

Charakterisierung einer mikro- fluidischen Sensorplattform für die online Ionenanalytik

Dissertation
Zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
Im Promotionsfach Chemie

Am Fachbereich Chemie, Pharmazie, Geographie und Geowissen-
schaften der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Johanna Fröhlich

Geb. in Bad Salzungen

Mainz, 2022

1. Berichtstatter:
2. Berichtstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 28.06.2022

Danksagung

Sperrvermerk

Die vorliegende Doktorarbeit basiert auf internen, vertraulichen Daten und Informationen des Fraunhofer IMM, Carl-Zeiss-Str. 18-20, 55129 Mainz. Sie darf Dritten, mit Ausnahme der nach der Prüfungsordnung notwendigen Prüferinnen und Prüfer, die zur Geheimhaltung verpflichtet wurden, ohne ausdrückliche schriftliche vorherige Zustimmung des Fraunhofer IMM, nicht zugänglich gemacht werden. Eine Vervielfältigung und Veröffentlichung der Doktorarbeit ohne vorherige schriftliche Zustimmung – auch auszugsweise – ist nicht erlaubt. Dieser Sperrvermerk gilt für 1 Jahr ab Übergabe der Doktorarbeit.

Kurzzusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine mikrofluidische Sensorplattform für die quantitative Analyse von Ionen in wässrigen Lösungen entwickelt und charakterisiert. Das mikrofluidische Durchflusssystem mit integrierten Sensoren dient der zeitaufgelösten online Prozessüberwachung und Qualitätskontrolle in Branchen der Chemieindustrie, Umwelt- und Bioanalytik.

Ziel war es, eine mikrofluidische Sensorplattform zu entwickeln, welche den Gehalt eines spezifischen Ions in einer wässrigen Lösung mittels Titration und Standardaddition in einem Durchflusssystem zeitaufgelöst bestimmt. Zu diesem Zweck wurden passive Mikromischer und ionenselektive Elektroden (Abk.: ISE) als Sensorsystem in die Plattform integriert. Im Zuge dieser Arbeit wurden die einzelnen Komponenten der Plattform charakterisiert. Abschließend wurde die Funktionalität der Sensorplattform evaluiert, indem pH-Wert und Fluoridkonzentration einer wässrigen Lösung mit Hilfe der chipbasierte Säure-Base-Titration und Standardaddition ermittelt wurden.

Während der chipbasierten Titration und Standardaddition werden Standardlösungen in das Durchflusssystem eingeleitet. Um die Anforderung einer gezielten und präzisen Messung eines Analytions zu erfüllen, muss eine vollständige Durchmischung der Lösungen im mikrofluidischen System vorliegen. Passive 3D *Split-and-Recombine* Mikromischer wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht und wiesen eine nahezu homogene Durchmischung von Lösungen unterschiedlicher Konzentration bei niedrigen Reynolds-Zahlen von 1 bis 10 auf.

Kernstück der Mikrochips waren ionenselektive PVC-Flüssigmembranelektroden, welche als Sensoren für die potentiometrische Messung von H⁺- und F⁻-Ionen hergestellt und in das System integriert wurden. Für den Aufbau einer Sensorplattform in der chemischen Analytik müssen die integrierten Elektroden in der Lage sein, das Analyt in einem relevanten Konzentrationsbereich spezifisch und selektiv nachzuweisen. Daher wurden H⁺-selektive PVC-Flüssigmembranelektroden hinsichtlich Ansprechverhalten, Spezifität, Selektivität und Reproduzierbarkeit eingehend charakterisiert. Der Goldstandard für die Messung des pH-Werts ist die H⁺-selektive Glasmembranelektrode mit einem linearen Ansprechbereich von pH 1 bis pH 14. An diesen Bereich konnten die hergestellten H⁺-ISE mit einem linearen Ansprechbereich von pH 4 bis pH 11 nicht anschließen. Der Vorteil von H⁺-ISE liegt in der Miniaturisierbarkeit durch den Auftrag der ionenselektiven Membran auf einen Festkontakt, welcher aus einem festen Substrat besteht. Dadurch konnten sie in das mikrofluidische System integriert werden und lieferten im genannten Arbeitsbereich reproduzierbare Messwerte.

Die Evaluierung der chipbasierten Säure-Base-Titrationen zeigte, dass der pH-Wert einer schwachen Säure durch die simultane Durchflusstitation einer starken Base präzise und reproduzierbar ermittelt werden kann. Für die Evaluierung der chipbasierten Standardaddition im Durchflusssystem wurden F⁻-selektive PVC-Membranelektroden hergestellt und in die Plattform integriert, sodass der Fluoridgehalt in einer Pufferlösung und in Listerine® Mundspülung ermittelt werden konnte. Die Ergebnisse zeigten, dass der Aufbau der mikrofluidischen Plattform sowie die Integration ionenselektiver PVC-Membranelektroden für die quantitative Bestimmung der Ionen in wässrigen Lösungen mittels Durchflusstitation und Standardaddition geeignet sind.

Abstract

In process of this work a microfluidic sensor platform for the quantitative analysis of ions in aqueous solutions was developed and characterised. The microfluidic flow-through system includes integrated sensors for the time-resolved online process monitoring and quality control in areas of chemical industry as well as environmental and bioanalysis.

Goal of this research study was the development of a sensorplatform in order to analyse the amount of a specific ion in an aqueous solution by titration and standard addition in a online flow-through system. Therefore, passive micromixers and ionselective electrodes (ISE) were integrated onto a microfluidic platform. In the course of this study the components of the platform were individually examined and characterised. In conclusion the functionality of the sensor platform was evaluated by measurements of the pH-value and amount of fluorid in aqueous solutions by titration and standard addition based on the microfluidic flow-through system on the chip.

In case of titration and standard addition, a standard solution is additionally induced to the flow-through system. For a precise and specific measurement of the analyte ion, sample and standard solution must be mixed completely. Therefore passive 3D *split-and-recombine* micromixers were integrated onto the microfluidic platform and carefully examined. A homogeneous mixing was reached at low Reynold numbers of 1 to 10.

Ionselective PVC liquid membrane electrodes were prepared and used as sensors for the potentiometric measurement of H^+ and F^- ions. The aim is to detect the target ion specifically and selectively in a certain area of concentration. Therefore H^+ -selective electrodes were characterised with regard to their sensitivity, specificity, selectivity and reproducibility. The gold standard of pH measurement is the glass membrane electrode which shows a linear working area from pH 1 to pH 14. The self-made H^+ -selective electrodes were able to perform in a linear working area of pH 4 to pH 11. The advantage of this kind of electrodes is the possibility of miniaturisation due to a solid contact. The ionselective membrane is directly casted on a solid material and can be integrated into a microfluidic system easily.

The pH-value of a weak acid was precisely and reproducable obtained by chipbased and simultaneous acid-base-titration on a microfluidic flow-through platform. The amount of fluorid in an aqueous solution and in Listerine® mouth water was determined by a chipbased standard addition method. The results show that the design of the microfluidic sensor platform and the integration of ionselective electrodes are suitable for the determination of the amount of ions in aqueous solutions by titration and standard addition in a flow-through system.

Inhalt

Danksagung.....	i
Sperrvermerk	ii
Kurzzusammenfassung	iii
Abstract.....	iv
1 Motivation und Zielstellung.....	1
2 Theoretische Grundlagen	3
2.1 Mikrofluidik.....	3
2.1.1 Grundlagen der Fluiddynamik	3
2.1.2 Mikrofluidische Systeme.....	7
2.1.3 Mikrofluidische Durchmischung	8
2.2 Ionenselektive Elektroden – Potentiometrische Messung der Ionenaktivität.....	12
2.2.1 Grundlagen der potentiometrischen Messung.....	12
2.2.2 Aufbau und Arbeitsweise ionenselektiver Elektroden.....	16
2.2.3 Charakteristische Kenngrößen ionenselektiver Elektroden	21
2.2.4 Einsatz ionenselektiver Elektroden für quantitative Analysemethoden	25
2.3 Stand der Wissenschaft und Technik	29
3 Material und Methoden	31
3.1 Die mikrofluidische Plattform.....	31
3.1.1 Konstruktion und Herstellung der Plattform	32
3.2 PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt	35
3.2.1 Herstellung der Membran	35
3.2.2 Herstellung des Graphit-Festkontakts	36
3.2.3 Integration in die mikrofluidische Plattform	36
3.3 Der experimentelle Aufbau	38
3.3.1 Messaufbau und Elektronik	38
3.3.2 Messprinzip und Auswertung.....	39
3.3.3 Statistische Auswertung und Messfehler	40
3.4 Untersuchung der Mischeffektivität passiver 3D SAR Mikromischer	43
3.5 Charakterisierung ionenselektiver PVC-Flüssigmembranelektroden	45
3.5.1 Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten	45
3.5.2 Dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem	46
3.6 Chipbasierte Analysemethoden zur Bestimmung der Ionenkonzentration im Durchflusssystem	47
3.6.1 Chipbasierte Durchflusstitration	47
3.6.2 Chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem	50
4 Ergebnisse und Diskussion.....	53
4.1 Untersuchung passiver 3D Split-and-Recombine Mikromischer	53
4.1.1 Untersuchung des Mikromischers <i>Two-Layer-Crossing-Channel</i>	54
4.1.2 Untersuchung des Mikromischers <i>Twisted</i>	57
4.1.3 Vergleich der Mikromischer und Fazit.....	60
4.2 Charakterisierung Wasserstoffselektiver PVC-Flüssigmembran-Elektroden mit Graphit-Festkontakt	62
4.2.1 Ansprechverhalten und Arbeitsbereich	63
4.2.2 Selektivität und Spezifität	67
4.2.3 Stabilität und Reproduzierbarkeit	71
4.2.4 Dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem	73
4.3 Chipbasierte Durchflusstitration mit ionenselektiven Elektroden	76
4.3.1 Chipbasierte Durchflusstitration einer schwachen Säure mit einer starken Base	77
4.3.2 Chipbasierte Durchflusstitration einer starken Säure mit einer starken Base	86

4.3.3	Fazit der chipbasierten Durchflusstitation	95
4.4	Chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem mit ionenselektiven Elektroden	96
4.4.1	Ermittlung des Fluoridgehalts in einer MES-Pufferlösung	96
4.4.2	Ermittlung des Fluoridgehalts in Listerine Mundspülung	98
4.4.3	Fazit der chipbasierten Standardaddition	101
5	Zusammenfassung	102
6	Ausblick	104
Anhang A		I
Chemikaliennachweis		I
Liste der verwendeten Einheiten und Symbole		III
Konstanten		V
Abkürzungen		VI
Abbildungsverzeichnis		VII
Tabellenverzeichnis		XI
7	References	XIV

1 Motivation und Zielstellung

Die Mikrofluidik befasst sich mit Strömungs- und Transportprozessen in Kanälen und Strukturen, die im Mikrometerbereich dimensioniert sind. In der Forschung und Entwicklung werden mikrofluidische Systeme allgemein als Lab-on-a-Chip (Abk.: LOC) und Mikrototalanalysesysteme (Abk.: μ TAS, Micro Total Analysis System) bezeichnet [57, 88, 95]. Dabei handelt es sich um mikrostrukturierte Systeme, welche unterschiedliche Funktionen eines Labors im Mikromaßstab nahtlos auf einem Substrat in Chipkartengröße miteinander verknüpfen. Solche chipbasierten mikrofluidischen Plattformen enthalten Kanäle mit Durchmessern im Bereich 10 bis 400 μ m, sowie Reaktions- und Analyseammern, in welchen einzelne Prozessschritte wie z.B. Probennahme, Filtration, Verdünnung, chemische Reaktion oder Trennung stattfinden. Integrierte Sensoren sind in der Lage, Analyten zu detektieren und quantitative Auswertungen durchzuführen [56, 63].

Aufgrund des hohen Verhältnisses der Oberfläche zum Volumen haben miniaturisierte Durchflusssysteme die Vorteile einer hohen Prozessgeschwindigkeit und eines minimalen Energie- und Ressourcenverbrauchs, wodurch sie für eine Vielzahl an Anwendungen von Relevanz sind [63]. Physikalische Gesetze, welche die Fluidynamik im makroskopischen Maßstab beschreiben, sind auch für mikrofluidische Systeme anwendbar [57]. Aufgrund ihrer physikalischen Charakteristik bieten mikrofluidische Systeme zusätzliche Vorteile. Sie ermöglichen es, Reagenzien zu einem exakten Zeitpunkt in einen Prozess einzuleiten, sodass chemische Reaktion mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung überwacht und kontrolliert werden können. Aufgrund der hohen Geschwindigkeit und guten Kontrollierbarkeit des Prozesses, sowie der Kompaktheit und Kosteneffizienz des Systems, werden mikrofluidische Plattformen im Bereich Trinkwasser-, Umwelt- und Prozessmonitoring erforscht und entwickelt [31, 47, 52]. Durch geometrische Maße im Mikrobereich entsteht ein kleines Innenvolumen, wodurch der Verbrauch an Lösungen und Chemikalien deutlich verringert wird. Dies ist besonders für bioanalytische und pharmazeutische Anwendungen von Vorteil, da hier preisintensiver Reagenzien oder geringe Probevolumina vorliegen [10, 108]. Der hohe Automatisierungsgrad mikrofluidischer Systeme ist ein weiterer Vorteil.

Bei Design und Auslegung mikrofluidischer Systeme und Komponenten (Pumpen, Ventile, Mischer, etc.) müssen die für den Mikromaßstab charakteristischen Eigenschaften beachtet werden. Charakteristisch für den mikrotechnischen Maßstab ist ein großes Oberflächen-Volumen Verhältnis, welches sich begünstigend auf den Wärme- und Stofftransport auswirkt [65, 75, 88, 95]. Aufgrund der Dimension im Mikrobereich dominieren Reibungskräfte über Trägheitskräfte, wodurch eine kleine Reynolds-Zahl und laminare Strömungsbedingungen vorliegen. Dies hat wiederum Auswirkung auf den Stofftransport während der Mischung zweier oder mehrerer Phasen [57].

Potentiometrische ionenselektive Elektroden (Abk.: ISE) bieten ein breites Anwendungsspektrum, weshalb sie in vielen Bereich der Wissenschaft, Forschung und Industrie eingesetzt werden. Zu den Vorteilen zählt u.a. der große lineare Arbeitsbereich von 4 bis 6 Größenordnungen, innerhalb dessen das Messsignal proportional zu Ionenaktivität ist. Die Messlösung wird nicht verbraucht oder unbrauchbar durch Kontamination. Dies ist vorteilhaft für Anwendungen in der medizinischen Diagnostik, bei der Verwendung eines kostenintensiven Materials oder geringen Probevolumen. ISE zeigen ein sehr gutes dynamisches Ansprechverhalten gegenüber dem Analyten. Durch die Möglichkeit der Miniaturisierung sind ionenselektive Elektroden im Mikromaßstab für Mikrosysteme wie LOC und μ -TAS sehr attraktiv. Als Mikroelektroden können miniaturisierte ISE platzsparend und an unzugänglichen Positionen angebracht werden.

Für die Bestimmung des pH-Wertes sind Glasmembranelektroden aufgrund der hohen Selektivität und des breiten Ansprechbereiches von pH 2 bis pH 12 der Goldstandard in der Labor- und Prozesstechnik. Die pH-Elektroden werden vor allem für die Säure-Base-Titration zur Ermittlung der unbekanntes Konzentration eines bekannten Stoffes eingesetzt. Als eines der etablierten quantitativen Standardanalyseverfahren beruht

die Säure-Base-Titration auf einer stöchiometrischen Umsetzung eines Analyten mit einem Titranten, welcher sukzessive der Messlösung zu dosiert wird. Über den volumetrischen Verbrauch und den auftretenden Äquivalenzpunkt der chemischen Reaktion wird die Anfangskonzentration des Analyten ermittelt [37]. Zu den Limitierungen der Glasmembranelektrode zählen ein hoher elektrischer Widerstand, Brüchigkeit des Materials und Instabilität der Messung bei Medien, welche Flusssäure enthalten [3]. Dadurch sind pH-Elektroden mit einer Glasmembran für viele Anwendungen im Bereich der Umwelt- und Bioanalytik nicht einsetzbar. Als Alternative haben sich Flüssigmembranelektroden mit einer polymeren Membran etabliert, welche durch H⁺-selektiven Membrankomponenten ebenfalls einen breiten Ansprechbereich von pH 2 bis pH 12 adressieren [5, 23, 62]. Gegenüber Flusssäure sind polymere Flüssigmembranelektroden unempfindlich, des Weiteren sind sie robust und einfach miniaturisierbar.

Thema der vorliegenden Arbeit ist der Aufbau und die Charakterisierung einer mikrofluidischen Sensorplattform für die chipbasierte Ionenanalytik im Durchflusssystem. Im Fokus steht dabei die kontinuierliche online Detektion der Ionen in wässrigen Lösungen durch potentiometrische Messungen. Zu diesem Zweck werden ionenselektive PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt in die mikrofluidische Plattform integriert und hinsichtlich ihrer charakteristischen Eigenschaften untersucht. Das Design der mikrofluidischen Plattform wird für die Durchführung der quantitativen Analysemethoden Titration und Standardaddition ausgelegt. Durch die Umsetzung der chipbasierten Miniaturisierung quantitativer Standardanalyseverfahren werden Vorteile der Mikrofluidik und ionenselektiver Elektroden kombiniert.

Ziel dieser Arbeit ist die einheitliche Betrachtung des gesamten mikrofluidischen Systems und seine Charakterisierung hinsichtlich kritischer Prozessparameter wie Präzision und Reproduzierbarkeit der Messwerte, Stabilität des Messsystems, Selektivität und Spezifität der Sensoren und Ansprechzeit im Durchflusssystem. Um die Zielstellung zu adressieren, werden die einzelnen Komponenten des Systems untersucht und evaluiert. Die Komponenten bestehen aus der mikrofluidischen Durchmischung und dem Sensorsystem mit H⁺-selektiven und F⁻-selektiven PVC-Flüssigmembranelektroden und Graphit-Festkontakt. An praxisnahen Beispielen der Säure-Base-Titration und der Bestimmung des Fluoridgehalts in wässrigen Lösungen mittels Standardadditionsverfahren wird die Funktionalität der mikrofluidischen Sensorplattform geprüft.

2 Theoretische Grundlagen

Im folgenden Kapitel werden die theoretischen Grundlagen der Hydrodynamik ausgehend vom makroskopischen Bereich hin zum mikroskopischen Bereich zusammengefasst. Anschließend wird das potentiometrische Messprinzip mit ionenselektiven Elektroden erläutert. Hierzu werden Aufbau und Funktion der unterschiedlichen Elektrodentypen vorgestellt. Der aktuelle Stand der Wissenschaft bezüglich mikrofluidischer Sensorplattformen für potentiometrische Analysesysteme wird anschließend zusammengefasst.

2.1 Mikrofluidik

2.1.1 Grundlagen der Fluidodynamik

Die Fluidodynamik ist ein Teilgebiet der Strömungslehre und befasst sich mit den physikalischen Gesetzmäßigkeiten der Bewegung von Fluiden [104]. Unter dem Begriff *Fluid* werden Flüssigkeiten und Gase zusammengefasst. Im Gegensatz zu Festkörpern geben Flüssigkeiten und Gase einer scheren Beanspruchung unbegrenzt nach. Abbildung 2.1 stellt eine quadratische Volumeneinheit dar, an deren Ober- und Unterseite entgegengesetzte Kräfte F tangential zur Oberfläche A ansetzen [81].

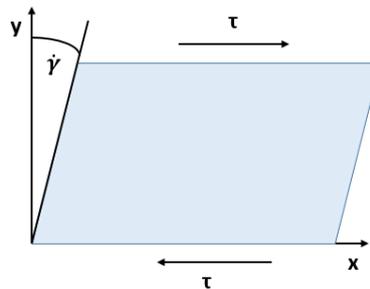


Abbildung 2. 1: Verformung der quadratische Volumeneinheit eines Fluides unter scherender Bewegung. Modifizierte Darstellung aus [81].

Auf den Quader wirkt die Tangentialspannung τ , auch Schubspannung genannt:

$$\tau = \frac{F}{A} \quad (2. 1)$$

Der Quader wird durch eine scherende Beanspruchung verformt und die Seitenflächen neigen sich im Scherungswinkel γ . Im Fall von bewegten Fluiden unterliegt die Scherrate einer zeitlichen Änderung $\dot{\gamma}$. Der Zusammenhang zwischen Scherrate und Schubspannung wird im Fließgesetz der Flüssigkeiten und Gase deutlich, wobei η die dynamische Viskosität bezeichnet:

$$\dot{\gamma} = \frac{1}{\eta} \tau \quad (2. 2)$$

Das Fließgesetz beschreibt einen linearen Zusammenhang zwischen Scherrate und Schubspannung und gilt für einfache Flüssigkeiten und Gase, die auch als newtonschen Fluiden bezeichnet werden.

Als Teilgebiet der Fluidodynamik beschäftigt sich die Hydrodynamik mit der physikalischen Beschreibung der Bewegung von newtonschen Fluiden. Als grundlegendes Modell wird ein Strömungsfeld mit Geschwindigkeitsvektoren im kartesischen Koordinatensystem herangezogen, um die Bewegung eines Fluidelements makroskopisch zu betrachten.

Für die mathematische Beschreibung der Zustandsgröße an jedem Aufpunkt eines raum- oder körperfesten Koordinatensystem wird die Eulersche Betrachtungsweise verwendet [53]. Die Ortskoordinaten x,y,z sowie die Zeit t sind unabhängige Variablen. Die Bewegung des Fluidelements im Strömungsfeld wird in diesem Modell durch fünf Größen beschrieben [104]:

- Drei Geschwindigkeitsvektoren von Ort und Zeit: $\vec{v}(\vec{x}, t)$, $\vec{v}(\vec{y}, t)$ und $\vec{v}(\vec{z}, t)$
- Zwei thermodynamische Größen, die über die Zustandsgleichung des Mediums die übrigen thermodynamischen Größen festlegen. In dem vorgestellten Modell werden Druck $p(\vec{x}, t)$ und Dichte $\rho(\vec{x}, t)$ verwendet.

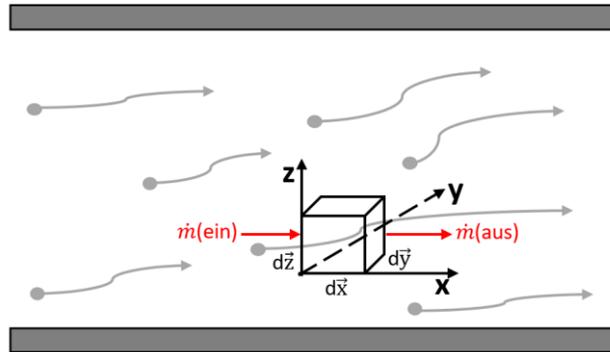


Abbildung 2. 2: Darstellung des ein- und austretenden Massestroms einer Volumeneinheit dx, dy, dz , welche als Beispiel zur Beschreibung der Fluidynamik einer Strömung dient. Darstellung ist angelehnt an [72].

Die Bewegung eines Fluidelementes im Strömungsfeld wird durch drei physikalische Gleichungen beschrieben: Der Kontinuitätsgleichung, der Euler'schen Gleichung und der Navier-Stokes Gleichung.

Die Dichte eines Fluidelementes ist abhängig von Ort und Zeit: $\rho(t, \vec{x})$. Strömt das Fluidelement mit der Geschwindigkeit \vec{v} entlang einer Bahnkurve $\vec{x}(t)$ wird die Massendichte eines Fluidelementes durch eine partielle Differentialgleichung beschrieben [32]:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \text{div}(\rho \vec{v}) = 0 \quad (2.3)$$

Die Kontinuitätsgleichung (2.3) drückt aus, dass die Masse eines strömenden Fluides erhalten bleibt. Die Kräfte, welche auf das Fluidelement im Strömungsfeld einwirken, werden im nichtlinearen partiellen Gleichungssystem der Euler'schen Gleichung aus der Hydrodynamik einbezogen. Dabei wird wieder ein Fluidelement im Strömungsfeld betrachtet, auf welchem die Kraft \vec{F} einwirkt:

$$\vec{F} = - \int_{V_0} \nabla p \, dV \quad (2.4)$$

Die Kraft, welche auf ein Fluidelement einwirkt, wird mit dem Produkt aus Dichte und Beschleunigung gleichgesetzt, sodass sich folgende Bewegungsgleichung ergibt:

$$-\nabla p = \rho \frac{d\vec{v}}{dt} \quad (2.5)$$

Die Geschwindigkeitsänderung des Fluidelements besteht aus zwei Anteilen: Der lokalen Ableitung durch die Bewegung des Fluidelementes im kartesischen Koordinatensystem x,y,z im Zeitintervall dt und der Differenz der Geschwindigkeiten zum gleichen Zeitpunkt in zwei Ortskoordinaten mit Abstand $d\vec{x}, d\vec{y},$ und $d\vec{z}$. Nach Division mit dt ergibt sich das totale Differential:

$$\frac{d\vec{v}}{dt} = \frac{\partial\vec{v}(\vec{x})}{\partial x} * \frac{dx(t)}{dt} + \frac{\partial\vec{v}(\vec{x})}{\partial y} * \frac{dy(t)}{dt} + \frac{\partial\vec{v}(\vec{x})}{\partial z} * \frac{dz(t)}{dt} + \frac{\partial\vec{v}(\vec{x}, t)}{\partial t} \quad (2.6)$$

Die Gradienten in Gleichung (2.6) werden durch den Nabla-Operator mathematisch zusammengefasst:

$$\frac{d\vec{v}}{dt} = \partial_t \vec{v} + (\vec{v} * \nabla) \vec{v} \quad (2.7)$$

Die Bewegungsgleichung (2.7) kann zur Euler'schen Gleichung für ideale Fluide ausgeschrieben werden:

$$\partial_t \vec{v} + (\vec{v} * \nabla) \vec{v} = - \frac{\nabla p}{\rho} \quad (2.8)$$

Befindet sich das Fluid im Schwerfeld, wirkt zusätzlich die Erdbeschleunigungskraft g auf das Fluidelement, sodass für die Euler'sche Gleichung im Schwerfeld gilt:

$$\partial_t \vec{v} + (\vec{v} * \nabla) \vec{v} = - \frac{\nabla p}{\rho} + g \quad (2.9)$$

Bei der Euler'schen Gleichung wird die innere Reibung (Viskosität) der Fluide und die dadurch auftretende Energiedissipation der Strömung nicht mit einbezogen. Um die Energiedissipation zu beachten, werden zwei zusätzliche Terme benötigt:

- Viskositätskoeffizient η
- Zähigkeitskoeffizient ζ

Die Koeffizienten η und ζ sind abhängig von den thermodynamischen Größen Druck p und Temperatur T , die im Fluid Gradienten ausbilden können. Für die Beschreibung der Bewegung von Fluiden werden η und ζ als näherungsweise konstant angenommen und in der Euler'schen Gleichung ergänzt. Die Bewegungsgleichung wird dann zur Navier-Stokes-Gleichung:

$$\rho [\partial_t \vec{v} + (\vec{v} * \nabla) \vec{v}] = - \nabla p + \eta \Delta \vec{v} + \left(\zeta + \frac{\eta}{3} \right) \nabla (\nabla * \vec{v}) \quad (2.10)$$

Für inkompressible Fluide verschwindet der Zähigkeitsterm und es gilt $(\nabla * \vec{v}) = 0$:

$$\rho [\partial_t \vec{v} + (\vec{v} * \nabla) \vec{v}] = - \nabla p + \eta \Delta \vec{v} \quad (2.11)$$

Die Bewegungen von Fluiden werden in zwei Arten von Strömungen unterschieden: Die laminare und turbulente Strömung.

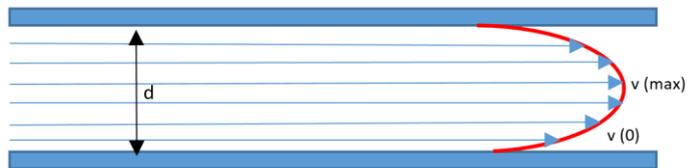
In Tabelle 2.1 ist das Strömungsprofil einer laminaren und einer turbulenten Strömung im Strömungskanal abgebildet [15, 86]. Die Viskosität des Fluids beeinflusst das Profil der Strömungsgeschwindigkeit senkrecht zur Wand. In Nähe der Kanalwand wird die Strömungsgeschwindigkeit v durch Reibungskräfte abgebremst und wird an der Oberfläche der Wand gleich null ($v = 0$). An der Kanalwand bildet sich eine Grenzschicht deren Strömung laminar ist. Die Dicke der laminaren Grenzschicht wird durch die Strömungsgeschwindigkeit beeinflusst. Bei größer werdenden Strömungsgeschwindigkeiten bildet sich ein Übergangsbereich aus und schließlich treten Grenzschichtablösungen auf. Die laminare Grenzschicht bricht durch auftretende Querströmungen und Verwirbelungen zusammen und die Strömung wird turbulent. An der Kanalwand bleibt eine dünne viskose Unterschicht erhalten. Dieses Phänomen wird in der Prandtl'schen Grenzschichttheorie zusammengefasst [104]. In der Fluidodynamik ist die Kenntnis über das Strömungsbild der Grenzschicht von Bedeutung für die Auslegung und Konstruktion von Strömungskanälen oder umströmten Körpern, da sich die Navier-Stokes Gleichung durch entsprechende Randbedingungen wesentlich vereinfachen lässt. Sobald ein newtonsches Fluid eine laminare Strömung ausbildet und durch ein Rohr oder einen Kanal fließt, kann das Gesetz von Hagen-Poiseuille zur Beschreibung des Volumenstroms angewandt werden. Es gelten die Annahmen, dass die Strömung ein stationäres, parabolisches Strömungsprofil ausbildet und eine inkompressible, viskose Flüssigkeit vorliegt [81]. Für eine laminare Strömung durch ein Rohr mit kreisförmigen Querschnitt wird der Volumenstrom wie folgt berechnet [15]:

$$\dot{V} = \frac{\pi * r^4 * \Delta p}{8 * \eta * l} \quad (2.12)$$

Tabelle 2.1: Zusammenfassung der charakteristischen Eigenschaften und Darstellung der Strömungsprofile laminarer und turbulenter Strömungen in einem Strömungskanal und der Reynolds-Zahl Re [15, 86].

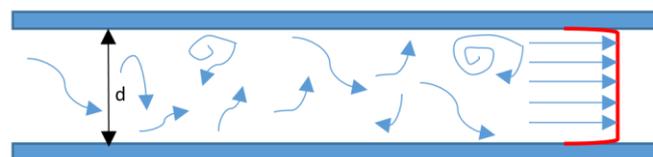
Laminare Strömung:

- Fluid fließt in Schichten, die sich nicht miteinander mischen
- $Re < 2000$



Turbulente Strömung:

- Verwirbelungen und Querströmungen bilden sich
- $Re > 2300$



Durch Berechnung der dimensionslosen Reynolds-Zahl Re wird ermittelt, ob eine laminare oder turbulente Strömung vorliegt. Die Reynolds-Zahl beschreibt den Einfluss der Reibungs- und Trägheitskraft des Fluides auf das Strömungsfeld und wird durch die mittlere Strömungsgeschwindigkeit \bar{v} , der kinematischen Viskosität ν und der charakteristischen Länge des durchströmten Körpers L definiert:

$$Re = \frac{\text{Trägheitskraft}}{\text{Zähigkeitskraft}} = \frac{\bar{v} * L}{\nu} \quad (2.13)$$

Für die Strömung in einer Rohrleitung wird als charakteristische Länge L der Durchmesser des Rohres eingesetzt. Fließen wässrige Systeme durch eine Rohrleitung, handelt es sich bei $Re < 2000$ um eine laminare Strömung und bei $Re > 2300$ um eine turbulente Strömung.

2.1.2 Mikrofluidische Systeme

Wie in der Einleitung beschrieben werden in der Mikrofluidik Strömungs- und Transportprozesse in Kanälen und Strukturen im Mikrometerbereich ausgelegt. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, mehrere Funktionen auf einer Plattform im Chip-Format zu vereinen und chipbasierte Mikrolabore, die als Lab-on-a-Chip (Abk.: LOC) und Mikrototalanalysesysteme (Abk.: μ TAS, Micro Total Analysis System) bezeichnet werden, aufzubauen [57, 88, 95].

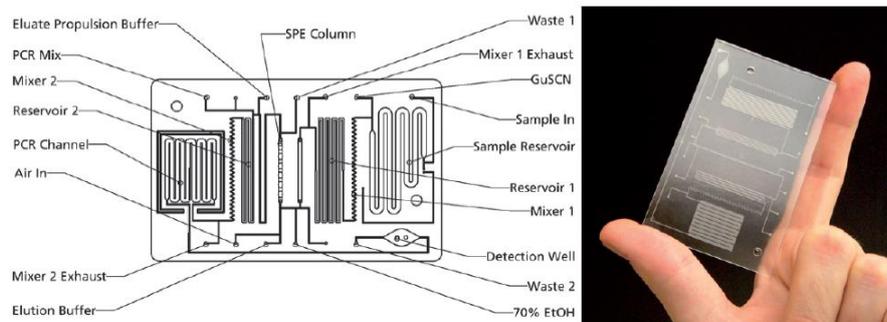


Abbildung 2. 3: Die Abbildung zeigt ein μ TAS für die Detektion von Bakterien in Flüssigkeiten. Auf der linken Seite ist das Chipdesign mit Probeneinlass und –auslass, sowie den funktionalen Einheiten für Zellysis, Nukleinsäure Isolation und Konzentration, Polymer Chain Reaction (Abk.: PCR, deutsch: Polymere Kettenreaktion) und Analyse dargestellt. Die rechte Seite zeigt ein Bild des Chip Prototypen aus PPM (Porous Polymer Monolith, deutsch: Poröses monolithisches Polymer). Die Abbildung stammt von Sauer-Budge et al. 2009 [85].

Die fluiddynamischen Grundsätze zur Beschreibung des Strömungsverhaltens von Fluiden können in Teilen für die Mikrofluidik übernommen werden [57]. Weiterhin treten für die Mikrofluidik charakteristische Eigenschaften auf, die bei Design und Auslegung mikrofluidischer Systeme und Komponenten (Pumpen, Ventile, Mischer, etc.) beachtet werden müssen. Charakteristisch für den mikrotechnischen Maßstab ist ein großes Oberflächen-Volumen Verhältnis, welches sich begünstigend auf den Wärme- und Stofftransport auswirkt [65, 75, 88, 95]. Ein weiterer Punkt ist die Vernachlässigung der Gewichtskraft bei kleinen Flüssigkeitsmengen, wodurch Kapillarkräfte die Gewichtskraft dominieren. Aufgrund der Dimension im Mikrobereich dominieren Reibungskräfte über Trägheitskräfte, wodurch eine kleine Re-Zahl und laminare Strömungsbedingungen vorliegen. Dies hat wiederum Auswirkung auf den Stofftransport während der Mischung zweier oder mehrerer Phasen [57].

2.1.3 Mikrofluidische Durchmischung

Die mikrofluidische Durchmischung ist ein wichtiger Prozessschritt innerhalb eines mikrofluidischen Systems. Die Effektivität des Mischvorganges hat Einfluss auf das gesamte mikrofluidische System, da eine effiziente Mischung für eine höhere Genauigkeit der Messung und reduzierte Analysezeit sorgen [22, 78]. Miniaturisierte Mischer, sogenannte Mikromischer, werden in mikrofluidischen Plattformen oder Lab-on-a-Chip Systemen integriert, damit sich Stoffe oder Reagenzien untereinander durchmischen und eine Interaktion der Stoffe bzw. eine chemische Reaktion stattfindet. Für die Auslegung und Installation von Mikromischern in mikrofluidischen Plattformen oder Lab-on-a-Chip Systemen, müssen physikalische Eigenschaften der Mikrosysteme beachtet werden. Dazu gehört das Vorliegen laminare Strömungsverhältnisse aufgrund dominierender Zähigkeitskräfte in mikrofluidischen Kanälen.

Durch die Berechnung der Reynolds-Zahl Re kann ermittelt werden, ob eine laminare oder turbulente Strömung vorliegt (siehe Gleichung 2.13). Bei kleinen Re üben die Zähigkeitskräfte gegenüber den Trägheitskräften einen starken Einfluss auf die Strömung aus und es liegt ein laminares Strömungsverhältnis vor. Während des Mischvorgangs findet der Stofftransport über molekulare Diffusion statt. Strömungen fließen parallel zueinander und konvektiver Stofftransport tritt ausschließlich in Strömungsrichtung auf. Der Stofftransport mittels molekularer Diffusion ist definiert als Transportprozess von Molekülen aufgrund des Konzentrationsunterschiedes in einer Lösung. Durch brownische Molekularbewegung wandern Moleküle aus einer Region höherer Konzentration in eine Region niedrigerer Konzentration [87]. Mathematisch wird die Geschwindigkeit des Prozesses durch das Fick'sche Gesetz beschrieben, wobei j die Diffusionsstromdichte [$m^{-2}s^{-1}$], D der Diffusionskoeffizient [$m^2 s^{-1}$], φ die Teilchenzahldichte [m^{-3}] und x die Weglänge [m] ist [82][87]:

$$j = -D \frac{d\varphi}{dx} \quad (2.14)$$

Die Diffusionsstromdichte ist proportional zum Konzentrationsgradienten. Der Diffusionskoeffizient D ist eine Stoffkonstante und hat für ein einfaches, kleines Molekül einen typischen Wert von $10^{-9} m^2s^{-1}$ [86]. Die Durchmischung durch molekulare Diffusion kann zusätzlich durch Stofftransport mittels chaotischer Konvektion unterstützt werden. Im englischen Sprachgebrauch spricht man von chaotischer Advektion (Engl. Chaotic Advektion) [8, 105]. Als Konvektion wird der gerichtete Strömungstransport bezeichnet [72], dessen Richtung durch eine äußere Krafteinwirkung, wie z.B. einer übergeordneten Strömung, bestimmt wird. Bei einer chaotischen Konvektion fließt die Strömung ungeordnet in mehrere Richtungen. Dies wird meistens durch den Einbau von speziellen Strukturen im Mikrokanal erreicht, um die Strömung zu brechen und aufzuteilen.

Neben der Reynolds-Zahl Re können mikrofluidische Prozesse durch eine weitere dimensionslose Kennzahl beschrieben werden, der Peclét-Zahl Pe [65]:

$$Pe = \frac{v * L}{D} \quad (2.15)$$

Die Peclét-Zahl Pe beschreibt das Verhältnis zwischen Advektion und Diffusion. Bei größeren Pe dominiert der Stofftransport durch Advektion, bei kleineren Pe findet der Stofftransport hauptsächlich durch Diffusion statt. Der Stofftransport durch Diffusion ist kein linearer Prozess, da die Diffusionsstrecke für ein Molekül quadratisch zu der Zeiteinheit t [s] ansteigt. Die Diffusionsstrecke ist der Weg, den ein Molekülteilchen aus dem Bereich höherer Konzentration hin zum Bereich niedrigerer Konzentration zurücklegt und wird wie folgt mit t als Zeit [s] berechnet [57]:

$$x^2 = 2 * D * t \quad (2.16)$$

Aufgrund der Kanaldimension liegt die Diffusionsstrecke in Abhängigkeit der Zeit ebenfalls im μm -Bereich. Eine Verringerung der Diffusionsstrecke reduziert die Zeit für den Stoffaustausch durch Diffusion und

dadurch die Zeit bis zur kompletten Durchmischung. Für eine effektive mikrofluidische Durchmischung müssen Mikromischer in der Weise designt werden, dass die Diffusionsstrecke verringert und die Austauschfläche zwischen den zu mischenden Phasen vergrößert wird. Mikromischer werden unterteilt in zwei Arten: Aktive und Passive Mikromischer.

Aktive Mikromischer können sowohl durch eine externe Energiequelle als auch durch Strömungsenergie des Fluides angetrieben werden. Das Fluid wird durch äußeren Krafteintrag bewegt, wie z.B. durch einen Rührer oder Turbinenflügel, wodurch der Mischungsvorgang beschleunigt wird. Der Krafteintrag kann u.a. durch Druck [45, 97] oder Ultraschall [107] induziert werden, bzw. magnetisch [61, 84] oder elektrokinetisch [50, 109] erfolgen. Durch die zusätzliche Implementierung der Aktoren und externen Energiequellen und der damit verbundene aufwendigere und teurere Herstellungsprozess wird der Einsatz aktiver Mikromischer in mikrofluidischen Plattformen begrenzt. Zusätzlich wirken sich Temperaturgradienten und Ultraschallwellen nachteilig für biologische oder chemische Anwendungen aus [70, 94].

Passive Mikromischer hängen ausschließlich von der Strömungsenergie des Fluids ab. Die mikrofluidischen Kanäle werden in speziellen Geometrien designt, um die Strömung des Fluids zu lenken und neu zu strukturieren. Im Gegensatz zu aktiven Mischern können passive Mischer ohne großen Aufwand in mikrofluidische Systeme integriert werden, wodurch sie kostengünstiger in der Herstellung sind. Die Diffusionsstrecke wird durch Aufspaltung und neuer Zusammensetzung der Strömungsschichten verringert [39, 41]. Weitere Mechanismen passiver Mischer sind die hydrodynamische Fokussierung [36, 44], Eintrag von Luftblasen oder Flüssigkeitstropfen [30] oder Förderung der ungeordneten Advektion durch Kanten und Furchen im Strömungskanal [1, 21].

Der Mischprozess von mischbaren Flüssigkeiten in laminaren Strömungen findet durch zwei Mechanismen statt [57, 105]:

- Konvektiver Mischvorgang: Die Strömung eines Fluids wird gedehnt und verzerrt, sodass die Fluidelemente bleibend deformiert werden. Die Grenzfläche zwischen den zu mischenden Phasen vergrößert sich dadurch.
- Distributiver Mischvorgang: Der Fluidstrom wird durch äußere Krafteinwirkung zerteilt und zusammengefügt. Dies geschieht meist durch den Einbau von Mikrostrukturen oder speziellen Geometrien im Mikrokanal.

Um eine effiziente Durchmischung von Fluiden zu erreichen sind sowohl der konvektive als auch der distributive Mischvorgang notwendig.

Es gibt eine Vielzahl unterschiedlicher Mikromischertypen, die sich durch ihre Geometrie und Dimension unterscheiden [8, 11, 36, 40, 78]. Bei kleinen Reynolds-Zahlen $Re \leq 1$ wird eine effiziente Durchmischung von zwei oder mehreren Fluidströmen durch *Split-and-Recombine* (Abk.: SAR) Mikromischer erreicht. Eine weitere Bezeichnung ist auch *Sequential Lamination Micromixer*. Diese Art der passiven Mikromischer nutzen das Prinzip, den Fluidstrom wiederholt zu teilen (Split), neu zu kombinieren (Recombine) und wieder zusammenzufügen (Rearrange). Durch die wiederholte Aufteilung der Fluidströme entstehen mehr und mehr Schichten. Das Prinzip wird in Abbildung 2.4. dargestellt [55]. Seok Woo Lee et al. stellen einen SAR Mikromischer aus Polydimethylsiloxan (PDMS) vor, der experimentell bei $Re < 0.6$ eine 90%ige Durchmischung nachweist. Durch mehrfache Bildung von Schichten (Multi-Lamination) wird die Diffusionsstrecke effektiv reduziert und die Austauschfläche zwischen den zu mischenden Phasen wird vergrößert. Dadurch verringert sich die Zeit bis eine vollständige Durchmischung der Phasen erreicht ist [17, 78].

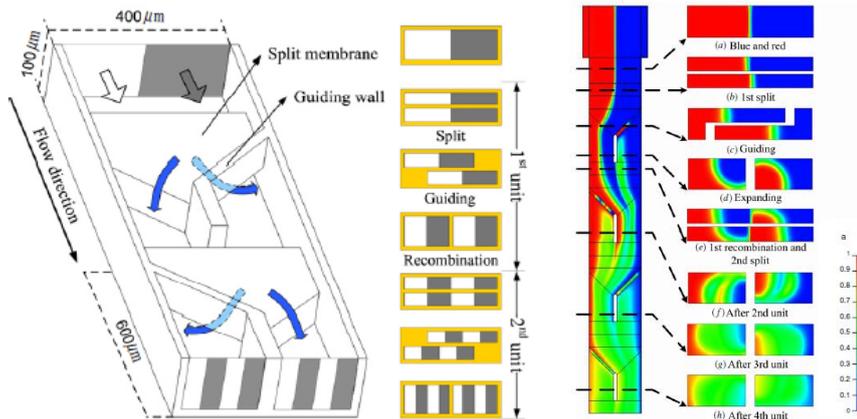


Abbildung 2. 4: Dargestellt wird ein SAR Mikromischer, der durch seine Struktur sequentiell Schichten bildet. Zu sehen ist die laminare Strömung im Querschnitt des Mischers. Auf der rechten Seite der Abbildung wird die Strömungssimulation mittels CFD-ACE+ abgebildet.

Passive dreidimensionale (3D) Split-and-Recombine Mikromischer erfüllen durch ihr Design die Voraussetzungen für beide oben genannte Mischvorgänge und sind daher ideal für eine effiziente und homogene Durchmischung von mischbaren Fluiden bei geringen Re-Zahlen.

Passive 3D Split-and-Recombine Mikromischer

Eine Steigerung der Mischleistung wird durch dreidimensionale (3D) SAR Mikromischer erreicht [78, 80]. Bei diesem Mischer Typ liegen die Mikrokanäle abwechselnd auf unterschiedlichen Ebenen. Die Kanäle überlagern sich an manchen Stellen und die Mikrokanäle kreuzen sich. Das fließende Fluid wird sequenziell aufgeteilt und fließt senkrecht in den Kanal, der auf einer anderen Ebene liegt. Dieser Mischertyp wird auch als *Two-Layer Crossing Channel Mixer* (Abk.: TLCCM) bezeichnet. Raza et al. vergleichen in einer komparativen Studie fünf Typen passiver Mikromischer und kommen zum Ergebnis, dass 3D SAR im Vergleich zu anderen passiven Mikromischertypen bei kleinen $Re \leq 1$ den größten Mischerfolg haben. Nach der numerischen und experimentellen Analyse von Hossain et al. erreicht ein *Two-Layer Serpentine Crossing Channel* Mikromischer (Abbildung 2.5) eine Mischleistung von 99% bei Re-Zahlen 0,2 bis 10 [41].

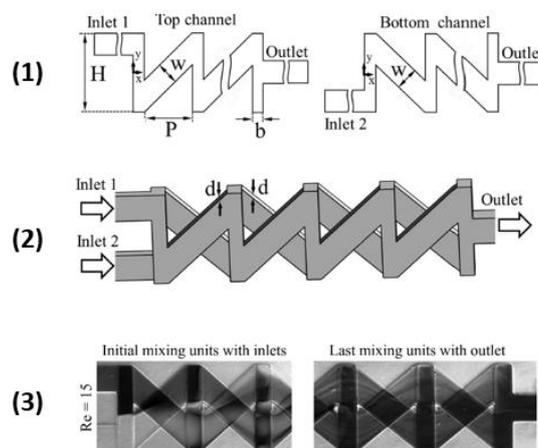


Abbildung 2. 5: Geometrie des unteren und oberen Layers (1) und 3D-Ansicht (2) des *Two-Layer Serpentine Crossing Channel* Mikromischer von Hossain et al. [41]. Abbildung (3) zeigt eine Draufsicht des Mischvorgangs an der ersten und letzten Mischer Einheit für Re-Zahl 15.

Evaluierung des Mischvorgangs

Der Erfolg des Mischvorgangs dient als Maßstab für die Effizienz des Mikromischers und wird auf Grundlage der statistischen Abweichung der Mischung von den einzelnen Mischungskomponenten bewertet [14, 77, 105]. Basierend auf dieser Methode wird der Mischindex (auch Mischgüte genannt) M an einem Querschnitt des Strömungskanals in Gl 2.17 definiert [77]:

$$M = 1 - \frac{\sigma}{\sigma_{max}} \quad (2.17)$$

Wobei σ die Standardabweichung der Konzentration eines Stoffes am Kanalquerschnitt ist, während σ_{max} die maximale Standardabweichung über den gesamten Messdatenbereich darstellt. Die Standardabweichung wird in Gleichung (2.18) ausgedrückt, mit der Anzahl der Messpunkte N , der Konzentration des Gemisches am Messpunkt c_i und der Konzentration des Gemisches bei homogener Mischung \bar{c}_m [77]:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (c_i - \bar{c}_m)^2} \quad (2.18)$$

Die Standardabweichung σ ist für den Fall, dass keine Mischung mit einem anderen Stoff vorliegt, am größten und für eine komplette Durchmischung am kleinsten. Daraus ergibt sich für den Mischindex M eine Skala von 0 (keine Durchmischung, 0%) bis 1 (komplette Durchmischung zu 100%).

2.2 Ionenselektive Elektroden – Potentiometrische Messung der Ionenaktivität

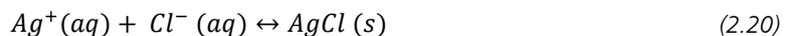
2.2.1 Grundlagen der potentiometrischen Messung

Ionenselektive Elektroden (ISE) werden in der analytischen Chemie zur gezielten Bestimmung eines Analyten in einer Messlösung eingesetzt [34, 37, 66, 83]. Bei der potentiometrischen Messung werden Potentiale an der ISE und einer Referenzelektrode gemessen, um darüber die Aktivität einer elektroaktiven Spezies, des Analyten, zu bestimmen. Bei der elektroaktiven Spezies handelt es sich um ein geladenes Ion, auf welches die Membran der ISE selektiv anspricht. Die ISE wird als Indikatorelektrode bezeichnet. Es ist eine galvanische Halbzelle, an deren Oberfläche durch Ladungstrennung ein Potential gebildet wird. Das Potential kann nicht als absoluter Wert erfasst werden, sondern wird als Potentialdifferenz zu einer Elektrode mit konstantem Potential, der Referenzelektrode, gemessen. Indikator- und Referenzelektrode stehen über eine Salzbrücke oder Diaphragma in Kontakt miteinander. Als Salzbrücke fungiert die elektrolytische Messlösung, in welcher elektroaktive Moleküle dissoziiert vorliegen. Die Referenzelektrode besitzt eine festgelegte Zusammensetzung und bildet ein bekanntes, konstantes Potential aus [111].

Eine einfach aufgebaute und in der Praxis gängige Referenzelektrode ist die Silber/Silberchlorid-Elektrode. An einem Draht aus Silber Ag befindet sich festes Silberchlorid, an dessen Grenzschicht eine reversible Gleichgewichtsreaktion stattfindet, die ionische Ladung in elektrische Ladung umwandelt [37]:

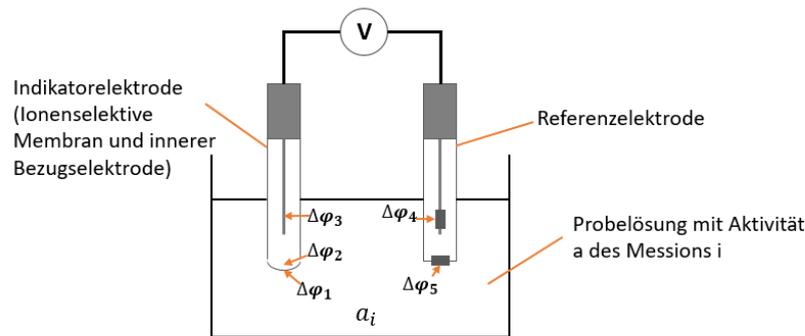


Der Silberdraht ist in einer wässrigen Lösung aus gesättigtem Kaliumchlorid KCl (aq) und Silberchlorid AgCl (aq) eingetaucht. Da eine zusätzliche Gleichgewichtsreaktion an der Grenzfläche des festen AgCl und der wässrigen Lösung stattfindet, wird die Silber/Silberchlorid-Elektrode auch als Elektrode 2. Art bezeichnet [37]:



Das Potential der Elektrode wird durch die Cl^- Aktivität bestimmt. Die Aktivität von Cl^- in der Lösung wird bestimmt über das Löslichkeitsprodukt von KCl. Da es sich um eine gesättigte Lösung handelt, bleibt die Aktivität von Cl^- und somit auch das Elektrodenpotential konstant. Neben der Ag/AgCl-Referenzelektrode gibt es noch weitere Referenzelektroden wie die Kalomel- und die Standard-Wasserstoff-Elektrode (Abk.: S.H.E.), die in breiter Fläche eingesetzt werden.

In Abbildung 2.6 ist der schematische Aufbau einer Elektrodenmesskette mit ionenselektiver Indikator- und Referenzelektrode dargestellt. Die Galvanipotentiale $\Delta\varphi$ sind als innerer elektrischer Potentialunterschied zweier Phasen an den Phasengrenzflächen eingezeichnet. Der Messwert der Potentialdifferenz zwischen Indikator- und Referenzelektrode ergibt sich aus der Summe der Galvanipotentiale der Elektrodenmesskette. Der Aufbau der Elektroden und Innenlösung der Referenzelektrode sind so gewählt, dass die Potentiale $\Delta\varphi_2$, $\Delta\varphi_3$, $\Delta\varphi_4$ und $\Delta\varphi_5$ konstant gehalten werden, sodass die Potentialmessung idealerweise ausschließlich von $\Delta\varphi_1$ abhängig ist.



Indikatorelektrode mit ionenselektiver Membran

- $\Delta\varphi_1$ Galvanipotential der Messlösung gegen die ionenselektive Membran
- $\Delta\varphi_2$ Galvanipotential der Membran gegen den Innenelektrolyten
- $\Delta\varphi_3$ Galvanipotential des Innenelektrolyten gegen die innere Bezugselektrode

Referenzelektrode

- $\Delta\varphi_4$ Galvanipotential der Referenzelektrode
- $\Delta\varphi_5$ Diaphragmapotential (Diffusionspotential)

Abbildung 2. 6: Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette für die pH-Wert Bestimmung mittels einer Glaselektrode als Indikatorlektrode. Die Galvanipotentiale φ_1 bis φ_5 sind an den potentialbestimmenden Phasenübergängen eingezeichnet. Modifizierte Abbildung aus [68].

Im Wesentlichen bestehen ISE aus einer Membran, welche für ein spezifisches Ion durchlässig ist und Komponenten enthält, die an das Ion binden. Die gemessene Potentialdifferenz (Spannung) zwischen innerer Bezugselektrode und Referenzelektrode ändert sich in Abhängigkeit der Aktivität bzw. der Konzentration des Analytens in der Messlösung. Das Potential an der Phasengrenzfläche zwischen Membran und Messlösung bildet sich durch Ladungstrennung an der Phasengrenzfläche[37].

Phasengrenzflächen-Modell

Die Bildung einer elektrolytischen Doppelschicht an der Phasengrenze zwischen ionenselektiver Membran und elektrolytischer Messlösung wird durch das Grenzflächen Modell beschrieben [12, 13, 19]. Sowohl in der Messlösung als auch in der ionenselektiven Membran befinden sich Ionen. Die Phasengrenze bewirkt eine Ladungstrennung wodurch an der Membranoberfläche Überschussladungen auftreten, die durch entsprechend entgegengesetzte Ladung in der Messlösung ausgeglichen werden. Die Ladungsbilanz an der Phasengrenze ist nach außen neutral.

Abbildung 2.7 sowie die folgende Zusammenfassung der elektrolytischen Doppelschicht sind angelehnt an die Standardwerke zur Elektrochemie [34, 87]. Der Aufbau einer elektrolytischen Doppelschicht und der Verlauf des Potentials als Funktion des Abstandes x von der Membranoberfläche wird in Abbildung 2.7 dargestellt. Als Beispiel wird eine Kationenselektive Membran gezeigt. Das Analyt ist in die Membran diffundiert und liegt dort im Überschuss vor, sodass die Membranoberfläche positiv geladen ist. Die Überschussladung wird durch negativ geladene Anionen in der elektrolytischen Messlösung kompensiert. Die Verteilung der Ladung hat Einfluss auf die Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichts. Das System erreicht ein Gleichgewicht, sobald das elektrochemische Potential der Kationen und Anionen in beiden Phasen der Membran und des Elektrolyten gleich ist.

Wie in Abbildung 2.7 dargestellt, fällt das Potential in der elektrolytischen Doppelschicht mit zunehmendem Abstand von der Membranoberfläche ab. Die innere Helmholtzschicht (IHS) wird durch die Überschussladung der Membran und die entgegengesetzt geladenen Ionen im Elektrolyten gebildet. Innerhalb dieser Schicht ist der Potentialabfall zwischen φ_M und φ_{IHS} linear.

Durch die Beweglichkeit der Ionen im Elektrolyten verteilen sich die Ladungsträger in einer diffusen Doppelschicht, welche von der inneren Helmholtzschicht bis in das Innere des Elektrolyten reicht. Ladungsträger und Potential klingen ab der IHS bis zum Inneren des Elektrolyten ab, wobei das Potential zwischen φ_{IHS} und φ_{EL} exponentiell abnimmt. Der Potentialabfall zwischen IHS und inneren Elektrolytlösung wird auch als ζ – Potential bezeichnet. Als äußere Helmholtzschicht wird die Schicht beschrieben, in welcher das Potential bis auf $1/e$ seines Wertes abgesunken ist.

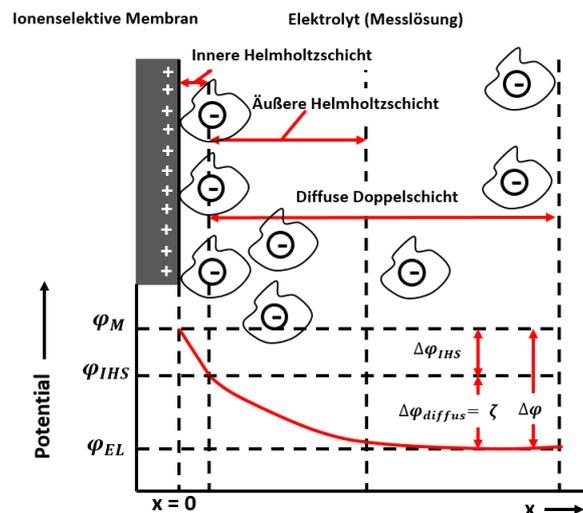


Abbildung 2. 7: Schematische Darstellung der elektrolytischen Doppelschicht einer kationenselektiven Membran und Verlauf des Potentialabfalls $\Delta\varphi$ als Funktion des Abstandes x zur Membranoberfläche. Die Abbildung wurde aus [87] und [34] entnommen.

Der gesamte Potentialabfall $\Delta\varphi$ zwischen φ_M und φ_{EL} ist die Summe aus den Anteilen der inneren und diffusen Doppelschicht:

$$\Delta\varphi = \varphi_M - \varphi_{EL} = (\Delta\varphi_{IHS} + \Delta\varphi_{diffus}) = (\varphi_M - \varphi_{IHS}) + (\varphi_{IHS} - \varphi_{EL}) \quad (2.21)$$

Bei der Einstellung eines Gleichgewichtes aufgrund eines Konzentrationsgradienten oder durch Ladungsübertragung mit Hilfe der Ionen an der Grenzfläche zwischen Membran und elektrolytischer Lösung bildet sich ein Membranpotential aus. Die ionenselektive Membran ist nur für eine Ladungsart der Ionen durchlässig. An der semipermeablen Membran entsteht ein sogenanntes Donnan-Potential. Das System befindet sich dann im Gleichgewicht, wenn auf beiden Seiten der Membran die Ladungen ausgeglichen sind und das elektrochemische Potential gleich ist [4].

Bestimmung der Ionenaktivität bzw. Ionenkonzentration

Ionenselektive Elektroden ermöglichen eine gezielte und direkte Bestimmung der Aktivität einer Ionenspezies in einer Probelösung bestehend aus mehreren Ionenarten über eine potentiometrische Messung des Elektrodenpotentials. In der Probelösung liegen Ionen umgeben von Ionen der entgegengesetzten Ladung vor und bewegen sich nicht so frei wie ein freies Ion (Debye-Hückel Gesetz). Dies beeinflusst die Reaktionsfähigkeit als auch die Größe des Potentials an der Indikatorelektrode. Das Potential wird von der Aktivität der Ionen bestimmt. Die Aktivität beschreibt den Anteil der Ionen, der frei wirksam ist. Aktivität des Analytens und Konzentration sind über den Aktivitätskoeffizienten γ_i verknüpft [103]:

$$a_i = \gamma_i * c_i \quad (2.22)$$

Der Aktivitätskoeffizient ist abhängig von der Konzentration. Für verdünnte Lösungen mit einer Konzentration $\leq 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ wird der Aktivitätskoeffizient annähernd als 1 angenommen, sodass die Aktivität des Analytens annäherungsweise der Konzentration des Analytens entspricht [19]. Mit zunehmender Konzentration nimmt der Aktivitätskoeffizient ab und nimmt einen Wert < 1 an, sodass die Aktivität kleiner ausfällt als die Konzentration. Der Gehalt eines bestimmten Stoffes in einer Messlösung wird im Allgemeinen als Konzentration angegeben. Für potentiometrische Messungen mit ISE werden elektrolytische Lösungen mit hoher Ionenstärke genutzt, sogenannte ISA-Puffer (Abk.: *Ionic Strength Adjustment*), welche für eine ausreichend elektrische Leitfähigkeit und einen konstanten Aktivitätskoeffizienten des Analytens sorgen. Man erhält einen systematischen Messfehler, welcher unter Berücksichtigung des Aktivitätskoeffizienten korrigiert werden kann.

Der Aktivitätskoeffizient ist eine Funktion der Ionenstärke I:

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i * z_i^2 \quad (2.23)$$

Ist die Zusammensetzung der Probelösung bekannt, kann der Aktivitätskoeffizient über die Debye-Hückel-Gleichung berechnet werden [43]:

$$-\log \frac{a_i}{c_i} = -\log \gamma_i = A * z_i^2 \frac{\sqrt{I}}{I + B * b * \sqrt{I}} \quad (2.24)$$

- a_i Aktivität des Messions i in der Lösung
- c_i Konzentration des Messions i in der Lösung
- γ_i Aktivitätskoeffizient des Messions i in der Lösung
- z_i Ionenwertigkeit einschließlich Vorzeichen
- I Ionenstärke
- A, B Konstanten in Abhängigkeit von Temperatur und Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels. Für Wasser und $T = 25^\circ\text{C}$ ist $A = 0.509$ und $B = 0,328$
- b Anpassungsparameter. Wert entspricht etwas dem Radius des hydratisierten Ions gemessen in Ångström

Der mathematische Zusammenhang zwischen Elektrodenpotential E und der Aktivität des Messions a_i in der Lösung wird durch die Nernst-Gleichung angegeben. Die konstanten Potentiale φ_2 bis φ_5 (S. Abb. 2.6) gehen als temperaturabhängiges Standardpotential E_0 in die Gleichung ein [43].

$$E = E_0 + \frac{R * T}{z_i * F} * \ln a_i \quad (2.25)$$

E	Gemessenes Potential	[mV]
E₀	Temperaturabhängiges Standardpotential der Messkette	[mV]
T	Temperatur	[K]
R	Allgemeine Gaskonstante	8.315 J mol ⁻¹ K ⁻¹
z_i	Ionenwertigkeit einschließlich Vorzeichen	
F	Faradaykonstante	96485.3 C mol ⁻¹
a_i	Aktivität des Messions in der Probelösung	[mol/l]

Als Nernst-Steilheit S wird der Term in Gleichung (2.26) bezeichnet. Dieser gibt genau die Potentialänderung an, die durch eine Änderung der Aktivität a_i um eine Zehnerpotenz bewirkt wird. 2.303 ist der Faktor, der bei der Umrechnung von \ln in \log entsteht.

$$S = \frac{2.303 * R * T}{z_i * F} \quad (2.26)$$

Die Steigung unter Standardbedingungen $T = 298,15 \text{ K}$ und einer Ionenwertigkeit (Ladungszahl) $z = +1$ beträgt 59 mV/Dekade . Man spricht auch einem idealen Ansprechverhalten. Wie aus Gleichung (2.26) ersichtlich, beträgt die Elektrodensteilheit für Elektroden, die auf zweiwertige Ionen ($z = 2$) ansprechen, nur die Hälfte wie die von Elektroden, die auf einwertige Ionen ansprechen. Die Nernst-Gleichung zeigt, dass das Elektrodenpotential temperaturabhängig ist und die Temperatur einen direkten Einfluss auf die Nernst-Steilheit hat. Für korrekte Ergebnisse muss die Temperatur während direktpotentiometrischer Messungen berücksichtigt werden.

2.2.2 Aufbau und Arbeitsweise ionenselektiver Elektroden

Ionenselektive Elektroden unterscheiden sich in ihrem Aufbau und werden nach Art der Membran unterteilt in Glasmembran-, Festkörpermembran- und Flüssigmembran-Elektrode. Entsprechend der Membran unterscheidet sich auch das Funktionsprinzip der ionenselektiven Elektrode.

Glasmembran-Elektrode

In der analytischen Chemie und im alltäglichen Laborbetrieb ist die Glasmembran-Elektrode für die pH-Wert Bestimmung wohl die bekannteste und etabliertest ionenselektive Elektrode. Glasmembran-Elektroden werden für die Bestimmung von H^+ und bestimmten einwertigen Kationen (wie z.B. Na^+) verwendet.

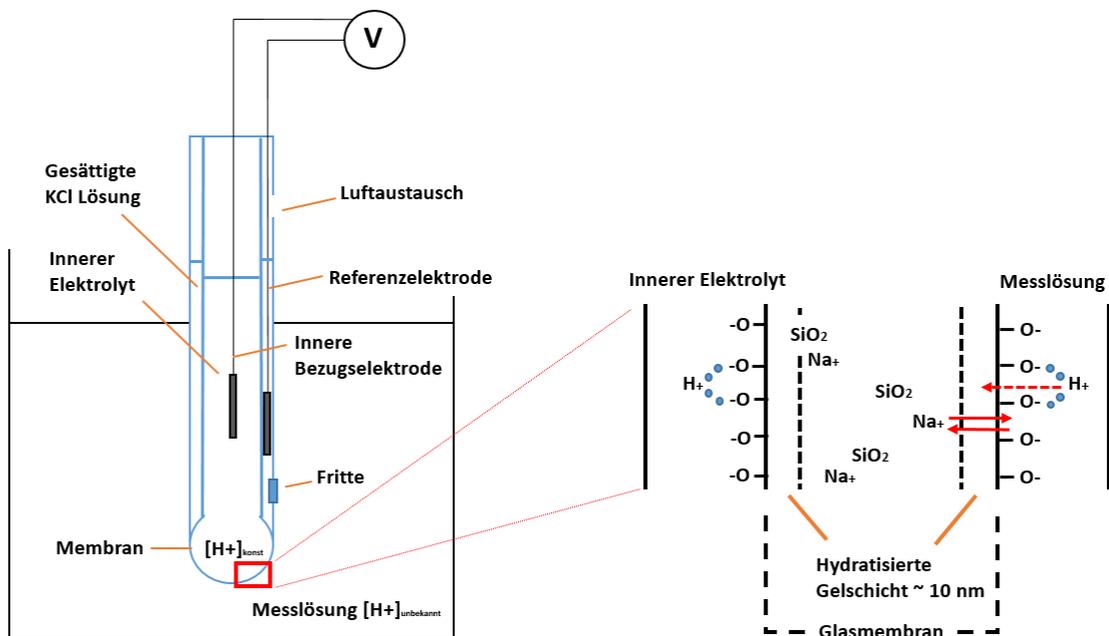
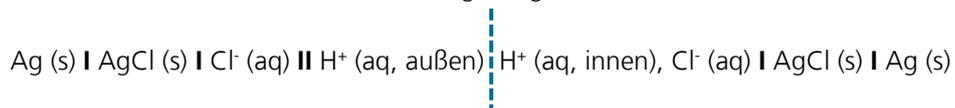


Abbildung 2. 8: Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer Glasmembranelektrode für die Bestimmung des pH-Wertes. Auf der rechten Seite der Abbildung wird ein vergrößerter Ausschnitt der Prozessabläufe an der Glasmembran gezeigt. Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.

Für die pH-Wert Bestimmung wird eine Einstabmesskette aufgebaut. Dafür wird die ionenselektive Glasmembran-Elektrode zusammen mit innerer Bezugselektrode und Referenzelektrode in einem Elektrodenkörper kombiniert, wie in Abbildung 2.8 dargestellt. Für die Membran wird Silikatglas verwendet, dessen Gitterstruktur aus einem unregelmäßigen Netz von SiO_4 – Tetraedern besteht, welche durch Sauerstoffatome miteinander verbunden sind. Die Glaselektrode ist mit einer inneren Elektrolytlösung konstanter H^+ - Aktivität und gesättigtem KCl (aq.) gefüllt. An der inneren und äußeren Oberfläche der Glasmembran entsteht eine hydratisierte Gelschicht (Abbildung 2.8 rechte Seite). An den negativ- geladenen Sauerstoffatomen der SiO_4 – Tetraeder binden Metallkationen (wie Na^+ , K^+ , Li^+) und diffundieren durch die Glasmembran. Sobald die Elektrode in eine Messlösung unbekannter H^+ - Aktivität getauscht wird, diffundieren Metallkationen aus der Gelschicht hinaus in die Messlösung, während gleichzeitig H^+ - Ionen aus der Messlösung in die Gelschicht der Glasmembran hinein diffundieren. Die Metallkationen werden in der Glasmembran durch H^+ ersetzt und es findet ein Ionenaustauschgleichgewicht statt. Da die H^+ - Aktivität des Innenelektrolyten festgelegt ist und konstant bleibt, ändert sich das elektrische Potential an der Innenseite der Glasmembran nicht. Allein das Potential an der Außenseite der Glasmembran ändert sich in Abhängigkeit zur H^+ - Aktivität der Messlösung. Wenn die Reaktion des Ionenaustauschgleichgewichts einen stationären Zustand erreicht hat, stellt sich ein konstantes elektrisches Potential an der Außenseite der Glasmembran ein. H^+ ist das einzige Ion, welches in der hydratisierten Gelschicht gebunden werden kann, daher spricht die Membran selektiv auf H^+ an. Die Glasmembran-Elektrode ist daher eine der selektivsten Elektroden. Bei geringen H^+ - Aktivität ab pH 12 spricht die Elektrode auf die in der Messlösung befindlichen Alkalimetallionen an (Alkalifehler). Die H^+ Ionen diffundieren nicht durch die Glasmembran wie es Metallionen können, sondern lediglich in die hydratisierte Gelschicht. Des Weiteren enthält die Einstabmesskette eine innere Bezugselektrode und eine Referenzelektrode aus Silber/Silberchlorid. Sie übernehmen die Elektronenleitung zum Spannungsmessgerät. Die innere Bezugselektrode befindet sich in einer Kammer um den inneren Elektrodenkörper herum, die mit einer gesättigten KCl und AgCl Lösung gefüllt ist. Die Referenzelektrode steht in Kontakt mit der Messlösung und befindet sich im äußeren Elektrodenkörper. Beide Elektroden messen die elektrische Potentialdifferenz an der Glasmembran. Um den Ionenfluss zwischen Bezugselektrode und Messlösung zu ermöglichen, befindet sich eine Fritte oder Platin-Diaphragma am Elektrodenkörper. Das Phasendiagramm der Einstabmesskette wird wie folgt aufgestellt:



Festkörpermembran-Elektrode

Die Membran von Festkörpermembran-Elektroden besteht aus einem kristallinen, anorganischen Salz oder einem Polymer. Liegt das Salz als Einkristall oder (polykristalliner) Pressling vor, handelt es sich um eine homogene Festkörpermembran. Im Falle einer heterogenen Festkörpermembran liegt das Salz verteilt in einer inerten Matrix vor, wie z.B. Silikongummi, keramische Materialien, Paraffin, etc.). In Abbildung 2.9 ist der Aufbau einer Elektrodenmesskette mit ionenselektiver Festkörpermembran-Elektrode und Referenzelektrode dargestellt.

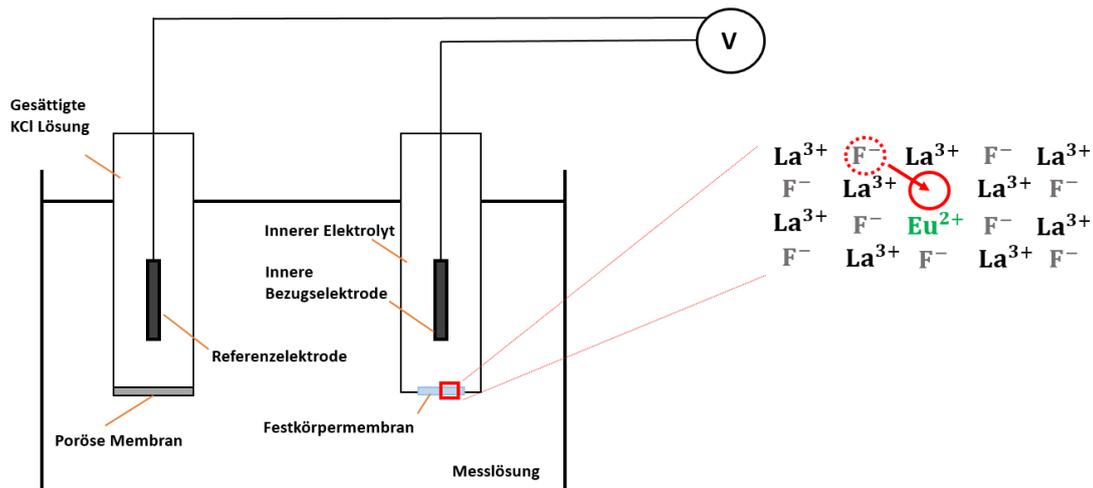


Abbildung 2. 9: Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer LaF_3 -Festkörpermembran-Elektrode für die selektive Bestimmung des Fluorid-Gehalts in einer Messlösung. Auf der rechten Seite der Abbildung wird ein vergrößerter Ausschnitt der Prozessabläufe an der Membran gezeigt. Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.

Das Funktionsprinzip dieses Elektrodentyps wird folgend anhand einer Fluoridselektiven LaF_3 – Festkörperelektrode als Beispiel erläutert werden. Fluoridselektive-Elektroden werden für die kontinuierliche Messung des Fluoridgehalts im Trinkwasser eingesetzt. Die Membran besteht aus einem LaF_3 – Kristall, der mit Europium (Eu^{2+}) dotiert ist. Als innere Elektrolytlösung wird eine Lösung aus NaF oder KF verwendet, die entsprechend gesättigtes NaCl oder KCl enthält. Die Messung der Potentialdifferenz und Elektronenleitung zum Spannungsmessgerät wird durch eine innere Bezugs-elektrode und einer äußeren Referenzelektrode aus Silber/Silberchlorid übernommen. Die innere Bezugs-elektrode befindet sich im inneren Elektrolyten der ionenselektiven Elektrode, während die Referenzelektrode in die Messlösung getaucht wird und darüber in Kontakt mit der ISE steht. Durch kleine Mengen Eu^{2+} in der LaF_3 – Kristallmembran werden Anionenfehlstellen in der Kristallstruktur erzeugt, da Eu^{2+} eine Ladung weniger als La^{3+} besitzt. F^- Ionen diffundieren von einer Seite zur anderen Seite der Membran, indem ein F^- Ion in die Anionenfehlstelle springt. Dadurch wird eine neue Fehlstelle geschaffen, die wiederum durch ein F^- besetzt wird. Dieser Prozess setzt sich fort bis ein Gleichgewichtszustand erreicht ist.

Ionenselektive Elektroden messen freie Ionen in einer Messlösung, die nicht in Verbindungen vorliegen. Für die Messung des Fluoridgehalts ist daher der pH-Wert der Messlösung relevant. Bei geringen pH-Werten wird F^- in Flusssäure HF umgewandelt, auf welche die Fluorid-ISE nicht anspricht. Es wird ein falscher Fluoridgehalt gemessen. Daher sollte der pH-Wert der Messlösung zur Bestimmung des Fluoridgehalts bei pH 5,5 oder höher liegen.

Flüssigmembran-Elektrode

Ähnlich wie die Festkörpermembran-Elektrode gehören zu der Elektrodenmesskette einer Flüssigmembran-Elektrode sowohl innere Bezugselektrode wie auch Referenzelektrode. Beide Elektroden bestehen aus Silber/Silberchlorid. Der Unterschied liegt in der Membran der ionenselektiven-Elektrode. Bei der Flüssigmembranelektrode besteht die Membran aus einer organischen Phase, welche in einer polymeren Matrix fixiert ist. In der organischen Phase sind ionenselektive, hydrophobe Komponenten gelöst, sowie Ionenaustauscher und Ionophore, die gezielt mit dem Analyt ein Komplex bilden (siehe Abb. 2.10).

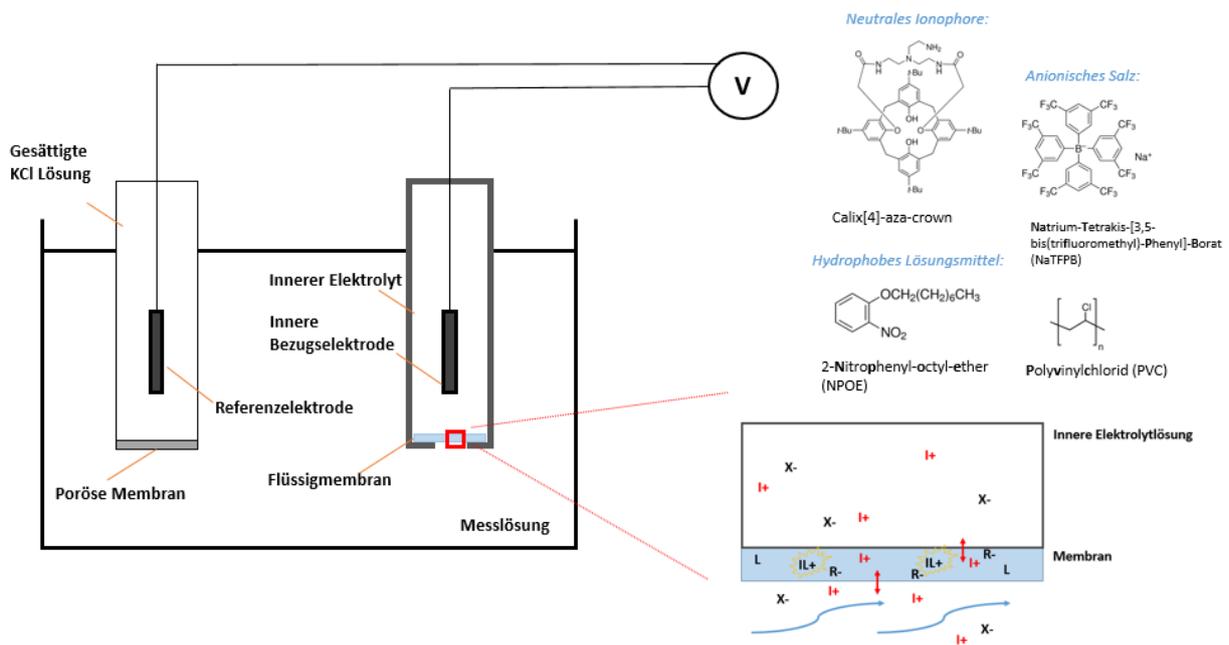


Abbildung 2. 10: Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer kationensensitiven-Flüssigmembran-Elektrode mit den neutralen Ionophore L, welches mit dem Analyt I^+ einen Komplex IL^+ in der Membran bildet. Die Membran enthält ebenfalls ein anionisches Salz R- (Leitsalz). Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.

Das Phasendiagramm der Flüssigmembranelektrode sieht wie folgt aus:



Für die mechanische Stabilität und Fixierung der organischen Phase wird ein Polymer, wie z.B. Polyvinylchlorid, als Membranmaterial verwendet. Die Ionophore können elektrisch geladen oder elektrisch neutral sein und bilden in der Membran mit dem Analyt ein Komplex. In der Entwicklung von Ionophoren für ionenselektive Membranen finden Calixarene eine breite Anwendung als supramolekulare Rezeptoren für die gezielte Anbindung an Kationen und neutralen Molekülen [12, 62]. In Abbildung 2.11 wird ein modifiziertes Calix[4]arene Molekül mit Amid Gruppen als neutrales Ionophore dargestellt. Neben dem Ionophor enthält die organische Phase der Ionenselektiven Flüssigmembranelektrode ein Leitsalz. In der Kationenanalytik werden modifizierte Tetraphenylborate (TPB-) verwendet. Aufgrund des sterisch geschützten negativen Ladungsträgers geht das Tetraphenylborat keine spezifischen Ionenverbindungen ein und hat keinen störenden Einfluss auf die Selektivität der Membranelektrode [6]. In Arbeiten von Morf und Simon werden Alkalimetallsalze der Tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borate verwendet, da keine Anioneninterferenz der ionenselektiven Elektrode entsteht [67], die Leitfähigkeit der Polymermembran erhöht und die Oberflächenspannung der Membran durch Ausbildung von Kationenaustauschgleichgewichten verringert wird [71].

Aufgrund des lipophilen Charakters des Anions verbleibt das Leitsalz in der Membran und verhindert die Co-Extraktion von Anionen aus der elektrolytischen Messlösung (der sogenannte Donnan-Fehler der semi-permeablen Membran).

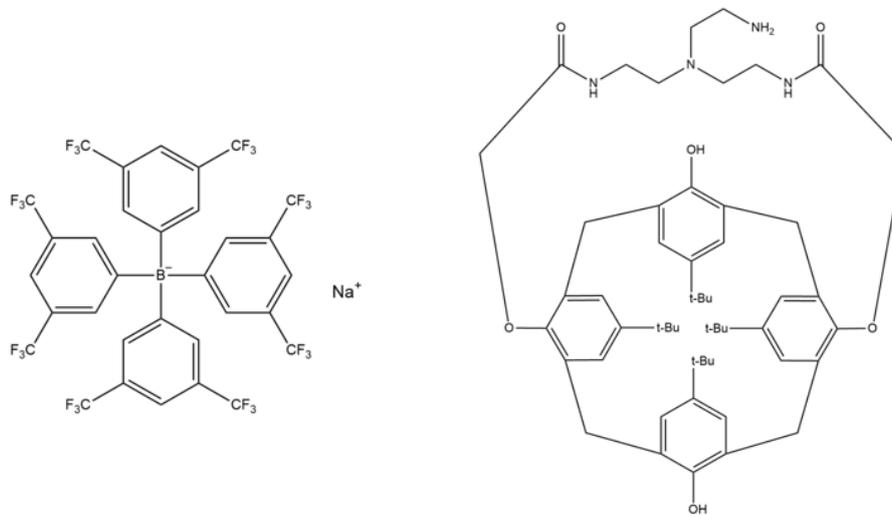


Abbildung 2. 11: Auf der linken Seite ist die Strukturformel von Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) abgebildet, während die rechte Seite das H⁺-selektive Ionophore V eines Calix[4]arens (Engl.: Calix[4]-aza-crown) mit Summenformel C₅₄H₇₄N₄O₆ darstellt.

Ionenselektive Elektrode mit Festkontakt

Die innere Elektrolytlösung der bisher betrachteten ionenselektiven Elektroden dient als Verbindung zwischen ionenselektiver Membran und innerer Bezugs Elektrode. Der Aufbau der ISE mit innerem Elektrolyten ist kompliziert und schlecht miniaturisierbar. Der Vorteil eines einfachen und schnellen Aufbaus liegt bei Elektroden mit Festkontakt, auch in Englisch als Solid State oder Solid Contact (Abk.: SC) bezeichnet. An der Grenzschicht zwischen ionenselektiver Membran und Elektronen-ableitenden Metallsubstrat findet keine Umwandlung der ionischen Ladung in der Membran in elektrische Ladung, die vom Substrat zum Messgerät geleitet werden kann, statt. Es wird eine zusätzliche Schicht benötigt, die sowohl ionische als auch elektrische Ladung leitet. Diese Schicht ist ein Mischleiter und wird als Ion-to-Electron Transducer bezeichnet. Solid-Contact ISE (Abk.: SC-ISE) sind in Schichten aufgebaut: Auf das Elektronen-ableitende Substrat wird eine Zwischenschicht als Festkontakt mit Ion-to-Electron Transducer aufgebaut, auf welcher zuletzt die ionenselektive Membran aufgetragen wird. Die Leitfähigkeit und Ladungstransferkapazität sind die kritischen Parameter des Festkontakts, da sie Stabilität und Reproduzierbarkeit der SC-ISE beeinflussen. Als Festkontakt für SC-ISE können unterschiedliche elektronenleitende Materialien verwendet werden:

- Platin-, Kupfer-, oder Silberdraht
- Hydrophobiertes Graphit
- Kohlenstoff-Glasfaser (Engl.: Glassy Carbon)
- Poröse Nanopartikel oder Nanostrukturen aus Gold oder anderem metallischen Substrat

Bei dem Aufbau eines Festkontakts als Ion-to-Electron Transducer gibt es zwei Möglichkeiten: Die Verwendung eines hydrophoben, elektrisch leitfähigen Materials mit hoher Ladungstransferkapazität oder die Dotierung eines elektroaktiven Materials mit einem leitfähigen Polymer bzw. einem RedOx-Paars in reduzierter und oxidierte Form. Als leitfähige Polymere sind Poly(3,4-ethylendioxythiophene) (PEDOT), Polypyrrole (PPy), Poly(3-octylthiophene) (POT) und Polyaniline (PANI) gut untersuchte und etabliert. Weiterhin finden

weitreichende Forschungsarbeiten zu Materialien auf Kohlenstoffbasis wie Kohlenstoff-Nanoröhrchen (Carbon Nanotubes CNT), RedOx-aktive Moleküle wie Tetrathiafulvalen und sein entsprechendes Kation TFF/TFF⁺ und andere Materialien statt.

In Abbildung 2.12 (rechte Seite) ist der Aufbau einer SC-ISE mit RedOx-Paar dotiertem Festkontakt schematisch dargestellt. Wie in der flüssigkontaktierten ISE findet eine reversible RedOx-Reaktion $\text{Ox} + e^- \leftrightarrow \text{Red}$ statt. Das Analytium I^+ diffundiert aus der Messlösung in die ionenselektive Membran (Abk.: ISM), wo es mit dem Ionophore L reversibel einen Komplex bildet. Das Potential an der Grenzschicht zwischen Messlösung und Membran $\Delta\varphi_1$ wird durch die Ladungstrennung an der Grenzschicht in Abhängigkeit der Aktivität des Analytiums in der Messlösung bestimmt. Die Ionen des Analyten I^+ und des lipophilen anionischen Salzes R^- können reversibel durch die Grenzschicht zwischen ISM und Festkontakt (SC) wandern und fördern die RedOX-Reaktion im Festkontakt. Das Grenzschichtpotential $\Delta\varphi_2$ ist abhängig von der Ionenverteilung zwischen ISM und SC. Das Grenzschichtpotential $\Delta\varphi_3$ wird durch das Verhältnis der reduzierten und oxidierten Form des RedOx-Moleküls im SC bestimmt.

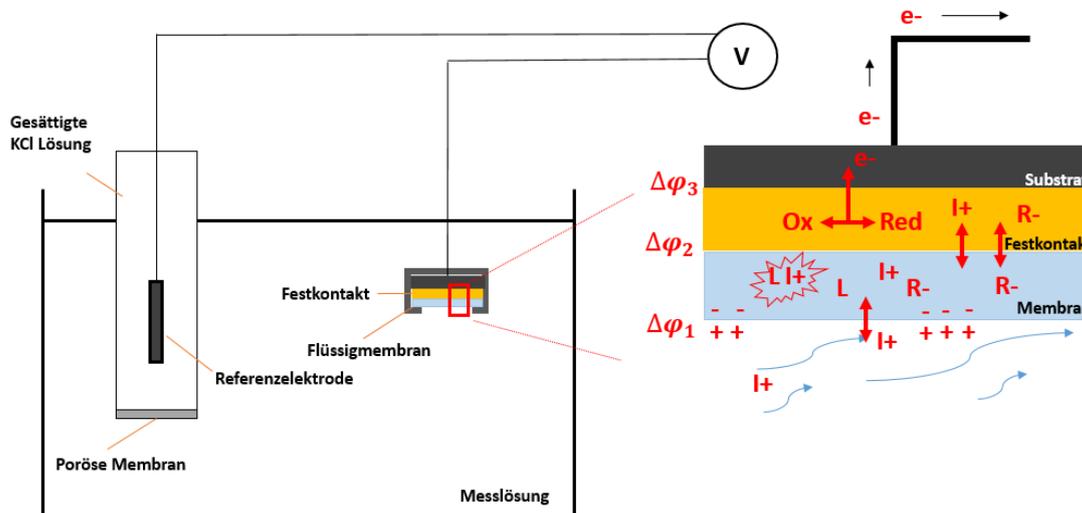


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer Festkontakt-Flüssigmembran-Elektrode für die selektive Bestimmung des Analytiums I^+ . Auf der rechten Seite ist der Aufbau dargestellt: Die ionenselektive Membran (blau) wird auf einen Festkontakt (orange) aufgetragen. Die Schicht des Festkontaktes befindet sich zwischen Membran und elektronenleitenden Substrat (schwarz). Die Membran enthält ein anionisches Salz R^- und ein neutrales Ionophore L , welches mit dem Analytium I^+ einen Komplex IL^+ in der Membran bildet. Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.

2.2.3 Charakteristische Kenngrößen ionenselektiver Elektroden

Für die Charakterisierung und Beschreibung des Ansprechverhaltens ionenselektiver Elektroden werden Kenngrößen wie Selektivität, Nachweisgrenze, Driftverhalten, etc., experimentell ermittelt und in mathematischen Gleichungen definiert. Konstanten zur Beschreibung der Kenngrößen sind spezifisch für die ISE und das gesamte potentiometrische Messsystem. Die Untersuchungsmethoden zur Ermittlung der Kenngrößen sollten genau definiert sein, d.h. Messtechnik und experimentelle Bedingungen müssen spezifiziert und kontrolliert werden, um die ISE korrekt zu charakterisieren und eine Vergleichbarkeit der Elektroden untereinander zu ermöglichen.

Ansprechverhalten (Elektrodensteilheit)

Das Ansprechverhalten ionenselektiver Elektroden wird über die Elektrodensteilheit charakterisiert (Gl. 2.26). Damit ist die Potentialdifferenz ΔE bei einer Aktivitätsänderung des Messions um Faktor 10 gemeint. In der Nernst-Gleichung (2.25) wird die Elektrodensteilheit als sogenannte Nernst-Spannung mit dem Term S angegeben. Unter Standardbedingungen (Temperatur 25°C) und für einwertige Ionen beträgt das ideale Ansprechverhalten 59 mV/Aktivitätszehnerpotenz.

Nachweisgrenze

Abbildung 2.13 zeigt die Kalibriergerade einer PVC-Flüssigmembranelektrode für die Detektion von Wasserstoffionen H^+ . Im linearen Arbeitsbereich ist die gemessene Spannungsdifferenz linear abhängig von der Aktivität des Analytens. Im Vergleich dazu wird der Aktivitätsbereich, in dem messbare Signale erhalten werden, als dynamischer Arbeitsbereich bezeichnet. Die untere Nachweisgrenze (Lower Detection Limit, LDL) und die obere Nachweisgrenze (Upper Detection Limit, UDL) markieren die geringste und höchste nachweisbare Aktivität eines Ions [16]. Nach IUPAC Empfehlung werden die Nachweisgrenzen durch den Schnittpunkt zwischen den linearen Geraden der Kalibriergerade ermittelt. In Fällen, in denen das Ansprechverhalten der ISE nicht der idealen Nernst-Spannung folgt oder für Elektroden, welche nahe an der Nachweisgrenze arbeiten, führt die Definition der Nachweisgrenzen nach IUPAC zu falschen Annahmen [25, 91]. So zeigen Sokalski et al., dass mit der Methode nach IUPAC bei Elektroden mit Super-Nernst'schen Ansprechverhalten die untere Nachweisgrenze zu klein ausfällt und sich kein eindeutiger Wert ermitteln lässt. Sokalski et al. schlagen eine neue Definition vor, nach welcher LDL und UDL die Ionenaktivität anzeigen, bei welcher die gemessenen Werte vom linearen Arbeitsbereich um weniger als $\frac{R \cdot T}{z \cdot F} \ln(1)$ abweichen [91]. Für ISE, die ein ideales Ansprechverhalten nach Nernst (Gleichung 2.25) für einwertige Ionen bei 25°C zeigen, würden die Nachweisgrenzen bei einer maximalen Abweichung von 18mV von den Grenzen des linearen Arbeitsbereichs liegen. Die Kalibriergerade der Wasserstoffionen-selektiven Elektrode in Abbildung 2.13 weist eine untere Nachweisgrenze bei $\sim 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$ (pH 11 = $-\log a_{H^+}$) auf. Ab diesem Bereich ist die Aktivität des Analytens sehr gering. Um einen Ladungsausgleich zu erreichen, passieren Störionen, die in Molekülgröße und Ladung dem Analyten ähneln, die Membran und nehmen Einfluss auf die Potentialmessung. Ab dem linearen Arbeitsbereich muss die Querempfindlichkeit der Elektrode gegenüber Störionen über die Erweiterung der Nernst-Gleichung durch den Selektivitätskoeffizienten (Gleichung 2.28) mit einbezogen werden. Die obere Nachweisgrenze liegt bei $\sim 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ (pH 4). Ab der oberen Nachweisgrenze liegt aufgrund der hohen Konzentration des Analytens ein Aktivitätsverlust nahe, woraus eine Verringerung der Potentialzunahme resultiert. Die Nachweisgrenzen müssen für die Charakterisierung ionenselektiver Elektroden und der Auslegung des Arbeitsbereichs eines Analysesystems oder –methode berücksichtigt werden.

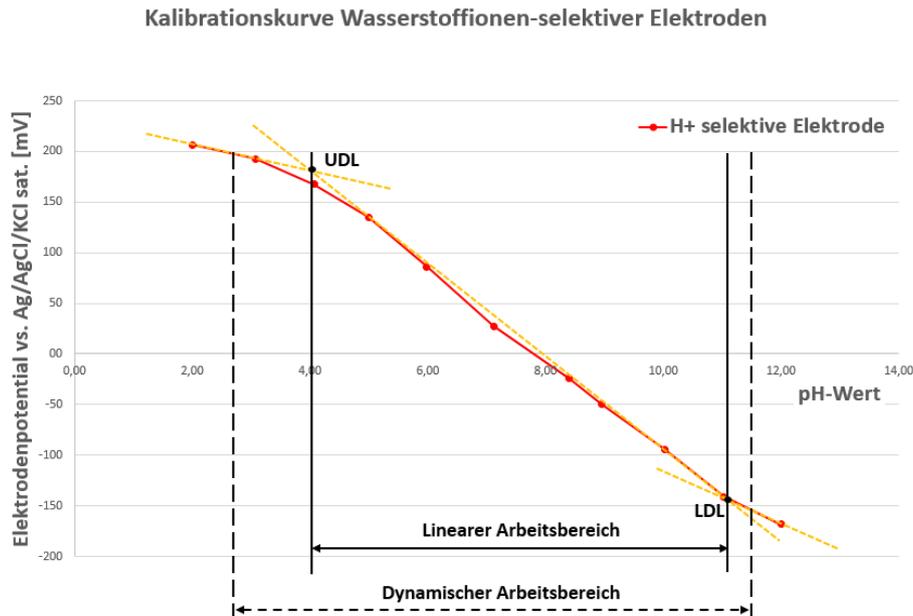


Abbildung 2. 13: Kalibriergerade einer Wasserstoff (H^+)-selektiven Elektrode. Dargestellt wird der lineare und dynamische Arbeitsbereich, sowie die obere Nachweisgrenze (Upper Detection Limit UPL) und die untere Nachweisgrenze (Lower Detection Limit LDL).

Selektivität

In einer realen Probelösung befindet sich nicht nur das zu bestimmende Analyt, sondern auch weitere Ionen, die Einfluss auf das Elektrodenpotential der ISE ausüben können. Eine Querempfindlichkeit der ISE gegenüber anderen Ionen ist besonders außerhalb des linearen Arbeitsbereichs wahrscheinlich. Da diese Ionen einen störenden Einfluss auf die Selektivität der ISE haben, spricht man auch von Störionen. Beeinflussen Ionen mit entgegengesetzter Ladung als das Analyt die Selektivität der ISE, spricht man von Gegenionen. Um den Einfluss von Störionen quantitativ zu bestimmen, wird der sogenannte Selektivitätskoeffizient K_{ij}^{pot} ermittelt [7, 98]. Dieser wird als Ansprechverhalten der ISE auf ein Störion j im Verhältnis zum Analyt i definiert. Je kleiner der Selektivitätskoeffizient, desto geringer ist der Einfluss des Störions j auf das Ansprechverhalten der ISE [37].

$$K_{ij}^{pot} = \frac{\text{Ansprechverhalten auf } j}{\text{Ansprechverhalten auf } i} \quad (2.27)$$

Der Selektivitätskoeffizient gibt an, mit welchem Faktor die Störionenaktivität zu multiplizieren ist, um an der Messelektrode die gleiche Potentialdifferenz wie die Analytionen bei gleicher Aktivität hervorzurufen [19]. Der Index pot steht für die potentiometrische Messung, i das selektiv zu bestimmende Analyt und j für das Störion. Mathematisch wird der Selektivitätskoeffizient über die Nikolskij-Eisenmann Gleichung beschrieben [16]:

$$E = E_i^0 + \left(\frac{RT}{z_i F}\right) * \ln\left(a_i + \sum K_{ij}^{pot} * a_j^{\frac{z_i}{z_j}}\right) \quad (2.28)$$

Mittels dieser Gleichung wird der Fehler bei der Bestimmung der Aktivität des Analytens durch ein Störion außerhalb des linearen Arbeitsbereichs der ISE abgeschätzt. Ein Beispiel für eine Querempfindlichkeit von pH-Glaselektroden ist der Alkalifehler. Der lineare Bereich erstreckt sich nicht über den gesamten pH-Bereich von 0 bis 14. Bei hohen pH-Werten kommt es zu Abweichungen der Linearität. Grund dafür ist, dass bei

sehr geringer H^+ Aktivität in der Lösung vorhandene Alkalimetallionen wie Na^+ (evtl. durch Abscheidung an den Glaswänden) den Messwert verfälschen.

Dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem

Eine wichtige Kenngröße für ionenselektive Elektroden in einem Durchflusssystem ist die Ansprechzeit, d.h. die Zeit, welche die Indikatorelektrode benötigt, um ein Gleichgewichtspotential nach einem Wechsel der Messlösung bzw. Änderung der Ionenaktivität in der Messlösung einzustellen.

Bei der Untersuchung der Ansprechzeit ionenselektiver Elektroden muss auch die Ansprechzeit des gesamten potentiometrischen Messsystems miteinbezogen werden. Um die Ansprechzeit experimentell zu ermitteln, wird die Ionenaktivität bzw. Ionenkonzentration in der Messlösung zu einem definierten Zeitpunkt sprunghaft gewechselt. Die Änderung des Elektrodenpotentials wird gemessen und als Funktion der Zeit mathematisch beschrieben. Neben der Ansprechzeit der Indikatorelektrode tragen weitere Faktoren zur Dauer der Ansprechzeit bei:

- Design der elektrochemischen Durchflusszelle
- Elektronik (Messgeräte)
- Experimentelle Untersuchungsbedingungen (Temperatur, Durchflussrate oder elektromagnetische Strahlung aus der Umgebung)

Bei der experimentellen Bestimmung der Ansprechzeit können die unterschiedlichen Faktoren nicht voneinander getrennt betrachtet werden. Wie groß der Einfluss eines einzelnen Faktors auf die Ansprechzeit ist, kann nicht unterschieden werden. Die Ansprechzeit kann nur für das gesamte Messsystem ermittelt werden. Um die Ansprechzeit der ISE abzuschätzen, kann die Annahme getroffen werden, dass das dynamische Verhalten (Ansprechzeit) hauptsächlich von der ISE abhängt und die Zeitkonstanten der anderen Faktoren vernachlässigbar sind. Eine standardisierte Methode zur Ermittlung der Ansprechzeit wurde bisher in der Literatur nicht beschrieben.

Potentialstabilität

Eine wichtige Kenngröße für die Evaluierung einer ISE ist die Stabilität des Elektrodenpotentials. Mit der Zeit kann es zu einer langsamen Potentialänderung kommen, welche als Drift bezeichnet wird [89]:

$$\text{Potentialdrift} = \frac{\Delta E}{\Delta t} \quad (2.29)$$

Wie stark die Potentialdrift einer ISE ist, hängt von dem Ladungstransfer zwischen den Grenzflächen und dem Umwandlungsprozess ionischer Ladung in elektrische Ladung ab [27]. Diese Prozesse werden wiederum von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst. Potentialdrift entsteht durch:

- Polarisierung der Elektrode
- Bildung einer Wasserschicht zwischen Membran und Festkontakt (SC I ISM)
- Auswaschen und Abbau der Membrankomponenten durch Alterung
- Einfluss der Temperaturänderung auf Membran und Gerätebestandteile
- Spannungsänderung in den Stromleitungen zum Messgerät

Die Drift wird durch regelmäßige Kalibrierung der ISE berücksichtigt. Ein stabiles Elektrodenpotential wird gefördert durch den Schutz der Elektrode vor Polarisierung (Schirmung des Messgeräts) und bei Festkontakt-Elektroden durch einen möglichst niedrigen Übergangswiderstand des Ladungstransfers im Festkontakt.

2.2.4 Einsatz ionenselektiver Elektroden für quantitative Analysemethoden

Die quantitative Bestimmung einer Ionenkonzentration in einer Probelösung kann durch verschiedene Verfahren durchgeführt werden. Die Frage, welches Verfahren wann zur Anwendung kommt, wird durch die gewünschte Genauigkeit und Komplexität der Probe beantwortet.

Direkte Potentiometrie

Die einfachste Methode zur Bestimmung der Ionenaktivität mittels ISE ist die direkte Ablesung des Wertes aus einer Kalibriergeraden. Die direkte Ablesung der Aktivität des Analytions aus der Messung der Potentialdifferenz wird auch als direkte Potentiometrie bezeichnet. Diese Methode wird bei hohen Probandurchsatz oder bei bekannter, einfacher Zusammensetzung der Probelösung angewendet. Für die Erstellung einer Kalibriergeraden wird eine Konzentrationsreihe mittels Standardlösungen verwendet, deren Ionenaktivität konstant ist. Die ISE wird mit Standardlösungen des Analytions kalibriert, indem die Potentialänderung der ISE in Abhängigkeit der Ionenaktivität gegen ein Referenzsystem gemessen wird. Für eine konstante Ionenstärke und Unterbindung interionischer Wechselwirkungen wird ein *Ionic Strength Adjustment Buffer* (Abk.: ISAB) zu Standard- und Probelösungen gegeben. Die Potentialdifferenz zwischen ISE und Referenzelektrode wird gegen den dekadischen Logarithmus der Ionenkonzentration aufgetragen (Abbildung 2.13). Im linearen Arbeitsbereich verhält sich die gemessene Potentialdifferenz proportional zu $\log(a)$. In diesem Bereich kann die unbekannte Konzentration eines Analytions in einer Messlösung durch Auftragen der gemessenen Potentialdifferenz abgelesen werden.

Nachteil dieser Methode ist, dass die Versuchsbedingungen wie Temperatur und Abschirmung der Messtechnik gegen elektrostatische Strahlung kontrolliert und konstant gehalten werden müssen, um deren Einfluss auf die Messung zu reduzieren. Weiterhin muss die Kalibrierung bei Langzeitmessungen wiederholt werden, da die meisten ISE eine Langzeitdrift haben.

Potentiometrische Standardaddition mit ionenselektiven Elektroden

Die molekulare Komposition und die physikalischen Eigenschaften einer analytischen Messlösung werden als Matrix bezeichnet [92]. Die Standardaddition, auch als Standardzugabe bezeichnet, wird angewendet, wenn das Analytium sich in einer unbekanntem oder komplizierten Matrix befindet. Durch die sukzessive Zugabe einer Standardlösung wird die ISE direkt in der Probelösung kalibriert, sodass alle Matrixeffekte eliminiert werden und keine abweichenden analytischen Ergebnisse durch eine Veränderung der Matrix zu erwarten sind.

Geringe Volumina einer Standardlösung mit bekannter Konzentration des Analytions wird schrittweise zu einer Probelösung mit bekanntem Volumen, aber unbekannter Analytkonzentration, zugegeben. Die Potentialdifferenz wird nach Einstellung des Gleichgewichtspotentials bei jeder Zugabe gemessen. Nach mehreren Zugaben der Standardlösung wird mittels graphischer Auswertung die ursprüngliche Analytkonzentration in der Probelösung berechnet.

Das Anfangsvolumen der Probelösung sei V_0 mit der unbekanntem Konzentration c_i des Analytions i . Das Volumen des Standards sei V_s mit bekannter Konzentration des Analytions c_s . Die Gesamtkonzentration des Analytions beträgt nach Zugabe des Standards:

$$c_i + c_s = \frac{(V_0 * c_i + V_s * c_s)}{(V_i + V_s)} \quad (2.30)$$

Die Gleichung 2.30 wird nach c_i aufgelöst und in die Nernst-Gleichung (2.25) eingesetzt, wobei der Aktivitätsterm durch einen Konzentrationsterm ersetzt wird. Dies ist zulässig, da die Standardaddition eine interne Kalibrierung der Elektroden einschließt. Nach Umformung ergibt sich die Standardadditionsgerade für ionenselektive Elektroden:

$$(V_0 + V_s) * 10^{\frac{E}{S}} = 10^{\frac{E_0}{S}} * V_0 c_i + 10^{\frac{E_0}{S}} * c_s V_s \quad (2.31)$$

Die lineare Gerade mit einer Steigung $10^{\frac{E_0}{S}} * c_s$ und Ordinatenabschnitt $10^{\frac{E_0}{S}} * V_0 c_i$ wird in einem Graphen mit y-Achse $(V_0 + V_s) * 10^{\frac{E}{S}}$ gegen x-Achse V_s aufgetragen. Den Abzissenabschnitt für $V_s = 0$ erhält man durch Nullsetzen von y:

$$x = -\frac{b}{m} = -\frac{10^{\frac{E_0}{S}} * V_0 c_i}{10^{\frac{E_0}{S}} * c_s} = -\frac{V_0 c_i}{c_s} \quad (2.32)$$

Durch Auflösen nach c_i wird die Konzentration des Analytens in der Probelösung bestimmt.

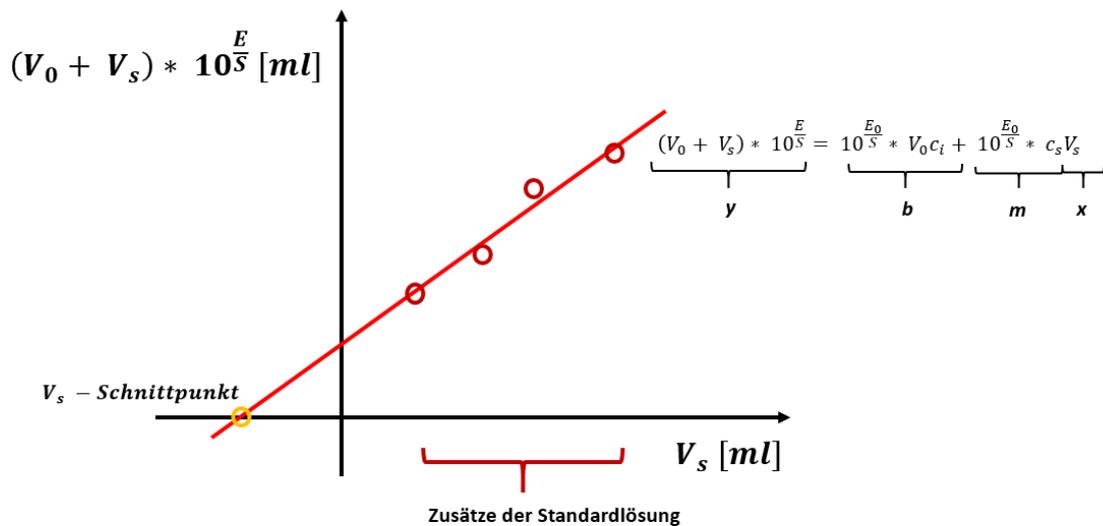


Abbildung 2. 14: Beispiel einer Standardadditionsgerade einer Standardaddition mit ionenselektiven Elektroden. Modifizierte Abbildung stammt aus [37].

Ein Nachteil der Standardaddition bei ISE ist die Notwendigkeit der genauen Elektrodenfunktion, welche durch Kalibrierung der Elektrode ermittelt wird. Verdünnungseffekte und ggf. Veränderung der Ionenstärke durch die Zugabe des Standards müssen berücksichtigt werden.

Potentiometrische Titration mit ionenselektiven Elektroden

Wird eine genauere Bestimmung der Aktivität eines Analyten verlangt, kommt die potentiometrische Titration mit ionenselektiven Elektroden zum Einsatz. Bei der Titration findet eine stöchiometrische Reaktion zwischen einer vorgelegten Probelösung mit unbekanntem Analyten und einer schrittweise zugegebenen Maßlösung (auch Titrant) statt. Die stöchiometrische Menge des reagierenden Stoffes in der Maßlösung ist genau bekannt (Titer). Unter Kenntnis der Stöchiometrie der stattfindenden Reaktion und der zugegebenen Menge der Maßlösung wird die unbekannte Aktivität des Analyten in der Probelösung ermittelt.

Der Endpunkt einer Titration ist erreicht, wenn die stattfindende Reaktion ihr Gleichgewicht erreicht hat, d.h. beide Reaktanten (Analyt und Titrant) sind äquimolar umgesetzt.

Er wird meist visuell ermittelt (Bildung eines Niederschlags oder Farbwechsel). Aus den bekannten Werten des Volumens und der Aktivität der Maßlösung, sowie Einwaage der Probe, wird über Stöchiometrie der chemischen Reaktion die Aktivität des Analyten berechnet. Bei der potentiometrischen Titration werden ISE als Endpunktindikator eingesetzt. Im Falle der potentiometrischen Titration findet am Endpunkt ein Potentialsprung statt. Im Bereich der plötzlichen Potentialänderung liegt der Nullpunkt der zweiten Ableitung der Titrationskurve vor. Bei der Endpunktbestimmung ist es schwierig, Messdaten in näherer Umgebung des Endpunktes zu erhalten, da in diesem Bereich die Pufferung des Systems gering ist und die Elektroden ein träges Ansprechverhalten aufweisen. Der Endpunkt kann durch Interpolation der Messdaten im Umschlagsbereich präziser lokalisiert werden. Hierfür gibt es verschiedene Verfahren, wie z.B. das Gran-Verfahren, bei welchen die Messpunkte vor dem Endpunkt ermittelt werden. Eine Titration über den Endpunkt hinaus ist nicht notwendig, sodass die Titration beendet werden kann und Ressourcen (Analysezeit und Lösungsverbrauch) eingespart werden.

Simultantitration im Durchflusssystem

Bei der diskontinuierlichen Titration im Becherglas erfolgt die Zugabe des Titranten schrittweise. Mehrere Einzelschritte sind notwendig, um eine Titrationskurve zu erhalten. Durch die sequentielle Zugabe der Maßlösung wird ein größeres Volumen verbraucht, was sowohl kosten- als auch abfallintensiv ist. Der mikrofluidische Chip ermöglicht die zeitgleiche Zugabe der Maßlösung in ein kontinuierliches Durchflusssystem, wodurch die Menge an Maßlösung und die Analysezeit wesentlich reduziert wird. Auf der Plattform sind ionenselektive Elektroden eingebaut, mittels derer zeitaufgelöst die Aktivität des Analyten ermittelt wird. Der Grundgedanke ist, die Volumenachse (x-Achse) der Titrationskurve einer diskontinuierlichen Titration im Becherglas in eine Längenachse umzuwandeln, auf der die Messpunkte der Titrationskurve dargestellt sind [64] (siehe dazu Abbildung 2.15). Anstatt des verbrauchten Volumens der Maßlösung werden die Messpunkte, die entlang des Strömungskanal liegen, auf der x-Achse aufgetragen.

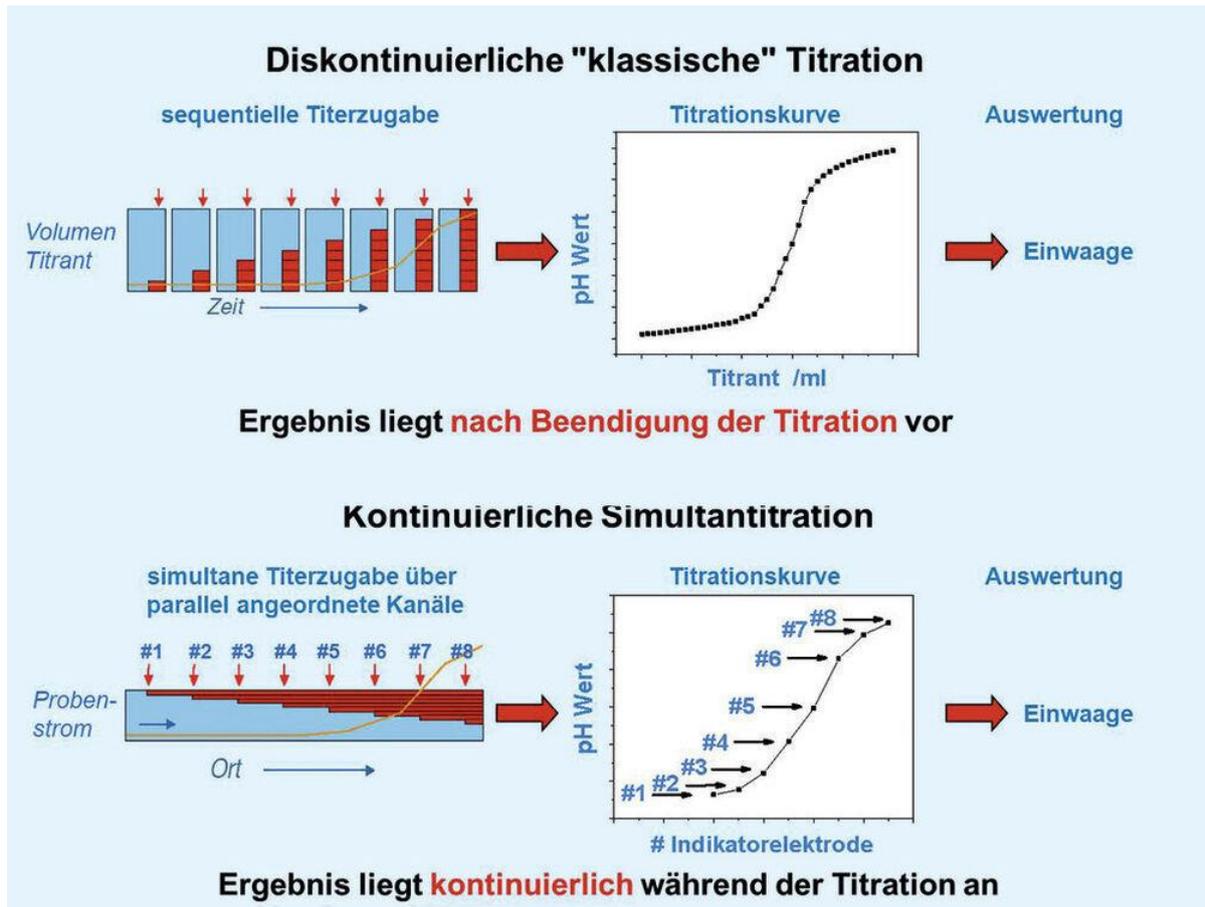


Abbildung 2. 15: Vergleich der diskontinuierlichen „klassischen“ Titration mit der kontinuierlichen Titration im Durchflusssystem. Der entscheidende Punkt ist die zeit- und raumgleiche Messung an 8 Messstellen im Durchflusssystem, während bei der diskontinuierlichen Titration der Titrant schrittweise dosiert wird [64].

2.3 Stand der Wissenschaft und Technik

Ionenselektive Elektroden werden aufgrund ihrer hervorragenden Miniaturisierbarkeit in der Mikrotechnik eingesetzt. Die Grenze der Miniaturisierung liegt derzeit bei Elektroden mit einem Durchmesser von 0,05 μm [19]. Diese Elektroden benötigen ein Probevolumen vom 10^{-12} l und finden vor allem im biomedizinischen Bereich Anwendung [38, 58, 110, 111]. Innerhalb dieser Dimension ist der Elektrodenwiderstand sehr hoch, sodass wiederum messtechnische Probleme durch eine ungenügende Abschirmung auftreten.

Urbanowicz et al. stellten eine miniaturisierte Multisensor-Plattform vor, mit welcher Speichel für die biomedizinische Analyse von Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- und SCN^- untersucht wird. Die Elektroden bestehen aus einer PVC-Membran mit Festkontakt. Auf einem Golddraht mit Durchmesser 500 μm wird das leitfähige Polymer PEDOT:PSS als Zwischenschicht für die Umwandlung der Ionen in elektrische Ladung aufgebracht und abschließend mit der ionenselektiven Membran versetzt. Die Plattform hatte einen Durchmesser von 3 mm und wird in Abbildung 2.16 dargestellt. Der lineare Ansprechbereich der Elektroden entsprach annähernd einer Nernst-Spannung. Na^+ konnte in einem Bereich von 10^{-7} bis 1 mol l^{-1} , K^+ im Bereich 10^{-5} bis 1 mol l^{-1} , Ca^{2+} im Bereich 10^{-8} bis 1 mol l^{-1} , Mg^{2+} , Cl^- und SCN^- im Bereich 10^{-6} bis 1 mol l^{-1} detektiert werden. Der lineare Arbeitsbereich des pH-Werts entsprach pH 5 bis pH 11. Zudem wiesen die Sensoren eine hohe Empfindlichkeit, Selektivität und Reproduzierbarkeit auf [101].

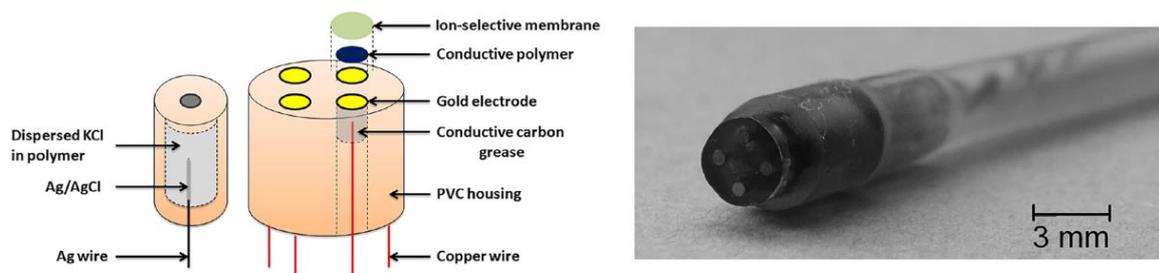


Abbildung 2. 16: Darstellung des Schemas der miniaturisierten Multisensor-Plattform nach Urbanowics et al. (linke Seite) und Modul mit vier PVC-Flüssigmembranelektroden auf Goldkontakt (rechte Seite). Die Abbildung stammt aus [101].

Kommerziell erhältliche pH-Mikro-Kombinationselektroden der Fa. Mettler Toledo bestehen aus einem Glaskörper und einer Glasmembran. Die Kombinationselektroden beinhalten Mess-, Referenz- und Bezugsselektrode und sind aufgebaut wie unter Abschnitt 2.2.2 beschrieben. Sie besitzen einen Glaskörper von 60 mm Länge und einen Schaft von 3 mm. Laut Herstellerangaben liegt der Ansprechbereich der Glasmembranelektrode im pH Bereich von 0 bis 14 für einen Temperaturbereich von 0 bis 80°C. Die Elektrode wird für die Messung in kleinen Gefäßen wie Vials, Mikrotiterplatten und Küvetten eingesetzt (Fa. Mettler Toledo). Weitere Hersteller bieten ebenfalls pH-Mikro-Elektroden für Durchflusssysteme an (Fa. Shelfscientific, Lazar Research Laboratories Inc.). Dabei handelt es sich um Kombinationselektroden mit den gleichen Maßen wie oben beschrieben. Der Glaskörper wird über eine Hohlschrauben-Verbindung in einen Strömungskanal positioniert. Weiterhin werden Mini- bzw. Mikro-ionenselektive Elektroden für unterschiedliche Ionen wie Alkalimetallionen (Na^+ , K^+ , Li^+), Erdalkalimetallionen (Mg^{2+} , Ca^{2+}), Halogene (F^- , Cl^- , I^-) und weitere Kationen und Anionen wie NO_3^- , NO_2^- oder S_2^- kommerziell angeboten. Die Mini-ionenselektiven Elektroden der Fa. eDAQ und NTSensors, S.L. bestehen aus Kohlenstoff-Nanoröhren und einer ionenselektiven PVC-Membran. Der Festkörper besitzt eine Länge von 45 mm Länge, einen Durchmesser von 2,5 mm und ist in einer Plastikhülle eingeschlossen. Die Elektronik wird über einen vergoldeten Platin Draht angeschlossen. Nach Herstellerangaben liegen die Vorteile dieser Mini-ionenselektiven Elektroden in einem guten Ansprechverhalten, einfachem Handling, Robustheit und geringem Probenvolumen von $> 5 \text{ ml}$. Eine K^+ -selektive Elektrode weist laut Spezifikation eine Empfindlichkeit von $54 \pm 5 \text{ mV/Dekade}$ in einem Konzentrationsbereich von 10^{-5} bis $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ und pH 1 bis 9 auf, sowie geringen Querempfindlichkeiten gegenüber Li, Na, NH_4 und Ca. Der Hersteller NTSensors gibt für seine Mini-ionenselektiven Elektroden eine Reproduzierbarkeit von \pm

10% und Genauigkeit der Messwerte von $\pm 4\%$ an. Der Messbereich der in der Literatur gefundenen Elektroden liegt im Messbereich der kommerziell erhältlichen Sensoren. Charakteristische Kenngrößen ionenselektiver Elektroden, wie Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Messwerte, sind abhängig von der Stabilität des Messsystems und den Umgebungsbedingungen. Daher müssen Angaben der Hersteller oder aus der Literatur im Kontext der Messung betrachtet werden. In der Industrie werden ionenselektive Elektroden meist als Teil der Prozessanalysetechnik eingesetzt. Eine konkrete Anwendung finden die Sensoren z.B. in Titrationsautomaten oder im automatischen Process Analysers der Fa. Metrohm. Dieser kann stationär direkt an der Prozess- bzw. Produktionslinie eingesetzt werden und die Konzentration eines spezifischen Stoffes durch potentiometrische Titration ermitteln und überwachen. Die Anschaffungskosten automatisierter Online-Controller an der Produktionslinie sind hoch, sodass die Bestimmung einer Stoffkonzentration mittels potentiometrischer Titration in den meisten Fällen diskontinuierlich und zeitverzögert stattfindet. Neben höherem personellen Aufwand gibt der ermittelte Messwert nicht die aktuelle Stoffkonzentration an. Die Entwicklung eines kompakten, automatisierten Analysegerätes für die kontinuierliche und zeitaufgelöste Bestimmung der Stoffkonzentration bei geringen Probenverbrauch ist für die Prozessanalysetechnik und Qualitätskontrolle von Interesse.

In Kooperation mit der Fa. SI Analytics GmbH hat das Institut für Mikrotechnik und Mikrosysteme (IMM Mainz GmbH) im Jahr 2011 einen mikrofluidischen Chip für die simultane Durchflusstitation entwickelt. Miniaturisierte pH-Glaselektroden mit einem Durchmesser von 2,2 mm der Fa. Schott und Kupferelektroden bestehend aus Kupferdraht wurden in den Chip mit dem Ziel integriert, den pH-Wert und den Kupfergehalt eines schwefelsauren galvanischen Kupferbades kontinuierlich zu überwachen. Bei der Galvanisierung liegt das abzuscheidende Metall als Salz in einer Lösung vor. Die Konzentration des Elektrolyten sowie der Hilfsstoffe beeinflussen die Beschaffenheit der gebildeten Oberfläche, daher muss der Gehalt des Elektrolyten regelmäßig bestimmt und ggf. nachdosiert werden. Bei einem pH-Wert von 5,4 fällt das gelöste Kupfer als Kupferhydroxid aus, daher wurde für die Bestimmung des pH-Wertes das schwefelsaure Kupferbad mit Natronlauge titriert. Die Bestimmung von Kupfer erfolgte durch Titration mit EDTA und potentiometrischer Endpunktindikation in alkalischer Lösung. Die Ergebnisse der pH-Wertbestimmung waren nicht reproduzierbar und zeigten signifikante Abweichungen vom richtigen pH-Wert. Als mögliche Fehlerursache wurden die pH-Glaselektroden ausgemacht, die einen sehr hohen Membranwiderstand von ca. 1 G Ω aufwiesen und damit sehr störanfällig für äußere Einflüsse waren.

Des Weiteren sind Glasmembranelektroden aufgrund ihres Materials zerbrechlich und schlecht miniaturisierbar, wodurch ihr Einsatz im Fall von geringem Probenvolumen limitiert ist. Eine Alternative für den Einsatz von pH-Sensoren in der Mikrotechnik bieten pH-Flüssigmembranelektroden, welche in ihrem Ansprechverhalten und Arbeitsbereich an die Qualität der pH-Glasmembranelektroden anknüpfen. Das oben vorgestellte System der simultanen Durchflusstitation mittels Mikrochip könnte weiterentwickelt werden, indem pH-Glaselektroden durch pH-Flüssigmembranelektroden ausgetauscht werden. Ein innovativer Ansatz kann die Herstellung ionenselektiver PVC-Flüssigmembranelektroden mit einem Festkontakt sein. Die ionenselektive Membran wird auf einem festen Substrat aufgebracht. Somit können die Elektroden bis in den Mikrobereich miniaturisiert werden. Die Integration der Elektroden in ein Lab-on-a-Chip-Durchflusssystem wird weiterhin vereinfacht.

3 Material und Methoden

3.1 Die mikrofluidische Plattform

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine mikrofluidische Plattform mit integrierten ionenselektiven Elektroden für die quantitative Bestimmung von Wasserstoff- und Fluoridionen in wässrigen Lösungen entwickelt und charakterisiert. Bei der Plattform handelt es sich um einen Mikrochip aus Polycarbonat. Der Chip besteht aus Mikrokanälen der Größe $300 \times 400 \mu\text{m}$ (Höhe \times Breite) mit abgerundeten Kanten und passiven Mikromischer mit kreisrunder Kanalstruktur und einem Durchmesser von $200 \mu\text{m}$. Als Sensoren wurden ionenselektive PVC-Flüssigmembranelektroden (Abk.: ISE) hergestellt, welche durch eine kreisrunde Durchflusszelle mit einem Durchmesser von $500 \mu\text{m}$ und einer Tiefe von $600 \mu\text{m}$ in den Chip integriert wurden. Details zum Aufbau des mikrofluidischen Chips sind in Abbildung 3.1 dargestellt.



Abbildung 3. 1: Darstellung der mikrofluidischen Plattform. Auf der linken Seite ist das Schema der mikrofluidischen Kanäle, Mischer und Durchflusszellen für Sensoren in einer CAD-Zeichnung abgebildet. Der gefertigte Chip aus transparentem Polycarbonat ist auf der rechten Seite dargestellt.

Für die potentiometrische Messung der unbekanntem Konzentration eines Analyten in wässriger Lösung wurden ionenselektive PVC-Flüssigmembranelektroden auf einem Elektrodenboard mit vergoldeten Nickelplatten als Substrat und Kontakt zur Elektronik aufgebaut (Linke Seite in Abbildung 3.2). Das präparierte Elektrodenboard wurde auf den Mikrochip aufgeschraubt und an die Elektronik angeschlossen (Rechte Seite in Abbildung 3.2). Der Mikrochip wurde über Schlauchverbindungen an die Fluidik angeschlossen. Probelösungen mit Analyten unbekannter Konzentration wurden durch den Chip mittels Spritzenpumpen gefördert. Das gemessene Potential resultierte aus der Differenz des Potentials der Elektrode zu einem konstanten Potential einer Referenzelektrode, welche durch ein T-förmiges Verbindungsstück in die Schläuche der Fluidik eingebaut war. Das Messprinzip der mikrofluidischen Sensorplattform und Auswertungsparameter werden in Kapitel 3.3.2 beschrieben.

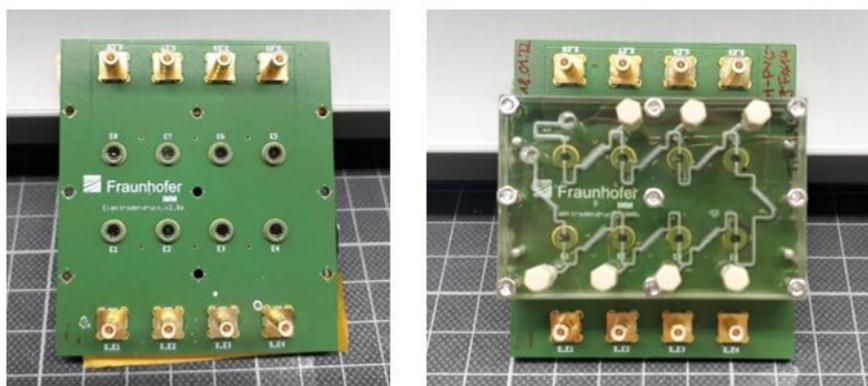


Abbildung 3. 2: Abbildung des Elektrodenboards mit ionenselektiven Elektroden und O-Ringen (grün) auf der linken Seite. Die Abbildung rechts zeigt das Elektrodenboard mit aufgeschraubtem Mikrochip.

3.1.1 Konstruktion und Herstellung der Plattform

Der mikrofluidische Chip besteht aus zwei Bauteilen, auf welche spiegelgleiche Mikrokanäle gefräst wurden (Abbildung 3.3), welche innerhalb des Chips liegen. Der Mikrochip enthält neben mikrofluidischen Kanälen auch Strukturen für einen passiven Mikromischer und Durchflusszellen für die Integration der Sensoren. Die Mischer liegen zwischen den fluidischen Anschlüssen und der Durchflusszelle, sodass einfließende Fluide zuerst gemischt werden bevor sie den Sensor in der Durchflusszelle passieren. Der komplette Chip umfasst insgesamt 64 x 43 x 12 mm (Länge x Höhe x Breite).

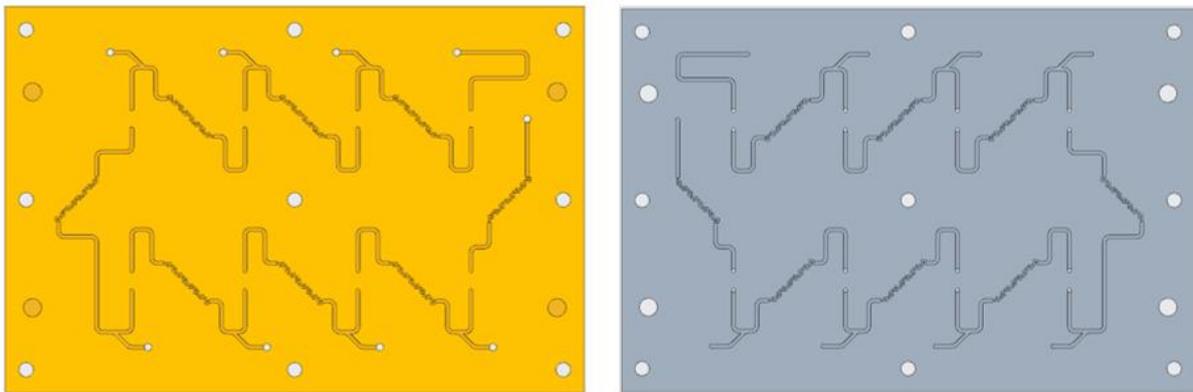


Abbildung 3.3: Draufsicht auf Oberteil (links) und Unterteil (rechts) des mikrofluidischen Chips. Zu sehen sind Mikrokanäle und –strukturen für Mikromischer. Die Bauteile wurden mit dem CAD-Programm PTC Creo Parametric erstellt.

Das untere Bauteil (Unterteil) enthält Durchflusszellen für Elektroden mit einem Durchmesser von 5 mm und einer Tiefe von 0,6 mm. Diese Seite liegt auf dem Elektrodenboard auf. Das obere Bauteil (Oberteil) enthält Gewindebohrungen für mikrofluidischen Anschlüsse. Für die Ein- und Auslässe des Fluides wurden Hohl-schraubenverbindungen aufgrund ihrer guten Dichtigkeit gewählt. Abbildung 3.4 zeigt das Unter- und Oberteil in der Drauf- und Seitenansicht mit unverdeckten Kanten. Die Maße wurden nachträglich eingezeichnet. Die Bauteile wurden mit Hilfe des CAD-(Computer-Aided Design) Programms PTC Creo Parametric Version 5.0.0.0 konstruiert.

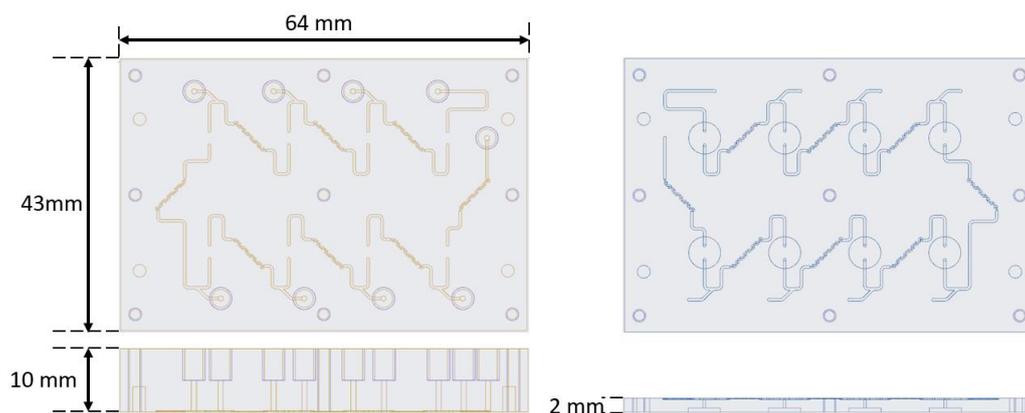


Abbildung 3.4: Drauf- und Seitenansicht mit unverdeckten Kanten auf Oberteil (links) und Unterteil (rechts). In die Seite des Oberteils, welche nach Außen des Chips zeigt, werden Bohrungen für die mikrofluidischen Hohl-schraubenverbindungen gebohrt. In die Seite des Unterteils, welche auf das Elektrodenboard liegt, werden Durchflusszellen zusätzlich gefräst.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Designs der mikrofluidischen Chips entsprechend den Anforderungen der Anwendung konstruiert. Für die chipbasierte Standardaddition wurde ein Chip mit fünf Durchflusszellen gefertigt. Das Design des mikrofluidischen Systems wurde für die Titration um drei Durchflusszellen erweitert (Abbildung 3.5). Für die Standardaddition wurden drei Einlässe für die Zugabe der Standardlösung konstruiert. Es sind zwei Einlässe für die Probelösung vorhanden, die in Y-Form zusammengeführt werden.

Der zweite Einlass dient für die Zugabe einer Pufferlösung, um die Probelösung ggf. zu verdünnen oder eine Einstellung des pH-Werts vorzunehmen.

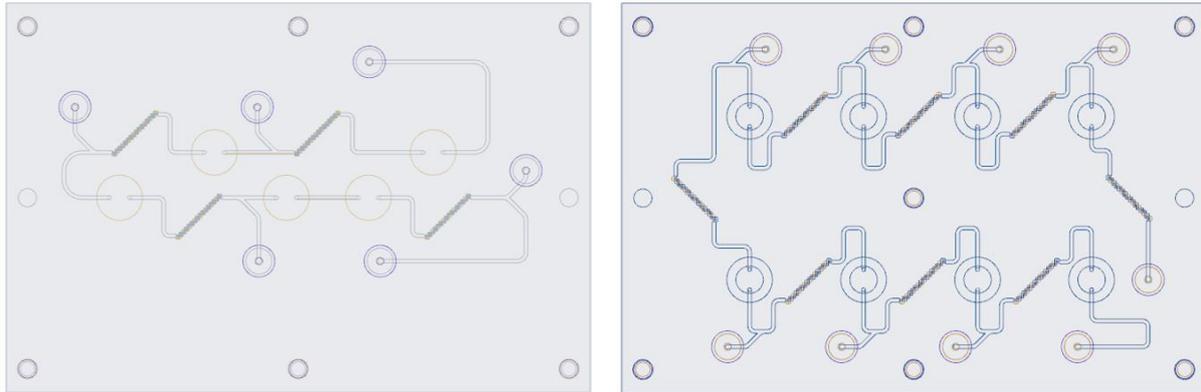


Abbildung 3.5: Draufsicht auf den Chip für die Standardaddition (links) und Titration (rechts). Die Abbildungen stammen aus dem CAD-Programm PTC Creo Parametrics.

Tabelle 3.1 fasst Größe und Innenvolumen der Mikrochips und deren einzelne Komponenten in einer Übersicht zusammen.

Tabelle 3.1: Übersicht der technischen Daten (Dimension, Innenvolumen) der Komponenten des Mikrochips. Das Innenvolumen wurde mittels CAD-Programm PTC Creo Parametrics Version 5.0.0.0 ermittelt.

	Dimension [mm]	Innenvolumen [μ l]
Chip für Standardaddition	64 x 43 x 12 (Länge x Höhe x Breite)	~ 23
Chip für Titration		~ 50
Strömungskanal	0,3 x 0,4 (Höhe x Breite)	~11
Mikromischer	Durchmesser: 0,2	~1,0
Durchflussszelle	Durchmesser: 5 Tiefe: 0,6	~1,4

Für die Fertigung des Mikrochips wurden Mikrokanäle und –Strukturen auf 64 x 43 x 10 mm und 64 x 43 x 2 mm Platten aus Polycarbonat (PC) mit einer Fräsmaschine eingearbeitet. Nach dem Fräsen waren Kanäle häufig mit Spahn verunreinigt, weshalb sie mit einem Schneestrahler von Spahn befreit wurden. Die Mikrokanäle wurden danach unter einem Digitalmikroskop (VH-Z20R, Fa. Keyence) auf verbliebenes Spahn überprüft. Abbildung 3.6 zeigt die Mikrokanäle vor und nach der Reinigung. Nach der Reinigung wurden beide Bauteile mit einem Laser an den spiegelgleichen, mikrostrukturierten Seiten irreversibel zusammenschweißt. Dabei wurde der Laser nach Möglichkeit bis zur Kante der Mikrostruktur herangeführt. Die Mikrostruktur der Mischer wurde vom Laser ausgespart, da die Strukturen für den Durchmesser des Laserstrahls zu fein waren. Abbildung 3.7 zeigt die Mikrostruktur des passiven Mikromischers nach dem *Two-Layer-Crossing-Channel* Design, nachdem beide Bauteile des Chips verbunden wurden. Nach jedem Fertigungsschritt erfolgte die visuelle Kontrolle der Mikrokanäle auf mögliche Blockaden oder Risse unter einem Digitalmikroskop.

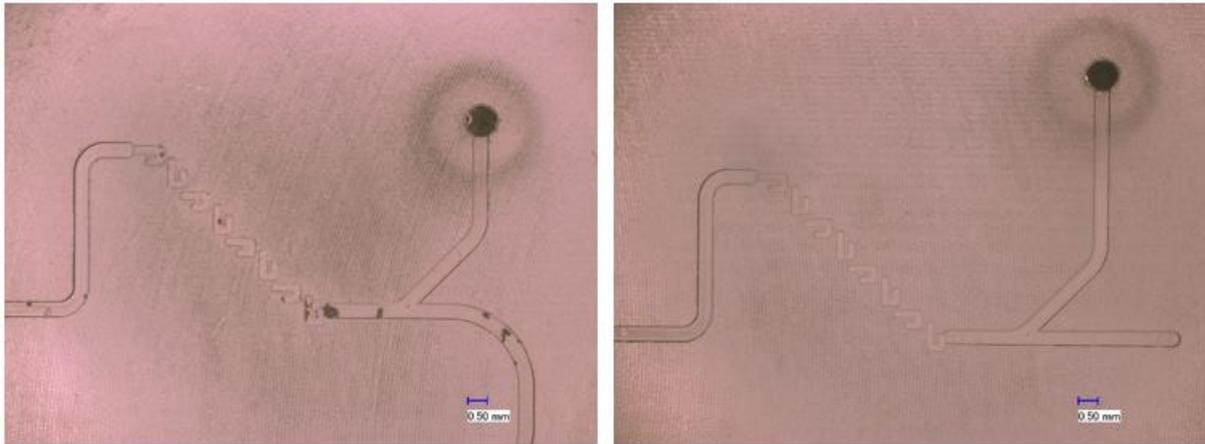


Abbildung 3. 6: Foto der mikrofluidischen Kanäle nach dem Fräsen (links) und nach der Reinigung mit dem Schneestrahler (rechts). Die Fotos wurden mit dem Digitalmikroskop Keyence aufgenommen.



Abbildung 3. 7: Foto der mikrofluidischen Mischer Struktur nach Two-Layer-Crossing-Channel Design. Die Fotos wurden nach Zusammenschweißen der Bauteile mit dem Digitalmikroskop Keyence aufgenommen.

Die grundlegende Anforderung an das Material der Plattform ist eine chemische Beständigkeit gegenüber elektrolytischen Lösungen und einem breiten pH-Bereich. Das Material sollte inert sein, sodass sich zwischen Material und Fluid keine Wechselwirkungskräfte bilden, die Einfluss auf Fluid und Stofftransport innerhalb der Strömung haben können. Dies ist besonders in der Mikrofluidik von Relevanz, da Mikrokanäle eine große Oberfläche im Verhältnis zum Volumen haben und Wechselwirkungskräfte zwischen Fluid und Kanalwand auch bis ins Innere der Strömung hineinwirken.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Charakterisierung einer mikrofluidischen Plattform aus Polycarbonat (Abk.: PC). Die Wahl fiel auf dieses Material, weil es chemisch inert gegenüber starken Säuren wie Flusssäure und Schwefelsäure ist. Polycarbonat ist sehr stabil und beständig gegen Kratzer oder mechanischer Beschädigung. Die Bearbeitung des Materials ist unkompliziert, da Mikrostrukturen im Bereich $\geq 100 \mu\text{m}$ in das Material gefräst werden können [74].

Neben PC gibt es eine Vielzahl an Materialien, die für unterschiedliche Anwendungen spezifisch geeignet sind. Gängigen Materialien für mikrofluidische Systeme (LOC, μ -TAS) sind neben thermoplastische Polymere (PC, PMMA, etc.) auch Polydimethylsiloxan (PDMS), Silikon, Glas und Papier [9, 35, 69, 69, 93, 96]. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich mit dem thermoplastischen Polymer PC gearbeitet.

3.2 PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt

In der vorliegenden Arbeit wurden Wasserstoffionen (H^+) und Fluoridionen (F^-) selektive Membranen hergestellt und auf einen mit Graphit beschichteten Festkontakt aufgebracht. Tabelle 3.2 fasst zusammen, welche Membran zu der jeweiligen Untersuchung und Charakterisierung verwendet wurde.

Tabelle 3.2: Zusammenfassung des Einsatzes ionenselektiver Membranen.

Untersuchung passiver Mikromischer	H^+ -selektive Membran
Charakterisierung einer PVC-Membranelektrode mit Graphit-Festkontakt	H^+ -selektive Membran
Evaluierung Standard-Additionschips	F^- -selektive Membran
Evaluierung Titrationschips	H^+ -selektive Membran

Für die Charakterisierung der H^+ -selektiven Membranelektroden wurden drei verschiedene Membranen hergestellt, die sich in der Zusammensetzung ihrer Komponenten unterscheiden. Für die Durchführung der Standard-Addition zur Bestimmung des Fluoridanteils in einer Probelösung wurden F^- -selektive Membranen und für die Säure-Base Titration wurden H^+ -selektive Membranen verwendet.

3.2.1 Herstellung der Membran

Für die Herstellung der Membranlösung wurden die in Tabelle 3.3 und 3.4 angegebenen Mengen an Membrankomponenten eingewogen und mit 1.5 bis 2 ml Tetrahydrofuran (Abk.: THF) unter Rühren bei $65^\circ C$ gelöst. Die Membran beinhaltet einen Weichmacher für Polyvinylchlorid (Abk.: PVC), welcher als organisches Lösungsmittel für das Ionophore dient: 2-Nitrophenyl-octyl-ether (Abk.: NPOE) für H^+ -selektive und Bis-(2-ethylhexyl)-sebakat (Abk.: DOS) für F^- -selektive Membranen. In der organischen Phase liegt das ionenselektive Ionophore vor. In der Kationenanalytik wird zusätzlich ein Leitsalz verwendet, hier Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluoromethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB). Die organische Phase wird mechanisch durch PVC stabilisiert. Die Herstellung der H^+ -selektiven Membran stammt aus den Arbeiten von [51, 62], die Herstellung der F^- -selektiven Membran bezieht sich auf [20, 76].

Tabelle 3.3: Überblick über die Einwaage der Membrankomponenten für H^+ -selektive Membranen. Für die Charakterisierung der H^+ -selektiven Membranelektroden wurden drei Membranen mit unterschiedlichen Anteilen des Leitsalzes Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluoromethyl)-phenyl]-borat hergestellt.

H^+ -selektive Membran						
Komponente	Nr. 1		Nr. 2		Nr. 3	
	Gew.-%	[mg]	Gew.-%	[mg]	Gew.-%	[mg]
H^+ -Ionophore V	1,00	1,20	1,00	4,23	1,06	4,91
NaTFPB	-----		0,10	0,42	0,50	2,30
NPOE	66,00	79,96	66,00	281,78	65,60	304,43
PVC	32,89	39,55	32,90	140,13	32,84	152,44

Tabelle 3.4: Überblick über die Einwaage der Membrankomponenten für F^- -selektive Membranen.

F^- -selektive Membran		
Komponente	Gew.-%	[mg]
F^- -Ionophore I	2,00	8,30
DOS	32,73	135,00
PVC	65,27	271,00

3.2.2 Herstellung des Graphit-Festkontakts

Die viskose Membran wurde auf ein festes Substrat aufgebracht, welches mit einer Graphitpaste im Vorhinein bedruckt wurde. Als Graphitpaste wurde eine elektrisch-leitende Graphitpaste der Fa. Henkel verwendet (Carbon Black Ink Loctite EDAG PF 407C E&C, Henkel AG & Co.KGaA). Die Paste wurde mit dem leitfähigen Polymer Poly-(3-octylthiophen) (Abk.: POT) dotiert, um sie als Mischleiter einzusetzen. Dafür wurde POT in THF gelöst und der Paste beigemischt. Durch das leitfähige Polymer POT wurde die Graphitschicht zu einem *Ion-to-Electron Transducer*, ein Mischleiter, der in der Lage ist, ionische Ladung in elektrische Ladungsträger umzuwandeln. Die Herstellung des POT-dotierten Graphit-Festkontakts ist angelehnt an den Arbeiten [2, 46, 49, 102].

Die Graphitpaste wurde mittels Schablone und Rakel auf die Flächen des vergoldeten Nickelkontaktes des Elektrodenboards aufgestrichen. Auf der Schablone wurden Stellen für die vergoldeten Nickelkontakte, welche als Substrat für die Elektroden auf dem Elektrodenboard dienen, ausgelassen. Anschließend wurde die Paste im Trockenofen bei 100°C für 1,5 h getrocknet. Durch Tempern der Graphitpaste konnten Widerstand und Haftung der Elektrode verbessert werden.

Nachdem die Graphit-POT-Paste getrocknet und abgekühlt war, wurden ca. 10 bis 15 µl der Membranlösung mit einer Mikroliterpipette aufgebracht (*Drop-Casting* Methode [48]). Die Membran wurde mit Filterpapier abgedeckt, damit das Lösungsmittel THF gleichmäßig abdampfen konnte. Beim Pipettieren der Membranlösung war darauf zu achten, dass keine Luftblasen entstehen und die Membranlösung nicht zu dünnflüssig ist. Im Fall zu flüssiger Membranlösungen fließt die Membran über den Bereich der Graphitpaste hinaus, wodurch die Membranschicht zu dünn wird. Nach ~ 24 h ist das THF aus der Membranschicht abgedampft und die ionenselektive Elektrode ist einsatzbereit.

3.2.3 Integration in die mikrofluidische Plattform

Elektrodenboard und mikrofluidischer Chip wurden durch Schraubverbindungen miteinander verbunden. Die Durchflusszellen des Chips wurden genau über den Elektroden positioniert. O-Ringe dichteten die Zelle vor Auslaufen der Lösungen ab und wurden passgenau zum Durchmesser der Zelle eingefügt. In Tabelle 3.5 sind Aufbau und Funktion der Schichten der ionenselektiven Elektrode, beginnend mit dem Elektrodenboard, als Querschnitt schematisch dargestellt.

Tabelle 3.5: Schematische Darstellung des Querschnitts einer ionenselektiven Elektrode im mikrofluidischen Chip. Abgebildet sind die unterschiedlichen Schichten und eine kurze Erläuterung ihrer Funktion. Die Schichtdicken sind nicht originalgetreu dargestellt.



Elektrodenboard mit vergoldeten Nickelkontakt

Funktion:

Kontakt zur Elektronik und elektrischer Leiter



Graphitpaste mit POT

Funktion:

Wandelt als *Ion-to-Electron Transducer* die ionische Ladung in elektrische Ladung um



Ionenselektive Membran

Funktion:

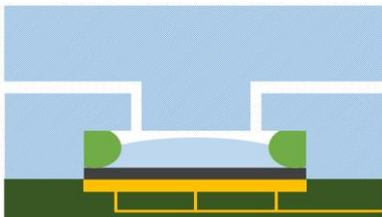
Enthält Komponenten, die selektiv an das Analyt aus der elektrolytischen Messlösung binden, wodurch sich an der Membrangrenzfläche zur Messlösung ein Potential ausbildet.



O-Ring

Funktion:

Abdichtung der Durchflusszelle



Mikrofluidische Plattform

Funktion:

Die Plattform enthält Durchflusszellen, in welche die Membranelektrode platziert wird. Mikrofluidische Kanäle sind an der Zelle angeschlossen.

3.3 Der experimentelle Aufbau

3.3.1 Messaufbau und Elektronik

Der Einsatz einer mikrofluidischen Sensorplattform zur Bestimmung der unbekannt Konzentration eines Analyten erforderte sowohl eine fluidische als auch elektrische Kontaktierung. Als fluidischer Anschluss wurden Schlauchverbindungen aus Hohlschrauben und geflanschten PTFE-Schlauch an den mikrofluidischen Chip angeschlossen. Für die fluidische Förderung wurde ein Schlauch aus PTFE mit innerem Durchmesser von 0,8 mm der Fa. Bola verwendet. Die Hohlschrauben wurden am Fraunhofer IMM hausintern gefertigt. Der Messaufbau und seine Funktionsweise werden in Abbildung 3.8 schematisch dargestellt: Die elektrolytische Lösung mit Analyt wurde mittels Spritzenpumpen **(a)** gefördert. Die Durchflussrate wurde über die Steuerungssoftware der Pumpen eingestellt. Zum Einsatz kamen Pumpen der Fa. Cetoni GmbH (Nemesys S) und der Fa. Spetec GmbH (Symax Spritzenpumpe), die durch Glasspritzen der Fa. Hamilton (Hamilton 1700/1000 Series Gastight Instrument Spritzen) ergänzt wurden. Die Lösungen flossen durch den mikrofluidischen Chip **(b)** über die Referenzelektrode **(c)** und wurden in einem Becherglas aufgefangen **(d)**. Als Referenzelektrode wurde eine Ag/AgCl-Elektrode der Fa. eDAQ (Referenzelektrode ET073 in 3 mol l⁻¹ KCl) verwendet. Der Chip war mit einem Elektrodenboard verbunden, auf welchem ionenselektive Elektroden (Nummerierung E1 bis E5) aufgebaut wurden. Diese messen in Abhängigkeit der Aktivität des Analytens in der elektrolytischen Messlösung ein elektrochemisches Potential, welches in ein elektrisches Messsignal umgewandelt und an die Steuerelektronik **(e)** weitergeleitet wurde. Auch an der Referenzelektrode bildete sich ein konstantes und von der Aktivität des (Referenz-)Ions (hier: Cl⁻) in der Messlösung unabhängiges, elektrochemisches Potential aus, welches als elektrisches Signal an die Steuerelektronik weitergeleitet wurde. Als Messsignal wurde die Potentialdifferenz zwischen ISE und Referenzelektrode an der Auswertungseinheit, einem Laborlaptop **(f)**, ausgegeben. Die Steuerelektronik und die Software zur Auswertung wurden am Fraunhofer IMM entwickelt und programmiert. Die Auswertung erfolgte in der Software LabVIEW (National Instruments, LabVIEW Version 2019). Sowohl die Steuerelektronik als auch das Elektrodenboard wurden gegen elektromagnetische Strahlung aus der Umgebung durch einen selbstgebauten und geerdeten Faraday'schen Käfig geschützt **(g)**.

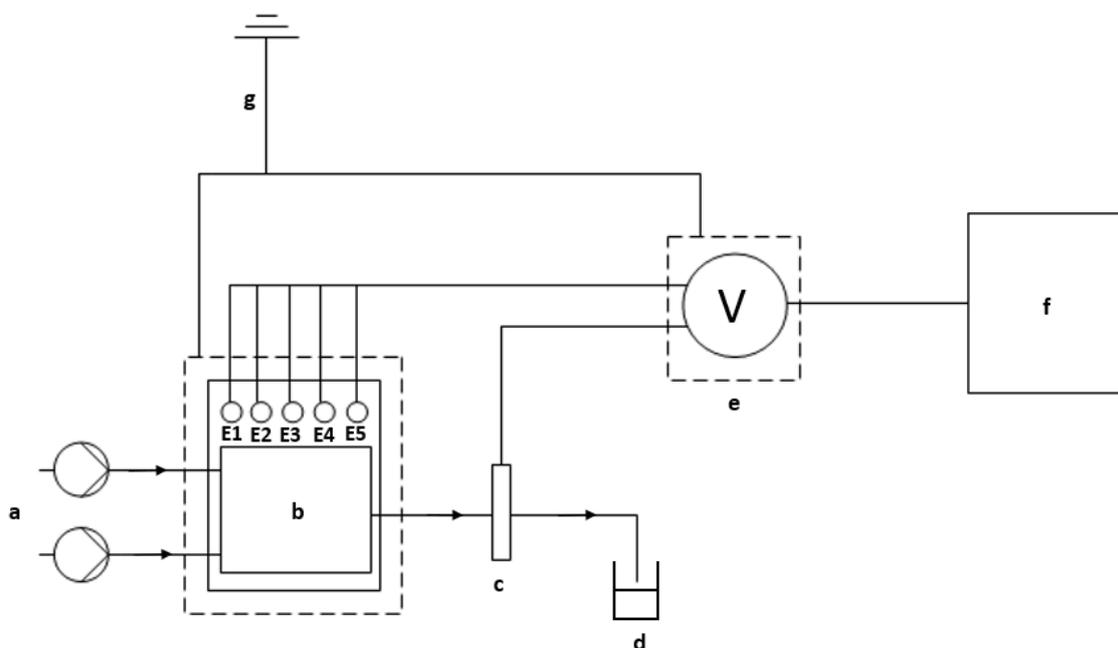


Abbildung 3. 8: Schematische Darstellung des Messaufbaus und seine Komponenten: Spritzenpumpe für Lösungen (a), mikrofluidischer Chip (b), Referenzelektrode (c), Auffangbehälter (d), Steuerelektronik (e), Auswertungseinheit (f) und Erdung (g).

Abbildung 3.9 zeigt den kompletten Messaufbau sowie den mikrofluidischen Chip mit analog zu Abbildung 3.8: (a) Spritzenpumpe, (b) mikrofluidischer Sensorchip, (c) Referenzelektrode, (d) Auffangbecher, (e) Steuerelektronik und (f) Laborlaptop.

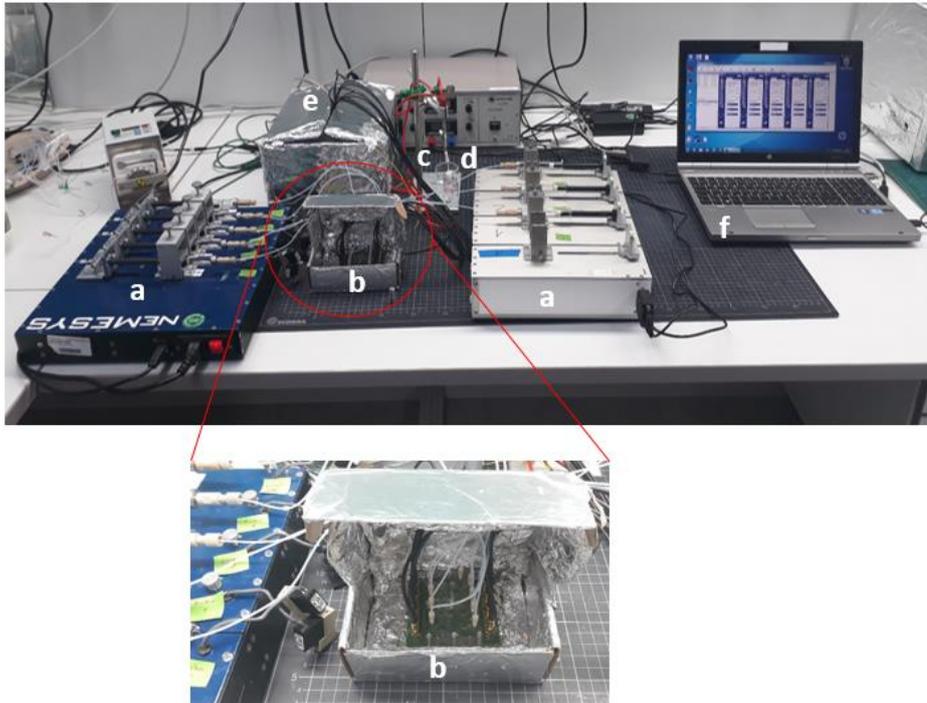


Abbildung 3. 9: Foto des Versuchsaufbaus für die online Titration und des mikrofluidischen Titrationschips. Das Kernstück ist der Chip mit Anschlüssen an Spritzenpumpen rechts und links vom Chip und an die elektronische Steuerung. Sowohl Chip als auch Steuerung befinden sich in Boxen aus Aluminiumfolie, um vor Einflüsse elektromagnetischer Strahlung geschützt zu sein.

Die potentiometrische Messung erfolgte stromlos, allerdings wurde ein geringer Stromfluss für die Steuerelektronik benötigt. Der Anteil wurde konstant und geringgehalten, sodass die Stabilität des Messsystems nicht gestört wurde. Ein wichtiger Teil des Versuchstandes ist die Abdichtung der Elektronik vor elektromagnetischer Strahlung aus der Umgebung durch einen Faraday'schen Käfig, da diese die Potentialmessung empfindlich beeinflusst. Die elektrolytischen Lösungen hatten über die Spritzen der Pumpe oder andere Geräte keinen Kontakt zu leitenden Material, sodass auch hier kein Einfluss eines Stromflusses bestand. An den ionenselektiven Elektroden auf dem Elektrodenboard liegt ein hoher elektrischer Widerstand an, es handelt sich um hochohmige Elektroden. Um die Spannungsmessung vor elektrostatischen Einflüssen der Messgeräte zu schützen, wurden BNC-Steckverbindungen mit elektrischer Abschirmung an Elektrodenboard und Steuerelektronik angeschlossen und eine Erdung an die Messgeräte angeschlossen.

3.3.2 Messprinzip und Auswertung

Das potentiometrische Messprinzip mit ionenselektiven Elektroden wurde in Kapitel 2.2.1 *Grundlagen der potentiometrischen Messung* erläutert. Die Auswertungssoftware LabVIEW zeichnete den zeitlichen Verlauf der Potentialmessung auf. Ein Messwert der Potentialdifferenz zwischen ISE und Referenzelektrode wurde alle 3 Sekunden aufgenommen und in Excel-Tabellen gespeichert. Sobald sich das Potential konstant auf einen Wert eingestellt hatte, wurde der Messwert des Potentials gemittelt. Das Potential galt als konstant, sobald die Schwankung um einen Messwert herum ≤ 0.5 mV ist.

Vor jeder Messung eines Analyten mit unbekannter Konzentration wurden die Elektroden kalibriert, um aus dem Ansprechverhalten der Elektroden auf Proben bekannter Konzentrationen Steilheit und Standardelektrodenpotential zu bestimmen. Die Umrechnung des gemessenen Elektrodenpotentials zu der Konzentration des Analyten soll im Folgenden exemplarisch anhand der Kalibrierung von H⁺-selektiven Elektroden mit Zitronen- und Borsäure Pufferlösungen pH 3, pH 4 und pH5 vorgestellt werden.

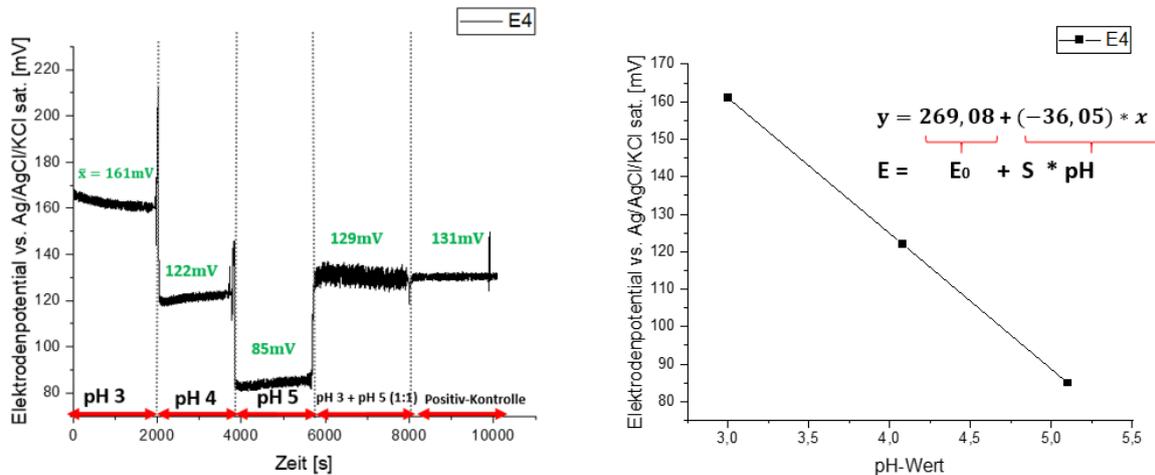


Abbildung 3. 10: Auf der linken Seite ist der zeitliche Verlauf einer potentiometrischen Messung der Pufferlösungen mit pH 3, pH 4 und pH 5 an Elektrode E4 dargestellt. Auf der rechten Seite ist die Kalibriergerade des Elektrodenpotentials gegen pH-Wert aufgetragen. Über lineare Regression wird die Elektrodensteilheit S und das Standardelektrodenpotential E_0 ermittelt, sodass über ein gemessenes Potential E nun die unbekannte Konzentration des Ions H^+ berechnet werden kann.

Abbildung 3.10 zeigt den zeitlichen Verlauf der potentiometrischen Messung an H⁺-selektiven Elektroden mit einer Pufferlösung der pH-Werte pH 3, pH 4 und pH 5. Eine Kalibriergerade wird aus der bekannten Konzentration des Ions H⁺ und den gemessenen Elektrodenpotential erstellt. Der pH-Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffaktivität, daher kann an Stelle von $\log a(H^+)$ der pH-Wert eingesetzt werden. Durch Anlegen einer linearen Regressionsgeraden werden Steilheit S (Steigung der Geraden) und Standardelektrodenpotential E_0 (Ordinatenabschnitt) bestimmt. Über die Nernst-Gleichung (2.25) Kapitel 2.2.1 Grundlagen der potentiometrischen Messung) wird nun die unbekannte Konzentration mittels Messwert des Elektrodenpotentials E berechnet.

Ein Nachteil bei der potentiometrischen Messung mit ionenselektiven Elektroden ist die Reproduzierbarkeit der Messwerte. Die Elektroden unterliegen einer Drift, daher ist eine tägliche Kalibrierung der Elektroden notwendig. Die Elektrodendrift H⁺-selektiver Elektroden betrug innerhalb der Messdauer $\leq 10 \mu V/h$, weshalb auf eine Driftkorrektur verzichtet wurde.

3.3.3 Statistische Auswertung und Messfehler

Nach Einstellung des Gleichgewichtspotentials auf einen konstanten Wert an der Indikatorelektrode wurden mehrere Messwerte der Potentialdifferenz aufgenommen. Die Messwerte unterlagen Schwankungen um einen Mittelwert herum. Die Messwerte beschrieben eine Gauß'sche Glockenform und unterlagen einer Normalverteilung. Der gemittelte Wert aller Messwerte \bar{x} wird aus ihrer Summe dividiert durch Anzahl der Messwerte n und ist das Zentrum der Normalverteilung (Gl. 3.1):

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n} \quad (3. 1)$$

Die Streuung der Messwerte um den Mittelwert \bar{x} wird als Standardabweichung s angegeben und gibt die Breite der Normalverteilung an (Gl. 3.2). An der Größe der Standardabweichung wird die Präzision der Messung abgelesen. Kleine Werte der Standardabweichung sind ein Maß für präzise Messungen und zeigen an, dass die einzelnen Messungen nahe am wahren Mittelwert liegen.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (3.2)$$

Abweichungen der experimentell ermittelten Messwerte von theoretisch richtigen Werten werden durch die Angabe des absoluten Fehlers f_{abs} und des relativen Fehlers f_{rel} beschrieben [37]. Der absolute Fehler f_{abs} ist die Differenz zwischen dem experimentellen Messwert $x_{experimentell}$ und dem theoretisch richtigen Wert $x_{theoretisch}$ und wird in Gleichung 3.3 dargestellt:

$$f_{abs} = |x_{theoretisch} - x_{experimentell}| \quad (3.3)$$

Der relative Fehler f_{rel} wird aus dem Quotienten des absoluten Fehlers f_{abs} und des theoretisch richtigen Wertes $x_{theoretisch}$ gebildet und in Prozent angegeben (Gl. 3.4):

$$f_{rel} = \frac{f_{abs}}{x_{theoretisch}} * 100\% \quad (3.4)$$

Aufgrund der Abweichung vom gemittelten Messwert spricht man auch von einer Messunsicherheit, welche sich in der relativen Abweichung der ermittelten Konzentration $\frac{\Delta c}{c}$ äußert. Diese muss in der Berechnung der Analytkonzentration mit einbezogen werden. Die folgende Fehlerrechnung wurde aus Cammann und Galster 1996 [19] als Beispiel für die Bestimmung der Konzentration mittels direkter Potentiometrie entnommen. Die Fehlerfortpflanzung durch die Unsicherheit der Messwerte wird nach dem Taylor-Gesetz berechnet (Gl. 3.5):

$$\Delta c = \frac{dc}{dE} \Delta E \quad (3.5)$$

Nach Anwendung der Differentialregeln erhält man Gl. 3.6:

$$\Delta \ln c = \frac{d \ln c}{dc} dc = \frac{\Delta c}{c} \quad (3.6)$$

Durch Einsetzen der Nernst-Gleichung (Gl. 2.25) ergibt sich Gl. 3.7:

$$\frac{\Delta c}{c} = d \frac{\frac{E - E_0}{S} \ln 10}{dc} \frac{dc}{dE} \Delta E = d \frac{\frac{E - E_0}{S} \ln 10}{dE} \Delta E \quad (3.7)$$

Vereinfachung der Gleichung:

$$\ln c = \frac{\ln 10}{S} \Delta E \quad (3.8)$$

Die Steilheit S wird für die Nernst-Spannung einwertiger Ionen eingesetzt, sodass sich folgende Gleichung 3.9 ergibt:

$$\Delta \ln c = \frac{\Delta c}{c} = \frac{\ln 10}{S} \Delta E \approx 0,039 * \Delta E \quad (3.9)$$

Daraus ergibt sich, dass bei einer Abweichung von 1 mV bei der Messung einwertiger Ionen der relative Fehler der ermittelten Konzentration $\sim 4\%$ beträgt. Der relative Fehler verdoppelt sich für zweiwertige Ionen. Bei mehreren Messungen addieren sich die Abweichungen $\frac{\Delta c}{c_x}$. Durch Einsetzen der bekannten Konzentrationen der Standardlösungen zur Kalibrierung der ISE c_1 und c_2 und den gemessenen Potentialdifferenzen in die Interpolation, ergibt sich Gl. 3.10:

$$\frac{\Delta c}{c_x} = \frac{\ln c_x - \ln c_2}{E_3 - E_2} \Delta E_1 + \frac{\ln c_x - \ln c_1}{E_3 - E_1} \Delta E_2 + \frac{\ln c_2 - \ln c_1}{E_2 - E_1} \Delta E_3 \quad (3.10)$$

3.4 Untersuchung der Mischeffektivität passiver 3D SAR Mikromischer

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Mischeffektivität von zwei passiven dreidimensionalen (3D) *Split-And-Recombine* Mikromischern untersucht. Für diesen Zweck wurden mit Mikromischer nach Typ *Twisted* und *Two-Layer-Crossing-Channel* (Abk.: TLCC) gefertigt. Anders als in der Detailansicht in Abbildung 3.11 dargestellt wurden die Kanäle der Mikromischer während der Fertigung kreisrund ausgefräst, sodass die Mischer einen Durchmesser von 200 μm haben.

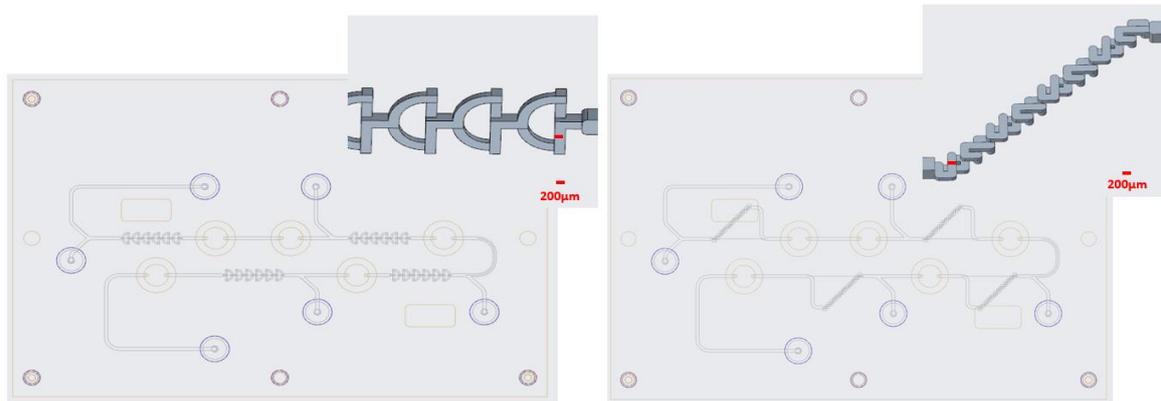


Abbildung 3. 11: Auf der linken Seite ist der Mikrochip mit Mikromischern des Typs „Twisted“ abgebildet. Auf der rechten Seite ist ein Mikrochip mit Mikromischern des Typs „Two-Layer-Crossing-Channel“ (TLCC) dargestellt.

Nach der Fertigung wurden die Mikrochips auf Elektrodenboards mit H^+ -selektiven PVC-Membranelektroden geschraubt und an die Fluidik angeschlossen. Als Messlösung wurde ein pH-Puffer aus 10 mM Zitronensäure und 10 mM Borsäure angesetzt und durch Titration mit 10 M NaOH auf die pH-Werte pH 3, pH 4 und pH 5 eingestellt. Die pH-Werte wurden durch eine pH-Glasmembranelektrode und pH-Meter überprüft. Zusätzlich wurde eine Mischung 1:1 aus den Pufferlösungen pH 3 und pH 5 hergestellt und der pH-Wert dieser Lösung bestimmt. Diese Lösung ist die 100% Durchmischung beider Lösungen und stellt die Positiv-Kontrolle der Mischversuche dar.

Vor den Mischversuchen wurden die Elektroden mittels 2-Punkt Kalibrierung mit Zitronen-/Borsäure Puffer der pH-Werte pH 3 und pH 4 kalibriert. Im Anschluss wurden die Puffer pH3 und pH5, wie in Abbildung 3.12 schematisch dargestellt, an den Mikrochip angeschlossen. Alle übrigen Einlässe wurden mit einer Schraube abgedichtet. Die Lösungen wurden mittels Spritzenpumpen der Fa. Symantec und 5 ml Glasspritzen der Fa. Hamilton gefördert.

Es gab zwei Versuchsdurchführungen: Während Versuchsdurchführung 1 liegt die Pufferlösung pH 3 an Einlass 1 an, Pufferlösung pH 5 an Einlass 2. Während Versuchsdurchführung 2 werden die Einlässe gewechselt. Die Versuchsdurchführung wurde variiert, um zu untersuchen, ob der Einlass der Pufferlösung einen Einfluss auf Mischgüte bzw. Mischvorgang hat.

Tabelle 3.6: Überblick der Versuchsdurchführung für die Untersuchung der Mikromischer.

	Einlass 1	Einlass 2
Versuchsdurchführung 1	pH 3	pH 5
Versuchsdurchführung 2	pH 5	pH 3

Die Durchflussraten wurden im Verhältnis 1:1 eingestellt. Es wurden jeweils drei Versuche zu den Durchflussraten 10, 50 und 100 $\mu\text{l}/\text{min}$ durchgeführt. Zuletzt wurde die Positiv-Kontrolle aus dem 1:1 Gemisch der Lösungen pH 3 und pH 5 durch den Chip geleitet.

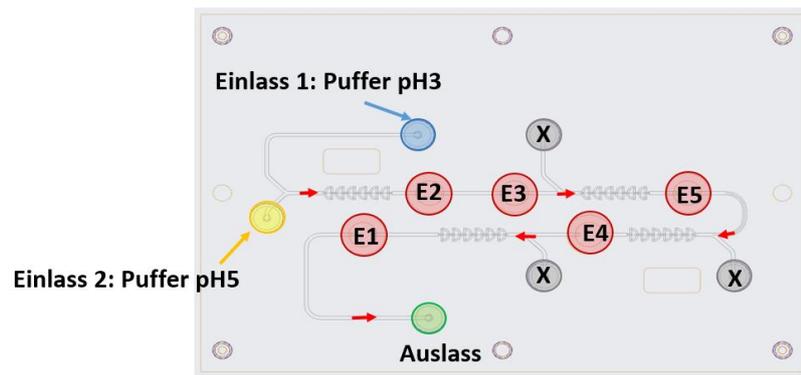


Abbildung 3. 12: Schematische Darstellung der Versuchsdurchführung zur Evaluierung der Mikromischer „Twisted“ und „TLCC“. An Einlass 1 wurde ein Zitronen-/Borsäure Puffer mit pH 3 eingeleitet, an Einlass 2 entsprechend ein Puffer mit pH 5. Die Lösungen werden mittels Mikromischer gemischt und fließen über die H⁺-selektiven Elektroden (E1 bis E5).

Evaluierung der Mikromischer

Die Mischeffektivität wertet aus, wie effektiv der untersuchte Mikromischer zwei Lösungen unterschiedlicher pH-Werte mischt und wird durch die Mischgüte M als Bewertungskriterium berechnet [79, 106] (siehe dazu Gl. 2.17 in Kapitel 2.1.3 *Mikrofluidische Durchmischung*).

Die Mischgüte wird über die Standardabweichung σ der Konzentration bei vollständiger Durchmischung berechnet (Gleichung 2.18). Die Berechnung der Standardabweichung σ wurde an die potentiometrische Messung im Durchflusssystem angepasst, wobei N die Anzahl der der Messungen ist, E_i ist der Messwert der Potentialdifferenz in mV nach Einstellung des Potentialgleichgewichts an der entsprechenden Elektrode und $E_{100\% \text{ Durchmischung}}$ ist die Potentialdifferenz die an der Elektrode bei vollständiger Durchmischung gemessen werden müsste (Gl. 3.11). Dieser Wert wurde durch eine Positiv-Kontrolle ermittelt.

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} * \sum_{i=1}^N (E_i - E_{100\% \text{ Durchmischung}})^2} \quad (3.11)$$

Der Wert σ_{max} ist die maximale Abweichung von der vollständigen Durchmischung. Für diesen Wert wurde der Messwert der Potentialdifferenz bei pH 5 genommen, da dieser Puffer vor Beginn des Mischvorgangs im Durchflusssystem an allen Elektroden vorlag. Es wurde die Annahme getroffen, dass bei keiner Durchmischung (0%) ein Potential der Pufferlösung pH 5 an der Elektrode vorliegen muss. Die Mischgüte M geht von 0 (keine Durchmischung, 0%) bis 1 (vollständige Durchmischung, 100%).

3.5 Charakterisierung ionenselektiver PVC-Flüssigmembranelektroden

Um reproduzierbare Messwerte zur Charakterisierung der H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden mit Graphit-Festkontakt zu erhalten, wurden die hydrodynamischen Bedingungen durchgängig konstant gehalten:

- Einheitliches Design des Chips und der Durchflusszelle
- Konstante Durchflussrate von 100 µl/min
- Einheitliche Oberflächengröße der Elektroden

Für die Charakterisierung wurde die H⁺-selektive PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt wie in Tabelle 3.7 zusammengefasst aufgebaut.

Tabelle 3.7: Zusammenfassung der Membranzusammensetzung und Aufbaus H⁺-selektiver PVC-Membranelektroden mit Festkontakt. Der Anteil des Leitsalzes Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) beträgt 0 Gew.% (Membran Nr. 1), 0,1 Gew.% (Membran Nr. 2) und 0,5 Gew.% (Membran Nr. 3).

	H ⁺ -selektive Membran		
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
Membranzusammensetzung	Membran: H-PVC-JF#13 1,0 Gew.% H-Ionophore V 0,0 Gew.% NaTFPB 33,0 Gew.% PVC 66,0 Gew.% NPOE	Membran: H-PVC-JF#12 1,0 Gew.% H-Ionophore V 0,1 Gew.% NaTFPB 32,9 Gew.% PVC 66,0 Gew.% NPOE	Membran: H-PVC-JF#8 1,06 Gew.% H-Ionophore V 0,5 Gew.% NaTFPB 32,84 Gew.% PVC 65,60 Gew.% NPOE
Ion-to-Electron Transducer	POT dotierte Graphitpaste		
Membran Auftrag	Drop-Casting Methode, ~ 15 µl		
Elektrolyt (Pufferlösung)	20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer		

3.5.1 Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten

Um den Einfluss von Störionen quantitativ zu bestimmen, wird der Selektivitätskoeffizient K_{ij}^{pot} ermittelt (siehe Gl. 2.28). Der Selektivitätskoeffizient gibt an, mit welchem Faktor die Konzentration der Störionen zu multiplizieren ist, um an der Messelektrode die gleiche Potentialdifferenz wie die der Analyt-Ionen bei gleicher Konzentration hervorzurufen [18]. Der Selektivitätskoeffizient wurde experimentell mittels *Fixed Interference Method* (Abk.: FIM) nach [7, 99, 100] bestimmt. Bei dieser Methode wird die Konzentration der Störionen konstant gehalten, wohingegen die Konzentration des Analyt- bzw. Messions variabel ist. Um den störenden Einfluss von Alkalimetallionen zu untersuchen, wurde eine 20mM Zitronen-/Borsäure Pufferlösung mit 0.1M NaOH, 0.1M KOH und 0.1M LiOH versetzt. Für die Erstellung einer Kalibrierkurve wurde die Lösung mit 0.1M HCl sukzessive von pH 12 bis pH 2 titriert. Der Selektivitätskoeffizient der Anionen Cl⁻ und SO₄²⁻ wurde Zugabe von 0.1M NaCl und 0.1M NaSO₄ zum 20mM Zitronen-/Borsäure Puffer und anschließender Titration mit 0.1M NaOH von pH 2 bis pH 12 bestimmt. Die folgende Tabelle 3.8 fasst die verwendeten Probelösungen zusammen.

Tabelle 3.8: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen zur Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten K_{ij}^{pot} für unterschiedliche Störionen.

Lösungen	Mess- und Störion
Elektrolyt: 20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer (mit HCl auf pH2 titriert)	Mession: H ⁺ Störion: -
Elektrolyt: 20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer + 0.1M NaOH	Mession: H ⁺ Störion: Na ⁺
Elektrolyt: 20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer + 0.1M KOH	Mession: H ⁺ Störion: K ⁺
Elektrolyt: 20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer + 0.1M LiOH	Mession: H ⁺ Störion: Li ⁺
Elektrolyt: 20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer + 0.1M NaCl	Mession: H ⁺ Störion: Cl ⁻
Elektrolyt: 20mM Zitronen-/Borsäure pH Puffer + 0.1M Na ₂ SO ₄ (mit H ₂ SO ₄ auf pH2 titriert, kein Cl-)	Mession: H ⁺ Störion: SO ₄ ²⁻

Im Anschluss wurde der Selektivitätskoeffizient berechnet, wobei a_i die Aktivität des Analyten i , a_j die Aktivität des Störions j sowie z_i und z_j die entsprechenden Ladungszahlen sind (Gl. 3.12).

$$K_{ij}^{pot} = \frac{a_i}{a_j^{z_i/z_j}} \quad (3.12)$$

3.5.2 Dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem

Für die experimentelle Untersuchung des Ansprechverhaltens wurde die *Switched Wall Jet* Methode nach [59] durchgeführt. Bei dieser Methode ist der schnelle und reproduzierbare Wechsel zwischen zwei Probelösungen mit unterschiedlicher Konzentration des zu detektierenden Ions an der Elektrodenoberfläche entscheidend. Mit Wechsel der Probelösung an der Oberfläche der Elektrode geht immer eine zeitliche Verzögerung einher. Diese Verzögerung wird im Durchflusssystem durch den Austausch der Probelösung in der Durchflussszelle und in den Strömungskanälen des Chips bedingt.

Als elektrolytische Messlösung wurde eine 20 mM Zitronen-/Borsäure Pufferlösung mit pH 7 und pH 8 gewählt. Die Probelösungen wurden mit Cetoni-Spritzenpumpen gefördert. Die dynamische Ansprechzeit der H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden wurde für Durchflussraten 10, 50, 100, 300, 500, 800, 1000, 1200, 1500, 1800 und 2000 $\mu\text{l}/\text{min}$ ermittelt. Für die Auswertung der Ansprechzeit der Zelle und der Elektroden wurde der Wechsel zwischen der Lösung pH 7 zu pH 8 grafisch mit Origin ausgewertet. Eine geeignete FIT-Funktion wurde ermittelt, um den Verlauf des Potentials nachzustellen. Die Fit Funktion ExpAssocDelay1 zeigte die beste Annäherung an den zeitlichen Potentialverlauf (Gl. 3.13 und 3.14):

$$y = Yb \quad \text{für } x < TD \quad (3.13)$$

$$y = Yb + A \left(1 - e^{-\frac{(x-TD)}{\tau}}\right) \quad \text{für } x \geq TD \quad (3.14)$$

TD	Zeitverschiebung
Yb	Basislinie
A	Amplitude
τ	Zeitkonstante

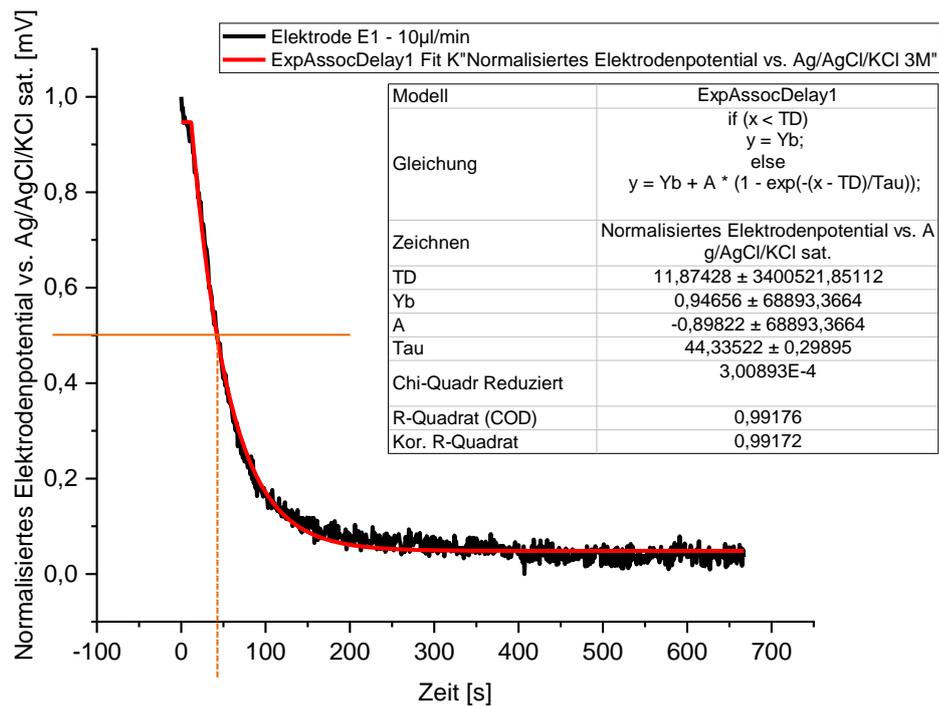


Abbildung 3. 13: Grafische Darstellung der Messwerte des Elektrodenpotentials bei einem Wechsel der Pufferlösung von pH 7 zu pH 8. Die Fit-Funktion ExpAssocDelay1 ist als roter Graf dargestellt. Die Werte wurden an Elektrode E1 bei 10 µl/min aufgenommen.

In der Fit-Funktion ExpAssocDelay1 entspricht die Zeitkonstante τ der Halbwertszeit $t(50)$. Die Messwerte des Elektrodenpotentials nach dem Wechsel der Pufferlösung von pH 7 zu pH 8 wurden zuerst normiert (Normierung [0,1]). Danach wurde am normierten Elektrodenpotential 0,5 die entsprechende Halbwertszeit $t(50)$ grafisch ermittelt. Entsprechend wurde die Zeitkonstante τ_{90} für $t(90)$ für das normierte Elektrodenpotential bei 0,1 ermittelt (siehe Abb. 3.13).

3.6 Chipbasierte Analysemethoden zur Bestimmung der Ionenkonzentration im Durchflusssystem

3.6.1 Chipbasierte Durchflusstitation

Für die Evaluierung der chipbasierten Durchflusstitation wurden Säure-Base-Titrations durchgeführt. Zur Ermittlung der Titrationskurve wurden der pH-Wert mittels H^+ -selektiver PVC-Membranelektrode mit Graphit-Festkontakt gemessen. Die Zusammensetzung der Membran ist in Tabelle 3.9 zusammengefasst.

Tabelle 3.9: Zusammenfassung der Membrankomponenten in der für die chipbasierte Titration verwendeten H^+ -selektiven Elektroden.

H ⁺ -selektive Membran		
Komponente	Gew.-%	[mg]
H ⁺ -Ionophore V	1,00	4,23
NaTFBP	0,10	0,42
NPOE	66,00	281,78
PVC	32,90	140,13

Für Testreihe 1 wurde eine schwache Säure (0.02M 2-N-Morpholinoethansulfonsäure, Abk.: MES) mit einer starken Base (0.01M NaOH) titriert. Für Testreihe 2 wurde eine starke Säure (0,001M HCl) mit einer starken Base (0.001M NaOH) titriert. Tabelle 3.10 fasst die verwendeten Säuren und Basen zusammen.

Tabelle 3.10: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen für Kalibrier-, Probe- und Maßlösung der Versuche zur Evaluierung der chipbasierten Titration im Durchflusssystem.

	Kalibrierlösung 1	Kalibrierlösung 2	Kalibrierlösung 3	Probelösung	Maßlösung
Testreihe 1	0.02M MES titriert mit 0.01M NaOH			0.02M MES	0.01M NaOH
	pH 4	pH 6	pH 10		
Testreihe 2	0.001M HCl titriert mit 0.001M NaOH			0.001M HCl	0.001M NaOH
	pH 3	pH 5	pH 10		

In Abbildung 3.14 wird der Aufbau des Mikrochips und das Durchflusssystem für die Titration schematisch dargestellt. Am ersten Einlass des Chips wurde die Säurelösung mit konstanter Flussrate vorgelegt und an Elektrode E1 gemessen. Nach Einstellung des Gleichgewichtspotentials an allen Elektroden wurde der Titrant simultan an allen Einlässen zu dosiert, um eine Titrationskurve mit sieben Messpunkten zu erstellen. In der Abbildung sind die Einlässe der Maßlösung als Titrant 1 bis Titrant 7 markiert. Direkt nach jedem Einlass werden Säure und Base mittel Mikromischer miteinander gemischt, bevor sie die Elektrode E2 bis E8 passieren. Tabelle 3.11 fasst die Durchflussraten der Testreihen zusammen.

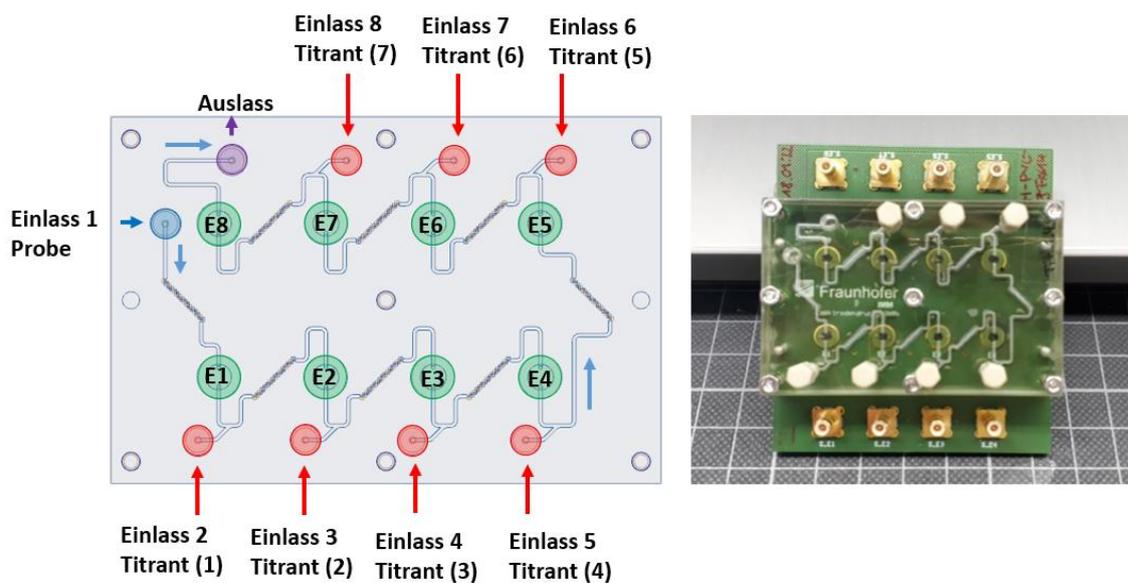


Abbildung 3.14: Auf der linken Seite ist die schematische Darstellung des mikrofluidischen Titrationschips mit Nummerierung der Elektroden E1 bis E8 und der Einlässe 1 bis 8 dargestellt. Die rechte Seite zeigt den Titrationschip auf dem Elektrodenboard.

Tabelle 3.11: Überblick über die Durchflussraten, welche für die Durchführung der chipbasierten Titration eingestellt wurden. Die Zahlen in Klammern geben die resultierende Durchflussrate nach Zuführung des entsprechenden Titranten an.

Einlass		Testreihe 1		Testreihe 2	
		Probe: 0,02M MES Titrant: 0,01M NaOH		Probe: 0,001M HCl Titrant: 0,001M NaOH	
		Flussrate in µl/min			
Einlass 1	Probelösung	50	10	20	
Einlass 2	Titrant 1	50 (100)	5 (15)	12 (32)	
Einlass 3	Titrant 2	30 (130)	5 (20)	2 (34)	
Einlass 4	Titrant 3	8 (138)	4 (24)	2 (36)	
Einlass 5	Titrant 4	4 (144)	2 (26)	2 (38)	
Einlass 6	Titrant 5	4 (146)	2 (28)	2 (40)	
Einlass 7	Titrant 6	2 (148)	2 (30)	2 (42)	
Einlass 8	Titrant 7	2 (150)	2 (32)	2 (44)	

Auswertung der Titrationskurve

Die Titrationskurve der chipbasierten Simultantitration im Durchflusssystem wurde erstellt, indem der ermittelte pH-Wert gegen die Elektroden in Fließrichtung aufgetragen wurde. Die experimentell ermittelten Werte wurden mit theoretisch berechneten Werten verglichen. Die Konzentration der Probelösung wurde über die Bestimmung des Nullpunktes der 2. Ableitung der Messwerte nachgeprüft. In den folgenden Tabellen 3.12 und 3.13 sind die Berechnungen für die Titrationskurve einer schwachen bzw. einer starken Säure mit einer starken Base zusammengefasst.

Tabelle 3.12: Zusammenfassung der Berechnung des pH-Werts und der Regionen, in welche die Titrationskurve einer schwachen Säure und einer starken Base eingeteilt werden kann.

Region		Berechnung $[H^+]$
1	Vor Dosierung der Base <ul style="list-style-type: none"> Es liegt nur die schwache Säure vor 	$[H^+] = \frac{1}{2} (pK_S - \log([HA]_0))$
2	Zudosierung der Base vor dem Äquivalenzpunkt <ul style="list-style-type: none"> Gemisch aus nicht umgesetzter Säure HA und A^- Es hat sich ein Puffer gebildet Bestimmung des pH-Werts durch Henderson-Hasselbalch Gleichung 	$[H^+] = pK_S + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right)$
3	Am Äquivalenzpunkt <ul style="list-style-type: none"> Säure ist vollständig umgesetzt HA wurde vollständig in A^- umgewandelt pH-Wert Bestimmung einer starken Base 	$[H^+] = 14 - \frac{1}{2} (pK_B - \log([B]_0))$
4	Nach dem Äquivalenzpunkt <ul style="list-style-type: none"> Überschuss OH^- in der Lösung pH-Wert Bestimmung einer starken Base Der geringe Einfluss von A^- wird vernachlässigt 	$[H^+] = -\log\left(\frac{K_W}{[OH^-]}\right)$

Tabelle 3.13: Zusammenfassung der Berechnung des pH-Werts und der Regionen, in welche die Titrationskurve einer starken Säure und einer starken Base eingeteilt werden kann.

Region		Berechnung $[H^+]$
1	Vor dem Äquivalenzpunkt <ul style="list-style-type: none"> Überschuss H^+ in der Lösung 	$[H^+] = [H^+] * \frac{V_{Säure}}{V_{gesamt}} * \frac{V_{Äquivalenzpunkt} - V_{Base}}{V_{Äquivalenzpunkt}}$
2	Am Äquivalenzpunkt <ul style="list-style-type: none"> Zugesetzte Menge an OH^- reicht aus, um H^+ unter Bildung von H_2O vollständig um zusetzten pH-Wert wird über das Dissoziationsgleichgewicht des Wassers bestimmt 	$[H^+] = -\log(10^{14} - 10^7)$
3	Nach dem Äquivalenzpunkt <ul style="list-style-type: none"> Überschuss OH^- in der Lösung 	$[H^+] = [OH^-] * \frac{V_{Äquivalenzpunkt}}{V_{gesamt}}$

Der Endpunkt der Titration zeigt sich in einer sprunghaften Änderung des Elektrodenpotentials und ist in der Titrationskurve als steiler Anstieg des pH-Werts zu erkennen. Die erste Ableitung der pH-Werte gegen die Elektroden in Strömungsrichtung beschreibt ein Maximum, während die zweite Ableitung gegen den Nullpunkt strebt. Zur Berechnung der ersten Ableitung wurden die Volumina des Titranten NaOH und gemessenen pH-Werte der Elektroden paarweise gemittelt und die Werte $\Delta pH/\Delta Vol$ sowie $\Delta(\Delta pH/\Delta Vol)$ berechnet [37]. Die Graphen der 1. und 2. Ableitung werden gegen die Elektroden aufgetragen, sodass am Maximum der 1. Ableitung bzw. am Nullpunkt der 2. Ableitung das verbrauchte Volumen des Titranten grafisch ermittelt werden kann. Der Endpunkt ist bei der Säure-Base Titration der Äquivalenzpunkt der chemischen Reaktion. Durch Umstellen der Gleichung 3.15 kann die Konzentration der Säure $c_{Säure}$ aus den bekannten Volumen der Säure und der Base, sowie der bekannten Konzentration der Base errechnet werden.

$$c_{Säure} * V_{Säure} = c_{Base} * V_{Base} \quad (3.15)$$

3.6.2 Chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem

Für die Evaluierung der chipbasierten Standardaddition im Durchflusssystem wurden Fluoridselektive PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt aufgebaut. Die Herstellung wird in Kapitel 3.2.1. *Herstellung der Membran* beschrieben. Sämtliche Lösungen wurden mit 0.5 M MES-Puffer angesetzt und mit 10 M NaOH auf einen pH-Wert von 5,5 eingestellt. Es wurden zwei Testreihen durchgeführt. Für Testreihe 1 wurde Natriumfluorid (Abk.: NaF) in 0.5 M MES-Puffer gelöst. Für Testreihe 2 wurde die Fluoridkonzentration der Mundspülung Listerine® gemessen. Nach Herstellerangabe waren 220 ppm Natriumfluorid in 95 ml Listerine® Mundspülung enthalten. Die Zusammensetzungen der Lösungen sind in Tabelle 3.14 beschrieben.

Tabelle 3.14: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen für Kalibrierung, Standard und Probe der Versuche zur Evaluierung der chipbasierten Standardaddition im Durchflusssystem.

	Kalibrierlösung 1	Kalibrierlösung 2	Standardlösung	Probelösung
Testreihe 1	10 ⁻² M NaF in 0.5M MES-Puffer	10 ⁻¹ M NaF in 0.5M MES-Puffer	10 ⁻² M NaF in 0.5M MES-Puffer	2.5*10 ⁻² M NaF in 0.5M MES-Puffer
Testreihe 2	10 ⁻⁴ M NaF in Listerine® + 0.5M MES-Puffer	10 ⁻³ M NaF in Listerine® + 0.5M MES-Puffer	1,4*10 ⁻⁴ M NaF in Listerine® + 0.5M MES-Pufferlösung (Verhältnis 1:10)	2,9*10 ⁻⁴ M NaF in Listerine® + 0.5M MES-Pufferlösung (Verhältnis 1:4)

Abbildung 3.15 zeigt den Aufbau des Mikrochips für die Standardaddition. Die Position der Elektroden und Einlässe der Probe- und Standardlösungen sind farblich markiert. An Elektrode E2 und E3 fließt die Probelösung ohne Standardlösung. Die erste Standardzugabe erfolgt an der Markierung „Standardzugabe 1“ und wird über einen passiven Mikromischer mit der Probelösung durchmischt. Probelösung mit Standardzugabe 1 wird an Elektrode E5 vermessen. Insgesamt erfolgen drei Standardzugaben. Die Elektroden sind in Fließrichtung in der Reihenfolge E2 – E3 – E5 – E4 – E1 angeordnet. Die Methode wird im Durchflusssystem mit kontinuierlichem Probestrom durchgeführt. Die Zugabe des Standards 1 bis 3 erfolgt simultan, sodass sich die Flussrate nach jeder Zugabe aufsummiert. Tabelle 3.15 fasst die Versuchsbedingungen in einer Übersicht zusammen.

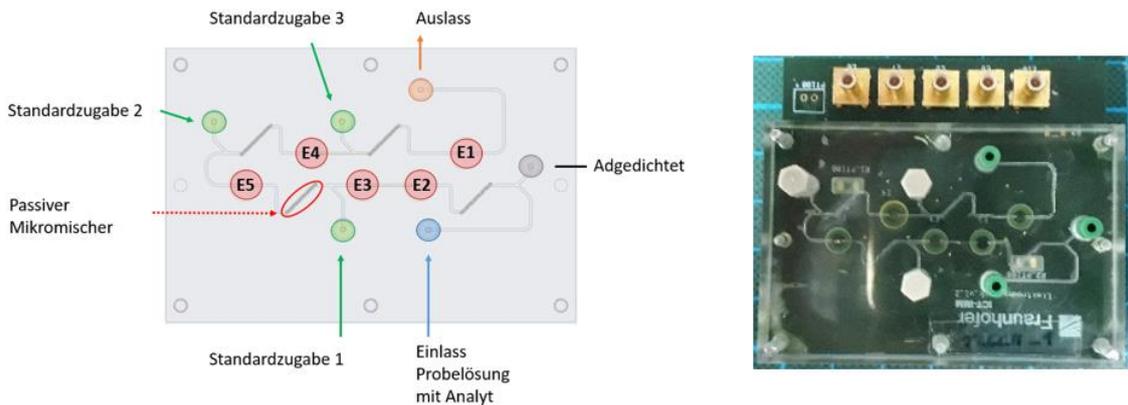


Abbildung 3.15: Auf der linken Seite ist die schematische Darstellung des mikrofluidischen Chips für die Standardaddition mit Nummerierung der Elektroden E1 bis E5 und der Einlässe für Probe und Standardzugabe 1 bis 3 dargestellt. Die rechte Seite zeigt den Standardadditionschip in Verbindung mit dem Elektrodenboard.

Tabelle 3.15: Überblick über die Durchflussraten, welche für die Durchführung der chipbasierten Standardaddition eingestellt wurden.

Standardzugabe	Fluoridkonzentration der Standardlösung [mol/l]	Elektrode	Durchflussrate [µl/min]		
			Standardlösung	Probelösung	Gesamt
1	1,0*10 ⁻²	E5	10	10	20
2		E4	20		30
3		E1	30		40

Vor jeder Messung wird eine 2-Punkt Kalibrierung jeder Elektrode durchgeführt, um die Parameter Standardelektrodenpotential und Steilheit der Elektroden zu ermitteln. Zusammen mit dem Messwert des Elektrodenpotentials während der simultanen Standardaddition werden die Punkte der Standardadditionsgerade anhand Gl. 3.16 (basierend auf Gl. 2.31) ermittelt:

$$(V_u + V_s) * 10^{\left(\frac{E-E_0}{S}\right)} = V_u + \frac{1}{c_u} c_s V_s \quad (3.16)$$

V_u	Durchflussrate der Probelösung	[$\mu\text{l}/\text{min}$]
V_s	Durchflussrate der Standardlösung	[$\mu\text{l}/\text{min}$]
c_u	Konzentration des Analyten in der Probelösung (unbekannt)	[mol/l]
c_s	Konzentration des Analyten in der Standardlösung (bekannt)	[mol/l]
E	Elektrodenpotential vs. Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat.	[mV]
E_0	Standardelektrodenpotential	[mV]
S	Steilheit der Elektrode	[mV/Konzentration * Faktor 10]

Zu beachten ist, dass zur Bestimmung der Konzentration des Analyten nach Standardzugabe an der jeweiligen Elektrode die entsprechenden Parameter des Ansprechverhaltens der Elektrode (Steilheit S und Standardelektrodenpotential E_0) einbezogen werden. Die Auswertung erfolgt wie in *Kapitel 2.2.4 Einsatz ionenselektiver Elektroden für quantitative Analysemethoden* erläutert.

4 Ergebnisse und Diskussion

Ein Teil dieser Arbeit befasst sich mit der Untersuchung der mikrofluidischen Durchmischung durch passive 3D *Split-and-Recombine* Mikromischer. Die Effektivität des Mischprozesses der Mischer wurde über die experimentelle Bestimmung der Mischgüte untersucht und evaluiert. Weiterhin wurden Wasserstoff-selektive PVC-Membranelektroden mit Graphit-Festkontakt als Sensoren in die Plattform integriert. Die Elektroden wurden hinsichtlich Ansprechverhalten, Reproduzierbarkeit, Selektivität und Ansprechzeit im Durchflusssystem charakterisiert. An konkreten Beispielen, wie der chipbasierten Standardaddition zur Bestimmung des Fluoridgehalts in einer Pufferlösung und in Listerine® Mundspülung sowie der chipbasierten Säure-Base-Titration, konnte die Eignung der mikrofluidischen Sensorplattform für die quantitative Bestimmung von Ionen in wässrigen Lösungen gezeigt werden.

4.1 Untersuchung passiver 3D Split-and-Recombine Mikromischer

Eine wichtige Funktion der mikrofluidischen Plattform ist die vollständige Durchmischung von zwei Lösungen durch passive Mikromischer, die im Strömungskanal integriert sind. Im Kapitel 3.4 *Untersuchung der Mischeffektivität passiver 3D SAR Mikromischer* wurden zwei Typen passiver dreidimensionaler (Abk.: 3D *Split-and-Recombine* (Abk.: SAR) Mikromischer vorgestellt, die am Fraunhofer IMM gefertigt wurden (Tab. 4.1).

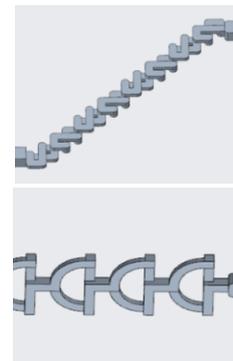
Tabelle 4.1: Zusammenfassung der Dimensionen der untersuchten Mikromischer *Two-Layer-Crossing-Channel* und *Twisted*.

- *Two-Layer-Crossing-Channel* Mischer (Abk.: TLCCM)

200 x 200 μm (Höhe x Breite)

- *Twisted* Mischer

200 x 200 μm (Höhe x Breite)



Für die Untersuchung der Mischeffektivität der Mischer zeigt Abbildung 3.11 ein Schema des mikrofluidischen Chips mit den Positionen der Mikromischer und Elektroden. Die Nummerierung der Elektroden folgt für alle Versuche in der gleichen Reihenfolge wie in Abb. 3.11 dargestellt. Für die Auswertung der Mischgüte wird die Reynolds-Zahl der Mikromischer herangezogen. Diese liegen bei 1 (10 $\mu\text{l}/\text{min}$), 5 (50 $\mu\text{l}/\text{min}$) und 10 (100 $\mu\text{l}/\text{min}$). Der hydrodynamische Durchmesser d_H des Strömungskanals mit der Dimension 300 x 400 μm (Höhe x Breite) beträgt 0,343 μm , für die Mikrokanäle der Mikromischer fällt der d_H mit 0,2 μm geringer aus.

In Tabelle 4.2 werden die dimensionslosen Kennzahlen zur Beschreibung der Strömungsverhältnisse durch die Reynolds-Zahl (Re, Gl. 2.13) und der Transportprozesse durch die Péclet-Zahl (Pe, Gl. 2.15) sowie die Diffusionsstrecke (Gl. 2.16) eines Wasserstoffmoleküls mit Diffusionskoeffizient $D = 5,5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ in Abhängigkeit der Durchflussrate aufgeführt. Die Dimension der mikrofluidischen Kanäle des Mikromischers fällt kleiner aus als die des Strömungskanals im Chip, daher fallen die Werte für Re und Pé größer aus. Die Wasserstoffmoleküle müssen dafür im Mikromischer eine kürzere Diffusionsstrecke überwinden. Mit zunehmender Durchflussrate nimmt die Re-Zahl zu, d.h. Trägheitskräfte gewinnen gegenüber der inneren

Reibung der Strömung an Einfluss. Die Re-Zahl fällt sehr gering aus und beschreibt ein laminares Strömungsverhältnis. Der Wert der Péclet-Zahl steigt mit zunehmender Durchflussrate, woraus ersichtlich wird, dass mit zunehmender Geschwindigkeit der Strömung der advective gegenüber dem diffusiven Stofftransport zunimmt und die Diffusionsstrecke reduziert wird.

Tabelle 4.2: Übersicht der dimensionslosen Reynolds- und Péclet-Zahl sowie der Diffusionsstrecke für ein Wasserstoffmolekül in Abhängigkeit der Durchflussrate.

Durchflussrate [µl/min]	Reynolds-Zahl		Péclet-Zahl		Diffusionsstrecke [µm]	
	Kanal	Mischer	Kanal	Mischer	Kanal	Mischer
10	0,1	1,0	0,02	0,29	433,0	216,5
50	0,6	4,9	0,10	1,45	193,7	96,8
100	1,2	9,8	0,20	2,90	136,9	68,5

4.1.1 Untersuchung des Mikromischers *Two-Layer-Crossing-Channel*

Ergebnisse

Zu Versuchsdurchführung 1 (Einlass 1: pH 3 und Einlass 2: pH 5) und Versuchsdurchführung 2 (Einlass 1: pH 5 und Einlass 2: pH 3) wurden jeweils drei Messungen aufgenommen und die Mischgüte M (Gl. 2.17) ausgewertet. Der daraus berechnete Mittelwert \bar{x} und die Standardabweichung s sind in Tabelle 4.3 zusammengefasst. Die Elektroden sind in Fließrichtung angeordnet und die Mittelwerte der Mischgüte entsprechend der Re-Zahl aufgetragen. Der Wert der Mischgüte geht von 0 bis 1, wobei 0 gleichbedeutend mit keiner Durchmischung (0%) ist und eine Mischgüte von 1 eine vollständige Durchmischung (100%) bedeutet. Der niedrigste Wert der Mischgüte liegt bei 0,844 und wurde an Elektrode E2 für Re-Zahl 5 der Versuchsdurchführung 1 ermittelt (farblich markiert) während an Elektrode E4 für Re-Zahl 5 während der Versuchsdurchführung 2 eine 100%ige Durchmischung stattfand.

Die Ergebnisse wurden hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit überprüft. Als Beispiel wird der Mittelwert mit der breitesten Streuung der Messwerte erläutert. Für Versuchsdurchführung Nr. 2 wurde an Elektrode E2 für eine Re-Zahl von 1 der Mittelwert der Mischgüte $0,904 \pm 0,112$ ermittelt. Die Berechnung des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$ sagt aus, dass sich 95,5% der Werte innerhalb dieses Intervalls befinden. Liegen Werte der Mischgüte außerhalb dieses Intervalls, liegt eine signifikante Abweichung vor. Für den als Beispiel genommenen Mittelwert der Mischgüte $0,904 \pm 0,112$ lauten die Einzelwerte der Mischgüte 0,967, 0,775 und 0,970. Die Berechnung des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$ ergibt (Gl. 4.1):

$$\bar{x} \pm 2s = 0,904 \pm 2 * 0,112 = 0,680 \text{ bis } 1,123 \quad (4.1)$$

Die einzelnen Werte der Mischgüte befinden sich in diesem Intervall und es liegt keine signifikante Abweichung vor. Die Messwerte sind reproduzierbar.

Tabelle 4.3: Zusammenfassung der Ergebnisse der Mischgüte für Mikromischer TLCCM und für die Re-Zahl 1 (10 μ l/min), 5 (50 μ l/min) und 10 (100 μ l/min).

Elektroden entlang der Fließrichtung	Elektrode	Re-Zahl	Mischgüte M [0,1]			
			Versuchsdurchführung 1 Einlass 1: pH 3,00 Einlass 2: pH 5,00		Versuchsdurchführung 2 Einlass 1: pH 5,00 Einlass 2: pH 3,00	
			\bar{x}	s	\bar{x}	s
	E2	1	0,959	0,026	0,904	0,112
		5	0,844	0,083	0,849	0,006
		10	0,948	0,034	0,942	0,061
	E3	1	0,967	0,017	0,978	0,02
		5	0,897	0,059	0,986	0,019
		10	0,961	0,03	0,949	0,029
	E5	1	0,972	0,019	0,942	0,075
		5	0,936	0,025	0,896	0,033
		10	0,948	0,024	0,955	0,029
	E4	1	0,966	0,018	0,972	0,025
		5	0,922	0,033	1	0
		10	0,936	0,032	0,977	0,015
	E1	1	0,983	0,017	0,977	0,001
		5	0,948	0,015	0,975	0,001
		10	0,951	0,006	0,973	0,023

Auswertung der Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 4.1 werden Mittelwerte und Standardabweichungen der Mischgüte in Abhängigkeit der Reynolds-Zahl für Versuchsdurchführung 1 und 2 dargestellt. Die Mischgüte wurde an Elektrode E2 ermittelt, nachdem die Lösungen einen Mikromischer passiert haben. Zwischen den Versuchsdurchführungen gibt es keine relevanten Unterschiede bzgl. der Mischgüte. Die gemittelten Werte der Versuchsdurchführung 1 liegen innerhalb der Standardabweichung für Versuchsdurchführung 2. Ob die Pufferlösung pH 3 am Einlass 1 oder Einlass 2 eingeleitet wurde hat keinen relevanten Einfluss auf die Mischgüte. Für Re-Zahl 1 und 10 ist die Mischgüte $\geq 0,9$. Dagegen reduziert sich die Mischgüte für Re-Zahl 5 um etwa 5%. Für Durchflussraten 10 und 100 μ l/min zeigt der TLCCM eine Mischeffektivität von über 90%.

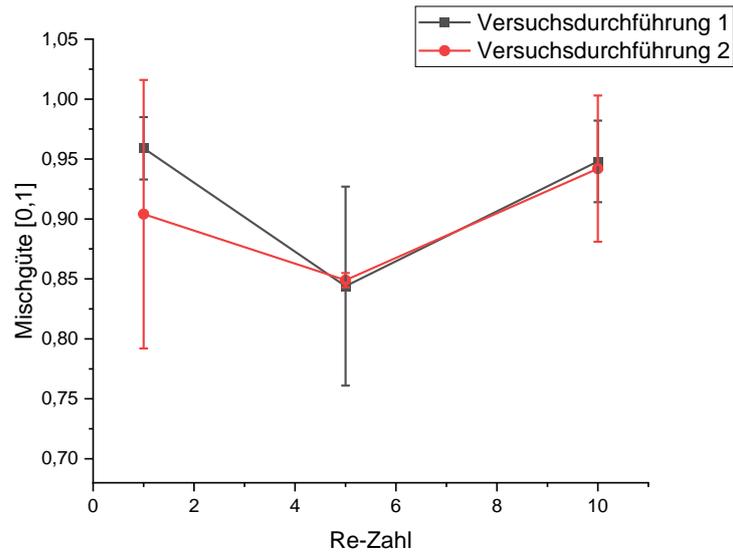


Abbildung 4. 1: Mischgüte in Abhängigkeit der Re-Zahl für den TLCCM. Es wurden die Messwerte an Elektrode E2 ausgewertet (Tab. 4.3). Das Diagramm stellt die Abhängigkeit der Mischgüte von der Re-Zahl dar.

Die Auftragung der Mischgüte des TLCCM gegen die Elektroden in Fließrichtung zeigt, dass die Mischgüte für Re 5 an Elektrode E2 im Vergleich zu Re 1 und Re 10 am niedrigsten ausfällt und sich im Verlauf des Mikrochips auf einen vergleichbaren Wert wie für Re 1 und Re 10 von etwa 0,95 einstellt. Im Mikrochip befinden sich vier Mikromischer. Auf den ersten Mikromischer folgt Elektrode E2, d.h. an Elektrode E2 wird die Mischgüte eines Mikromischer gemessen. An Elektrode E5 erfolgt die Messung der Mischgüte von zwei Mischern, an Elektrode E4 von drei Mischern und an Elektrode E1 von vier Mischern. Die in Abbildung 4.2 dargestellten Verläufe zeigen, dass sich die Mischgüte für Re 1 und Re 10 schon ab den ersten Mischer auf einen konstanten Wert einstellt. Die Durchströmung weiterer Mikromischer hat keinen relevanten Effekt auf die Mischgüte. Einen anderen Verlauf zeigt die Mischgüte für Re 5. Die maximale Mischgüte wird durch einen Mikromischer nicht erreicht. Eine homogene Durchmischung ist nach Passieren von mindestens zwei Mischern erreicht.

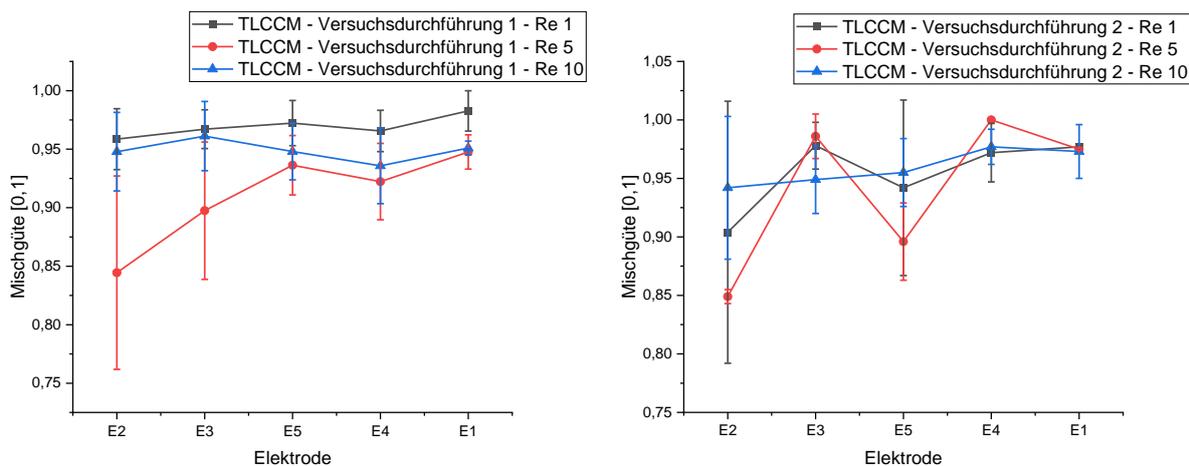


Abbildung 4. 2: Auswertung der Mischgüte des TLCCM entlang der Fließrichtung im Mikrochip. Im Chip befinden sich vier Mikromischer. An Elektrode E2 wird die Mischgüte nach einem Mikromischer ermittelt, an Elektrode E5 die Mischgüte nach zwei Mikromischern usw.

Zusätzlich muss an dieser Stelle bemerkt werden, dass direkt nach Elektrode E2 eine weitere Elektrode E3 folgt. Das Passieren der Lösungen durch eine weitere Durchflussszelle kann einen positiven Beitrag zur Durchmischung der Ströme leisten, wie an der Auswertung der Mischgüte an Elektrode E3 in Abbildung 4.2 zu sehen ist.

Der Abfall der Mischgüte für Re 5 in Abbildung 4.1 wird durch den Verlauf der Mischgüte entlang der Fließrichtung in Abbildung 4.2 bestätigt. Für Durchflussraten Re 1 und Re 10 ist die Mischeffektivität des Mischers größer als für Re 5. Die Ursache dieses Phänomens liegt darin begründet, dass bei sehr kleinen Re-Zahlen von ≤ 1 die Durchmischung ausschließlich durch molekulare Diffusion stattfindet. Der Stofftransport wird durch Ausgleich des Konzentrationsgradienten angetrieben. Die Strömungsgeschwindigkeit ist gering, sodass Moleküle die Diffusionsstrecke einmal vollständig überwinden müssen. Mit steigender Strömungsgeschwindigkeit findet der Stofftransport zusätzlich durch chaotische Advektion statt. Das Design des Mischers ist so ausgelegt, dass bei hinreichend hohen Durchflussraten Strömungen senkrecht zur Kanalwand entstehen und die Durchmischung durch Mikroturbulenzen zusätzlich verbessert wird. Die mittlere Durchflussrate für Re 5 fällt in einen Zwischenbereich, in welchem die Durchmischung allein durch molekulare Diffusion nicht vollständig stattfindet, die Strömungsgeschwindigkeit dagegen zu gering ist, um durch chaotische Advektion diesen Effekt auszugleichen.

4.1.2 Untersuchung des Mikromischers *Twisted*

Ergebnisse

Die Mittelwerte \bar{x} und Standardabweichungen s der ermittelten Mischgüte für den *Twisted* Mikromischer sind in Tabelle 4.4 zusammengefasst. Der niedrigste Wert der Mischgüte liegt bei 0,824 und wurde an Elektrode E3 für Re 10 der Versuchsdurchführung 1 ermittelt (farblich markiert) während an Elektrode E5 für Re 1 eine 99,4%ige Durchmischung ermittelt wurde.

Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit der Mischgüte wird das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ des Mittelwertes mit der breitesten Streuung der Messwerte berechnet und überprüft, ob sich die einzelnen Werte innerhalb dieses Intervalls befinden oder es signifikante Abweichungen gibt. Für Versuchsdurchführung 1 wurde an Elektrode E2 für Re 5 der Mittelwert der Mischgüte $0,842 \pm 0,13$ ermittelt. Die Einzelwerte der Mischgüte sind 0,889, 0,696 und 0,943. Die Berechnung des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$ ergibt (Gl. 4.2):

$$\bar{x} \pm 2s = 0,842 \pm 2 * 0,13 = 0,712 \text{ bis } 0,972 \quad (4. 2)$$

Der Wert 0,696 liegt außerhalb des Intervalls (farblich markiert), d.h. hier liegt eine signifikante Abweichung vor. Es könnte sich um einen Ausreißer handeln, da sich die übrigen Werte der Mischgüte innerhalb des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$ befinden und reproduzierbar sind. Weitere Daten zur Mischgüte für Re 5 würden präzisieren, ob es sich um einen Ausreißer handelt oder die Messwerte nicht reproduzierbar sind.

Tabelle 4.4: Zusammenfassung der Ergebnisse der Mischgüte für Mikromischer **Twisted** und für die Re 1 (10 µl/min), 5 (50 µl/min) und 10 (100 µl/min).

		Mischgüte M [0,1]				
		Versuchsdurchführung 1 Einlass 1: pH 3,00 Einlass 2: pH 5,00		Versuchsdurchführung 2 Einlass 1: pH 5,00 Einlass 2: pH 3,00		
Elektroden entlang der Fließrich- tung 	Elektrode	Re-Zahl	\bar{x}	s	\bar{x}	s
	E2	1	0,95	0,057	0,97	0,029
		5	0,842	0,13	0,914	0,051
		10	0,831	0,096	0,863	0,112
	E3	1	0,941	0,029	0,913	0,067
		5	0,856	0,006	0,936	0,055
		10	0,824	0,092	0,925	0,053
	E5	1	0,994	0,006	0,959	0,023
		5	0,945	0,026	0,982	0,016
		10	0,933	0,073	0,968	0,014
	E4	1	0,955	0,066	0,988	0,021
		5	0,925	0,047	0,971	0,026
10		0,929	0,025	0,953	0,008	
E1	1	0,948	0,074	0,966	0,032	
	5	0,959	0,04	0,986	0,012	
	10	0,923	0,024	0,973	0,029	

Auswertung der Ergebnisse und Diskussion

Die Mischgüte nach einem Mischer wurde an Elektrode E2 ermittelt. Die Mittelwerte und Standardabweichung der Mischgüte sind abhängig von der Reynolds-Zahl in Abbildung 4.3 dargestellt. Da die gemittelten Werte der Versuchsdurchführung 2 innerhalb der Standardabweichung für Versuchsdurchführung 1 liegt wird davon ausgegangen, dass keine es keine relevanten Unterschiede bzgl. der Mischgüte zwischen den Versuchsdurchführungen gibt. Ob die Pufferlösung pH 3 an Einlass 1 oder Einlass 2 eingeleitet wurde hat keinen relevanten Einfluss auf die Mischgüte. Für Re 1 ist die Mischgüte $\geq 0,9$. Dagegen reduziert sich die Mischgüte für Re 5 und 10 um etwa 5% bis 10%. Die Messwerte der Mischgüte für Re 5 unterliegen einer breiten Streuung von $\pm 0,13$, wodurch auch die signifikante Abweichung durch die Mischgüte 0,696 entsteht. Die Ergebnisse der Mischgüte gemessen an Elektrode E2 zeigen eine deutliche Reduzierung der Mischeffektivität bei Re 5 (50 µl/min) mit $84 \pm 13\%$ und Re 10 (100 µl/min) mit $83 \pm 9,6\%$ gegenüber Re 1 (10 µl/min) mit $95 \pm 5,7\%$. Es zeigen sich auch Unterschiede zwischen den Versuchsdurchführungen: Während Versuchsdurchführung 1 liegen die Mittelwerte und Intervalle $\bar{x} \pm 1s$ der Mischgüte für Re 5 und Re 10 unter den Werten für Re 1. Die Mischgüte der unterschiedlichen Durchflussraten nähern sich erst ab Elektrode E4, d.h. nach drei Mikromischern, an. Versuchsdurchführung 2 zeigt, dass sich die Mischgüte der unterschiedlichen Durchflussraten ab Elektrode E3 nach der Durchmischung mittels eines Mikromischers und einer zusätzlichen Durchflusszelle angleichen.

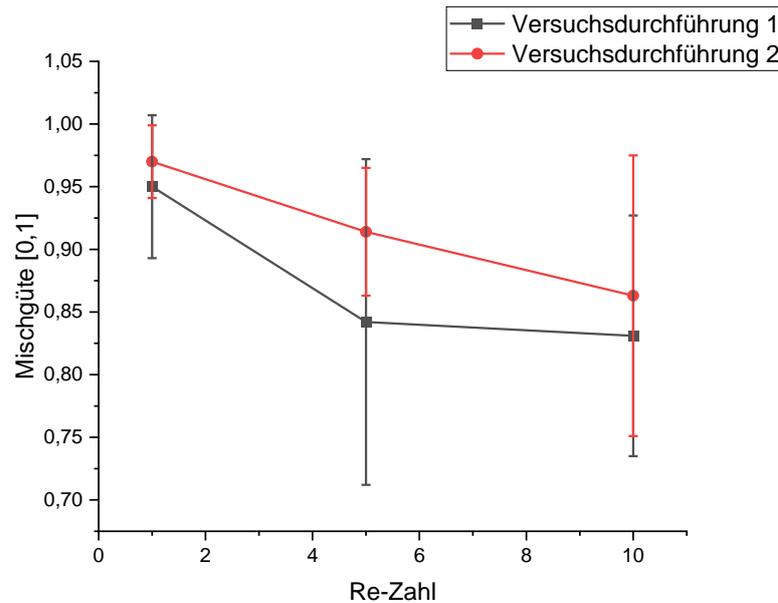


Abbildung 4. 3: Mischgüte in Abhängigkeit der Re-Zahl für den **Twisted Mikromischer**. Es wurden die Messwerte an Elektrode **E2** ausgewertet. Das Diagramm stellt die Abhängigkeit der Mischgüte von der Re-Zahl dar.

Die in Abbildung 4.4 dargestellten Verläufe zeigen, dass sich die Mischgüte für Re 1 ab den ersten Mischer auf einen konstanten Wert einstellt. Die Durchströmung weiterer Mikromischer hat keinen relevanten Effekt auf die Mischgüte. Einen anderen Verlauf zeigt die Mischgüte für Re 5 und 10. Eine homogene Durchmischung wird nach Passieren von mindestens zwei Mixern erreicht.

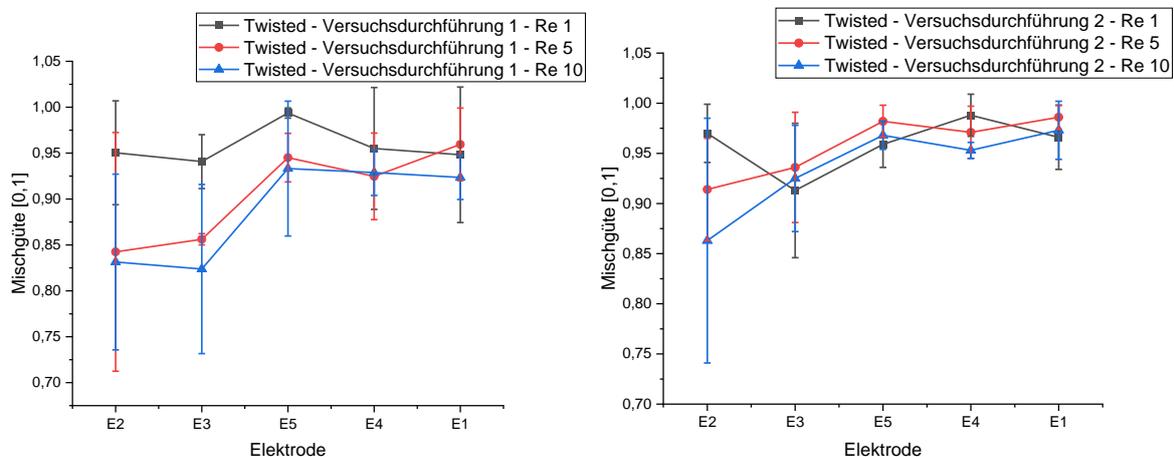


Abbildung 4. 4: Auswertung der Mischgüte des **Twisted Mikromischers** entlang der Fließrichtung im Mikrochip. Im Chip befinden sich vier Mikromischer. An Elektrode E2 wird die Mischgüte nach einem Mikromischer ermittelt, an Elektrode E5 die Mischgüte nach zwei Mikromischern, usw.

Für Re 1 (Durchflussrate 10 $\mu\text{l}/\text{min}$) ergeben sich im Vergleich zu Re 5 (50 $\mu\text{l}/\text{min}$) und Re 10 (100 $\mu\text{l}/\text{min}$) die besten Werte der Mischgüte von $\geq 0,95$. Der **Twisted** Mikromischer hat im Bereich von Re 1 eine Mischeffektivität von $\geq 95\%$. Die Werte der Mischgüte für Re 5 und Re 10 liegen unter der Mischeffektivität von 95%, wie in Abbildung 4.3 ersichtlich ist. Für Re 1 findet die Durchmischung von zwei Lösungen durch molekulare Diffusion statt. Durch die geringe Durchflussrate von 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ ist ein Mikromischer ausreichend, um eine vollständige Durchmischung zu erreichen.

Im Gegensatz dazu zeigen die Werte der Mischgüte für Re 5 und Re 10, dass eine vollständige Durchmischung nach einem Mikromischer nicht erreicht wird. Die Durchflussraten sind zu hoch, um eine vollständige

Durchmischung allein durch Diffusion zu erzielen. Das Design des Mikromischer ist so ausgelegt, dass noch keine chaotische Advektion stattfindet, sodass die Durchmischung nicht durch Mikroturbulenzen hinreichend gefördert wird.

4.1.3 Vergleich der Mikromischer und Fazit

Die Mischgüte der 3D SAR Mikromischer vom Typ *Two-Layer-Crossing-Channel* und *Twisted* unterscheidet sich für Re 1 und Re 5 nicht in relevanter Weise. Allerdings zeigt der Mikromischer *TLCC* eine vollständige Durchmischung nach einem Mischer für Re 10, während die Mischgüte des *Twisted* Mischers für diesen Re Bereich geringer ausfällt.

Tabelle 4.5: Zusammenfassung der Mischgüte nach einem Mikromischertyp *TLCC* oder *Twisted* in Abhängigkeit zur Durchflussrate bzw. Reynolds-Zahl.

Reynolds- Zahl	Durchflussrate [$\mu\text{l}/\text{min}$]	Mischgüte nach einem Mikromischer	
		<i>TLCCM</i>	<i>Twisted</i> Mischer
1	10	$0,96 \pm 0,026$	$0,95 \pm 0,057$
5	50	$0,84 \pm 0,083$	$0,84 \pm 0,130$
10	100	$0,95 \pm 0,034$	$0,83 \pm 0,096$

Die experimentelle Untersuchung der Mischer *TLCC* und *Twisted* hat ergeben, dass beide Mischer eine vollständige Durchmischung zweier Lösungen für Re 1 gewährleisten. Für Re 5 reduziert sich die Mischgüte um etwa 10%. Der *TLCCM* zeigt eine vollständige Durchmischung auch für Re 10. Aus diesem Grund werden für alle weitere Versuche Mikrochips mit einem Mikromischer vom Typ *TLCC* aufgebaut.

Die Mischgüte des Mischers Typ *Twisted* wurde von Sivashankar et al. experimentell ermittelt. Der Mischer hatte eine Dimension von $200 \times 200 \mu\text{m}$ (Höhe x Breite) und zeigte für eine Durchflussrate von $10 \mu\text{l}/\text{min}$ und $100 \mu\text{l}/\text{min}$ eine entsprechende Mischgüte von 0,9 und 0,8 [90]. Diese Werte liegen im Bereich der experimentell ermittelten Mischgüte dieser Arbeit. Raza et al. untersuchten die Mischgüte 3D SAR Mikromischer des Typs *TLCCM* mittels numerischen Strömungssimulation [78]. Die Dimensionen des simulierten Mischers betragen $150 \times 300 \times 5050 \mu\text{m}$ (Höhe x Breite x Länge). Der Mischer zeigte eine Mischgüte von 0,905 für Re 1 und 0,934 für Re 20. Diese Werte sind vergleichbar mit den experimentell ermittelten Werten der Mischgüte des *TLCCM* in dieser Arbeit.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Strömungssimulation mittels der Software COMSOL Multiphysics (COMSOL AB, Version 5.5) für den Mikromischer *TLCC* durchgeführt. Abbildung 4.5 zeigt Strömungslinien des Konzentrationsgradienten im Querschnitt des Mikrokanals für unterschiedliche Reynolds-Zahlen.

Die Konzentrationen der unterschiedlichen Lösungen wurden als Konzentration 1 = 0 mol l^{-1} (Farbskala: Blau) und Konzentration 2 = 1 mol l^{-1} (Farbskala: Rot) an Einlass 1 und Einlass 2 definiert, während der Diffusionskoeffizient für ein Wasserstoffmolekül mit $D = 5,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ bestimmt wurde. Eine vollständige Durchmischung ist in der Mitte der Farbskala bei 0,5 erreicht (Farbskala: Grün). Die visuelle Darstellung des Konzentrationsgradienten zeigen eine vollständige Mischung zweier Lösungen nach einem *TLCC* Mikromischer und unterstützt somit die experimentellen Ergebnisse der Mischgüte.

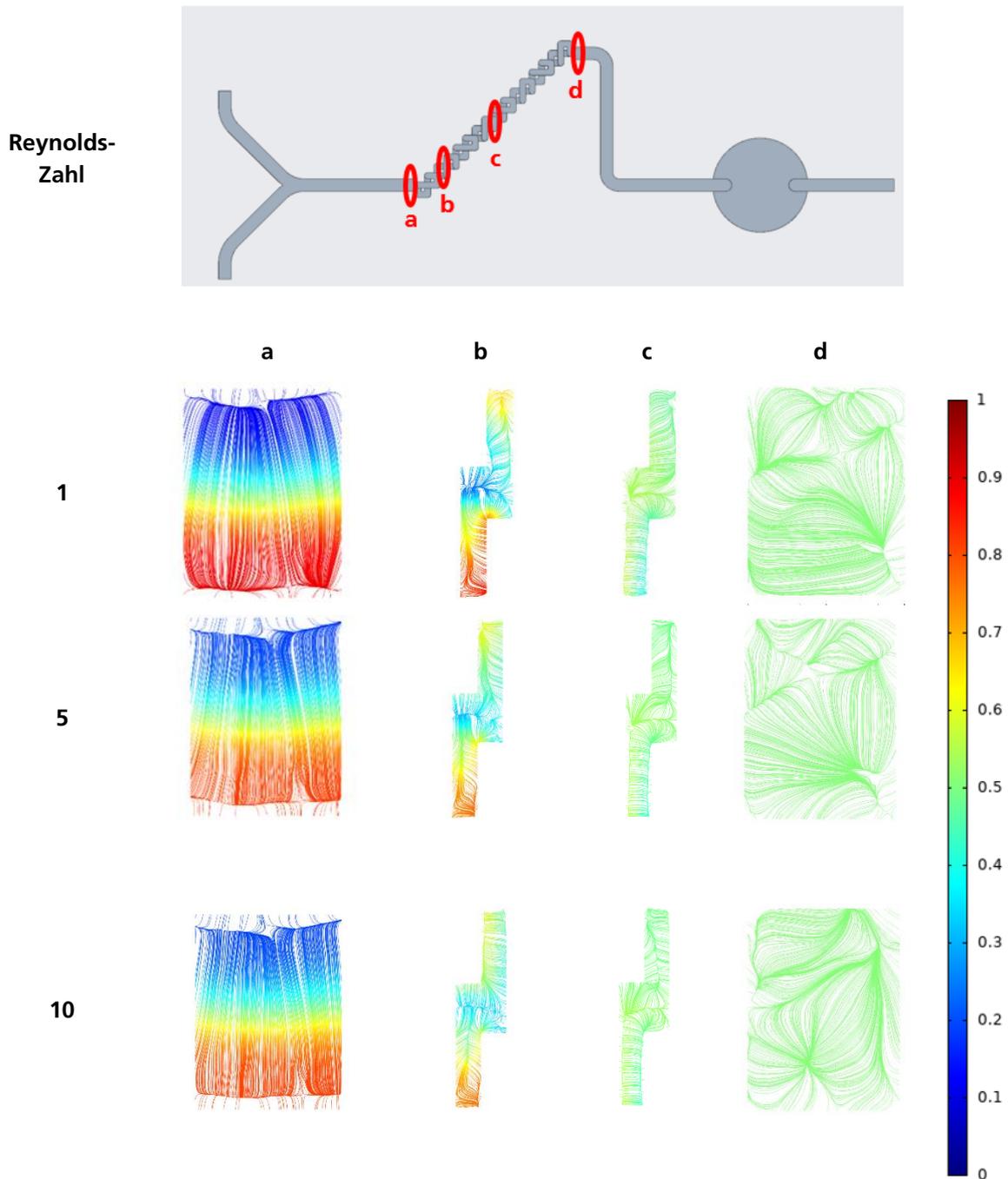


Abbildung 4. 5: Ergebnisse der numerischen Strömungssimulation mittels COMSOL Multiphysics (Version 5.5). Dargestellt ist der Konzentrationsgradient in den Querschnitten a bis d des Mikromischers TLCC für unterschiedliche Reynolds-Zahlen.

4.2 Charakterisierung Wasserstoffselektiver PVC-Flüssigmembran-Elektroden mit Graphit-Festkontakt

Ein zentraler Bestandteil der mikrofluidischen Plattform ist das Sensorsystem, welches aus ionenselektiven Elektroden besteht. Für den Aufbau und die Charakterisierung der mikrofluidischen Sensorplattform wurden H⁺-selektive PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt hergestellt. Der Vorteil ionenselektiver Elektroden mit Festkontakt besteht in der Möglichkeit der Miniaturisierung und Integration in die Mikrotechnik. Die in dieser Arbeit hergestellten H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden haben einen Durchmesser von 3 mm und eine Schichtdicke von ~ 0,4 mm. Nachteil der festkontaktierten Elektroden sind undefinierte Potentiale an der Phasengrenze zwischen Membran und Festkontakt, wodurch eine Potentialdrift der Elektroden auftritt und zu einer schlechten Reproduzierbarkeit der Messwerte führt. Die charakteristischen Kenngrößen der Sensoren wie Ansprechverhalten, Arbeitsbereich, Selektivität, Stabilität und die dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem betreffen unmittelbar das gesamte Messsystem. Die Definition dieser Parameter werden in Kapitel 2.3.3 *Charakteristische Kenngrößen ionenselektiver Elektroden* beschrieben. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Untersuchung der charakteristischen Kenngrößen H⁺-selektiver PVC-Membranelektroden vorgestellt und diskutiert.

Für die Charakterisierung H⁺-selektiver PVC-Membranelektroden werden drei Membranen unterschiedlicher Zusammensetzung untersucht (siehe Tabelle 3.7). Der Anteil des Leitsalzes Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) beträgt 0 Gew.% (Membran Nr. 1), 0,1 Gew.% (Membran Nr. 2) und 0,5 Gew.% (Membran Nr. 3).

4.2.1 Ansprechverhalten und Arbeitsbereich

In den Tabellen 4.6 bis 4.8 werden die Mittelwerte \bar{x} und Standardabweichungen s der Elektrodenpotentiale H^+ -selektiver PVC-Membranelektroden in Abhängigkeit des pH-Werts zusammengefasst und als Kalibriergerade dargestellt. Der Mittelwert des Elektrodenpotentials wird aus 50 Messwerten gebildet. Zusätzlich wird die Differenz des Elektrodenpotentials zwischen zwei pH-Werten als Steilheit der Elektrode S (Gl. 2.25) aufgeführt. Die Auftragung der Potentiale gegen den pH-Wert zeigt eine Kalibriergerade, an welcher der lineare Arbeitsbereich, Elektrodensteilheit und Nachweisgrenze der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode abgelesen wird. Für eine H^+ -selektive Membran mit unterschiedlichen Anteilen des Leitsalzes Natrium-tetraakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) von 0 Gew.%, 0,1 Gew. % und 0,5 Gew.% werden die Ergebnisse der Kalibriergerade von pH 12 bis pH 2 der Elektrode E4 in den Tabellen 4.6 bis 4.8 zusammengefasst.

Tabelle 4.6: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale, Standardabweichung und Steilheit einer H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit **0 Gew.% NaTFPB** Anteil in Abhängigkeit des pH-Werts. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden Pufferlösungen von pH 12 bis pH 2 verwendet.

pH-Wert	Potential \bar{x}	Standard Abweichung s	Steilheit S	Kalibriergerade
	[mV]	[mV]	[mV/pH-Einheit]	
11,93	-121,48	0,27	/	
10,93	-66,38	0,75		
10,09	-23,64	0,29	42,74	
8,91	32,49	0,36	56,13	
7,99	89,33	0,30	56,84	
6,84	142,11	0,36	52,77	
5,98	171,90	0,32	29,80	
4,97	183,74	0,32	11,84	
4,09	192,57	0,28	8,83	
3,00	208,62	0,37	16,05	
2,01	221,14	0,32	12,52	

Tabelle 4.7: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale, Standardabweichung und Steilheit einer H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit **0,1 Gew.% NaTFPB** Anteil in Abhängigkeit des pH-Werts. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden Pufferlösungen von pH 12 bis pH 2 verwendet.

pH-Wert	Potential \bar{x}	Standard Abweichung s	Steilheit S	Kalibriergerade
	[mV]	[mV]	[mV/pH-Einheit]	
12,40	-125,99	0,69	/	
11,95	-113,80	0,79		
11,00	-72,19	1,20	41,61	
10,08	-33,09	0,94	39,10	
8,96	18,70	0,80	51,79	
8,18	62,38	0,75	43,68	
7,03	115,84	0,88	53,46	
5,93	170,33	0,80	54,49	
4,96	208,09	0,93	37,75	
3,94	232,57	0,74	24,48	
2,95	251,81	0,95	19,25	
2,03	262,96	0,98	11,14	

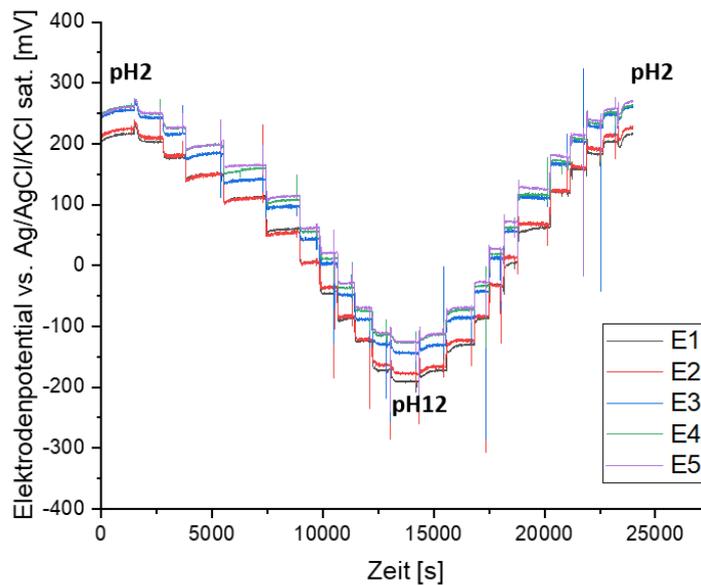


Abbildung 4. 6: Zeitlicher Verlauf der Messung des Elektrodenpotentials an den H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden E1 bis E5 (mit 0,1 Gew. % NaTFPB) gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode während der Durchflussmessung eines 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffers vom pH 2 bis pH 12 und von pH 12 bis pH 2. Die Durchflussrate betrug 100 µl/min.

Tabelle 4.8: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale, Standardabweichung und Steilheit einer H⁺-selektiven PVC-Membranelektrode mit 0,5 Gew. % NaTFPB Anteil in Abhängigkeit des pH-Werts. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden Pufferlösungen von pH 12 bis pH 2 verwendet.

pH-Wert	Potential \bar{x}	Standard Abweichung s	Steilheit S	Kalibriergerade
	[mV]	[mV]	[mV/pH-Einheit]	
12,00	-173,71	0,31		
10,98	-143,72	0,28		
10,06	-126,06	0,61		
8,96	-103,16	0,37		
8,05	-63,13	0,35		
6,93	-16,95	0,37		
5,95	32,61	0,33		
5,00	74,27	0,54		
4,06	112,02	0,35		
3,04	153,46	0,35		
2,02	208,65	0,27	55,19	

In Abbildung 4.6 wird die Messung des Elektrodenpotentials an H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden mit einem Leitsalzanteil von 0,1 Gew. % NaTFPB für eine Messlösung vom 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer von pH 2 bis pH 12 und von pH 12 bis pH 2 im zeitlichen Verlauf dargestellt. Für die Spezifizierung des Arbeitsbereichs H⁺-selektiver PVC-Membranelektroden wird der pH-Bereich ermittelt, in welchem die Elektroden ein lineares Verhalten aufweisen. In Tabelle 4.9 sind die linearen Arbeitsbereiche der Elektroden in Fließrichtung des Mikrochips von E2, E3, E5, E4 und E1 mit unterschiedlichen Leitsalzanteilen der Membran dargestellt. Dazu wird die entsprechende Steilheit der Elektrode ausgewertet. Die Elektrode mit einem Leitsalzanteil von 0,1 Gew. % zeigt den größten Arbeitsbereich von pH 6 bis pH 12. In diesem Bereich ist die Konzentration der H⁺ Ionen proportional zum Messwert des Elektrodenpotentials. Über die Auswertung der Elektrodensteilheit wird die Empfindlichkeit der Elektroden gegenüber einem Konzentrations- bzw. pH-

Wechsels der Pufferlösung ermittelt. Die Steilheit aller gemessenen Elektroden einer Membran wurde gemittelt. Die Mittelwerte ergeben keine relevanten Unterschiede in der Empfindlichkeit der Elektroden unterschiedlicher Leitsalzanteile.

Tabelle 4.9: Zusammenfassung des linearen Arbeitsbereichs und der Elektrodensteilheit S der Elektroden E2, E3, E5, E4 und E1 (in Fließrichtung des Mikrochips) für H^+ -selektive Membranen mit unterschiedlichen Leitsalzanteilen.

Elektrode	H^+ -selektive Membran					
	0 Gew.% NaTFPB		0,1 Gew.% NaTFPB		0,5 Gew.% NaTFPB	
	Linearer Bereich	Steilheit S	Linearer Bereich	Steilheit S	Linearer Bereich	Steilheit S
	[pH]	[mV/pH]	[pH]	[mV/pH]	[pH]	[mV/pH]
E2	7 – 12	51,2	5 – 12	47,7	2 – 9	35,6
E3	7 – 12	51,4	6 – 12	50,1	2 – 9	43,6
E5	/	/	6 – 12	48,7	2 – 9	45,5
E4	7 – 12	51,9	6 – 12	47,5	2 – 9	44,3
E1	8 – 12	43,8	6 – 12	48,0	/	/
\bar{x}	/	49,3	/	48,4	/	42,3
s	/	3,4	/	0,9	/	3,9

In Abbildung 4.7 sind die Kalibriergeraden der Elektrode E4 mit unterschiedlichen Gew.% des Leitsalzes NaTFPB dargestellt. Die Kalibriergeraden umfassen den pH-Bereich von pH 2 bis pH 12. Der lineare Arbeitsbereich ist eingezeichnet. Außerhalb dieses Bereiches beschreibt die Kalibriergerade kein lineares Verhalten. Die Elektrodensteilheit S in [mV/pH] nimmt ab, was eine Reduzierung der Empfindlichkeit der Elektrode gegenüber dem Analyten H^+ verdeutlicht.

Die Verläufe der Kalibriergeraden H^+ -selektiver PVC-Membranelektroden weisen einen linearen Arbeitsbereich unabhängig von der Konzentration des Leitsalzes in der Membran von pH 6 bis pH 12 auf. Die Empfindlichkeit der Membranen mit 0 und 0,1 Gew. % Leitsalz nimmt gegenüber des Analyten H^+ im unteren pH-Bereich ab pH 6 (für 0 Gew.%) und pH 4 (für 0,1 Gew.%) sehr stark ab. Es tritt der Donnan-Fehler auf (Eng.: Donnan Exclusion Failure). Die semipermeable Membran ist für Kationen, nicht aber für Anionen durchgängig. Ein Gleichgewichtspotential entsteht, wenn auf beiden Seiten der Membran die Summe der elektrischen und chemischen Triebkräfte ausgeglichen ist. Im unteren pH-Bereich ist die Aktivität bzw. Konzentration der H^+ Ionen und Anionen in der elektrolytischen Pufferlösung hoch, sodass in Membranen mit neutralen, hydrophoben Ionophoren (wie das H^+ -selektive Ionophore V (Abb. 2.11)) die elektrostatische Ladungstrennung partiell zusammenbricht und es zu einer Co-Extraktion der Anionen aus der elektrolytischen Messlösung kommt. Die Erhöhung der negativen Ladungskonzentration in der Membran führt zu einem Absenken des Elektrodenpotentials und stört die Empfindlichkeit gegenüber H^+ Ionen [73]. Dies hat den Effekt, dass die gemessenen pH-Werte höher liegen als der tatsächliche pH-Wert.

Der lineare Arbeitsbereich der Membran mit 0,5 Gew.% Leitsalzanteil geht bis pH 2, d.h. diese Membranzusammensetzung zeigt auch im unteren pH-Bereich eine hohe Empfindlichkeit gegenüber H^+ . Der höhere Anteil des anionischen Salzes NaTFPB wirkt dem Donnan-Fehler entgegen. Durch den höheren Anteil der anionischen Ladung in der Membran findet der H^+ -Ladungsausgleich in unteren pH-Bereich statt, ohne dass Anionen der elektrolytischen Lösung in die Membran diffundieren.

Durch den höheren Anteil am anionischen Salz NaTFPB verschiebt sich die untere Nachweisgrenze der H^+ -selektiven Membran zu pH 2. Die obere Nachweisgrenze liegt unabhängig vom Anteil des Leitsalzes NaTFPB für alle Membranen bei pH 12.

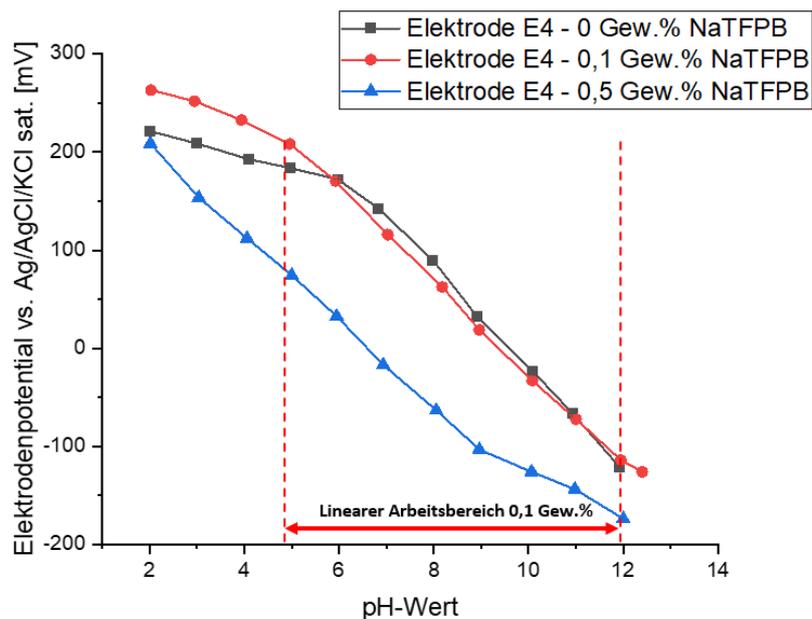


Abbildung 4. 7: Vergleich der Kalibriergeraden H^+ -selektiver PVC-Membranelektroden mit unterschiedlichen Leitsalzanteilen von 0, 0,1 und 0,5 Gew.% und Definition des linearen Arbeitsbereichs.

Die Hysterese der Kalibriergeraden wird in Abbildung 4.8 für H^+ -selektive Membranen mit unterschiedlichen Leitsalzanteilen dargestellt. Die Hysterese beschreibt die Differenz zwischen zwei Messwerten des Elektrodenpotentials für 20 mM Zitronen-/Borsäure Pufferlösung für eine Konzentrationsreihe von pH 2 in Richtung pH 12 und von pH 12 in Richtung pH 2. Für die H^+ -selektive Membran liegt unabhängig vom Leitsalzanteil keine relevante Hysterese der Messwerte vor. Die Kalibriergeraden in Abbildung 4.8 zeigen die Messwerte für Elektrode E4 und sind repräsentativ für alle Elektroden.

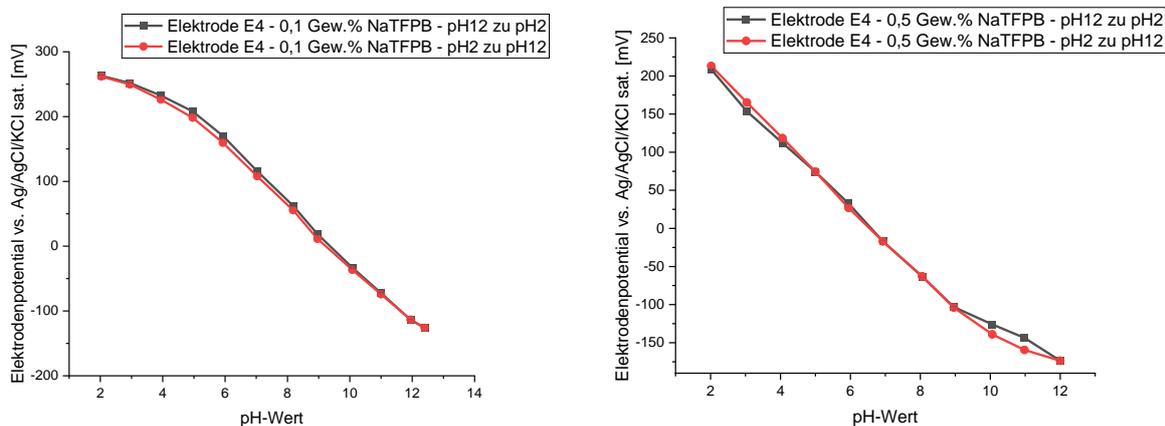


Abbildung 4. 8: Kalibriergerade der H^+ -selektiven Elektrode mit Leitsalzanteil 0,1 und 0,5 Gew.%. Die Kalibriergeraden wurden einmal von pH 2 Richtung pH 12 und von pH 12 in Richtung pH 2 aufgenommen, um die Hysterese der Messwerte zu ermitteln.

4.2.2 Selektivität und Spezifität

Die H⁺-selektive Membran enthält neutrale Ionophore auf Basis von Calix[4]arenen, welche gezielt einen Komplex mit H⁺ Ionen bilden. Dadurch erhält die Membran ihre Eigenschaft, selektiv H⁺-Ionen zu binden. Mit einem Calix[4]arenen Derivat als H⁺ spezifisches Ionophore besitzen die H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden eine sehr gute Selektivität gegenüber Alkalimetallionen [23, 62]. Neben dem zu analysierenden Ion H⁺ befinden sich noch andere Ionen in der elektrolytischen Messlösung, welche die Detektion von H⁺ über die ionenselektive Membranelektrode stören können und die Spezifität der Elektrode reduzieren. Diese Ionen werden als Störionen bezeichnet, bzw. als Gegenionen, wenn es sich um Ionen der umgekehrten Ladung handelt. Für H⁺-selektive PVC-Membranelektroden mit einem Leitsalzanteil von 0,1 und 0,5 Gew. % zeigen Kalibrierkurven den Einfluss von Stör- und Gegenionen (siehe Kap. 4.2.1), welche als Hintergrundelektrolyt in der Messlösung vorhanden sind. Um den Einfluss von Störionen quantitativ zu bestimmen, wird der Selektivitätskoeffizient K_{ij}^{Pot} ermittelt.

Selektivität gegenüber Kationen

Für H⁺-selektive PVC-Membranelektroden wird ein störender Einfluss der Alkalimetallionen Na⁺, K⁺ und Li⁺ aufgrund ihrer gleichen Ladung vermutet. Abbildung 4.9 zeigt die Kalibriergerade einer H⁺-selektiven Membran mit 0,1 Gew. % Leitsalzanteil und in einer Messlösung von 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer von pH 2 bis pH 12. Diese Kalibriergerade wird mit Kalibriergeraden H⁺-selektiver Elektroden in einer Messlösung von 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer von pH 2 bis pH 12 mit Störionen Na⁺, K⁺ und Li⁺ als Hintergrundelektrolyt verglichen (siehe Kap. 3.5.1). Der lineare Arbeitsbereich der Elektrode zeigt an, dass der Analyt H⁺ ohne störenden Einfluss anderer Ionen selektiv detektiert wird. Mit abnehmender Linearität nimmt entsprechend die Empfindlichkeit der Elektrode gegenüber H⁺ ab und deutet auf einen störenden Einfluss der Alkalimetallionen in der Elektrolytlösung hin.

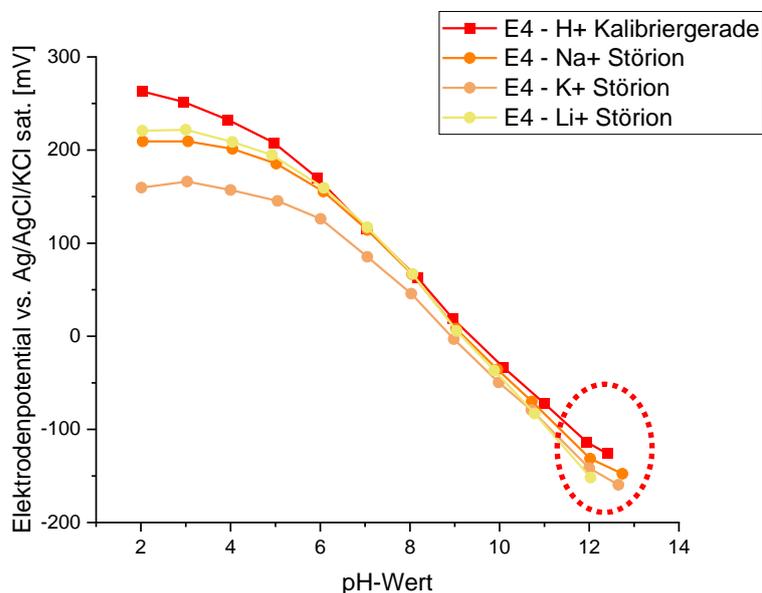


Abbildung 4. 9: Kalibriergerade der H⁺-selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. %** (rot) einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu den Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt Na⁺, K⁺ und Li⁺**.

Alkalimetallionen zeigen einen störenden Einfluss auf die Empfindlichkeit der Membran im oberen pH Bereich ab pH 12. In Abbildung 4.9 ist eine Abnahme der Linearität der Kalibriergeraden pH 12 in Anwesenheit der Störionen Na⁺ und K⁺ in der Messlösung erkennbar. Ab pH 12 tritt der sogenannte Alkali-Fehler auf.

Aufgrund der hohen Konzentration der Alkalimetallionen und der Ähnlichkeit zu H^+ -Ionen, diffundieren zusätzlich zu H^+ Ionen auch Na^+ , K^+ oder Li^+ in die Membran. Bei Auftreten des Alkali-Fehlers liegen die gemessenen pH-Werte niedriger als der tatsächliche pH-Wert der Messlösung.

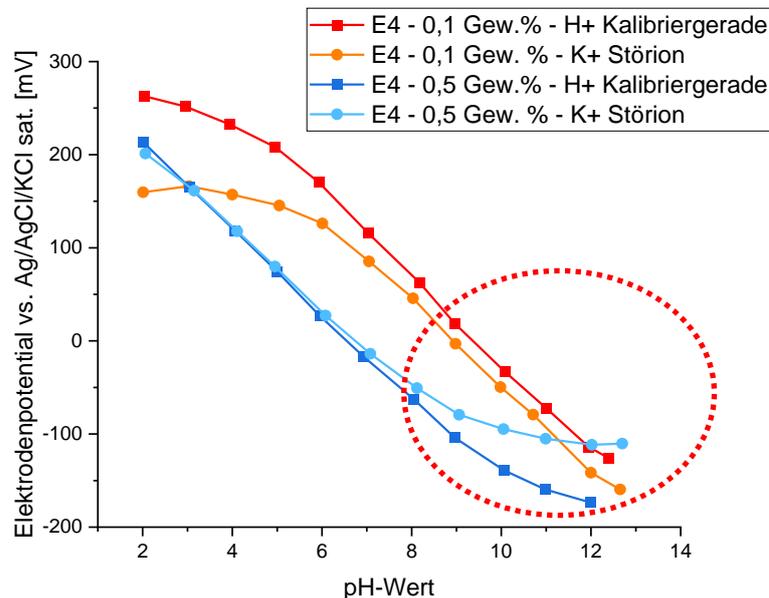


Abbildung 4. 10: Dargestellt sind die Kalibriergeraden der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. % (rot) und 0,5 Gew. % (blau)** einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu der Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt K^+** .

In Abbildung 4.10 sind die Kalibriergeraden der H^+ -selektiven Membran mit Leitsalzanteil 0,1 und 0,5 Gew,% in einer Messlösung aus 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer aufgetragen. Zum Vergleich sind die Kalibriergeraden derselben Membran mit Störion K^+ in der Messlösung dargestellt. Die Kalibriergerade der Membran mit 0,5 Gew.% NaTFPB zeigt eine deutliche Reduzierung der Empfindlichkeit gegenüber H^+ ab pH 8 (hellblaues Diagramm) bei Anwesenheit des Störions K^+ und im Vergleich zur Kalibrierkurve der gleichen Membran ohne Störion in der Messlösung. Dies deutet darauf hin, dass die Membran mit Leitsalzanteil 0,5 Gew.% zwar einen größeren linearen Arbeitsbereich im unteren pH-Bereich vorweist, die Membran allerdings auch eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Alkalimetallionen besitzt als die Membran mit Leitsalzanteil 0,1 Gew.%. Der Alkali-Fehler tritt deutlich stärker bei H^+ -Membranen mit höherem Leitsalzanteil auf. An der Kalibriergeraden ist erkennbar, dass ab pH 8 K^+ Ionen in die Membran diffundieren und die H^+ Detektion reduzieren.

Selektivität gegenüber Anionen

Die Kalibriergeraden in Abbildung 4.9 zeigen das Auftreten des Donnan-Fehlers ab pH 6. Der Donnan-Fehler fällt besonders stark für die Kalibriergerade mit Störion Na^+ aus. Dies liegt in der Methode zur Ermittlung des Störioneneinflusses: Die Messlösung wurde mit 0,1 M NaOH versetzt, sodass sich ein pH-Wert von 12,65 eingestellt hat. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurde die Messlösung mit 0,1 M HCl titriert. Dadurch erhöht sich der Anteil an Anionen Cl^- sehr stark, was wiederum zu einem Fehler in der elektrostatischen Ladungstrennung in der hydrophoben Membran führt.

Die Empfindlichkeit der H^+ -selektiven Membranelektroden gegenüber den Anionen Cl^- und SO_4^{2-} wurde untersucht, da der pH-Wert des Zitronen-/Borsäure Puffers durch Zugabe von HCl bzw. H_2SO_4 eingestellt wird. In Abbildung 4.11 sind die Kalibrierkurven der H^+ -selektiven PVC-Membran mit einem Leitsalzanteil von 0,1 Gew.% ohne und mit Störionen Cl^- und SO_4^{2-} in der Messlösung dargestellt. Die Reduzierung der

Empfindlichkeit der Elektrode gegenüber dem Analyten H^+ zeigt sich deutlich in der Abnahme der Elektrodensteilheit [mV/pH] im sauren pH-Bereich zwischen pH 2 und pH 6. Ab einem pH-Wert von 4 ist die Empfindlichkeit gegenüber H^+ Ionen in Anwesenheit der Anionen Cl^- und SO_4^{2-} nicht mehr vorhanden und die untere Nachweisgrenze verschiebt sich in einen höheren pH-Bereich als in Abwesenheit der Gegenionen. Wie bereits diskutiert, führt dieses Membranverhalten in Anwesenheit der Anionen auf den Donnan-Fehler zurück: Aufgrund einer höheren Konzentration von Anionen in der elektrolytischen Lösung im unteren pH-Bereich wird die hydrophobe Membran durchlässig für Gegenionen, wie dem Anion Cl^- und SO_4^{2-} . Die Gegenionen stören den Transportprozess des Analytens durch die Membran und es kommt zu einer Querempfindlichkeit der Membran gegenüber den Gegenionen [73].

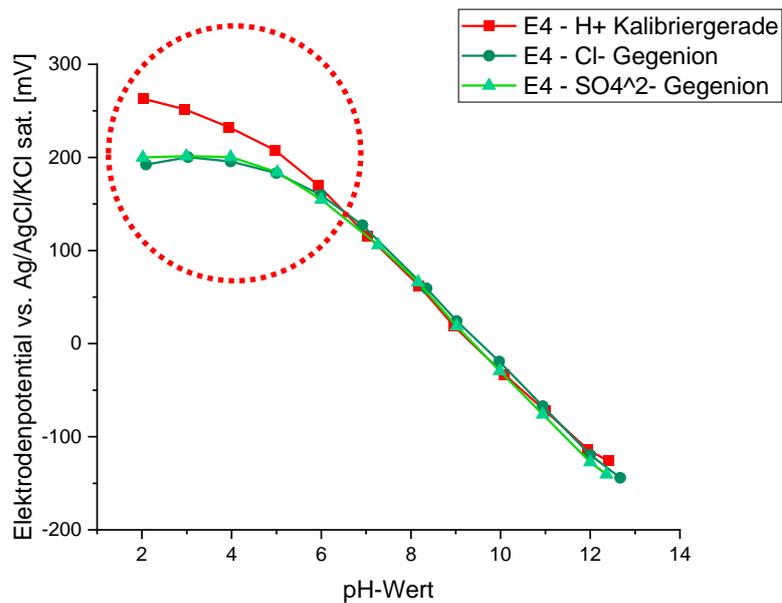


Abbildung 4. 11: Kalibriergerade der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. %** (rot) einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu der Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt Cl^- und SO_4^{2-}** .

Die Verläufe der Kalibriergeraden von H^+ -selektiven PVC-Membranelektroden unterschiedlicher Leitsalzanteile in Abbildung 4.12 zeigt, dass eine höhere Konzentration des Leitsalzes in der Membran dem Donnan-Fehler entgegenwirkt. Eine Membran mit 0,5 Gew. % NaTFPB zeigt in Anwesenheit von Gegenionen in der Messlösung auch im pH-Bereich ≤ 4 eine Elektrodensteilheit von 42 mV/pH, wohingegen die Membran mit 0,1 Gew. % NaTFPB eine Reduzierung der Steilheit ab pH 6 von 47 auf 13 mV/pH zeigt und damit eine relevante Abnahme der Empfindlichkeit gegenüber dem Analyten H^+ .

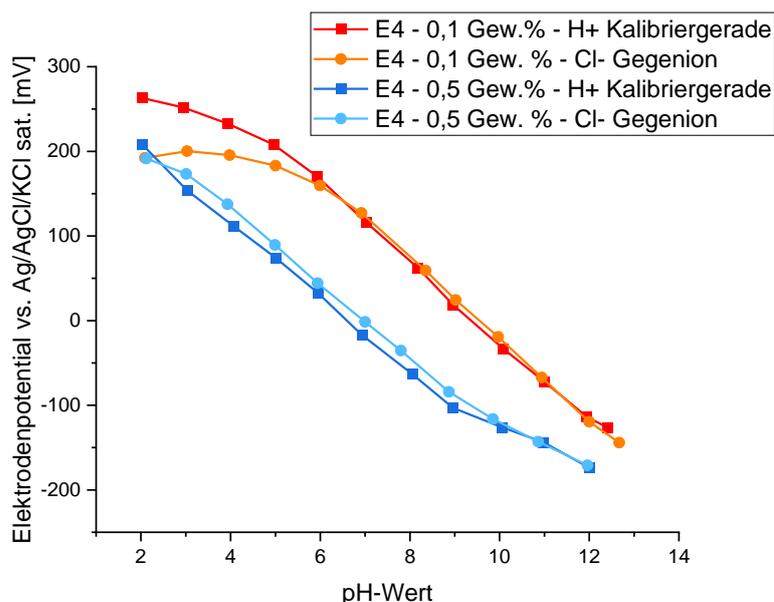


Abbildung 4. 12: Dargestellt sind die Kalibriergeraden der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. % (rot) und 0,5 Gew. % (blau)** einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu der Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt Cl^-** .

Ermittlung des Selektivitätskoeffizienten

Der Selektivitätskoeffizient wird wie in Kapitel 3.6.1 *Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten* über die *Fixed Interference Method* (FIM) berechnet [98]. Die Ergebnisse des berechneten Selektivitätskoeffizienten $K_{H^+,j}^{Pot}$ für alle untersuchten Stör- und Gegenionen sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst. Je geringer der Wert $\log K_{H^+,j}^{Pot}$ ausfällt, desto größer ist die Selektivität der Membran gegenüber dem Analyten H^+ und desto geringer die Empfindlichkeit gegenüber dem Störionen. Der Selektivitätskoeffizient der Gegenionen Cl^- und SO_4^{2-} ist entgegengesetzt zu den Störionen zu interpretieren: Je niedriger der Selektivitätskoeffizient, desto niedriger ist die Querempfindlichkeit gegenüber Gegenionen. Der Index j gibt in der Tabelle 4.10 das entsprechende Stör- oder Gegenion an.

Tabelle 4.10: Zusammenfassung der Ergebnisse des **Selektivitätskoeffizienten als $\log K_{H^+,j}^{Pot}$** für die H^+ -selektive PVC-Membranelektrode mit einem Leitsalzanteil von 0, 0,1 und 0,5 Gew. % NaTFPB.

Ion j	0 Gew. % NaTFPB	0,1 Gew. % NaTFPB	0,5 Gew. % NaTFPB
	$\log K_{H^+,j}^{Pot}$	$\log K_{H^+,j}^{Pot}$	$\log K_{H^+,j}^{Pot}$
Na^+	-10,94	-10,89	-8,90
K^+	-10,83	-10,90	-8,03
Cl^-	-5,08	-5,07	-2,96
SO_4^{2-}	-4,04	-4,97	-1,07

Die Werte der berechneten Selektivitätskoeffizienten $\log K_{H^+,j}^{Pot}$ zeigen eine geringe Empfindlichkeit der H^+ -selektiven Membran gegenüber Alkalimetallionen Na^+ und K^+ , wenn diese als Hintergrundelektrolyt in der Messlösung vorliegen. Die Werte sind vergleichbar mit Werten aus der Literatur [23, 62]. Auffällig ist, dass die Membran mit kleineren Leitsalzanteil 0,1 Gew. % eine höhere Selektivität gegenüber Alkalimetallionen aufweist als eine Membran mit 0,5 Gew. % Leitsalzanteil.

Unabhängig vom Anteil des Leitsalzes zeigen H⁺-selektive Membranen eine geringere Selektivität gegenüber den Anionen Cl⁻ und SO₄²⁻ im Vergleich zu Alkalimetallionen. Die Kalibrierkurven der Messlösungen mit Cl⁻ und SO₄²⁻ (Abb. 4.12) zeigen einen störenden Einfluss auf die Sensorempfindlichkeit gegenüber H⁺ ab pH 6. Der berechnete Selektivitätskoeffizient bestätigt, dass die Anionen ab pH 6 einen störenden Einfluss auf die Detektion des Analyten ausüben und als Faktor in die Berechnung der Wasserstoffkonzentration im sauren pH-Bereich (von pH 2 bis pH 6) mit einbezogen werden muss, wenn die Konzentration der Anionen in der Probelösung im Bereich von 0,1 M oder höher liegt. Die Verläufe der Kalibriergeraden der H⁺-selektiven Membran mit 0,5 Gew.% Leitsalzanteil und der errechnete Selektivitätskoeffizient zeigen eine geringere Empfindlichkeit gegenüber Anionen als für eine H⁺-selektiven Membran mit 0,1 Gew.% Leitsalzanteil. Ein höherer Anteil des anionischen Leitsalzes NaTFPB reduziert das Auftreten des Donnan-Fehlers.

4.2.3 Stabilität und Reproduzierbarkeit

Die Stabilität des Messsystems wurde anhand der Potentialdrift ausgewertet. In Tabelle 4.11 wird die Änderung des Potentials der Elektroden E1 bis E5 in einem Zeitintervall von 7 min 30 s (Dauer der Messung) zusammengefasst. Als Messlösung wurde eine 20 mM Zitronen-/Borsäure Pufferlösung mit pH-Werten 6 und 7 abwechselnd in den mikrofluidischen Chip eingeleitet. Für jeden pH-Wert wurden drei Messungen durchgeführt. Der zeitliche Verlauf der Elektrodenpotentiale einer H⁺-selektiven PVC-Membranelektrode mit 0,5 Gew.% Leitsalzanteil wird in Abbildung 4.13 dargestellt.

Tabelle 4.11: Zusammenfassung der **Potentialdrift $\Delta E/\Delta t$** , die an den Elektroden E1 bis E5 für 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer pH 6 und pH 7 innerhalb des Zeitintervalls von 7 min 30 s für H⁺-selektiven PVC-Membran unterschiedlicher Zusammensetzungen ermittelt wurden.

Elektrode	H ⁺ -selektive Membran					
	0 Gew.% NaTFPB		0,1 Gew.% NaTFPB		0,5 Gew.% NaTFPB	
	pH6	pH7	pH6	pH7	pH6	pH7
	[$\Delta mV/\Delta s$]	[$\Delta mV/\Delta s$]	[$\Delta mV/\Delta s$]	[$\Delta mV/\Delta s$]	[$\Delta mV/\Delta s$]	[$\Delta mV/\Delta s$]
E2	0,043	0,007	0,009	0,061	0,006	0,008
E3	0,042	0,006	0,006	0,035	0,004	0,008
E5	0,01	0,016	0,005	0,029	0,004	0,008
E4	0,055	0,019	0,003	0,02	0,006	0,004
E1	0,056	0,017	0,001	0,012	0,01	0,022

Im Zeitintervall von 7 min 30 s ändern sich die Elektrodenpotentiale um einen Faktor 10⁻³ bis 10⁻² mV. Der Einfluss der Drift auf den Messfehler wird an dem Beispiel der Messung an Elektrode E2 der H⁺-selektiven Membran mit 0,1% Gew.% Leitsalz der Messlösung pH 7 beschrieben. Hier beträgt die Drift 0,061 $\Delta mV/\Delta s$ und die Steilheit der Elektrode 51,7 mV/pH-Einheit. Der durch die Drift verursachte Messfehler liegt für dieses Beispiel bei 0,12%. Für die Kurzzeitmessung ist der Anteil der Potentialdrift am Messfehler sehr gering.

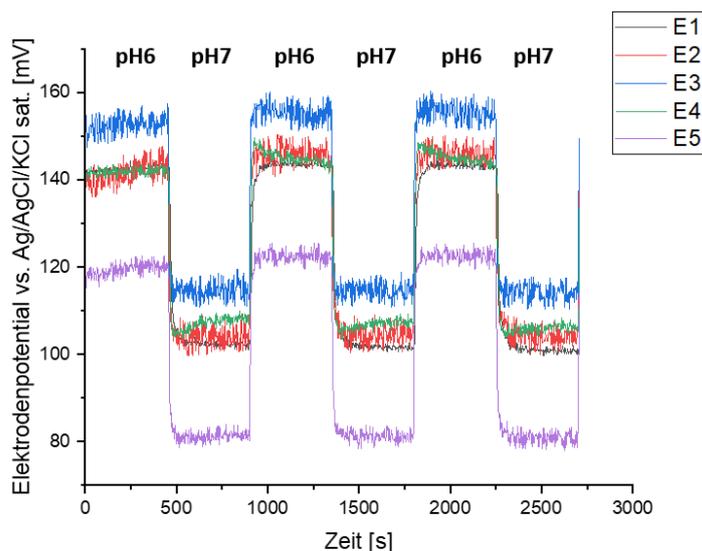


Abbildung 4. 13: Zeitlicher Verlauf der Elektrodenpotentiale E1 bis E5 gemessen gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode. Die Elektroden bestehen aus einer H⁺-selektiven PVC-Membran mit **0,5 Gew.% Leitsalz**. Die Messlösung aus 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer wechselt zwischen den pH-Werten 6 und 7 im Zeitintervall von 7 min 30 s.

In Tabelle 4.12 werden die Einzelwerte von drei Messungen der H⁺-selektiven PVC-Membranelektrode unterschiedlicher Leitsalzanteile mit dem Intervall $\bar{x} \pm 2s$ verglichen. Alle Werte der einzelnen Messungen liegen in diesem Referenzintervall, d.h. es gibt keine signifikanten Abweichungen der Messwerte, die auf einen systematischen Messfehler hindeuten. Die Messwerte sind reproduzierbar.

Tabelle 4.12: Für die Untersuchung der **Reproduzierbarkeit** der Messwerte werden die Messwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und Intervall $\bar{x} \pm 2s$ aus drei Messungen der Elektrodenpotentiale E1 bis E5 für 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer 7 für H⁺-selektiven PVC-Membran unterschiedlicher Zusammensetzungen dargestellt.

Elektrode	H ⁺ -selektive Membran mit 0 Gew.% NaTFPB						
	Einzelwerte			Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]
E2	56,9	58,4	58,6	58,0	0,8	56,4	59,5
E3	126,4	127,0	127,3	126,9	0,4	126,2	127,6
E5	/	/	/	/	/	/	/
E4	101,1	99,9	99,9	100,3	0,6	99,1	101,4
E1	32,0	33,5	33,0	32,8	0,6	31,7	34,0

Elektrode	H ⁺ -selektive Membran mit 0,1 Gew.% NaTFPB						
	Einzelwerte			Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]
E2	38,9	38,6	43,6	40,4	2,3	35,8	44,9
E3	59,3	66,0	66,2	63,9	3,2	57,4	70,3
E5	84,1	86,9	86,0	85,7	1,2	83,3	88,0
E4	60,9	62,8	62,1	61,9	0,8	60,3	63,5
E1	66,5	67,2	67,0	66,9	0,3	66,2	67,5

Elektrode	H ⁺ -selektive Membran mit 0,5 Gew.% NaTFPB						
	Einzelwerte			Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]
E2	103,6	104,7	103,9	104,1	0,5	103,1	105,0
E3	114,8	114,2	114,2	114,4	0,3	113,8	115,0
E5	81,6	81,3	81,0	81,3	0,2	80,8	81,8
E4	108,0	107,4	106,5	107,3	0,6	106,1	108,5
E1	102,2	101,6	100,9	101,6	0,5	100,5	102,6

4.2.4 Dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem

Die Ansprechzeit der H⁺-selektiven Membranelektrode definiert die Zeit bis zum Einstellen des neuen Potentialgleichgewichtes nach Wechsel der Konzentration des Analyten. Da die Elektroden in einer Durchflussezelle im mikrofluidischen Kanal der Plattform integriert sind, haben Design und Größe der Zelle einen Einfluss auf die Ansprechzeit der Sensoren. Die Geschwindigkeit, mit welcher der Austausch der Messlösung in der Zelle stattfindet, beeinflusst den zeitlichen Verlauf der Konzentrationsänderung des Analyten in der Messlösung. Somit hat auch die Durchflussrate der Messlösung einen kritischen Einfluss auf die Ansprechzeit der Elektroden.

Die Ansprechzeit des mikrofluidischen Systems, bestehend aus Mikrokanälen und Durchflussezellen, fließt mit in die Untersuchung der Ansprechzeit der Elektroden ein. Für die Untersuchung der Ansprechzeit der Elektrode wurde der Grenzfall betrachtet, indem die dynamische Ansprechzeit nur von der potentiometrischen Messung und den experimentellen Bedingungen abhängt. Dies bedeutet, dass unter den gegebenen Bedingungen die dynamische Ansprechzeit der Elektroden im Vergleich zu Messtechnik und mikrofluidischem System extrem schnell ist. Die Einflüsse der Messtechnik und des mikrofluidischen Systems auf die Ansprechzeit sind vernachlässigbar gering [59, 60].

Tabelle 4.13 fasst die Ergebnisse der Halbwertszeit $t(50)$ und der Zeitkonstanten τ_{90} in Abhängigkeit der Durchflussrate zusammen. Die Zeitkonstante τ_{90} ist definiert als Zeit in s bis sich das Elektrodenpotential zu 90% nach einem Wechsel der Analytkonzentration in der Messlösung auf ein Gleichgewichtszustand eingestellt hat. Abgebildet sind Mittelwert und Standardabweichung der Messungen der Potentialänderung bei einer Konzentrationsänderung um Faktor 10 an den Elektroden E1, E4 und E5. Für die Versuche wurde eine H⁺-selektive PVC-Membranelektrode mit Leitsalzanteil 0,1 Gew.% verwendet. Halbwertszeit und Zeitkonstante wurden graphisch mit Hilfe der Software Origin (Origin 2021b, Fa. Additive GmbH) ermittelt (siehe Kap. 3.5.2 *Dynamische Ansprechzeit im Durchflusssystem*, Gl. 3.13 und Gl. 3.14).

Tabelle 4.13: Zusammenfassung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Halbwertszeit $t(50)$ und Zeitkonstante τ_{90} in Abhängigkeit der Durchflussrate.

Durchflussrate	1/Durchflussrate	Halbwertszeit $t(50)$		τ_{90}	
		Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s	Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s
[$\mu\text{l}/\text{min}$]	[$1/\mu\text{l}/\text{min}$]	[s]	[s]	[s]	[s]
10	$1,00 \cdot 10^{-1}$	38,00	7,19	142,23	44,11
50	$2,00 \cdot 10^{-2}$	12,66	6,77	61,56	20,27
100	$1,00 \cdot 10^{-2}$	11,11	7,16	51,31	26,78
300	$3,33 \cdot 10^{-3}$	4,23	2,84	41,00	15,56
500	$2,00 \cdot 10^{-3}$	4,22	1,76	44,99	26,27
800	$1,25 \cdot 10^{-3}$	4,00	3,65	40,89	37,50
1000	$1,00 \cdot 10^{-3}$	3,67	3,96	47,44	24,46
1200	$8,33 \cdot 10^{-4}$	3,33	2,24	35,56	19,37
1500	$6,67 \cdot 10^{-4}$	3,43	2,71	28,11	14,93
1800	$5,56 \cdot 10^{-4}$	4,79	2,63	21,29	9,24
2000	$5,00 \cdot 10^{-4}$	3,58	3,17	22,14	9,87

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Halbwertszeit sind in Abbildung 4.14 grafisch gegen die Durchflussrate (rechts) und gegen 1/Durchflussrate (links) aufgetragen. Die Halbwertszeit stellt sich ab einer Durchflussrate von 300 $\mu\text{l}/\text{min}$ auf einen konstanten Wert ein. Es wird daher angenommen, dass ab einer Durchflussrate von 300 $\mu\text{l}/\text{min}$ der Einfluss der Durchflusszelle auf die Ansprechzeit der Elektrode eliminiert ist und nur die Diffusion des H^+ Ions an der Elektrodenoberfläche für die Ansprechzeit ausschlaggebend ist. Durch Auftragen der Halbwertszeit gegen den reziproken Wert der Durchflussrate wird eine lineare Regressionsgerade erstellt. Der Ordinatenabschnitt wird als Wert der Halbwertszeit angenommen. Daraus ergibt sich für H^+ -selektive PVC-Membranelektroden eine Halbwertszeit von 3,6 s (siehe Abb. 4.14). Dies bedeutet, dass sich das Elektrodenpotential nach 3,6 s zu 50% auf einen neuen Gleichgewichtszustand nach Wechsel der Analytkonzentration in der Messlösung eingestellt hat. Für die Zeitkonstante τ_{90} ergibt sich nach derselben Methode ein Wert von 27,4 s. Beim Vergleich Halbwertszeit mit der Zeitkonstante τ_{90} fällt auf, dass H^+ -selektive PVC-Membranelektroden auf einen Wechsel der Konzentration des Analyten in der Messlösung schnell reagieren und nach 3,6 s die Potentialänderung zu 50% fortgeschritten ist. Die Auswertung der Zeitkonstanten τ_{90} zeigt allerdings, dass sich die Einstellung des endgültigen Gleichgewichtszustandes verzögert. Die Verzögerung bis zur Einstellung des Potentialgleichgewichts könnte auf den Einfluss der Durchflusszelle zurückzuführen sein. Das Potentialgleichgewicht stellt sich erst ein, nachdem die Messlösung in der Zelle komplett ausgetauscht wurde.

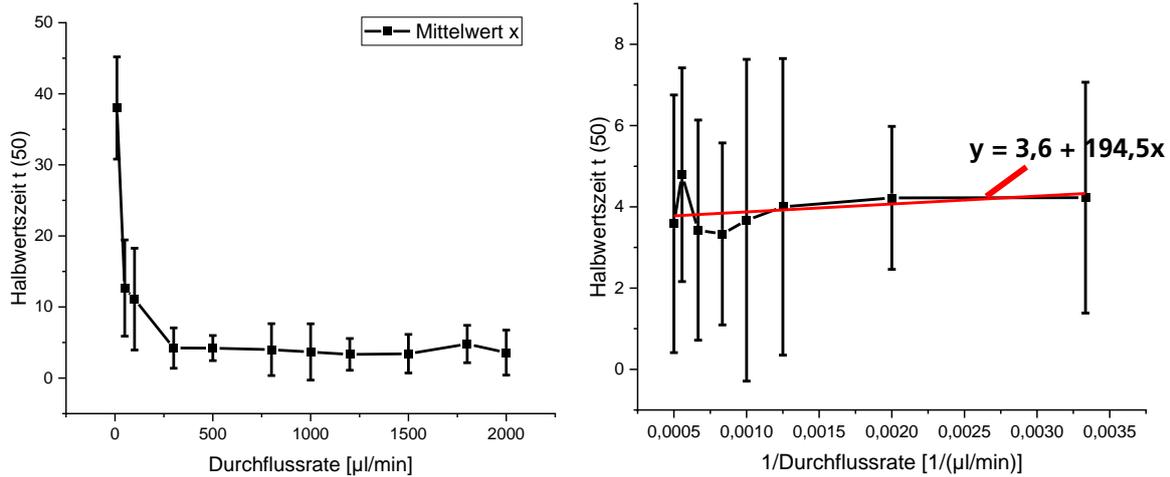


Abbildung 4. 14: Abgebildet sind die Diagramme der Halbwertszeit $t(50)$ gegen Durchflussrate in $\mu\text{l}/\text{min}$ und die reziproke Durchflussrate in $1/(\mu\text{l}/\text{min})$. Die Ermittlung des Ordinatenabschnitts der linearen Regressionsgeraden zeigt eine Halbwertszeit von 3,6 s.

Die Ansprechzeit des mikrofluidischen Systems wird unterteilt in Ansprechzeit des gesamten Chips, der Durchflusszelle und Elektroden in der Durchflusszelle. Die Ansprechzeit des Mikrochips und der Durchflusszelle wird durch die Austauschrate nach Wechsel der Probelösung definiert. Diese gibt die Zeit an, welche benötigt wird, um das Volumen der Messlösung in den Strömungskanälen des Chips und der Durchflusszelle einmal komplett auszutauschen. Im mikrofluidischen Chip liegen ausschließlich laminare Strömungsverhältnisse vor. Trotzdem kann es in der Durchflusszelle durch ungünstige Konstruktion der Zelle zu Turbulenzen durch Rückströmungen kommen. Diese Rückströmungen beeinflussen den Austausch des Probevolumens in der Zelle und somit das Ansprechverhalten der Elektrode auf den Analyten in der Probelösung. Für die Ansprechzeit der gesamten mikrofluidischen Plattform wird in Tabelle 4.14 eine Abschätzung formuliert. Die Austauschzeiten für Kanal und Zelle wurden theoretisch und bezogen auf ein ideales System (glatte Wände ohne Reibungseffekte oder Energieverlust durch Reibung) berechnet.

Tabelle 4.14: Zusammenfassung der Austausch- und Ansprechzeiten der einzelnen Chipkomponenten (Strömungskanäle, Durchflusszelle und Elektroden). Zur Vereinfachung wird hier die Austauschrate als Austauschzeit definiert und in Sekunden für eine Flussrate von $10\mu\text{l}/\text{min}$ angegeben.

Austauschzeit der mikrofluidischen Kanäle im Chip für eine Flussrate von $10\mu\text{l}/\text{min}$ in [s]	316
Austauschzeit der Durchflusszelle für eine Flussrate von $10\mu\text{l}/\text{min}$ in [s]	84*
Zeitkonstante τ_{90} in [s]	27,4
Summe der Ansprechzeit einzelner Komponenten der Plattform in [s] = Ansprechzeit der Plattform in [s]	427,4

*Die Austauschzeit wurde mit Faktor 5 multipliziert, da der Chip fünf Durchflusszellen enthält.

Der Chip wird als Gesamtsystem betrachtet, d.h. die Ansprechzeit des gesamten Chips setzt sich zusammen aus der Austauschrate der mikrofluidischen Strömungskanäle, der Durchflusszelle und der Ansprechzeit der Elektroden. Die Austauschrate ist definiert als kompletter Austausch der Probelösung durch eine neue Probelösung. Die Austauschrate der Durchflusszelle sowie der Strömungskanäle des Chips ist allein abhängig von der Durchflussrate und beträgt für den mikrofluidischen Chip mit fünf Durchflusszellen zusammengekommen 400 s (~ 6min und 40 s) für eine Durchflussrate von 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Anzumerken ist, dass es sich hierbei nur um eine Abschätzung der Werte handelt. Die Ansprechzeit der Plattform wird daher zum größten Teil von der Austauschzeit der mikrofluidischen Kanäle bestimmt. Die Ansprechzeit der Elektroden fällt vergleichsweise gering aus.

4.3 Chipbasierte Durchflusstitration mit ionenselektiven Elektroden

Für die Evaluierung der mikrochipbasierten Durchflusstitration mit ionenselektiven Elektroden wurden Säure-Base-Titrationsen einer starken und einer schwachen Säure durchgeführt und ausgewertet. Wasserstoff-selektive PVC-Flüssigmembranelektroden wurden für die potentiometrische Messung des pH-Werts hergestellt und in die mikrofluidische Sensorplattform integriert. Die Titrationskurven von Salzsäure (Abk.: HCl) und 2-N-Morpholino-ethansulfonsäure (Abk.: MES) wurden durch Titration mit Natronlauge (Abk.: NaOH) erstellt. Die schematische Darstellung des mikrofluidischen Chips mit Nummerierung der Elektroden und Einlässe des Titranten NaOH ist in Abbildung 3.14 dargestellt. Die Nummerierung der Elektroden E1 bis E8 und die Einlässe 1 bis 8 sind für alle durchgeführten Versuche gültig.

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der chipbasierten Durchflusstitration zusammengefasst und hinsichtlich Präzision, Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ausgewertet. Es wird der Fragestellung nachgegangen, ob der mikrofluidische Sensorchip eine geeignete Plattform für die Durchführung der Durchflusstitration darstellt und nachweislich reproduzierbare Ergebnisse der pH-Wert Bestimmung liefert. Im Vorfeld ergeben sich Anforderungen an den mikrofluidischen Chip, um eine pH-Wert Bestimmung mittels einer Säure-Base-Titration zu ermöglichen:

- Optimales Design der Mikrokanäle und Mikromischer, um eine ungestörte laminare Strömung und eine homogene Durchmischung der Probelösung mit Titranten zu erhalten
- Kontinuierliche Förderung der Lösungen mit möglichst geringer Pulsation, um eine genaue Dosierung der Probe- und Maßlösung zu erzielen
- Genaue und reproduzierbar arbeitende Sensoren, um die Konzentration des Analyten möglichst exakt zu bestimmen

Aus den Ergebnissen werden Designregeln für den Aufbau des mikrofluidischen Chip abgeleitet, welche die Anforderungen erfüllen, um eine valide Bestimmung des pH-Werts mittels Säure-Base-Titration im Durchflusssystem zu gewährleisten.

4.3.1 Chipbasierte Durchflusstitation einer schwachen Säure mit einer starken Base

Für die Untersuchung der Titration einer schwachen Säure mit einer starken Base wurden 0,02M 2-N-Morpholino-ethansulfonsäure (Abk.: MES) als Säure und 0,01M Natronlauge (Abk.: NaOH) als Base gewählt. Der pK_s Wert von MES ist 6,27. Folgende Reaktion läuft ab [37]:



Die Gleichgewichtskonstante K_s der Reaktion lautet $5,4 \cdot 10^7$. Der Wert der Gleichgewichtskonstante ist niedrig, sodass man von einer vollständigen Umsetzung der Säure nach Zugabe der Base OH^- ausgehen kann. Der Äquivalenzpunkt dieser Säure-Base-Reaktion liegt bei pH 9,25. Die Berechnung der theoretischen pH-Werte für die Titrationskurven wird in Tabelle 3.11 des Kapitels 3.6.1 *Chipbasierte Durchflusstitation* beschrieben. Für die Evaluierung der Titration einer schwachen Säure wurden zwei Testreihen unterschiedlicher Durchflussraten (10 $\mu\text{l}/\text{min}$ und 50 $\mu\text{l}/\text{min}$) durchgeführt. Ziel war es, sich durch Variation der Durchflussrate dem Äquivalenzpunkt in kleineren Schritten zu nähern.

Ergebnisse

- **Testreihe 1: 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probelösung**

Die Probe mit 0,02M MES wurde mit 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ im mikrofluidischen Chip vorgelegt und die Titration dreimal durchgeführt. Tabelle 4.15 fasst die gemessenen und gemittelten Elektrodenpotentiale gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. und die daraus ermittelten pH-Wert der Titration 1 bis 3 zusammen.

Tabelle 4.15: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ einer 0,02M MES Probelösung mit 0,01M NaOH.

Elektrode	Titration Nr. 1		Titration Nr. 2		Titration Nr. 3		Theor.
	Potential [mV]	Exp. pH-Wert	Potential [mV]	Exp. pH-Wert	Potential [mV]	Exp. pH-Wert	
1	270,5	4,08	266,2	4,16	261,9	4,10	3,99
2	171,4	5,93	166,8	6,02	160,2	5,96	5,75
3	89,1	6,69	86,2	6,75	91,1	6,64	6,27
4	99,1	6,95	95,9	7,01	95,2	6,84	6,64
5	58,6	7,34	57,4	7,36	55,3	7,14	6,87
6	29,3	7,81	32,6	7,75	32,2	7,47	7,22
7	-104,5	10,22	-95,2	10,04	-71,6	9,31	9,25
8	-51,1	10,13	-48,7	10,08	-40,9	10,66	10,80

Der zeitliche Potentialverlauf an Elektroden E1 bis E8 während Titration Nr. 3 wird repräsentativ für alle Messung in Abbildung 4.15 dargestellt. Zunächst wird das Elektrodenpotential von 0,02M MES aufgenommen. Sobald sich das Gleichgewichtspotential eingestellt hat, wird an Einlass 2 bis 8 der Titrant 0,01M NaOH simultan an allen Einlässen zu dosiert. Aus 200 Messwerten wurde der Mittelwert bestimmt und daraus der entsprechenden pH-Wert ermittelt. Die rechte Seite der Abbildung 4.15 zeigt die Titrationskurve der experimentell ermittelten pH-Werte der Titration Nr. 3 im Vergleich zur Titrationskurve der theoretisch berechneten pH-Werten.

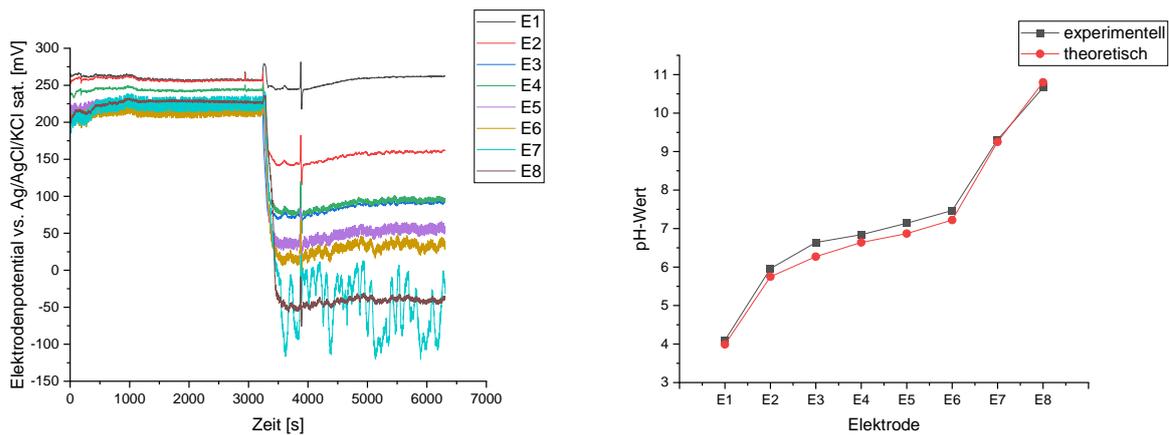


Abbildung 4.15: Linke Seite: Zeitlicher Verlauf der Potentialmessung an Elektrode E1 bis E8 gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. während der Titration von **10 µl/min** einer schwachen Säure MES mit NaOH. Rechte Seite: Titrationskurven des experimentell ermittelten pH-Wertes (schwarzes Linien-Diagramm) im Vergleich zu den theoretisch berechneten pH-Werten (rotes Linien-Diagramm).

• **Testreihe 2: 50 µl/min Probelösung**

Um sich dem Äquivalenzpunkt pH 9,25 in kleineren Schritten zu nähern, wurde der Volumenstrom der Durchflusstitation erhöht. Die Durchflussrate der Probe beträgt 50 µl/min. Tabelle 4.16 fasst die Ergebnisse der Potentialmessung und daraus ermittelten pH-Werten aus drei Titrationsen zusammen.

Tabelle 4.16: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von **50 µl/min** einer 0,02M MES Probelösung mit 0,01M NaOH.

Elektrode	Titration Nr. 1		Titration Nr. 2		Titration Nr. 3		Theor. pH-Wert
	Potential [mV]	Exp. pH-Wert	Potential [mV]	Exp. pH-Wert	Potential [mV]	Exp. pH-Wert	
1	268,0	4,13	262,3	4,09	249,8	4,33	3,99
2	132,9	6,67	127,3	6,56	120,8	6,68	6,27
3	56,5	7,36	56,4	7,29	53,6	7,35	6,87
4	65,8	7,59	66,1	7,38	63,9	7,42	7,14
5	31,8	7,86	32,5	7,56	31,0	7,59	7,33
6	6,9	8,25	16,0	7,77	14,6	7,79	7,65
7	-33,5	8,85	2,1	7,97	-0,4	8,01	7,96
8	-32,9	9,74	29,6	8,96	28,9	8,98	9,25

Exemplarisch wird in Abbildung 4.16 der zeitliche Verlauf der Potentialmessung während Titration Nr. 3 vorgestellt. Die aus den Messwerten ermittelte Titrationskurve ist repräsentativ für alle Titrationsen einer 50 µl/min 0,02M MES Probelösung mit 0,01M NaOH.

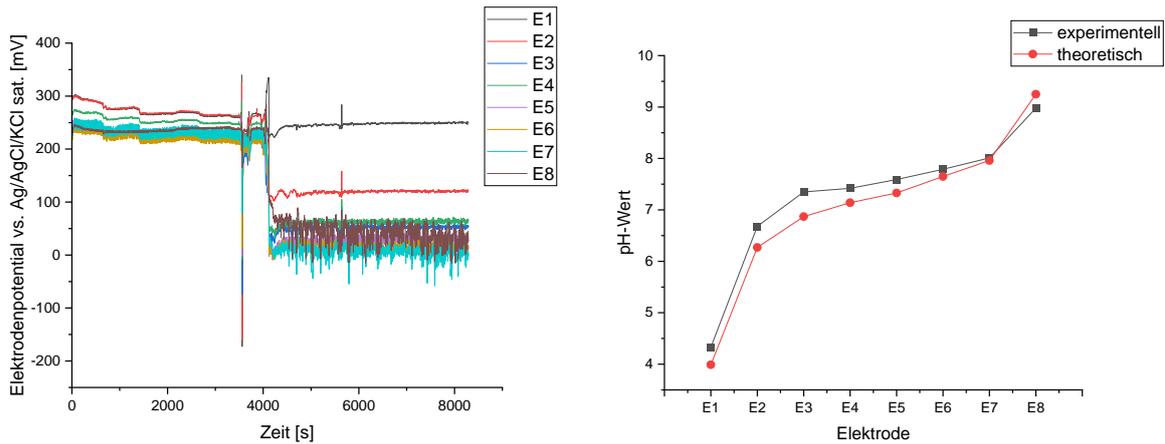


Abbildung 4.16: Linke Seite: Zeitlicher Verlauf der Potentialmessung an Elektrode E1 bis E8 gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. während der Titration von **50µl/min** einer schwachen Säure MES mit NaOH. Rechte Seite: Titrationskurven des experimentell ermittelten pH-Wertes (schwarzes Linien-Diagramm) im Vergleich zu den theoretisch berechneten pH-Werten (rotes Linien-Diagramm).

Statistische Auswertung und Diskussion der Ergebnisse

Um die Messwerte des Elektrodenpotentials während der potentiometrischen Titration auf Richtigkeit und Präzision zu untersuchen, werden die gemittelten Elektrodenpotentiale einer Titration genauer betrachtet und statistisch durch Bildung des Vertrauensintervalls ausgewertet. Dazu sind in Tabelle 4.17 der Mittelwert der Elektrodenpotentiale \bar{x} der in Abbildung 4.15 dargestellten Titration Nr. 3 sowie deren Standardabweichung s , das Intervall $\bar{x} \pm 1s$ und das Vertrauensintervall mit Vertrauensniveau 95% zusammengefasst. Die Standardabweichung des gemittelten Elektrodenpotentials beschreibt die Streuung der Messwerte um den Mittelwert des Potentials und wird auch als Rauschen der Messwerte ausgedrückt.

Tabelle 4.17: Überblick über die Ergebnisse der Potentialmessung während Titration Nr. 3 für **10µl/min Probe**. Dargestellt sind die gemittelten Potentiale \bar{x} , Standardabweichung s , Intervall der Standardabweichung und Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95%.

Elektrode	Potential Mittelwert \bar{x}	Standard-Abweichung s	$\bar{x} - 1s$	$\bar{x} + 1s$	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]
E1	261,9	0,4	261,6	262,3	261,9	262,0
E2	160,3	1,1	159,2	161,3	160,1	160,4
E3	91,1	1,3	89,8	92,5	91,0	91,3
E4	95,2	2,5	92,7	97,7	94,9	95,5
E5	55,3	5,3	50,0	60,5	54,6	56,0
E6	32,2	5,5	26,8	37,7	31,5	33,0
E7	-71,6	31,0	-102,5	-40,6	-75,8	-67,3
E8	-40,9	2,7	-43,6	-38,2	-41,3	-40,5

Elektrode E7 zeigt ein auffälliges Verhalten während der Titration. Die Messwerte unterliegen mit $\pm 31,0$ mV einer breiten Streuung um den Mittelwert herum und beschreiben ein Intervall von -102,5 bis -40,6 mV, sodass 2/3 der Messwerte in einem Bereich liegen, der eine Zehnerpotenz der Elektrodensteilheit umfasst. Das Rauschen des Messwertes ist im Vergleich zu anderen Elektroden sehr stark. Um die Richtigkeit

der Messwerte an Elektrode E7 zu prüfen, wird das Vertrauensintervall mit einer Sicherheit von 95% bestimmt. Der wahre Mittelwert liegt mit einer 95%igen Sicherheit im Bereich -75,8 bis -67,3 mV. Der Mittelwert der Potentialmessung liegt mit 71,6 mV im Vertrauensintervall und wird daher als richtig angesehen, die Messwerte sind jedoch aufgrund der breiten Streuung unpräzise.

Das starke Rauschen des Elektrodenpotentials an E7 steht im Zusammenhang mit der elektrolytischen Probelösung, welche an E7 anliegt. Während der Titration wird an E7 die Menge an NaOH zu dosiert, um den Äquivalenzpunkt pH 9,25 der Reaktion MES mit NaOH zu erreichen. Das Signalrauschen an dieser Elektrode wird darauf zurückgeführt, dass Protonen durch die Zugabe der Base vollständig umgesetzt sind. An der Elektrode liegen Na^+ und die deprotonierte 2-N-Morpholino-ethansulfonsäure Restgruppe vor. Die Ionenstärke aber auch die Leitfähigkeit des Elektrolyten ist herabgesetzt, da Na^+ Ionen eine geringere Leitfähigkeit als Protonen besitzen. Der Kontakt zwischen Messelektrode und Referenzelektrode durch die Leitfähigkeit der elektrolytischen Lösung ist reduziert, wodurch das hohe Signalrauschen der Elektrode gefördert wird.

Die Auswertung der Messung Titration Nr. 3 für einen vorgelegten Probenvolumenstrom von $50\mu\text{l}/\text{min}$ unterstützt die Schlussfolgerung, dass mit fortschreitender Umsetzung der Protonen durch Zugabe der Base auch die Leitfähigkeit des Elektrolyten abnimmt und dadurch das Signalrauschen der Elektroden verstärkt wird. Die Werte der Standardabweichung in Tabelle 4.18 nehmen mit steigendem pH-Wert zu. Die Streuung des Messwertes (Rauschen) nimmt zu, je näher die Lösung im Chip dem Äquivalenzpunkt der Säure-Base-Reaktion kommt.

Tabelle 4.18: Überblick über die Ergebnisse der Potentialmessung während Titration Nr. 3 für $50\mu\text{l}/\text{min}$ Probe. Dargestellt sind die gemittelten Potentiale \bar{x} , Standardabweichung s , Intervall der Standardabweichung und Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95%.

Elektrode	Potential Mittelwert \bar{x}	Standard- Abweichung s	$\bar{x} - 1s$	$\bar{x} + 1s$	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]
E1	249,8	1,0	248,8	250,8	249,7	249,9
E2	120,8	1,4	119,4	122,2	120,6	121,0
E3	53,6	2,3	51,3	55,9	53,3	53,9
E4	63,9	3,1	60,8	67,0	63,5	64,3
E5	31,0	5,7	25,3	36,7	30,2	31,8
E6	14,6	7,4	7,2	22,0	13,6	15,6
E7	-0,4	13,4	-13,8	13,0	-2,3	1,5
E8	28,9	18,4	10,5	47,3	26,3	31,5

Im Folgenden wird untersucht, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen theoretisch berechneten und experimentell ermittelten pH-Werten der Titrationskurve gibt. Für die statistische Auswertung der Durchflusstitation mittels mikrofluidische Sensorplattform ist entscheidend, ob die Ergebnisse der Durchflusstitation innerhalb des experimentellen Fehlers von 5% liegen. In Tabelle 4.19 und 4.20 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der pH-Werte aus Titrationsversuchen mit $10\mu\text{l}/\text{min}$ und $50\mu\text{l}/\text{min}$ Probelösung in einer Übersicht dargestellt. Der absolute Fehler f_{abs} sowie der relative Fehler f_{rel} wurden nach Gleichung 3.3 und 3.4 berechnet. Die Fehlerbetrachtung ergibt einen maximalen relativen Fehlers f_{rel} von 6,7% an Elektrode E3. Zieht man in Betracht, dass allein der Messfehler der ionenselektiven Elektrode bei idealer Nernst-Spannung von $59\text{mV}/\text{pH}$ -Wert unter Standardbedingungen für einwertige Ionen 4% beträgt, fallen die ermittelten Fehler des Gesamtsystems gering aus.

Tabelle 4.19: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsversuchen mit **10µl/min Probe** im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung s , absoluter Fehler f_{abs} und relativer Fehler f_{rel} in %.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard-Abweichung s	Absoluter Fehler f_{abs}	Relativer Fehler f_{rel} [%]
E1	3,99	4,11	0,03	0,12	3
E2	5,75	5,97	0,04	0,22	3,8
E3	6,27	6,69	0,04	0,42	6,7
E4	6,64	6,93	0,07	0,29	4,4
E5	6,87	7,28	0,10	0,41	6
E6	7,22	7,68	0,15	0,46	6,4
E7	9,25	9,86	0,39	0,61	6,6
E8	10,80	10,29	0,26	0,51	4,7

Tabelle 4.20: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsversuchen mit **50µl/min Probe** im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung s , absoluter Fehler f_{abs} und relativer Fehler f_{rel} in %.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard-Abweichung s	Absoluter Fehler f_{abs}	Relativer Fehler f_{rel} [%]
E1	3,99	4,18	0,10	0,19	4,8
E2	6,27	6,64	0,05	0,37	5,9
E3	6,87	7,33	0,03	0,46	6,7
E4	7,14	7,46	0,09	0,32	4,5
E5	7,33	7,67	0,13	0,34	4,6
E6	7,65	7,94	0,22	0,29	3,8
E7	7,96	8,28	0,41	0,32	4
E8	9,25	9,23	0,36	0,02	0,2

Um zu ermitteln, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen theoretischen pH-Wert und experimentell ermittelten pH-Wert gibt, wird das Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95% bestimmt. Davon ausgehend, dass eine Abweichung von 5% auf zufälligen Messfehler zurückzuführen ist, wird der Unterschied zwischen Theorie und Experiment als nicht signifikant angesehen, wenn sich der theoretische Wert innerhalb des Vertrauensintervalls befindet. Das Vertrauensintervall wird am Beispiel für die Titration mit 10µl/min Probe und der Elektrode E7 mit t-Faktor 4,303 (Freiheitsgrad 2) und Anzahl der Messungen n exemplarisch berechnet:

$$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} = 9,86 \pm \frac{(4,303 * 0,39)}{\sqrt{3}} = 9,86 \pm 0,98 = 8,88 \text{ bis } 10,83 \quad (4.5)$$

Tabelle 4.21 fasst die Ergebnisse der Messung mit 10µl/min Probe für Elektrode E1 bis E8 zusammen. Die Werte der Elektrode E6 bis E8 liegen innerhalb des Vertrauensintervalls und somit innerhalb des experimentellen Fehlers. Für Elektrode E1 bis E5 liegt der theoretische pH-Wert stets unterhalb des Vertrauensintervalls der experimentellen Werte. Die Messungen an diesen Elektroden zeigen eine statistisch signifikante Abweichung zum theoretischen pH-Wert.

Tabelle 4.21: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vertrauensintervalls mit einem Vertrauensniveau von 95% aus drei Titrationsversuchen mit 10 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard-Abweichung s	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
E1	3,99	4,11	0,03	4,03	4,20
E2	5,75	5,97	0,04	5,88	6,06
E3	6,27	6,69	0,04	6,58	6,81
E4	6,64	6,93	0,07	6,76	7,11
E5	6,87	7,28	0,10	7,03	7,53
E6	7,22	7,68	0,15	7,31	8,04
E7	9,25	9,86	0,39	8,88	10,83
E8	10,80	10,29	0,26	9,64	10,94

Die Ergebnisse der Messung mit 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probe für Elektrode E1 bis E8 sind in Tabelle 4.22 aufgeführt. Die Werte der Elektrode E1, sowie E5 bis E8 liegen innerhalb des Vertrauensintervalls, d.h. es gibt keine signifikante Abweichung zwischen theoretischen und experimentellen pH-Wert. Für Elektrode E2 bis E4 liegt der theoretische pH-Wert stets unterhalb des Vertrauensintervalls der experimentellen Werte. Die Messungen an diesen Elektroden zeigen eine statistisch signifikante Abweichung zum theoretischen pH-Wert.

Tabelle 4.22: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vertrauensintervalls mit einem Vertrauensniveau von 95% aus drei Titrationsversuchen mit 50 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard-Abweichung s	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
E1	3,99	4,18	0,10	3,92	4,44
E2	6,27	6,64	0,05	6,50	6,77
E3	6,87	7,33	0,03	7,26	7,41
E4	7,14	7,46	0,09	7,24	7,69
E5	7,33	7,67	0,13	7,33	8,01
E6	7,65	7,94	0,22	7,39	8,49
E7	7,96	8,28	0,41	7,27	9,28
E8	9,25	9,23	0,36	8,32	10,13

Ursache für die signifikante Abweichung könnten systematische Fehler in der Versuchsdurchführung oder im Messaufbau sein. Allerdings würden sich Ursachen wie eine ungenaue Dosierung des Titranten NaOH durch die Spritzenpumpe oder Blockierung der mikrofluidischen Kanäle durch Chipmaterial, welche während der Fertigung des Chips entstanden sind, auch auf die pH-Messung an Elektrode E6 bis E8 auswirken und der relative Fehler würde deutlich größer ausfallen. Eine mögliche Ursache der signifikanten Abweichung zwischen theoretischen und experimentellen pH-Werten der Elektrode E1 bis E5 kann in der geringen Datenmenge liegen. Weitere Titrationsversuche unterstützen die Sicherheit und Aussagekraft der statistischen Auswertung.

In Abbildung 4.17 werden die Titrationskurven der theoretischen und experimentellen pH-Werte der Messung mit 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probe verglichen (siehe Tab. 4.21). Die pH-Werte an Elektrode E1 bis E7 sind in jeder Messung größer als die theoretischen pH-Werte. Die Ergebnisse werden durch die Auswertung der Titrationskurve in Abbildung 4.18 für eine Messung mit 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probe bestätigt (siehe Tab. 4.22).

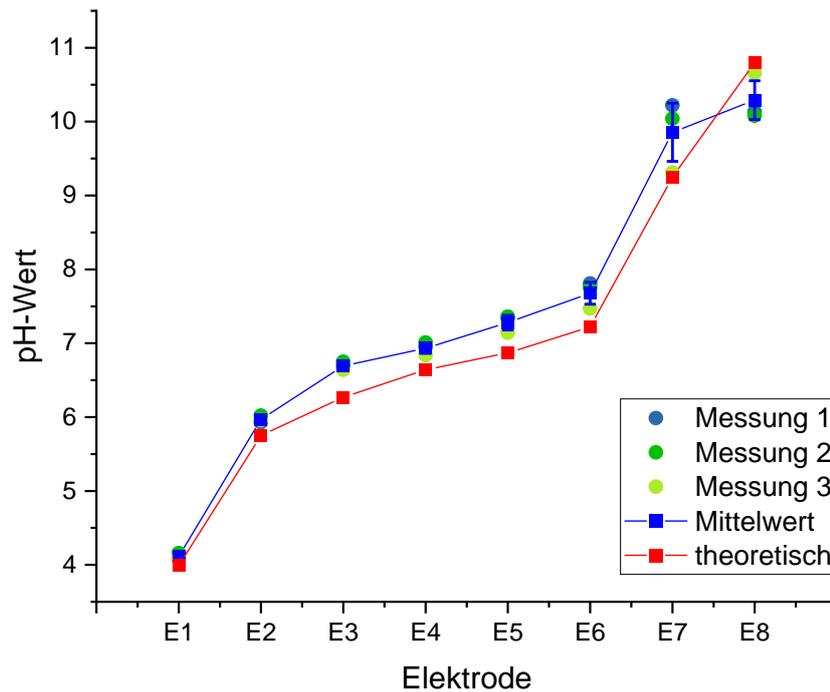


Abbildung 4. 17: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte (blaues Linien-Diagramm) der Titration mit **10 $\mu\text{l}/\text{min}$** Probe. Zusätzlich sind die Werte der einzelnen Messungen als Punktdiagramm aufgetragen.

Ausgehend von der Annahme, dass der theoretische pH-Wert korrekt ist, könnte die Ursache für die Abweichung der experimentellen Werte darin liegen, dass die Elektroden E1 bis E7 eine Tendenz haben höheren pH-Wert zu messen, als tatsächlich im System vorliegt. Dies könnte auf eine ungenaue Kalibrierung der Sensoren zurückzuführen sein.

Eine zweite Fehlerursache kann auch im Design des mikrofluidischen Systems liegen, sodass die Strömungen der sauren und der basischen Lösung nicht komplett miteinander gemischt werden und lokale Unterschiede des pH-Wertes in der Strömung auftreten. An der Oberfläche der Elektrode fließt eine Strömung mit höherem pH-Wert entlang.

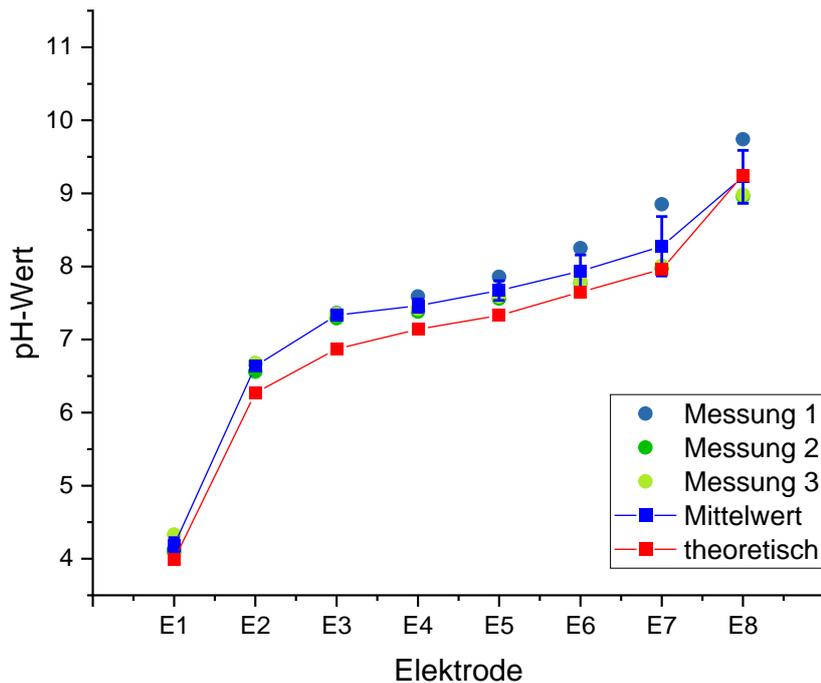


Abbildung 4. 18: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte (blaues Linien-Diagramm) der Titration mit **50 µl/min** Probe. Zusätzlich sind die Werte der einzelnen Messungen als Punktdiagramm aufgetragen.

Für die statistische Auswertung der Reproduzierbarkeit der Messwerte wird die Titrationskurve der theoretischen pH-Werte mit dem gemittelten Wert aus drei Messungen gegenübergestellt und das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ gebildet. Innerhalb dieses Intervalls liegen 95% der Messwerte, d.h. eine signifikante Abweichung liegt vor, sobald ein Messwert außerhalb dieses Bereichs liegt. Die Messwerte der Titrationsversuche sind reproduzierbar, wenn sie innerhalb des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$ liegen (siehe Tab. 4.23 und 4.24).

Tabelle 4.23: Überblick der theoretischen pH-Werte, Mittelwerte der experimentellen pH-Werte mit Standardabweichung und Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zur Auswertung der Reproduzierbarkeit der Titrationsversuche für Versuche mit **10 µl/min** Probe.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard-Abweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
E1	3,99	4,11	0,03	4,05	4,18
E2	5,75	5,97	0,04	5,90	6,04
E3	6,27	6,69	0,04	6,60	6,78
E4	6,64	6,93	0,07	6,79	7,07
E5	6,87	7,28	0,10	7,08	7,48
E6	7,22	7,68	0,15	7,38	7,97
E7	9,25	9,86	0,39	9,07	10,64
E8	10,80	10,29	0,26	9,77	10,81

Tabelle 4.24: Überblick der theoretischen pH-Werte, Mittelwerte der experimentellen pH-Werte mit Standardabweichung und Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zur Auswertung der Reproduzierbarkeit der Titrationsversuche für Versuche mit **50 $\mu\text{l}/\text{min}$** Probe.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard-Abweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
E1	3,99	4,18	0,10	3,97	4,39
E2	6,27	6,64	0,05	6,53	6,75
E3	6,87	7,33	0,03	7,27	7,40
E4	7,14	7,46	0,09	7,28	7,65
E5	7,33	7,67	0,13	7,40	7,94
E6	7,65	7,94	0,22	7,49	8,38
E7	7,96	8,28	0,41	7,47	9,09
E8	9,25	9,23	0,36	8,50	9,95

Alle Messwerte der einzelnen Messungen aus Tabelle 4.15 für 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probe und Tabelle 4.16 für 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ liegen innerhalb des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$. Es liegt keine signifikante Abweichung vor und die ermittelten Werte aus den Titrationsversuchen sind reproduzierbar.

Auswertung der chipbasierten Durchflusstitation

Tabelle 4.25 fasst die Werte der 1. und 2. Ableitung der Titrationskurve aus gemittelten pH-Werten der Messung einer 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probelösung zusammen. Die Kurven der Ableitungen werden in Abbildung 4.19 dargestellt. Das Maximum der 1. Ableitung wird an Elektrode E7 abgelesen, woraus sich das Volumen des Titranten NaOH ermitteln lässt. Die unbekannte Konzentration der H^+ Ionen wird nach Gleichung 3.15 er rechnen:

$$c_{\text{Säure}} = c_{\text{Base}} * \frac{V_{\text{Base}}}{V_{\text{Säure}}} = 0,01\text{M} * \frac{20\mu\text{l}/\text{min}}{10\mu\text{l}/\text{min}} = 0,02\text{M} \quad (4.6)$$

Das Maximum der 1. Ableitung ist sehr gut an Elektrode E7 ablesbar. Die 2. Ableitung tendiert ab Elektrode E6 gegen Null und erreicht den Nullpunkt zwischen Elektrode E6 und E7. Eine eindeutige Aussage, an welcher Elektrode der Äquivalenzpunkt der Säure-Base-Reaktion stattfand, kann durch die Auswertung der 2. Ableitung nicht festgestellt werden.

Tabelle 4.25: Zusammenfassung der gemittelten pH-Werte aus den Titrationsversuchen mit **10 $\mu\text{l}/\text{min}$ Probe** und den Ergebnissen der 1. Ableitung $\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen}$ und 2. Ableitung $\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen})$.

Elektrode	pH (Mittelwert \bar{x})	Zugabe Volumen NaOH [$\mu\text{l}/\text{min}$]	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen}$	$\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen})$
E1	4,11	0		
E2	5,97	5	0,372	-0,046
E3	6,69	10	0,144	-0,019
E4	6,93	14	0,06	0,038
E5	7,28	16	0,175	0,012
E6	7,68	18	0,2	0,445
E7	9,86	20	1,09	-0,438
E8	10,29	22	0,215	

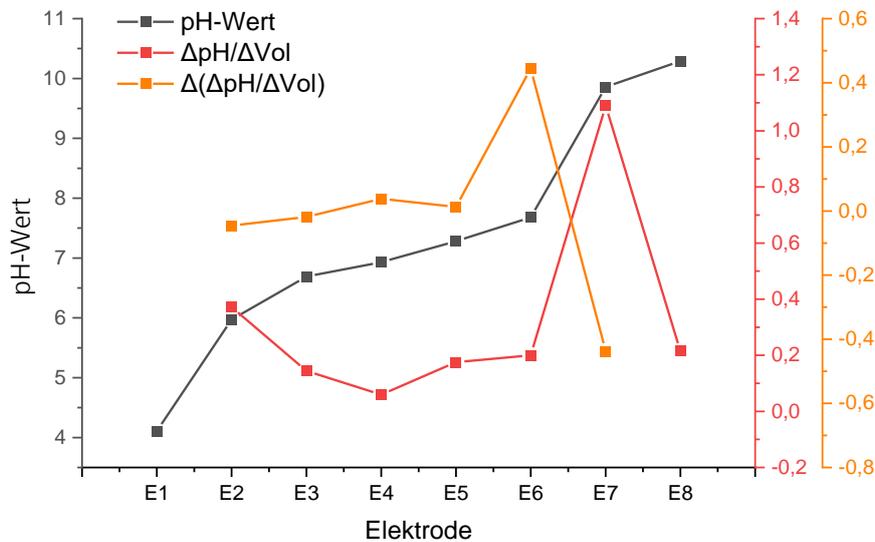
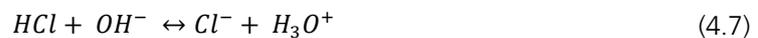


Abbildung 4. 19: Im Diagramm sind die Titrationskurve sowie die 1. und 2. Ableitung der gemittelten pH-Werte der Titration **10 $\mu\text{l}/\text{min}$ 0,02M MES** mit 0,01M NaOH abgebildet.

4.3.2 Chipbasierte Durchflusstitation einer starken Säure mit einer starken Base

Für die Bestimmung der Titrationskurve einer starken Säure und einer starken Base wurde 50 μl einer 0,001M HCl mit 0,001M NaOH titriert. Zunächst wird wieder die Reaktion zwischen Analyt und Titrant formuliert:



Die Gleichgewichtskonstante der Reaktion ist $1/K_w = 10^{14}$, die Reaktion läuft vollständig ab. Jede zugesetzte Menge an H^+ verbraucht eine stöchiometrische Menge an OH^- . Die Berechnung der theoretischen pH-Werte für die Titrationskurven wird in Kapitel 3.6.1 *Chipbasierte Durchflusstitation* beschrieben. Für die Evaluierung der Titration einer starken Säure wurden geringe Konzentrationen der Säure und Base im Bereich 10^{-3} M gewählt, damit die pH-Werte der Titrationskurve innerhalb des Arbeitsbereichs der H^+ -selektiven Elektroden liegen (pH 4 bis pH 11).

Ergebnisse

Die Probe mit 0,001M der starken Säure HCl wurde mit 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ im mikrofluidischen Chip vorgelegt und die Titration mit 0,001M NaOH dreimal durchgeführt. Tabelle 4.26 fasst die gemittelten Elektrodenpotentiale gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. und die daraus ermittelten pH-Wert der Titration 1 bis 3 zusammen.

Tabelle 4.26: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ einer 0,001M HCl Probelösung mit 0,001M NaOH.

Elektrode	Titration Nr. 1		Titration Nr. 2		Titration Nr. 3		Theor.
	Potential	Exp.	Potential	Exp.	Potential	Exp.	
	[mV]	pH-Wert	[mV]	pH-Wert	[mV]	pH-Wert	
1	192,4	5,34	195,2	5,28	191,1	5,36	3,00
2	201,7	4,99	205,6	4,91	203,4	4,95	3,81
3	167,1	5,06	165,8	5,08	162,3	5,16	3,98
4	177,0	4,84	179,4	4,79	178,9	4,80	4,21
5	145,5	5,00	148,2	4,95	148,9	4,93	4,56
6	107,4	5,73	104,0	5,81	109,9	5,68	7,00
7	-43,9	9,43	-47,2	9,50	-48,9	9,53	9,68
8	-3,5	10,13	-8,3	10,24	-7,8	10,23	9,96

In Abbildung 4.20 sind der zeitlichen Verlauf einer Titration der starken Säure HCl (rechte Seite) und die Titrationskurven der theoretisch berechneten und experimentell ermittelten pH-Werte (linke Seite) dargestellt. Repräsentativ für alle Titrationsversuche werden die Ergebnisse der Titration Nr. 2 im Detail betrachtet.

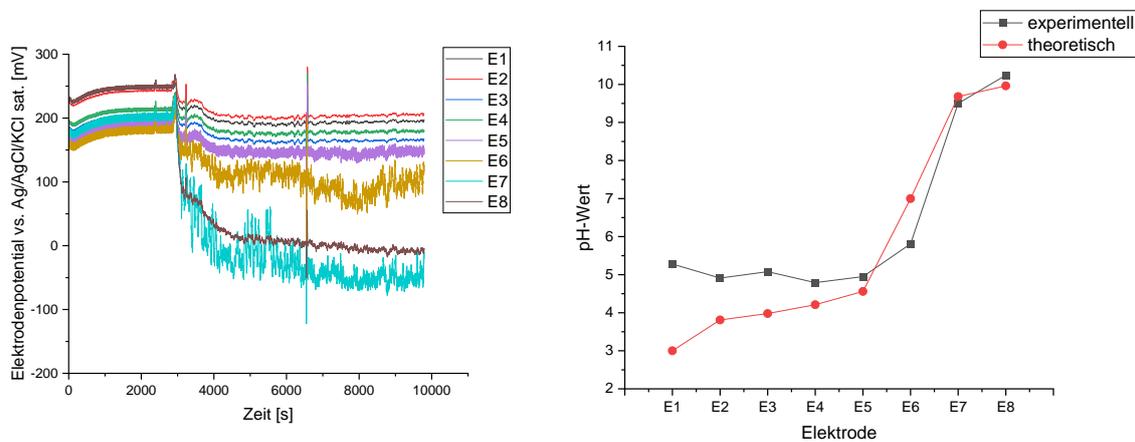


Abbildung 4. 20: Linke Seite: Zeitlicher Verlauf der Potentialmessung an Elektrode E1 bis E8 gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. während der Titration von 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ der starken Säure HCl mit NaOH. Rechte Seite: Titrationskurven des experimentell ermittelten pH-Wertes (schwarzes Linien-Diagramm) im Vergleich zu den theoretisch berechneten pH-Werten (rotes Linien-Diagramm).

Statistische Auswertung und Diskussion der Ergebnisse

Wie schon bei der Titration der schwachen Säure zu beobachten war, wird die Streuung des Messwertes breiter, je weiter sich der pH-Wert dem Äquivalenzpunkt der Säure-Base-Reaktion nähert. In Tabelle 4.27 ist die Zunahme der Standardabweichung an Elektrode E5, E6 und E7 ersichtlich. Die Auswertung der Standardabweichung zeigt ein größeres Signalrauschen im Umschlagsbereich um den Äquivalenzpunkt pH 7. Durch Auswertung des Vertrauensintervalls bei einem Vertrauensniveau von 95% wird die Richtigkeit des ermittelten Potentials bewiesen. Der Vertrauensbereich der Elektrode E7 mit dem größten Rauschsignal liegt zwischen 102,3 mV und 105,7 mV. In diesem Bereich liegt der gemittelte Messwert von 104,0. Es liegt keine signifikante Abweichung vor.

Tabelle 4.27: Überblick über die Ergebnisse der Potentialmessung während Titration Nr. 2. Dargestellt sind die gemittelten Potentiale \bar{x} , Standardabweichung s , Intervall der Standardabweichung und Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95%.

Elektrode	Potential Mittelwert \bar{x}	Standard- Abweichung s	$\bar{x} - 1s$	$\bar{x} + 1s$	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]	[mV]
E1	195,2	1,0	194,2	196,2	195,1	195,3
E2	205,6	0,5	205,1	206,1	205,5	205,7
E3	165,8	1,0	164,8	166,8	165,7	165,9
E4	179,4	1,2	178,2	180,6	179,2	179,6
E5	148,2	5,3	142,9	153,5	147,5	148,9
E6	104,0	12,0	92,0	116,0	102,3	105,7
E7	-47,2	11,1	-58,3	-36,1	-48,7	-45,7
E8	-8,3	2,5	-10,8	-5,8	-8,6	-8,0

Das Rauschverhalten der Elektroden in Umgebung des Äquivalenzpunktes stützt die Annahme, dass durch Umsetzung der Protonen die Ionenstärke und damit die Leitfähigkeit des Elektrolyten reduziert wird. Das Signalrauschen wird verstärkt durch einen erhöhten Elektrolytwiderstand zwischen Messelektrode und Referenzelektrode. In Tabelle 4.28 sind die gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsversuchen inkl. Standardabweichung und Fehlerberechnung zusammengefasst. Auffällig sind die großen Abweichungen zwischen theoretischen und experimentellen pH-Wert im unteren pH-Bereich zwischen pH 3 und pH 4 an Elektrode E1 bis E4. Die Abweichung ist sehr gut erkennbar im Vergleich der Titrationskurven in Abbildung 4.21.

Tabelle 4.28: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsen einer starken Säure mit einer starken Base im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung s , absoluter Fehler f_{abs} und relativer Fehler f_{rel} in %.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x})	Standard- Abweichung s	Absoluter Fehler f_{abs}	Relativer Fehler f_{rel} [%]
E1	3,00	5,33	0,03	2,33	77,7
E2	3,81	4,95	0,03	1,14	29,9
E3	3,98	5,10	0,04	1,12	28,1
E4	4,21	4,81	0,02	0,6	14,3
E5	4,56	4,96	0,03	0,4	8,8
E6	7,00	5,74	0,05	1,26	18
E7	9,68	9,49	0,04	0,19	2,0
E8	9,96	10,20	0,05	0,24	2,4

Die Abweichung zwischen den pH-Werten im unteren pH-Bereich kann darauf zurückzuführen sein, dass die H⁺-selektiven Membranelektroden außerhalb bzw. an der obersten Grenze ihres Arbeitsbereiches messen. Der lineare Arbeitsbereich der Elektroden beginnt zwischen pH 4 und pH 5. Im Bereich niedriger pH-Werte weichen die Elektroden von einem linearen Ansprechverhalten ab, die Bestimmung des pH-Wertes ist nicht proportional zum Elektrodenpotential, wodurch ein hoher Fehler bei der Berechnung der pH-Werte entsteht.

Weiterhin weicht der Messwert an Elektrode E1 stark von dem theoretischen Messwert ab. An der Elektrode E1 wird der pH-Wert der Säure 0,001M HCl bestimmt. Während der Zugabe des Titranten NaOH sollte das Potential konstant bleiben, da an Elektrode E1 keine Zugabe der Base stattfindet. Allerdings zeigen die Titrationsversuche, dass auch an Elektrode E1 das Potential abnimmt und der pH-Wert sich in einen höheren Bereich bewegt. Diese Beobachtung findet ausschließlich bei der Titration von HCl mit NaOH statt, daher können Ursachen, wie eine rückläufige Strömung der Base in Richtung Elektrode E1 ausgeschlossen werden.

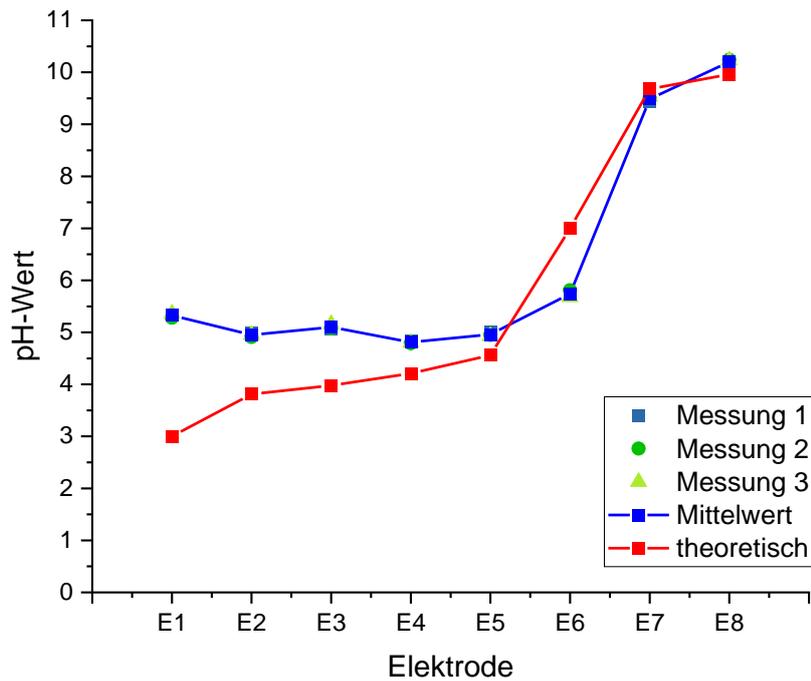


Abbildung 4. 21: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte (blaues Linien-Diagramm) der Titration einer starken Säure. Zusätzlich sind die Werte der einzelnen Messungen als Punktdiagramm aufgetragen. Die Fehlerbalken der gemittelten pH-Werte sind verschwindend gering, sodass sie in dem Diagramm nicht erkennbar sind.

Die Berechnung des Vertrauensintervalls aus drei Titrationsversuchen einer starken Säure zeigt, dass ein signifikanter Unterschied zwischen theoretischen und experimentellen pH-Werten an allen Elektroden vorliegt. Mit Ausnahme der Elektroden E6 und E7 liegen die theoretischen pH-Werte unterhalb des Vertrauensintervalls der pH-Werte aus den Titrationsversuchen (siehe Tabelle 4.29). Für Elektroden E1 bis E3 sind die Abweichungen nicht auf einen zufälligen Fehler zurückzuführen, sondern auf den limitierten Arbeitsbereich der Elektroden. Der untersuchte pH-Bereich liegt außerhalb des linearen Arbeitsbereichs H^+ -selektiver Elektroden, daher kann der pH-Wert nicht präzise ermittelt werden. Die Auswertung der Reproduzierbarkeit zeigt, dass die Elektroden reproduzierbare Messwerte liefern. Die Reproduzierbarkeit des Systems ist gegeben.

Tabelle 4.29: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vertrauensintervalls mit einem Vertrauensniveau von 95% für die Titrationsversuche einer starken Säure HCl mit einer starken Base NaOH und Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zur Auswertung der Reproduzierbarkeit der Titrationsversuche.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	pH (Mittelwert \bar{x} und Standardabweichung s)	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
E1	3,00	5,33 ± 0,03	5,24	5,41	5,26	5,39
E2	3,81	4,95 ± 0,03	4,87	5,03	4,88	5,02
E3	3,98	5,10 ± 0,04	4,99	5,21	5,01	5,19
E4	4,21	4,81 ± 0,02	4,76	4,86	4,77	4,85
E5	4,56	4,96 ± 0,03	4,89	5,03	4,90	5,02
E6	7,00	5,74 ± 0,05	5,61	5,87	5,63	5,85
E7	9,68	9,49 ± 0,04	9,38	9,59	9,40	9,57
E8	9,96	10,20 ± 0,05	10,08	10,32	10,10	10,30

Auswertung der chipbasierten Durchflusstitation

Die Erstellung der 1. und 2. Ableitung aus der Titrationskurve der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsversuchen zeigt für die erste Ableitung ein Maximum an Elektrode E7. Der Nullpunkt der zweiten Ableitung liegt zwischen Elektrode E6 und E7. Die Ergebnisse der 1. und 2. Ableitung sind in Tabelle 4.30 zusammengefasst. Für die Auswertung der „unbekannten“ Konzentration der Säure wird das Maximum der ersten Ableitung herangezogen und die Berechnung nach Gl. 3.15 durchgeführt:

$$c_{\text{Säure}} = c_{\text{Base}} * \frac{V_{\text{Base}}}{V_{\text{Säure}}} = 0,001M * \frac{22\mu\text{l}/\text{min}}{20\mu\text{l}/\text{min}} = 0,0011M \quad (4.9)$$

Die korrekte Konzentration der Säure liegt bei 0,001M. Mit Hilfe der chipbasierten Durchflusstitation wurde demnach ein falscher Wert bestimmt.

Tabelle 4.30: Zusammenfassung der gemittelten pH-Werte aus den Titrationsversuchen einer starken Säure und Base inkl. den Ergebnissen der 1. Ableitung $\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen}$ und 2. Ableitung $\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen})$.

Elektrode	pH (Mittelwert \bar{x})	Zugabe Volumen NaOH [$\mu\text{l}/\text{min}$]	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen}$	$\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen})$
E1	5,33	0		
E2	4,95	12	-0,032	0,015
E3	5,10	14	0,075	-0,110
E4	4,81	16	-0,145	0,110
E5	4,96	18	0,075	0,158
E6	5,74	20	0,390	0,743
E7	9,49	22	1,875	-0,760
E8	10,20	24	0,355	

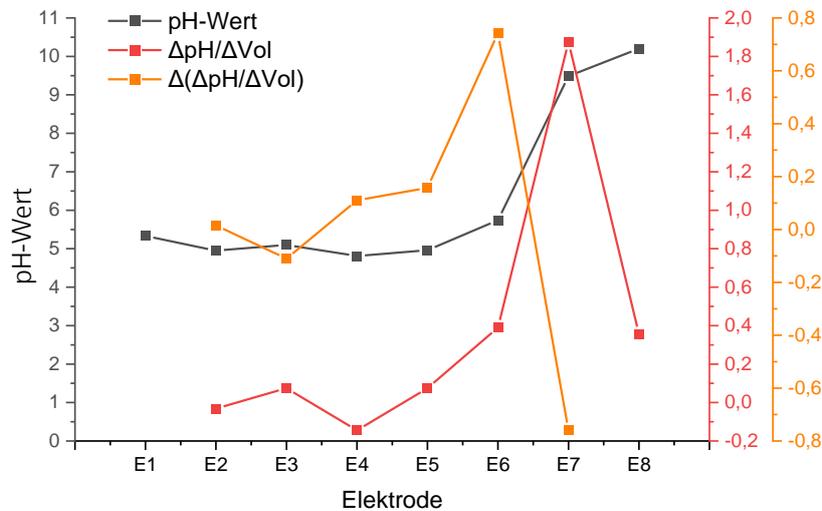


Abbildung 4. 22: Im Diagramm sind die Titrationskurve sowie die 1. und 2. Ableitung der gemittelten pH-Werte der Titration 0,001M HCl mit 0,001M NaOH abgebildet.

Die Bestimmung einer falschen Konzentration durch die Durchflusstitation ist aufgrund der signifikanten Unterschiede zwischen theoretischen und experimentellen pH-Werten nachvollziehbar. Es wird angenommen, dass die theoretischen pH-Werte tatsächlich während der Durchflusstitation im Chip vorliegen und ein korrekter Richtwert sind. Diese Annahme wird durch die Bestimmung des Titers des Titranten NaOH mittels diskontinuierlicher Titration überprüft. Für die Durchflusstitation wurden Stammlösungen aus 0,1M HCl und 0,1M NaOH auf 10^{-3} molare Lösungen verdünnt. Durch ungenaues Pipettieren kann es hier zu einem systematischen Fehler kommen.

Für die Bestimmung der tatsächlichen Konzentration der 0,001M NaOH Lösung werden 50 ml 0,001M HCl im Becherglas vorgelegt und der pH-Wert mittels pH-Meter der Fa. Methrom gemessen. Die diskontinuierliche „Becherglas“-Titration mit 0,001M NaOH ergibt einen Titer von 0,862. Dieser wird als Faktor mit in die Berechnung der Konzentration der Säure mit einbezogen:

$$c_{\text{Säure}} = c_{\text{Base}} * \frac{V_{\text{Base}}}{V_{\text{Säure}}} = 0,001\text{M} * 0,862 * \frac{22\mu\text{l}/\text{min}}{20\mu\text{l}/\text{min}} = 0,00095\text{M} \quad (4.10)$$

Das Ergebnis nähert sich dem korrekten Wert an. Für die Bestimmung des Titers von 0,001M NaOH wurde angenommen, dass die Konzentration der Säure HCl bei 0,001M liegt. Diese Lösung entspricht auch einer Verdünnung einer 0,1M HCl Lösung, daher ist es sehr wahrscheinlich, dass hier eine weitere Fehlerquelle vorliegt und der wahre Wert der Konzentration der HCl Lösung nicht 0,001M ist.

Erhöhung der Ionenstärke

In der Auswertung der Säure-Base Titration zeigt sich ein starkes Signalrauschen im Bereich des Äquivalenzpunktes, wodurch eine Messunsicherheit in diesem pH-Bereich besteht. Ursache des erhöhten Rauschverhaltens liegt in der geringeren Leitfähigkeit der elektrolytischen Lösung aufgrund der reduzierten Ionenstärke um den Äquivalenzpunkt, da Protonen vollständig durch Zugabe der Base umgesetzt werden. Die Messwerte von drei Titrationsversuchen mit Hintergrundelektrolyt sind in Tabelle 4.31 zusammengefasst.

Tabelle 4.31: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 20 µl/min einer 0,001M HCl + 0,01M KCl Probelösung mit 0,001M NaOH.

Elektrode	Titration Nr. 1		Titration Nr. 2		Titration Nr. 3		Theor.
	Potential	Exp.	Potential	Exp.	Potential	Exp.	
	[mV]	pH-Wert	[mV]	pH-Wert	[mV]	pH-Wert	
1	195,9	2,90	194,1	2,95	194,0	2,95	3,00
2	205,0	2,89	203,6	2,93	203,4	2,93	3,81
3	149,9	2,95	148,8	2,98	147,7	3,01	3,98
4	168,7	3,10	168,0	3,12	167,1	3,14	4,21
5	137,9	3,25	137,3	3,27	136,4	3,29	4,56
6	90,7	4,10	92,3	4,05	81,3	4,34	7,00
7	-40,9	7,94	-22,5	7,49	-60,1	8,41	9,68
8	-9,9	8,64	-2,1	8,44	21,3	8,93	9,96

Um die Leitfähigkeit des Elektrolyten zu erhöhen und eine Verbesserung des Rauschverhaltens zu erzielen, wurde der Säure als Hintergrundelektrolyt 0,01M KCl zugegeben. Kaliumchlorid ist ein chemisch inertes Salz, welches keine Wechselwirkungen mit der Säure oder Base eingeht. In Tabelle 4.32 ist die Ionenstärke der Säure-Base Titration angegeben, wobei der Salzsäurelösung HCl einmal 0,01M KCl als Hintergrundelektrolyt zugegeben wurde.

Tabelle 4.32: Überblick über die Ionenstärke der Salzsäure während der Säure-Base-Titration. Verglichen werden die Ionenstärken mit und ohne 0,01M KCl Hintergrundelektrolyt.

Elektrode	Theoretischer pH-Wert	Ionenstärke I	
		HCl ohne Zusatz 0,01M KCl	HCl mit Zusatz 0,01M KCl
E1	3,00	$1,00 \cdot 10^{-3}$	$1,10 \cdot 10^{-2}$
E2	3,81	$5,78 \cdot 10^{-4}$	$6,83 \cdot 10^{-3}$
E3	3,98	$5,52 \cdot 10^{-4}$	$6,43 \cdot 10^{-3}$
E4	4,21	$5,31 \cdot 10^{-4}$	$6,09 \cdot 10^{-3}$
E5	4,56	$5,14 \cdot 10^{-4}$	$5,78 \cdot 10^{-3}$
E6	7,00	$5,00 \cdot 10^{-4}$	$5,50 \cdot 10^{-3}$
E7	9,68	$5,48 \cdot 10^{-4}$	$5,31 \cdot 10^{-3}$
E8	9,96	$5,91 \cdot 10^{-4}$	$5,14 \cdot 10^{-3}$

Das Signalrauschen des Elektrodenpotentials ist definiert als Streuung der Werte um einen Mittelwert und wird über die Standardabweichung s beschrieben. In Tabelle 4.33 sind die Standardabweichungen der Titration einer HCl Lösung mit und ohne Hintergrundelektrolyt gegenübergestellt. Die Standardabweichung und somit das Signalrauschen wird durch Zugabe von 0,01M KCl im Bereich des Äquivalenzpunktes pH 7 an Elektrode E5 bis E7 reduziert. Durch Zugabe des Elektrolyten erhöht sich die Ionenstärke und damit die Leitfähigkeit der Messlösung, da der elektrolytische Widerstand zwischen ISE und Referenzelektrode reduziert wird. Nach der ersten Zugabe des Titranten wird die Messlösung verdünnt, sodass die Ionenstärke mit Hintergrundelektrolyt von $1,10 \cdot 10^{-2}$ auf $6,83 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ reduziert wird. Die Ionenstärke nimmt im Verlauf der Titration bis $5,14 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ zu. Durch die Änderung der Ionenstärke ändert sich der Aktivitätskoeffizient, wodurch ein systematischer Fehler in die Messung eingebracht wird. Für die Messlösung ohne zusätzlichen Hintergrundelektrolyt ist dies ebenfalls zu beobachten: Nach der ersten Zugabe des Titranten reduziert sich die Ionenstärke von $1,00 \cdot 10^{-3}$ auf $5,78 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ und bleibt im Verlauf der Konzentration konstant.

Tabelle 4.33: Vergleich der Potentiale und Standardabweichungen (Signalrauschen) zwischen einer 0,001M HCl mit und ohne zusätzlichen 0,01M KCl Hintergrundelektrolyt. Zusätzlich wird die Steilheit der Elektrode S verglichen.

Elektrode	HCl ohne Zusatz 0,01M KCl		HCl mit Zusatz 0,01M KCl		HCl ohne Zusatz 0,01M KCl	HCl mit Zusatz 0,01M KCl
	Potential Mittelwert \bar{x}	Standard-Abweichung s	Potential Mittelwert \bar{x}	Standard-Abweichung s	Elektrodensteilheit S	
	[mV]		[mV]		[mV/pH-Wert]	
E1	195,2	1,0	194,0	0,7	-47,4	-38,8
E2	205,6	0,5	203,4	0,9	-48,5	-40,0
E3	165,8	1,0	147,7	1,0	-46,0	-37,8
E4	179,4	1,2	167,1	2,1	-45,4	-39,1
E5	148,2	5,3	136,4	4,0	-45,8	-39,5
E6	104,0	12,0	81,3	9,0	-44,3	-38,4
E7	-47,2	11,1	-60,1	6,5	-46,5	-40,6
E8	-8,3	2,5	21,3	2,4	-42,3	-38,5

In Tabelle 4.34 werden die gemittelten pH-Werte und der relative Fehler aus drei Titrationsversuchen mit und ohne Hintergrundelektrolyt verglichen. Bei Titration einer HCl Lösung mit Zusatz von KCl fällt der relative Fehler des ermittelten pH-Wertes deutlich größer aus als bei Titration einer HCl Lösung ohne Zusatz von KCl. Auffällig ist, dass der pH-Wert der Säure an Elektrode E1 während der Titration stabil bleibt.

Tabelle 4.34: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsen einer starken Säure + 0,01M KCl Hintergrundelektrolyt mit einer starken Base im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung s und relativer Fehler f_{rel} in %.

Messpunkt (Elektrode)	pH (theoretisch)	HCl ohne Hintergrundelektrolyt		HCl + 0,01M KCl	
		pH (Mittelwert \bar{x} und Standardabw. s)	Relativer Fehler f_{rel} [%]	pH (Mittelwert \bar{x} und Standardabw. s)	Relativer Fehler f_{rel} [%]
E1	3,00	5,33 ± 0,03	77,7	2,93 ± 0,02	2,3
E2	3,81	4,95 ± 0,03	29,9	2,92 ± 0,02	23,4
E3	3,98	5,10 ± 0,04	28,1	2,98 ± 0,02	25,1
E4	4,21	4,81 ± 0,02	14,3	3,12 ± 0,02	25,9
E5	4,56	4,96 ± 0,03	8,8	3,27 ± 0,02	28,3
E6	7,00	5,74 ± 0,05	18	4,16 ± 0,13	40,6
E7	9,68	9,49 ± 0,04	2,0	7,95 ± 0,38	17,9
E8	9,96	10,20 ± 0,05	2,4	8,67 ± 0,20	13,0

In Abbildung 4.23 werden die Titrationskurven der Säure mit und ohne Zusatz von KCl mit der theoretischen Titrationskurve verglichen. Wie die Titrationskurve ohne Zusatz zeigt auch die Titrationskurve mit Zusatz eine signifikante Abweichung zu den theoretischen pH-Werten. Allerdings liegen die theoretischen pH-Werte oberhalb der experimentellen Werte. Die Zugabe eines Hintergrundelektrolyten zur Salzsäurelösung hat einen positiven Effekt auf das Signalrauschen: Die Streuung der Messwerte um den Mittelwert konnte im Bereich des Äquivalenzpunktes pH 7 an Elektrode E6 reduziert werden. Somit werden die Messungen des pH-Wertes präziser. Allerdings zeigt die Auswertung des relativen Fehlers, dass die pH-Werte weiter von den theoretischen pH-Werten abweichen als bei einer Titration ohne Hintergrundelektrolyt. Dies könnte im Zusammenhang mit einer reduzierten Empfindlichkeit der Elektroden stehen. In Tabelle 4.33 sind die Elektrodensteilheit mit und ohne Hintergrundelektrolyt dargestellt. Es wird beobachtet, dass sich die Empfindlichkeit der Elektroden in Anwesenheit eines Hintergrundelektrolyten KCl reduziert, wodurch experimentelle und systematische Fehler einen größeren Einfluss auf die Stabilität der Messung nehmen. Die verringerte Empfindlichkeit könnte auf einen störenden Einfluss von K^+ und Cl^- auf das Donnan-Potential an den Nachweisgrenzen des linearen Arbeitsbereiches zurückzuführen sein.

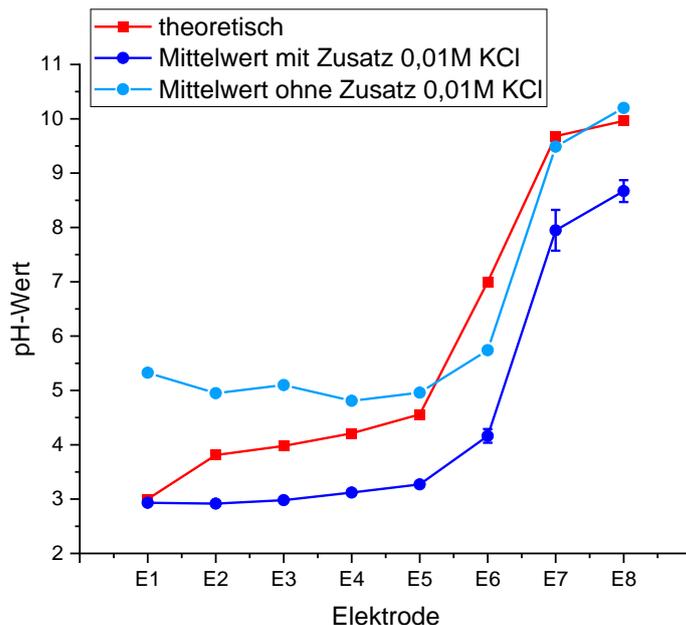


Abbildung 4.23: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte mit **Hintergrundelektrolyt 0,01M KCl** (hellblaues Linien-Diagramm) und ohne Hintergrundelektrolyt (blaues Linien-Diagramm).

Die Titrationskurve der pH-Wert Ermittlung mit einem Hintergrundelektrolyten 0,01M KCl in Abbildung 4.23 zeigt, dass der pH-Wert der Säure vor der ersten Zugabe des Titranten NaOH ohne eine signifikante Abweichung vom theoretischen pH-Wert an Elektrode E1 ermittelt werden konnte. Ab Zugabe des Titranten NaOH an Elektrode E2 weicht der gemessene pH-Wert signifikant vom theoretischen Wert ab. Der Verlauf der Titrationskurve zeigt, dass durch die Zudosierung des Titranten ein systematischer Fehler in die Messung eingebracht wird. Die Annahme liegt nahe, dass dieser Fehler dadurch entsteht, dass die Strecke des Mikromischers für die Reaktionsgeschwindigkeit der Säure-Base-Reaktion zu kurz ausgelegt ist. Dadurch hat sich der pH-Wert bei Erreichen der Elektrode noch nicht eingestellt und es wird kontinuierlich über den Verlauf der Titration ein zu geringer pH-Wert gemessen. Für diese Annahme wird die Protonenübertragung während der Reaktion zwischen einer starken Säure und einer starken Base betrachtet. Eigen et al. haben eine Geschwindigkeitskonstante k der Protonenübertragungsreaktion von $1,4 \cdot 10^{11} \text{ M s}^{-1}$ ermittelt [26]. Nach Gleichung 4.11 ergibt sich für die Protonenübertragungsfunktion eine sehr kurze Halbwertszeit im Bereich von 10^{-12} s . Die Halbwertszeit ist umgekehrt proportional zur Geschwindigkeitskonstante (Gl. 4.11), d.h. je größer k ist, desto geringer ist $t(50)$ [33].

$$t(50) = \ln 2 / k \quad (4.11)$$

Bei einer Durchflussrate von $32 \mu\text{l}/\text{min}$ fließt die Strömung innerhalb von $2,66 \text{ s}$ durch die Mischstrecke von $\sim 22,6 \text{ mm}$. Aufgrund der geringen Halbwertszeit $t(50)$ ist anzunehmen, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der Protonenübertragung sich im Bereich von $< 1 \text{ s}$ befindet. Die mathematische Beziehung zwischen Geschwindigkeitskonstante k und Reaktionsgeschwindigkeit für eine Reaktion 1. Ordnung wird in Gl. 4.12 dargestellt [33].

$$\frac{dc_i}{dt} = -k * c_i \quad (4.12)$$

Reaktionen der Protonenübertragung laufen im μs bis ns Bereich ab. Der entsprechende Anteil an H^+ Ionen wurde nach Zugabe von OH^- vor Passieren der pH-Elektrode nach theoretischer Abschätzung der Reaktionsgeschwindigkeit vollständig umgesetzt. Die Zeit, um die entsprechende Menge an H^+ umzusetzen, ist innerhalb der Mischstrecke gegeben.

4.3.3 Fazit der chipbasierten Durchflusstitation

- **Präzision der Messwerte**

Je weiter sich der pH-Wert der Säure-Base-Titration dem Äquivalenzpunkt nähert, desto größer fällt das Rauschen des Elektrodenpotentials aus. Aufgrund der breiten Streuung wird die Bestimmung des Messwertes unpräzise. Das Signalauschen liegt bei der Titration von 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ einer schwachen Säure um $\pm 31,0$ mV am Äquivalenzpunkt pH 9,25 bzw. bei der Titration von 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ einer schwachen Säure um $\pm 18,4$ mV. Besonders gut ist der Anstieg des Signalauschens während der Titration einer starken Säure mit einer starken Base zu beobachten. Hier liegt die Streuung der Messwerte um einen Mittelpunkt bei pH 7 im Bereich ± 12 mV.

- **Richtigkeit der ermittelten pH-Werte**

Die statistische Auswertung des Vertrauensintervalls bei einem Vertrauensniveau von 95% ergab, dass bei der Titration einer schwachen Säure mit einer starken Base einzelne Elektroden signifikant abweichen. Die Unterschiede sind jedoch sehr gering, so liegt der maximale relative Fehler bei 6,7% für Elektrode E3. Die statistische Sicherheit könnte durch weitere Versuchsreihen unterstützt werden.

Dagegen zeigen die experimentell bestimmten pH-Werte der Titration einer starken Säure mit einer starken Base signifikante Unterschiede zum theoretischen Wert und einen großen relativen Fehler im unteren pH-Bereich der Titrationskurve. Die statistisch signifikante Abweichung ist auf systematische Fehlerursachen zurückzuführen, wie z.B. die Titration in einem pH-Bereich außerhalb des linearen Arbeitsbereiches der Elektroden und Fehler bei der Herstellung und Verdünnung der Probe- und Maßlösung.

- **Reproduzierbarkeit der ermittelten pH-Werte**

Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit der Messwerte wurde das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ um den gemittelten pH-Wert der Titrationsversuche gebildet. Alle experimentellen pH-Werte der Titration einer schwachen und einer starken Säure liegen innerhalb des Intervalls von 95% der Messwerte und sind daher reproduzierbar.

- **Grenzen der chipbasierten Durchflusstitation**

Die chipbasierte Durchflusstitation einer schwachen Säure MES mit einer starken Base NaOH zeigt eine präzise, richtige und reproduzierbare Bestimmung der pH-Werte mittels mikrofluidischer Sensorplattform. Der mikrofluidische Chip und die H^+ -selektiven Membranelektroden sind für diese Säure-Base-Titration geeignet.

Die chipbasierte Durchflusstitation einer starken Säure HCl mit einer starken Base NaOH zeigt zwar eine reproduzierbare Bestimmung der pH-Werte, allerdings zeigen die ermittelten pH-Werte eine signifikante Abweichung von den theoretischen Werten und einen großen relativen Fehler. Zu Beginn der Titration liegen die pH-Werte außerhalb des linearen Arbeitsbereiches bzw. an der oberen Nachweisgrenze der H^+ -selektiven Elektroden. Für eine Bestimmung der richtigen pH-Werte muss gewährleistet sein, dass die H^+ Konzentration der Titration im linearen Arbeitsbereich der Sensoren liegt. Hinsichtlich der Auslegung der mikrofluidischen Kanäle des Chips konnte die Abweichung der pH-Werte aufgrund einer zu kurzen Strecke für die Einstellung des pH-Wertes durch Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeit der Säure-Base-Reaktion widerlegt werden. Die Evaluierung der Mikromischer in Kapitel 4.1 Untersuchung passiver 3D *Split-and-Recombine* Mikromischer hat gezeigt, dass die Mischstrecke für eine effektive Mischung von zwei Pufferlösungen bei geringen Re-Zahlen ausreichend ist. Es liegt nahe, dass die Reaktion der Protonenübertragung innerhalb der Mischstrecke stattfindet, da die Übertragungsreaktion im Bereich < 1 s liegt. Zu beachten ist der limitierende Einfluss des Diffusionskoeffizienten, welcher für Protonen im wässrigen Medium bei $5,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ liegt.

4.4 Chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem mit ionenselektiven Elektroden

Eine mikrofluidischen Sensorplattform für die chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem wurde am Fraunhofer IMM entwickelt und aufgebaut. Für die Untersuchung und Charakterisierung des mikrofluidischen Chips wurden Fluorid-selektive PVC-Flüssigmembranelektroden hergestellt und in das System integriert. Ziel ist es, die unbekannte Konzentration der Fluoridionen in einer Natriumfluoridlösung und in einer Listerine® Mundspülung der Fa. Johnson & Johnson GmbH mittels Standardadditionsverfahren zu bestimmen. Abbildung 3.15 zeigt das Schema des Standardadditionschips und die Nummerierung der Elektroden entlang der Fließrichtung. Die Reihenfolge der Elektroden gilt für alle durchgeführten Versuche. Die Elektrode E3 wurde als H⁺-selektive PVC-Membranelektrode aufgebaut, um den pH-Wert der Lösungen zu überwachen. Da der pH-Wert der Lösung konstant auf 5,5 eingestellt wurde, wird Elektrode E3 für die Darstellung der Ergebnisse und Diskussion vernachlässigt.

Wie schon für die chipbasierte Säure-Base-Titration ergeben sich Anforderungen an das mikrofluidische Gesamtsystem, um eine valide Methode zur quantitativen Analyse der Ionenkonzentration mittels Mikrochip zu gewährleisten. Dazu gehören eine zuverlässige Dosierung der Probe- und Standardlösungen mit konstantem Volumenstrom und geringer Pulsation, eine vollständige Durchmischung der Lösungen im Chip durch passive Mikromischer und eine reproduzierbare, präzise und richtige Messung der Ionenkonzentration durch ionenselektive Elektroden. Folgend werden die Ergebnisse der chipbasierten Standardaddition einer NaF-Lösung und einer Realprobe statistisch evaluiert und eingeordnet, ob das Design der mikrofluidischen Sensorplattform valide Ergebnisse des Standardadditionsverfahren wiedergibt.

4.4.1 Ermittlung des Fluoridgehalts in einer MES-Pufferlösung

Für die Bestimmung des Fluoridgehalts in einer wässrigen Pufferlösung wurden $2,50 \cdot 10^{-2}$ M NaF in 0,5M MES-Pufferlösung mit pH 5,5 gelöst. Die Standardlösung enthielt $1,00 \cdot 10^{-2}$ M NaF in 0,5M MES-Pufferlösung mit pH 5,5. Die Durchflussraten für Probe- und Standardlösung betrug 10 μ l/min. Die Versuchsdurchführung wird in Kapitel 3.6.1 *Chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem* beschrieben.

Ergebnisse

In Tabelle 4.35 werden die Ergebnisse der gemittelten Elektrodenpotentiale der Elektroden E2, E5, E4 und E1, sowie die über Standardaddition ermittelte Fluoridkonzentration der Probelösung zusammengefasst. Die Standardaddition wurde insgesamt dreimal durchgeführt (Messung Nr. 1 bis Nr. 3). Der zeitliche Verlauf des Elektrodenpotentials während der Probenmessung und der simultanen Zugabe des Standards wird für Messung Nr. 1 in Abbildung 4.24 auf der linken Seite gezeigt. Die dazugehörige Standardadditionsgerade wird auf der rechten Seite der Abbildung dargestellt.

Tabelle 4.35: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale in mV der Elektroden E2, E5, E4 und E1 für Messung Nr.1 bis Nr. 3 und die über Standardadditionsverfahren ermittelte Fluoridkonzentration einer **NaF-Lösung in MES-Puffer**.

Elektrode	Messung Nr. 1		Messung Nr. 2		Messung Nr. 3		Theorie
	Potential [mV]	[F] [mol/L]	Potential [mV]	[F] [mol/L]	Potential [mV]	[F] [mol/L]	[F] [mol/L]
E2	120,4	$1,81 \cdot 10^{-2}$	137,6	$2,74 \cdot 10^{-2}$	144,1	$2,54 \cdot 10^{-2}$	$2,50 \cdot 10^{-2}$
E5	94,8		121,7		125,9		
E4	118,5		154,0		157,1		
E1	95,3		133,6		135,7		

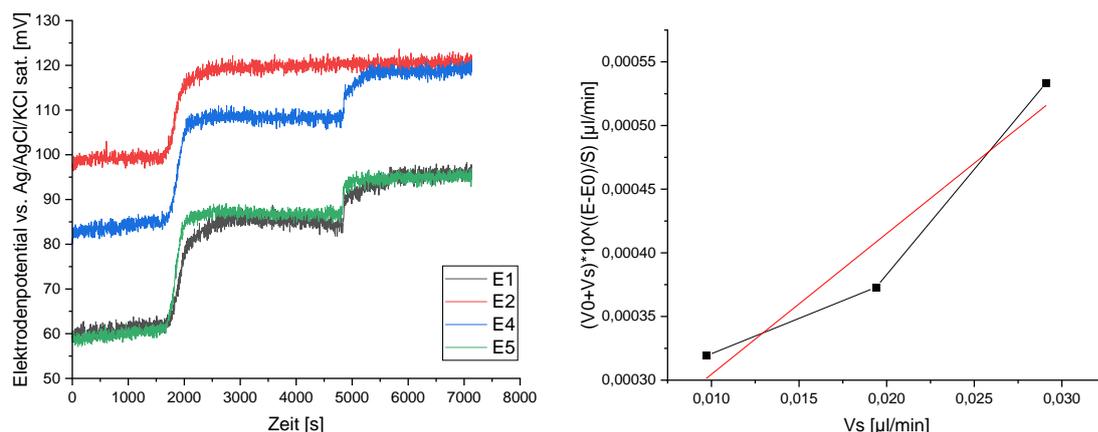


Abbildung 4.24: Auf der linken Seite ist der zeitliche Verlauf des Elektrodenpotentials vs. Ag/AgCl-Referenzelektrode der Messung Nr. 1 einer NaF-Lösung dargestellt. Das Potential wurde über Erstellung der Standardadditionsgeraden auf der linken Seite der Abbildung ausgewertet.

Statistische Auswertung und Diskussion

Für die Auswertung der Präzision der Messwerte werden Elektrodensteilheit S und die Standardabweichung der gemittelten Elektrodenpotentiale (Gl. 2.32 und Abb. 2.14) betrachtet. Die in Tabelle 4.36 vorgestellten Werte wurden in Messung Nr. 1 ermittelt und sind für alle Standardadditionsversuche mit gelöstem NaF in MES-Puffer repräsentativ. Die Empfindlichkeit der Sensoren wird über die Elektrodensteilheit definiert. Die Werte zeigen eine gute Empfindlichkeit der Sensoren gegenüber einem Konzentrationswechsel der Fluoridionen im Medium. Die Standardabweichung s beschreibt die Streuung der Messwerte um den gemittelten Wert und wird für die Auswertung des Signalrauschens herangezogen. Die Streuung der Messwerte beträgt maximal ± 1 mV, d.h. die Messwerte unterliegen einer schmalen Verteilung und einem geringen Rauschen.

Tabelle 4.36: Zusammenfassung der spezifischen Parameter Elektrodensteilheit S und Standardpotential E_0 für Elektrode E2, E5, E4 und E1, der gemittelten Messwerte der Elektrodenpotentiale E und der Standardabweichung s für Messung Nr. 1 der NaF-Lösung.

Elektrode	Messung Nr. 1			
	Steilheit S	Standardpotential E_0	Mittelwert Potential E	Standardabweichung s
	[mV/Dekade]	[mV]	[mV]	[mV]
E2	-35,4	63,8	120,4	$\pm 0,81$
E5	-44,9	14,7	94,8	$\pm 0,82$
E4	-39,0	44,6	118,5	$\pm 0,80$
E1	-40,3	20,4	95,3	$\pm 1,07$

Ob eine signifikante Abweichung der experimentellen Fluoridkonzentration von der theoretischen Fluoridkonzentration vorliegt, zeigt die Auswertung des Vertrauensintervalls bei einem Vertrauensniveau von 95% (siehe Tabelle 4.37). Der tatsächliche Wert der Fluoridkonzentration von $2,5 \cdot 10^{-2}$ M NaF liegt im Vertrauensintervall von $1,36 \cdot 10^{-2}$ M bis $3,34 \cdot 10^{-2}$ M NaF der gemittelten Fluoridkonzentrationen aus drei Messungen. Allerdings ist der relative Fehler der 1. Messung mit 27,7% sehr hoch. Die Bewertung, ob es sich um einen Ausreißer in der Messreihe handelt, würde durch eine größere Datenlage unterstützt werden.

Tabelle 4.37: Für die Auswertung der statistischen Abweichung vom tatsächlichen (theoretischen) Fluoridgehalt der Lösung werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in einer **NaF-Lösung**, der relative Fehler in %, Mittelwert und Standardabweichung aus drei Messungen und das Vertrauensintervall bei einem Vertrauensniveau von 95% dargestellt.

Messung	experimentell	theoretisch	Relativer Fehler f_{rel}	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
	[F] [mol/l]	[F] [mol/l]				
1	$1,80 \cdot 10^{-2}$	$2,50 \cdot 10^{-2}$	27,7	$2,35 \cdot 10^{-2} \pm 3,97 \cdot 10^{-3}$	$1,36 \cdot 10^{-2}$	$3,34 \cdot 10^{-2}$
2	$2,72 \cdot 10^{-2}$		8,8			
3	$2,53 \cdot 10^{-2}$		1,4			

Die Reproduzierbarkeit der Messwerte wird über die Bildung des Intervalls $\bar{x} \pm 2s$ ausgewertet. In diesem Intervall liegen 95% der experimentell ermittelten Fluoridkonzentrationen. Liegt der Einzelwert einer ermittelten Konzentration außerhalb dieses Intervalls, liegt eine signifikante Abweichung vor. In Tabelle 4.38 sind die Werte für die Evaluierung der Reproduzierbarkeit aufgeführt. Die Messwerte der Einzelmessungen liegen im Intervall $\bar{x} \pm 2s$, damit sind die Messwerte reproduzierbar.

Tabelle 4.38: Für die Auswertung der Reproduzierbarkeit der Messwerte werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in einer **NaF-Lösung**, deren Mittelwert \bar{x} und Standardabweichung s sowie das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zusammengefasst.

Messung	[F]	Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
	[mol/l]	[mol/l]	[mol/l]	[mol/l]	[mol/l]
1	$1,80 \cdot 10^{-2}$	$2,35 \cdot 10^{-2}$	$3,97 \cdot 10^{-3}$	$1,56 \cdot 10^{-2}$	$3,14 \cdot 10^{-2}$
2	$2,72 \cdot 10^{-2}$				
3	$2,53 \cdot 10^{-2}$				

4.4.2 Ermittlung des Fluoridgehalts in Listerine Mundspülung

Ergebnisse

Die Ergebnisse der gemittelten Elektrodenpotentiale der Elektroden E2, E5, E4 und E1, sowie die ermittelte Fluoridkonzentration in Listerine® Mundspülung werden in Tabelle 4.39 dargelegt. Die Standardaddition wurde insgesamt sechsmal durchgeführt (Messung Nr. 1 bis Nr. 6). Der zeitliche Verlauf des Elektrodenpotentials während der Probenmessung und der simultanen Zugabe des Standards wird für Messung Nr. 1 in Abbildung 4.25 auf der linken Seite gezeigt. Die dazugehörige Standardadditionsgerade wird auf der rechten Seite der Abbildung dargestellt.

Tabelle 4.39: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale in mV der Elektroden E2, E5, E4 und E1 für Messung Nr.1 bis Nr. 6 und die über Standardadditionsverfahren ermittelte Fluoridkonzentration in **Listerine® Mundspülung**.

Elektrode	Messung Nr. 1		Messung Nr. 2		Messung Nr. 3		Theorie
	Potential	[F]	Potential	[F]	Potential	[F]	[F]
	[mV]	[mol/l]	[mV]	[mol/l]	[mV]	[mol/l]	[mol/l]
E2	62,0	$2,70 \cdot 10^{-4}$	63,4	$2,78 \cdot 10^{-4}$	64,6	$4,35 \cdot 10^{-4}$	$2,90 \cdot 10^{-4}$
E5	57,8		59,8		64,1		
E4	20,2		21,3		18,0		
E1	60,8		62,1		62,2		

Elektrode	Messung Nr. 4		Messung Nr. 5		Messung Nr. 6		Theorie
	Potential	[F]	Potential	[F]	Potential	[F]	[F]
	[mV]	[mol/l]	[mV]	[mol/l]	[mV]	[mol/l]	[mol/l]
E2	65,4	$1,87 \cdot 10^{-4}$	64,7	$3,35 \cdot 10^{-4}$	65,7	$2,57 \cdot 10^{-4}$	$2,90 \cdot 10^{-4}$
E5	65,6		66,1		66,1		
E4	18,0		18,7		19,5		
E1	61,4		59,8		56,2		

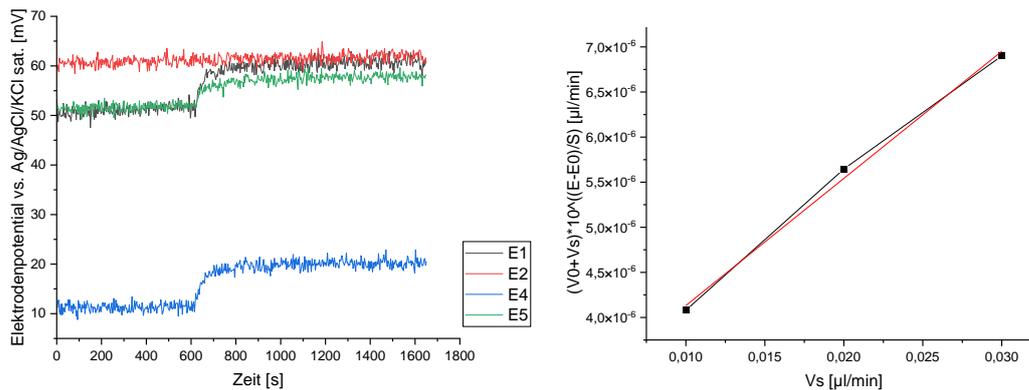


Abbildung 4.25: Auf der linken Seite ist der zeitliche Verlauf des Elektrodenpotentials vs. Ag/AgCl-Referenzelektrode der Messung Nr. 1 der **Listerine® Mundspülung** dargestellt. Das Potential wurde über Erstellung der Standardadditionsgeraden auf der linken Seite der Abbildung ausgewertet.

Statistische Auswertung und Diskussion

Die Auswertung der Standardabweichung des gemittelten Elektrodenpotentials E in Tabelle 4.40 zeigt auch für die Fluoriddetektion der Listerine® Mundspülung eine Streuung der Messwerte um den Mittelwert von ± 1 mV. Das Rauschen des Messsignals ist gering und die Messung präzise. Die Steilheit der Elektroden liegt bei 43,7 bis 46,9 mV/Dekade (Konzentrationszehnerpotenz) und zeigt damit eine gute Empfindlichkeit gegenüber einem Wechsel der Fluoridkonzentration im Medium.

Tabelle 4.40: Zusammenfassung der spezifischen Parameter Elektrodensteilheit S und Standardpotential E_0 für Elektrode E2, E5, E4 und E1, der gemittelten Messwerte der Elektrodenpotentiale E und der Standardabweichung s für Messung Nr. 1 der **Listerine® Mundspülung**.

Elektrode	Messung Nr. 1			
	Steilheit S	Standardpotential E_0	Mittelwert Potential E	Standardabweichung s
	[mV/Dekade]	[mV]	[mV]	[mV]
E2	-46,9	-105,3	62,0	$\pm 0,83$
E5	-44,1	-104,5	57,8	$\pm 0,66$
E4	-45,1	-147,6	20,2	$\pm 0,87$
E1	-43,7	-103,6	60,8	$\pm 0,99$

Die statistische Auswertung des Vertrauensintervalls bei einem Vertrauensniveau von 95% in Tabelle 4.41 zeigt, dass die theoretische Fluoridkonzentration im Vertrauensintervall liegt und keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen experimentellen und theoretischen Wert bestehen. Abweichungen zwischen den Werten entstehen aufgrund eines zufälligen, experimentellen Fehlers, wie z.B. ein temporärer Spannungsabfall in den Messgeräten oder eine Abweichung der Umgebungsbedingungen. Dadurch entstehen Ausreißer wie die Fluoridkonzentration der Messung Nr. 3, die mit einem Wert von $4,35 \cdot 10^{-4} \text{M}$ einen relativen Fehler von 50,1% gegenüber dem tatsächlichen Fluoridgehalt aufweist. Betrachtet man die einzelnen Messungen werden die Unterschiede zwischen den gemessenen Fluoridkonzentrationen deutlich. Der relative Fehler reicht von 4,1% bis 50,1%. Der Mittelwert aller sechs Messungen ergibt $2,94 \cdot 10^{-4} \text{M}$, einen absoluten Fehler von 0,04 M gegenüber dem theoretischen Wert. Für die chipbasierte Standardaddition im Durchflusssystem bedeutet dies, dass die Mittelung der Fluoridkonzentration aus einer größeren Messreihe eine größere Sicherheit gibt.

Tabelle 4.41: Für die Auswertung der statistischen Abweichung vom tatsächlichen (theoretischen) Fluoridgehalt der Lösung werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in **Listerine® Mundspülung**, der relative Fehlers in %, Mittelwert und Standardabweichung aus drei Messungen und das Vertrauensintervall bei einem Vertrauensniveau von 95% dargestellt.

Messung	experimentell	theoretisch	Relativer Fehler f_{rel}	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$
	[F]	[F]				
	[mol/l]	[mol/l]				
1	$2,70 \cdot 10^{-4}$	$2,90 \cdot 10^{-4}$	6,8	$2,94 \cdot 10^{-4} \pm 7,66 \cdot 10^{-5}$	$2,13 \cdot 10^{-4}$	$3,74 \cdot 10^{-4}$
2	$2,78 \cdot 10^{-4}$		4,1			
3	$4,35 \cdot 10^{-4}$		50,1			
4	$1,87 \cdot 10^{-4}$		35,4			
5	$3,35 \cdot 10^{-4}$		15,5			
6	$2,57 \cdot 10^{-4}$		11,3			

In Tabelle 4.42 werden die Werte für das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zusammengefasst. Alle Werte der einzelnen Messungen liegen innerhalb dieses Intervalls. Damit liegen keine signifikanteren Ausreiser vor, die Messwerte der chipbasierten Standardaddition von Listerine® Mundspülung sind reproduzierbar.

Tabelle 4.42: Für die Auswertung der Reproduzierbarkeit der Messwerte werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in **Listerine® Mundspülung**, deren Mittelwert \bar{x} und Standardabweichung s sowie das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zusammengefasst.

Messung	[F]	Mittelwert \bar{x}	Standardabweichung s	$\bar{x} - 2s$	$\bar{x} + 2s$
	[mol/l]	[mol/l]	[mol/l]	[mol/l]	[mol/l]
1	$2,70 \cdot 10^{-4}$	$2,94 \cdot 10^{-4}$	$7,66 \cdot 10^{-5}$	$1,40 \cdot 10^{-4}$	$4,47 \cdot 10^{-4}$
2	$2,78 \cdot 10^{-4}$				
3	$4,35 \cdot 10^{-4}$				
4	$1,87 \cdot 10^{-4}$				
5	$3,35 \cdot 10^{-4}$				
6	$2,57 \cdot 10^{-4}$				

4.4.3 Fazit der chipbasierten Standardaddition

Die aufgebaute mikrofluidische Sensorplattform ist für das Verfahren einer mikrochipbasierten Standardaddition im Durchflusssystem geeignet. Die Messwerte sind sowohl für die Standardaddition einer NaF-Lösung als auch für die Realprobe Listerine® Mundspülung präzise und reproduzierbar. Das Design des Mikrochips erfüllt alle Anforderungen für die Durchführung der Standardaddition im Durchflusssystem. Bei Betrachtung der einzelnen Messungen fällt auf, dass es zu großen relativen Fehlern von bis zu 50% gegenüber dem theoretischen Wert kommt. Allerdings liegt der wahre Mittelwert mit einer Sicherheit von 95% im Vertrauensintervall. Die großen Abweichungen einzelner Messungen können auf zufällige experimentelle Fehler zurückzuführen sein, für eine statistische Sicherheit ist die Bestimmung der Standardaddition durch mehrere Messungen empfehlenswert.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Charakterisierung einer mikrofluidischen Sensorplattform für die quantitative Analyse von Ionen in wässrigen Lösungen. Zu diesem Zweck wurde ein mikrofluidisches Multi-sensorsystem für die chipbasierte Analysemethoden Titration und Standardaddition aufgebaut. Der Vorteil eines Durchflusssystemes mit integrierten Sensoren im Mikromaßstab liegt im ressourcensparenden Verbrauch durch ein geringes Innenvolumen und der Möglichkeit, zeitaufgelöste online Messungen durchzuführen. Dadurch finden diese Systeme Anwendung im Bereich der Prozessüberwachung und der Qualitätskontrolle in Branchen der Chemie und Pharmaindustrie sowie der Bio- und Umweltanalytik.

Im Fokus der Arbeit lag die Untersuchung und Evaluierung der mikrofluidischen Komponenten der Plattform und der Sensorik. Für die mikrofluidische Durchmischung wurden passive 3D Split-and-Recombine Mikromischer des Typs *Two-Layer-Crossing-Channel* (Abk.: TLCC) und *Twisted* aufgebaut und hinsichtlich ihrer Mischeffektivität untersucht. Dafür wurden zwei Pufferlösungen unterschiedlicher pH-Werte miteinander gemischt. Durch Ermittlung des pH-Wertes der gemischten Lösung wurde die Mischgüte ausgewertet. Die Durchmischung wurde für drei Durchflussraten untersucht. Der TLCCM zeigte für eine Durchflussrate von 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ (Reynolds-Zahl 1) eine Mischgüte von $0,96 \pm 0,026$. Die Mischgüte des *Twisted* Mischers lag bei $0,95 \pm 0,057$. Damit zeigten beide Mischer eine sehr gute Mischeffektivität bei geringen Durchflussraten von 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Im Gegensatz zum *Twisted* Mischer zeigte der TLCCM auch eine sehr gute Mischeffektivität im Bereich 100 $\mu\text{l}/\text{min}$, weshalb dieser Mischertyp für alle weiteren Untersuchungen verwendet wurde.

Als Sensorsystem wurden ionenselektive PVC-Flüssigmembranelektroden mit Graphit-Festkontakt hergestellt, die sich aufgrund ihres Aufbaus sehr gut miniaturisieren und in das mikrofluidisches System integrieren ließen. Für die Untersuchung der Mikromischer und die chipbasierte Durchflusstitation wurden Wasserstoff (H^+)-selektive Membranelektroden verwendet. Die Membran dieser Elektroden wurde mit unterschiedlicher Konzentration des anionischen Leitsalzes Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) hergestellt und hinsichtlich Ansprechverhalten, Arbeitsbereich, Selektivität, Reproduzierbarkeit der Messwerte und dynamischer Ansprechzeit im Durchflusssystem charakterisiert. In Abhängigkeit der Leitsalzkonzentration in der Membran unterschieden sich die Elektroden hinsichtlich des linearen Arbeitsbereichs, der Nachweisgrenzen und der Selektivität gegenüber Anionen in der Messlösung. Die H^+ -selektive Membran mit 0,5 Gew. % NaTFPB zeigte einen linearen Arbeitsbereich zwischen pH 2 und pH 9. In diesen Grenzen konnten H^+ Ionen detektiert werden. Der hohe Anteil des anionischen Leitsalzes in der Membran wirkte sich positiv auf die Selektivität gegenüber H^+ Ionen im unteren pH-Bereich aus und reduzierte den Donnan-Fehler, welcher in Anwesenheit von Anionen Cl^- und SO_4^{2-} in der Messlösung auftritt. H^+ -selektive Membranen mit 0 Gew. % und 0,1 Gew.% Leitsalz wiesen einen linearen Arbeitsbereich von pH 6 bzw. pH 4 bis pH 12 auf. H^+ Ionen konnten in den Grenzen von pH 3 bis pH 12 nachgewiesen werden. Diese Membranen zeigten im Vergleich zu Membranen mit 0,5 Gew% Leitsalz eine bessere Selektivität gegenüber H^+ Ionen im alkalischen pH-Bereich. Der Selektivitätskoeffizient für Natrium $\log K_{\text{H}^+, \text{Na}^+}^{\text{Pot}}$ lag bei -10,9 und -10,85. Der störende Einfluss auf die Detektion von H^+ konnte für die Membranen mit 0 und 0,1 Gew.% Leitsalz erst ab pH 12 beobachtet werden. Alle hergestellten Membranen zeigten eine Elektrodensteilheit im linearen Arbeitsbereich von 40 bis 56 mV/pH-Einheit. Die Reproduzierbarkeit der Messwerte und Stabilität der Messungen konnte durch stochastische Auswertung des Vertrauensintervalls nachgewiesen werden. Alle Messwerte der potentiometrischen Messung lagen mit einer Sicherheit von 95% im Vertrauensintervall. Die dynamische Ansprechzeit der H^+ -selektiven Elektrode mit 0,1 Gew. % Leitsalzanteil wurde untersucht und ergab eine Halbwertszeit $t(50)$ von 3,6 s und eine Zeitkonstante τ_{90} von ~ 28 s.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die mikrofluidische Plattform mit integrierten H^+ -selektiven PVC-Membranelektroden für die Titration entwickelt und unter Durchführung der Titration der schwachen Säure 2-N-Morpholinoethansulfonsäure (Abk.: MES) und der starken Säure HCl mit der starken Base NaOH untersucht. Die Titrationskurve der Säure-Base-Titration der schwachen Säure MES zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den experimentell ermittelten und theoretisch berechneten pH-Werten. Der tatsächliche pH-Wert der MES-Lösung konnte mittels chipbasierter Durchflusstitration bestimmt werden. Im Gegensatz dazu zeigte die Titrationskurve der Säure-Base-Titration der starken Säure HCl ein starkes Signalrauschen der Elektroden und signifikante Abweichungen im Bereich des Äquivalenzpunktes pH 7. Die Ursache wurde in der geringen Leitfähigkeit der elektrolytischen Messlösung und Reduzierung der Ionenstärke durch die Umsetzung der Protonen durch NaOH Zugabe vermutet. Eine Zugabe von 0,01M KCl als Hintergrundelektrolyt konnte keine Verbesserung der pH-Wert Messung zeigen. Grund hierfür ist ein systematischer Messfehler ab der ersten Zugabe des Titranten NaOH, welcher in der Änderung des Aktivitätskoeffizienten, der Entstehung eines Puffersystems vor dem Äquivalenzpunkt und ungenauer Konzentrationsangabe des Titrers begründet sein könnte.

Weiterhin wurde eine chipbasierte Standardaddition im mikrofluidischen Durchflusssystem mit integrierten Fluorid (F^-) –selektiven Elektroden durchgeführt. Die Fluoridkonzentration in einer Pufferlösung mit Natriumfluorid und in der Mundspülung Listerine® konnte präzise und reproduzierbar bestimmt werden. Bei Betrachtung der einzelnen Messungen fiel auf, dass es zu großen relativen Fehlern von bis zu 50% gegenüber dem theoretischen Wert kommt. Allerdings lag der wahre Mittelwert mit einer Sicherheit von 95% im Vertrauensintervall. Für eine höhere statistische Sicherheit sind weitere Messungen durchzuführen.

Es wurde der Nachweis erbracht, dass der Aufbau der mikrofluidischen Plattform für praxisnahe Anwendungen wie der Bestimmung der Fluoridkonzentration mittels Standardaddition und der Säure-Base-Titration einer schwachen Säure geeignet ist. Die hergestellten H^+ -selektiven und F^- -selektiven PVC-Membranelektroden mit Graphitfestkontakt lieferten stabile und reproduzierbare Messwerte. Der pH-Wert einer starken Säure konnte durch die chipbasierte Durchflusstitration nicht bestimmt werden, da die Abweichungen zwischen experimentell bestimmter und theoretische Titrationskurve signifikant waren.

Mittels der entwickelten mikrofluidischen Sensorplattform war eine zeitaufgelöste online Messung der pH-Werte während der Säure-Base-Titration sowie der Fluoridkonzentration während einer Standardaddition möglich. Abschließend kann festgestellt werden, dass die charakterisierte Sensorplattform eine valide online Analyseverfahren für die Bestimmung der Ionenkonzentration in wässrigen Lösungen darstellt.

6 **Ausblick**

Die Untersuchung der mikrofluidische Sensorplattform ergab Optimierungsansätze bzgl. des Aufbaus des mikrofluidischen Systems. Ein Optimierungsansatz stellt das Design und die Größe der Durchflusszelle dar, über welche die ionenselektiven Elektroden in der Plattform integriert sind. Design und Größe der Zelle beeinflussen über die Austauschrate bei Wechsel der Messlösung das Ansprechverhalten des Gesamtsystems. Durch ein ungünstiges Design der Zelle können Totvolumen, Luftblasen oder Rückströmungen und Mikroturbulenzen in der Zelle entstehen, welche die Austauschrate der Messlösung und dadurch die Einstellung eines neuen Gleichgewichtspotentials nach Wechsel der Konzentration des Analyten kritisch beeinflussen.

Eine offene Fragestellung und ein weiterer Optimierungsansatz ist die Titration einer starken Säure mit einer starken Base. Die bisherigen Ergebnisse zeigten signifikante Abweichungen der experimentellen pH-Werte im Vergleich zu den theoretisch berechneten Werten um den Äquivalenzpunkt pH 7. Hierfür wurden mehrere Fehlerursachen ermittelt: Berechnung des pH-Wertes mit falschen Titer, geringe Leitfähigkeit der elektrolytischen Messlösung aufgrund der Reduzierung der Ionenstärke durch Umsatz der Protonen und eine unvollständige Einstellung des pH-Werts nach Zugabe des Titranten NaOH. Die Untersuchung könnten durch Messung der Leitfähigkeit der Messlösung fortgesetzt werden. Ein weiterer Optimierungsansatz liegt in der Auswahl und Zusammensetzung der ionenselektiven Membran. Die Untersuchung der H⁺-selektiven PVC-Membranelektroden mit unterschiedlichen Anteilen des anionischen Leitsalzes NaTFPB hat gezeigt, dass ein höherer Anteil NaTFPB die Querempfindlichkeit der Membran gegenüber Gegenionen reduziert. Die Membranzusammensetzung könnte hinsichtlich der Messlösung modifiziert werden, sodass z.B. für eine Messlösung mit hohem Anteil an Gegenionen der Leitsalzanteil der Membran erhöht wird, um den linearen Arbeitsbereich entsprechend der Zusammensetzung der Messlösung anzupassen.

Als Referenzmethode zu der potentiometrischen Messung der Ionenkonzentration könnten optische Messungen durchgeführt werden. Dazu könnten faseroptische Sensoren oder Mikro-LEDs (Engl.: Light Emitting Diodes) in die optisch transparente Plattform integriert werden. Optische Messmethoden finden bereits eine breite Anwendung in der Untersuchung mikrofluidischer Durchflusssysteme [24, 28, 29, 42, 54]. Durch die optische Untersuchung könnten zusätzlich Informationen zur Fluidodynamik gewonnen werden. Bei dem Aufbau eines Messstandes müsste ein geeigneter Farbstoff oder eine chemische Reaktion mit Farbindikator gewählt werden, welche die potentiometrische Messung der ionenselektiven Elektroden nicht beeinflusst oder zu einer reduzierten Lebensdauer der Elektroden führt. Es sollte allerdings beachtet werden, dass bei optischen Messungen die Konzentration der Ionen gemessen wird, während bei potentiometrischen Messungen die Aktivität der Ionen bestimmt wird.

Anhang A

Chemikaliennachweis

Zur Herstellung der ionenselektiven Membran benötigten Membrankomponenten und organischen Lösungsmittel wurden von Fluka und Sigma-Aldrich bezogen (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland). Die Graphitpaste Carbon Black Ink Loctite EDAG PF 407C E&C wurde von Fa. Henkel AG & Co.KGaA bezogen. Als Lösungsmittel wurde Tetrahydrofuran (Abk.: THF) Emsure® in Analysequalität der Fa. Merck KGaA verwendet. Alle verwendeten Chemikalien zur Herstellung von Pufferlösungen, Säuren und Basen werden in Tabelle Anhang A.1 nach Anwendung aufgelistet. Sämtliche Lösungen wurden mit destilliertem Wasser angesetzt.

Tabelle Anhang A. 1: Zusammenfassung der verwendeten Chemikalien und Herstellerangaben für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche.

Pufferlösung für Wasserstoff-selektive PVC-Membranelektroden

Zitronensäure	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Borsäure	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
0,1M Salzsäure	Pan Reac (Fa. AppliChem GmbH ITW Reagents)

Charakterisierung Wasserstoff-selektiver PVC-Membranelektroden

Natriumchlorid	Fluka (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Kaliumhydroxid	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Lithiumhydroxid	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Natriumhydroxid	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
0,1M Schwefelsäure	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Natriumsulfat	Fluka (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Pufferlösung für Fluorid-selektive PVC-Membranelektroden

2-N-Morpholino-ethansulfonsäure (Abk.: MES)	Pan Reac (Fa. AppliChem GmbH ITW Reagents)
Natriumhydroxid	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Lösungen zur Fluoridbestimmung

Natriumfluorid	Chemsolute (Fa. Th.Greyer GmbH & Co.KG)
Mundspülung Listerine®	Johnson & Johnson GmbH

Säure-Base Titration

Natriumhydroxid	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
0,1M Salzsäure	Pan Reac (Fa. AppliChem GmbH ITW Reagents)
2-N-Morpholino-ethansulfonsäure (Abk.: MES)	Pan Reac (Fa. AppliChem GmbH ITW Reagents)
Kaliumchlorid	Sigma-Aldrich (Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Liste der verwendeten Einheiten und Symbole

Symbol	Name	Einheit
A	Fläche	$\mu\text{m}^2, \text{cm}^2, \text{m}^2$
A	Amplitude	mV
a_i	Aktivität eines gelösten Stoffes i	Mol l ⁻¹
c_i	Analytische Konzentration eines gelösten Stoffes i	Mol l ⁻¹
\bar{c}_m	Analytische Konzentration eines Stoffgemisches bei homogener Mischung	Mol l ⁻¹
D	Diffusionskoeffizient	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
E₀	Standardelektrodenpotential	mV
E	Elektrodenpotential	mV
F	Kraft	$\text{N} = \text{kg m s}^{-2}$
f_{abs}	Absoluter Fehler	-
f_{rel}	Relativer Fehler	%
I	Ionenstärke	-
J	Diffusionsstromdichte	$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
k	Geschwindigkeitskonstante	s^{-1} für Reaktion 1. Ordnung
$K_{i,j}^{Pot}$	Selektivitätskoeffizient	-
K_s	Säurekonstante	-
K_w	Gleichgewichtskonstante	-
l	Länge	$\mu\text{m}, \text{mm}, \text{cm}, \text{m}$
L	Charakteristische Länge	$\mu\text{m}, \text{mm}, \text{cm}, \text{m}$
M	Mischgüte	[0,1]
N, n	Anzahl	-
p	Druck	Pa, bar
r	Radius	$\mu\text{m}, \text{mm}, \text{cm}, \text{m}$
S	(Elektroden-)Steilheit	mV/Dekade
s	Standardabweichung	-
T	Temperatur	°C
TD	Zeitverschiebung	s
t	Zeit	s, min, h
t(50)	Halbwertszeit	s
v	Geschwindigkeit	cm s^{-1}
V	Volumen	m^3, L
\dot{V}	Volumenstrom	$\text{m}^3 \text{s}^{-1}$
x	Weglänge	m
\bar{x}	Mittelwert	-
Yb	Basislinie	mV
z	Ladungszahl bzw. Ionenwertigkeit	-
γ_i	Aktivitätskoeffizient eines gelösten Stoffes i	-
γ	Scherungswinkel	°
$\dot{\gamma}$	Scherrate	s^{-1}
ζ	Zeta-Potential	mV
ζ	Zähigkeit	Pa s
η	Dynamische Viskosität	Pa s
ν	Kinematische Viskosität	$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$

Liste der verwendeten Einheiten und Symbole

ρ	Dichte	g cm^{-3}
τ	Tangentialspannung (Schubspannung)	Pa
τ_{90}	Zeitkonstante	s
φ	Teilchenzahldichte	m^{-3}
φ	Elektrodenpotential	mV

Konstanten

Symbol	Name	Wert
F	Faraday-Konstante	$F = 96\,485,3 \text{ A s mol}^{-1} = 26,80 \text{ A h mol}^{-1}$
R	Allgemeine Gaskonstante	$R = 8,3145 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
g	Erdbeschleunigungskraft	$g = 9,81 \text{ m s}^{-2}$
Normbedingungen		$p = 0,1013 \text{ MPa}$ $T = 273 \text{ K (0}^\circ\text{C)}$
Standardbedingungen		$p = 0,1 \text{ MPa}$ $T = 298 \text{ K}$ $c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$

Abkürzungen

μTAS	Micro Total Analysis System
Abb.	Abbildungen
CAD	Computer Aided Design
CFD	Computational Fluid Dynamics
Gl.	Gleichung
ISA	Ionic Strength Adjustment
ISE	Ionenselektive Elektrode
ISM	Ionenselektive Membran
LDL	Lower Detection Limit
LOC	Lab on a Chip
PANI	Polyanilin
PC	Polycarbonat
PCR	Polymer Chain Reaction (deut.: Polymere Kettenreaktion)
PDMS	Polydimethylsiloxan
PMMA	Polymethymethacrylat
Pe	Péclet-Zahl
PEDOT	Poly(3,4-ethylendioxythiophen)
POT	Poly(3-octylthiophen)
PVC	Polyvinylchlorid
Re	Reynolds-Zahl
SAR	Split and Recombine
SC	Solid-Contact (deut.: Festkontakt)
Tab.	Tabellen
TLCCM	Two Layer Crossing Channel Mixer
UDL	Upper Detection Limit
3D	Dreidimensional

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 2. 1:** Verformung der quadratische Volumeneinheit eines Fluides unter scherender Bewegung. Modifizierte Darstellung aus [81].3
- Abbildung 2. 2:** Darstellung des ein- und austretenden Massestroms einer Volumeneinheit dx , dy , dz , welche als Beispiel zur Beschreibung der Fluidodynamik einer Strömung dient. Darstellung ist angelehnt an [72].4
- Abbildung 2. 3:** Die Abbildung zeigt ein μ TAS für die Detektion von Bakterien in Flüssigkeiten. Auf der linken Seite ist das Chipdesign mit Probeneinlass und –auslass, sowie den funktionalen Einheiten für Zellysis, Nukleinsäure Isolation und Konzentration, Polymer Chain Reaction (Abk.: PCR, deutsch: Polymere Kettenreaktion) und Analyse dargestellt. Die rechte Seite zeigt ein Bild des Chip Prototypen aus PPM (Porous Polymer Monolith, deutsch: Poröses monolithisches Polymer). Die Abbildung stammt von Sauer-Budge et al. 2009 [85].7
- Abbildung 2. 4:** Dargestellt wird ein SAR Mikromischer, der durch seine Struktur sequentiell Schichten bildet. Zu sehen ist die laminare Strömung im Querschnitt des Mixers. Auf der rechten Seite der Abbildung wird die Strömungssimulation mittels CFD-ACE+ abgebildet.10
- Abbildung 2. 5:** Geometrie des unteren und oberen Layers (1) und 3D-Ansicht (2) des Two-Layer Serpentine Crossing Channel Mikromischer von Hossain et al. [41]. Abbildung (3) zeigt eine Draufsicht des Mischvorgangs an der ersten und letzten Mischer Einheit für Re-Zahl 15. 10
- Abbildung 2. 6:** Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette für die pH-Wert Bestimmung mittels einer Glaselektrode als Indikatorelektrode. Die Galvanipotential ϕ_1 bis ϕ_5 sind an den potentialbestimmenden Phasenübergängen eingezeichnet. Modifizierte Abbildung aus [68].13
- Abbildung 2. 7:** Schematische Darstellung der elektrolytischen Doppelschicht einer kationenselektiven Membran und Verlauf des Potentialabfalls $\Delta\phi$ als Funktion des Abstandes x zur Membranoberfläche. Die Abbildung wurde aus [87] und [34] entnommen.14
- Abbildung 2. 8:** Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer Glasmembranelektrode für die Bestimmung des pH-Wertes. Auf der rechten Seite der Abbildung wird ein vergrößerter Ausschnitt der Prozessabläufe an der Glasmembran gezeigt. Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.16
- Abbildung 2. 9:** Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer LaF_3 -Festkörpermembran-Elektrode für die selektive Bestimmung des Fluorid-Gehalts in einer Messlösung. Auf der rechten Seite der Abbildung wird ein vergrößerter Ausschnitt der Prozessabläufe an der Membran gezeigt. Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.18
- Abbildung 2. 10:** Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer Kationensensitiven-Flüssigmembran-Elektrode mit den neutralen Ionophore L , welches mit dem Analytion I^+ einen Komplex IL^+ in der Membran bildet. Die Membran enthält ebenfalls ein anionisches Salz R^- (Leitsalz). Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.19
- Abbildung 2. 11:** Auf der linken Seite ist die Strukturformel von Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) abgebildet, während die rechte Seite das H^+ -selektive Ionophore V eines Calix[4]arens (Engl.: Calix[4]-aza-crown) mit Summenformel $\text{C}_{54}\text{H}_{74}\text{N}_4\text{O}_6$ darstellt. 20
- Abbildung 2. 12:** Schematische Darstellung der Elektrodenmesskette einer Festkontakt-Flüssigmembran-Elektrode für die selektive Bestimmung des Analytions I^+ . Auf der rechten Seite ist der Aufbau dargestellt: Die ionenselektive Membran (blau) wird auf einen Festkontakt (orange) aufgetragen. Die Schicht des Festkontaktes befindet sich zwischen Membran und elektronenleitenden Substrat (schwarz). Die Membran enthält ein anionisches Salz R^- und ein neutrales Ionophore L , welches mit dem Analytion I^+ einen Komplex IL^+ in der Membran bildet. Die Abbildung wurde modifiziert aus [37] entnommen.21
- Abbildung 2. 13:** Kalibriergerade einer Wasserstoff (H^+)-selektiven Elektrode. Dargestellt wird der lineare und dynamische Arbeitsbereich, sowie die obere Nachweisgrenze (Upper Detection Limit UPL) und die untere Nachweisgrenze (Lower Detection Limit LDL).23
- Abbildung 2. 14:** Beispiel einer Standardadditionsgerade einer Standardaddition mit ionenselektiven Elektroden. Modifizierte Abbildung stammt aus [37].26
- Abbildung 2. 15:** Vergleich der diskontinuierlichen „klassischen“ Titration mit der kontinuierlichen Titration im Durchflusssystem. Der entscheidende Punkt ist die zeit- und raumgleiche Messung an 8 Messstellen im Durchflusssystem, während bei der diskontinuierlichen Titration der Titrant schrittweise dosiert wird [64].28

Abbildung 2. 16: Darstellung des Schemas der miniaturisierten Multisensor-Plattform nach Urbanowics et al. (linke Seite) und Modul mit vier PVC-Flüssigmembranelektroden auf Goldkontakt (rechte Seite). Die Abbildung stammt aus [101].	29
Abbildung 3. 1: Darstellung der mikrofluidischen Plattform. Auf der linken Seite ist das Schema der mikrofluidischen Kanäle, Mischer und Durchflusszellen für Sensoren in einer CAD-Zeichnung abgebildet. Der gefertigte Chip aus transparenten Polycarbonat ist auf der rechten Seite dargestellt.	31
Abbildung 3. 2: Abbildung des Elektrodenboards mit ionenselektiven Elektroden und O-Ringen (grün) auf der linken Seite. Die Abbildung rechts zeigt das Elektrodenboard mit aufgeschraubtem Mikrochip.	31
Abbildung 3. 3: Draufsicht auf Oberteil (links) und Unterteil (rechts) des mikrofluidischen Chips. Zu sehen sind Mikrokanäle und -strukturen für Mikromischer. Die Bauteile wurden mit dem CAD-Programm PTC Creo Parametric erstellt.	32
Abbildung 3. 4: Drauf- und Seitenansicht mit unverdeckten Kanten auf Oberteil (links) und Unterteil (rechts). In die Seite des Oberteils, welche nach Außen des Chips zeigt, werden Bohrungen für die mikrofluidischen Hohlschraubenverbindungen gebohrt. In die Seite des Unterteils, welche auf das Elektrodenboard liegt, werden Durchflusszellen zusätzlich gefräst.	32
Abbildung 3. 5: Draufsicht auf den Chip für die Standardaddition (links) und Titration (rechts). Die Abbildungen stammen aus dem CAD-Programm PTC Creo Parametrics.	33
Abbildung 3. 6: Foto der mikrofluidischen Kanäle nach dem Fräsen (links) und nach der Reinigung mit dem Schneestrahler (rechts). Die Fotos wurden mit dem Digitalmikroskop Keyence aufgenommen.	34
Abbildung 3. 7: Foto der mikrofluidischen Mischer Struktur nach Two-Layer-Crossing-Channel Design. Die Fotos wurden nach Zusammenschweißen der Bauteile mit dem Digitalmikroskop Keyence aufgenommen.	34
Abbildung 3. 8: Schematische Darstellung des Messaufbaus und seine Komponenten: Spritzenpumpe für Lösungen (a), mikrofluidischer Chip (b), Referenzelektrode (c), Auffangbehälter (d), Steuerelektronik (e), Auswertungseinheit (f) und Erdung (g).	38
Abbildung 3. 9: Foto des Versuchsaufbaus für die online Titration und des mikrofluidischen Titrationschips. Das Kernstück ist der Chip mit Anschlüssen an Spritzenpumpen rechts und links vom Chip und an die elektronische Steuerung. Sowohl Chip als auch Steuerung befinden sich in Boxen aus Aluminiumfolie, um vor Einflüsse elektromagnetischer Strahlung geschützt zu sein.	39
Abbildung 3. 10: Auf der linken Seite ist der zeitliche Verlauf einer potentiometrischen Messung der Pufferlösungen mit pH 3, pH 4 und pH 5 an Elektrode E4 dargestellt. Auf der rechten Seite ist die Kalibriergerade des Elektrodenpotentials gegen pH-Wert aufgetragen. Über lineare Regression wird die Elektrodensteilheit S und das Standardelektrodenpotential E_0 ermittelt, sodass über ein gemessenes Potential E nun die unbekannte Konzentration des Ions H^+ berechnet werden kann.	40
Abbildung 3. 11: Auf der linken Seite ist der Mikrochip mit Mikromischern des Typs „Twisted“ abgebildet. Auf der rechten Seite ist ein Mikrochip mit Mikromischern des Typs „Two-Layer-Crossing-Channel“ (TLCC) dargestellt.	43
Abbildung 3. 12: Schematische Darstellung der Versuchsdurchführung zur Evaluierung der Mikromischer „Twisted“ und „TLCC“. An Einlass 1 wurde ein Zitronen-/Borsäure Puffer mit pH 3 eingeleitet, an Einlass 2 entsprechend ein Puffer mit pH 5. Die Lösungen werden mittels Mikromischer gemischt und fließen über die H^+ -selektiven Elektroden (E1 bis E5).	44
Abbildung 3. 13: Grafische Darstellung der Messwerte des Elektrodenpotentials bei einem Wechsel der Pufferlösung von pH 7 zu pH 8. Die Fit-Funktion ExpAssocDelay1 ist als roter Graf dargestellt. Die Werte wurden an Elektrode E1 bei 10 μ l/min aufgenommen.	47
Abbildung 3. 14: Auf der linken Seite ist die schematische Darstellung des mikrofluidischen Titrationschips mit Nummerierung der Elektroden E1 bis E8 und der Einlässe 1 bis 8 dargestellt. Die rechte Seite zeigt den Titrationschip auf dem Elektrodenboard.	48
Abbildung 3. 15: Auf der linken Seite ist die schematische Darstellung des mikrofluidischen Chips für die Standardaddition mit Nummerierung der Elektroden E1 bis E5 und der Einlässe für Probe und Standardzugabe 1 bis 3 dargestellt. Die rechte Seite zeigt den Standardadditionschip in Verbindung mit dem Elektrodenboard.	51

- Abbildung 4. 1:** Mischgüte in Abhängigkeit der Re-Zahl für den **TLCCM**. Es wurden die Messwerte an Elektrode **E2** ausgewertet (Tab. 4.3). Das Diagramm stellt die Abhängigkeit der Mischgüte von der Re-Zahl dar.56
- Abbildung 4. 2:** Auswertung der Mischgüte des **TLCCM** entlang der Fließrichtung im Mikrochip. Im Chip befinden sich vier Mikromischer. An Elektrode E2 wird die Mischgüte nach einem Mikromischer ermittelt, an Elektrode E5 die Mischgüte nach zwei Mikromischern usw.56
- Abbildung 4. 3:** Mischgüte in Abhängigkeit der Re-Zahl für den **Twisted Mikromischer**. Es wurden die Messwerte an Elektrode **E2** ausgewertet. Das Diagramm stellt die Abhängigkeit der Mischgüte von der Re-Zahl dar.59
- Abbildung 4. 4:** Auswertung der Mischgüte des **Twisted Mikromischers** entlang der Fließrichtung im Mikrochip. Im Chip befinden sich vier Mikromischer. An Elektrode E2 wird die Mischgüte nach einem Mikromischer ermittelt, an Elektrode E5 die Mischgüte nach zwei Mikromischern, usw.59
- Abbildung 4. 5:** Ergebnisse der numerischen Strömungssimulation mittels COMSOL Multiphysics (Version 5.5). Dargestellt ist der Konzentrationsgradient in den Querschnitten a bis d des Mikromischers TLCC für unterschiedliche Reynolds-Zahlen.61
- Abbildung 4. 6:** Zeitlicher Verlauf der Messung des Elektrodenpotentials an den H^+ -selektiven PVC-Membranelektroden E1 bis E5 (mit **0,1 Gew. % NaTFPB**) gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode während der Durchflussmessung eines 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffers vom pH 2 bis pH 12 und von pH 12 bis pH 2. Die Durchflussrate betrug 100 $\mu\text{l}/\text{min}$64
- Abbildung 4. 7:** Vergleich der Kalibriergeraden H^+ -selektiver PVC-Membranelektroden mit unterschiedlichen Leitsalzanteilen von 0, 0,1 und 0,5 Gew. % und Definition des linearen Arbeitsbereichs.66
- Abbildung 4. 8:** Kalibriergerade der H^+ -selektiven Elektrode mit Leitsalzanteil 0,1 und 0,5 Gew. %. Die Kalibriergeraden wurden einmal von pH 2 Richtung pH 12 und von pH 12 in Richtung pH 2 aufgenommen, um die Hysterese der Messwerte zu ermitteln.66
- Abbildung 4. 9:** Kalibriergerade der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. %** (rot) einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu den Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt Na^+ , K^+ und Li^+**67
- Abbildung 4. 10:** Dargestellt sind die Kalibriergeraden der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. %** (rot) **und 0,5 Gew. %** (blau) einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu der Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt K^+**68
- Abbildung 4. 11:** Kalibriergerade der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. %** (rot) einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu der Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt Cl^- und SO_4^{2-}**69
- Abbildung 4. 12:** Dargestellt sind die Kalibriergeraden der H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit einem **Leitsalzanteil von 0,1 Gew. %** (rot) **und 0,5 Gew. %** (blau) einer Messlösung mit 20 mM Zitronen-/Borsäure ohne Hintergrundelektrolyt im Vergleich zu der Kalibriergeraden in einer Messlösung mit **Hintergrundelektrolyt Cl^-**70
- Abbildung 4. 13:** Zeitlicher Verlauf der Elektrodenpotentiale E1 bis E5 gemessen gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode. Die Elektroden bestehen aus einer H^+ -selektiven PVC-Membran mit **0,5 Gew. % Leitsalz**. Die Messlösung aus 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer wechselt zwischen den pH-Werten 6 und 7 im Zeitintervall von 7 min 30 s.72
- Abbildung 4. 14:** Abgebildet sind die Diagramme der Halbwertszeit $t(50)$ gegen Durchflussrate in $\mu\text{l}/\text{min}$ und die reziproke Durchflussrate in $1/(\mu\text{l}/\text{min})$. Die Ermittlung des Ordinatenabschnitts der linearen Regressionsgeraden zeigt eine Halbwertszeit von 3,6 s.75
- Abbildung 4. 15:** Linke Seite: Zeitlicher Verlauf der Potentialmessung an Elektrode E1 bis E8 gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. während der Titration von **10 $\mu\text{l}/\text{min}$** einer schwachen Säure MES mit NaOH. Rechte Seite: Titrationskurven des experimentell ermittelten pH-Wertes (schwarzes Linien-Diagramm) im Vergleich zu den theoretisch berechneten pH-Werten (rotes Linien-Diagramm).78
- Abbildung 4. 16:** Linke Seite: Zeitlicher Verlauf der Potentialmessung an Elektrode E1 bis E8 gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. während der Titration von **50 $\mu\text{l}/\text{min}$** einer schwachen Säure MES mit NaOH. Rechte Seite: Titrationskurven des experimentell ermittelten pH-Wertes

(schwarzes Linien-Diagramm) im Vergleich zu den theoretisch berechneten pH-Werten (rotes Linien-Diagramm).	79
Abbildung 4. 17: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte (blaues Linien-Diagramm) der Titration mit 10 µl/min Probe. Zusätzlich sind die Werte der einzelnen Messungen als Punktdiagramm aufgetragen.	83
Abbildung 4. 18: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte (blaues Linien-Diagramm) der Titration mit 50 µl/min Probe. Zusätzlich sind die Werte der einzelnen Messungen als Punktdiagramm aufgetragen.	84
Abbildung 4. 19: Im Diagramm sind die Titrationskurve sowie die 1. und 2. Ableitung der gemittelten pH-Werte der Titration 10 µl/min 0,02M MES mit 0,01M NaOH abgebildet.	86
Abbildung 4. 20: Linke Seite: Zeitlicher Verlauf der Potentialmessung an Elektrode E1 bis E8 gegen die Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl sat. während der Titration von 20µl/min der starken Säure HCl mit NaOH. Rechte Seite: Titrationskurven des experimentell ermittelten pH-Wertes (schwarzes Linien-Diagramm) im Vergleich zu den theoretisch berechneten pH-Werten (rotes Linien-Diagramm).	87
Abbildung 4. 21: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte (blaues Linien-Diagramm) der Titration einer starken Säure. Zusätzlich sind die Werte der einzelnen Messungen als Punktdiagramm aufgetragen. Die Fehlerbalken der gemittelten pH-Werte sind verschwindend gering, sodass sie in dem Diagramm nicht erkennbar sind.	89
Abbildung 4. 22: Im Diagramm sind die Titrationskurve sowie die 1. und 2. Ableitung der gemittelten pH-Werte der Titration 0,001M HCl mit 0,001M NaOH abgebildet.	91
Abbildung 4. 23: Dargestellt sind die Titrationskurven der theoretischen pH-Werte (rotes Linien-Diagramm) und experimentellen pH-Werte mit Hintergrundelektrolyt 0,01M KCl (hellblaues Linien-Diagramm) und ohne Hintergrundelektrolyt (blaues Linien-Diagramm).	94
Abbildung 4. 24: Auf der linken Seite ist der zeitliche Verlauf des Elektrodenpotentials vs. Ag/AgCl-Referenzelektrode der Messung Nr. 1 einer NaF-Lösung dargestellt. Das Potential wurde über Erstellung der Standardadditionsgeraden auf der linken Seite der Abbildung ausgewertet.	97
Abbildung 4. 25: Auf der linken Seite ist der zeitliche Verlauf des Elektrodenpotentials vs. Ag/AgCl-Referenzelektrode der Messung Nr. 1 der Listerine® Mundspülung dargestellt. Das Potential wurde über Erstellung der Standardadditionsgeraden auf der linken Seite der Abbildung ausgewertet.	99

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Zusammenfassung der charakteristischen Eigenschaften und Darstellung der Strömungsprofile laminarer und turbulenter Strömungen in einem Strömungskanal und der Reynolds-Zahl Re [15, 86].	6
Tabelle 3.1: Übersicht der technischen Daten (Dimension, Innenvolumen) der Komponenten des Mikrochips. Das Innenvolumen wurde mittels CAD-Programm PTC Creo Parametrics Version 5.0.0.0 ermittelt.	33
Tabelle 3.2: Zusammenfassung des Einsatzes ionenselektiver Membranen.	35
Tabelle 3.3: Überblick über die Einwaage der Membrankomponenten für H^+ -selektive Membranen. Für die Charakterisierung der H^+ -selektiven Membranelektroden wurden drei Membranen mit unterschiedlichen Anteilen des Leitsalzes Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluoromethyl)-phenyl]-borat hergestellt.	35
Tabelle 3.4: Überblick über die Einwaage der Membran-	35
Tabelle 3.5: Schematische Darstellung des Querschnitts einer ionenselektiven Elektrode im mikrofluidischen Chip. Abgebildet sind die unterschiedlichen Schichten und eine kurze Erläuterung ihrer Funktion. Die Schichtdicken sind nicht originalgetreu dargestellt.	37
Tabelle 3.6: Überblick der Versuchsdurchführung für die Untersuchung der Mikromischer.	43
Tabelle 3.7: Zusammenfassung der Membranzusammensetzung und Aufbau H^+ -selektiver PVC-Membranelektroden mit Festkontakt. Der Anteil des Leitsalzes Natrium-tetrakis-[3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl]-borat (Abk.: NaTFPB) beträgt 0 Gew. % (Membran Nr. 1), 0,1 Gew. % (Membran Nr. 2) und 0,5 Gew. % (Membran Nr. 3).	45
Tabelle 3.8: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen zur Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten K_{ij}^{pot} für unterschiedliche Störionen.	46
Tabelle 3.9: Zusammenfassung der Membrankomponenten in der für die chipbasierte Titration verwendeten H^+ -selektiven Elektroden.	47
Tabelle 3.10: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen für Kalibrierung-, Probe- und Maßlösung der Versuche zur Evaluierung der chipbasierten Titration im Durchflusssystem.	48
Tabelle 3.11: Überblick über die Durchflussraten, welche für die Durchführung der chipbasierten Titration eingestellt wurden. Die Zahlen in Klammern geben die resultierende Durchflussrate nach Zuführung des entsprechenden Titranten an.	49
Tabelle 3.12: Zusammenfassung der Berechnung des pH-Werts und der Regionen, in welche die Titrationskurve einer schwachen Säure und einer starken Base eingeteilt werden kann.	49
Tabelle 3.13: Zusammenfassung der Berechnung des pH-Werts und der Regionen, in welche die Titrationskurve einer starken Säure und einer starken Base eingeteilt werden kann.	50
Tabelle 3.14: Zusammenfassung der verwendeten Lösungen für Kalibrierung, Standard und Probe der Versuche zur Evaluierung der chipbasierten Standardaddition im Durchflusssystem.	51
Tabelle 3.15: Überblick über die Durchflussraten, welche für die Durchführung der chipbasierten Standardaddition eingestellt wurden.	51
Tabelle 4.1: Zusammenfassung der Dimensionen der untersuchten Mikromischer Two-Layer-Crossing-Channel und Twisted.	53
Tabelle 4.2: Übersicht der dimensionslosen Reynolds- und Péclet-Zahl sowie der Diffusionsstrecke für ein Wasserstoffmolekül in Abhängigkeit der Durchflussrate.	54
Tabelle 4.3: Zusammenfassung der Ergebnisse der Mischgüte für Mikromischer TLCCM und für die Re-Zahl 1 (10 μ l/min), 5 (50 μ l/min) und 10 (100 μ l/min).	55
Tabelle 4.4: Zusammenfassung der Ergebnisse der Mischgüte für Mikromischer Twisted und für die Re 1 (10 μ l/min), 5 (50 μ l/min) und 10 (100 μ l/min).	58
Tabelle 4.5: Zusammenfassung der Mischgüte nach einem Mikromischertyp TLCC oder Twisted in Abhängigkeit zur Durchflussrate bzw. Reynolds-Zahl.	60
Tabelle 4.6: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale, Standardabweichung und Steilheit einer H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit 0 Gew. % NaTFPB Anteil in Abhängigkeit des pH-Werts. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden Pufferlösungen von pH 12 bis pH 2 verwendet.	63
Tabelle 4.7: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale, Standardabweichung und Steilheit einer H^+ -selektiven PVC-Membranelektrode mit 0,1 Gew. % NaTFPB Anteil in Abhängigkeit des pH-Werts. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden Pufferlösungen von pH 12 bis pH 2 verwendet.	63

Tabelle 4.8: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale, Standardabweichung und Steilheit einer H ⁺ -selektiven PVC-Membranelektrode mit 0,5 Gew.% NaTFPB Anteil in Abhängigkeit des pH-Werts. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden Pufferlösungen von pH 12 bis pH 2 verwendet.	64
Tabelle 4.9: Zusammenfassung des linearen Arbeitsbereichs und der Elektrodensteilheit <i>S</i> der Elektroden E2, E3, E5, E4 und E1 (in Fließrichtung des Mikrochips) für H ⁺ -selektive Membranen mit unterschiedlichen Leitsalzanteilen.	65
Tabelle 4.10: Zusammenfassung der Ergebnisse des Selektivitätskoeffizienten als log K_{H+,j}^{pot} für die H ⁺ -selektive PVC-Membranelektrode mit einem Leitsalzanteil von 0, 0,1 und 0,5 Gew.% NaTFPB.	70
Tabelle 4.11: Zusammenfassung der Potentialdrift ΔE/Δt , die an den Elektroden E1 bis E5 für 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer pH 6 und pH 7 innerhalb des Zeitintervalls von 7 min 30 s für H ⁺ -selektiven PVC-Membran unterschiedlicher Zusammensetzungen ermittelt wurden.	71
Tabelle 4.12: Für die Untersuchung der Reproduzierbarkeit der Messwerte werden die Messwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und Intervall $x \pm 2s$ aus drei Messungen der Elektrodenpotentiale E1 bis E5 für 20 mM Zitronen-/Borsäure Puffer 7 für H ⁺ -selektiven PVC-Membran unterschiedlicher Zusammensetzungen dargestellt.	72
Tabelle 4.13: Zusammenfassung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Halbwertszeit <i>t</i> (50) und Zeitkonstante τ_{90} in Abhängigkeit der Durchflussrate.	74
Tabelle 4.14: Zusammenfassung der <i>Austausch- und Ansprechzeiten der einzelnen Chipkomponenten (Strömungskanäle, Durchflusszelle und Elektroden)</i> . Zur Vereinfachung wird hier die <i>Austauschrate als Austauschzeit definiert und in Sekunden für eine Flussrate von 10 μl/min angegeben</i>	75
Tabelle 4.15: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 10 μl/min einer 0,02M MES Probelösung mit 0,01M NaOH.	77
Tabelle 4.16: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 50 μl/min einer 0,02M MES Probelösung mit 0,01M NaOH.	78
Tabelle 4.17: Überblick über die Ergebnisse der Potentialmessung während Titration Nr. 3 für 10 μl/min Probe . Dargestellt sind die gemittelten Potentiale \bar{x} , Standardabweichung <i>s</i> , Intervall der Standardabweichung und Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95%.	79
Tabelle 4.18: Überblick über die Ergebnisse der Potentialmessung während Titration Nr. 3 für 50 μl/min Probe . Dargestellt sind die gemittelten Potentiale \bar{x} , Standardabweichung <i>s</i> , Intervall der Standardabweichung und Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95%.	80
Tabelle 4.19: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsversuchen mit 10 μl/min Probe im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung <i>s</i> , absoluter Fehler f_{abs} und relativer Fehler f_{rel} in %.	81
Tabelle 4.20: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsversuchen mit 50 μl/min Probe im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung <i>s</i> , absoluter Fehler f_{abs} und relativer Fehler f_{rel} in %.	81
Tabelle 4.21: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vertrauensintervalls mit einem Vertrauensniveau von 95% aus drei Titrationsversuchen mit 10 μl/min	82
Tabelle 4.22: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vertrauensintervalls mit einem Vertrauensniveau von 95% aus drei Titrationsversuchen mit 50 μl/min	82
Tabelle 4.23: Überblick der theoretischen pH-Werte, Mittelwerte der experimentellen pH-Werte mit Standardabweichung und Intervall $x \pm 2s$ zur Auswertung der Reproduzierbarkeit der Titrationsversuche für Versuche mit 10 μl/min Probe.	84
Tabelle 4.24: Überblick der theoretischen pH-Werte, Mittelwerte der experimentellen pH-Werte mit Standardabweichung und Intervall $x \pm 2s$ zur Auswertung der Reproduzierbarkeit der Titrationsversuche für Versuche mit 50 μl/min Probe.	85
Tabelle 4.25: Zusammenfassung der gemittelten pH-Werte aus den Titrationsversuchen mit 10 μl/min Probe und den Ergebnissen der 1. Ableitung $\Delta pH/\Delta \text{Volumen}$ und 2. Ableitung $\Delta(\Delta pH/\Delta \text{Volumen})$	85
Tabelle 4.26: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 20 μl/min einer 0,001M HCl Probelösung mit 0,001M NaOH.	87

Tabelle 4.27: Überblick über die Ergebnisse der Potentialmessung während Titration Nr. 2. Dargestellt sind die gemittelten Potentiale x , Standardabweichung s , Intervall der Standardabweichung und Vertrauensintervall mit einem Vertrauensniveau von 95%	88
Tabelle 4.28: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsen einer starken Säure mit einer starken Base im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung s , absoluter Fehler f_{abs} und relativer Fehler f_{rel} in %	88
Tabelle 4.29: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vertrauensintervalls mit einem Vertrauensniveau von 95% für die Titrationsversuche einer starken Säure HCl mit einer starken Base NaOH und Intervall $x \pm 2s$ zur Auswertung der Reproduzierbarkeit der Titrationsversuche.	90
Tabelle 4.30: Zusammenfassung der gemittelten pH-Werte aus den Titrationsversuchen einer starken Säure und Base inkl. den Ergebnissen der 1. Ableitung $\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen}$ und 2. Ableitung $\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta\text{Volumen})$	90
Tabelle 4.31: Zusammenfassung der Messwerte (Potential in mV) und der daraus resultierenden pH-Werte für Titration 1 bis 3 von 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ einer 0,001M HCl + 0,01M KCl Probelösung mit 0,001M NaOH.	92
Tabelle 4.32: Überblick über die Ionenstärke der Salzsäure während der Säure-Base-Titration. Verglichen werden die Ionenstärken mit und ohne 0,01M KCl Hintergrundelektrolyt	92
Tabelle 4.33: Vergleich der Potentiale und Standardabweichungen (Signalrauschen) zwischen einer 0,001M HCl mit und ohne zusätzlichen 0,01M KCl Hintergrundelektrolyt . Zusätzlich wird die Steilheit der Elektrode S verglichen.	93
Tabelle 4.34: Darstellung der gemittelten pH-Werte aus drei Titrationsen einer starken Säure + 0,01KCl Hintergrundelektrolyt mit einer starken Base im Vergleich zu theoretischen pH-Werten, sowie Standardabweichung s und relativer Fehler f_{rel} in %	93
Tabelle 4.35: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale in mV der Elektroden E2, E5, E4 und E1 für Messung Nr.1 bis Nr. 3 und die über Standardadditionsverfahren ermittelte Fluoridkonzentration einer NaF-Lösung in MES-Puffer	96
Tabelle 4.36: Zusammenfassung der spezifischen Parameter Elektrodensteilheit S und Standardpotential E_0 für Elektrode E2, E5, E4 und E1, der gemittelten Messwerte der Elektrodenpotentiale E und der Standardabweichung s für Messung Nr. 1 der NaF-Lösung	97
Tabelle 4.37: Für die Auswertung der statistischen Abweichung vom tatsächlichen (theoretischen) Fluoridgehalt der Lösung werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in einer NaF-Lösung , der relative Fehlers in %, Mittelwert und Standardabweichung aus drei Messungen und das Vertrauensintervall bei einem Vertrauensniveau von 95% dargestellt.	98
Tabelle 4.38: Für die Auswertung der Reproduzierbarkeit der Messwerte werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in einer NaF-Lösung , deren Mittelwert \bar{x} und Standardabweichung s sowie das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zusammengefasst.	98
Tabelle 4.39: Zusammenfassung der gemittelten Elektrodenpotentiale in mV der Elektroden E2, E5, E4 und E1 für Messung Nr.1 bis Nr. 6 und die über Standardadditionsverfahren ermittelte Fluoridkonzentration in Listerine® Mundspülung	99
Tabelle 4.40: Zusammenfassung der spezifischen Parameter Elektrodensteilheit S und Standardpotential E_0 für Elektrode E2, E5, E4 und E1, der gemittelten Messwerte der Elektrodenpotentiale E und der Standardabweichung s für Messung Nr. 1 der Listerine® Mundspülung	100
Tabelle 4.41: Für die Auswertung der statistischen Abweichung vom tatsächlichen (theoretischen) Fluoridgehalt der Lösung werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in Listerine® Mundspülung , der relative Fehlers in %, Mittelwert und Standardabweichung aus drei Messungen und das Vertrauensintervall bei einem Vertrauensniveau von 95% dargestellt.	100
Tabelle 4.42: Für die Auswertung der Reproduzierbarkeit der Messwerte werden die ermittelten Fluoridkonzentrationen in Listerine® Mundspülung , deren Mittelwert \bar{x} und Standardabweichung s sowie das Intervall $\bar{x} \pm 2s$ zusammengefasst.	101
 Tabelle Anhang A. 1: Zusammenfassung der verwendeten Chemikalien und Herstellerangaben für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche.	II

7 References

- [1] Afzal, A. and Kim, K.-Y. 2014. Three-objective optimization of a staggered herringbone micromixer. *Sensors and Actuators B: Chemical* 192, 350–360.
- [2] 2012. All-solid-state selective electrodes using carbon black. *Talanta* 93, 424–427.
- [3] Ammann, D. 1986. *Ion-Selective Microelectrodes. Principles, Design and Application*. Springer Berlin / Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [4] Atkins, P. W. and Paula, J. de. 2013. *Physikalische Chemie*. Wiley-VCH; Ciando, Weinheim, München.
- [5] Bakker, E., Bühlmann, P., and Pretsch, E. 1997. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics. *Chemical reviews* 97, 8, 3083–3132.
- [6] Bakker, E. and Pretsch, E. 1995. Lipophilicity of tetraphenylborate derivatives as anionic sites in neutral carrier-based solvent polymeric membranes and lifetime of corresponding ion-selective electrochemical and optical sensors. *Analytica chimica acta* 309, 1, 7–17.
- [7] Bakker, E., Pretsch, E., and Bühlmann, P. 2000. Selectivity of potentiometric ion sensors. *Analytical chemistry* 72, 6, 1127–1133.
- [8] Bayareh, M., Ashani, M. N., and Usefian, A. 2020. Active and passive micromixers: A comprehensive review. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification* 147, 107771.
- [9] Berlanda, S. F., Breinfeld, M., Dietsche, C. L., and Dittrich, P. S. 2021. Recent Advances in Microfluidic Technology for Bioanalysis and Diagnostics. *Analytical chemistry* 93, 1, 311–331.
- [10] Berlanda, S. F., Breinfeld, M., Dietsche, C. L., and Dittrich, P. S. 2021. Recent Advances in Microfluidic Technology for Bioanalysis and Diagnostics. *Analytical chemistry* 93, 1, 311–331.
- [11] Bessoth, F. G., deMello, A. J., and Manz, A. 1999. Microstructure for efficient continuous flow mixing. *Anal. Commun.* 36, 6, 213–215.
- [12] Bieg, C., Fuchsberger, K., and Stelzle, M. 2017. Introduction to polymer-based solid-contact ion-selective electrodes—basic concepts, practical considerations, and current research topics. *Anal Bioanal Chem* 409, 1, 45–61.
- [13] Bobacka, J., Ivaska, A., and Lewenstam, A. 2008. Potentiometric ion sensors. *Chemical reviews* 108, 2, 329–351.
- [14] Bockhorn, H. 2010. *Micro and Macro Mixing. Analysis, Simulation and Numerical Calculation*. Heat and Mass Transfer Ser. Springer Berlin / Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [15] Bohl, W. and Elmendorf, W. 2014. *Technische Strömungslehre. Stoffeigenschaften von Flüssigkeiten und Gasen, Hydrostatik, Aerostatik, inkompressible Strömungen, kompressible Strömungen, Strömungsmesstechnik*. Kamprath-Reihe. Vogel, Würzburg.
- [16] Buck, R. P. and Lindner, E. 1994. Recommendations for nomenclature of ionselective electrodes (IUPAC Recommendations 1994). *Pure and Applied Chemistry* 66, 12, 2527–2536.
- [17] Cai, G., Xue, L., Zhang, H., and Lin, J. 2017. A Review on Micromixers. *Micromachines* 8, 9.
- [18] Cammann, K. 1973. *Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden. Eine Einführung*. Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis 13. Springer, Berlin, Heidelberg.

-
- [19] Cammann, K. and Galster, H. 1996. *Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden. Eine Einführung für Praktiker*. Springer eBook Collection. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [20] Chaniotakis, N., Jurkschat, K., Müller, D., Perdikaki, K., and Reeske, G. 2004. Bis[di- n -alkyl(fluoro)stannyl]methanes, (R₂FSn)₂CH₂ (R = n -octyl, n -dodecyl): Stable Fluoride-Selective Carriers. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2004, 11, 2283–2288.
- [21] Chen, X. and Zhao, Z. 2017. Numerical investigation on layout optimization of obstacles in a three-dimensional passive micromixer. *Analytica chimica acta* 964, 142–149.
- [22] Culbertson, C. T., Mickleburgh, T. G., Stewart-James, S. A., Sellens, K. A., and Pressnall, M. 2014. Micro total analysis systems: fundamental advances and biological applications. *Analytical chemistry* 86, 1, 95–118.
- [23] Demirel, A., Doğan, A., Canel, E., Memon, S., Yilmaz, M., and Kiliç, E. 2004. Hydrogen ion-selective poly(vinyl chloride) membrane electrode based on a p-tert-butylcalix[4]arene-oxacrown-4. *Talanta* 62, 1, 123–129.
- [24] Destandau, E., Lefèvre, J.-P., Chouai Fakh Eddine, A., Desportes, S., Jullien, M. C., Hierle, R., Leray, I., Valeur, B., and Delaire, J. A. 2007. A novel microfluidic flow-injection analysis device with fluorescence detection for cation sensing. Application to potassium. *Analytical and bioanalytical chemistry* 387, 8, 2627–2632.
- [25] Dillingham, P. W., Alsaedi, B. S. O., Granados-Focil, S., Radu, A., and McGraw, C. M. 2020. Establishing Meaningful Limits of Detection for Ion-Selective Electrodes and Other Nonlinear Sensors. *ACS sensors* 5, 1, 250–257.
- [26] Eigen, M. 1963. Protonenübertragung, Säure-Base-Katalyse und enzymatische Hydrolyse. Teil I: Elementarvorgänge. *Angew. Chem.* 75, 12, 489–508.
- [27] Fibbioli, M., Morf, W. E., Badertscher, M., Rooij, N. F. de, and Pretsch, E. 2000. Potential Drifts of Solid-Contacted Ion-Selective Electrodes Due to Zero-Current Ion Fluxes Through the Sensor Membrane. *Electroanalysis* 12, 16, 1286–1292.
- [28] Fleger, M. and Neyer, A. 2006. PDMS microfluidic chip with integrated waveguides for optical detection. *Microelectronic Engineering* 83, 4-9, 1291–1293.
- [29] Fonseca, A., Raimundo, I. M., Rohwedder, J. J. R., Lima, R. S., and Araújo, M. C. U. 2010. A microfluidic device with integrated fluorimetric detection for flow injection analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry* 396, 2, 715–723.
- [30] Garstecki, P. 2005. Nonlinear dynamics of a flow-focusing bubble generator: An inverted dripping faucet. *Physical review letters* 94, 23, 234502.1-234502.4.
- [31] Gowda, H. N., Kido, H., Wu, X., Shoval, O., Lee, A., Lorenzana, A., Madou, M., Hoffmann, M., and Jiang, S. C. 2022. Development of a proof-of-concept microfluidic portable pathogen analysis system for water quality monitoring. *The Science of the total environment* 813, 152556.
- [32] 2007. Grundlagen der Fluidodynamik. In *Technische Strömungsmechanik. Theorie und Praxis*, W. Kümmel, Ed. Springer eBook Collection Computer Science & Engineering. Teubner, Wiesbaden, 44–93. DOI=10.1007/978-3-8351-9126-6_3.
- [33] Hamann, C. H., Hoogestraat, D., and Koch, R. 2018. *Grundlagen der Kinetik. Von Transportprozessen zur Reaktionskinetik*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [34] Hamann, C. H. and Vielstich, W. 2005. *Elektrochemie*. Wiley-VCH, Weinheim.
-

- [35] Han, X., Zhang, Y., Tian, J., Wu, T., Li, Z., Xing, F., and Fu, S. 2022. Polymer-based microfluidic devices: A comprehensive review on preparation and applications. *Polymer Engineering & Sci* 62, 1, 3–24.
- [36] Hardt, S., Drese, K. S., Hessel, V., and Schönfeld, F. 2005. Passive micromixers for applications in the microreactor and μ TAS fields. *Microfluid Nanofluid* 1, 2, 108–118.
- [37] Harris, D. C. 2014. *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [38] Hassan, S. A., Nashat, N. W., Elghobashy, M. R., Abbas, S. S., Moustafa, A. A., and Mahmoud, A. M. 2022. Novel microfabricated solid-contact potentiometric sensors doped with multiwall carbon-nanotubes for simultaneous determination of bisoprolol and perindopril in spiked human plasma. *Microchemical Journal* 178, 107323.
- [39] Hermann, P., Timmermann, J., Hoffmann, M., Schlüter, M., Hofmann, C., Löb, P., and Ziegenbalg, D. 2018. Optimization of a split and recombine micromixer by improved exploitation of secondary flows. *Chemical Engineering Journal* 334, 1996–2003.
- [40] Hessel, V., Löwe, H., and Schönfeld, F. 2005. Micromixers—a review on passive and active mixing principles. *Chemical Engineering Science* 60, 8-9, 2479–2501.
- [41] Hossain, S., Lee, I., Kim, S. M., and Kim, K.-Y. 2017. A micromixer with two-layer serpentine crossing channels having excellent mixing performance at low Reynolds numbers. *Chemical Engineering Journal* 327, 268–277.
- [42] Hunt, H. C. and Wilkinson, J. S. 2008. Optofluidic integration for microanalysis. *Microfluid Nanofluid* 4, 1-2, 53–79.
- [43] 2002?- Ionenselektive Elektroden [Air Monitoring Methods in German language, 1976]. In *The MAK-collection for occupational health and safety*. Wiley-VCH Verl., Germany, 133–139. DOI=10.1002/3527600418.amionseleld0001.
- [44] Ivorra, B. 2018. Modelling and optimization applied to the design of fast hydrodynamic focusing microfluidic mixer for protein folding. *Journal of mathematics in industry* 8, 1, 1–17.
- [45] Jännig, O. and Nguyen, N.-T. 2011. A polymeric high-throughput pressure-driven micromixer using a nanoporous membrane. *Microfluid Nanofluid* 10, 3, 513–519.
- [46] Jarvis, J. M., Guzinski, M., Pendley, B. D., and Lindner, E. 2016. Poly(3-octylthiophene) as solid contact for ion-selective electrodes: contradictions and possibilities. *J Solid State Electrochem* 20, 11, 3033–3041.
- [47] Jaywant, S. A. and Arif, K. M. 2019. A Comprehensive Review of Microfluidic Water Quality Monitoring Sensors. *Sensors (Basel, Switzerland)* 19, 21.
- [48] Kaliyaraj Selva Kumar, A., Zhang, Y., Li, D., and Compton, R. G. 2020. A mini-review: How reliable is the drop casting technique? *Electrochemistry Communications* 121, 106867.
- [49] Karin Y. Chumbimuni-Torres, Nastassia Rubinova, Aleksandar Radu, Lauro T. Kubota, Eric Bakker. 2006. Solid Contact Potentiometric Sensors for Trace Level Measurements. *Analytical chemistry* 78, 4, 1318.
- [50] Keshavarzian, B. 2018. Optimization of an Active Electrokinetic Micromixer Based on the Number and Arrangement of Microelectrodes. *Journal of applied fluid mechanics* 11, 6, 1531–1541.
- [51] Kofler, J., Schmoltnner, K., Klug, A., and List-Kratochvil, E. J. W. 2014. Hydrogen ion-selective electrolyte-gated organic field-effect transistor for pH sensing. *Appl. Phys. Lett.* 104, 19, 193305.

-
- [52] Kudr, J., Zitka, O., Klimanek, M., Vrba, R., and Adam, V. 2017. Microfluidic electrochemical devices for pollution analysis—A review. *Sensors and Actuators B: Chemical* 246, 578–590.
- [53] Kümmel, W., Ed. 2007. *Technische Strömungsmechanik. Theorie und Praxis*. Springer eBook Collection Computer Science & Engineering. Teubner, Wiesbaden.
- [54] Kuswandi, B., Nuriman, Huskens, J., and Verboom, W. 2007. Optical sensing systems for microfluidic devices: a review. *Analytica chimica acta* 601, 2, 141–155.
- [55] Lee, S. W., Kim, D. S., Lee, S. S., and Kwon, T. H. A split and recombination micromixer fabricated in a PDMS three-dimensional structure. *J. Micromech. Microeng.* 16, 5, 1067. DOI=10.1088/0960-1317/16/5/027.
- [56] Lim, Y. C., Kouzani, A. Z., and Duan, W. 2010. Lab-on-a-chip: a component view. *Microsyst Technol* 16, 12, 1995–2015.
- [57] Lin, B. 2011. *Microfluidics* 304. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [58] Lindner, E. and Buck, R. P. 2000. Microfabricated potentiometric electrodes and their in vivo applications. *Anal. Chem.* 72, 9, 336A–345A.
- [59] Lindner, E., Toth, K., Pungor, E., Berube, T. R., and Buck, R. P. 1987. Switched wall jet for dynamic response measurements. *Anal. Chem.* 59, 17, 2213–2216.
- [60] Lindner, E., Tóth, K., and Pungor, E. 2016. *IUPAC Standards Online*. De Gruyter.
- [61] Liu, M., Han, X., Cao, Q., and Li, L. 2017. Performance analysis of a microfluidic mixer based on high gradient magnetic separation principles. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 50, 36, 365004.
- [62] Liu, X.-J., Peng, B., Liu, F., and Qin, Y. 2007. Potentiometric liquid membrane pH sensors based on calix[4]-aza-crowns. *Sensors and Actuators B: Chemical* 125, 2, 656–663.
- [63] Livak-Dahl, E., Sinn, I., and Burns, M. 2011. Microfluidic chemical analysis systems. *Annual review of chemical and biomolecular engineering* 2, 325–353.
- [64] Marc Platthaus. 2011. Chipbasiertes Titrationsverfahren misst quantitativ und online. *Laborpraxis* (Sep. 2011).
- [65] Mark, D. 2010. Microfluidic lab-on-a-chip platforms: Requirements, characteristics and applications. *Chemical Society reviews* 39, 3, 1153–1182.
- [66] Mark, L. ISE - Leitfaden zur potentiometrischen Messung.
- [67] Morf, W. E. and Simon, W. 1978. Ion-Selective Electrodes Based on Neutral Carriers. In *Ion-Selective Electrodes in Analytical Chemistry*, H. Freiser, Ed. Modern Analytical Chemistry. Springer, Boston, MA, 211–286. DOI=10.1007/978-1-4684-2592-5_3.
- [68] NA_Katalog_Metrosensors_2013_DE.indd.
- [69] Nge, P. N., Rogers, C. I., and Woolley, A. T. 2013. Advances in Microfluidic Materials, Functions, Integration and Applications. *Chemical reviews* 113, 4, 2550–2583.
- [70] Ober, T. J., Foresti, D., and Lewis, J. A. 2015. Active mixing of complex fluids at the microscale. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, 40, 12293–12298.
- [71] Oehme, M. and Simon, W. 1976. Microelectrode for potassium ions based on a neutral carrier and comparison of its characteristics with a cation exchanger sensor. *Analytica chimica acta* 86, 21–25.
-

- [72] Oertel, H. 2012. *Prandtl - Führer durch die Strömungslehre. Grundlagen und Phänomene*. Springer-Link Bücher. Springer Vieweg, Wiesbaden.
- [73] Ogawara, S., Carey, J. L., Zou, X. U., and Bühlmann, P. 2016. Donnan Failure of Ion-Selective Electrodes with Hydrophilic High-Capacity Ion-Exchanger Membranes. *ACS Sens.* 1, 1, 95–101.
- [74] Ogończyk, D., Węgrzyn, J., Jankowski, P., Dąbrowski, B., and Garstecki, P. 2010. Bonding of microfluidic devices fabricated in polycarbonate. *Lab Chip* 10, 10, 1324–1327.
- [75] Panigrahi, P. K. 2016. *Transport phenomena in microfluidic systems*. Wiley, Singapore.
- [76] Perdikaki, K., Tsagkatakis, I., Chaniotakis, N. A., Altmann, R., Jurkschat, K., and Reeske, G. 2002. Selective fluoride recognition and potentiometric properties of ion-selective electrodes based on bis(halodiphenylstannyl)alkanes. *Analytica chimica acta* 467, 1, 197–204.
- [77] Raza, W., Hossain, S., and Kim, K.-Y. 2018. Effective mixing in a short serpentine split-and-recombination micromixer. *Sensors and Actuators B: Chemical* 258, 1, 381–392.
- [78] Raza, W., Hossain, S., and Kim, K.-Y. 2020. A Review of Passive Micromixers with a Comparative Analysis. *Micromachines* 11, 5.
- [79] Raza, W., Hossain, S., and Kim, K.-Y. 2020. A Review of Passive Micromixers with a Comparative Analysis. *Micromachines* 11, 5.
- [80] Raza, W., Ma, S.-B., and Kim, K.-Y. 2018. Multi-Objective Optimizations of a Serpentine Micromixer with Crossing Channels at Low and High Reynolds Numbers. *Micromachines* 9, 3.
- [81] Rein, M. 2020. *Einführung in die Strömungsmechanik*. Göttingen University Press, Göttingen.
- [82] Reschetilowski, W. 2002. *Technisch-Chemisches Praktikum*. Wiley-VCH, Weinheim.
- [83] Rundle, C. ISE Beginners Guide.
- [84] Ryu, K. S., Shaikh, K., Goluch, E., Fan, Z., and Liu, C. 2004. Micro magnetic stir-bar mixer integrated with parylene microfluidic channels. *Lab on a chip* 4, 6, 608–613.
- [85] Sauer-Budge, A. F., Mirer, P., Chatterjee, A., Klapperich, C. M., Chargin, D., and Sharon, A. 2009. Low cost and manufacturable complete microTAS for detecting bacteria. *Lab on a chip* 9, 19, 2803–2810.
- [86] Schmidt, V. M. 2003. *Elektrochemische Verfahrenstechnik*. Wiley.
- [87] Schmidt, V. M. 2003. *Elektrochemische Verfahrenstechnik. Grundlagen, Reaktionstechnik, Prozeß-optimierung*. Wiley-VCH, Weinheim.
- [88] Seiffert, S. 2019. *Microfluidics. Theory and practice for beginners*. De Gruyter textbook. De Gruyter, Boston MA.
- [89] Shao, Y., Ying, Y., and Ping, J. 2020. Recent advances in solid-contact ion-selective electrodes: functional materials, transduction mechanisms, and development trends. *Chem. Soc. Rev.* 49, 13, 4405–4465.
- [90] Shilpa Sivashankar, Sumeyra Agambayev, Yousof Mashraei, Er Qiang Li, Sigurdur T. Thoroddsen, and Khaled Nabil Salama. A “twisted” microfluidic mixer suitable for a wide range of flow rate applications.

-
- [91] Sokalski, T., Ceresa, A., Fibbioli, M., Zwickl, T., Bakker, E., and Pretsch, E. 1999. Lowering the Detection Limit of Solvent Polymeric Ion-Selective Membrane Electrodes. 2. Influence of Composition of Sample and Internal Electrolyte Solution. *Anal. Chem.* 71, 6, 1210–1214.
- [92] Sonntag, O. 1998. Matrixeffekte und ihre Bedeutung bei der Verwendung von Kontrollmaterialien im medizinischen Laboratorium. Matrix Effects with Contrbl Materials in Medical Laboratories. *J Lab Med* 22, 4, 209–216.
- [93] Stone, H. A., Stroock, A. D., and Ajdari, A. 2004. Engineering Flows in Small Devices: Microfluidics Toward a Lab-on-a-Chip. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 36, 1, 381–411.
- [94] Suh, Y. K. and Kang, S. 2010. A Review on Mixing in Microfluidics. *Micromachines* 1, 3, 82–111.
- [95] Tabeling, P. 2010. *Introduction to microfluidics*. Oxford Univ. Press, Oxford.
- [96] Team, E. 2021. Introduction to lab-on-a-chip 2020: review, history and future. *Elveflow*.
- [97] Tseng, H.-Y., Wang, C.-H., Lin, W.-Y., and Lee, G.-B. 2007. Membrane-activated microfluidic rotary devices for pumping and mixing. *Biomedical microdevices* 9, 4, 545–554.
- [98] Umezawa, Y., Bühlmann, P., Umezawa, K., Tohda, K., and Amemiya, S. 2000. Potentiometric Selectivity Coefficients of Ion-Selective Electrodes. Part I. Inorganic Cations (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 72, 10, 1851–2082.
- [99] Umezawa, Y., Umezawa, K., Bühlmann, P., Hamada, N., Aoki, H., Nakanishi, J., Sato, M., Xiao, K. P., and Nishimura, Y. 2002. Potentiometric selectivity coefficients of ion-selective electrodes. Part II. Inorganic anions (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 74, 6, 923–994.
- [100] Umezawa, Y., Umezawa, K., and Sato, H. 2016. *IUPAC Standards Online*. De Gruyter.
- [101] Urbanowicz, M., Pijanowska, D. G., Jasiński, A., Ekman, M., and Bocheńska, M. K. 2019. A miniaturized solid-contact potentiometric multisensor platform for determination of ionic profiles in human saliva. *J Solid State Electrochem* 23, 12, 3299–3308.
- [102] Vanamo, U. and Bobacka, J. 2014. Electrochemical control of the standard potential of solid-contact ion-selective electrodes having a conducting polymer as ion-to-electron transducer. *Electrochimica Acta* 122, 316–321.
- [103] Wedler, G. and Freund, H.-J. 2018. *Lehr- und Arbeitsbuch physikalische Chemie*. Wiley-VCH, Weinheim.
- [104] Wolschin, G. 2021. *Hydrodynamik*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [105] Wunsch, O. 2001. *Strömungsmechanik des laminaren Mischens*. Springer eBook Collection Computer Science and Engineering. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [106] Wunsch, O. 2001. *Strömungsmechanik des laminaren Mischens*. Springer eBook Collection Computer Science and Engineering. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [107] Yang, Z., Matsumoto, S., Goto, H., Matsumoto, M., and Maeda, R. 2001. Ultrasonic micromixer for microfluidic systems. *Sensors and Actuators A: Physical* 93, 3, 266–272.
- [108] Yeo, L. Y. 2011. Microfluidic Devices for Bioapplications. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 7, 1, 12–48.
- [109] Yu, S., Jeon, T.-J., and Kim, S. M. 2012. Active micromixer using electrokinetic effects in the micro/nanochannel junction. *Chemical Engineering Journal* 197, 289–294.
- [110] Zdrachek, E. and Bakker, E. 2019. Potentiometric Sensing. *Analytical chemistry* 91, 1, 2–26.
-

[111] Zdrachek, E. and Bakker, E. 2021. Potentiometric Sensing. *Analytical chemistry* 93, 1, 72–102.