler, T. Abel, S. Hauck, S. Drost, *Comparison of the determination of affinity constants with surface plasmon resonance and quartz crystal microbalance*, Abstract Euroensors, 1998.
- [KRE71] E. Kretschmann, *Die Bestimmung optischer Konstanten von Metallen durch Anregung von Oberflächenplasmaschwingungen*, *Z. Physik* 241 (1971) 313-324.
- [KUC88] H. Kuchling, *Taschenbuch der Physik*, Verlag Harri Deutsch, Thun, 1988.
- [LAN97] P. Langer, *Optimierung einer HF-Oszillatorschaltung für Oberflächenwellensensoren*, Diplomarbeit, Technische Universität München, 1997.

- [LAU00] T. Laurent, F.O. Bastien, J. Pommier et al., *Lamb wave and plate mode in ZnO/silicon and AlN/silicon membrane. Application to sensors able to operate in contact with liquid*, Sens. Actuators A 87 (2000) 26-37.
- [LEE81] D.L. Lee, *Analysis of Energy Trapping Effects for SH-Type Waves on Rotated Y-Cut Quartz*, IEEE Transactions on Sonics and Ultrasonics, Vol 28, No. 5, 1981.
- [LEI92] A. Leidl, *Rechnergestützte Untersuchungen zur Nutzung von Sensoren auf der Basis von Oberflächenbauelementen für Messungen in Flüssigkeiten*, Diplomarbeit, Technische Universität München, 1992.
- [LEI98] A. Leidl, *Oberflächenwellenbauelemente als Sensoren für Flüssigkeiten und Beschichtungen*, Dissertation, Universität der Bundeswehr München, 1998.
- [LOK83] B.R. Lok, Y. Cheng, C. Robertson, *Protein Adsorption on Crosslinked Polydimethylsiloxane using total internal reflection Fluorescence*, J. Colloid and Interface Science 91 (1983) 104-116.
- [LUC97] R. Lucklum, C. Behling, R.W. Cernosek, S. Martin, *Determination of complex shear modulus with thickness shear mode resonators*, J. Phys. D: Appl. Phys. 30 (1997) 346-356.
- [LUC97b] R. Lucklum, S. Schranz, C. Behling, F. Eichelbaum, P. Hauptmann, *Analysis of compressional-wave influence on thickness-shear-mode resonators in liquids*, Sens. Actuators A 60 (1997) 40-48.
- [MAR00] K. Marx, T. Zhou, M. Warren, H. Schulze, S. Braunhut, *The quartz crystal microbalance as a Continuous Monitoring Tool for the study of endothelial cell surface attachment and growth*, Biotechnol. Prog. 16 (2000) 268-277.
- [MAR89] S.J. Martin, A.J. Ricco, T.M. Niemczyk, G.C. Frye, *Characterization of SH Acoustic Plate Mode Liquid Sensors*, Sens. Actuators A 20 (1989) 253-268.
- [MAR94] S.J. Martin, G.C. Frye, S.D. Senturia, *Dynamics and Response of Polymer-Coated Surface Acoustic Wave Devices: Effect of Viscoelastic Properties and Film Resonance*, Anal. Chem. 66 (1994) 2201-2219.
- [MAS48] W.P. Mason, *Electromechanical transducers and wave filters*, van Nostrand, New York, 1948.
- [MAS50] W.P. Mason, *Piezoelectric Crystals and Their Application to Ultrasonics*, van Nostrand, New York, 1950.
- [MAS65] W.P. Mason (Editor), *Physical acoustics*, Academic Press, New York, Vol. II A, 1965.
- [MAT75] G.L. Matthael, D.Y. Wong, B.P. O'Shaughnessy, P. Brian, *Simplifications for the analysis of interdigital surface-wave devices*, IEEE Transactions on Sonics and Ultrasonics, Vol. SU-22, No. 2, 1975.
- [MER00] R. Merkel, *AFM-Untersuchungen*, Fraunhofer IZM München, 2000.
- [MOR85] D.P. Morgan, *Surface-wave devices for signal processing*, Elsevier, Amsterdam, 1985.
- [NAK90] T. Nakamoto, T. Moriizumi, *A Theory of a quartz crystal microbalance based upon a Mason Equivalent Circuit*, Japanese J. Applied Physics 29 (1990) 963-969.
- [NEU97] B. Neubig, W. Brise, *Das große Quarzkochbuch*, Feldkirchen, Franzis-Verlag, 1997.

- [NIE88] T.M. Niemczyk, S.J. Martin, G.C. Frye, A.J. Ricco, *Acoustoelectric interaction of plate modes with solutions*, J. Appl. Phys. 64/10 (1988) 5002-5008.
- [NIE89] M. Nieuwenhuizen, A. Venema, *Surface Acoustic Wave Chemical Sensors*, Sens. Materials 5 (1989) 261-300.
- [NOM80] T. Nomura, A. Minemura, Nippon Kagaku Kaishi, 1980 (1980) 1261.
- [ÖTT96] K. Öttl, *Entwicklung und Charakterisierung von Methoden zum Nachweis von Bakterien mit der Quarzkristall-Mikrowaage*, Diplomarbeit FH-München, 1996.
- [PEL94] M. Peller, *Der physikalische Einfluss einer Flüssigkeit auf die Resonanzfrequenz von Schwingquarzen*, Diplomarbeit, Technische Universität München, 1994.
- [POL96] R. Polzius, T. Schneider, F. Bier, U. Bilitewski, *Optimization of biosensing using grating couplers: immobilization on tantalum oxide waveguides*, Bios. Bioelectr. 5 (1996) 503-514.
- [RAY85] Lord Rayleigh, *On waves propagated along the plane surface of an elastic solid*. Proceedings of the London Mathematical Society, 17 (1885) 4-11.
- [RIC97] J. Rickert, A. Brecht, W. Göpel, *QCM Operation in liquids: Constant Sensitivity during formation of extended protein multilayers by affinity*, Anal. Chem. 69 (1997) 1441-1448.
- [RIS83] V.M. Ristic, *Principles of acoustic devices*, John Wiley&Sons, New York, 1983.
- [ROS88] J.F. Rosenbaum, *Bulk Acoustic Wave Theory and Devices*, Artech House Boston London, 1988.
- [RUF98] J.C. Pyun, H. Beutel, J.-U. Meyer, H.H. Ruf, *Development of a biosensor for E. coli based on a flexural plate wave (FPW) transducer*, Bios. Bioelectr. 7-8 (1998) 839-845.
- [SAU59] G. Sauerbrey, *Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung*, Z. Physik 155 (1959) 206-222
- [SCH69] H. Schilling, W. Pechhold, *Zwei Quarzresonatormethoden zur Untersuchung des komplexen Schubmoduls von Polymeren*, Acustica 22 (1969) 244-253.
- [SCH73] W.W. Schulz, W.H. King, J. Chromatogr. 11 (1973) 343.
- [SCH85] R. Schumacher, G. Borges, K.K. Kanazawa, *The quartz crystal microbalance: A sensitive tool to probe surface reconstructions on gold electrodes in liquid*, Surface Science, 163 (1985) L621-L626.
- [SCH90] R. Schumacher, *Die Quarzmikrowaage: Eine neue Meßtechnik zur in-situ-Untersuchung des Phasengrenzgebietes fest/flüssig*, Angewandte Chemie, 102 (1990) 347-361.
- [SCH95] G. Schramm, *Einführung in Rheologie und Viskosimetrie*, Gebrüder Haake GmbH, Karlsruhe, 1995.
- [SCH95b] T.W. Schneider, S.J. Martin, *Influence of Compressional Wave Generation on Thickness-Shear Mode Resonator Response in a Fluid*, Anal. Chem. 67 (1995) 3324-3335.
- [SCH96] M.v. Schickfus, W. Welsch, C. Klein, S. Hunklinger, *Development of a Surface Acoustic Wave Immunosensor*, Anal. Chem. 68 (1996) 2000-2004.

- [SCH98] M.v. Schickfus, M. Weiss, W. Welsch, S. Hunklinger, *Viscoelastic Behavior of Antibody Films on a Shear Horizontal Acoustic Surface Wave Sensor*, Anal. Chem. 14 (1998) 2881-2887.
- [SHA91] Z.A. Shana, *Theoretical analysis of the piezoelectric crystal/liquid interface for liquid-phase-based sensor applications*, Dissertation, Marquette University /USA, 1991.
- [SHO72] A. Shons, F. Dorman, J. Najarian, *An Immunospecific microbalance*, J. Biomed. Matter. Res. 6 (1972) 565-570.
- [SKL97] P. Skladal, C. Steegborn, *Construction and characterization of the direct piezoelectric immunosensor for atrazine operating in solution*, Bios. Bioelectr. 12 (1997) 19-27.
- [STI97] M. Stiene, U. Bilitewski, *Electrochemical Detection of African Swine Fever Virus in Pig serum with a competitive separation Flow Injection Analysis-immunoassay*, Analyst 122 (1997) 155-159.
- [THO95] M. Thompson, H. Su, *Kinetics of interfacial nucleic acid hybridization studied by acoustic network analysis*, Bios. Bioelectr. 10 (1995) 329-340.
- [THU84] R.N. Thurston, *Waves in Solids*, Kapitel 36, Seite 257, in Encyclopedia of Physics, Ed. S. Flügge, Volume VIa/4, Springer-Verlag, Heidelberg, 1984.
- [UTT01] E. Uttenthaler, J. Mandel, M. Schräml, S. Drost, *Ultrasensitive Quartz Crystal Microbalance Sensors for Detection of M13-Phages in Liquids*, Bios. Bioelectr. 16 (2001) 735-743.
- [UTT95] E. Uttenthaler, *Untersuchungen zum Messeffekt bei Schwingquarz-Immunosensoren*, Diplomarbeit in Physik, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1995.
- [UTT98] E. Uttenthaler, C. Kößlinger, S. Drost, *Characterization of immobilization methods for African Swine fever virus protein and antibodies with a piezoelectric immunosensor*, Bios. Bioelectr. 13 (1998) 1279-1286.
- [UTT98b] E. Uttenthaler, C. Kößlinger, S. Drost, *Quartz crystal biosensor for the detection of the African Swine Fever disease*, Anal. Chim. Acta 362 (1998) 91-100.
- [VID97] M. Vidal, A. Oliva, *Optical immunosensor to detect African Swine Fever virus and antibodies*, Sens. Actuators B 38-39 (1997) 448-451.
- [VIG94] J.R. Vig, F.L. Walls, *Fundamental Limits on the Frequency Instabilities of Quartz Crystal Oscillators*, IEEE Int. Freq. Control Symp., (1994) 506-521.
- [WAR93] D. Ward, Z. Lin, C. Yip, S. Joseph, *Operation of an Ultrasensitive 30-MHz Quartz Crystal Microbalance in Liquids*, Anal. Chem. 65 (1993) 1546-1551.
- [WEA87] R.C. Weast, *Handbook of Chemistry and Physics*, 67th Edition, CRC-Press, 1986-87.
- [WES96] T. Wessa, *Entwicklung eines Immunosensors auf der Basis akustischer Oberflächenwellen*, Dissertation, Universität Karlsruhe, 1996.
- [WHI65] R.M. White, F.W. Voltmer, Appl. Phys. Lett. 7 (1965) 314.
- [WIL99] E. Wilkins, I. Abdel-Hamid, D. Ivnitzki, P. Atanasov, *Highly sensitive flow-injection immunoassay system for rapid detection of bacteria*, Anal. Chim. Acta 399 (1999) 99-108.
- [WOH79] H. Wohltjen, R. Dessy, *Surface Acoustic Wave Probes for Chemical Analysis I-III*. Anal. Chem. 51 (1979) 1458,1465,1470.

- [YAC02] E. Yacoub-George, L. Meixner, W. Scheithauer, A. Koppi, S. Drost, H. Wolf, C. Danapel, K. Feller, *Chemiluminescence Multichannel Immunosensor for Biodetection*, *Anal. Chim. Acta* 457 (2002) 3-12.