
Prozessierung von Biosensorlösungen Herausforderungen während des Beschichtungs- und Trocknungsprozesses

Zur Erlangung des akademischen Grades einer
DOKTORIN DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (DR.-ING.)

von der KIT-Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte
DISSERTATION

von
Dipl.-Ing. Anna-Lena Walz, geb. Riegel
aus Oberhausen-Rheinhausen

Erstgutachter: Prof. Dr.-Ing. Dr. h. c. Wilhelm Schabel
Zweitgutachter: Prof. Dr. Jürgen Hubbuch
Tag der mündlichen Prüfung: 19. November 2021

„Das Ganze ist mehr als die Summe seiner Teile.“

– griechischer Philosoph Aristoteles (384 – 322 v.Chr.) –
verkürztes Zitat aus Metaphysik VII 17, 1041b

Kurzfassung

Biosensoren stellen mit ihrem einmaligen Funktionsprinzip einen Schlüssel für innovative und zukunftsweisende Technologien dar. Insbesondere Blutzuckerteststreifen erfahren ein beachtliches Maß an Aufmerksamkeit, da bereits über 463 Millionen Menschen weltweit an Diabetes erkrankt sind und die Zahl ständig wächst (Stand 2019). Die elektrochemische Signalübertragung mittels Mediatoren ist zu meist die weitest verbreitete Arbeitsweise. Doch aufgrund der Toxizität der Mediatoren, welche leicht degradieren, setzen neuartige Biosensoren der sog. dritten Generation auf eine direkte Elektronenübertragung zwischen Enzym und Elektrode. Ein attraktiver Weg bietet hierbei die direkte Einbettung der Enzyme in eine elektrisch leitfähige Polymerkompositmatrix, was nicht nur eine Verkürzung des Elektronenübertragungsweges sowie eine Beschleunigung der Signalübertragung verspricht, sondern zugleich in einer potentiell besseren Selektivität resultiert.

Doch trotz der zahlreichen Fortschritte, die bereits auf diesem Gebiet erzielt wurden, stellt die kommerzielle Verfügbarkeit von Biosensoren der dritten Generation eine große Herausforderung dar, da sie meist auf den fachgerechten Gebrauch im Labor ausgerichtet sind. Ein leichtskalierbares Verfahren ist hierzu erforderlich, das über den Labormaßstab hinaus eine angemessene Qualitätssicherheit mit einer sehr hohen Reproduzierbarkeit sicherstellen kann. Dies impliziert zugleich eine äußerst genaue Prozesskenntnis wie auch -kontrolle. Es werden verfahrenstechnische Kernkompetenzen benötigt, die eine Prozessierung von Biosenzorlösungen sowohl im kleinen Batch-Maßstab als auch kontinuierlich im großtechnischen Rahmen erlauben.

Ausgangspunkt der Arbeit ist daher die Hypothese, dass sich funktionsfähige Biomoleküle unter Wahrung ihrer katalytischen Integrität in elektrisch leitfähigen Polymerkompositsschichten immobilisieren lassen, sofern eine genaue Prozesskenntnis eine kontrollierte Applikation direkt aus der Flüssigphase erlaubt. Ziel ist die Verifizierung oder Falsifizierung dieser Hypothese durch Identifikation und Quantifizierung des Prozesseinflusses auf die Schichteigenschaften mit besonderem Fokus auf enzymspezifische Anforderungen. Das betrachtete Modellstoffsystems besteht aus PEDOT:PSS-PVA als Polymerkompositmatrix und in Puffer gelöster FAD-GDH als biologisches Rezeptormolekül, eine neuartige Materialpaarung,

welche potentiell Anwendung bei der Entwicklung von Biosensoren der dritten Generation finden soll. Die Arbeit besteht dazu aus zwei Teilen: im ersten Teil erfolgte aus Kostengründen und limitierter Verfügbarkeit des Enzyms zunächst ausschließlich die Prozessierung der Polymerkompositmatrix PEDOT:PSS-PVA in Abwesenheit des Enzyms. Zur Identifikation und Abklärung enzyspezifischer Stressfaktoren, welchen das Enzym während der Prozessierung ausgesetzt ist, standen das in Puffer gelöste Enzym FAD-GDH, dessen katalytische Integrität sowie die Prozessierbarkeit im Mittelpunkt des zweiten Teils.

Im ersten Teil wurden die Schichten mittels Rakel- und Schlitzgussverfahren direkt aus der Flüssigphase appliziert. Unter dem Aspekt eines einfachen Skale-ups hin zu einer kostengünstigen Massenproduktion wurde die eingesetzte Technologie erfolgreich auf ihre spätere Anwendbarkeit geprüft, sodass eine flächige Prozessierung bei äußerst guter Prozesskontrolle – gerade hinsichtlich Schichtdicke und Reproduzierbarkeit – möglich ist. Bei Erfassung der elektrischen Leitfähigkeit wurde unter produktionsnahen Beschichtungsbedingungen eine bisher in der Literatur noch nicht dokumentierte, zusammensetzungsabhängige Schichtdickenabhängigkeit aufgezeigt, welche insbesondere für dünnere Schichten ($h_{tr} < 300$ nm) ausgeprägt ist, mit zunehmender Schichtdicke abnimmt und mittels eines Potenzansatzes quantifiziert werden kann. Was das Zusammenspiel von Beschichtungsprozess und elektrischer Leitfähigkeit angeht, schließt diese Arbeit unmittelbar an die in der Literatur dokumentierte Sensitivität der Schichteigenschaften gegenüber Prozessparametern an und geht durch isolierte Betrachtung des Beschichtungsprozesses, losgelöst vom Trocknungsschritt, über die Untersuchungen in jüngster Zeit hinaus. Allein die Trockenschichtdicke stellte sich unter exakt definierten Randbedingungen als dominierender Einflussfaktor heraus, der postulierte Einfluss von Scherkräften war nicht zu beobachten. Das insbesondere bei der Schleuderbeschichtung beobachtete Wechselspiel von Prozess, Morphologie und elektrischer Leitfähigkeit legt nahe, dass nicht der reine Beschichtungsprozess, sondern vielmehr die überlagerte und simultan veränderte Trocknungskinetik Ursache für die prozessbedingte Modifikation der elektrischen Leitfähigkeit ist. In Anlehnung an den aus der Literatur bekannten Einfluss der wassersensitiven Leitfähigkeit von PEDOT:PSS wurde erfolgreich die Wasseraufnahme nach Flory-Huggins (1953) quantifiziert, das von Kachel et al. (2013) vorgeschlagenen Überlagerungsmodell für Biosensoren zum ersten Mal auch für leitfähige Polymerkompositmatrizen angewendet und in Kontext des engen Zusammenhangs zur elektrischen Leitfähigkeit gesetzt.

Um das Zusammenspiel von Prozess und Schichteigenschaften in Anwesenheit der katalytisch aktiven Komponente geeignet zu erfassen, wurde im zweiten Teil der Arbeit zunächst ein spektrophotometrisches Nachweisverfahren als Analysewerkzeug entwickelt, das über die Enzymkinetik die katalytische Funktion des Enzyms bestimmt. Die Bereitstellung eines vollständigen Sensors war somit in diesem Entwicklungsstadium nicht erforderlich. Unter Berücksichtigung des Wechselspiels der Komponenten im Film wurden in einem weiteren Schritt Richtlinien abgeleitet, die die Prozessierung homogener und katalytisch aktiver Polymerkompositschichten des genannten Modellstoffsystems erlauben. So fiel dem Filmbildner PVA eine Schlüsselrolle zu, da bspw. das Puffersalz-zu-PVA Verhältnis Filmhomogenität und Prozessierbarkeit steuert, zugleich ein hoher PVA-Gehalt aber auch den Schutz des Enzyms gegenüber Inaktivierung verbessert. Basierend auf den analysierten Filmzusammensetzungen ergaben sich zwei Kompositionen, die die abgeleiteten Richtlinien erfüllen und zur weiteren Analyse enzymespezifischer Stressfaktoren in Frage kamen. Schlussendlich wurde auf das System mit einem höheren Enzymgehalt zurückgegriffen, um so eine höhere Sensitivität gegenüber potentiellen Einflussfaktoren zu erzielen. Trocknung und Lagerung wurden in der Studie priorisiert, da sie sich in einer vergleichenden Gegenüberstellung der Ergebnisse des gelösten Enzyms als Hauptbelastungsfaktoren erwiesen hatten. Insgesamt wurde eine erhebliche Steigerung der Thermostabilität des Enzyms im eingebetteten Zustand beobachtet. Trocknungstemperatur, -geschwindigkeit oder thermische Belastungsdauer spielten eine untergeordnete Rolle. Die Polymerkompositmatrix bietet einen sehr guten Schutz. Festzuhalten war dennoch ein Einfluss auf die Schichtmorphologie: bei zunehmender Intensivierung der Trocknungsbedingungen war eine Abnahme der Reproduzierbarkeit mit einer Verschlechterung der Filmqualität verbunden. Abschließend zeigte grundsätzliche Übertragbarkeit in einem sog. ‚Proof of Concept‘, dass bei Anwesenheit des in Puffer gelösten Enzyms in der Polymerkompositmatrix nicht mit einer Beeinträchtigung der elektrischen Leitfähigkeit zu rechnen ist.

Insgesamt legen die Ergebnisse dieser Arbeit damit einen wichtigen Grundstein zur Einschätzung wesentlicher Einflussparameter bei der Beschichtung und Trocknung von Biosensordlösungen und unterstreichen zugleich die Eignung des Modellstoffsystems, als potentielle Materialpaarung künftiger Biosensoren, direkt aus der Flüssigphase beschichtet zu werden.

Abstract

Biosensors offer a unique operating system which constitute as a key in innovative and pioneering technologies. Especially blood sugar test strips have been and still are attracting a lot of interest since already 463 million people worldwide suffer from diabetes and the number is continuously growing (2019). In this context, biosensors employing electrochemical signal transfers via mediators are the most commonly used mode of operation. However, having the toxicity and degradation of these small molecules in mind, novel biosensors of the so-called third generation aim at directly transferring the electron from the enzyme to the electrode. In this regard, a promising way is the direct embedding of the active component into a conductive polymeric matrix, thereby reducing the electronic pathway and accelerating the signal transfer while simultaneously resulting in an improved selectivity.

Despite the numerous achievements in this field, the commercial availability of third generation biosensors remains a great challenge since they are mainly geared to professional laboratory use. Therefore, easily scalable processes are required that allow a transfer from laboratory scale to mass production while maintaining an appropriate product quality as well as a high reproducibility. At the same time, these requirements imply a very profound knowledge of the process itself as well as precise process control. Core competencies in the field of process engineering are needed in order to apply biosensor solutions not only in small batches but also continuously on a larger technical scale.

Starting point of the present work is the hypothesis that functioning biomolecules can be immobilized into a conductive polymer composite matrix while maintaining the catalytic activity, given that a thorough understanding of the coating process allows a controlled application directly from the liquid phase. The aim is the verification or falsification of this hypothesis by identifying and quantifying the impacts of the process on the film properties with particular focus on enzyme specific requirements. PEDOT:PSS-PVA was used as a polymeric composite matrix and in puffer dissolved FAD-GDH was used as a biological receptor molecule; altogether, this is an entire novel combination of materials which is supposed to promote the development of third generation biosensors. Therefore, the present work consists of two parts: in part one, the processing of the polymer composite matrix

was investigated in abundance of the enzyme due to its limited availability and high cost. The second part focused on the identification and clarification of enzyme specific stress factors that occur during processing, making the catalytic activity of the enzyme and the processability were in the center of interest.

As far as part one is concerned, all films were produced by knife or slot die coating directly from the liquid phase. Intending an easy scale-up with subsequent cost-effective mass production, the applicability of the used technology was successfully proven, enabling large planar coatings at maximized process control with respect to film thickness and reproducibility. Thus, when the electrical conductivity was recorded under realistic operation conditions, a so far in literature unmentioned correlation with the film thickness was stated. Depending on the film composition, this observation was more pronounced in thin coatings ($h_{dry} < 300$ nm), decreased with rising film thickness, and was quantified with a power law approach. Considering the interaction of coating process and electrical conductivity, this work directly took up the sensitivity of film properties towards processing mentioned in research and goes even beyond it. By isolating the coating process from the drying impact and focusing on precise and well-defined settings of the former, solely the film thickness of the dry coating was determined as the dominating factor; a postulated impact of shear forces as reported in literature was not confirmed. Most likely, such an interconnection between process, morphology, and electric conductivity is traced back to an overlap with the drying kinetics and not only caused by the process step itself since this phenomenon is commonly mentioned in the context of spin coating. Utilizing the known impact of water take-up into PEDOT:PSS coating, the sorption isotherms of the pure components as well as the mixtures were successfully measured. The sorption behavior of the pure components was described with an approach by Flory-Huggins (1953). For the first time, the superposition model for biosensor coating proposed by Kachel et al. (2013) was successfully applied to characterize the water up-take of the conductive polymer composite matrix, thereby linking the water sorption to the loss of conductivity.

With regards to the second part, first a spectrophotometric procedure was developed as an analysis tool in order to sufficiently assess the correlation between process and film properties in the presence of the enzyme. It is based on the detection of the enzyme kinetics so that providing an entire sensor was not mandatory at this stage of research. By focusing on the interconnection between the components in the film, guidelines were then derived to enable the processing of homogeneous

and highly catalytic active polymer composite films. As a result, the film-forming polymer PVA played an important role since the ratio of buffer salt to PVA determined processability and homogeneity of the films. At the same time, a high amount of PVA in the film mimicked the natural surroundings of the enzyme and protected the enzyme against external impacts more sufficiently. Altogether, two film compositions were worth considering enzyme specific stress factors since they fulfilled the previously derived guidelines. In the end, the composition with a higher amount of enzyme was picked, promising a higher sensitivity towards potential external influences. Drying and storage were prioritized in this work. Both impacts were found to be the main stress factors when considering the results of enzyme dissolved in buffer. Overall, a great improvement of the thermal stability of the immobilized enzyme was observed. Neither the drying temperature, the drying velocity, nor the thermal exposure time played an important role. When solely considering the enzymatic activity, the polymer composite matrix was able to provide an extraordinary protection against external impacts. However, more intense drying conditions reduced reproducibility and film quality when looking the film morphology. Having the electric conductivity in mind, a transferability of the results was shown in a ‘proof of concept’ with the enzyme being present. No negative impact is expected.

In conclusion, the results of the current work constitute an important foundation for a profound evaluation of the main impact parameters that occur during coating and drying of biosensor solutions. They emphasize the suitability of the applied model system when being coated directly from the liquid phase, and guide the way towards a novel pairing of materials meant for third generation biosensors.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	i
Abstract	v
Inhaltsverzeichnis	ix
Symbol- und Abkürzungsverzeichnis	xiii
Vorwort	xvii
1 Einleitung.....	1
1.1 Einführung	1
1.2 Ausgangspunkt der Arbeit	4
1.2.1 Enzyme – Aufbau, Funktion und Stressfaktoren	4
1.2.2 Immobilisierungsmatrix aus elektrisch leitfähigen Polymeren.....	8
1.2.3 Herausforderungen bei der Prozessierung von Biosensor- lösungen.....	12
1.3 Zielsetzung der Arbeit.....	16
2 Experimentelles.....	19
2.1 Herstellung der Beschichtungslösungen	20
2.2 Beschichtung und Trocknung	21
2.3 Filmhomogenität.....	26
2.3.1 Bestimmung der Schichtdicke	26
2.3.2 Visualisierung der Oberflächentopographie	27
2.4 Elektrische Leitfähigkeit.....	28
2.4.1 Vier-Punkt-Messmethode.....	29
2.4.2 Experimentelle Durchführung	31
2.4.3 Kombinierte Sorption	32
2.5 Sorption.....	32
2.6 Enzymaktivität	34
2.6.1 Protein-Assay.....	34
2.6.2 Bestimmung der Enzymkinetik von FAD-GDH – Der Aktivität-Assay	36
2.6.3 Filmanalyse.....	40

3	Prozessierung der Polymerkompositmatrix	45
3.1	Experimentelle Vorgehensweise.....	45
3.2	Analyse des Beschichtungsprozesses	48
3.2.1	Vergleich verwendeter Beschichtungsverfahren	50
3.2.2	Optimierung des Batch-Prozesses	53
3.3	Elektrische Leitfähigkeit der Polymerkompositmatrix	57
3.3.1	Filmkomposition	57
3.3.2	Rolle der Schichtdicke.....	60
3.4	Prozesseinfluss auf die elektrische Leitfähigkeit	67
3.4.1	Systematische Analyse	68
3.4.2	Beschichtungsspalt	71
3.4.3	Schichtdicke	74
3.5	Wassersorption in die Polymerkompositmatrix	78
3.6	Fazit	86
4	Prozessierung von katalytisch aktiven Polymerkompositfilmen	89
4.1	Experimentelle Vorgehensweise.....	89
4.2	Optimierung der Filmzusammensetzung	92
4.2.1	Homogenität und Prozessierbarkeit.....	92
4.2.2	Katalytische Aktivität der hergestellten Filme	95
4.3	Einfluss der Trocknungs- bzw. Prozesstemperatur	103
4.3.1	Enzymaktivität.....	103
4.3.2	Schichtmorphologie.....	106
4.4	Betrachtung verschiedener Trocknungsszenarien.....	111
4.4.1	Thermische Belastungsdauer	114
4.4.2	Schnelle Trocknung bei konstanter Temperatur	117
4.4.3	Schonende Trocknung	120
4.4.4	Langzeitstabilität und Lagerung	124
4.5	Analyse der elektrischen Leitfähigkeit eines katalytisch aktiven Films – Proof of Concept.....	127
4.6	Fazit	132
5	Schluss	137
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	137
5.2	Ausblick.....	141
	Literaturverzeichnis.....	143
	Anhang	169

A	Verwendete Materialien.....	169
B	Konstruktionszeichnungen.....	170
C	Ergänzende Informationen zur Schlitzgussbeschichtung.....	173
	C.1 Verfahren.....	173
	C.2 Stabile Beschichtung und Beschichtungsfenster	175
D	Betriebspunkte und Prozessparameter	176
	D.1 Prozessparameter der Rakelbeschichtung.....	176
	D.2 Beschichtungsparameter für Prozessanalyse und -einfluss	177
E	Charakterisierung der Beschichtungstinten.....	180
F	Charakterisierung der Polymerkompositfilmen	182
	F.1 Geometrie des Beschichtungssubstrats und Schnittkanten	182
	F.2 Messpositionen zur Bestimmung der Schichtdicke	183
	F.3 Optimierung des Batch-Prozesses	183
	F.4 REM-Aufnahmen	184
	F.5 Entwicklung der Schichtdicke mit Beschichtungslänge ...	185
G	Ergänzende Informationen zur Vier-Punkt-Messmethode.....	185
	G.1 Bestimmung des Geometriefaktors nach Smits	185
	G.2 Schichtdickenkorrekturfaktor	187
H	Optimierung des Leitfähigkeitsmessprofils	188
I	Ergänzende Leitfähigkeitsmessungen.....	191
	I.1 Einfluss der Lagerungsdauer unter Stickstoffatmosphäre .	191
	I.2 Auflistung der abgeleiteten Fitparameter a und b zur Beschreibung der elektrischen Leitfähigkeit	192
	I.3 Stabilität des Messsignals und Reversibilität des Sorptionprozesses.....	194
J	Konstruktionszeichnung der Sorptionskammer mit kombinierter Leitfähigkeitsmessung	196
K	Flory-Huggins Theorie und Fitparameter	197
L	Abschätzung der Sorptionskinetik	199
	L.1 Simulationsergebnisse der Abschätzung.....	200
M	Gasseitig kontrollierte Trocknung	202
	M.1 Abschätzung der Trocknungsdauer	202
	M.2 Untersuchte Trocknungsszenarien.....	206
N	Oberflächentopographie bei Variation der Zusammensetzung	207
	N.1 Schichtdicke.....	207
	N.2 Lichtmikroskopie.....	208
	N.3 Ergänzende REM-Aufnahmen.....	208

N.4	Ergänzende AFM-Aufnahmen und Oberflächenrauheit....	210
O	Oberflächentopographie bei Variation der Herstellungs- bedingungen.....	213
O.1	Ergänzende REM-Aufnahmen	213
O.2	Ergänzende AFM-Aufnahmen und Oberflächenrauheit....	220
P	Ergänzungen zur Filmanalyse.....	222
P.1	Titration.....	222
Q	Ergänzende Informationen zum BCA-Assay.....	222
Q.1	Kalibrierfunktion des BCA-Assays	222
Q.2	Temperaturabhängigkeit des korrigierten Blindwertes der Referenzfilme	223
R	Evaluierung der Anwendbarkeit des Lowry-Assays.....	223
S	Ergänzende Informationen zum Aktivität-Assay.....	226
S.1	Herleitung der molaren Reaktionsrate	226
S.2	Kalibrierfunktion des Aktivität-Assays	228
S.3	Abhängigkeit des Farbstoffspektrums von Lösemittel und pH.....	228
S.4	Abhängigkeit der Enzymaktivität von DMSO	229

Symbol- und Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen

Abkürzung	Beschreibung
AFM	Rasterkraftelektronenmikroskopie (engl. atomic force microscopy)
BCA	Bicinchoninsäure (engl. bicinchonic acid)
BCT	Batch-Coater-Trockner
CNT	Comb-Nozzle©-Trockner
DCPIP	2,6-Dichlorophenolindophenol
DD	Doppelt destilliertes
DET	Direkte Elektronenübertragung (engl. direct electron transfer)
DMSO	Dimethylsulfoxid
EG	Ethylenglykol
FAD-GDH	Flavinadenindinukleotid abhängige Glucose-Dehydrogenase
Gew.-%	Gewichtszent
KH ₂ PO ₄	Kalim Dihydrogenphosphat
K ₂ HPO ₄ *3H ₂ O	Di-Kaliumhydrogenphosphat Trihydrat
NMP	N-Methyl-2-Pyrrolidon
PAA-PVI	Polyacrylsäure-Polyvinylimidazol
PB	Phosphatpuffer (engl. phosphate buffer)
PEDOT:PSS	Poly-3,4-ethylendioxythiophen:Polystyrolsulfonat
PVA	Polyvinylalkohol
R	Rakel
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RODI	Durch Umkehrosmose gewonnen (engl. Reverse Osmosis/De-Ionised)
SD	Schlitzdüse
TS	Testsystem
VE	vollentsalz

Lateinische Buchstaben

Symbol	Beschreibung	Einheit
A	Absorbanz	–
A	Fläche	m^2
a	Aktivität	–
\tilde{c}	molare Konzentration	$mol/l = M$
c_p	isobare spez. Wärmekapazität	$J/(kg \cdot K)$
C_{Smits}	Geometriefaktor	–
F	Korrekturfaktor	–
h	Höhe	μm
I	Strom	A
I	Intensität	W/m^2
l	Schichtdicke einer Küvette	cm
L_c	Charakteristische Länge	m
\tilde{M}	Molare Masse	g/mol
\dot{m}	Trocknungsrate	$g/(m^2s)$
MW_{abw}	Mittelwertabweichung	nm
p	Druck	bar
R	Widerstand	Ω
R_a	arithmetische Rauheit	nm
R_q	quadratisch gemittelte Rauheit	nm
R_t	Rautiefe	nm
\tilde{r}	molare Reaktionsrate	$\mu mol_{Glucose}/l \cdot min$ $= \mu M_{Glucose}/min$
\tilde{r}_s	molar-spezifische Reaktionsrate	$\mu mol_{Glucose}/(min \cdot nmol_{FAD-GDH})$
rH	relative Luftfeuchte	%
T	Temperatur	$^{\circ}C$
t	Zeit	s
U	Spannung	V
u	Geschwindigkeit	m/s
V	Volumen	ml
\dot{V}	Volumenstrom	ml/min
VI	Vertrauensintervall	nm
X	Beladung	–

x, y	Massenbruch	—
\tilde{x}, \tilde{y}	Molenbruch	—

Griechische Buchstaben

Symbol	Beschreibung	Einheit
α	Wärmeübergangskoeffizient	$W/(m^2K)$
α	Steigungswinkel	—
β	Stoffübergangskoeffizient	m/s
γ	Aktivitätskoeffizient	—
$\dot{\gamma}$	Scherrate	$1/s$
δ	Diffusionskoeffizient	m^2/s
$\Delta\sigma_{norm}$	normalisierte Leitfähigkeitsreduktion	—
ϵ_i	molarer Absorptionskoeffizient	$l/(mol \cdot cm)$
ζ	Abweichungsfaktor	—
η	dynamische Viskosität	$mPas$
ϑ	Temperatur	$^{\circ}C$
κ	Temperaturleitfähigkeit	m^2/s
λ	Wellenlänge	nm
λ	Wärmeleitfähigkeit	$W/(K \cdot m)$
ν	kinematische Viskosität	m^2/s
\tilde{v}_i	spezifisches molares Volumen	m^3/mol
$\tilde{\rho}$	molare Dichte	mol/m^3
ρ	Dichte	kg/m^3
ρ	spez. Widerstand	$\Omega \cdot m$
ρ_s	spez. Schichtwiderstand	Ω
σ	Oberflächenspannung	mN/m
σ	elektrische Leitfähigkeit	mS
σ_s	spez. Schichtleitfähigkeit	S/m
ϕ, φ	Volumenbruch	—
χ	Wechselwirkungsparameter	—

Indizes

Symbol	Beschreibung
crit	kritisch
F	Film
G	Spalt (engl. gap)
g	Gasphase
i	Komponente i
konst	konstant
norm	normalisiert
P	Polymer
ph	Phasengrenze
s	spezifisch oder fest (solid)
SÜ	Stoffübertragung
tau	Taupunkt
theo	theoretisch
tr	trocken
W	Wasser
WÜ	Wärmeübertragung
∞	im Bulk

Dimensionslose Größen

Symbol	Beschreibung	Einheit
Ca	Kapillar-Zahl	$Ca = \frac{\eta \cdot u_{Besch}}{\sigma}$
G	dimensionsloser Spalt	$G = \frac{h_G}{h_{nass}}$
Le	Lewis-Zahl	$Le = \frac{Sc}{Pr} = \frac{\kappa}{\delta_{ig}} = \frac{\lambda_g}{\tilde{\rho} \cdot \tilde{c}_{pg} \cdot \delta_{ig}}$
Pr	Prandtl-Zahl	$Pr = \frac{\nu}{\kappa} = \frac{\nu \cdot \tilde{\rho} \cdot \tilde{c}_{pg}}{\lambda}$
Re	Reynolds-Zahl	$Re = \frac{u \cdot L_c}{\nu}$
Sc	Schmidt-Zahl	$Sc = \frac{\nu}{\delta_{ig}}$

Vorwort

Der Hauptteil der vorliegenden Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe Thin Film Technology (TFT) am Institut für Thermische Verfahrenstechnik (TVT) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) in der Zeit von Januar 2013 bis Februar 2020. Finalisierung und Feinschliff erfolgte während meiner Tätigkeit bei BASF SE ab Juni 2020. Auf diesem Weg haben mich viele Menschen begleitet und unterstützt, bei denen ich mich an dieser Stelle bedanken möchte.

Dazu möchte ich mich zunächst bei meinem Doktorvater Prof. Wilhelm Schabel und Philip Scharfer für die fachliche Betreuung meiner Arbeit und das Vertrauen in mich bedanken, wie auch die Freiheiten bei der Gestaltung und Durchführung meiner Arbeit. Prof. Jürgen Hubbuch danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferats. Margit Morvay danke ich für ihre hervorragende Unterstützung bei den vielen verwaltungstechnischen Tätigkeiten, die oft notwendig waren. Außerdem danke ich den Mitarbeitern der Institutswerkstatt, die mich bei der Realisierung von Versuchsaufbauten und der Fertigung von verschiedenen Anlagenteilen unterstützt haben. Für die finanzielle Förderung danke ich Roche Diagnostics GmbH sowie dem Bundesministerium für Bildung und Forschung. Letzteres hat im Rahmen des Verbundforschungsprojekts „Molecular Interaction Engineering: From Nature’s Toolbox to Hybrid Technical Systems“ der Helmholtz-Gemeinschaft ein einzigartiges Forschungsnetzwerk mit interdisziplinärer Zusammenarbeit geschaffen.

Mein besonderer Dank gilt meinen Mitdoktoranden, die mit mir Büro, Labor und Arbeitsalltag geteilt haben, mit Ideen, Ratschlägen und Diskussionen zum Erfolg meine Arbeit beigetragen haben und bei Rückschlägen oder Misserfolgen immer unterstützende Worte und ein offenes Ohr für mich hatten. Ich hatte die Möglichkeit nicht nur mit Arbeitskollegen, sondern auch mit Freunden zusammenzuarbeiten. Hierbei möchte ich mich insbesondere bei Susanna Baesch und Sebastian Raupp bedanken, mit denen ich die meiste Zeit am Institut ein Büro geteilt habe und die meine Zeit am Institut auf fachlicher wie auch persönliche Ebene bereichert haben. Meinen Kollegen Marcel Schmitt, Michael Baunach, Felix Buss, David Siebel, Ralf Diehm und Max Tönsmann haben meine Arbeit in einer Vielzahl

von konstruktiven Diskussionen weiter vorangebracht und ihre Impulse zum Gelingen der Arbeit beigetragen. Weiterhin geht mein Dank auch an meine ehemaligen Kollegen, Lukas Wengeler und Sibylle Schlegel-Kachel, die auch nach ihrer Zeit weiterhin erreichbar waren und für fachliche Fragen immer zur Verfügung standen. Ebenso danke ich Carsten Radtke und Josefine Morgenstern für die ausgezeichnete Zusammenarbeit im Rahmen unseres gemeinsamen MIE-Projekts.

Mein besonderer Dank geht ferner an meine Studenten, Huyen-Tram Tran, Annika Scheuermann, Kathi Heithausen, Verena Haas, Guillermo Puerta Dominguez, Amelie Burkhart, Nora Reichelt, Lana Liebl, Christian Dallmann, Vanessa Schäfer, Linda Möhlendick, Katrin Schmitt, Nico Kern, Nils Müller, Monika Wolf, Karoline Kozubski und Nike Trudel. Ihre Beiträge und Ergebnisse waren eine unverzichtbare Hilfe beim Erstellen meiner Arbeit und haben durch ihr Engagement und Kreativität einen großen Beitrag zum Gelingen beigetragen.

Aber auch darüber hinaus möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie bedanken, die mir den nötigen Rückhalt gaben, mich immer unterstützt und ermutigt haben und in allen Phasen meiner Arbeit für mich da waren. Mein Dank geht an meine Eltern und Schwiegereltern, an Barbara, Kathrin und Ute, welche durch ihren positiven Einfluss, ihre Inspiration und Motivation mir sehr geholfen haben und beiseite standen. Ganz besonders danke ich meinem Mann Dominik, der mir immer den Rücken freigehalten hat, mich im Alltag auch in den einfachen Dingen ständig unterstützt hat, ohne dessen Hilfe ein erfolgreicher Abschluss dieser Arbeit nicht vorstellbar wäre und der immer an mich geglaubt hat – danke für alles.

Ich wünsche allen Lesern dieser Arbeit viel Spaß bei der Lektüre,

Altlußheim im Oktober 2021

Anna-Lena Walz

1 Einleitung

1.1 Einführung

Biosensoren, ein weitverbreitetes analytisches Werkzeug, stellen mit ihrem einmaligen Funktionsprinzip einen Schlüssel für innovative und zukunftsweisende Technologien dar (Amine et al., 2006; Heller & Feldman, 2008). Sie zeichnen sich durch ihre hohe Selektivität und Sensitivität sowie ihre Einfachheit in der Handhabung aus (Wang, 2008). Neben der Verwendung im Gesundheitswesen und der Lebensmittelindustrie kommen sie auch in der Umweltbranche und bei der Bioprozesskontrolle zum Einsatz, wodurch sie sich als ein unverzichtbares Werkzeug in Diagnostik und Prognostik etabliert haben (Hall, 1995). Durch ihre vielfältigen Einsatzmöglichkeiten sind sie aus heutiger Sicht nicht mehr aus dem Alltag wegzudenken. Bahadir und Sezgintürk (2015) schätzen ihren Markt auf etwa 12 Milliarden US-Dollar und verweisen auf den stetig steigenden Bedarf an medizinischer Versorgung aufgrund des Bevölkerungswachstums. Insbesondere Glucose-Sensoren erfahren ein beachtliches Maß an Aufmerksamkeit, da bereits über 463 Millionen Menschen weltweit an Diabetes erkrankt sind und die Zahl ständig wächst (International Diabetes Federation, 2019). Mit 85 % nehmen Blutzucker-teststreifen einen großen Anteil auf dem Biosensormarkt ein und spielen auch im Privatgebrauch der Diabetiker eine wichtige Rolle (Mehrotra, 2016; Turner, 2013; Wang, 2008).

Unter Biosensoren versteht man eine abgeschlossene Einheit, bestehend aus biochemischem Rezeptor und Transducer. Der Rezeptor, ein biologisches Erkennungselement, das eine analytische Information bereitstellt, steht in unmittelbarem Kontakt zum Transducer. Dieser übersetzt das erzeugte Biosignal in ein elektrisch messbares Signal und wandelt es über ein Signalverarbeitungselement in eine lesbare Form, die bspw. auf einem Display ausgelesen werden kann (Thévenot et al., 2001). Biosensoren können in ihrem Charakter weithin variieren. Der Rezeptor, ein Enzym, Antikörper oder ganze Zellen, gewährleistet dabei die erforderliche hohe Selektivität des Sensors gegenüber einem spezifischen Analyten; derweil hängt die Signalübertragung des Transducers von dessen Design ab – sei es die am weitest verbreitete elektrochemische Form, der optische oder kalorimetrische Weg oder ein piezoelektrisches Element.

Mit Blick auf Einmal-Blutzuckerteststreifen findet insbesondere die amperometrische Arbeitsweise verbreitete Anwendung. Hierbei bilden die enzymkatalytische Oxidation von Glucose¹ und die Übertragung der dabei freigesetzten Elektronen an die Elektrode die Grundlage des eingesetzten biochemischen Mechanismus (Ferri, 2011). Anhand des elektrisch gemessenen Signals wird anschließend auf die Glucosekonzentration im Blut geschlossen. Basierend auf der Art der Elektronenübertragung zwischen Enzym und Elektrode werden nach Ferri (2011) drei verschiedene Entwicklungsstadien amperometrischer Glucosesensoren unterschieden (vgl. Abbildung 1.1).

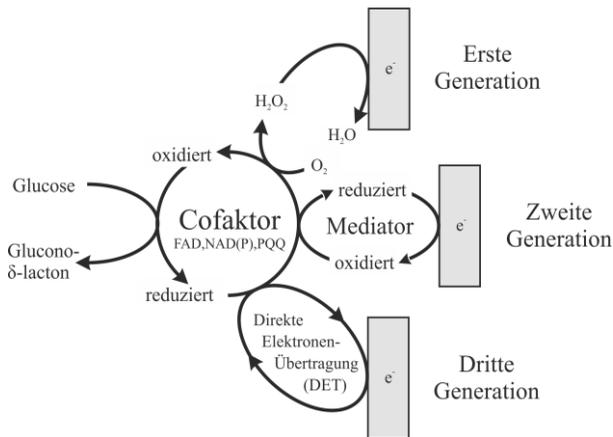


Abbildung 1.1: Entwicklung der drei Generationen amperometrischer Glucosesensoren: Das vom Cofaktor aufgenommene Elektron wird entweder mittels Sauerstoff (erste Generation), mit Hilfe eines synthetischen Mediators (zweite Generation) oder direkt (dritte Generation) zur Elektrode übertragen (Ferri, 2011). (DET: engl. direct electron transfer)

Der erste amperometrisch arbeitende Glucosesensor wurde 1962 von Clark und Lyons vorgestellt (Clark Jr. & Lyons, 1962). Als Vertreter der ersten Generation fand bei diesem damals das Enzym Glucose-Oxidase Anwendung. Im Hinblick auf den Elektronentransport fungiert Sauerstoff unter Bildung von Wasserstoffperoxid als Elektronenakzeptor. Durch die daraus resultierende Sauerstoffabhängigkeit der

¹ Im Speziellen fungiert in diesem Zusammenhang der Cofaktor des Enzyms als Elektronenakzeptor, indem er das bei der Oxidation freiwerdende Elektron überträgt und so selbst von der oxidierten in die reduzierte Form wechselt (Ferri, 2011).

enzymkatalytischen Reaktion ist der Einsatz von natürlichem Sauerstoff aus Umgebungsluft mit erheblichen Unsicherheiten behaftet, da unter Sauerstoffmangel insbesondere die Messgenauigkeit der Sensoren limitiert wird. Vor diesem Hintergrund werden in der zweiten Generation niedermolekulare, meist eisenhaltige Verbindungen, sogenannte Mediatoren, genutzt, die einen homogenen Elektronentransfer mit dem Redox-Protein und somit einen sauerstoffunabhängigen Betrieb erlauben (Albery & Craston, 1987; Wang, 1999; Wang, 2008). Abhängig von den eingesetzten Materialien und Techniken existiert eine Vielzahl an Modifikationen von Elektrode und Enzym, die stabil und effektiv arbeiten (Monteiro & Almeida, 2019) und als kommerzielles Produkt auf dem Markt auch für den Endverbraucher erhältlich sind (Rusling et al., 2008). Dennoch besteht ein großes Interesse an der Weiterentwicklung der Glucosesensoren hin zur dritten Generation, welche auf eine mediatorfreie und somit direkte Übertragung der Elektronen (engl. direct electron transfer, DET) setzen (Ghindilis et al., 1997; Monteiro & Almeida, 2019; Wang, 2008; Zhao et al., 2008). Die Eliminierung des synthetischen, meist toxischen und leicht degradierenden Mediators verbessert die Stabilität und insbesondere die Selektivität der Sensoren, da aufgrund fehlender zusätzlicher Ladungsträger unerwünschte Nebenreaktionen mit anderen, im Film enthaltenen Redox-Komponenten unterbunden werden (Ferri, 2011; Gerard et al., 2002; Monteiro & Almeida, 2019; Palomera et al., 2011; Wang, 2008). Aufgrund der räumlichen Nähe zwischen Enzym und Elektrode verkürzt sich zugleich der Übertragungsweg, sodass diese Sensoren von einer schnelleren Signalübertragung profitieren. Ebenso verspricht die Verwendung weniger Reagenzien eine Vereinfachung der Herstellung wie auch eine Reduktion der Produktionskosten (Monteiro & Almeida, 2019).

Trotz der zahlreichen Fortschritte, die bereits auf diesem Gebiet erzielt wurden, stellt die kommerzielle Verfügbarkeit von Biosensoren der dritten Generation eine große Herausforderung dar – so bspw. der Umstand, dass für ihre Herstellung häufig geschultes Personal erforderlich ist, da ihre Entwicklung dem Lösen spezifischer wissenschaftlicher Aufgabenstellungen im Laborumfeld dient. Dies macht sie für eine kostengünstige Produktion im großen Maßstab und mit hoher Stückzahl ungeeignet (Alvarez-Icaza & Bilitewski, 1993). Nach Hilditch und Green (1991) liegt genau darin – der Entwicklung von Sensoren, die eine Fertigung in hoher Stückzahl erlauben – die große Herausforderung und zugleich Limitierung von Einwegteststreifen. Um daher über den Labormaßstab hinaus eine angemessene Qualitätssicherheit mit einer sehr hohen Reproduzierbarkeit innerhalb der Chargen sicherstellen zu können, ist ein leicht skalierbares Verfahren Grundvoraussetzung. Dies impliziert zugleich eine äußerst genaue Prozesskenntnis wie

auch -kontrolle, da nicht alle experimentellen Parameter, die die Sensorperformance beeinflussen können, bekannt oder in ihrer Gesamtheit verstanden sind. (Alvarez-Icaza & Bilitewski, 1993; Borgmann et al., 2012; Monteiro & Almeida, 2019). Vor diesem Hintergrund werden verfahrenstechnische Kernkompetenzen benötigt, die die Prozessierung von Biosensorlösungen sowohl im kleinen Batch-Maßstab als auch kontinuierlich im großtechnischen Rahmen erlauben. Das nachhaltige Entwicklungspotential, das dadurch geboten werden kann, ist Gegenstand dieser Arbeit und wird anhand eines Modellstoffsystems beleuchtet.

1.2 Ausgangspunkt der Arbeit

Mit Fokus auf eine potentielle Realisierung der Massenproduktion werden nachfolgend für die Prozessierung relevante Schritte herausgegriffen und als Ausgangspunkt der Arbeit diskutiert. Insbesondere Aspekte wie die katalytisch aktive Komponente und der Erhalt ihrer Enzymintegrität unter Beleuchtung potentieller Stressfaktoren, die Immobilisierung des biologischen Rezeptormoleküls in einer geeigneten Matrix sowie der technische Prozess zur Applikation der Biosensorlösung selbst werden in diesem Rahmen vertieft.

1.2.1 Enzyme – Aufbau, Funktion und Stressfaktoren

Das Enzym stellt als sehr empfindlicher Rezeptor das zentrale Erkennungselement eines Glucose-Sensors dar, das aufgrund seiner Natur sehr sensibel auf äußere Stressfaktoren reagiert und dadurch seine Integrität verlieren kann. Wie Proteine besitzen Enzyme als biologische Makromoleküle charakteristische Strukturmerkmale, sind jedoch im Gegensatz zu Proteinen mit einem katalytischen Zentrum ausgestattet, das sie zur Katalyse biochemischer Reaktionen befähigt (Bisswanger, 2015d; Illanes, 2008). Ihr Grundgerüst besteht aus Aminosäuren, deren Sequenz die Primärstruktur des Enzyms beschreibt. Diese legt durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen α -Carboxy- und α -Amino-Gruppen die charakteristische Faltung des Proteins fest, wodurch die so entstandene Sekundärstruktur mit den bekanntesten Vertretern α -Helix und β -Faltblatt stabilisiert wird. Es existieren insgesamt 20 verschiedene Aminosäuren, die jeweils über Peptidbindung miteinander verknüpft sind, sich aber in ihren funktionellen Gruppen der Seitenketten unterscheiden. Wechselwirkungen zwischen diesen funktionellen Gruppen be-

stimmen die dreidimensionale Gestalt der Polypeptidkette, die sogenannte Tertiärstruktur. Insbesondere Wasserstoffbrücken zwischen Peptidgruppen, Disulfidgruppen wie auch Ionenwechselwirkungen und hydrophobe Bindungen im Inneren des Proteins kommen dabei zum Tragen (Bisswanger, 2015d; Illanes, 2008).

Als Biokatalysatoren beschleunigen Enzyme die Reaktionsgeschwindigkeit von Bioreaktionen, indem sie thermodynamisch betrachtet deren Aktivierungsenergie herabsetzen. Das aktive Zentrum, ein kleiner Teil des Enzyms, in welchem die Katalyse abläuft, ist für die Substratbindung verantwortlich. Hierbei führen sterische und elektrostatische Struktureigenschaften zur selektiven Erkennung des Substrats. Nach dem Modell von Koshland (1958) erfahren sowohl das Substrat als auch das aktive Zentrum Konformationsänderungen, die zu einer gegenseitig induzierten Passform (engl. induced fit) führen. Nur ein Substrat, das diese Anpassung induziert, wird über einen energiereichen Übergangszustand zum Produkt umgesetzt und definiert so die erforderliche Spezifität und Selektivität in Biosensoren (Bisswanger, 2015d; Illanes, 2008). Zur Ausführung der katalytischen Funktion benötigen viele Enzyme eine Nicht-Protein-Komponente, den Cofaktor², mit dem zusammen das Enzym einen Enzymkomplex bildet (Bisswanger, 2015d; Illanes, 2008). Da eine thermodynamische Beschreibung der Enzymaktivität nicht praktikabel ist, hat sich ein kinetischer Ansatz basierend auf dem Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion als unmittelbare Konsequenz aus der Reduktion der Aktivierungsenergie etabliert (Illanes, 2008). Die Reaktionsbedingungen, insbesondere die Konzentrationen der Komponenten, ändern sich im Laufe der Reaktion, sodass auf die Reaktionsrate zu Beginn zurückgegriffen wird (vgl. Gleichung (1.1)). Damit beschreibt die Enzymaktivität unter den gegebenen Reaktionsbedingungen das maximale, katalytische Potential des Enzyms.

² Cofaktoren variieren in ihrem Charakter – sei es eine kovalent gebundene oder mit sehr hoher Affinität ausgestattete prosthetische Gruppe oder ein nicht kovalent gebundenes Cosubstrat; ebenso können Metallionen zur Katalyse an das Enzym gebunden sein. Während prosthetische Gruppen meist nicht ohne Denaturierung vom Apoenzym zu trennen sind, binden sich Cosubstrate zur Reaktion an das Enzym und dissoziieren im Anschluss wieder (Klempnauer et al., 2011). Metallionen bleiben unverändert, wogegen prosthetische Gruppen und Cosubstrate, sogenannte Coenzyme, speziell bei Redox-Enzymen als Reaktionspartner dienen und als Elektronenakzeptor bzw. -donator auftreten können (Bisswanger, 2015d).

$$v_{t \rightarrow 0} = - \left(\frac{dn_{\text{Substrat}}}{dt} \right)_{t \rightarrow 0} = \left(\frac{dn_{\text{Produkt}}}{dt} \right)_{t \rightarrow 0} \quad \text{mit } [v] = \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} \quad (1.1)$$

Neben der recht unhandlichen als SI-Einheit definierten Einheit Katal (Umsetzung von einem Mol Substrat pro Sekunde) findet die Angabe der Enzymaktivität in Form der internationalen Aktivitätseinheit U (engl. unit of activity) Anwendung. Diese beschreibt die Enzymmenge, die zur Umsetzung von 1 μmol Substrat pro Minute benötigt wird (Bisswanger, 2015a; Illanes, 2008). Weitere gebräuchliche und im Rahmen dieser Arbeit verwendet Größen sind die Volumenaktivität in $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{l}) = \mu\text{M}/\text{min}$, welche einer Enzymaktivität pro Volumeneinheit entspricht, sowie die spezifische Enzymaktivität in $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg})$ bezogen auf den Proteingehalt in mg (Bisswanger, 2014; Bisswanger, 2015b) (siehe auch Abschnitt 2.6).

Es herrscht eine starke Abhängigkeit zwischen Enzymaktivität und Struktur, da erstere auf einer korrekten räumlichen Anordnung von letzterer, der Tertiärstruktur, beruht. Jegliche Art von Störung, die eine Auffaltung des Enzyms begünstigt, induziert eine Konformationsänderung des aktiven Zentrums zu Kosten einer Reduktion oder des gesamten Verlusts der katalytischen Aktivität (Illanes, 2008). Eine Auffaltung ohne chemische Modifikation des Proteins, als Denaturierung bezeichnet, kann reversibel verlaufen. Nach Elimination des Stressfaktors gewinnt das Enzym seine katalytische Funktion wieder. Laufen allerdings chemische Reaktionen ab, erfährt das Enzym eine irreversible Veränderung der Tertiärstruktur. Eine Inaktivierung unter Verlust der katalytischen Aktivität tritt ein (Illanes, 2008). Äußere Stressfaktoren können physikalischer oder chemischer Natur sein. Die für die Prozessierung wichtigsten Stressfaktoren, Temperatur und pH-Wert, werden im Folgenden kurz vorgestellt.

Enzymkatalysierte Reaktionen besitzen ein Maximum in ihrer Temperatur-Aktivitätskurve. Nach Arrhenius steigt mit der Temperatur die Reaktionsgeschwindigkeit aufgrund einer höheren Kollisionswahrscheinlichkeit zweier Teilchen. Letztere bewegen sich durch höhere Energie schneller. Zugleich beeinflusst die Hitzeeinwirkung eine Konformationsänderung des Enzyms, Denaturierung tritt auf. Schwache, aber strukturgebende Bindungskräfte, wie Wasserstoffbrücken oder Van-der-Waals-Kräfte, brechen auf, bewirken eine Zerstörung der Tertiärstruktur und leiten letztendlich den Verlust der Enzymaktivität ein. Hydrophobe Oberflächen kehren sich bei der Entfaltung des Enzyms nach außen und resultieren in einer verstärkten Zusammenlagerung bzw. Agglomeration der Proteine (Wang et al.,

2010). Im Scheitelpunkt der Temperatur-Aktivitätskurve findet bereits eine Inaktivierung des Enzyms statt, welche von Dauer und Einsatzgebiet abhängig ist. Daher liegt das eigentliche Optimum meist bei einer niedrigeren Temperatur. (Castiglione, 2018; Liese et al., 2011)

In Analogie zum Temperatureinfluss wirkt sich auch der pH-Wert auf die Tertiärstruktur des Proteins und das aktive Zentrum aus, genauer auf die protonierbaren Gruppen der Polypeptidketten. Letztere ändern mit dem pH-Wert ihre Ladung und beeinflussen so die Konformation des Proteins als auch dessen Aktivität. Bei geringen Abweichungen vom pH-Optimum sind die Modifikationen reversibel, während bei zu großen Abweichungen die Struktur des Enzyms irreversibel geschädigt werden kann. Starke Säuren bspw. treten in Wechselwirkung mit ungeladenen Gruppen der Peptidbindungen und reduzieren so strukturgebende Coulomb-Kräfte. Das Enzym entfaltet sich und geht von einem hochgeordneten in einen ungeordneten und vollständig denaturierten Zustand, auch random coil genannt, über. Neben dem pH-Wert beeinflusst auch die Ionenstärke die Enzymaktivität. Diese wird über den verwendeten Puffer eingestellt und hängt von Konzentration und Wertigkeit der Puffersalzen ab. Sowohl zu hohe als auch zu niedrige Ionenkonzentrationen bergen die Gefahr einer Funktionsminderung und müssen individuell betrachtet werden (Castiglione, 2018; Liese et al., 2011). Vor diesem Hintergrund stellt der Erhalt der katalytischen Funktionalität bei der Prozessierung von Biosensorlösungen eine zentrale Schlüsselaufgabe dar, was gerade mit Blick auf potentielle Stressfaktoren systematisch im Rahmen dieser Arbeit näher beleuchtet wird.

Mit Blick auf die Glucosesensoren ist Glucose Oxidase (GOX) (Ferri, 2011; Tsujimura, 2019) das am häufigsten verwendete Enzym, gefolgt von Glucose-Dehydrogenase, welche jüngst ein erhöhtes Maß an Aufmerksamkeit³ erfährt (Ferri, 2011; Liang et al., 2013; Milton & Minter, 2017; Suzuki & Tsujimura, 2016; Tsujimura, 2019). Beide werden den Oxidoreduktasen zugeordnet, welche Redoxreaktionen katalysieren (Ferri, 2011; Milton & Minter, 2017). Flavinadenin dinucleotid abhängige Glucose-Dehydrogenasen (FAD-GDH) zeichnen sich gegenüber GOX durch ihre äußerst hohe Aktivität (Monosik et al., 2012), Selektivität (Tsujimura et al., 2006; Yamashita et al., 2013) sowie den sauerstoffunabhängigen

³ So schneiden bspw. in einer vergleichenden, unabhängigen Studie kommerziell erhältlicher Blutzuckermessgeräte GDH-basierte Systeme bezüglich Robustheit gegenüber interferierender Substanzen besser ab (Ekhlaspour et al., 2017).

Umsatz von Glucose aus, wodurch eine schnellere und präzisere Glucosedetektion möglich ist (Adams et al., 2018; Ferri, 2011). Als Hetero-Oligomer besteht FAD-GDH bakteriellen Ursprungs aus drei Untereinheiten, einer chaperonen-ähnlichen Untereinheit, welche eine ordnungsgemäße Faltung steuert und für die Sekretion der zweiten, katalytisch aktiven Untereinheit mit Cofaktor FAD und dem Redoxzentrum sorgt, sowie einer dritten, die den Elektronaustausch erleichtert. Aufgrund der Fähigkeit letzterer, Elektronen direkt mit der Elektrode austauschen zu können, sehen Ferri et al. (2011) in FAD-GDH prokaryotischen Ursprungs einen vielversprechenden Kandidaten für einen mediatorfreien Elektronentransfer, ideal für Glucose-Biosensoren der dritten Generation. Um Enzyme allerdings in eine für Biosensoren verfügbare Form zu überführen, müssen diese in eine geeignete Matrix und unter Wahrung ihrer katalytischen Integrität immobilisiert werden (Koopal et al., 1994; Strakosas et al., 2014). Auf die verschiedenen Techniken und Immobilisierungsmatrizen sowie Anforderungen an diese wird im nachfolgenden Abschnitt näher eingegangen.

1.2.2 Immobilisierungsmatrix aus elektrisch leitfähigen Polymeren

Immobilisierungsmatrix und -methode sind bei der Herstellung von Biosensoren wichtige Bausteine, da sie einen wesentlichen Einfluss auf Charakteristik, Performance und das Herstellungsverfahren des Sensors haben (Alvarez-Icaza & Bilitewski, 1993; Bisswanger, 2015c; Borgmann et al., 2012; Castiglione & Weuster-Botz, 2018). Es muss sichergestellt sein, dass das Enzym sicher und weiterhin zugänglich in der Matrix eingebettet ist, um einen zu großen Verlust zu vermeiden. Wie bereits erwähnt, ist der Erhalt oder sogar die Verbesserung der katalytischen Funktionalität unerlässlich, wozu die Matrix eine für das Enzym passende Mikroumgebung bereitstellen sollte (Ahuja et al., 2007; Bisswanger, 2015c; Borgmann et al., 2012). Nur so kann der gesamte Sensor von einer verbesserten Effizienz der Reaktion profitieren und bietet zugleich auch Vorteile hinsichtlich der gesamten Performanz, der Lagerung und einer langfristigen Sensorstabilität (Borgmann et al., 2012). Darüber hinaus sollte aus verfahrenstechnischer Sicht die Immobilisierungsmethode ein hohes Potential zur Automatisierung der Produktion bei einer guten Reproduzierbarkeit innerhalb des Prozesses besitzen (Alvarez-Icaza & Bilitewski, 1993; Borgmann et al., 2012).

In der Literatur werden viele verschiedene Immobilisierungsarten beschrieben. Gerade bei der Biosensorentwicklung kommen primär physikalische Adsorption,

Einschluss des Enzyms in einer Gel- oder Polymermatrix oder kovalente Fixierung an ein Trägermaterial zum Einsatz (Ahuja et al., 2007; Alvarez-Icaza & Bilitewski, 1993; Sassolas et al., 2012; Zhao et al., 2016). Eine kovalente Fixierung zeigt bspw. gute Ergebnisse bezüglich der enzymatischen Retention, führt jedoch aufgrund größerer Konformationsänderungen häufig zu Aktivitätsverlust (Ahuja et al., 2007; Bisswanger, 2015c; Zhao et al., 2016). Der Enzymeinschluss kann elektrochemisch durch Polymerisation in Gegenwart des Enzyms oder physikalisch direkt aus der Flüssigphase heraus erfolgen. Für beide Varianten ist keine Modifikation des Enzyms erforderlich, die Applikation aller Komponenten erfolgt in einem Schritt (Sassolas et al., 2012). Auch wenn die elektrochemische Variante gute Resultate hinsichtlich einer effektiven Immobilisierung liefert, ist sie für ein späteres Skale-up schlecht geeignet (Park et al., 2019). Wird das Enzym physikalisch in eine Polymermatrix durch Mischen von Polymer, Lösemittel und Enzym eingebettet, erfolgt die Formgebung des Sensorfilms in dem zusätzlich erforderlichen Trocknungsschritt (Cespedes & Alegret, 2000; Vikhoreva et al., 1996). Für die Herstellung kostengünstiger Biosensoren im kontinuierlichen Beschichtungs- und Druckverfahren ist die physikalische Einbettung der interessanteste Weg (Ahuja et al., 2007; Cespedes & Alegret, 2000).

Vor dem Hintergrund, die Entwicklung von Biosensoren der dritten Generation voranzutreiben, widmen sich viele Forschungsarbeiten der vergangenen 40 Jahre der Realisierung von DET⁴, für welche maßgeschneiderte Immobilisierungsmatrizen mit gezielt einstellbaren Eigenschaften benötigt werden (Monteiro & Almeida, 2019). Insbesondere leitfähige Polymere zeichnen sich für die anspruchsvolle Aufgabe, mediatorfreie Biosensoren zu entwickeln, als geeignete Kandidaten aus, da sie eine Reihe vorteilhafter Eigenschaften vereinen (Adeloju & Wallace, 1996; Ahuja et al., 2007; Gerard et al., 2002; Soylemez et al., 2014; Wang, 2008). Mit ihrer flexiblen und vielfältigen chemischen Beschaffenheit, wie beispielsweise die Einstellung elektrischer oder mechanischer Eigenschaften (Gerard et al., 2002; Rivnay et al., 2014), aber auch durch die Möglichkeit der direkten Integration des Enzyms in ein leitfähiges Netzwerk (Rusling et al., 2008), bieten sie ein hohes Entwicklungspotential. Diese Eigenschaften macht sie als Immobilisierungsmatrix besonders attraktiv, sodass sie vermehrt zu diesem Zweck eingesetzt werden

⁴ DET: engl. direct electron transfer (vgl. Abbildung 1.1). Ausführliche Erläuterungen sind in Abschnitt 1.1 zu finden.

(Adeloju & Wallace, 1996; Ahuja et al., 2007; Gerard et al., 2002; Park et al., 2019; Soylemez et al., 2014; Zhao et al., 2016).

Insbesondere Poly-3,4-ethyldioxythiophen:Polystyrolsulfonat (PEDOT:PSS) erfährt als potentiell Transducermaterial im Umfeld der Biosensorenanwendungen ein zunehmendes Interesse (Liu et al., 2008; Manesh et al., 2008; Omidinia et al., 2013; Phongphut et al., 2013; Strakosas et al., 2014). Als kommerziell verfügbare, wasserbasierte Dispersion besitzen daraus hergestellte Filme eine hohe elektrische Leitfähigkeit (Nardes, 2007), welche gute Bedingungen bzgl. Sensitivität und Detektionslimit liefert (Zhao et al., 2016). PEDOT:PSS weist eine gute thermische und elektrochemische Stabilität wie auch Biokompatibilität auf (Greco et al., 2011; Nardes, 2007; Richardson-Burns et al., 2007). Zugleich eignet es sich zur Prozessierung aus der Flüssigphase, eine wichtige Voraussetzung zur kostengünstigen Fertigung in großer Stückzahl (Liu et al., 2008; Strakosas et al., 2014) (vgl. Abschnitt 1.2.3). Um darüber hinaus die Prozessierbarkeit von PEDOT:PSS zu steigern, bietet das Zumischen von Polyvinylalkohol (PVA) eine attraktive Möglichkeit, die Zuverlässigkeit der Matrix hinsichtlich verbesserter mechanischer Eigenschaften, einer guten Flexibilität und Beständigkeit weiter zu optimieren (Chen et al., 2012; Chen et al., 2011; Lu et al., 2012; Omidinia et al., 2013; Strakosas et al., 2014; Wang et al., 2014). Aufgrund des hydrophilen Charakters des Filmbildners wird PVA eine inhärente, hohe Biokompatibilität im Zusammenhang mit Biosensoren zugeschrieben, was seine anwendungstechnische Attraktivität zusätzlich steigert (Doretto et al., 1997; Guascito et al., 2014; Guascito et al., 2011; Wong & Abdul-Aziz, 2008; Xu et al., 2006).

Der Transport der biochemisch erzeugten Elektronen erfolgt, wie bei allen elektrisch leitfähigen Polymeren, via konjugierte π -Elektronensysteme, deren elektrische Leitfähigkeit speziell auf der Delokalisierung der Elektronen beruht (intramolekularer Transport) (Zhao et al., 2016). Zum Elektronentransport über Molekülketten hinweg müssen Ladungsträger eine Potentialbarriere mittels des sogenannten Hopping-Mechanismus überwinden (intermolekularer Transport), welcher mit Blick auf PEDOT:PSS der limitierende und daher für die Ladungsträgermobilität der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist (Aleshin et al., 1998). Vor diesem Hintergrund spielt die Filmmorphologie für die elektrische Leitfähigkeit eine elementare Rolle (Donahue et al., 2020; Nardes, 2007; Sanchez-Sanchez et al., 2019; Takano et al., 2012). In wässriger Lösung liegt das p-dotierte PEDOT, stabilisiert durch das als Gegenion fungierende PSS, als Polyelektrolytkomplex

vor. PSS selbst ist nicht leitfähig, trägt aber aufgrund seines hydrophilen Charakters entscheidend zur räumlichen Anordnung und Dispergierbarkeit von PEDOT:PSS bei. Ein in der Literatur aktuell akzeptiertes Modell – mit häufig als „scrambled egg“ zitiertem Aufbau – beschreibt eine Konformation, in der die dispergierten PEDOT:PSS-Partikel zur Minimierung der Wechselwirkung mit Wasser einen PEDOT-reichen Kern bilden, der von einer PSS-reichen Schicht umhüllt wird (Raja Ashok et al., 2015; Takano et al., 2012). Für via Schleuderbeschichtung prozessierte PEDOT:PSS-Schichten verweist die Literatur mit dem Begriff „stacked pancakes“ auf das Entstehen von phasenseparierten, sphäroid geformten PEDOT:PSS-Partikeln, die analog zum gelösten Zustand einen PEDOT-reichen Kern mit einer PSS-reichen und somit isolierenden Hülle besitzen (Elschner et al., 2011; Nardes et al., 2007; Nardes, 2007).

Ausgehend von dieser Beschaffenheit ist es naheliegend, dass die Ausbildung der räumlichen Struktur im Film, repräsentiert von Konformation, Aufbau oder Größe der PEDOT:PSS-Partikel, die elektrische Leitfähigkeit prägen (Nardes, 2007; Raja Ashok et al., 2015). Viele Faktoren können Änderungen in der morphologischen Struktur induzieren: So werden kleine PEDOT:PSS-Partikel aufgrund einer größeren Anzahl an zu überwindenden Korngrenzen (Kirchmeyer & Reuter, 2005; Palumbiny et al., 2015), ebenso wie eine ungeordnete Konformation der Polymerketten (Schwartz, 2003; Siringhaus et al., 1999; Xia & Ouyang, 2011), als nicht erstrebenswert betrachtet. Favorisiert werden eine gute Konnektivität der leitfähigen PEDOT-reichen Kerne (Jönsson et al., 2003) bzw. zwischen den Polymerketten (Schwartz, 2003), aber auch eine hohe Kristallinität von PEDOT (Palumbiny et al., 2015; Takano et al., 2012) und eine eher lineare oder ausgestreckte Anordnung der PEDOT-Ketten (Bagchi & Menon, 2006). In diesem Kontext spielen die Herstellungsbedingungen eine wichtige Rolle, da diese die Ausbildung der morphologischen Struktur beeinflussen können. Diese Interkonnektivität zwischen räumlicher Struktur und elektrischer Leitfähigkeit eröffnet ein breites Repertoire an potentiellen Stellschrauben: So rufen bspw. der Zusatz von Additiven oder eine thermische Nachbehandlung von PEDOT:PSS-Filmen in diesen eine leitfähigkeitssteigernde Wirkung hervor. Zugleich sind zugrundeliegende Mechanismen aufgrund ihrer Komplexität in diesem Kontext zum Teil nicht vollständig aufgeklärt (Horii et al., 2015; Huang et al., 2003; Huang et al., 2005; Kim et al., 2012; Sanchez-Sanchez et al., 2019; Soleimani-Gorgani, 2018).

Mit dem Ziel, Prozesseinflüsse bei der Applikation von Biosensordlösungen besser verstehen zu lernen, ist daher eine äußerst genaue Prozesskenntnis und -kontrolle

bei der Prozessierung von PEDOT:PSS aufgrund dessen Sensitivität gegenüber Prozessparametern von großer Wichtigkeit. Entsprechend geht der nächste Abschnitt auf die technischen Aspekte bei der Verarbeitung von Biosensorlösungen ein und beleuchtet die dabei auftretenden Herausforderungen.

1.2.3 Herausforderungen bei der Prozessierung von Biosensorlösungen

Auf dem Weg zum fertigen Produkt durchläuft der Biosensor von der Formulierung der Beschichtungslösung über die Applikation auf ein Substrat bzw. die Elektrode bis hin zur Trocknung, Verkapselung und Lagerung eine lange und komplexe Prozesskette. Bei amperometrischen Glucosesensoren erfolgt der Auftrag der biologischen Moleküle in den meisten Fällen auf gedruckte Substrate bzw. Elektroden, welche traditionell mittels des Siebdruckverfahrens⁵ (engl. screen printing process) produziert werden (Alvarez-Icaza & Bilitewski, 1993; Gonzalez-Macia & Killard, 2017; Wang, 2008). Dabei werden zur Gewährleistung einer ausreichenden Produktqualität aus verfahrenstechnischer Sicht grundlegende Anforderungen an die Beschichtungstechnologie gestellt: von größter Bedeutung ist ein hohes Maß an Präzision und Reproduzierbarkeit, insbesondere innerhalb gleicher Batch-Kampagnen. Eine mangelnde Präsenz dieser Faktoren minimiert nicht nur die Zuverlässigkeit des Sensors, vielmehr wäre bspw. auch eine individuelle Kalibrierung erforderlich, welche bei hohen Stückzahlen mit zugleich niedrigen Produktionskosten nicht realisierbar oder zielführend wäre (Borgmann et al., 2012; Josph, 2012; Monteiro & Almeida, 2019; Scheller & Schubert, 1991; Wang, 2008). Ebenso ist eine unmittelbare Kontrolle der Schichtdicke unerlässlich, was sowohl eine explizite Einstellung als auch deren Einheitlichkeit über die gesamte Auftragsfläche bzw. eine geringe Varianz impliziert (Josph, 2012; Monteiro & Almeida, 2019; Mosoiu & Wilsey, 2010). Typische Größenordnungen liegen hier im Bereich von 1 - 5 μm Trockenschichtdicke, wodurch eine schnelle Reaktionszeit aufgrund kurzer Diffusionszeiten erreicht wird (Josph, 2012; Mosoiu & Wilsey, 2010). Ferner erfordert die Fertigung in großer Stückzahl einen hohen Durchsatz und somit eine Möglichkeit zur Hochskalierung der Beschichtungs- und

⁵ Als Plattform bzw. Ausgangspunkt zur Herstellung von Biosensoren erlaubt das Siebdruckverfahren eine leichte Modifikation der auf Substrate gedruckten Elektroden wie auch Ausrichtung auf individuelle Anforderungen. In diesem Zusammenhang existieren eine Reihe von Forschungsarbeiten, die sich explizit mit der Bereitstellung und Verfügbarkeit des Substrats bzw. Elektrodenmaterials beschäftigen (Ahmed et al., 2016; Cinti, 2017) (siehe auch Abschnitt 1.2.2).

Produktionsgeschwindigkeit (Gonzalez-Macia & Killard, 2017; Mosoiu & Wilsey, 2010).

Mit Blick auf die geforderten Voraussetzungen existieren verschiedene Methoden zum Auftragen der biologischen Komponente und zur Modifikation der gedruckten Elektroden (siehe hierzu Abschnitt 1.2.2). Einen attraktiven und einfachen Weg bietet, wie bereits erwähnt, die Applikation direkt aus der Flüssigphase, welche u. a. eine kostengünstige Produktion mit hohem Durchsatz und geringer Materialverschwendung bei kontinuierlicher Betriebsweise verspricht (Jospeh, 2012; Mosoiu & Wilsey, 2010; Peters, 2016; Strakosas et al., 2014). Das Enzym kann in amperometrischen Biosensoren direkt in die Beschichtungslösung oder -reagenz zum Auftrag auf die Elektrode integriert und auf das Substrat mittels Flüssigphasenapplikation aufgebracht werden (Forrow & Bayliff, 2005; Mosoiu & Wilsey, 2010; Vaughan et al., 1991). Im Hinblick auf die Auftragsmethode sind abhängig vom Applikationswerkzeug bzw. gewählten Verfahren Unterschiede zu erwarten, sodass nicht jede Methode gleich gut geeignet ist.

Die einfachste und auch günstigste Methode zur Herstellung einer Schicht mit katalytisch aktiven Molekülen aus der Flüssigphase ist das Auftropfen (engl. drop casting) einer Reagenzlösung. Die Materialmenge kann dem Bedarf entsprechend angepasst werden, Multilagendebeschichtungen sind realisierbar. Ein mögliches Skale-up bieten bis zu einem gewissen Maß automatisierte Dispenser (engl. automated dispenser), welche bereits im Umfeld der Diagnostik, u. a. bei Glucosesensoren oder Schwangerschaftsteststreifen, zum Einsatz kommen. Allerdings ist die Methode je nach Ausführung auf runde Oberflächen beschränkt und deutlich in ihrer Homogenität, Geschwindigkeit wie auch Reproduzierbarkeit limitiert, gerade mit Blick auf die Produktion dünner Schichten. Für die Herstellung im großen Maßstab ist sie daher eher ungeeignet. (Cinti, 2017; Mosoiu & Wilsey, 2010)

Die Rotationsbeschichtung, auch Schleuderbeschichtung genannt (eng. Spin coating), wird zur Herstellung sehr dünner Schichten ($< 1 \mu\text{m}$) herangezogen und kommt insbesondere im Labormaßstab während eines frühen Entwicklungsstadiums, z. B. beim Material-Screening, zum Einsatz (Nardes, 2007; Takano et al., 2012; Wengeler et al., 2013b). Als eine in der Forschungswelt weit verbreitete Methode hat sie auch bei der Herstellung von Biosensoren Anwendung gefunden (Gonzalez-Macia & Killard, 2017). Im direkten Vergleich mit anderen, nicht aus der Flüssigphase prozessierenden Methoden, wie bspw. die chemische Gasphasenabscheidung (engl. chemical vapour deposition) zeichnet sich diese Auftragsmethode durch die Milde hinsichtlich der Stressbelastung biologischer Moleküle aus

(Gonzalez-Macia & Killard, 2017). Dennoch ist diese Auftragsmethode von geringer anwendungstechnischer Relevanz, da eine unabhängige Variation der Prozessparameter nicht möglich ist (Wengeler, 2014; Wengeler et al., 2013b). Applikation und Trocknung der Beschichtungslösung können nicht isoliert betrachtet werden, was bei einem auf den Labormaßstab optimierten Materialsystem auf technischer Ebene ein deutlich abweichendes Verhalten induzieren kann (Wengeler, 2014). Ebenso gestaltet sich die Realisierung eines kontinuierlichen Rolle-zu-Rolle-Verfahrens wie auch ein Scale-up der Produktionsgeschwindigkeit für technische Prozesse schwierig (Wengeler, 2014; Wengeler et al., 2013b). Die geforderte Prozesskontrolle zusammen mit einer einfachen Hochskalierung ist bei dem Verfahren daher nicht gegeben.

Vor diesem Hintergrund bieten Rakel- und Schlitzgussbeschichtung die Möglichkeit einer entkoppelten Betrachtung des Beschichtungs- und Trocknungsschrittes. Bei beiden Beschichtungstechnologien erfolgt die Trocknung erst nach Applikation der Beschichtungslösung, sodass prozessrelevante Größen, wie z. B. Beschichtungsgeschwindigkeit, Schichtdicke, Prozesstemperatur, Trocknungsgeschwindigkeit, unmittelbar kontrolliert und isoliert betrachtet werden können. Die Rakelbeschichtung bietet dabei neben der einfachen verfahrenstechnischen Ausführung den Vorteil eines geringen Lösungsbedarfs. Dies ist insbesondere bei der Herstellung von Schichten mit aktiver Komponente aufgrund des hohen Enzympreises und der eingeschränkten Verfügbarkeit wichtig (Peters, 2016; Riegel et al., 2016). Da zur Einstellung der Schichtdicke jedoch eine Kalibrierung für jede Beschichtungslösungsvariation erforderlich ist und die Homogenität der Filme je nach Anwendung limitiert sein kann, findet das Rakeln als selbstdosierendes Verfahren primär im Labormaßstab Verwendung (Peters, 2016; Wengeler et al., 2013b). Dennoch erlaubt das Verfahren aufgrund der unabhängigen Analyse und gezielten Kontrolle der Prozessparameter eine einfache Hochskalierung (Peters, 2016; Raupp, 2018; Schmidt-Hansberg et al., 2009). Im Gegensatz dazu ermöglicht die Schlitzgussbeschichtung⁶ als vordosiertes Verfahren durch Vorausberechnung und somit ohne Kalibrierung eine unmittelbare Einstellung der Nassfilmdicke. Es eignet sich besonders für die Flüssigprozessierung sehr homogener, dünner Schichten (Raupp, 2018; Raupp et al., 2017b). Abhängig von der angewendeten Betriebsart besitzt das Verfahren ein vielfältiges Einsatzspektrum und ermöglicht sowohl die Prozessierung diskontinuierlich im sog. „sheet-to-sheet“-Verfahren

⁶ Weitere allgemeine Details zum Schlitzgussverfahren sind im Anhang in Abschnitt C zu finden.

(Raupp, 2018; Raupp et al., 2017a; Riegel et al., 2017) als auch kontinuierlich im Rolle-zu-Rolle-Verfahren (Schmitt, 2016; Wengeler, 2014). Die Applikation von Multilagen ist möglich (Schmitt et al., 2015b) und es können längs und/oder quer strukturierte Beschichtungen hergestellt werden (Raupp et al., 2018; Schmitt, 2016; Schmitt et al., 2015a). Insgesamt erfordert die Schlitzgussbeschichtung jedoch ein erhöhtes Maß an konstruktivem Aufwand. Der Prozess muss bspw. für den Einsatz im Batch-Betrieb sorgfältig evaluiert werden, um Schichten mit hoher Qualität prozessieren zu können. Darüber hinaus belegen viele Forschungsarbeiten eine breite Variation der Beschichtungsgeschwindigkeit von wenigen cm/s (Raupp et al., 2017a; Raupp et al., 2017b) bis zu über 100 m/min (Schmitt et al., 2013), ein wichtiger Grundstein zur kostengünstigen Herstellung im großtechnischen Maßstab mit großem Produktionsdurchsatz. Damit bieten insbesondere die Schlitzgussbeschichtung, aber auch die Rakelbeschichtung im Labormaßstab hohes Potential: Bei erfolgreicher Verwendung im Labor versprechen beide Beschichtungstechnologien ein später leicht zu realisierendes Scale-up zum Produktionsmaßstab, weshalb beide Technologien im Rahmen dieser Arbeit zur Prozessierung von Biosensorlösungen eingesetzt werden.

Unmittelbar nach der Beschichtung erfolgt die Trocknung, bei welcher das Lösemittel meist bei erhöhter Temperatur der Schicht entzogen wird und sich die charakteristische Form bzw. morphologische Struktur des Films ausbildet. Wie Forschungsergebnisse im Bereich funktionaler Beschichtungen eingehend belegen, übt die Trocknung einen nicht zu unterschätzenden Einfluss auf die Schichteigenschaften partikulärer Systeme aus (Baesch et al., 2017; Baunach et al., 2016; Buss et al., 2011; Jaiser et al., 2017a; Jaiser et al., 2017b; Jaiser et al., 2016; Jaiser et al., 2017c; Ternes et al., 2019). Beispielsweise wirken sich durch variierte Trocknungsraten induzierte Konzentrationsgradienten auf den Mechanismus der Mikrostrukturausbildung von Elektrodenschichten aus, wodurch das elektrochemische Verhalten und letztendlich die Performanz beeinflusst werden (Jaiser et al., 2017a; Jaiser et al., 2017b; Jaiser et al., 2016; Jaiser et al., 2017c). Aber auch für polymerbasierte Systeme wie Polymer-Fulleren-Schichten, die in der organischen Photovoltaik eingesetzt werden, wurde ein signifikanter Einfluss der Trocknungskinetik auf die Phasenseparation nachgewiesen, wodurch die Effizienz von Solarzellen bestimmt wird (Schmidt-Hansberg et al., 2009; Schmidt-Hansberg et al., 2011). Zurückzuführen ist dies, wie Schmidt-Hansberg et al. (2011) ausführlich belegen, auf eine bei langsamer Trocknungsgeschwindigkeit und niedrigen Temperaturen begünstigte Phasenseparation und dadurch favorisierter Ausbildung größerer kristalliner Bereiche.

Es stellt sich die Frage nach einem Einfluss der Trocknung auch bei der Flüssigprozessierung von Beschichtungsreagenzien mit biologisch aktiven Komponenten, gerade aufgrund der Sensitivität des Enzyms (vgl. Abschnitt 1.2.1) (Cespedes & Alegret, 2000; Wang et al., 1996). Aus der Literatur sind dazu wenige Untersuchungen bekannt. Cespedes et al. (2000) weisen bei der Aushärtung von Carbon-Polymer-Biokompositen für elektrochemische Biosensoren auf die Temperaturempfindlichkeit der katalytischen Komponente hin, der Aushärtungsprozess solle bei Raumtemperatur durchgeführt werden und gegebenenfalls eine Verlängerung der Dauer in Erwägung gezogen werden, bevor eine Erhöhung der Temperatur erfolge. Mosoiu und Wilsey (2010) beobachten bei der Applikation einer Reagenzlösung aus der Flüssigphase einen unerwünschten Einfluss der Trocknung auf die Schichtstruktur wie bspw. die Ausbildung einer ungleichmäßigen und uneinheitlichen Filmschichtdicke, deren Ursache sie in einer inhomogenen Trocknung vermuten, was sie aber nicht weiter im Detail analysieren. Im Fokus ihrer Arbeit steht eine präzise, einheitliche und homogene Bedeckung der gesamten Auftragsfläche, eine wichtige Anforderung an die Prozessierung zur Gewährleistung der Produktqualität bei Massenproduktion. Auswirkungen auf die katalytische Komponente werden nicht thematisiert. Für eine erfolgreiche Quantifizierung des Einflusses der Trocknung ist in diesem Kontext eine präzise Einstellung und Kontrolle der Trocknungsparameter erforderlich, welche im Rahmen dieser Arbeit mittels zwei in der Arbeitsgruppe entwickelter und optimierter Trocknereinheiten erfolgt, die eine homogene Trocknung ermöglichen (siehe dazu Abschnitt 2.2) (Baunach et al., 2015; Baunach et al., 2016; Cavadini et al., 2013; Jaiser et al., 2016). Nur so ist eine kontrollierte Prozessierung und auch ein erfolgreiches Scale-up für eine spätere Produktion möglich.

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Die in Abschnitt 1.2 aufgezeigten Fragestellungen verdeutlichen, dass bei der Prozessierung von Biosensordlösungen, insbesondere mit Blick auf die dritte Biosensorgeneration, eine Reihe an Herausforderungen auftreten, die für ein einfaches Scale-up hin zu einer kostengünstigen Massenproduktion aus verfahrenstechnischer Sicht zu beleuchten sind. Ausgangspunkt dieser Arbeit ist daher die Hypothese, dass sich funktionsfähige Biomoleküle unter Wahrung ihrer katalytischen Integrität in elektrisch leitfähigen Polymerkompositenschichten immobilisieren lassen, sofern eine genaue Prozesskenntnis eine kontrollierte Applikation direkt aus der Flüssigphase erlaubt. So soll die Herstellung von Schichten erreicht werden,

die als Anknüpfungspunkt an großtechnische, industrielle Anwendungen nicht nur über ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit verfügen, sondern auch homogen, elektrisch leitfähig und katalytisch aktiv sind. Ziel dieser Arbeit ist die Verifizierung oder Falsifizierung dieser Hypothese durch Identifikation und Quantifizierung des Prozesseinflusses auf die Schichteigenschaften mit besonderem Fokus auf enzymespezifische Anforderungen. Das betrachtete Modellstoffsyste^m besteht aus PEDOT:PSS-PVA als Polymerkompositmatrix und in Puffer gelöster FAD-GDH als biologisches Rezeptormolekül. Die neuartige Materialpaarung soll potentiell Anwendung bei der Entwicklung von amperometrischen Glucose-Biosensoren der dritten Generation finden. Diese neue Generation hat einen direkten Elektronentransfer zwischen Enzym und Elektrode unter Eliminierung des toxischen und leicht degradierenden Mediators zum Ziel.

Zur Überprüfung der Hypothese müssen zunächst Rahmenbedingungen geschaffen werden, die eine Prozessierung unter definierter Prozesskontrolle ermöglichen und die später eine erfolgreiche Übertragung vom Labormaßstab hin zu einer kostengünstigen Massenproduktion in Aussicht stellen. Daher wird bei der Analyse des Zusammenspiels von Prozess und Schichteigenschaften zunächst auf die teure und nur begrenzt verfügbare Komponente FAD-GDH verzichtet und der Fokus auf die Polymerkompositmatrix aus PEDOT:PSS und PVA gelegt. Im Mittelpunkt stehen Homogenität und elektrische Leitfähigkeit, wichtige Kenngrößen zur Charakterisierung der Schichteigenschaften wie auch Anforderungen an das Verfahren.

Mit Blick auf die diskutierte Sensitivität der leitfähigen Komponente PEDOT:PSS gegenüber den Herstellungsbedingungen (vgl. Abschnitt 1.2.2) umfasst die Aufgabenstellung zunächst eine vergleichende Charakterisierung gerakelter und im Schlitzguss beschichteter Filme bei diskontinuierlicher Fahrweise und darauf aufbauend eine Optimierung der Prozessführung zur vollen Ausschöpfung des Potentials der Schlitzgussbeschichtung. Darüber hinaus erfordern Natur und Beschaffenheit von PEDOT:PSS im Kontext der angestrebten Hochskalierung und des künftigen Einsatzgebietes eine Quantifizierung der Haupteinflussfaktoren auf die elektrische Leitfähigkeit mit Fokus auf der Prozessierung. Dies schließt u. a. eine individuelle Betrachtung der Filmkomposition, der Schichtdicke, der Beschichtungsparameter und der Aufnahme von Wasser bei genau definierten Randbedingungen ein, um so eine möglichst breite Basis an Parametern zu erfassen.

Unter der Voraussetzung, die Polymerkompositmatrix bei definierter Prozesskontrolle und ausreichender elektrischer Leitfähigkeit aus der Flüssigphase applizieren zu können, erfordert die Abklärung enzymespezifischer Anforderungen ferner eine

Analyse des Zusammenspiels von Prozess und Schichteigenschaften bei Anwesenheit des Enzyms. Um in diesem Stadium der Biosensorentwicklung keinen vollständigen Sensor bereitstellen zu müssen, aber dennoch eine umfassende Überprüfung der Arbeitshypothese zu ermöglichen, beinhaltet diese Arbeit die Entwicklung eines spektrophotometrischen Nachweisverfahrens, das als Analysewerkzeug über die Enzymkinetik die katalytische Funktion des Enzyms bestimmt und Grundlage des diskutierten Arbeitsprogramms ist. Nach Ausarbeitung einer geeigneten Auswerteroutine erlaubt die sogenannte Filmanalyse eine Quantifizierung der katalytischen Aktivität der in die Polymerkompositschichten eingebetteten Enzymmoleküle und so schlussendlich eine Identifikation der Haupteinflussfaktoren bei der Prozessierung.

Im Hinblick auf enzymspezifische Stressfaktoren bei der Applikation aus der Flüssigphase mit anschließender Trocknung muss zunächst die Kompatibilität der Komponenten überprüft werden. Dazu wird die Zusammensetzung des nun quaternären Systems aus Enzym, Salz, PEDOT:PSS und PVA bei konstanten Beschichtungs- und Trocknungsparametern optimiert. Vor dem Hintergrund der in Abschnitt 1.2 diskutierten Anforderungen stehen vor allem die Prozessierbarkeit, welche eine hohe Schichtqualität und eine gute Reproduzierbarkeit impliziert, sowie die katalytische Funktionalität im Mittelpunkt. Daran schließt sich eine umfangreiche Studie zur Überprüfung des Prozesseinflusses an. Trocknung und Lagerung haben sich in einer vergleichenden Gegenüberstellung der Ergebnisse des gelösten Enzyms als Hauptbelastungsfaktoren erwiesen, sodass diese beiden in der Studie priorisiert werden. Zuletzt muss überprüft werden, ob und wie eine Beeinträchtigung der elektrischen Leitfähigkeit durch die Anwesenheit des Enzyms gegeben ist bzw. vermieden oder bestenfalls ganz ausgeschlossen werden kann.

2 Experimentelles

Ausgangspunkt für eine zuverlässige Überprüfung der katalytischen Aktivität bei der Immobilisierung funktionaler Biomoleküle in elektrisch leitfähige Polymerkompositsschichten ist – in Verbindung mit der Erfassung möglicher Einflussgrößen – die Bereitstellung einheitlicher Grundlagen und geeigneter Routinen. Dazu wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit zunächst die notwendigen experimentellen Randbedingungen geschaffen, die zur erfolgreichen Bewältigung des diskutierten Arbeitsprogramms (vgl. Abschnitt 1.3) dienen.

Zuallererst ist die Präparation homogener Proben mit definierter Zusammensetzung und definiertem Feststoffgehalt Voraussetzung für eine kontrollierte Prozessierung und ein erfolgreiches Scale-up (vgl. Abschnitt 2.1). In Vorbereitung auf die angestrebte Analyse des Zusammenspiels zwischen Prozess und Schichteigenschaften ist darauf aufbauend eine definierte und kontrollierte Herstellung der Schichten zwingend erforderlich. Gerade mit Blick auf die in Abschnitt 1.2.2 diskutierte Sensitivität des leitfähigen Polymers PEDOT:PSS gegenüber den Herstellungsbedingungen besteht in diesem Zusammenhang noch Klärungsbedarf, sodass eine präzise Einstellung der Beschichtungs- und Trocknungsbedingungen bei den verwendeten Versuchsaufbauten obligatorisch ist (vgl. Abschnitt 2.2). Die eingesetzte Technologie wird später auf ihre Anwendbarkeit geprüft (vgl. Abschnitt 3.2).

Im Hinblick auf die aus verfahrenstechnischer Sicht gestellten Anforderungen an die Beschichtungstechnologie stellen die Erfassung und Charakterisierung der Schichteigenschaften elementare Bausteine des Arbeitsprogramms dar. Wie in Abschnitt 1.2.3 ausführlich diskutiert, ist bspw. zur Gewährleistung einer ausreichenden Produktqualität ein hohes Maß an Präzision und Reproduzierbarkeit sowie eine unmittelbare Kontrolle der Schichtdicke unerlässlich. Dementsprechend stehen neben der bereits erwähnten zuverlässigen Prozessierung der Schichten, ebenso Schichtdicke und Filmhomogenität im Fokus. Die entsprechenden experimentellen Parameter werden in den Abschnitten 2.2 und 2.3 spezifiziert. Mit dem Ziel, die Immobilisierung in eine elektrisch leitfähige Polymerkompositmatrix zu realisieren, umfasst die Beantwortung der diskutierten Fragestellung dieser Arbeit eine fundierte Analyse der elektrischen Leitfähigkeit (vgl. Abschnitte 3.3 - 3.5).

Auf ihre experimentelle Bestimmung wird in Abschnitt 2.4 unter der Erfassung potentieller Einflussfaktoren, wie bspw. der Aufnahme von Wasser (vgl. Abschnitt 2.5), näher eingegangen. Vor dem Hintergrund der Wahrung der katalytischen Integrität des Enzyms bei der Immobilisierung steht die Enzymaktivität als weitere zentrale Schlüsselfunktion im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit, um so speziell auf den Einsatzbereich abgestimmte, enzymspezifische Anforderungen abzuklären. Daher ist die Entwicklung eines spektrophotometrischen Nachweisverfahrens als Analysewerkzeug ein weiterer elementarer Schritt. Die zugrunde gelegte Auswerteroutine wird in Abschnitt 2.6 vorgestellt. Die folgenden Abschnitte geben nun einen detaillierten Überblick über die jeweiligen experimentellen Randbedingungen.

2.1 Herstellung der Beschichtungslösungen¹

Zur Präparation der Beschichtungslösungen wurde zum Teil auf bereits etablierte Routinen in Vorgängerarbeiten zurückgegriffen (Kachel, 2017; Wengeler, 2014). Mit dem Ziel, homogene Proben definierter Zusammensetzung und Lösemittelgehalts zu generieren, erfolgte die Herstellung der Beschichtungslösungen für alle Versuche in einem mehrstufigen Mischverfahren durch Kombination der gelösten Komponenten.

Im ersten Schritt wurden zunächst wasserbasierte Stammlösungen aus den Feststoffen angesetzt. Zur Formulierung einer homogenen PVA-Stammlösung wurde die gewünschte Menge an Polymergranulat (KurarayTM Poval 56-98², *Kuraray Europe GmbH*) mit Wasser gemischt und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei der Ansatz vor dem Rühren für 3 h und danach über Nacht bei 97 °C im Ofen gelagert wurde. Das leitfähige Polymer PEDOT:PSS (CleviosTM PH 1000, *Heraeus Deutschland GmbH & Co. KG*), welches als wasserbasierte Dispersion vorliegt und zusammen mit PVA die Polymerkompositmatrix bildet, wurde kurz vor der Beschichtung für 10 min im Ultraschallbad behandelt (S40/H Elmasonic, *Elma Schmidbauer GmbH*) und innerhalb der nächsten 3 h prozessiert. In Anlehnung an die von Wengeler (2014) vorgeschlagene Vorgehensweise wurde auf ei-

¹ Der erläuterte Ablauf beschreibt das Standardverfahren. Davon abweichende Parameter werden an entsprechender Stelle aufgeführt.

² Spezifikationen laut Hersteller: durchschnittliches Molekulargewicht 195.000 g/mol, Hydrolysegrad 98,4 mol. %, Polymerisationsgrad 4.300.

nen Filtrationsschritt verzichtet, um einen definierten Feststoffgehalt zu gewährleisten und beobachtete Verunreinigungen zu vermeiden. Für die Enzym-Puffer-Lösung wurden variable Mengen an FAD-GDH (GLD-351, *Socharim SA, Frankreich*) eingewogen und in Kaliumphosphatpufferlösung (PB) (50 oder 100 mM, pH 7,0) gelöst. Die Enzym-Puffer-Lösung wurde frisch angesetzt und maximal eine Woche verwendet. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte spektrophotometrisch bei 465 nm (vgl. Gleichung (A.27), molarer Absorptionskoeffizient $\epsilon_{FAD-GDH}(465nm) = 11.300 \frac{l}{mol \cdot cm}$ (Tsujimura et al., 2006)). Im letzten Schritt wurden die hergestellten Stammlösungen in den erforderlichen Mischungsverhältnissen zusammengefügt und, wenn nicht anderweitig dokumentiert, für mindestens 15 min bei Raumtemperatur gerührt.

Es ist zu berücksichtigen, dass der maximale Feststoffgehalt der Beschichtungslösungen nicht frei wählbar ist. Dieser wird im Wesentlichen von dem geforderten PEDOT:PSS-Anteil im Film bestimmt, da die Dispersion als kommerziell erhältliche Komponente fertigungsbedingt einen festen Feststoffgehalt von 1,0 - 1,3 Gew.-%³ besitzt und die PVA-Stammlösung in Ansätzen von 5 - 7 Gew.-% verwendet wird. Abhängig vom angestrebten Ziel der Untersuchungen (s. Abschnitte 3.1 und 4.1) wurden Zusammensetzung und Feststoffgehalt variiert oder einzelne Komponenten weggelassen bzw. substituiert, um systematisch deren Einfluss zu analysieren. So erfolgte bspw. die Zugabe von Dimethylsulfoxid (DMSO) zur Polymerkompositmatrix, um einen prozessbedingten Einfluss auf die Leitfähigkeit leichter verfolgen zu können (vgl. Abschnitt 3.4). Werden Schichten mit Enzym prozessiert und eine Analyse der Funktionalität der katalytischen Aktivität durchgeführt (s. Kapitel 4), erfolgte die Ansatzführung jeder Komponente ausschließlich mit frischem doppelt destilliertem Wasser (DD-Wasser). Eine Beeinträchtigung des Enzyms aufgrund von potentiellen Verunreinigungen im Wasser wird dadurch vermieden (vgl. Abschnitt 2.6.2 sowie Abbildung 2.6).

2.2 Beschichtung und Trocknung

Wie eingangs erwähnt, werden hohe Anforderungen an die Beschichtungstechnologie gestellt, welche bei präziser und kontrollierter Ausführung weitergehende Aussagen über das Zusammenspiel zwischen Prozess und Schichteigenschaften

³ Der Feststoffgehalt jeder verwendeten PH1000 Charge wurde experimentell überprüft und bei der Berechnung der Zusammensetzung berücksichtigt.

erlauben. Eine definierte Durchführung der Applikation sowie exakte Einstellung der Beschichtungs- und Trocknungsbedingungen sind daher zwingend erforderlich. Sie werden im nachfolgenden Abschnitt vorgestellt.

Die Applikation erfolgte für alle hergestellten Schichten auf Glassubstrate⁴, welche zuvor nach dem von Wengeler (2014) vorgeschlagenen Reinigungsverfahren gesäubert und anschließend zur besseren Benetzbarkeit kurz vor dem Beschichtungsvorgang mit Sauerstoffplasma aktiviert wurden⁵. Im Rahmen der Arbeit kamen in der Arbeitsgruppe entwickelte Versuchsanlagen zum Einsatz. Sie bestehen aus einer Beschichtungs- und Trocknungseinheit, erlauben eine Variation des Beschichtungsverfahrens und sind für eine definierte Prozesskontrolle ausgelegt (vgl. Abbildung 2.1).

Zum einen wurde der im Batch-Betrieb arbeitende Comb-Nozzle[®]-Trockner verwendet, eine vollständige Trockereinheit mit temperierter Zuluft und höhenverstellbarer Trocknerhaube, ergänzt um einen kommerziell erhältlichen Rakeltisch (ZAA 2300.F, *Zehntner, Schweiz*) mit temperierter Beschichtungsplatte (vgl. Abbildung 2.1 oben). Zusammen mit dem integrierten, einer Wabenstruktur ähnlichen Prallstrahldüsenfeld, welches hinsichtlich einer homogenen Wärmeübergangskoeffizienten-Verteilung optimiert und patentiert wurde (Cavadini et al., 2013), ermöglicht der Versuchsstand eine nahezu isotherme Trocknung unter präzise definierten Trocknungsbedingungen. Darüber hinaus kann bei Verwendung des von Wengeler und Schmitt entwickelten Düsenschlittens⁶, einer separaten Halterung zur Montage einer Schlitzdüse, bei der mittels Mikrometerschrauben der Spalt relativ zum Substrat eingestellt wird, eine Schlitzgussbeschichtung realisiert werden.

⁴ Als Material wurde für alle Beschichtungen Floatglass verwendet. Abhängig vom verwendeten Beschichtungsverfahren kamen verschiedene Formate zum Einsatz: Rakelbeschichtungen erfolgten auf 120 x 50 mm² und 120 x 90 mm² (L x B) der *Firma Zitt Thoma*, Schlitzgussbeschichtungen auf 150 x 70 mm² und 300 x 150 mm² der *Firma Glas Schmid*.

⁵ Die Reinigung der Substrate erfolgte im Ultraschallbad für je 10 min in Aceton- bzw. Isopropanol. Letzte Fremdpartikel wurden mechanisch mit Druckluft entfernt. Die Aktivierung wurde mit Sauerstoff im Plasmaofen (Pico, 200 W, *Diener electronic GmbH*) bei 80 % Leistung für 2 min durchgeführt. Die Substrate wurden innerhalb der nächsten 10 min beschichtet.

⁶ Verwendet wurde der Düsenschlitten 2001 der zweiten Generation, dessen Design und Entwicklung von Wengeler in Kooperation mit Schmitt ausgearbeitet wurde. Technische Zeichnungen des montierten Zustands können dem Anhang (s. Abschnitt B) entnommen werden. Details zu Aufbau und weiteren Merkmalen sind in der Dissertation von Wengeler (2014) erläutert.

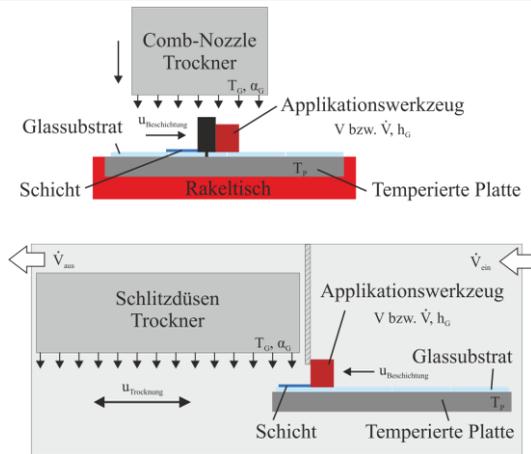


Abbildung 2.1: Schemazeichnungen der verwendeten Beschichtungs- und Trocknungsanlagen: Stationärer Prallstrahlrockner mit Rakeltisch und höhenverstellbarer Comb-Nozzle[®] Trocknerhaube (oben); Batch-Coater mit verfahrbarer Beschichtungsplatte und Schlitzdüsentrockner (unten). Abhängig von der Wahl des Applikationswerkzeugs ist die Realisierung von Rakel- und Schlitzgussbeschichtung möglich.

Zum anderen wurde der diskontinuierlich betriebene Batch-Coater zur Herstellung der Schichten eingesetzt (vgl. Abbildung 2.1 unten). Dieser besitzt eine bewegliche und beheizbare Aluminiumplatte. Die Platte fährt unmittelbar nach der Beschichtung (Beschichtungsgeschwindigkeit $u_{\text{Beschichtung}}$) aus der rechten Kammer unter das Schlitzdüsenfeld links und bewegt sich zyklisch unter der Trocknerhaube mit einer Geschwindigkeit von $u_{\text{Trocknung}} = 40 \text{ mm/s}$ und einer Amplitude von $x_{\text{Trocknung}} = 280 \text{ mm}$ hin und her. Die periodischen Bewegungen minimieren die auftretenden Inhomogenitäten des Prallstrahldüsenfelds und erlauben zugleich eine flexible Anpassung der Trocknungszeit bzw. die Realisierung benötigter Trocknerlängen. Die Trockereinheit wurde hinsichtlich ihrer lokalen Wärmeübergangscharakteristik evaluiert und optimiert (Baunach et al., 2015). Die Einstellung von reproduzierbaren, genau definierten und nahezu isothermen Trocknungsbedingungen ist somit möglich (Baunach et al., 2015; Baunach et al., 2016; Jaiser et al., 2016). Analog zum Comb-Nozzle[®] Trockner ist bei Verwendung des Düsen Schlittens neben der Rakelbeschichtung auch eine Schlitzgussbeschichtung

realisierbar. Diese Versuchsanlage erlaubt die Prozessierung von dünnen Schichten mit einer Beschichtungslänge von bis zu 800 mm⁷.

Die Durchführung der Rakelbeschichtung erfolgte mittels der kommerziell erhältlichen Aluminiumrakel ZUA2000.60 der *Firma Zehntner, Schweiz*, mit einer Breite von 60 mm. Die Spaltweite kann variabel zwischen 0 - 3000 µm gewählt werden. Die Beschichtungsgeschwindigkeit wird anhand des Rakeltischs im Bereich 0 - 247,5 mm/s mit 2,5 mm/s Auflösung eingestellt, die Standardrakelgeschwindigkeit betrug für die meisten Filme 100 mm/s. Das Beschichtungsvolumen variierte in Abhängigkeit von Zusammensetzung und erforderlicher Beschichtungsstrecke zwischen 90 µL bis einigen ml. Wenn nicht anderweitig dokumentiert, wurden die Filme in 3-facher Ausführung prozessiert und vermessen.

Für die Schlitzgussbeschichtung⁸ wurde die in der institutsinternen Werkstatt gefertigte Schlitzdüse 1001 (SG_LIB_50) mit einer Beschichtungsbreite von 50 mm verwendet. Sie wurde von M. Schmitt entworfen und eignet sich in Abhängigkeit der Dicke des eingebauten Shims sowohl für die Prozessierung niederviskoser Lösungen mit Anwendung im Bereich Biosensoren und organische Elektronik (< 10 mPas) als auch hochviskoser Batteriepasten (10 - 100 Pas) (Schmitt, 2014a)⁹. Die Schlitzweite zwischen den beiden Düsenbacken wurde im Rahmen dieser Arbeit zur Applizierung der Beschichtungslösungen durch eine Abstandsfolie (dem sog. „Shim“) auf 50 µm definiert, um eine homogene Querverteilung der Lösung in der Düse zu gewährleisten. Die genaue Einstellung des Beschichtungsspalts erfolgte mit exakt definierten Abstandsfolien durch Verstellen der Mikrometerschrauben des Düsenschlittens. Zur Förderung des Fluides durch die Düse auf das Substrat kam die Spritzenpumpe Nexus 6000 (*Chemyx Inc., England*) zum Einsatz. Die schlitzguss-prozessierten Schichten wurden mindestens in doppelter Ausführung hergestellt und im Anschluss vermessen.

Zu Beginn der Arbeit wurden zunächst Standardtrocknungsparameter definiert. Diese basieren auf der Analyse des Temperatureinflusses auf die katalytische Ak-

⁷ Maße der Aluminiumplatte: 960 x 260 mm² (L x B). Zum Vergleich: Maße des Rakeltischs 553 x 300 mm² (L x B) (mögliche Applikationslänge: 420 mm; verwendete, beschichtete Substratlänge mit homogener Trocknung mittig unter dem Comb-Nozzle[®] Düsenfeld: 15 cm).

⁸ Weitere allgemeine Details zum Schlitzgussverfahren und einer stabilen Betriebsweise sind im Anhang in Abschnitt C zu finden.

⁹ Die Konstruktionszeichnungen, welche den von M. Schmitt erstellten Begleitunterlagen zur Schlitzdüse entnommen wurden, sind im Abschnitt B im Anhang ergänzt (Schmitt, 2014a).

tivität des in Puffer gelösten Enzyms (vgl. Abbildung 2.2). Es ist deutlich zu erkennen, dass mit steigender Temperatur die Enzymaktivität stark abnimmt. Das Enzym beginnt sich aufzufalten und seine Tertiärstruktur zu verlieren (siehe dazu auch Abschnitt 1.2.1). In Abhängigkeit der Inkubationszeit treten die Konformationsänderungen bei niedrigeren Temperaturen auf. Die Aktivitätskurve der verwendeten FAD-GDH besitzt ein Optimum bei Raumtemperatur und nimmt nach Inkubationsdauern von 5 und 15 min bei einer Temperatur von 40 °C leicht ab, bei 30-minütiger Exposition bereits deutlich unmittelbar ab 30 °C.

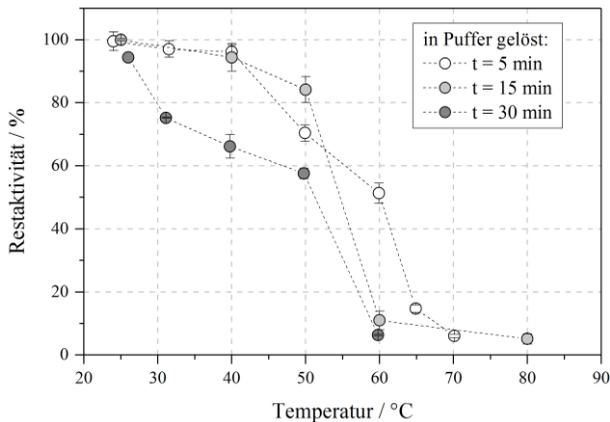


Abbildung 2.2: Restaktivität einer 1 mg/ml Enzym-Pufferlösung in Abhängigkeit der Temperatur nach variabler Inkubationszeit. Gezeigt sind die Aktivitätsverläufe für FAD-GDH-Lösungen mit 50 mM Kaliumphosphatpuffer bei pH 6,5 (5 & 30 min Inkubation), sowie 100 mM Kaliumphosphatpuffer bei pH 7,0 (15 min Inkubation).

Um eine Denaturierung des Enzyms durch den Trocknungsprozess gleich zu Beginn auszuschließen, wurden alle hergestellten Schichten mit und ohne Enzym für 5 Minuten bei 40 °C und einem moderaten Wärmübergangskoeffizienten von 50 W/(m²K) getrocknet¹⁰. Die sehr präzise Einstellung des Wärmeübergangskoeffizienten erfolgt an den Versuchsanlagen über die Gebläsefrequenz und am Comb-

¹⁰ Eine Abschätzung der Trocknungszeit in Abhängigkeit des Taupunktes für eine rein gasseitig kontrollierte Trocknung lag für ein 63 µm dicken Wasserfilm im Bereich von 1,5 min für eine stationäre Trocknung. Eine thermische Belastungsdauer von 5 min gewährleistet somit die Prozessierung vollständig getrockneter Schichten. Eine vollständige Berechnung und weitere Erläuterungen sind im Anhang ergänzt (vgl. Abbildung A.21 und Abbildung A.22 in Abschnitt M.1).

Nozzle[®] Trockner zusätzlich über den Abstand zwischen Substrat und Trocknerhaube (Baunach et al., 2015; Cavadini, 2019).

2.3 Filmhomogenität

Gerade mit Blick auf das angestrebte Einsatzgebiet ist für eine ausreichende Produktqualität ein hohes Maß an Präzision und Reproduzierbarkeit sowie eine unmittelbare Kontrolle der Schichtdicke erforderlich. Als wichtige Kenngrößen dienen daher zur Evaluierung des Beschichtungsverfahrens und Charakterisierung der Schichteigenschaften Trockenfilmdicke, Schichthomogenität und Oberflächentopographie, elementare Bausteine des Arbeitsprogramms. Darüber hinaus stellen sie aber auch wichtige Kriterien für die Funktionalität der Polymerkompositschichten dar (vgl. Abschnitte 1.2.2 und 1.2.3). Die nachfolgenden Abschnitte gehen dabei auf die experimentellen Grundlagen zur Quantifizierung der Filmhomogenität ein (vgl. Abschnitt 2.3.1) und geben einen Überblick über die verwendeten Visualisierungswerkzeuge sowie daraus abgeleiteten Kennzahlen (vgl. Abschnitt 2.3.2).

2.3.1 Bestimmung der Schichtdicke

Die Trockenfilmdicke wurde mit Hilfe eines Profilometers (DektakXT, *Bruker Nano Surface Devision, USA*) ermittelt. Bei diesem taktilen Messprinzip tastet eine Messspitze aus Diamant (Durchmesser = 12,5 μm) mit konstanter Geschwindigkeit und definierter Auflagekraft (3 mg) die Filmoberfläche ab. Aus der detektierten Vertikalbewegung der Diamantnadel resultiert das Messprofil, woraus die Schichtdicke abgeleitet wird. Durch vorsichtiges Einritzen mit einem Skalpell quer zur Beschichtungsrichtung wurde der Höhengsprung zwischen Schichtoberfläche und Substrat aufgezeichnet und die Trockenfilmdicke an sechs bzw. neun Positionen verteilt über den Film als Mittelwert bestimmt¹¹. Als Fehlerbalken wurde die Mittelwertabweichung aufgetragen, welche Inhomogenitäten in der Schichtdicke beschreibt.

¹¹ Abhängig von der späteren Verwendung der hergestellten Schichten variiert die Geometrie der Filme und die Anzahl der Stützstellen zur Schichtdickenbestimmung. Eine detaillierte Darstellung der gewählten Messpositionen ist im Anhang abgebildet (vgl. Abbildung A.9 in Abschnitt F.2).

Die Schichtdicke wird zur Charakterisierung und Vergleich der Beschichtungsverfahren verwendet (vgl. Abschnitt 3.2), geht aber auch als Parameter in die Bestimmung der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit ein (vgl. Abschnitte 3.3 - 3.5). Da es sich bei der Profilometrie durch das Einritzen des Films um keine zerstörungsfreie Messmethode handelt, erfolgte die Analyse der Schichtdicke nach der Leitfähigkeitsmessung und in den meisten Fällen an derselben Probe. Eine Ausnahme bilden die Schichten zur Untersuchung der Enzymaktivität, welche nach der Filmanalyse nicht mehr verwendet werden können, sodass die Schichtdicke an einem zusätzlichen und unter gleichen Prozessparametern hergestellten Film ermittelt wurde.

2.3.2 Visualisierung der Oberflächentopographie

Die Visualisierung der Schichtstruktur erfolgte mittels Licht-, Rasterelektronen-(REM) sowie Rasterkraftelektronenmikroskopie (AFM), wobei letztere Methode die höchste Auflösung bietet.

Die Lichtmikroskopie, welche einen ersten optischen Eindruck der Filmhomogenität ermöglicht, wurde am institutsinternen Zeiss Durchlichtmikroskop (Axio, *Carl Zeiss Microscopy GmbH*) mit einer Vergrößerung der Probenoberfläche von 5 bis 20-fach durchgeführt. Die Aufnahme der Filmoberfläche mittels REM erfolgte am Laboratorium für Elektronenmikroskopie (LEM) des KITs. Dazu wurden die auf dem Probenhalter montierten Filme mit Leitsilber am Rand kontaktiert. Es wurden ein bis zwei Aufsichtsaufnahmen von repräsentativen Ausschnitten in den Vergrößerungsstufen 1k, 2k, 10k und 20k angefertigt sowie selektiv Querschnittsaufnahmen zur Überprüfung der Schichtdicke.

Zusätzlich wurde die Analyse der Topographie am Rasterkraftmikroskop der Arbeitsgruppe Schimmel am Institut für Angewandte Physik durchgeführt. Während mit Lichtmikroskopie und REM qualitative Aussagen getroffen werden, wird die Rauheit der Oberfläche anhand charakteristischer Kenngrößen (R_a , R_q und R_t) quantifiziert, die aus den AFM-Aufnahmen abgeleitet werden. Der Mittenrauwert R_a beschreibt als arithmetischer Mittelwert den betragsmäßigen Abstand von der Mittellinie, wobei die quadratische Rauheit R_q die Abweichungsquadrate vom Mittelwert berücksichtigt und empfindlicher auf einzelne Riefen reagiert. Die maximale Rautiefe R_t entspricht der vertikalen Differenz zwischen der tiefsten und höchsten Stelle und ist geeignet um ggf. vorhandene Fehlstellen im Film zu analysieren.

Die AFM-Aufnahmen wurden im intermittierenden Modus (engl. tapping mode) an ein bis zwei Positionen auf dem Film angefertigt, wobei zwei bis drei $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ -Aufnahmen, eine $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ sowie ein bis zwei $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ Messungen erstellt wurden. Die Auswertung erfolgte mit der frei erhältlichen Software „Gwyddion“. Durch Subtraktion der Mittelebene wurden die Daten zunächst nivelliert und im Anschluss das Minimum der Daten als Nullpunkt der Farbskala „Gwyddion.net“ gesetzt. Die charakteristischen Kenngrößen wurden aus zwei bis fünf Aufnahmen ermittelt. Bis zur Analyse wurden die hergestellten Filme im Vakuumtrockenschrank bei Raumtemperatur gelagert.

2.4 Elektrische Leitfähigkeit

Im Hinblick auf das Ziel der Arbeit, die Immobilisierung in eine elektrisch leitfähige Polymerkompositmatrix vorzunehmen und die in Abschnitt 1.2.2 diskutierte Sensitivität des leitfähigen Polymers PEDOT:PSS gegenüber den Herstellungsbedingungen näher zu beleuchten, muss die elektrische Leitfähigkeit sorgfältig charakterisiert werden. In den entsprechenden Abschnitten 2.4.1 bis 2.4.3 werden die experimentellen Rahmenbedingungen in Verbindung mit potentiellen Einflussfaktoren ausgeführt.

Allgemein beschreibt die elektrische Leitfähigkeit σ (engl. conductivity) die Fähigkeit, elektrische Ladung zu transportieren, und leitet sich aus dem Kehrwert des spezifischen Widerstands ρ (engl. resistivity) ab. Letzterer resultiert aus dem Produkt des spezifischen Schichtwiderstands ρ_s (engl. sheet resistance) und der Trockenschichtdicke h_{tr} der prozessierten Schichten (vgl. Gleichung (2.1)).

$$\sigma = \frac{1}{\rho} = \frac{1}{\rho_s \cdot h_{tr}} \quad \text{mit} \quad [\sigma] = \frac{S}{m} = 10^{-6} \frac{m}{\Omega \cdot \text{mm}^2} \quad (2.1)$$

Die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit σ erfolgt indirekt über die Analyse des spezifischen Schichtwiderstands ρ_s , für welchen in dieser Arbeit die Vierpunkt-Methode herangezogen wurde.

2.4.1 Vier-Punkt-Messmethode

Die Vier-Punkt-Messmethode (engl. four-point probe) ist eine bewährte und zuverlässige Messmethode (Schroder, 2006) und wurde ursprünglich 1915 als Wenner-Verfahren zur Analyse des spezifischen Widerstands des Erdbodens bekannt (Wenner, 1915). 1954 wurde sie erstmal von Valdes auf die Untersuchung von Halbleiter-Wafern übertragen (Valdes, 1954). Als wichtiges Werkzeug zur Qualitätsprüfung von Polymerfolien hat sie sich zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit von organischen Halbleitern etabliert, zu welchen auch leitfähige Polymere zählen (Elschner et al., 2011; Nardes et al., 2008; Ouyang et al., 2004).

Vier Messspitzen, die kollinear mit gleichem Abstand $s = 5 \text{ mm}$ angeordnet sind, werden mittig auf der Probe platziert. Über die äußeren beiden Kontakte (1 und 4) wird mittels einer Spannungsquelle (E3633A, *Agilent Technologies*) ein konstanter Strom I_{14} durch die Schicht geleitet, während die resultierende Spannungsdifferenz U_{23} zwischen den beiden inneren Kontakten (2 und 3) gemessen wird (vgl. Abbildung 2.3). Die Bestimmung des Stroms I_{14} erfolgt anhand des Spannungsabfalls U_R eines eingebauten Widerstands R (11 k Ω) nach dem Ohm'schen Gesetz. Die Spannungen (U_R und U_{23}) werden mit einem digitalen Multimeter (2700 Integra Series, *Keithley*) erfasst und ausgelesen.

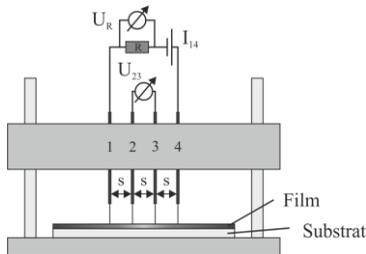


Abbildung 2.3: Schematische Zeichnung des Vier-Punkt-Messstandes.

Für eine halbindefinite, dünne Schicht einer Dicke h_{tr} auf einer nicht leitfähigen Oberfläche ergibt sich der spezifische Widerstand nach Valdes (1954) gemäß Gleichung (2.2).

$$\rho = \underbrace{\frac{U_{23}}{I_{14}} \cdot \frac{\pi}{\ln 2}}_{\rho_s} \cdot h_{tr} \quad \text{mit } [\rho] = \Omega \cdot m \quad (2.2)$$

Das Verhältnis der Schichtdicke h_{tr} zum Messspitzenabstand s definiert eine dünne Schicht mit $h_{tr}/s < 0,1$, sodass Gleichung (2.2) in dieser Arbeit für halbunendliche Schichten mit einer Dicke von bis zu 500 μm Gültigkeit besitzt.

Um darüber hinaus auch Proben mit definierter Geometrie charakterisieren zu können, führt Smits (1958) einen Geometriefaktor C_{Smits} ein (vgl. Gleichung (A.6) in Abschnitt G.1 im Anhang). Mit diesem wird der spezifische Schichtwiderstand zweidimensionaler rechteckiger und runder Proben (Länge x Breite: $a \times b$) bestimmt. Analog zur halbunendlichen dünnen Schicht ergibt sich der spezifische Widerstand einer endlichen Probe durch Multiplikation mit der Schichtdicke gemäß Gleichung (2.3). Der zusätzliche Korrekturfaktor¹² $F\left(\frac{h_{tr}}{s}\right)$, abgeleitet aus dem Manuskript von Uhlir Jr. (1955), berücksichtigt die endliche Ausdehnung der Probe bei Umrechnung des Schichtwiderstands in den spezifischen Widerstand in erster Näherung. Eventuell auftretende Spannungsgradienten senkrecht zur Oberfläche werden vernachlässigt.

$$\rho = \rho_s \cdot h_{tr} \cdot F\left(\frac{h_{tr}}{s}\right) = \underbrace{\frac{U_{23}}{I_{14}} \cdot C_{Smits}\left(\frac{a}{b}; \frac{b}{s}\right)}_{\rho_s} \cdot h_{tr} \cdot F\left(\frac{h_{tr}}{s}\right) \quad (2.3)$$

Sehr dünne Schichten werden oft auch mit dem spezifischen Schichtwiderstand ρ_s und der sich daraus ergebenden spezifischen Schichtleitfähigkeit σ_s (engl. sheet conductance) charakterisiert (vgl. Gleichung (2.4)).

$$\rho_s = \frac{1}{\sigma_s} = \frac{1}{\sigma \cdot h_{tr}} \quad \text{mit } [\rho_s] = \Omega \quad (2.4)$$

Zur Bestimmung der Leitfähigkeit wird eine homogene Probe vorausgesetzt bzw. eine effektive Leitfähigkeit abgeleitet, da aus der Vier-Punkt-Messung ein über die Schichthöhe integraler spezifischer Schichtwiderstand ermittelt wird, welcher von der gesamten vertikalen Verteilungsdichte der leitfähigen Komponente unabhängig von deren lokaler Auflösung festgelegt wird (Schroder, 2006).

¹² Für $h_{tr}/s = 0,4$ erreicht der Korrekturfaktor F bereits einen Wert von $F = 0,9995$. Für dünnere Schichten ($h_{tr} < 2 \text{ mm}$) ist keine Abweichung mehr zu erwarten ($F \rightarrow 1$). Für $h_{tr} \rightarrow 0$ und $\frac{b}{s} \rightarrow \infty$ geht Gleichung (2.3) in (2.2) über. Da der Schichtdicken-Korrekturfaktor F auch noch Gegenstand aktuellerer Forschungsarbeiten ist, sind weiterführende Erläuterungen in Abschnitt G.2 im Anhang ergänzt.

2.4.2 Experimentelle Durchführung

Die Leitfähigkeitsuntersuchungen wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in einer Glovebox an 40 x 40 mm² zugeschnittenen Filmen¹³ bei Raumtemperatur durchgeführt. Die wassersensitiven Proben wurden vor der Analyse für mindestens zwei Tage unter Inertgas gelagert¹⁴. Abhängig vom angestrebten Ziel der Untersuchung erfolgte vor der Vier-Punkt-Messung zusätzlich eine thermische Nachbehandlung (engl. annealing). Dazu wurden die Filme auf einer Heizplatte für 30 oder 60 min auf 40 bzw. 120 °C erhitzt, um Restlösemittel bzw. Restfeuchtigkeit zu entfernen.

Das Leitfähigkeitsmessprofil wurde im Laufe der durchgeführten Arbeiten optimiert. Zunächst wurde bei 0 V eine Offsetspannung ermittelt. Diese tritt aufgrund der höheren Messgenauigkeit des Keithley Multimeters gegenüber der verwendeten Agilent Spannungsquelle auf. Die Messung der Spannungsdifferenz U_{23} erfolgte im Anschluss zwei Mal bei 18 V für 20 s, wobei zwischen jeder Messung eine Pause von 20 s eingehalten wurde, um ein strominduziertes, mögliches Aufheizen der Probe und damit verbundene Verfälschung des Messergebnisses zu unterbinden¹⁵.

Insgesamt wurden zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit mindestens 4 Proben unter identischen Prozessbedingungen hergestellt und analysiert. Jede Schicht wurde viermal – zweimal längs und zweimal quer zur Beschichtungsrichtung – vermessen. Die Kontaktspitzen wurden nach der ersten Messung kurz angehoben, abgesenkt und die zweite Messung durchgeführt. Durch das Anheben und Absenken wird die Messposition geringfügig verändert. Im Anschluss wurde die Probe um 90° gedreht und analog der Messvorgang quer zur Beschichtungsrichtung wiederholt. Das Vorgehen ermöglicht eine Aussage über die Homogenität bzgl. der Leitfähigkeit bzw. über den Einfluss der Messrichtung. Die elektrische Leitfähigkeit jeder Schicht wurde als Mittelwert aus vier Messungen angegeben bzw. aus jeweils zwei Längs- sowie zwei Quermessungen, sofern die Homogenität der einzelnen Probe betrachtet wird. Als Fehlerbalken wurde das Konfidenzintervall mit einem Vertrauensniveau von 95 % aufgetragen.

¹³ Pro Beschichtung wurden zwei Filme A und B aus dem Beschichtungssubstrat geschnitten. Abhängig von dem Beschichtungsverfahren variiert die Geometrie der Substrate. Eine detaillierte Darstellung der Probengeometrie bzw. Schnittkanten ist im Anhang abgebildet (vgl. Abbildung A.8).

¹⁴ Die Abhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit von der Lagerungsdauer unter Inertgasatmosphäre ist im Anhang in Abbildung A.14 dargestellt.

¹⁵ Weitere Details zur Optimierung des Messprofils sind im Anhang in Abschnitt H dargestellt.

2.4.3 Kombinierte Sorption

Neben den Leitfähigkeitsmessungen in der Glovebox unter Stickstoffatmosphäre wurde auch der Einfluss der Sorption von Wasser auf die Leitfähigkeit untersucht, welche aufgrund der belegten Wassersensitivität von PEDOT:PSS eine große Auswirkung hat (Choi et al., 2015; Elschner et al., 2011; Nardes, 2007; Peters et al., 2011). Im Rahmen der Arbeit wurde untersucht, wie sich diese in Abhängigkeit der absorbierten Menge an Wasser auf die Polymerkompositmatrix auswirkt. Hierfür wurde eine Sorptionskammer¹⁶ konstruiert, aufgebaut und in Betrieb genommen, sodass bei definierter Luftfeuchte Leitfähigkeitsmessungen durchgeführt werden konnten. Als Referenz diente für jede Schicht die Leitfähigkeit bei 0 % rH und Raumtemperatur in der Glovebox unter Stickstoff. Im Anschluss erfolgte die Exposition der Proben bei 30, 50 oder 70 % rH¹⁷. Eine Abschätzung der Sorptionskinetik zeigt, dass das sich an der Oberfläche einstellende Phasengleichgewicht auch schnell im Kern der untersuchten Schichten erreicht wird. Eine lange, zusätzliche Wartezeit ist dadurch nicht erforderlich, da eine schnelle Rückbefeuchtung von PVA zu beobachten ist, die zudem mit steigender relativen Luftfeuchte beschleunigt wird (vgl. Abbildung A.20 im Anhang). Zusammen mit der in der Literatur (Choi et al., 2015; Kus & Okur, 2009) bestätigten schnellen Reaktionszeit von PEDOT:PSS basierten Feuchtesensoren ist daher auch für PEDOT:PSS-PVA Schichten nicht von einer zusätzlichen Wartezeit auszugehen¹⁸.

2.5 Sorption

Die Aufnahme von Wasser aus der Umgebung hat einen großen Einfluss auf die Eigenschaften der Polymerkompositschicht. PEDOT:PSS, zum Beispiel, ist stark hygroskopisch und verändert seine elektrische Leitfähigkeit in Abhängigkeit der Luftfeuchte, der es exponiert ist. Auch aktive Biosensorfilme weisen eine starke sorptionsbedingte Abhängigkeit der Performance auf (Kachel, 2017; Yoo & Lee,

¹⁶ Die Konstruktionszeichnung der Sorptionskammer ist im Anhang in Abschnitt J dargestellt. Eine schematische Zeichnung der gesamten Versuchsanlage sowie weitere Details zur Inbetriebnahme und Betriebscharakteristik sind in der studentischen Arbeit von A. Burkart (2015) enthalten, welche im Rahmen dieser Arbeit betreut und angeleitet wurde.

¹⁷ Die Stabilität des Messsignals während des Sorptionsprozesses bzw. der daraus abgeleiteten elektrischen Leitfähigkeit als Funktion der Expositionsdauer ist im Anhang in Abbildung A.17 links dargestellt.

¹⁸ Details zur Abschätzung werden im Anhang in Abschnitt L ausführlicher beschrieben und diskutiert.

2010). Um daher die Wasseraufnahme mit der Performance der Schichten korrelieren zu können, ist eine Quantifizierung der absorbierten Menge an Wasser zusammen mit einer umfangreichen Datenerhebung notwendig.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte die Analyse des Phasengleichgewichts der verwendeten Komponenten gravimetrisch mit Hilfe eines automatisierten Probentauschers¹⁹, mit dem die Sorption von Wasser von bis zu 40 Proben gleichzeitig analysiert werden kann. Die Proben befinden sich in einer temperatur- und luftfeuchtekontrollierten Kammer (WKL100, *Weiss Umwelttechnik GmbH*). Sie werden in letzteren ohne Eingreifen vollautomatisch nacheinander gewogen, sodass die Sorption ohne äußere Störungen untersucht wird (vgl. Abbildung 2.4).

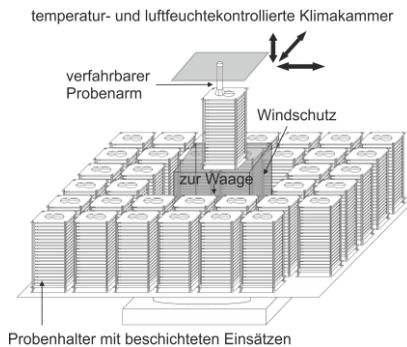


Abbildung 2.4: Schematische Zeichnung des automatisierten Probentauschers nach Kachel (2017).

Die Probenpräparation erfolgte nach der von Kachel (2013) vorgeschlagenen Methodik aus wässrigen Lösungen der jeweiligen Einzelkomponente sowie der Gemische. Die Trockenmasse pro Probe beträgt etwa 2 g. Die Referenzmessungen zur Bestimmung der Trockenmasse bei $rH = 0\%$ wurden mit Druckluft (Taupunkt = -20 °C) durchgeführt. Die Aufnahme von Wasser wurde bei einer Versuchstemperatur von 40 °C und einer relativen Luftfeuchte im Bereich von 15 - 95 % detektiert.

¹⁹ Der Probentauscher entspricht einer Weiterentwicklung des von S. Kachel verwendeten Aufbaus, die die Versuchsanlage konstruiert und aufgebaut hat. Eine detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus ist der Arbeit von S. Kachel zu entnehmen (Kachel, 2017). Im Rahmen dieser Arbeit wurden zusätzliche Optimierungen wie bspw. eine präzisere Positionierung der Proben vorgenommen.

2.6 Enzymaktivität

Die Wahrung der katalytischen Integrität des Enzyms bei der Immobilisierung ist Ausgangspunkt für die Abklärung enzymspezifischer Anforderungen und Identifikation der Haupteinflussfaktoren bei der Prozessierung, wie in Abschnitt 1.3 diskutiert wurde. Auf das entwickelte spektrophotometrische Nachweisverfahrens als Analysewerkzeug wird im Folgenden eingegangen, bevor die zugrunde gelegte Auswerteroutine zur Analyse der katalytisch aktiven Filme erläutert wird.

Die Enzymaktivität wird zur Beurteilung der Funktionalität des Enzyms herangezogen. Sie stellt eine zentrale Größe dieser Arbeit dar, die nicht direkt zugänglich ist, sondern indirekt aus der Enzymkinetik bei bekannter Enzymkonzentration ermittelt wird. Als relative Größe wird sie über die Restaktivität in Prozent definiert. Dazu wird die molar-spezifische Reaktionsgeschwindigkeit \tilde{r}_s des exponierten Enzyms zu der unter optimierten Bedingungen bestimmten Kinetik der nativen Enzymlösung in Bezug gesetzt (vgl. Gleichung (2.5) sowie Abschnitt 1.2.1).

$$\text{Restaktivität} = \frac{\tilde{r}_{s,\text{exponiert}}}{\tilde{r}_{s,\text{nativ}}} \cdot 100 \quad \text{mit [Restaktivität]} = \% \quad (2.5)$$

Zur Bestimmung der Restaktivität sind zwei Messungen erforderlich: Quantifizierung der in Lösung befindlichen Proteinmenge sowie Analyse der Reaktionskinetik des gelösten Enzyms. Ersteres erfolgt mittels eines Protein-Assays, letzteres mit Hilfe des in dieser Arbeit speziell für das verwendete Enzym entwickelten Aktivität-Assays. Die verwendeten Assays (vgl. Abschnitte 2.6.1 und 2.6.2) sowie die entwickelte Methodik zur Analyse der hergestellten Filme (vgl. Abschnitt 2.6.3) werden im Folgenden erläutert.

2.6.1 Protein-Assay

Ein mit Bicinchoninsäure arbeitender Assay (engl. Bicinchonic acid, BCA), welcher von Smith et al. (1985) entwickelt wurde und auf der Biuret-Reaktion basiert, wurde primär zum Nachweis der Proteinkonzentration verwendet. Verglichen mit dem Lowry-Assay ist dieser bspw. einfacher in der Handhabung, sensitiver bei der Proteinbestimmung und toleranter gegenüber oberflächenaktiven Substanzen (Brown et al., 1989). Eigene Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Lowry-Assays bei der Filmanalyse (s. Abschnitt 2.6.3) zeigten Diskrepanzen bei der Proteinbestimmung. Die Ergebnisse und daraus gewonnenen Erkenntnis wurden in Walz

et al. (2019) veröffentlicht und diskutiert. Aus den Erfahrungen heraus konnte für weitere Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit das BCA-Assay erfolgreich angewendet werden. Weitere Erläuterung dazu finden sich im Anhang in Abschnitt R.

Die Durchführung des BCA-Assays erfolgte mit dem kommerziell erhältlichen *Pierce BCA Protein-Assay KIT* der Firma *Thermo Scientific* gemäß dem empfohlenen Standard-Protokolls (Inkubation bei 37 °C für 30 min) (Pierce, 2018; Thermo, 2010). Als Standard wird eine FAD-GDH-Phosphatpufferlösung (pH 7, 50 bzw. 100 mM) verwendet, deren Konzentration per Absorbanzmessung nach Gleichung (A.27) bei einer Wellenlänge von 465 nm bestimmt wurde. Bei bekannter Enzymkonzentration wurde die sich nach Durchführung des BCA-Assay ergebende Absorbanz gemessen und so gegen die FAD-GDH-Referenz kalibriert. Die Kalibrierfunktion wurde bei Raumtemperatur (ca. 23 °C) für die in der Arbeit verwendeten Puffersysteme (50 mM und 100 mM Phosphatpuffer, pH 7) ermittelt und ist für Proteinkonzentrationen in einem Arbeitsbereich von 0,022 - 0,350 µM (µmol/l) gültig. Die ermittelten Kalibrierungsparameter sind in Tabelle 1 aufgelistet (vgl. auch Abbildung A.40 im Anhang)²⁰.

Tabelle 1: Parameter der Kalibrierfunktion des BCA-Assays: y bezeichnet die einheitslose Absorbanz und x die Enzymkonzentration in µM = µmol/l. Gültig für die verwendeten Puffersysteme 50 mM und 100 mM Phosphatpuffer, pH 7,0. Die Parameter wurden mit Hilfe der Least-Square-Methode ermittelt.

	$y = (a \pm \Delta a)x + (b \pm \Delta b)$				Linearer Bereich	R ²
	a / 1/µM	Δa / 1/µM	b / -	Δb / -	/µM = µmol/l	
BCA	2,053	0,019	0,027	0,003	0,022 - 0,350	0,998

²⁰ Detailliertere Arbeitsvorschriften zur Durchführung des BCA-Assays sind in den studentischen Arbeiten von K. Schmitt (2017) und L. Möhlendick (2017), die im Rahmen dieser Arbeit betreut und angeleitet wurden, enthalten. Details zur Kalibrierung des zu Beginn verwendeten Lowry-Assays sind im Zusatzmaterial des im Rahmen dieser Arbeit publizierten Artikels zu finden: Riegel, A.-L., Borzenkova, N., Haas, V., Scharfer, P. & Schabel, W. (2016), 'Activity determination of FAD-dependent glucose dehydrogenase immobilized in PEDOT: PSS-PVA composite films for biosensor applications', *Engineering in Life Sciences* **16**(6), 577–585.

2.6.2 Bestimmung der Enzymkinetik von FAD-GDH – Der Aktivität-Assay

Als zweite Eingangsgröße wird zur Bestimmung der Restaktivität (vgl. Gleichung (2.5)) auf den Aktivität-Assay zurückgegriffen. Er dient zur Analyse der Enzymkinetik und wurde speziell für das verwendete Enzym FAD-GDH entwickelt und optimiert (bereits veröffentlicht in Riegel et al (2016)). Es handelt sich um ein spektrophotometrisches Nachweisverfahren, bei dem die durch Reduktion hervorgerufene Entfärbung des im oxidierten Zustand stark blau gefärbten Farbstoffs 2,6-Dichlorophenolindophenol (DCPIP) erfasst wird. Durch Mischen aller Reagenzien (DCPIP-Lösung, Glucose-Lösung, Enzym enthaltende Analyselösung) wird die enzymkatalysierte Redoxreaktion gestartet. In dieser agiert der Farbstoff als Akzeptor der freiwerdenden Elektronen, die die Glucose während der Oxidation abgibt.

Die Reaktion wird mit Hilfe des Spektrophotometers bei konstanter Wellenlänge im Absorbanzmaximum des Farbstoffes ($\lambda = 605 \text{ nm}$) verfolgt (vgl. Abbildung 2.5 links). Zur Ermittlung der Enzymkinetik wird die zeitliche Abnahme der Farbinintensität $\frac{dA_{605}}{dt}$ detektiert, woraus im Anschluss die molare Reaktionsrate $\tilde{r}_{Glucose}$ in $\frac{\mu M_{Glucose}}{min}$ aus der gemessenen Anfangssteigung $\tan \alpha_{605}$ bestimmt wird (vgl. Abbildung 2.5 rechts und Gleichung (2.6))²¹.

$$\tilde{r}_{Glucose} = \tilde{r}_{DCPIP} = -\frac{d\tilde{c}_{DCPIP}}{dt} = -\frac{\tan \alpha_{605}}{\epsilon_{DCPIP} \cdot l} \quad (2.6)$$

$$\text{mit } [\tilde{r}_{Glucose}] = \frac{\mu mol_{Glucose}}{l \cdot min} = \frac{\mu M_{Glucose}}{min}$$

Die Aufnahme des Signals erfolgte während der linearen Abnahme²² der Absorbanz ca. 15 s nach Start der Reaktion im Sekundenintervall eine Minute lang unter

²¹ Details zur Herleitung von Gleichung (2.6) sowie Informationen zu den eingesetzten Parametern sind in Abschnitt S.1 im Anhang zu finden.

²² Nur im linearen Bereich erreicht die Reaktion ein Fließgleichgewicht (engl. steady-state), im Sinne einer Reaktion Nullter Ordnung, in welchem das Substrat linear ab und das Produkt linear zunimmt (Bisswanger, 2017).

optimierten Bedingungen: 100 μM DCPIP-Lösung²³, 150 mM Glucose-Lösung und 100 mM Phosphatpufferlösung bei pH 7,0 (Blindwert) mit 600 μL Reaktionsvolumen in einer UV-Halbmikroküvette. Diese Einstellungen bezeichnen die erforderlichen, wirtschaftlichen Konzentrationen der variablen Komponenten zur Erzielung der höchsten Reaktionsrate des Enzyms.

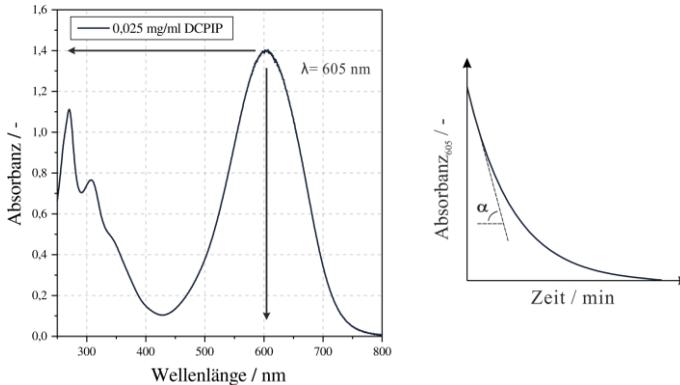


Abbildung 2.5: Absorbanzspektrum einer 1:40 DCPIP-Lösung (Ausgangskonzentration: 1 mg/ml) (links); zeitliche Abnahme der Absorbanz A_{605} im Absorbanzmaximum durch Reduktion des Farbstoffes DCPIP (rechts). Zur Aufnahme der Absorbanz wurden die Spektrophotometer Genesys S10 oder Evolution 201 der Firma *Thermo Fisher Scientific GmbH* verwendet.

Der Aktivität-Assay ist zur Aufzeichnung von Reaktionsraten für Enzymkonzentrationen im Bereich 0,05 - 1 nM (nmol/l) geeignet und erfordert aufgrund seiner hohen Sensitivität eine sorgfältige und korrekte Ausführung. Kleinste Verunreinigung der Reagenzien bzw. im Lösemittel Wasser können zu Abweichungen führen. Dies verdeutlicht Abbildung 2.6, in welcher die durchgeführten Kalibrierungen dargestellt sind (Auflistung der Kalibrierparameter: Tabelle A.21 im Anhang). Es ist deutlich zu sehen, dass Abweichungen zwischen den ermittelten Reaktionsraten des nativen Enzyms auftreten, welche vom Reinheitsgrad des verwendeten

²³ Im Rahmen kontinuierlicher Verbesserungen wurde der Assay nach Anpassungen gegenüber der von Riegel et al. (2016) veröffentlichten Methode bei einer leicht erhöhten Farbstoffkonzentration von 100 μM durchgeführt. Die Konzentrationseinstellung des DCPIPs erfolgte spektrophotometrisch nach Gleichung (A.27). Diese Optimierungen wurden in der Bachelorarbeit von L. Liebl (2016) erarbeitet, welche im Rahmen dieser Arbeit betreut und angeleitet wurde.

Wassers abhängen. Wasser stellt als Lösemittel aufgrund der geringen Konzentrationen der einzelnen Komponenten bzw. des hohen Verdünnungsgrades der Stammlösungen die Hauptkomponente im Aktivität-Assay dar. Bei Verwendung des vollentsalzten Wassers (VE-Wasser), dessen Aufbereitung am Institut kontinuierlich mittels eines Ionentauschers erfolgt, werden die geringsten Reaktionsraten gemessen. Wird dieses sukzessive durch doppelt destilliertes Wasser (DD-Wasser) ersetzt, lassen sich höhere Reaktionsraten erzielen, wie der Vergleich der durchgeführten Kalibriervarianten (dunkelgrau über hellgrau zu weiß) in Abbildung 2.6 zeigt.

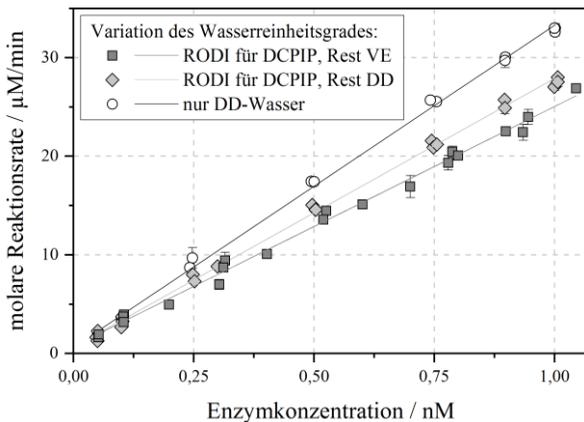


Abbildung 2.6: Einfluss des Wasserreinheitsgrades auf die Kalibrierung des Aktivität-Assays für Enzymkonzentrationen von 0,05 - 1,0 nM (nmol/l) bei optimierten Einstellungen: Verwendung von RODI-Wasser für den Farbstoffansatz und VE-Wasser (dunkelgraue Quadrate) bzw. DD-Wasser (hellgraue Rauten) für die restlichen Reagenzien, Verwendung von ausschließlich DD-Wasser (weiße Kreise). Auflistung der Kalibrierparameter: vgl. Tabelle A.21 im Anhang.

Aufgrund beobachteter pH-Wert-Schwankungen²⁴ des institutsinternen VE-Wassers und bereits dokumentierter Violett-Färbung von DCPIP im sauren Milieu (pH < 5) (Tillmans et al., 1932), erfolgte die Ansatzführung des Farbstoffes von

²⁴ Für das institutsinterne VE-Wasser wurden bei regelmäßigen Messungen pH-Werte zwischen 4,8 und 6,8 verzeichnet. Sehr wahrscheinlich sind diese auf die Restkapazität des Ionentauschers bei schwankendem Durchsatz zurückzuführen, was unmittelbar Schwankungen des Wasserreinheitsgrades zur Folge hat.

Beginn an mit dem gleichen Batch RODI-Wasser (engl. Reverse Osmosis/De-Ionised), welches durch eine vorgeschaltete Umkehrosmose gewonnen wurde. Der dadurch konstant gehaltene pH-Wert gewährleistet einen gleichbleibenden Ausgangszustand des Redoxfarbstoffes, dessen Spektrum eine pH-Wert Abhängigkeit aufweist²⁵.

Insgesamt ist festzuhalten, dass unter gleichbleibenden Bedingungen, d.h. immer die gleiche Wasserqualität und Durchführung des Assays unter optimierten Bedingungen, eine hohe Reproduzierbarkeit der Kalibrierung erzielt wird. Jede Kalibrierung²⁶ umfasst drei Datensätze, welche unabhängig von verwendetem Enzym- oder Farbstoffcharge, Experimentator und Spektrometer (Typ Genesys 10S oder Evolution 201 der Firma *Thermo Fisher Scientific*) ermittelt wurden. Je Datensatz wurden sieben Enzymkonzentrationen eingestellt und eine 6-fach Bestimmung der Reaktionsrate durchgeführt, wobei aus letzteren die Fehlerbalken pro Datenpunkt als Konfidenzintervall mit einem Vertrauensniveau von 95 % aufgetragen wurden.

Da die molare Reaktionsgeschwindigkeit \tilde{r} stark von der Enzymkonzentration abhängt, wird sie auf die tatsächliche Konzentration im Assay bezogen und so die molar-spezifische Reaktionsrate \tilde{r}_s als unabhängige Vergleichsgröße bestimmt (vgl. Gleichung (2.7)).

$$\tilde{r}_s = \frac{\tilde{r}_{Glucose}}{\tilde{c}_{FAD-GDH}} \quad \text{mit } [\tilde{r}_s] = \frac{\mu\text{mol}_{Glucose}}{\text{min} \cdot \text{nmol}_{FAD-GDH}} \quad (2.7)$$

Zur Darstellung der katalytischen Aktivität werden nach Gleichung (2.5) die molar-spezifischen Reaktionsraten von exponiertem und nativem Enzym in Bezug gesetzt. Die Bestimmung beider Kinetiken bzw. deren Durchführung muss unter identischen Assay-Einstellungen erfolgen, um eine Vergleichbarkeit der ermittelten Restaktivitäten zu gewährleisten. Um zusätzlich die Gültigkeit der eingesetzten Kalibrierkurve sicherzustellen und zu überprüfen, wird die Reaktionsrate der hergestellten nativen Enzymlösung mitgemessen. Dieses Vorgehen bietet den Vorteil, dass minimale Abweichungen bei Konzentrationseinstellungen nicht zum Tragen kommen bzw. direkt korrigiert werden können.

²⁵ Die Abhängigkeit des DCPIP-Spektrums bei variiertem Reinheitsgrad und pH-Wert des Wassers ist in Abschnitt S.3 im Anhang dargestellt.

²⁶ Die Datensätze der durchgeführten Kalibrierungen sind während wissenschaftlicher Tätigkeiten unabhängig voneinander entstanden und in Auszügen in den Bachelorarbeiten von V. Haas (2015), L. Liebl (2016), L. Möhlendick (2017) und K. Schmitt (2017) dokumentiert.

2.6.3 Filmanalyse²⁷

Die Filmanalyse wurde als Methode zur Analyse der Funktionsfähigkeit der in Polymerkompositschichten eingebetteten Enzymmoleküle entwickelt, ein allgemeiner Ansatz, wie er u. a. von Borgmann et al. (2012) vorgeschlagen wurde. Für die Filmanalyse ist noch kein voll funktionsfähiger Sensor erforderlich. Mit ihr kann vielmehr als Auswerteroutine bereits von Anfang an evaluiert werden, wie eine Vielzahl äußerer Einflüsse, die während der Prozessierung auftreten, die Funktionalität des Enzyms einschränkt oder die katalytisch aktive Komponente ggf. komplett zerstört. Dies bietet den Vorteil, dass der Erwerb notwendiger fertigungstechnischer Schritte sowie zeit- und kostenintensive Maßnahmen zum Aufbau und zur Etablierung der Analytik, der Messtechnik und des Equipments nicht zwingend erforderlich sind. Zugleich erlaubt dieses Vorgehen eine sofortige Evaluierung der Ergebnisse wie auch eine direkte und zeitnahe Integration der gewonnenen Erkenntnisse für die Auslegung zukünftiger Versuche, ohne zuvor eine zeitintensive Validierung eines Sensors vornehmen zu müssen.

Die Methode besteht aus einem Zwei-Schritt-Verfahren. In diesem wird nach der Beschichtung und Trocknung das physikalisch eingebettete Enzym zuerst aus dem Film herausgelöst und die erhaltene sogenannte „Analyselösung“ anschließend spektrophotometrisch untersucht (siehe Abbildung 2.7).

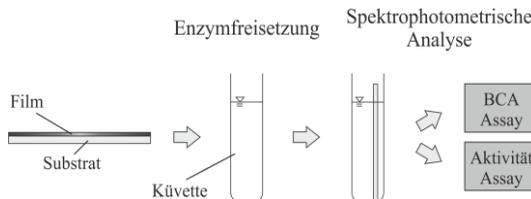


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der Filmanalyse. Bereits publiziert in Riegel et al. (2016).

Zur Freisetzung des Enzyms wird der Film in 3 ml Phosphatpufferlösung (100 mM, pH 7,0) eingeweicht und bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Die Ana-

²⁷ Die Methode ist bereits in *Engineering in Life Science* publiziert: Riegel, A.-L., Borzenkova, N., Haas, V., Scharfer, P. & Schabel, W. (2016), 'Activity determination of FAD-dependent glucose dehydrogenase immobilized in PEDOT: PSS-PVA composite films for biosensor applications', *Engineering in Life Sciences* **16**(6), 577–585.

lyselösung, eine transparente Lösung, welche man nach Filtration (Nylon-Spritzen-Filter, Porengröße: 0,45 μm) erhält, wird zur weiteren Untersuchung der Enzymaktivität verwendet. Es folgt die Ermittlung der gelösten Proteinmenge mittels des BCA-Assays sowie die Bestimmung der Enzymkinetik auf Basis des entwickelten Aktivität-Assays bei einer Enzymkonzentration von 1 nM. Die Restaktivität wird nach Gleichung (2.5) unter Verwendung der zugehörigen Kalibrierung des Aktivität-Assays berechnet. Ein Datenpunkt in den Abbildungen in Kapitel 4 entspricht der Restaktivität des immobilisierten Enzyms einer Schicht. Pro Filmanalyse wurden drei bis fünf BCA-Assays zur korrekten Ermittlung der Enzymkonzentration sowie fünf bis sieben Aktivität-Assays zur präzisen Quantifizierung der Reaktionsrate durchgeführt. Aufgrund der guten Reproduzierbarkeit beider Assays wurde bei der Bestimmung der Fehlerbalken pro Film die Messunsicherheit berücksichtigt, die sich durch Anpassung der Auswerteroutine ergibt (vgl. nachfolgender Abschnitt).

Zur korrekten Einstellung der Proteinkonzentration im Aktivität-Assay wird die Auswerteroutine des BCA-Assays gegenüber der im Rahmen dieser Arbeit veröffentlichten Methodik angepasst (vgl. Riegel et al., 2016). Eine Überprüfung der Anwendbarkeit des Lowry-Assays hat gezeigt, dass PVA letzteren Protein-Assay beeinträchtigt, während die Wechselwirkungen im BCA-Assay nur gering sind. Diese Interaktionen können mittels Referenzproben über die Definition eines korrigierten Blindwertes in die Auswertung integriert werden, sodass eine korrekte Proteinbestimmung mit dem BCA-Assay erfolgt²⁸. Dazu wurden sogenannte Referenzfilme hergestellt, Polymerkompositfilme ohne Enzym, deren Zusammensetzung identisch ist zu dem jeweiligen zugehörigen katalytisch aktiven Film mit Enzym. Sie besitzen den gleichen Feststoffgehalt und das Verhältnis der einzelnen Komponenten zueinander wird konstant gehalten.

In Abbildung 2.8 ist dazu die gemessene Absorbanzdifferenz zwischen Analyselösung der Referenzfilme und dem Blindwert des BCA-Assays über dem PVA-Massenbruch im Film aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass die Wechselwirkungen zwischen den BCA-Reagenzien und PVA zu einer leichten Zunahme der Absorbanz in Abhängigkeit der im Film enthaltenen PVA-Menge führen. Wie aber der optische Vergleich zwischen Referenz und Blindprobe für eine Probe beispielhaft

²⁸ Die Anpassung der Auswerteroutine wurde im Rahmen dieser Arbeit in *Engineering in Life Science* 19 (2019), 741 – 748 bereits publiziert und wird ebd. ausführlich evaluiert und diskutiert. Die wesentlichen Ergebnisse sind im Anhang in Abschnitt R dargestellt.

darstellt (vgl. Fotografie in Abbildung 2.8), kann die geringe Abweichung nur messtechnisch erfasst werden. Eine Unterscheidung beider Proben mit dem Auge ist aufgrund der geringen Differenz ($\Delta A = 0,03$) nicht möglich. Dennoch darf sie nicht vernachlässigt werden, da die für die Referenzfilme detektierte Absorbanz im Schnitt 15 % des mit dem BCA bestimmten Signals entspricht.

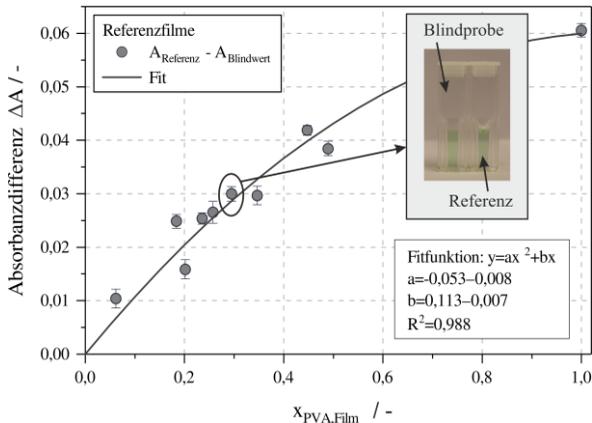


Abbildung 2.8: Überprüfung der Anwendbarkeit des BCA-Assays – Untersuchung der Wechselwirkung zwischen BCA-Reagenzien und der Analyselösung der Referenzfilme. Aufgetragen ist die gemessene Absorbanzdifferenz zwischen Analyselösung und Blindwert des BCA-Assays in Abhängigkeit des PVA-Massenbruchs im Film (Datenpunkte) sowie die bestimmte Fitfunktion mit Fitparametern (Linie). Bereits veröffentlicht in Walz et al. (2019).

Nach Prüfung der Linearität dieser Verschiebung²⁹ wird sie in Form eines korrigierten Blindwertes in der Auswerteroutine berücksichtigt und kann mittels der angepassten Fitfunktion für jeden PVA-Gehalt bestimmt werden (siehe Fitparameter in Abbildung 2.8). Zusätzlich wird die Differenz zwischen mittlerer und minimaler bzw. maximaler Absorbanz der jeweiligen Referenz zur Abschätzung des Fehlers bei der Konzentrationsbestimmung im Aktivität-Assay ermittelt und mit dem Vertrauensintervall aus dem BCA-Assay verglichen. Letzteres charakterisiert die Wiederholgenauigkeit des Protein-Assays bei der Konzentrationsbestimmung

²⁹ Eine Untersuchung der Linearität wurde bereits im Rahmen der vorliegenden Arbeit in *Engineering in Life Science* 19 (2019), 741 – 748 publiziert und belegt. Die wesentlichen Ergebnisse sind im Anhang in Abschnitt R dargestellt.

der Filmanalyse, erstere den potentiellen Fehler, der durch die zusätzliche Berücksichtigung der Referenzfilme auftreten kann. Abhängig von den Analyseergebnissen wurde die größere Abweichung als Fehlerbalken aufgetragen³⁰. Zur Gewährleistung statistisch aussagekräftiger Ergebnisse wurden pro untersuchtem Parameter fünf bis sechs Filme appliziert und daraus die drei bis vier besten Resultate für die Filmanalyse verwendet.

³⁰ Die Einführung der Referenzfilme in die Auswerteroutine wurde in der studentischen Arbeit von K. Schmitt (2017) erarbeitet, die im Rahmen dieser Arbeit betreut und angeleitet wurde. Weitere Details zur Anpassung der Auswertung und Bestimmung der Fehlerbalken sind ebd. dokumentiert.

3 Prozessierung der Polymerkompositmatrix

Langfristig soll durch direkte Integration des Enzyms in ein leitfähiges Netzwerk ein Transport der bei der Enzymreaktion freiwerdenden Elektronen an die Elektrode erfolgen, an welcher sie detektiert werden (vgl. Abschnitt 1.2.2). Entsprechend dem angestrebten Einsatzgebiet der amperometrischen Glucosesensoren wird als Richtwert¹ eine theoretisch erforderliche Mindestleitfähigkeit von 1 S/m aus der Literatur abgeleitet (Tsujimura et al., 2006; Yamashita et al., 2013). In Verbindung mit dem Arbeitsprogramm der vorliegenden Arbeit müssen bis zur Umsetzung noch einige Entwicklungsschritte durchlaufen werden, sodass im Rahmen des nachfolgenden Kapitels auf den Einsatz der teuren und nur begrenzt verfügbaren Komponente FAD-GDH verzichtet wird. Im Mittelpunkt steht die Prozessierung der Polymerkompositmatrix, bestehend aus PEDOT:PSS und PVA. Grundvoraussetzung hierfür ist die Herstellung homogener Schichten mit ausreichender Leitfähigkeit. Homogenität und Leitfähigkeit sind daher wichtige Kenngrößen, welche durch Tintenformulierung und Prozessführung kontrolliert werden können und im Folgenden genauer betrachtet werden.

3.1 Experimentelle Vorgehensweise

In der Polymerkompositmatrix wird die Leitfähigkeit durch den Anteil an hochleitfähigem Polymer kontrolliert. PVA verbessert als Filmformer bei Applikation direkt aus der Flüssigphase nicht nur die Prozessierbarkeit der Beschichtungslösung (Chen et al., 2012; Chen et al., 2011; Lu et al., 2012), sondern ermöglicht zugleich ein enzymfreundliches Milieu (Doretto et al., 1997; Guascito et al., 2014;

¹ Basierend auf einer zu detektierende Glucosekonzentration im Blut im mM-Bereich liegt ein zu erwartender Stromfluss in der Größenordnung von μA (Fapyane et al., 2013). Beim Betrieb des Sensors bei etwa 0,5 V ergibt sich daraus ein hochohmiger Sensor ($k\Omega$ - $M\Omega$) (Tsujimura et al., 2006). Für funktionelle Schichten mit Schichtdicken im Bereich von 1 – 2 μm wird eine Mindestleitfähigkeit von 1 S/m abgeschätzt.

Guascito et al., 2011; Strakosas et al., 2014), welches durch die alleinige Verwendung von PEDOT:PSS aufgrund seines sauren pH-Werts nicht erreicht wird². Eine schematische Darstellung der beteiligten Komponenten, aus denen die Beschichtungslösung grundsätzlich besteht, ist in Abbildung 3.1 gezeigt.

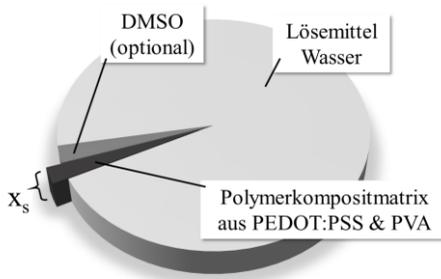


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung der Zusammensetzung der Beschichtungslösung mit Wasser als Lösemittel und PEDOT:PSS und PVA als Polymerkompositmatrix sowie optionaler Zugabe von DMSO. Detaillierte Auflistung der Zusammensetzungen: s. Tabelle 2.

Für eine zuverlässige Bewertung der Arbeitshypothese wird zunächst der Beschichtungsprozess hinsichtlich der erzielbaren Filmhomogenität analysiert (s. Abschnitt 3.2). Der Einfluss von Zusammensetzung und Schichtdicke sowie des gesamten Prozesses auf die elektrische Leitfähigkeit wird evaluiert (s. Abschnitte 3.3 und 3.4). Zuletzt werden äußere Einflussfaktoren, wie die Sensitivität der Leitfähigkeit der prozessierten Schichten gegenüber feuchter Luft, beleuchtet und in Kontext zur sorbierten Wassermenge gesetzt (s. Abschnitt 3.5).

Für die Herstellung der Schichten wurde hauptsächlich eine Rake (R) als Applikationswerkzeug und der Comb-Nozzle[®]-Trockner (CNT) verwendet (vgl. Abschnitt 2.2). Zur detaillierten Untersuchung des Prozesses wurden die Schichten via Schlitzgussverfahren (Schlitzdüse = SD) an Comb-Nozzle[®]-Trockner und Batch-Coater-Trockner (BCT) hergestellt und verglichen. Neben der sukzessiven Steigerung des PEDOT:PSS-Gehalts im trockenen Film erfolgte eine Variation des Feststoffgehalts. Ersteres vertieft den Einfluss der Filmzusammensetzung auf die

² Spezifikationen laut Hersteller: pH-Wert zwischen 1,5 - 2,5 bei 20°C, PEDOT:PSS-Verhältnis nach Gewicht 1:2,5.

Leitfähigkeit, letzteres dient einer umfassenden Klärung des Schichtdickeneinflusses. Selektiv wurde DMSO zur Beschichtungslösung hinzugefügt, um prozessbedingte Einflüsse leichter verfolgen zu können (vgl. nachfolgende Absätze). In Tabelle 2 ist eine Auflistung der verwendeten Beschichtungslösungen dargestellt.

Tabelle 2: Zusammensetzung der Polymerkompositmatrix aus PEDOT:PSS und PVA, Feststoffgehalt der verwendeten Beschichtungslösungen sowie Informationen zum verwendeten Beschichtungsprozess.

Bezeichnung	$x_{S,PEDOT:PSS} / \%$	$x_{DMSO} / \%$	$x_S / \%$	Prozessierung
PEDOT:PSS0	0	-	2,5	R + CNT
PEDOT:PSS20	20	-	1,3	R + CNT
	20	-	2,3	SD + CNT
	20	-	4,3	R + CNT
PEDOT:PSS40	40	-	1,3	R + CNT
	40	-	2,3	SD + CNT
PEDOT:PSS40- DMSO3	40	2,4	2,2	SD + BCT
PEDOT:PSS50	51	-	3,1	R + CNT
PEDOT:PSS80	82	-	1,4	R + CNT
PEDOT:PSS100 bzw. PH1000	100	-	1,15/1,3	R + CNT

Applikationswerkzeug: R = Raket, SD = Schlitzdüse; Versuchsanlage: CNT = Comb-Nozzle[®]-Trockner, BCT = Batch-Coater-Trockner

Ziel bei der Wahl der Zusammensetzung ist es zunächst, das gesamte Spektrum von 0 - 100 Gew.-% PEDOT:PSS im Film abzudecken, wobei auch der Feststoffgehalt zum Teil variiert wird. Bei konstant gehaltenen Prozessparametern bedeutet dies insbesondere einen Einfluss auf die Schichtdicke der hergestellten Filme. Auf diesen Zusammenhang bzw. die Auswirkungen auf die Leitfähigkeit wird ausführlich in den Abschnitten 3.3 und 3.4 eingegangen.

Aus der Literatur bekannte Additive, sogenannte sekundäre Dotierstoffe wie Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Ethylenglykol (EG), die zur Steigerung der Leitfähigkeit von PEDOT:PSS eingesetzt werden, werden durch die Anforderungen des späteren Einsatzgebietes, leitfähige Biosensoren, eingeschränkt. Das verwendete Enzym FAD-GDH ist in Lösung nicht nur temperatursensitiv (vgl. Abbildung 2.2), es wird auch durch den Zusatz von Additiven in seiner katalytischen Funktion gehemmt. Bei Zugabe von 5 Vol.-% DMSO, beispielsweise, verringert sich die Enzymaktivität auf 70 % (vgl. Abbildung A.46 im Anhang). Der Einsatz von DMSO

in der Beschichtungslösung wurde daher reduziert und selektiv verwendet, zum Beispiel zur Untersuchung des postulierten Prozesseinflusses auf die Leitfähigkeit (vgl. Abschnitt 3.4). Die eingesetzte Menge orientiert sich an den in der Literatur vorgeschlagenen Werten (Lee et al., 2016; Wengeler, 2014).

Für den späteren Einsatz des Modellstoffsystems ist es besonders interessant, den PVA-Anteil in der Schicht bei einer noch ausreichenden Leitfähigkeit zu maximieren. PVA bietet als günstige und nicht toxische Komponente ein enzymfreundliches Milieu (Walz et al., 2019) und verbessert zugleich die Flexibilität, Strapazierfähigkeit und Haltbarkeit, die bei reinen PEDOT:PSS-Filmen eingeschränkt ist (Chen et al., 2012; Chen et al., 2011; Lang et al., 2009; Lu et al., 2012). Der Fokus liegt daher auf Beschichtungslösungen mit geringem PEDOT:PSS- bzw. hohem PVA-Anteil (PEDOT:PSS20 & PEDOT:PSS40). Diese Lösungen werden für einen Prozessvergleich ausgewählt und sowohl im Raket- als auch Schlitzgussverfahren appliziert (vgl. Abschnitt 3.2). Weiterhin stehen die Schichten dieser Zusammensetzungen im Fokus der Untersuchungen zum Einfluss der Wassersorption bei Exposition gegenüber feuchter Luft und werden mit reinen PEDOT:PSS-Schichten (PEDOT:PSS100 bzw. PH1000) verglichen (vgl. Abschnitt 3.5).

3.2 Analyse des Beschichtungsprozesses

Wie in Abschnitt 1.2.3 ausführlich diskutiert, werden an die Beschichtungstechnologie hohe Anforderungen zur Gewährleistung einer ausreichenden Produktqualität gestellt. Nur durch eine genaue Prozesskenntnis kann später eine gute Übertragung und Hochskalierbarkeit mit möglichst geringem Qualitätsverlust hin zu einem industriellen Prozess sichergestellt werden. Dementsprechend ist für eine zuverlässige Prozessierung ein hohes Maß an Präzision und Reproduzierbarkeit sowie eine unmittelbare Kontrolle der Schichtdicke obligatorisch. Daher muss die in der vorliegenden Arbeit eingesetzte Technologie auf ihre Anwendbarkeit geprüft werden.

Zur Untermauerung dieser Hypothese war es wichtig und zunächst erforderlich, Reproduzierbarkeit und Schichthomogenität der hergestellten Schichten zu prüfen und genauer zu analysieren. Es ist ein notwendiger Schritt, um verlässliche Aussagen über das Zusammenspiel zwischen Prozess und Schichteigenschaften treffen zu können (vgl. Abschnitte 3.3 und 3.4). Darüber hinaus geht die Schichtdicke als direkte Eingangsgröße in die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit ein und sollte so präzise wie möglich bekannt sein. Unabhängig davon wird mittels der

Vier-Punkt-Methode ein über die Filmhöhe integraler Wert des spezifischen Widerstands ermittelt, der lokal gemessen an einer Stelle eine einheitliche Schicht voraussetzt.

Eine detailliertere Untersuchung des Beschichtungsprozesses erfolgte exemplarisch anhand der Stoffsysteme PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40 mit 80 Gew.-% bzw. 60 Gew.-% PVA im Film (s. Tabelle 2), da auf diesen der Fokus der Arbeit liegt (vgl. Abschnitt 3.1). Dazu ist in Tabelle 3 die mittlere Schichtdicke \bar{h}_{tr} zusammen mit der mittleren Mittelwertabweichung $\Delta\bar{h}_{tr}$ für die beiden Stoffsysteme sowie auch für reine PEDOT:PSS-Schichten (PEDOT:PSS100) zum Vergleich dargestellt (Details zur Schichtdickenbestimmung: siehe Abschnitt 2.3.1). Alle Schichten wurden mittels Rakelverfahren prozessiert, Rakelgeschwindigkeit und Feststoffgehalt der Systeme konstant gehalten ($x_s = 0,013$) und der Rakelspalt nach Kalibrierung angepasst³. Neben der Anzahl der Beschichtungen zur Mittelung sind auch die Extremwerte von Schichtdicken und Mittelwertabweichung für jedes Stoffsystem ergänzt.

Tabelle 3: Mittlere, minimale und maximale Schichtdicke sowie Mittelwertabweichung von n PEDOT:PSS20-, PEDOT:PSS40- bzw. PEDOT:PSS100-Filmen mit konstantem Feststoffgehalt $x_s = 0,013$, prozessiert bei Standardprozessparametern mit dem Rakelverfahren am Comb-Nozzle[®]-Trockner ($u_{Besch} = 6$ m/min, $h_g = 90$ μ m (PEDOT:PSS20 & PEDOT:PSS40) bzw. 100 μ m (PEDOT:PSS100)). Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

System	Anzahl Filme n	aus n bestimmte mittlere, minimale und maximale:					
		Schichtdicke / nm			MW-Abweichung / nm		
		\bar{h}_{tr} *	h_{min}	h_{max}	$\Delta\bar{h}_{tr}$ **	Δh_{min}	Δh_{max}
PEDOT:PSS20	14	484 ± 35	418	551	44	14	96
PEDOT:PSS40	14	441 ± 28	390	504	37	17	84
PEDOT:PSS100	16	504 ± 59	335	581	30	7	71

MW = Mittelwert, *MW-Abweichung aus n Schichtdicken, **Mittelwert aus n MW-Abweichungen

Die durchschnittliche Schichtdicke \bar{h}_{tr} für PEDOT:PSS20 liegt bei 484 nm und weist mit 35 nm eine relative Schwankung zwischen den prozessierten Filmen von 7 % auf. Analog für PEDOT:PSS40 mit einer mittleren Schichtdicke von 441 nm

³ Auflistung der Rakelparameter im Anhang: s. Tabelle A.2. Die dargestellten Daten wurden in der Bachelorarbeit von A. Burkart (2015), die im Rahmen dieser Arbeit betreut wurde, erarbeitet und sind in Auszügen ebd. dokumentiert.

entsprechen dies 6 % bei 28 nm absoluter Mittelwertabweichung. Für Rakelbeschichtungen ist dies eine akzeptable Streuung bezüglich der Reproduzierbarkeit, verglichen auch mit reinen PEDOT:PSS-Schichten (PEDOT:PSS100), die mit 12 % bzw. 59 nm fast doppelt so viel vom Mittelwert 504 nm abweichen. Ein anderer Trend ist hinsichtlich der Homogenität zu beobachten: Die mittlere Mittelwertabweichung $\Delta\bar{h}_{tr}$, der Durchschnitt aller Abweichungen ermittelt für jede einzelne Schicht, nimmt von PEDOT:PSS100 über PEDOT:PSS40 zu PEDOT:PSS20 kontinuierlich zu und steigt von 30 nm (6 %) über 37 nm (8 %) auf 44 nm (9 %). In gleicher Reihenfolge verändern sich auch dementsprechend die Extremwerte pro System. Die minimale bzw. maximale Mittelwertabweichung nimmt von minimal 7 nm für PEDOT:PSS100 bis auf fast 100 nm für PEDOT:PSS20 zu.

Im Rahmen der für gerakelte Schichten beschriebenen limitierten Schichthomogenität und Reproduzierbarkeit liegen die Ergebnisse innerhalb der Erwartungen und sind vertretbar. Da bei Betrachtung der Extremwerte (h_{min} und h_{max}) deutliche Schwankungen zwischen den Schichten zu beobachten sind, erfolgt zur Steigerung der Aussagekraft der Ergebnisse für jede gerakelte Schicht individuell eine Schichtdickenanalyse nach abgeschlossener Leitfähigkeitsmessung. Dadurch erhöht sich der experimentelle Aufwand deutlich, sodass ein Prozess mit höherer Reproduzierbarkeit und verbesserten Homogenität erstrebenswert ist.

3.2.1 Vergleich verwendeter Beschichtungsverfahren⁴

Zum Erreichen einer höheren Reproduzierbarkeit und verbesserten Homogenität bietet sich die Schlitzgussbeschichtung an. Der Prozess erlaubt nicht nur die Vorausberechnung und direkte Einstellung der Nassfilmdicke ohne Kalibrierung, sondern auch eine hohe Reproduzierbarkeit von sehr dünnen Schichten bei zugleich hoher Homogenität (Raupp, 2018; Wengeler, 2014; Wengeler et al., 2013b).

Wie eingangs erwähnt (vgl. Abschnitt 1.2.3), handelt es sich bei der Schlitzgussbeschichtung um ein vordosiertes Verfahren, welches abhängig von der gewählten Betriebsart sowohl diskontinuierlich im sog. „sheet-to-sheet“-Verfahren als auch kontinuierlich im Rolle-zu-Rolle-Verfahren eingesetzt wird. Grundvoraussetzung

⁴ Der Vergleich basiert auf den Erkenntnissen, die während den studentischen Arbeiten von A. Burkart (2015) und G. Puerta Dominguez (2015) erarbeitet wurden. Beide Arbeiten wurden im Rahmen dieser Arbeit betreut.

für eine zuverlässige Betriebsweise im diskontinuierlichen Fahrmodus ist die Gewährleistung einer stationären Schlitzgussbeschichtung mit voll ausgebildetem, stabilem Strömungsprofil. Aus Vorgängerarbeiten, welche im Rahmen dieser Arbeit betreut wurden, ist bekannt, dass Abweichungen zwischen theoretischer und tatsächlich erreichter Schichtdicke auftreten, wenn diese Anforderung nicht erfüllt wird (Burkart, 2015; Dominguez, 2015).

Ein Beispiel für ‘lessons learned‘ ist in Abbildung 3.2 (links) dargestellt: gezeigt ist die Abhängigkeit der Schichtdicke von der Beschichtungslänge x unter Variation der Beschichtungsgeschwindigkeit für PEDOT:PSS20. Alle Beschichtungen erfolgten am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei Standardtrocknungsbedingungen (vgl. Abschnitt 2.2). Es ist klar eine Schichtdickenzunahme zu sehen, welche von der Geschwindigkeit abhängt. Am deutlichsten jedoch fällt die starke Abweichung zwischen der theoretisch ermittelten (gestrichelte Linie) und experimentell bestimmter Schichtdicke ins Auge. Von dieser Beobachtung berichtet auch Peters (2016)⁵ bei diskontinuierlich betriebenen Schlitzgussversuchen. Eine Vernachlässigung thermodynamischer Wechselwirkungen kann bei einer idealen Umrechnung der Trockenschichtdicke aus Nassfilmdicke und Anfangszusammensetzung zwar kleinere Abweichungen erklären, ist aber bei Differenzen von 70 - 80 % wie hier in diesem Fall keinesfalls die Ursache für die beobachtete Unstimmigkeit. Vielmehr ist sie auf ein instationäres Anfahrverhalten zurückzuführen.

Unter verbesserten und stationären Beschichtungsbedingungen mit nachgeregeltem Volumenstrom wurden diese Beobachtungen – Zunahme der Schichtdicke mit der Beschichtungslänge und starke Abweichung – geprüft (vgl. Abschnitt 3.2.2). Es wurde gezeigt, dass eine Applikationslänge von mindestens 400 mm am Raketisch als Beschichtungslänge bei einer im Batch betriebenen Schlitzgussbeschichtung erforderlich wäre, um die geforderte stationäre Nassfilmdicke zu erreichen. Auch mit vorheriger Befüllung von Düse und Kavitäten wurde das Anfahrverhalten aufgezeichnet. Ergebnisse mit vergleichbarem Trend wurden auch für PEDOT:PSS40 Schichten beobachtet. Sie sind im Anhang dargestellt (vgl. Abbildung A.12).

⁵ Analog zu dieser Arbeit verwendete Peters (2016) denselben Düsenschlitten und dieselbe Spritzenpumpe, appliziert die Filme allerdings am Batch-Coater.

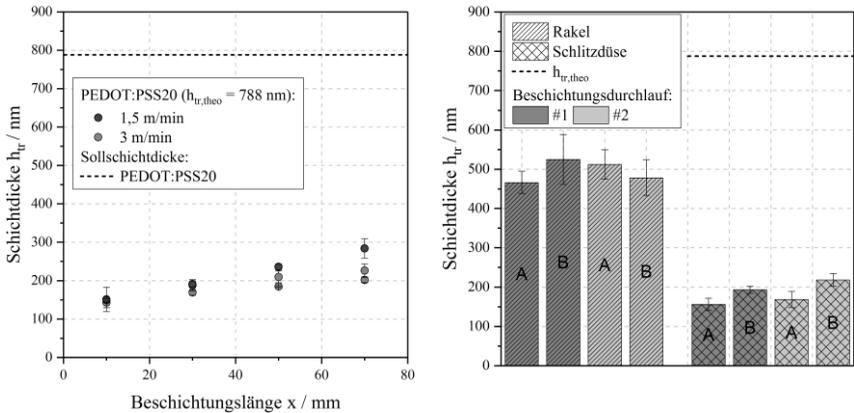


Abbildung 3.2: Schichtdickenverlauf mit Beschichtungslänge x für PEDOT:PSS20 bei Prozessierung im Schlitzgussverfahren und variiert Prozessierungsgeschwindigkeit ($h_{tr,theo} = 788$ nm) (links); Vergleich der Reproduzierbarkeit zweier Beschichtungen (hell und dunkel grau) bei Prozessierung via Rakel- bzw. Schlitzgussverfahren (Mustervariation) am Beispiel von PEDOT:PSS20 bei vergleichbaren Beschichtungsparametern (rechts). Die Herstellung erfolgte am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei Standardtrocknungsbedingungen (Beschichtungsparameter: vgl. Tabelle A.3 im Anhang). A bzw. B entsprechen den aus dem Beschichtungssubstrat geschnittenen Filmen gemäß Abbildung A.8. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2.

Das Beispiel zeigt, dass durch den Einsatz der geeigneten Schlitzgussbeschichtung eine Verbesserung von Reproduzierbarkeit und Homogenität für eine gezielte Interpretation zu erreichen ist. Darauf wird in Abbildung 3.2 (rechts) etwas näher eingegangen. Für einen Prozessvergleich sind zwei Rakelbeschichtungen (hell und dunkel grau schraffiert) sowie zwei Schlitzgussbeschichtungen (hell und dunkel grau kariert) für PEDOT:PSS20 unter vergleichbaren Prozessbedingungen dargestellt⁶. Die Rakelbeschichtung (schraffierte Balken) visualisiert die eingangs erläuterte Limitierung von Reproduzierbarkeit und Homogenität und dient als qualitativer Vergleich. Für die im Schlitzgussverfahren applizierten Schichten (kariert) sind, den Erwartungen entsprechend, mehrere Beobachtungen festzuhalten: Zum einen belegt ein Vergleich der beiden Prozesse die bereits postulierte, verbesserte

⁶ Probe A und B sind zwei aus dem gleichen Beschichtungssubstrat geschnittene Filme, für die die Schichtdicke individuell bestimmt wurde. Alle Beschichtungen wurden am Comb-Nozzle[®]-Trockner durchgeführt. Weitere Details zu Beschichtungsparametern: s. Tabelle A.3; weitere Infos zur Geometrie des Beschichtungssubstrats: s. Abbildung A.8.

Reproduzierbarkeit bzgl. der Schichtdicke – die jeweiligen Filme „A“ bzw. „B“ weichen nur geringfügig voneinander ab. Zum anderen sind die Fehlerbalken jeder Schlitzgussbeschichtung deutlich geringer – eine Steigerung der Homogenität wurde erreicht. Neben der diskutierten, starken Abweichung zwischen Soll- (gestrichelte Linie) und Ist-Schichtdicke, zeichnet sich auch eine reproduzierbare Zunahme der Schichtdicke von Substrat A zu B ab. Zwar wird der Sollwert nicht erreicht, allerdings wäre mittels eines experimentell ermittelten, Stoffsystem spezifischen „Korrekturfaktors“ dennoch eine zuverlässig Prozessierung mit einem hohen Maß an Präzision und Reproduzierbarkeit am Comb-Nozzle®-Trockner möglich.

3.2.2 Optimierung des Batch-Prozesses⁷

Um aber auch das Ziel einer unmittelbaren Kontrolle der Schichtdicke zu erreichen, muss der Prozess für den diskontinuierlichen Betrieb optimiert werden. Dazu erfolgte die Beschichtung im Schlitzgussverfahren am Batch-Coater, welcher mit 90 cm über eine mehr als doppelt so lange Beschichtungsstrecke verfügt. Ziel ist ein möglichst schnelles Erreichen eines stationären Prozesses durch Minimierung der Anfahrphase. Voraussetzung hierfür ist eine schnelle und effektive Benetzung der Düsenlippen sowie ein zügiger Druckaufbau, um die Beschichtungslösung durch Düse und Spalt als geschlossenen, flächigen Film auf das Substrat zu fördern.

Zur Beschleunigung der Lippenbenetzung kommt eine Abstreiffolie der Dicke $h_G/2$ zum Einsatz, die ca. 1 cm nach der Startlinie auf das Substrat geklebt wird (vgl. Abbildung A.10 (links) im Anhang) und die die Ausbildung der Flüssigkeitsbrücke im Beschichtungsspalt verbessert. Die Förderung des Fluides erfolgt für einen rascheren Druckaufbau im 2-Schritt-Verfahren durch Vorgabe zweier, hintereinander geschalteter Volumenströme: Der erste Volumenstrom, deutlich größer als der zweite, dient dem Aufbau des notwendigen Drucks in kürzerer Zeit. Er ist aufgrund des nicht idealen Förderverhaltens der verwendeten Spritzenpumpe

⁷ Die Optimierung des Beschichtungsprozesses wurde in der Masterarbeit von N. Reichelt (2016), die im Rahmen dieser Arbeit betreut und angeleitet wurde, erarbeitet und ist bereits im *Journal of Coatings Technology and Research* publiziert: Riegel, A.-L., Reichelt, N., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017), 'Process-dependent conductivity and film homogeneity of slot-die-coated PEDOT:PSS-PVA composite films', *Journal of Coatings Technology and Research* **14**(5), 1039–1051.

erforderlich (vgl. Abbildung A.10 (rechts) im Anhang). Als zweiter Volumenstrom wird der gewünschte Beschichtungsvolumenstrom gewählt.

Neben dem zeitverzögerten Startverhalten der Spritzenpumpe, übt auch das verwendete Material zum Fördern des Fluids einen großen Einfluss auf die erzielbare Nass- bzw. Trockenschichtdicke im Batch-Betrieb aus, wie in Abbildung 3.3 (links) gezeigt. Aufgetragen ist der Schichtdickenverlauf über der Beschichtungslänge für unterschiedliche Spritzen- und Schlauchmaterialien (Symbole) sowie die zu erzielende Sollschichtdicke (gestrichelte Linie).

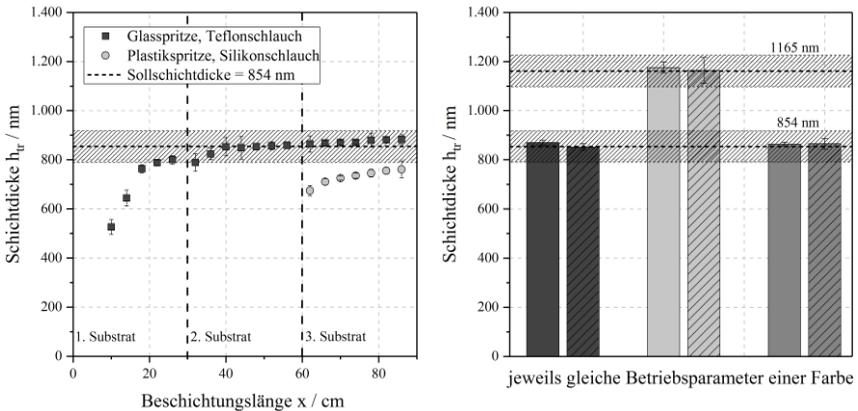


Abbildung 3.3: Schichtdickenverlauf als Funktion der Beschichtungslänge x bei unterschiedlichen Fördermaterialien (links); Reproduzierbarkeit der im Batch-Modus prozessierten Schichten für drei angefahrne Betriebspunkte (Grautonvariation): Vergleich der Schichtdicke von jeweils zwei Filmen, die mit den gleichen Beschichtungsparametern (gleicher Grauton) hergestellt wurden (rechts). Die Applikation erfolgte via Schlitzgussbeschichtung am Batch-Coater bei Standardtrocknungsbedingungen für PEDOT:PSS40-DMSO3 (Beschichtungsparameter: vgl. Tabelle A.4 im Anhang). Die theoretische Sollschichtdicke ist gestrichelt dargestellt. Die schraffierte Fläche beschreibt den Unsicherheitsbereich der Schichtdickeneinstellung unter der Annahme eines $\pm 2,5$ % Fehlers pro Eingangsgröße sowie einer idealen Gemischdichte, basierend auf der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2. Bereits veröffentlicht in Riegel et al. (2017).

Die schraffierte Fläche beschreibt eine grobe Abschätzung der Unsicherheit bzgl. der Trockenschichtdicke, resultierend aus einer Gauß'schen Fehlerfortpflanzung. Unter Annahme einer idealen Gemischdichte wurden hierbei alle Eingangsgrößen mit einem relativen Fehler von $\pm 2,5$ % abgeschätzt. Je elastischer die Komponenten

ten für die Fluidzufuhr auf Druck reagieren, desto größer ist die Abweichung zwischen theoretischer und tatsächlicher Schichtdicke. Bei Verwendung von Plastikspritze und Silikonschlauch (Kreise) treten nach einer Beschichtungslänge von über 60 cm Abweichungen von 27 % auf⁸. Kommen hingegen weniger elastischere Materialien, wie Glasspritze und Teflonschlauch (Quadrate), zum Einsatz, ist eine sehr gute Übereinstimmung mit der Zielgröße zu beobachten, ein Beleg, dass der reale Fehler im Vergleich zur groben Abschätzung (schraffierte Fläche) deutlich geringer ist. Mit einer maximalen Mittelwertabweichung von weniger als 6 % werden innerhalb des 3. Substrats homogene Schichten erfolgreich prozessiert. Trotz Optimierung wird allerdings erst nach 40 cm die eingestellte Schichtdicke erreicht. Da die Schichtdicke ebenfalls von den eingestellten Beschichtungsparametern abhängt, werden für spätere Leitfähigkeitsmessungen vier Proben aus dem letzten Beschichtungssubstrat ausgeschnitten.

In Abbildung 3.3 (rechts) wird die Reproduzierbarkeit der im Batch prozessierten Schichten analysiert. Für drei unterschiedliche Betriebspunkte⁹ (verschiedene Grautöne) wird die Schichtdicke der Filme des dritten Substrats mit der theoretischen Sollschichtdicke (gestrichelte Linie) verglichen. Die schraffierte Fläche entspricht der erwähnten Fehlerabschätzung. Durch Umsetzung der erläuterten Maßnahmen ist es möglich, homogene Filme (kleine Fehlerbalken) mit einer sehr genauen Einstellung der Schichtdicke (geringe Abweichung zur Sollschichtdicke) äußerst reproduzierbar im diskontinuierlichen Prozess herzustellen. Insgesamt wird für alle prozessierten Schichten eine Reproduzierbarkeit von 99 % erreicht, sodass durch die erläuterte Modifikation des Schlitzgussprozesses die Qualität der Schichten deutlich gesteigert wurde. Die Analyse des Beschichtungsprozesses zeigt, dass Schichten mit hoher Qualität reproduzierbar hergestellt werden können und eine Steigerung der Schichtqualität durch Verwendung des Schlitzgussprozesses möglich ist. Bei Verwendung des Schlitzgussverfahrens im diskontinuierlichen Betrieb wird diese nicht beeinträchtigt, vielmehr ist eine hohe Prozesskontrolle durch geeignete Maßnahmen vorhanden.

Dennoch ist eine Prozessierung aller Schichten im Schlitzgussverfahren nicht realisierbar: Diese ist nicht nur sehr zeitintensiv und mit einem erhöhten konstruktiven Aufwand verbunden, sondern erfordert insbesondere auch einen deutlich höheren

⁸ Aufgrund der starken Diskrepanz wurde nur die Schichtdicke des letzten Substrats bestimmt.

⁹ Details zu den Beschichtungsparametern sind im Anhang in Tabelle A.4 aufgelistet.

Materialverbrauch an Beschichtungslösung. Dieser resultiert u. a. aus den Totvolumina in Schlitzdüse, Spritze sowie Leitungen. Gerade mit Blick auf Kosten und Verfügbarkeit der Komponenten ist dies ein wichtiger Aspekt. Aus diesem Grund erfolgten die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit überwiegend anhand im Rakelverfahren applizierter Schichten unter Verwendung der individuell für jede Schicht bestimmten Schichtdicke, wie beispielsweise bei der Analyse der Leitfähigkeit bezüglich der Filmkomposition (vgl. Abschnitt 3.3) oder bei der Evaluation des Sorptionseinflusses (siehe Abschnitt 3.5). Die Fallstudie zeigt allerdings eine grundsätzliche Machbarkeit mit Blick auf eine reproduzierbare Prozessierung von Schichten mit hoher Qualität, und belegt folglich die postulierte Anwendbarkeit der Beschichtungstechnologie unter Gewährleistung der geforderten Präzision zur Erzielung einer ausreichenden Produktqualität.

Abschließend ist anzumerken, dass die Optimierung für das Stoffsystem PEDOT:PSS40-DMSO₃ durchgeführt wurde, mit dem Ziel, den Prozesseinfluss auf die Leitfähigkeit an diesem unter definierter Kontrolle später genauer zu analysieren (vgl. Abschnitt 3.4). Grundsätzlich üben Fluideigenschaften, wie Viskosität und Oberflächenspannung, einen großen Einfluss auf die Prozessierbarkeit einer Lösung aus. Für selbstdosierende Verfahren, wie die Rakelbeschichtung, ist daher eine Kalibrierung notwendig. Aus diesem Grund wurden bereits zu Beginn die Ergebnisse von PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40 ausführlich diskutiert. Auch für den vordosierten Schlitzgussprozess spielen die Fluideigenschaften eine große Rolle. Unter Berücksichtigung des Beschichtungsfensters (vgl. Abschnitt C.2 im Anhang) wird dieses Verfahren erfolgreich eingesetzt, um sowohl niederviskose Lösungen (< 10 mPas) (Peters, 2016; Raupp, 2018; Wengeler, 2014) als auch hochviskose Lösungen (10 - 100 Pas) (Schmitt, 2016; Schmitt et al., 2013) zu applizieren und bietet damit ein breites Spektrum. Eine Übertragung des optimierten Batch-Prozesses zur Hochskalierung vom Laborbetrieb hin zur industriellen Massenproduktion ist bei Bedarf möglich¹⁰ und kann damit beispielsweise beim Einsatz des Schlitzgussverfahrens ohne Qualitätsverlust bei hoher Prozesskontrolle erfolgen.

¹⁰ Eine vollständige Charakterisierung der Beschichtungslösungen ist in Abschnitt E im Anhang dargestellt.

3.3 Elektrische Leitfähigkeit der Polymerkompositmatrix

Mit dem Ziel, die Immobilisierung funktionsfähiger Biomoleküle in eine elektrisch leitfähige Polymerkompositmatrix zu realisieren, umfasst die Beantwortung der in Abschnitt 1.3 diskutierten Fragestellung dieser Arbeit eine fundierte Analyse der elektrischen Leitfähigkeit unter Erfassung möglicher Einflussfaktoren. Gerade mit Blick auf die in Abschnitt 1.2.2 erörterten Sensitivität des leitfähigen Polymers PEDOT:PSS gegenüber den Herstellungsbedingungen besteht in diesem Zusammenhang noch Klärungsbedarf. In den folgenden Abschnitten stehen daher zunächst Zusammensetzung und Schichtdicke der Polymerkompositmatrix als wichtige Kenngrößen im Mittelpunkt.

3.3.1 Filmkomposition

In Abbildung 3.4 ist die elektrische Leitfähigkeit in S/m über dem Massenbruch des in der Polymerkompositmatrix enthaltenen PEDOT:PSS bei konstanter Schichtdicke ($h_{tr} = 390 \text{ nm} \pm 17 \text{ nm}$) vor der thermischen Nachbehandlung (Annealing) (vgl. Abschnitt 2.4.2) aufgetragen. Die Schichten wurden mittels Rakelverfahren am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei den erläuterten Standardbedingungen hergestellt und charakterisiert.

Wie zu erwarten, führt die sukzessive Zugabe der leitfähigen Komponente zum Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit, in Zahlen über drei Dekaden. In der Literatur wird die starke Interaktion zwischen PVA und PEDOT:PSS als Ursache genannt: Die Hydroxy-Gruppen des PVAs bilden Wasserstoff-Brücken zu den SO_3^- -Gruppen des PSS-Anions aus, wodurch die Negativladung des Anions reduziert wird. Da PSS in dem Polyelektrolytkomplex als Gegenion zu PEDOT fungiert, verringert sich die Elektronenmobilität bzw. die Leitfähigkeit des Polymerblends (Chen et al., 2012; Chen et al., 2011; Khandelwal et al., 2014; Mydhili & Manivannan, 2017; Sheha et al., 2013). Es ist zu beobachten, dass Mischungen mit einem hohen PEDOT:PSS-Anteil (PEDOT:PSS80 & PEDOT:PSS100) oberhalb, Polymerblends mit hohem PVA-Anteil (PEDOT:PSS20 & PEDOT:PSS40) unterhalb der erforderlichen Mindestleitfähigkeit von 1 S/m (Tsujimura et al., 2006; Yamashita et al., 2013) liegen.

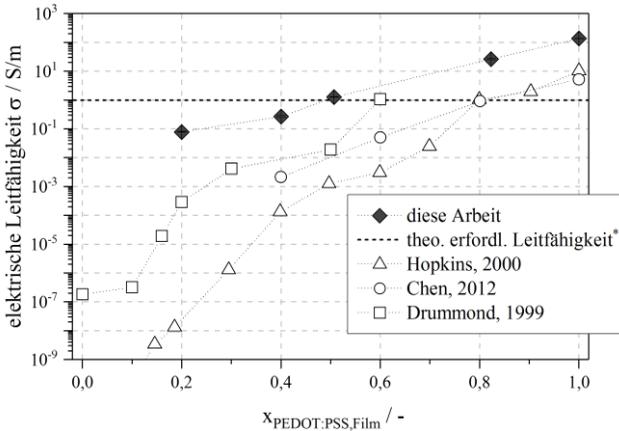


Abbildung 3.4: Elektrische Leitfähigkeit der PEDOT:PSS-PVA Polymerkompositmatrix in Abhängigkeit des PEDOT:PSS-Massenanteils mit Literaturvergleich. Dargestellt ist die unter Standardbedingungen bestimmte elektrische Leitfähigkeit für Schichten dieser Arbeit bei konstanter Trockenschichtdicke ($h_{tr} = 390 \text{ nm} \pm 17 \text{ nm}$) ohne Annealing. Die Prozessierung der Schichten erfolgte am Comb-Nozzle[®]-Trockner per Rakelverfahren bei Standardbeschichtungs- und Trocknungsparametern (schwarze Rauten). Prozessparameter der Literaturdaten weisen Abweichungen auf.
 *Aus den Forschungsarbeiten wird als Richtwert eine theoretisch erforderliche Mindestleitfähigkeit von in etwa 1 S/m abgeleitet (Tsujimura et al., 2006; Yamashita et al., 2013).

Zur Einordnung der Ergebnisse in die Literatur sind veröffentlichte Messdaten ergänzt. Die Messdaten dieser Arbeit liegen eine bis drei, bei geringen Konzentrationen auch mehrere Dekaden oberhalb der Literaturwerte (vgl. Chen et al., 2012; Drummond et al., 1999, Hopkins & Reynolds, 2000). Aber auch die Literaturdaten weisen zueinander deutliche Abweichungen auf. Zurückzuführen ist dies auf die Vielzahl an Faktoren, die einen Einfluss auf die Leitfähigkeit ausüben. Hierzu zählt zum einen die Vielfältigkeit hinsichtlich möglicher PEDOT:PSS-Formulierungen, wie u. a. Komposition oder zugesetzte Additive, zum anderen aber auch die Diversität in Bezug auf die thermische Sensitivität von PEDOT:PSS-Schichten gegenüber der Versuchstemperatur sowie der Nachbehandlung der Proben. Ebenso spielt ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Schichtdicke und verwendeter Messmethoden eine nicht unerhebliche Rolle. Dies ist nur eine Auswahl an Faktoren, die das breite Repertoire an potentiellen Stellschrauben in puncto elektrische Leitfähigkeit illustrieren (siehe dazu auch Abschnitt 1.2.2). Ein absoluter Zahlenvergleich mit Literaturdaten wird daher trotz vieler aktueller Forschungsarbeiten erschwert, da

beispielsweise bereits das Ausgangsmaterial wichtig ist, worauf Zhao et al. (2015) auch in ihrem Review hinweisen. Es ist festzuhalten, dass keine der dargestellten Forschungsarbeiten PH1000 als Ausgangsformulierung verwendet, sondern einen zum Teil nicht genauer spezifizierter Typ von *Bayer Corporations* (Drummond et al., 1999) oder *AG-Bayer* (Hopkins & Reynolds, 2000). Chen et al. (2012) setzen eine hochleitfähige Formulierung, genannt CPP105D ein, welche Baytron P von *H.C. Starck*¹¹ enthält. Drummond et al. (1999) widmen sich dem Temperatureinfluss, sodass die dargestellten Ergebnisse für eine Schichttemperatur von 60°C extrahiert wurden; eine Senkung der Temperatur resultiert in einer Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit. Es ist zusammenzufassen, dass die recherchierten Literaturquellen in mehr als nur einem Parameter von dem hier vorgestellten Stoffsystem abweichen und keine exakte Übereinstimmung gefunden werden konnte. Der Literaturvergleich dient daher der groben Einordnung.

Für reine PEDOT:PSS-Filme (PEDOT:PSS100 bzw. PH1000) ist ein Vergleich möglich. Wengeler et al. (2013), die PH1000-Schichten unter Variation der Beschichtungsgeschwindigkeit im Schlitzgussverfahren bei vergleichbaren Prozessbedingungen hergestellt und charakterisiert haben, bestimmen eine Leitfähigkeit von ≈ 130 S/m ohne bzw. ≈ 175 S/m mit Annealing (30 min bei 120 °C)¹². Angaben zur Schichtdicke sind nicht vorhanden. Für einen 200 nm dünnen PH1000-Film dokumentieren sie Werte von ≈ 77 S/m (Wengeler, 2014). Mit einer Leitfähigkeit von ca. 30 S/m (15 min bei 120 °C) und einer Schichtdicke von $h_{tr} = 66$ nm liegen die Ergebnisse der mittels Spin Coating prozessierten PH1000-Schichten von Xia et al. (2012) etwas darunter und die Schicht ist deutlich dünner. In dieser Arbeit weisen die reinen PH1000-Filme mit einer Schichtdicke von $h_{tr} = 390$ nm \pm 17 nm eine elektrische Leitfähigkeit im Bereich von 140 S/m ohne Annealing auf, welche auf 210 S/m mit Annealing (30 min bei 120 °C) gesteigert wird. Damit bewegt sich die elektrische Leitfähigkeit einer reinen PEDOT:PSS-Schicht in der gleichen Größenordnung wie in der Literatur, weist aber einen Trend hin zu einer höheren Leitfähigkeit mit steigender Schichtdicke auf.

¹¹ 2010 wurde die gesamte Produktserie Clevios an *Heraeus Deutschland GmbH & Co. KG* verkauft (H.C. Starck Gruppe, 2010). Baytron P ist folglich eine Formulierungsvariation von PEDOT:PSS des gleichen Herstellers wie von PH1000.

¹² Verwendet wurden die Messergebnisse für eine Beschichtungsgeschwindigkeit von 6 m/min.

3.3.2 Rolle der Schichtdicke

Wie eingehend in der Literatur belegt und in Abschnitt 1.2.2 bereits thematisiert, spielt die Morphologie von PEDOT:PSS eine elementare Rolle für die elektrische Leitfähigkeit (Donahue et al., 2020; Nardes, 2007; Sanchez-Sanchez et al., 2019; Takano et al., 2012). Daher ist auch die thermische Nachbehandlung der Schichten ein wichtiger Einflussfaktor für PEDOT:PSS-Komposite¹³. In den diskutierten Beispielen für PEDOT:PSS100 unterscheiden sich die Annealingschritte nur geringfügig, die Schichtdicken allerdings um den Faktor 2 zu Wengeler et al. (2014) bzw. 20 zu Xia et al. (2012). Dies wirft die Frage auf, ob eine Vergleichbarkeit von Filmen unterschiedlicher Dicke gegeben ist bzw. welchen Einfluss die Schichtdicke auf die Leitfähigkeit σ hat.

Für die in Abbildung 3.4 dargestellten Literaturdaten wird dieser Aspekt nicht thematisiert. Die Schichtdicke wird experimentell bestimmt, primär aber als Eingangsgröße zur Ermittlung der elektrischen Leitfähigkeit betrachtet (vgl. Gleichung (2.1)), als potentieller Einflussparameter wird sie weder weiter diskutiert noch ausgeschlossen. Drummond et al. (1999) und Chen et al. (2012) prozessieren die Schichten via Spincoating. Daher ist zu erwarten, dass die Zugabe von PEDOT:PSS zur Beschichtungslösung zu einer Absenkung der Viskosität (vgl. Charakterisierung der Beschichtungslösungen in Abschnitt E im Anhang) und folglich zu dünneren Schichten bei konstanten Beschichtungsparametern führt¹⁴. Da sich aber die zitierten Forschungsarbeiten einem anderen Aspekt, dem Temperatur- bzw. dem Einfluss des Additivs NMP, widmen und insgesamt eine Veränderung der Leitfähigkeit bei Zusammensetzungsvariation über Dekaden zu beobachten ist, ist zu erwarten, dass ein Schichtdickeneinfluss in diesem Kontext nur gering zum Tragen kommt.

¹³ Die Temperierung der Proben für definierte Dauer und Temperatur führt zu Konformationsänderungen des leitfähigen Polymers hin zu größeren und kristallineren Domänen (engl. grain size) (Horii et al., 2015; Huang et al., 2003; Huang et al., 2005; Kim et al., 2012; Sanchez-Sanchez et al., 2019). Zugleich korreliert dieser Behandlungsschritt mit einer Erhöhung der Rauheit der Schichtoberflächen (Huang et al., 2003; Huang et al., 2005).

¹⁴ Chen et al. (2012) führen für ein PEDOT:PSS:NMP/PVA (NMP: N-Methyl-2-Pyrrolidon) mit steigendem PEDOT:PSS:NMP-Gehalt eine Schichtdickenreduktion von ca. 17 μm bis einigen wenigen hundert Nanometern an und argumentieren ebenfalls mit der abnehmenden Viskosität. Zu Filmen ohne NMP sind keine Messdaten dargestellt.

Der Fokus der Arbeit liegt, wie bereits erwähnt, auf Polymerblends mit hohem PVA-Anteil (PEDOT:PSS20 & PEDOT:PSS40¹⁵), da diese mit Blick auf die Prozessierung funktionierender und katalytisch aktiver Polymerkompositmatrizen günstigere Voraussetzungen bieten (siehe dazu Kapitel 4). In Abbildung 3.5 ist die elektrische Leitfähigkeit für Schichten mit 20 Gew.-% (PEDOT:PSS20), 40 Gew.-% PEDOT:PSS (PEDOT:PSS40), sowie für reine PH1000-Filme (PEDOT:PSS100) als Funktion der Schichtdicke in nm aufgetragen.

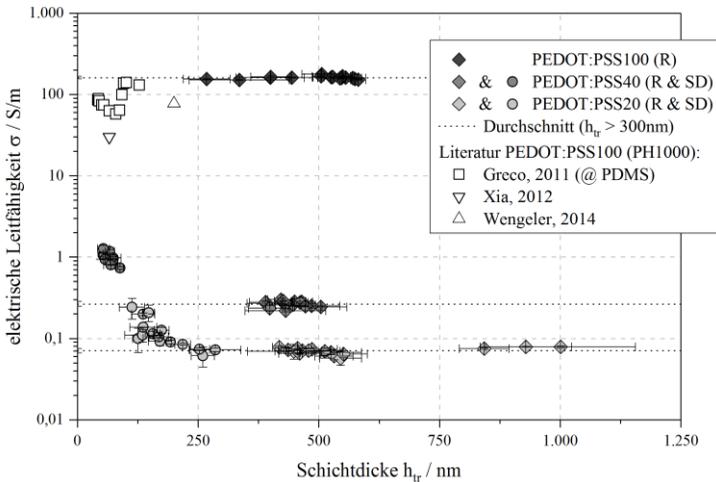


Abbildung 3.5: Elektrische Leitfähigkeit verschiedener PEDOT:PSS-PVA Polymerkompositmatrizen in Abhängigkeit der Trockenschichtdicke. Dargestellt ist die unter Standardbedingungen bestimmte elektrische Leitfähigkeit für PEDOT:PSS100 (schwarz), PEDOT:PSS40 (dunkelgrau) und PEDOT:PSS20 (hellgrau) mit Annealing (30 min bei 40 °C). Die Prozessierung der Schichten erfolgte am Comb-Nozzle[®]-Trockner per Raket- (Rauten) & Schlitzgussverfahren (Kreise) bei Standardbeschichtungs- und Trocknungsparametern (Beschichtungsparameter: vgl. Tabelle A.5 im Anhang). Zum Vergleich sind die von Greco et al. (2011) ermittelte Schichtdickenabhängigkeit für reine PH1000-Filme (weiße Quadrate) sowie die bereits diskutierten elektrischen Leitfähigkeiten von Xia et al. (2012) (Dreieck, Spitze unten) und Wengeler (2014) (Dreieck, Spitze oben) aufgetragen. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

¹⁵ Erläuterungen zur Zusammensetzung sowie eine Auflistung der Stoffsysteme sind in Abschnitt 3.1 wie auch Tabelle 2 zu finden.

Für alle Proben wurde ein Annealing von 30 min bei 40°C gewählt, welches sich an die Definition der Trocknungstemperatur anlehnt (siehe Abschnitt 2.2). Eine Denaturierung des Enzyms bei späterem Einsatz sollte vermieden werden. Die Schichten wurden mittels Rakel- (gefüllte Rauten) und Schlitzgussverfahren (gefüllte Kreise) am Comb-Nozzle[®]-Trockner hergestellt und charakterisiert. Die Beschichtungsparameter wurden pro Stoffsystem konstant gehalten. Eine Variation der Schichtdicke ist im Wesentlichen auf den unterschiedlichen Feststoffgehalt der Lösungen zurückzuführen¹⁶.

Es ist ersichtlich, dass eine Schichtdickenvariation für die dargestellten Zusammensetzungen PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 ab einer Trockenfilmdicke von $h_{tr} > 300$ nm keinen großen Einfluss auf die elektrische Leitfähigkeit ausübt, sondern im untersuchten Bereich annähernd konstant bleibt¹⁷. Im Umkehrschluss weist dies darauf hin, dass die spezifische Schichtleitfähigkeit σ_s , welche der Kehrwert des spezifischen Schichtwiderstands ρ_s , der eigentlichen Messgröße, ist und sich als Produkt aus elektrischer Leitfähigkeit und Schichtdicke ergibt (vgl. Gleichung (2.4)), linear mit der Schichtdicke zunimmt. Beide Größen sind in diesem Bereich direkt proportional zueinander.

Ein anderer Verlauf ergibt sich für Schichten mit geringerer Schichtdicke ($h_{tr} < 300$ nm). Wie bereits für PEDOT:PSS100 angedeutet, ist eine Abhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit von der Schichtdicke zu beobachten. Die Reduktion der Schichtdicke führt für reine PH1000-Schichten zu einer Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit (vgl. Daten von Greco et al., 2011). Für spin gecoatete PH1000-Nanofilme berichten Greco et al. (2011) von einem eigenartigen Verlauf: Die Leitfähigkeit durchläuft im Bereich von 40 - 140 nm ein leichtes Minimum bei 70 - 80 nm und erreicht erst ab ca. 100 nm ein stabiles Plateau von $\sigma = 140$ S/m, das oberhalb der Ausgangsleitfähigkeit bei geringster Schichtdicke liegt ($\sigma = 88$ S/m bei $h_{tr} = 43$ nm). Das Plateau bleibt auch für Filme mit einer Schichtdicke von mehreren μm erhalten. Obwohl Greco et al. (2011) freistehende Filme (engl. free standing films) untersuchen, analysieren sie vor deren Freisetzung

¹⁶ Eine detaillierte Auflistung der Prozessparameter ist im Anhang in Tabelle A.5 aufgeführt. Weitere Erläuterungen zu den verwendeten Prozessparametern der Schlitzgussbeschichtung sind in der studentischen Arbeit von G. Puerta Dominguez (2015) enthalten, welche im Rahmen dieser Arbeit betreut wurde.

¹⁷ Die gestrichelten Linien beschreiben den Mittelwert aller Schichten mit $h_{tr} > 300$ nm und dienen der optischen Orientierung.

(engl. release) die Leitfähigkeit von PH1000, welches auf eine Schicht PDMS beschichtet wurde (Annealing für 1 h bei 170 °C), sodass sich diese Literaturdaten sehr gut mit der aktuellen Arbeit vergleichen lassen¹⁸ und zugleich die Schichtdickenunabhängigkeit der in dieser Arbeit hergestellten, dickeren PEDOT:PSS100 Proben bestätigen. Als Ursache für die Schichtdickenabhängigkeit nennen Greco et al. (2011) die Überwindung einer Perkolationsschwelle. Die Elektronenübertragung erfolgt primär intermolekular zwischen PEDOT-reichen Partikeln via Hopping Mechanismus (vgl. Abschnitt 1.2.2). In sehr dünnen Nanoschichten, wenn sich PEDOT-reiche Bereiche aufgrund ihrer eigenen Größe noch nicht übereinander aufschichten können, führt eine Schichtdickenerhöhung zur Reduktion der intermolekularen Kontaktstellen zwischen benachbarten leitfähigen Regionen. Dies hat eine Verminderung der Leitfähigkeit zur Folge. Wird diese Schwelle überwunden, sind parallel multiple Übertragungswege möglich, die Leitfähigkeit steigt an. Der Trend der Leitfähigkeitssteigerung mit Schichtdickenzunahme wird auch in der Literatur für Gravur-beschichtete PH1000-Nanofilme (Zucca et al., 2015) und für Filme einer anderen PEDOT:PSS Formulierung (Andrei et al., 2017) bestätigt.

Anders als bei PEDOT:PSS100 wirkt sich eine Schichtdickenabnahme positiv auf die Leitfähigkeit von PEDOT:PSS40- und PEDOT:PSS20-Kompositfilme aus. Es ist eine Zunahme der Leitfähigkeit zu beobachten, ein Verhalten, das nach aktuellen Erkenntnissen bisher nicht in der Literatur beleuchtet wurde. Starke intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Hydroxy-Gruppen des PVAs und den SO_3^- -Gruppen des PSS-Anions werden grundsätzlich für die Abnahme der Leitfähigkeit mit PVA-Zugabe verantwortlich gemacht und bewirken eine gute Mischbarkeit auf molekularer Ebene. Auch makroskopisch bildet die Polymerkompositmatrix einheitliche und transparente Filme ohne Anzeichen von Phasenseparation aus (vgl. Abbildung A.11 im Anhang). Der intermolekulare Ladungsträgertransport via Hopping (vgl. Abschnitt 1.2.2) wird in PEDOT:PSS-PVA Blends mit steigendem PVA-Anteil durch die Überwindung größerer Potentialbarrieren erschwert. In Analogie zum Perkolationsmodell von Greco et al. (2011) deutet ein Anstieg der Leitfähigkeit mit Schichtdickenabnahme auf ein dichteres PEDOT:PSS Netzwerk hin, in dem mehr Übertragungswege möglich sind als in dicken Schichten. Betrachtet man die molekulare Struktur beider Komponenten, so handelt es sich bei PVA um ein Makromolekül mit langen Polymerketten ($\bar{M}_w = 195.000 \text{ g/mol}$). PEDOT:PSS hingegen liegt im Wasser dispergiert in Form

¹⁸ Für freistehende Filme dokumentieren Greco et al. (2011) den gleichen Trend, während die absoluten Zahlen sich in etwa vervier- bis -fünffachen.

von Polymer-Gel-Partikeln vor, die mit einer mittleren Partikelgröße (d_{50}) von 30 nm (Elschner et al., 2011) kleiner sind. Es ist daher naheliegend, dass PVA aufgrund seines hohen Anteils im Film als eine Art Wirt fungiert, in dem sich die kleineren PEDOT:PSS-Partikel ansammeln und einlagern. Durch Konzentrationserhöhung des PEDOT:PSS entsteht eine dichtere Packung, die Leitfähigkeit steigt (Mydhili & Manivannan, 2017). Daraus könnte man ableiten, dass bei Unterschreiten einer Art Perkolationschichtdicke ($h_{tr} < 300$ nm) eine weitere Reduktion der Schichtdicke ähnliches bewirkt: PVA hat in der Nanoschicht über die Höhe betrachtet weniger Platz sich räumlich auszudehnen und bildet kleinere bzw. dünnere nichtleitfähige Bereiche aus. Die kleineren PEDOT:PSS-Partikel rücken näher zusammen und bauen leichter kristalline Bereiche auf, sodass die intermolekularen Kontaktstellen zwischen benachbarten leitfähigen Regionen zunimmt. Damit verkleinert sich der zu überwindende Abstand bzw. die Energiebarriere zwischen den Partikeln insgesamt, Hopping-Wahrscheinlichkeit und Leitfähigkeit steigen an.

Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang das Verhalten der Schichtleitfähigkeit σ_s als Funktion der Schichtdicke (vgl. Gleichung (2.4)). Wie in Abbildung 3.6 (oben) dargestellt, nimmt diese für die diskutierten Zusammensetzungen PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 mit der Schichtdicke kontinuierlich zu. Im Bereich geringer Schichtdicken ist die Schichtleitfähigkeit jedoch mit steigendem PEDOT:PSS-Gehalt sensitiver gegenüber eine Schichtdickenreduktion, wie an der Zunahme der Steigung zu sehen ist. Zum besseren Vergleich wurde die Schichtleitfähigkeit der Stoffsysteme mittels eines Potenzansatzes quantifiziert, die in Abbildung 3.6 (oben) ebenfalls dargestellt sind (gestrichelte Linien). Die ermittelten Parameter a_s und b_s sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Fitparameter für die schichtdickenabhängige Schichtleitfähigkeit mit der spezifischen Schichtleitfähigkeit σ_s und der Trockenschichtdicke h_{tr} . Die Parameter wurden mit der Least-Square-Methode ermittelt. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Stoffsystem	$\sigma_s = (a_s \pm \Delta a_s) \cdot h_{tr}^{b_s \pm \Delta b_s}$				gefitteter Bereich / nm	R ²
	$a_s /$ mS/nm ^b	$\Delta a_s /$ mS/nm ^b	$b_s / -$	$\Delta b_s / -$		
PEDOT:PSS100 + Greco	6,36E-5	1,80E-5	1,1489	0,0455	45 - 580	0,99
PEDOT:PSS40	1,73E-5	3,11E-6	0,3135	0,0307	55 - 500	0,88
PEDOT:PSS20	2,20E-7	9,95E-8	0,8303	0,0716	110 - 1000	0,66

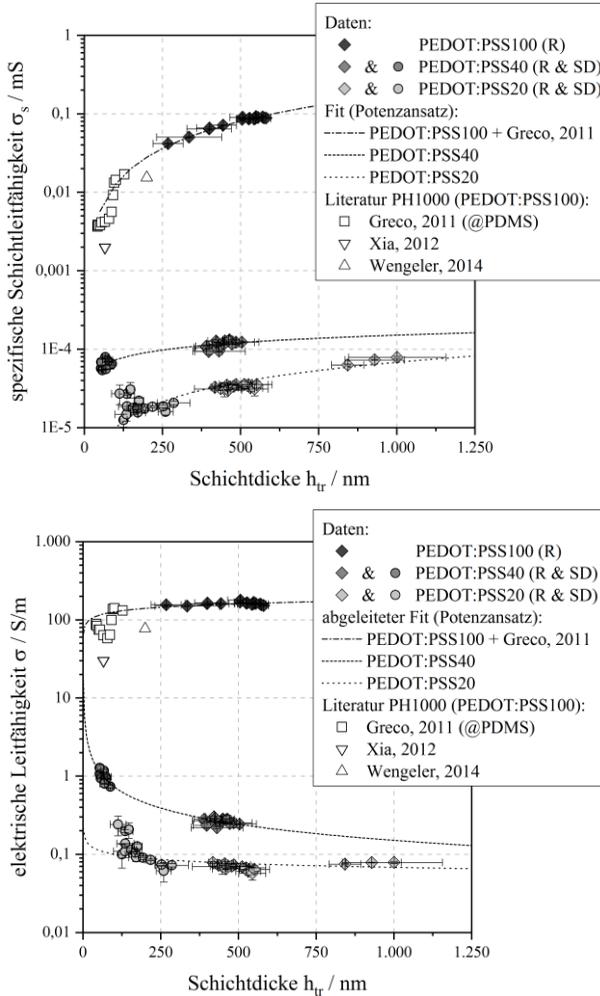


Abbildung 3.6: Spezifische Schichtleitfähigkeit (oben) und elektrische Leitfähigkeit (unten) mit Literaturvergleich für die untersuchten Stoffsysteme in mS bzw. S/m in Abhängigkeit der Trockenschichtdicke für PEDOT:PSS100 (schwarz), PEDOT:PSS40 (dunkelgrau) und PEDOT:PSS20 (hellgrau) mit Annealing (30 min bei 40 °C). Die Prozessierung der Schichten erfolgte per Rakel- (Rauten) & Schlitzgussverfahren (Kreise) am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei Standardbeschichtungs- und Trocknungsparametern. Die Fitfunktionen (gestrichelte Linien) beschreiben die Schichtdickenabhängigkeit der spezifischen Schichtleitfähigkeit und der daraus abgeleiteten elektrischen Leitfähigkeit für die einzelnen Stoffsysteme. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Der Vorfaktor a_s ist ein grober Indikator für die Größenordnung der Schichtleitfähigkeit in dünnen Schichten und nimmt mit steigender Schicht- bzw. elektrischen Leitfähigkeit der Stoffsysteme mit steigendem PEDOT:PSS-Gehalt zu. Interessant ist die Rolle des Exponenten b_s . Für PEDOT:PSS100 ist er größer, für PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 kleiner Eins (vgl. Tabelle 4). Da sich die Leitfähigkeit nach Gleichung (2.4) aus der Schichtleitfähigkeit ergibt, wird die Funktion zur Beschreibung der elektrischen Leitfähigkeit ($\sigma = a \cdot h_{tr}^b$) direkt aus den Fitparametern der Schichtleitfähigkeit abgeleitet (vgl. Gleichungen (3.1) und (3.2)).

$$a = a_s \cdot 10^6 \quad \text{mit } [a] = \frac{S}{m \cdot nm^b} \quad (3.1)$$

$$b = b_s - 1 \quad \text{mit } [b] = - \quad (3.2)$$

Der Exponent b reduziert sich um 1, sodass er für das Stoffsystem PEDOT:PSS100 größer, für PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 kleiner Null ist¹⁹. Mathematisch betrachtet ergibt sich für ersteres eine Nullstelle für $h_{tr} \rightarrow 0$, letztere hingegen besitzen eine Polstelle gegen $+\infty$ mit $h_{tr} \rightarrow 0$. Somit beschreibt der abgeleitete Fit auch für dünne Schichten den erläuterten Verlauf der elektrischen Leitfähigkeit der diskutierten Stoffsysteme: eine Reduktion der Leitfähigkeit für PEDOT:PSS100, eine Steigerung für PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 (vgl. Abbildung 3.6 unten). Für dickere Schichten ist die Schichtdickenabhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit deutlich geringer. Mit einem Exponenten von $b = 0,15$ wird dies durch den abgeleiteten Fit für PEDOT:PSS100 gut wiedergegeben. Für PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 beschreibt der Fit mit zunehmender Schichtdicke eine leichte Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit ($b_{PVA60} = -0,69$ und $b_{PVA80} = -0,17$), welche aber insbesondere für PEDOT:PSS40 weiter zu verifizieren wäre.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Zusammensetzung einen wesentlichen Einfluss auf die elektrische Leitfähigkeit ausübt, dass aber die Leitfähigkeit von PEDOT:PSS40 nur gering unterhalb der erforderlichen Mindestleitfähigkeit liegt und PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 mit ihren zitierten, positiven Eigenschaften punkten können. Eine Schichtdickenabhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit ist für alle untersuchten Systeme insbesondere für dünne Schichten

¹⁹ Eine Auflistung der abgeleiteten Parameter a und b zur Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit befindet sich im Anhang (siehe dazu Tabelle A.13).

($h_{tr} < 300$ nm) zu beobachten. Darüber hinaus nimmt sie deutlich mit wachsender Schichtdicke ab. Für einen eindeutigen Vergleich sollte aber die Schichtdicke der Vollständigkeit wegen immer angegeben werden, da vor allem die spezifische Schichtleitfähigkeit eine stoffsystemspezifische Sensitivität gegenüber der Schichtdicke zeigt (siehe auch nachfolgenden Abschnitt 3.4).

3.4 Prozesseinfluss auf die elektrische Leitfähigkeit

Wie in Abschnitt 1.2.2 erläutert, wird die Leitfähigkeit von PEDOT:PSS durch dessen Morphologie in der Schicht bestimmt. Die quaternäre Struktur bzw. die Ausbildung der Struktur spielt eine wichtige Rolle. Phasenseparation von PEDOT und PSS (Sanchez-Sanchez et al., 2019; Soleimani-Gorgani, 2018; Zhao et al., 2015), eine erhöhte Kristallinität (Palumbiny et al., 2015; Takano et al., 2012) aber auch die Steigerung intermolekularer Kontaktstellen in PEDOT-reichen Regionen (Schwartz, 2003) werden gegenüber kleinen Partikeln mit einer hohen Anzahl an zu überwindenden Korngrenzen (Kirchmeyer & Reuter, 2005; Palumbiny et al., 2015) präferiert. Ebenso wirkt sich eine eher lineare oder längliche Konformation der PEDOT Ketten (Bagchi & Menon, 2006) im Gegensatz zu einer ungeordneten positiv auf die Leitfähigkeit aus (Schwartz, 2003; Siringhaus et al., 1999; Xia & Ouyang, 2011).

Die Morphologieausbildung ist eng mit dem Herstellungsprozess verknüpft (Palumbiny et al., 2015; Worfolk et al., 2015; Zabihi et al., 2015; Zhao et al., 2015). Hinweise hierzu finden sich in der Literatur: Beim Vergleich verschiedener Verfahren der Flüssigphasenapplikation beobachten Wengeler et al. (2013a) eine prozessabhängige Variation der Schichteigenschaften und dokumentieren für schlitzguss-prozessierte PH1000-Schichten eine leichte Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit bei Variation der Beschichtungsgeschwindigkeit (Wengeler et al., 2013a). Worfolk et al. (2015) berichten von einer scherinduzierten Ausrichtung von PEDOT in PEDOT:PSS-Schichten bei Applikation mittels einer oberflächenmodifizierten Rakel (engl. Si shearing blade) sowie einer dadurch bedingten Verbesserung der elektrischen und optischen Eigenschaften gegenüber spin gecoateten Schichten. Ein umfassender Vergleich von Spin und Spray coating zeigt anhand von PEDOT:PSS-Schichten die Wichtigkeit der Prozesskontrolle und den dadurch bedingten Eigenschaften der hergestellten Schichten auf (Zabihi et al., 2015).

Wie anhand der hier diskutierten Beispiele aus der Literatur zu erkennen, erfordern Natur und Beschaffenheit von PEDOT:PSS ein besonderes Augenmerk auf das Zusammenspiel zwischen Prozess und elektrischer Leitfähigkeit. Gerade mit Blick auf das künftige Einsatzgebiet soll eine einfache Hochskalierung und industrielle Massenproduktion möglich sein. Die notwendigen Voraussetzungen hierfür wurden bereits in Abschnitt 3.2 geschaffen, sodass nun im Rahmen des Arbeitsprogramms eine Quantifizierung der Haupteinflussfaktoren auf die elektrische Leitfähigkeit mit Fokus auf die Prozessierung in den folgenden Abschnitten 3.4.1 - 3.4.3 vorgenommen wird.

3.4.1 Systematische Analyse²⁰

Durch Prüfung der Anwendbarkeit der Beschichtungstechnologie (vgl. Abschnitt 3.2) ist eine Applikation der Polymerkompositmatrix bei Verwendung des diskontinuierlich betriebenen Schlitzgussverfahrens unter definierter Prozesskontrolle möglich. Eine methodische Evaluierung des Prozesseinflusses auf die elektrische Leitfähigkeit erfolgt somit unabhängig vom Trocknungseinfluss.

Hierzu wird das Stoffsystem PEDOT:PSS40-DMSO₃ verwendet. Im Vergleich zu PEDOT:PSS40²¹ wurde der Beschichtungslösung 2,35 Gew.-% DMSO zugesetzt, was 3 Gew.-% DMSO bezogen auf die verwendete Menge an PH1000 Stammlösung entspricht. Die Zugabe des Additivs sorgt für eine Leitfähigkeitssteigerung, sodass prozessbedingte Veränderung in der Leitfähigkeit leichter beleuchtet werden und eine potentielle Limitierung durch die Messtechnik ausgeschlossen werden kann.

Es erfolgte eine systematische Variation von Beschichtungsgeschwindigkeit, Beschichtungsspalt und Nassfilmdicke. Die Auswahl orientiert sich an dem experimentell bestimmten Beschichtungsfenster von Wengeler et al. (2014), das auf dem Visko-Kapillar-Modell von Ruschak (1976) beruht und für PH1000 basierte Lösungen stabile Betriebspunkte garantiert. Es wurden zunächst 12 Betriebspunkte

²⁰ Die Ergebnisse der Analyse sind bereits im *Journal of Coatings Technology and Research* publiziert: Riegel, A.-L., Reichelt, N., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017), 'Process-dependent conductivity and film homogeneity of slot-die-coated PEDOT:PSS-PVA composite films', *Journal of Coatings Technology and Research* **14**(5), 1039–1051.

²¹ Erläuterungen zur Zusammensetzung sowie eine Auflistung der Stoffsysteme sind in Abschnitt 3.1 wie auch Tabelle 2 zu finden.

ausgewählt und für vergleichbare Ergebnisse entweder der dimensionslose Spalt oder die Kapillardzahl variiert (vgl. Gleichung (A.4) und (A.5) in Abschnitt C.2).

Mit Blick auf die belegte Sensitivität der Schichteigenschaften gegenüber den Prozessparametern (Bagchi & Menon, 2006; Raja Ashok et al., 2015; Takano et al., 2012; Wengeler, 2014; Wengeler et al., 2013b; Worfolk et al., 2015) wird erwartet, dass die Variation der Beschichtungsparameter verschiedene Scherungskräfte induziert, welchen die Beschichtungslösung während der Applikation ausgesetzt ist. Diese bewirken Änderungen in der Schichtmorphologie, wodurch die Leitfähigkeit beeinflusst wird. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Analyse ist in Abbildung 3.7 gezeigt²². Das obere Diagramm zeigt die Leitfähigkeit als Funktion des Beschichtungsspalts und das untere als Funktion der Trockenschichtdicke, den dominierenden Einflussparametern der Untersuchung.

Bei konstanter Nassfilmdicke bewirkt eine Spaltvariation eine Steigerung der Leitfähigkeit um 40 % (graue Datenreihe, oben), eine Schichtdickenänderung bei konstantem Beschichtungsspalt um 70 % (dunkelgraue Datenreihe, unten). Wird beides simultan variiert, wird eine Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit von 157 % (hellgraue Datenreihe, oben bzw. unten) erreicht. Wird hingegen die Beschichtungsgeschwindigkeit bei konstantem Spalt und konstanter Nassfilmdicke erhöht (weiße Datenreihe, unten), ist eine geringe Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit von 10 % zu beobachten.

²² Eine ausführliche Diskussion der Ergebnisse sowie Details zur Auswahl der Betriebspunkte sind im *Journal of Coatings Technology and Research* 14 (2017), 1039 - 1051 publiziert. Die angefahrenen Prozessparameter sind im Anhang dargestellt (vgl. Tabelle A.6 und Abbildung A.6).

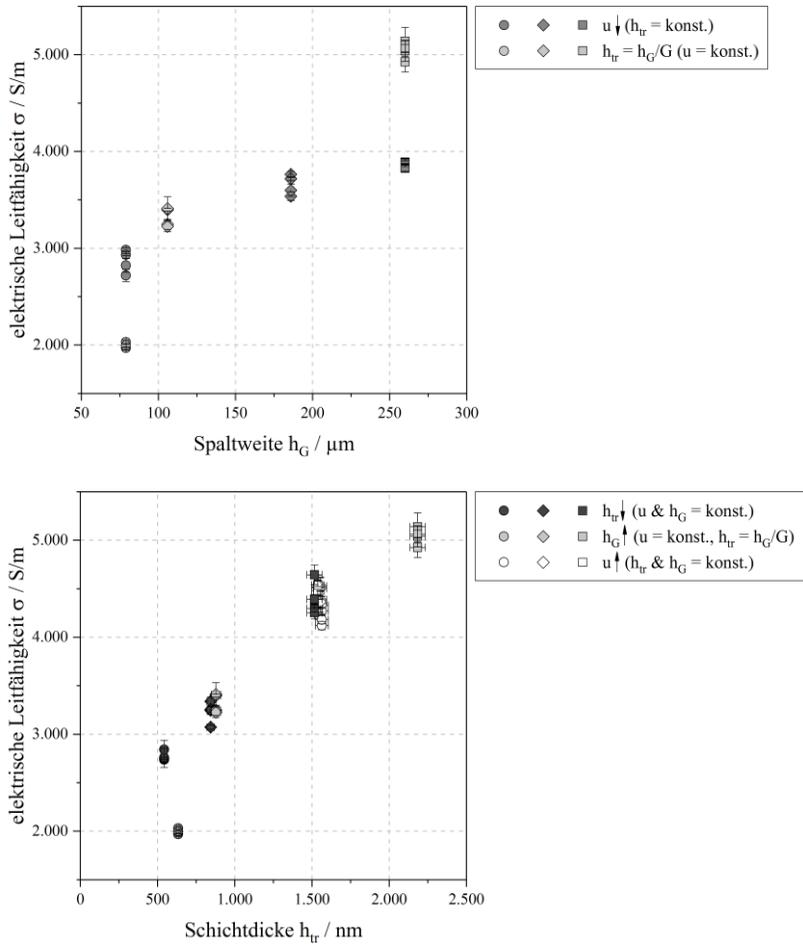


Abbildung 3.7: Elektrische Leitfähigkeit in Abhängigkeit des Beschichtungsspales (oben) und der Schichtdicken (unten) bei variierten Beschichtungsbedingungen für PEDOT:PSS40-DMSO3. Auflistung der Beschichtungsparameter: Tabelle A.6 im Anhang. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2. Bereits veröffentlicht in Riegel et al. (2017).

Die Hypothese einer scherinduzierten Leitfähigkeitssteigerung kann nicht bestätigt werden. Es wird nur eine geringe Steigerung der Leitfähigkeit bei Variation der Beschichtungsgeschwindigkeit, aber konstantem Beschichtungsspalt und Nassfilmdicke festgestellt. Unter Annahme einer Couette-Strömung steigt die Scherrate

mit zunehmender Geschwindigkeit. Zugleich berichten Wengeler et al. (2013) von einer leichten Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit mit zunehmender Beschichtungsgeschwindigkeit für PH1000, obwohl eine Zunahme postuliert wurde. Es ist zu beachten, dass bei Variation der Scherkräfte zwei konkurrierende Mechanismen denkbar sind: zum einen eine Ausrichtung der Polymerketten, sodass mehr intermolekulare Kontaktstellen entstehen (Bagchi & Menon, 2006; Schwartz, 2003; Wengeler, 2014); zum anderen kann eine erhöhte Scherung der Lösung das Wachstum größerer Partikel verhindern bzw. bereits vorhandene Partikelcluster verkleinern. Als Resultat muss eine größere Anzahl an Korngrenzen überwunden werden, die Leitfähigkeit sinkt. Bezogen auf die geringfügigen Änderungen in der Leitfähigkeit kommen allerdings beide Mechanismen nicht zum Tragen. Eine Variation von Beschichtungsspalt oder Schichtdicke üben einen deutlich stärkeren Einfluss aus.

So bewirkt eine Vergrößerung des Beschichtungsspalts bei konstanter Nassfilmdicke eine Reduktion der Scherrate und dennoch wird ein Anstieg der Leitfähigkeit von 40 % beobachtet. Als mögliche Erklärung wird der Aufbau größerer PEDOT-Partikel aufgrund einer längeren Verweilzeit mit mehr Platz bei einem größeren Spalt postuliert, wodurch ein bevorzugtes langsames Partikelwachstum begünstigt wird bzw. bereits vorhandene Agglomerate leichter erhalten bleiben. Bei Betrachtung des Schichtdickeneinflusses wird in Analogie zu dünnen PEDOT:PSS-Schichten, die die Perkolationschichtdicke überschritten haben (Greco et al., 2011), eine Zunahme der Leitfähigkeit beobachtet, was potentiell auf einen Anstieg von Anzahl und Länge möglicher Elektronenübertragungswege zurückzuführen ist (vgl. Abschnitt 3.3.2).

3.4.2 Beschichtungsspalt

Um die Erkenntnisse aus Abschnitt 3.4.1 zu vertiefen und auf eine breitere Datenbasis zu stellen, wurde in einer zweiten Analyse der Einfluss des Beschichtungsspalts genauer untersucht. Die erste Untersuchung sollte einen relativ breiten Bereich abdecken und hatte durch die Wahl der Betriebspunkte zum Ziel, die Strömungs- und Druckverhältnisse im Beschichtungsspalt auf eine gemeinsame Vergleichsbasis zu stellen (Riegel et al., 2017). Die Wahl der Betriebspunkte orientierte sich daher an den charakteristischen Kenngrößen Kapillarzahl und dimensionsloser Spalt, wodurch zwei der drei Beschichtungsparameter – Nassfilmdicke, Beschichtungsspalt und -geschwindigkeit – zum Teil simultan geändert wurden.

Darauf aufbauend wurde in der zweiten Analyse bei konstanter Nassfilmdicke entweder Beschichtungsspalt oder -geschwindigkeit variiert und die Leitfähigkeit der Schichten bestimmt. Um zusätzlich noch ein umfassenderes Bild zu erhalten, wurden aus AFM-Aufnahmen die arithmetische Rauheit R_a ermittelt.

Die Ergebnisse der Analyse sind in Abbildung 3.8 dargestellt. Oben ist die elektrische Leitfähigkeit in Abhängigkeit des Beschichtungsspalts für drei Geschwindigkeiten aufgetragen, unten entsprechend die ermittelte Oberflächenrauheit²³. Die theoretische Nassfilmdicke dieser Schichten beträgt 55 μm . Zum Vergleich sind aus der ersten veröffentlichten Analyse (Riegel et al., 2017) weitere Daten²⁴ (schwarze Symbole, obere Abbildung) ergänzt: zum einen die gemittelte Leitfähigkeit aus Schichten, die bei gleicher Nassfilmdicke und der geringsten Geschwindigkeit (Dreieck, Spitze unten) prozessiert wurden, sowie der Datensatz konstanter Nassfilmdicke ($h_{\text{nass}} = 75\mu\text{m}$) bei simultaner Variation von Spalt und Geschwindigkeit (Dreieck, Spitze oben; äquivalent zur grauen Datenreihe in Abbildung 3.7 oben). Ein Datenpunkt beschreibt den Mittelwert aus 4 - 8 Schichten, die Fehlerbalken das Konfidenzintervall aus diesen.

Entgegen den Erwartungen zeigt der direkte Vergleich in Abbildung 3.8 oben keinen klaren Trend. Bei 1,1 m/min bleibt die Leitfähigkeit mit zunehmender Spaltweite annähernd konstant, leichte Schwankungen bewegen sich innerhalb der Fehlerbalken. Für 2,6 m/min ist bei einem Spalt von 186 μm ein Maximum, für 3,7 m/min ein Minimum zu beobachten. Es ist weder bei einer Spaltvariation noch bei einer Erhöhung der Beschichtungsgeschwindigkeit eine eindeutige Abhängigkeit festzustellen. Die recht langen Fehlerbalken der einzelnen Datenpunkte weisen eher auf eine statistische Streuung der Messwerte bei 186 μm hin, als auf einen tatsächlichen Trend. Diese Beobachtungen komplementiert der zusätzliche Datenpunkt bei 106 μm (Dreieck, Spitze unten) von Riegel et al. (2017), der innerhalb der Streuung der Datensätze aus der zweiten Analyse liegt; ebenso der weitere Datensatz (Dreiecke, Spitze oben): Lediglich die Leitfähigkeit der Schichten des kleinsten Spalts aus Riegel et al. (2017) liegt leicht unterhalb der übrigen Daten.

²³ Aufgetragen wurde jeweils ein Mittelwert aus 5 - 9 AFM-Aufnahmen pro Betriebspunkt, deren Größe zwischen 5 x 5 - 20 x 20 μm^2 variiert. Die Fehlerbalken entsprechen dem Konfidenzintervall.

²⁴ Auflistung aller Beschichtungsparameter: siehe Tabelle A.7 im Anhang.

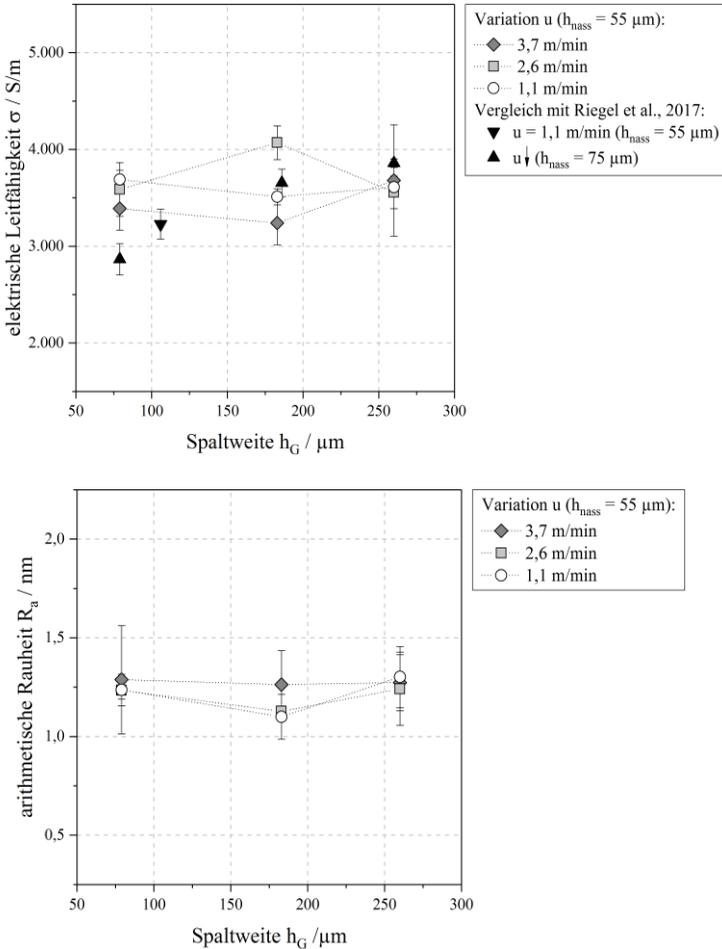


Abbildung 3.8: Elektrische Leitfähigkeit (oben) und arithmetische Rauheit (unten) für PE-DOT:PSS40-DMSO3 in Abhängigkeit der Spaltweite für unterschiedliche Beschichtungsgeschwindigkeiten (Auflistung der Beschichtungsparameter im Schlitzguss: siehe Tabelle A.7 im Anhang). Zum Vergleich sind oben ausgewählte Betriebspunkte von Riegel et al. (2017) ergänzt. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2.

Der Verlauf der Rauheit aus den AFM-Aufnahmen (s. Abbildung 3.8 unten) stimmt mit den erläuterten Beobachtungen überein. Mit absoluten Werten zwischen 1,1 - 1,3 nm können sehr homogene Schichten prozessiert werden. Zugleich

liegt die Schwankung der Messdaten innerhalb der bestimmten Fehlerbalken, so dass auch hier eine Prozessunabhängigkeit von Beschichtungsspalt und -geschwindigkeit festgehalten werden kann. In der Literatur weist ein Anstieg der Oberflächenrauheit oft auf eine Modifizierung der Schichtmorphologie hin und korreliert daher eng mit einer Veränderung der Leitfähigkeit. Beispielsweise wird durch Zugabe eines Additivs häufig eine Phasenseparation von PEDOT und PSS beobachtet, wodurch die Oberflächenrauheit aufgrund größerer Partikel steigt (Soleimani-Gorgani, 2018). Ähnliches wird für die thermische Nachbehandlung der Schichten dokumentiert, bei welchen mit der Temperatur auch die Rauheit steigt (Huang et al., 2003; Huang et al., 2005). Die Unabhängigkeit von Spalt und Geschwindigkeit wird folglich auch durch die Rauheitsmessungen im Rahmen des untersuchten Parameterraums der Schlitzgussbeschichtung bestätigt.

3.4.3 Schichtdicke

Um dennoch die zuerst postulierte und dokumentierte Abhängigkeit der Leitfähigkeit vom Beschichtungsspalt zu verstehen (vgl. Abschnitt 3.4.1), ist es notwendig, die durchgeführten Leitfähigkeitsmessungen für dieses Stoffsystem als Ganzes zu betrachten. Neben dem Spalteinfluss ist auch die Schichtdicke eine zentrale Größe. Aus diesem Grund sind für einen besseren Gesamtüberblick in Abbildung 3.9 alle im Rahmen der Prozessanalyse für PEDOT:PSS40-DMSO3 untersuchten Schichten über ihren jeweiligen Schichtdicken aufgetragen: oben die spezifische Schichtleitfähigkeit, unten die elektrische Leitfähigkeit, welche sich nach Gleichung (2.4) direkt aus ersterer ableitet.

Neben den veröffentlichten Daten der systematischen Analyse (dunkelgraue Rauten) und der gezielten Untersuchung des Spalteinflusses (graue Kreise) sind die Ergebnisse zusätzlicher Betriebspunkte schlitzguss-prozessierter Schichten (hellgraue Dreiecke) sowie gerakelter Schichten (weiße Quadrate) dargestellt. Die einzelnen Betriebspunkte unterscheiden sich sowohl in der theoretischen Nassfilmdicke als auch in Geschwindigkeit und Spaltweite²⁵.

²⁵ Details zur den Beschichtungsparametern sind im Anhang in den Tabellen Tabelle A.6 - Tabelle A.8 ergänzt.

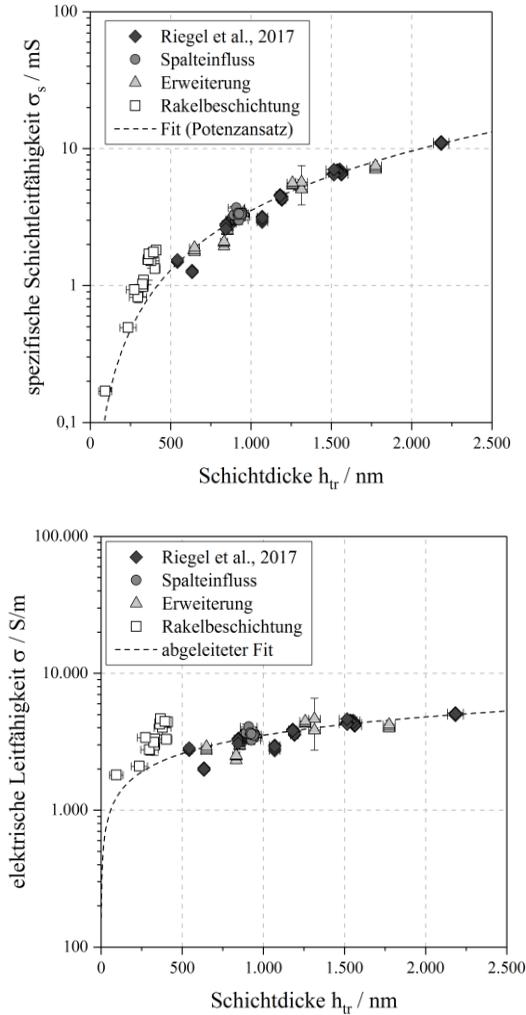


Abbildung 3.9: Spezifische Schichtleitfähigkeit (oben) und elektrische Leitfähigkeit (unten) als Funktion der Schichtdicke sowie die für PEDOT:PSS40-DMSO3 ermittelte Fitfunktion (gestrichelte Linie) (Fitparameter: Tabelle A.14; Auflistung der Beschichtungsparameter: Tabelle A.6 bis Tabelle A.8 im Anhang). Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2.

Wird die spezifische Schichtleitfähigkeit von PEDOT:PSS40-DMSO3 in ihrer Gesamtheit betrachtet, ist deutlich eine Zunahme mit steigender Schichtdicke unabhängig von Geschwindigkeit und Spaltweite zu sehen. Diese kann über den gesamten untersuchten Bereich, analog zu den anderen Stoffsystemen (vgl. Abbildung 3.6), mittels eines Potenzansatzes²⁶ (gestrichelte Linie) sehr gut beschrieben werden. Ebenso sind entsprechend den Beobachtungen für PEDOT:PSS100, reines PEDOT:PSS, die bereits diskutierte Sensitivität der Schichtleitfähigkeit sowie die daraus resultierende Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit im Bereich geringer Schichtdicken für PEDOT:PSS40-DMSO3 festzustellen. Die Schichtdickenabhängigkeit der Schichtleitfähigkeit ist deutlich stärker erkennbar als im Vergleich zu PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 – beides Stoffsysteme mit einem hohen PVA Anteil (vgl. Tabelle 2). Aber auch verglichen mit PEDOT:PSS100 ist diese Abhängigkeit geringfügig stärker ausgeprägt, was ebenso durch die bestimmten Exponenten wiedergegeben wird ($b_{s,PVA60DMSO3} = 1,44$ im Vergleich zu $b_{s,PVA0} = 1,15$ für PEDOT:PSS100; direkter Vergleich aller Stoffsysteme in Abbildung A.15 und Abbildung A.16 im Anhang).

Durch die größere Sensitivität von PEDOT:PSS40-DMSO3 gegenüber der Schichtdicke ist auch bei dickeren Schichten für dieses Stoffsystem eine Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit mit steigender Schichtdicke zu erkennen, wenn auch mit einer etwas breiteren Varianz. Rein mathematisch beschreibt die abgeleitete Anpassung für die elektrische Leitfähigkeit mit einem Exponenten von $b = 0,44$ ebenso eine stetig wachsende Funktion und folglich trotz Normierung weiterhin eine vorhandene Abhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit von der Schichtdicke.

Dies erklärt auch den zuerst beobachteten Spalteinfluss, der bei detaillierter Analyse nicht mehr so deutlich zu sehen ist: Die Empfindlichkeit der elektrischen Leitfähigkeit gegenüber der Schichtdicke wurde für dieses Stoffsystem unterschätzt, sodass auch bei theoretisch konstanter Schichtdicke aufgrund statistischer und experimenteller Schwankungen geringfügige Abweichungen von der theoretischen Zielgröße beobachtet werden können. Wie die Fehlerfortpflanzung im Rahmen der Prozessanalyse in Abschnitt 3.2.2 zeigt, führen schon leichte Abweichungen in der Spalteinstellung zu deutlichen Schwankungen bezüglich der tatsächlichen Schichtdicke (vgl. Fehlerbalken in Abbildung 3.3). Bei Systemen wie PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 oder PEDOT:PSS20, die eine geringere Sensitivität bezüglich der

²⁶ Die angepassten Fitparameter für die spezifische Schichtleitfähigkeit a_s und b_s sowie die daraus abgeleiteten für die elektrische Leitfähigkeit a und b sind im Anhang in Tabelle A.14 aufgeführt.

Schichtdicke aufweisen, kommen diese Unterschiede kaum zum Tragen, für einen akkuraten Prozessvergleich und ein späteres Scale-up ist sie aber eine wichtige Größe, die es genau einzustellen gilt.

Auch wenn in der Literatur Forschungsarbeiten zum Prozesseinfluss existieren, so gibt es bisher kaum Studien, in denen die Beschichtungsparameter unabhängig variiert wurden. Zabihi et al. (2015) analysieren in einer sehr ausführlichen Untersuchung für reine PEDOT:PSS-Schichten Unterschiede zwischen Spray und Spin Coating. Gerade letzterer Prozess erlaubt keine unabhängige Kontrolle einzelner Parameter: Beschichtungs- und Trocknungsprozess sind immer unmittelbar miteinander gekoppelt, eine Rückführung auf den tatsächlichen Einflussparameter wird erschwert. So erhöhen schnellere Schleudergeschwindigkeiten und längere Schleuderzeiten die Zentrifugalkräfte, denen die Beschichtungslösung ausgesetzt wird, zugleich reduziert sich auch die Schichtdicke. Die Auswirkungen sind in Rauheit und elektrischer Leitfähigkeit aufgrund modifizierter Morphologie zu finden. Gleiches gilt für eine Variation des Feststoffgehalts. Mit jeder Parametervariation ändert sich zugleich die Trocknungskinetik, welche sich in diesem Fall schwer kontrollieren lässt und ein späteres Scale-up beeinträchtigt. Gerade hinsichtlich des Einflusses der Annealingtemperatur auf Morphologie und Leitfähigkeit (Huang et al., 2003; Huang et al., 2005; Kim et al., 2012; Sanchez-Sanchez et al., 2019; Takano et al., 2012; Xia et al., 2012) ist dies ein nicht zu unterschätzender Aspekt. Eine unabhängige Analyse der Schichtdicke ist mit diesem Prozess schwer möglich. Rückschlüsse, welche Rolle die Scherkräfte in diesem Zusammenhang spielen, werden ebenfalls erschwert und können nur in der Gesamtheit betrachtet werden. Es kommt hinzu, dass die meisten Untersuchungen nicht für PEDOT:PSS-PVA Polymerkompositfilme durchgeführt wurden, sondern häufig für reines PEDOT:PSS, dem unterschiedliche Additive zugesetzt wurden.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Schichtdickenabhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit stoffsystemabhängig ist und für eine spätere erfolgreiche Hochskalierung ein detailliertes Wissen über die Sensitivität der spezifischen Schichtleitfähigkeit gegenüber der Schichtdicke erforderlich ist. Eine Vorhersage ist hier nur schwer möglich. Für einen eindeutigen Vergleich sollte die Schichtdicke immer angegeben werden. Der postulierte Einfluss der Beschichtungsparameter konnte nicht validiert werden. Der Einfluss der Schichtdicke überwiegt in diesem Zusammenhang, wie ein umfassender Vergleich der gesamten Daten gezeigt hat. Für eine abschließende Aussage, einen Einfluss durch die Beschichtungsparameter, wie Spalt und Geschwindigkeit, generell auszuschließen, ist jedoch eine

deutliche Erweiterung des Beschichtungsparametersatzes notwendig. Hierzu sollte eine Variation über einen größeren Schichtdickenbereich sowohl für schnellere als auch eine größere Anzahl an Geschwindigkeiten erfolgen.

Durch Verwendung von Additiven oder Nachbehandlungsschritten kann eine zusätzliche Steigerung der elektrischen Leitfähigkeit auch über den Einfluss der Schichtdicke hinaus bewirkt werden. Das steht nicht im Fokus dieser Arbeit. Es wird nicht die weitere Verbesserung der Leitfähigkeit, sondern der Einfluss der Prozessierung untersucht, mit dem Ziel, wichtige Parameter hinsichtlich einer skalierbaren und industriell günstigen Fertigung herauszuarbeiten.

3.5 Wassersorption in die Polymerkompositmatrix²⁷

Neben Zusammensetzung und Schichtdicke haben auch äußere Einflüsse, wie beispielsweise die Aufnahme von Wasser aus der Umgebung einen großen Einfluss auf die Eigenschaften der Schicht. PEDOT:PSS ist hygroskopisch und eine dadurch bedingte Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit ist in der Literatur bekannt (Choi et al., 2015; Elschner et al., 2011; Huang et al., 2005; Kus & Okur, 2009; Nardes et al., 2008; Wengeler, 2014). Ziel ist es daher, die absorbierte Wassermenge der Polymerkompositmatrix für PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40 – Systeme mit einem hohen PVA-Anteil (vgl. Tabelle 2) – zu quantifizieren und in Kontext zur ihrer Leitfähigkeit zu setzen.

Dazu wurden gravimetrisch bei 40°C in einem automatisierten Probentauscher (vgl. Abschnitt 2.5) die Wassersorptionsisothermen des reinen PEDOT:PSS (PEDOT:PSS100) und erstmals der Mischung PEDOT:PSS20 ermittelt (vgl. Abbildung 3.10 (Symbole)). Da das Phasengleichgewicht von Wasser-PVA für das in dieser Arbeit eingesetzte PVA bereits in der Literatur eingehend beschrieben wurde, wurde dieses von Kachel übernommen (Jeck et al., 2011; Kachel, 2017; Kachel et al., 2013). Zusätzlich sind zum Vergleich die von Peters et al. (2011) vorgestellten Sorptionsdaten eines hochleitfähigen PEDOT:PSS Typs aufgetragen, welche sich sehr gut mit den hier dargestellten Messdaten für PH1000 decken.

²⁷ Die Untersuchungen zum Einfluss auf die elektrische Leitfähigkeit wurden in der Bachelorarbeit von A. Burkart (2015) in Auszügen erarbeitet und im Rahmen dieser Arbeit betreut.

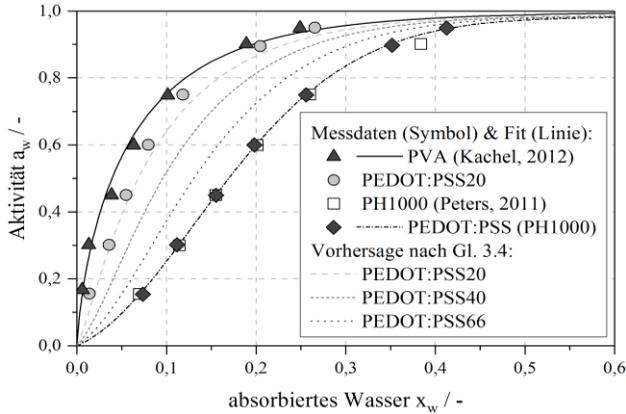


Abbildung 3.10: Wasserabsorption von PEDOT:PSS-PVA-Schichten bei 40 °C mit Literaturvergleich. Dargestellt sind die Messdaten (Symbole) von PVA (Kachel et al., 2013), PEDOT:PSS und PEDOT:PSS20 sowie die Berechnung des Phasengleichgewichts der Reinstoffe (schwarze Linien) nach Gleichung (3.3). Zur Vorhersage des Phasengleichgewichts der Mischungen (grau gestrichelte Linien) wurde das von Kachel et al. (2013) entwickelte Modell auf dieses Stoffsystem angewandt (Gleichung (3.4)). Zum Vergleich sind die von Peters et al. (2011) ermittelten Sorptionsdaten für reines PEDOT:PSS dargestellt.

Die Wasseraffinität von PH1000 (PEDOT:PSS100) ist deutlich zu erkennen: Im Vergleich zu PVA nimmt das leitfähige Polymer bei gleicher Aktivität eine deutlich größere Menge an Wasser auf. Während des Sorptionsprozesses lagert sich das Wasser in den Polymerfilm ein, welches sich mit dem Wasser in der Gasphase im Gleichgewicht befindet. Dieses Phasengleichgewicht kann analog einer wässrigen Polymerlösung mit der Theorie nach Flory-Huggins (Flory, 1953) beschrieben werden. Für Wasser-Polymer-systeme ist das spezifische molare Volumen ($\tilde{v}_i = \tilde{M}_i / \tilde{\rho}_i$) von Wasser gegenüber des Polymers aufgrund des großen Molmassenunterschieds vernachlässigbar ($\tilde{v}_w / \tilde{v}_p \rightarrow 0$ mit $\tilde{v}_w \ll \tilde{v}_p$). Daraus ergibt sich zur Beschreibung des Phasengleichgewichts Gleichung (3.3) mit den Volumenbrüchen Φ_w und Φ_p von Wasser und Polymer, dem Wechselwirkungsparameter χ_{wp} sowie der Wasseraktivität in der Gasphase a_w , welche über das Verhältnis des

Wasserpartialdruckes p_w und des Satttdampfdruckes $p_w^*(T)$ bei aktueller Temperatur definiert ist²⁸.

$$\ln a_w = \ln \frac{p_w}{p_w^*(T)} = \ln \Phi_w + \Phi_p + \chi_{wp} \Phi_p^2 \quad \text{mit } [a_w] = - \quad (3.3)$$

Der Wechselwirkungsparameter χ_{wp} ist von dem von der Polymerschicht absorbierten Wasser abhängig und wird an die Messdaten angepasst (s. Anmerkung in Abschnitt K). In der Literatur existiert eine Vielzahl an empirischen Ansätzen, die stoffsystemspezifisch dessen Konzentrationsabhängigkeit beschreiben. Hierfür wurde von Kachel et al. (2013) für PVA ein Potenzansatz verwendet. Für PE-DOT:PSS wurde in Anlehnung an Literatur ein Polynom 2. Grades gewählt. Beide Korrelationen zeigen gute Übereinstimmung mit den Vorgängerarbeiten (Jeck, 2012; Peters et al., 2011). Die an die Messdaten angepassten Sorptionsisothermen sind für die Reinstoffe als schwarze Linien in Abbildung 3.10 dargestellt und geben die Messdaten sehr gut wieder²⁹. Die angepassten bzw. für PVA der Vorgängerarbeit entnommenen Parameter sind in Tabelle A.15 im Anhang aufgelistet.

Die Beschreibung des Phasengleichgewichts von Mischungen erfolgt mittels Superposition der binären Sorptionsdaten der Komponenten gemäß Gleichung (3.4).

$$X_{w,Mischung} = \sum_{i=1}^n X_{w,i} \cdot x_i \quad \text{mit } [X_w] = - \quad (3.4)$$

Die Wasserbeladung der Mischung $X_{w,Mischung}$ wird aus der Beladung der Reinstoffe $X_{w,i}$ gewichtet mit ihrem jeweiligen Massenanteil im Film x_i berechnet. Dieser von Kachel und Schabel für Polymerlösemittel- und Biosensorsysteme vorgeschlagene Ansatz betrachtet den Polymerkompositfilm zunächst als eine ideale Überlagerung von Daten der binären Teilsysteme unter Vernachlässigung von weiteren Wechselwirkungen im Multikomponentensystem (Kachel et al., 2013). Abweichungen des Modells zu gemessenen Daten werden durch einen Abweichungsfaktor berücksichtigt. Kachel et al. zeigen für eine Vielzahl von

²⁸ Weitere Details zur Beschreibung des Phasengleichgewichts von Polymerlösungen nach Flory und Huggins finden sich im Anhang in Abschnitt K und in großer Ausführlichkeit in den Dissertationen von Kachel (2017) und Jeck (2012).

²⁹ Eine Quantifizierung der Abweichung zwischen Messdaten und Modell erfolgte mit Hilfe des von Kachel eingeführten Abweichungsfaktor (Kachel, 2017; Kachel et al., 2013). Dieser ist für PE-DOT:PSS im Vergleich zu PVA in Abschnitt K im Anhang dargestellt.

Materialpaarungen, dass diese Abweichungen gering sind und als Annahme vernachlässigt werden können (Kachel, 2017; Kachel et al., 2013).

Dieser Ansatz wurde auch in der vorliegenden Arbeit verwendet, um die Phasengleichgewichte der Mischungen PEDOT:PSS20, PEDOT:PSS40 sowie zusätzlich PEDOT:PSS66 mit 80, 60 bzw. 33 Gew.-% PVA im Film vorherzusagen. Die Ergebnisse (grau gestrichelte Linien) sind in Abbildung 3.10 zusammen mit Daten aus der Literatur aufgetragen. Aus den Modellannahmen und Daten ist zu erwarten, dass aufgrund der höheren Wasseraffinität des leitfähigen Polymers mit steigendem PEDOT:PSS-Gehalt im Film die Wassersorption proportional dazu steigt. Dieser Erwartung wird durch das Modell wiedergegeben. Die Messdaten von PEDOT:PSS20 (hellgraue Kreise) zeigen eine gute Übereinstimmung mit der reinen Vorausberechnung (hellgrau gestrichelte Linie) nach dem Modell ohne Berücksichtigung weiterer Wechselwirkungsterme. Es konnte damit gezeigt werden, dass sich das Sorptionsverhalten auch für elektrisch leitfähige Polymere in einer Mischung gut beschreiben lässt. Erst hin zu hohen Luftfeuchten bzw. Aktivitäten überschätzt das vereinfachte Modell die Wasseraufnahme und berechnet höhere Werte als gemessenen wurden³⁰. Dies ist möglicherweise auf die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen PEDOT:PSS und PVA und die dadurch reduzierte Anzahl an OH-Gruppen zurückzuführen, die mit dem Wasser aus der Umgebung wechselwirken können (Choi et al., 2015). Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass das von Kachel et al. (2013) für andere Stoffsysteme vermessene und vorgeschlagene additive Sorptionsmodell auch für die in dieser Arbeit betrachteten Polymerkompositmatrix validiert werden kann. Das Sorptionsverhalten für elektrisch leitfähige Polymere und Mischungen daraus wie PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40 lassen sich mit Hilfe des Modells sehr gut vorausberechnen.

Zur Korrelation von Sorption und Leitfähigkeit wurden Leitfähigkeitsmessungen für die genannten Stoffsysteme bei definierten Luftfeuchten in der im Rahmen der Arbeit angefertigten und in Betrieb genommenen Sorptionskammer durchgeführt³¹. In Abbildung 3.11 ist links für die Stoffsysteme PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 die absorbierte Wassermenge bei den untersuchten Wasseraktivitäten bzw. relativen Luftfeuchten aufgetragen, bei welchen die elektrische Leitfähigkeit bestimmt wurde. Die aufgenommene Menge an Wasser

³⁰ Die Abweichung kann auf Vorschlag von Kachel und Schabel in dem Modell mittels des Abweichungsfaktors als Erweiterung quantifiziert werden (Kachel, 2017; Kachel et al., 2013) und ist im Anhang in Abbildung A.19 dargestellt.

³¹ Weitere Details zur Versuchsdurchführung sind in Abschnitt 2.4.3 zu finden.

ist anhand der Symbole abzulesen und ergibt sich entsprechend der dargestellten Linien, den bestimmten Sorptionsisothermen aus Abbildung 3.10. Die rechte Abbildung zeigt auf logarithmischer Skala für die einzelnen Stoffsysteme die Auswirkung der Sorption auf die elektrische Leitfähigkeit als Funktion der exponierten Luftfeuchte³².

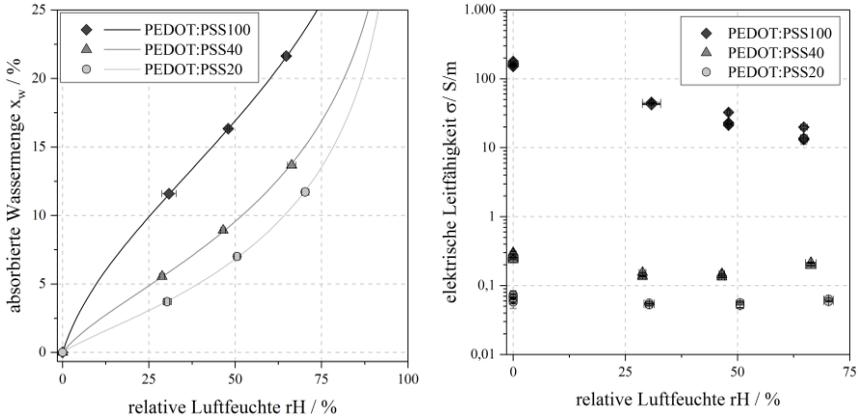


Abbildung 3.11: Einfluss der Wassersorption auf die elektrische Leitfähigkeit: absorbierte Wassermenge x_w (links) abgeleitet aus den ermittelten Sorptionsisothermen und die elektrische Leitfähigkeit σ (rechts) in Abhängigkeit der relativen Luftfeuchte rH für die Stoffsysteme PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20. Die mittlere Trockenschichtdicke aller Schichten beträgt $h_{tr} = 470$ nm mit einer Mittelwertabweichung von ± 53 nm. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2

Auch hier ist die Wasseraffinität von PEDOT:PSS gegenüber PVA deutlich zu sehen. Die PH1000-Schichten (PEDOT:PSS100) absorbieren ungefähr die doppelte bis dreifache Menge an Wasser bei gleicher relativen Luftfeuchte im Vergleich zu PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 (vgl. Abbildung 3.11 (links)). Mit Blick auf die Leitfähigkeit (rechts) ist zu Beginn eine Abnahme mit steigender Luftfeuchte zu beobachten, aber auch diese ist stoffsystemabhängig unterschiedlich stark ausgeprägt. Für reines PEDOT:PSS (PEDOT:PSS100) ist eine fast lineare bzw. exponentielle Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit festzustellen. Auf PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 ist der Einfluss des eingelagerten Wassers

³² Die geringe Leitfähigkeit von reinen PVA-Schichten ist mit der verwendeten Vier-Punkt-Methode nicht auflösbar (vgl. Abbildung 3.4) und wurde nicht weiter analysiert.

deutlich geringer: Bis etwa 50 % rH nimmt die elektrische Leitfähigkeit ab, darüber hinaus steigt sie wieder leicht an.

Für einen leichteren Vergleich der Systeme untereinander ist die nach Gleichung (3.5) definierte, normalisierte Leitfähigkeitsreduktion $\Delta\sigma_{norm}$ über dem vom Film absorbierten Wassergehalt x_w in Abbildung 3.12 aufgetragen. Für das jeweilige Stoffsystem setzt diese die durch die Wassersorption verursachte Leitfähigkeitsabnahme $\Delta\sigma$ (Differenz zwischen exponiertem und inerten Zustand) in Bezug zur Leitfähigkeit $\sigma_{rH=0\%}$ unter Inertbedingungen.

$$\Delta\sigma_{norm} = \frac{\sigma_{exponiert} - \sigma_{rH=0\%}}{\sigma_{rH=0\%}} \quad \text{mit} \quad \left[\frac{\Delta\sigma}{\sigma_{rH=0\%}} \right] = - \quad (3.5)$$

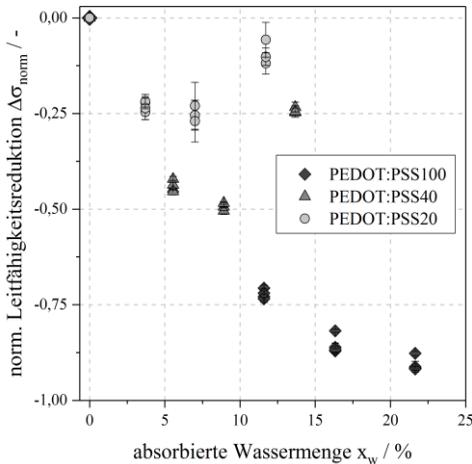


Abbildung 3.12: Einfluss der Wassersorption auf die elektrische Leitfähigkeit: normalisierte Leitfähigkeitsreduktion $\Delta\sigma_{norm}$ nach Gleichung (3.5) als Funktion der absorbierten Wassermenge x_w jeweils für die Stoffsysteme PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20. Die mittlere Trockenschichtdicke aller Schichten beträgt $h_{tr} = 470$ nm mit einer Mittelwertabweichung von ± 53 nm. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Durch den direkten Vergleich in Abbildung 3.12 wird die Auswirkung der Wassersorption besonders deutlich. Die Menge an absorbiertem Wasser korreliert unmittelbar mit der Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit. Während PH1000-Schichten (PEDOT:PSS100) bis zu 22 % Wasser absorbieren, sind es für PE-

DOT:PSS20-Schichten etwa die Hälfte mit 12 % bei ähnlicher Luftfeuchte, PEDOT:PSS40-Schichten liegen mit etwa 14 % leicht darüber. Simultan vermindert sich die elektrische Leitfähigkeit der Schichten um das Zwei- bis Dreifache bezogen auf die Ausgangsleitfähigkeit, in Zahlen 70 - 90 % für PEDOT:PSS100, maximal 50 % für PEDOT:PSS40 und nur bis zu 25 % für PEDOT:PSS20.

Über ein ähnliches Verhalten von PEDOT:PSS-Schichten berichten auch Kuş et al. (2009). Sie detektieren eine lineare Zunahme des spezifischen Widerstands (engl. resistivity) im Bereich von 40 - 80 % rH, der oberhalb von 80 % wieder fällt. Den Anstieg des Widerstands bzw. die Abnahme der Leitfähigkeit führen die Autoren auf einen Anstieg der durchschnittlichen Hopping-Distanz zurück, die Elektronen zwischen zwei PEDOT-reichen Regionen überwinden müssen. Aufgrund des Quellprozesses der Schicht reduzieren sich die intermolekularen Kontaktstellen, der dominierende Hopping-Mechanismus wird erschwert. Das Überschreiten eines Maximums bzw. der Anstieg der Leitfähigkeit bei hohen Luftfeuchten erklären sie mit der Ausbildung einer Wasserschicht auf der quasi gesättigten Polymerfilmoberfläche und einer einhergehenden Parallelschaltung der Leitwiderstände infolge des Übergangs von Löcher- zu Ionenleitung. Zurückzuführen ist dieses Verhalten potentiell auf Natur und Beschaffenheit von PEDOT:PSS: Gelöst liegt die Dispersion als Polymer-Gel-Partikel vor, in der das hydrophile Anion PSS die nicht wasserlöslichen PEDOT-Partikel in Lösung hält (vgl. Abschnitt 1.2.2). Beim Überschreiten des Maximums löst das Wasser durch den hygroskopischen Charakter des PSS, ähnlich einer Oberflächenbehandlung, PSS-Protonen aus dem Film. Die zuvor durch die Sorption gehemmte Lochleitung geht in eine Ionenleitung über, was laut den Autoren, Ursache für den Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit sei (Kuş & Okur, 2009).

Das Auftreten eines Extremwerts und die Hypothese des Übergangs zur Ionenleitung wird auch von Nardes et al. (2008) beschrieben, allerdings bereits ab einer relativen Luftfeuchte von 30 %. Mit durchschnittlichen 100 nm sind die untersuchten Schichten von Nardes et al. (2008) dünner als bei Kuş et al. (2009) (300 nm) und in dieser Arbeit (470 nm), was die unterschiedlichen Beobachtungen erklären könnte. In einem ersten Ansatz aus der Literatur wird eine mögliche Konzentrations- und Schichtdickenabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten in dünnen Polymernanoschichten postuliert. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass der Diffusionskoeffizient mit sinkender Schichtdicke um mehrere Größenordnungen

abnimmt (Buss, 2017; Buss et al., 2015). Somit wird die Bildung einer Wasserschicht auf der Filmoberfläche in dünneren Schichten potentiell begünstigt, da das Wasser langsamer in die Schicht diffundiert.

Ein Leitfähigkeitsminimum wurde in dieser Arbeit und auch in der Literatur für PH1000-Filme nicht beobachtet (Wengeler, 2014). Zum einen beträgt die maximal untersuchte relative Luftfeuchte 70 % (bei Wengeler (2014) 80 %), zum anderen handelt es sich bei der in der Literatur verwendeten PEDOT:PSS Variante um Baytron P VP AI4083, welche laut Peters et al. (2011) eine leicht geringere Wasseraffinität gegenüber PH1000 besitzt. Korreliert mit dem Phasengleichgewicht nimmt PH1000 eine größere Wassermenge auf, der Übergang zur Ionenleitung ist bei höheren Luftfeuchten zu erwarten. Für PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 ist, wie bereits erwähnt, ein Minimum bzw. Maximum in der Leitfähigkeitsänderung zu erkennen. Es lässt sich vermuten, dass es mit sinkendem PEDOT:PSS-Gehalt bei leicht geringeren Luftfeuchten auftritt. Für eine detailliertere Aussage ist eine weitere Auflösung der eingestellten Luftfeuchten erforderlich. Auch für die Gemische kann die Ausbildung einer Wasserschicht und die dadurch bedingte Ionenleitung postuliert werden. Aufgrund der geringeren Wasseraufnahme im Vergleich zu PEDOT:PSS100 tritt sie bereits bei geringeren Luftfeuchten auf.

Abschließend kann festgehalten werden, dass Wassersorption und elektrische Leitfähigkeit insbesondere für reine PEDOT:PSS-Filme eng miteinander verknüpft sind. Nach umfangreicher und aufwendiger Datenerhebung erfolgte die Quantifizierung der Sorption erfolgreich mittels des Flory-Huggins Ansatzes für die binären Wasser-Polymer-Systeme. Zugleich war eine sehr gute Vorausberechnung der Sorption erstmals auch für elektrisch leitfähige Gemische wie PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40 nach dem von Kachel et al. (2013) vorgeschlagenen Modell der additiven Überlagerung möglich. Das Zumischen von PVA erlaubte es, die Wasseraffinität der Polymerkompositmatrix zu vermindern, sodass sich die sorptionsbedingte Änderung der Leitfähigkeit reduzierte. Zudem ließ sich zwischen Sorption und Desorption kaum eine Hysterese bezüglich der gemessenen elektrischen Leitfähigkeit beobachten, sodass die Einlagerung von Wasser in Schichten ohne aktive Enzymkomponente einen reversiblen Prozess beschreibt³³. Das während der Sorption eingelagerte Wasser schiebt in erster Linie die PEDOT-reichen Regionen

³³ Ein Vergleich der elektrischen Leitfähigkeit vor Sorption, während und erneut nach Desorption bei Inertgasbedingungen zeigt die Reversibilität beispielhaft anhand reiner PEDOT:PSS-Schichten (vgl. Abbildung A.17 (rechts) im Anhang).

auseinander, welche sich nach Desorption wieder aneinanderlagern, ohne dass strukturellen Veränderungen oder Umlagerungen in der Schicht auftreten, wie es beispielsweise bei thermischer Nachbehandlung der Fall ist (Choi et al., 2015; Huang et al., 2005; Kus & Okur, 2009; Nardes et al., 2008). Mit Blick auf Biosensoren ist dies eine interessante Beobachtung, da die Wasseraufnahme in aktiven Biosensorschichten zur irreversiblen Veränderungen im Film führt und eine erhöhte Wasseraffinität den Degradationsprozess beschleunigt (Kachel, 2017).

3.6 Fazit

Als Ausgangspunkt für eine zuverlässige Überprüfung der katalytischen Aktivität bei der Immobilisierung funktionaler Biomoleküle in elektrisch leitfähige Polymerkompositsschichten ist eine genaue Prozesskenntnis erforderlich, wodurch eine erfolgreiche Übertragung vom Labormaßstab hin zu einem industriellen Prozess mit möglichst geringem Qualitätsverlust ermöglicht werden kann. Im Mittelpunkt des ersten Teils dieser Arbeit standen daher Prozessierung und Eigenschaften der Polymerkompositmatrix, die, bestehend aus PVA und PEDOT:PSS, als Wirt für die physikalische Einbettung des Enzyms dient. Grundvoraussetzung hierfür ist die Prozessierung homogener Schichten mit ausreichender Leitfähigkeit, sodass Schichtdicke und -homogenität sowie elektrische Leitfähigkeit die zentrale Kenngrößen in diesem Kontext sind.

Vor diesem Hintergrund wurde zuerst eine reproduzierbare Prozessierung von Schichten mit hoher Qualität in Verbindung mit einer exakten Einstellung der Schichtdicke mit ausreichender Homogenität für eine spätere Hochskalierung sichergestellt. Für gerakelte Schichten ist hierbei zunächst eine limitierte, aber akzeptable Streuung und Reproduzierbarkeit bezüglich Schichtdicke und -homogenität festzuhalten (vgl. Abschnitt 3.2). Diese lagen innerhalb der Erwartungen und sind vertretbar, werden aber durch Einsatz des Schlitzgussverfahrens deutlich verbessert. Das für den kontinuierlichen Betrieb ausgelegte Schlitzgussverfahren kann durch Implementierung vorgestellter Maßnahmen überaus zuverlässig auch als diskontinuierlicher Prozess eingesetzt werden. Es wurden homogene Filme mit einer sehr genauen Einstellung der Schichtdicke (geringe Abweichung zur Sollschichtdicke) äußerst reproduzierbar hergestellt. Mit einer Reproduzierbarkeit von 99 % für alle schlitzguss-prozessierten Schichten kann eine Beeinträchtigung der Schichtqualität bei der Übertragung der Schlitzgussbeschichtung auf den Batch-

Prozess ausgeschlossen und die Anwendbarkeit der verwendeten Beschichtungstechnologie validiert werden.

Zur Einordnung der Herstellung homogener Schichten mit ausreichender elektrischer Leitfähigkeit wird als Richtwert eine an die Literatur angelehnte, theoretische Mindestleitfähigkeit von 1 S/m postuliert (Tsujiyama et al., 2006; Yamashita et al., 2013). Ohne Zugabe von Additiven erfolgte eine Quantifizierung der elektrischen Leitfähigkeit in Abhängigkeit des PEDOT:PSS-Gehalts im Films. Basierend auf Erkenntnissen aus der Literatur ist es erstrebenswert, den PVA-Gehalt zu maximieren, um so ein enzymfreundliches Milieu (Walz et al., 2019) bei zugleich verbesserter Flexibilität, Strapazierfähigkeit und Haltbarkeit der Polymerkompositmatrix zu erzielen (Chen et al., 2012; Chen et al., 2011; Lang et al., 2009; Lu et al., 2012). Im Fokus standen daher die Polymerblends PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40 mit einem hohen PVA-Anteil (vgl. Tabelle 2), wobei für letztere die erforderliche elektrische Leitfähigkeit nur geringfügig unterschritten wurde (vgl. Abschnitt 3.3.1). Weiterhin ist zusammensetzungsabhängig eine Schichtdickenabhängigkeit für dünne Schichten ($h_{tr} < 300$ nm) zu beobachten, deren Einfluss mit zunehmender Schichtdicke abnimmt. Sie kann mittels eines empirisch angepassten Potenzansatzes analytisch quantifiziert werden (vgl. Abschnitt 3.3.2). Mit Blick auf das aufgestellte Arbeitsprogramm wurde eine generelle Analyse durchgeführt, die auf Prozessseite wichtige Einflussparameter herausarbeitet. Die postulierte Mindestleitfähigkeit dient als Richtwert zur Einordnung der Ergebnisse und resultiert aus einer Abschätzung. Darüber hinaus sind zusätzliche Spezifikationen sensensensitiver Parameter notwendig, deren Bestimmung die Fertigung eines gesamten Sensors erfordert, was nicht Bestandteil dieser Arbeit ist.

Darauf aufbauend wurde das Zusammenspiel von Prozess und elektrischer Leitfähigkeit analysiert. Aufgrund der aus der Literatur belegten Sensitivität der Schichteigenschaften gegenüber Prozessparametern (Bagchi & Menon, 2006; Raja Ashok et al., 2015; Takano et al., 2012; Wengeler, 2014; Wengeler et al., 2013b; Worfolk et al., 2015) wurde erwartet, dass durch Variation der Beschichtungsparameter verschiedene Strömungsfelder sowie Scherkräfte induziert werden, welche Änderungen in der Schichtmorphologie bewirken und die Leitfähigkeit beeinflusst. Die Evaluierung erfolgte mittels Verwendung des diskontinuierlich betriebenen Schlitzgussverfahrens anhand des repräsentativen Modellstoffsystems PEDOT:PSS40-DMSO₃, wobei die Prozessparameter Geschwindigkeit, Spaltweite und Nassfilm- bzw. Trockenschichtdicke im Fokus standen. Durch die erläuterte Prozessführung (vgl. Abschnitt 3.2.2) kann bei äußerst

guter Prozesskontrolle ein simultaner Trocknungseinfluss ausgeschlossen werden. Entgegen den Erwartungen wird eine scherraten-induzierte Leitfähigkeitssteigerung, hervorgerufen durch alleinige Geschwindigkeitsvariation, nicht validiert. Mit einem Anstieg von 10 % ist bei konstanter Schichtdicke nur eine geringe Änderung festzustellen (vgl. Abschnitt 3.4.1). Ebenso ergibt die tiefergehende Betrachtung des Spalteinflusses keinen eindeutigen Trend hinsichtlich der elektrischen Leitfähigkeit oder der Oberflächentopographie der Schichten, sodass für schlitzguss-prozessierte Schichten eine Prozessunabhängigkeit hinsichtlich dieses Parameters postuliert werden kann (vgl. Abschnitt 3.4.2). Hingegen ist stoffsystemabhängig eine variable Sensitivität der elektrischen Leitfähigkeit gegenüber einer Schichtdickenvariation zu beobachten. Diese scheint sowohl mit zunehmender Leitfähigkeit des jeweils betrachteten Stoffsystems als auch hin zu dünnen Schichten anzusteigen (vgl. Abschnitt 3.4.3). Diese Ergebnisse sind nach aktuellem Wissenstands in der Literatur nicht dokumentiert. Auch wenn diese Resultate zunächst im Gegensatz zu Forschungsarbeiten aus der Literatur stehen, die einen Prozesseinfluss postulieren, wird im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich der Beschichtungsprozess analysiert und dabei jeder Parameter unabhängig voneinander variiert, während die restlichen konstant bleiben. In der Literatur werden häufig verfahrensbedingt bei Änderung eines Prozessparameters weitere unbeabsichtigt simultan variiert. So ist beispielsweise bei der Schleuderbeschichtung eine unabhängige Modifikation eines einzelnen Parameters nicht möglich, ohne dabei zugleich auch die Trocknungskinetik zu ändern. Auf diese Weise ergeben sich in der Literatur beobachteten Änderungen in Morphologie und Leitfähigkeit sehr wahrscheinlich durch Kombination und Überlagerung aus mehreren Größen.

Zur Analyse äußerer Einflüsse auf die elektrische Leitfähigkeit erfolgte eine Quantifizierung der durch die Polymerkompositmatrix absorbierten Wassermenge, welche in Bezug zur elektrischen Leitfähigkeit gesetzt wurde. Dazu wurden experimentell Sorptionsisothermen von Reinstoffen und Gemischen bestimmt und mittels des Flory-Huggins Ansatz erfolgreich beschrieben. Zugleich kann die Vorausberechnung der sorbierten Wassermenge gemäß dem von Kachel et al. (2013) vorgeschlagenen additiven Überlagerungsmodell validiert und auf weitere Zusammensetzungen der Polymerkompositsschichten übertragen werden. Die Wasseraffinität von PEDOT:PSS wird durch das Zumischen von PVA gesenkt, sodass auch der Einfluss der sorptionsbedingten Leitfähigkeitsänderung abnimmt.

4 Prozessierung von katalytisch aktiven Polymerkompositfilmen

Nach der Analyse des Einflusses der Prozessierung auf die Eigenschaften der Polymerkompositmatrix ohne Enzym erfolgt in diesem Kapitel die Evaluation der Schichteigenschaften mit Enzym. Ziel ist es, neben der Applikation homogener Schichten, die katalytische Funktionalität des Modellenzym FAD-GDH bei maximalem PEDOT:PSS-Gehalt zu erhalten. Grundvoraussetzung ist folglich die Prozessierung katalytisch aktiver Filme. Um einem Verlust der teuren Komponente (Enzym) vorzubeugen, steht die Enzymaktivität im Mittelpunkt, die im Kontext der Filmhomogenität diskutiert wird. In Anlehnung an die postulierten Hypothesen aus Abschnitt 1.3 werden insbesondere die während der Trocknung dominierenden Einflussfaktoren untersucht, um sie entsprechend bei der Prozessierung berücksichtigen zu können. Eine grundsätzliche Übertragbarkeit und Analyse der elektrischen Leitfähigkeit erfolgt zuletzt im ‚Proof of Concept‘.

4.1 Experimentelle Vorgehensweise

Im Zuge der Identifikation enzymespezifischer Stressfaktoren erfolgte eine physikalische Einbettung des Enzyms direkt aus der Flüssigphase in die Polymerkompositmatrix. Da FAD-GDH in Puffer gelöst der Beschichtungslösung aus PEDOT:PSS, PVA und Wasser zugesetzt wird (vgl. Abschnitt 2.1), handelt es sich im trockenen Film um ein quaternäres System aus Enzym, Salz, PEDOT:PSS und PVA, dessen optimale Zusammensetzung bestimmt werden muss. Bei Standardbeschichtungs- und -trocknungsbedingungen wurde dazu in Abhängigkeit der Zusammensetzung eine Charakterisierung der Schichten hinsichtlich ihrer Homogenität und Prozessierbarkeit, sowie der katalytischen Aktivität des eingebetteten Enzyms durchgeführt (vgl. Abschnitt 4.2).

Ausgewählt wurden neun verschiedene Filmkompositionen, sogenannte Testsysteme (TS), welche nach ihrem PEDOT:PSS-Gehalt im trockenen Film unterteilt sind: TS 1 - 4 besitzen 20 Gew.-% des leitfähigen Polymers, TS 5 - 7 weisen 30 Gew.-% und TS 8 - 9 40 Gew.-% an PEDOT:PSS auf. Die Einteilung bzw. Kategorisierung erfolgte aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse bezüglich Leitfähigkeit und Prozessierbarkeit (vgl. Kapitel 3). Für eine bessere Vergleichbarkeit

der Ergebnisse wurde der Feststoffgehalt konstant gehalten ($x_s = 1,9 - 2,2$ Gew.-%) und die Anteile der restlichen Komponenten im Film entsprechend der Kategorisierung variiert¹. Die Zusammensetzung der untersuchten Testsysteme ist in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: Zusammensetzung der neun untersuchten Testsysteme. Bereits veröffentlicht in Riegel et al. (2016).

TS	$x_s / \%$	Zusammensetzung des Films:			
		$x_{PEDOT:PSS} / \%$	$x_{PVA} / \%$	$x_{Enzym} / \%$	$x_{Salz} / \%$
TS 1	2,0		49	12	19
TS 2	2,0	20	17	15	48
TS 3	2,0		29	29	22
TS 4	2,2		6	28	46
TS 5	2,0		34	20	16
TS 6	2,0	30	26	11	33
TS 7	2,2		26	17	27
TS 8	2,2	40	47	5	8
TS 9	1,9		18	23	19

Basierend auf den Erkenntnissen der Optimierung der Filmzusammensetzung (vgl. Abschnitt 4.2) wurde TS 3 ausgewählt und der Einfluss der Herstellungsbedingungen auf Enzymaktivität und Filmhomogenität im Detail untersucht (vgl. Abschnitte 4.3 und 4.4). In Anlehnung an die Temperatur bedingte Auffaltung und Denaturierung des in Puffer gelösten Enzyms², ist auch bei der Trocknung potentiell ab einer Temperatur von 40 °C ein zunehmender Einfluss der Temperatur auf das in den Film eingebettete Enzym zu erwarten. Die dadurch möglicherweise bedingte Beeinträchtigung der katalytischen Funktionalität wurde daher im Zuge verschiedener Trocknungsszenarien in Kontext zur Schichtmorphologie gesetzt. So ist bspw. die thermische Belastungsdauer, während der das Enzym den hohen

¹ Die Zusammensetzung der Testsysteme ist nicht vollständig frei wählbar. Aufgrund der Herstellungsmethodik der Beschichtungslösung – Kombination aus wässrigen Stammlösungen (vgl. Abschnitt 2.1) – wird diese durch den Feststoffgehalt der einzelnen Stammlösungen bestimmt und limitiert. Vertiefende Erläuterungen zur Auswahl der Zusammensetzung der Testsysteme wurden in der studentischen Arbeit von V. Haas (2015), die im Rahmen dieser Arbeit betreut wurde, erarbeitet und sind bereits in *Engineering in Life Science* 16 (2016), 577 - 585 publiziert.

² Vergleiche Abbildung 2.2 und die daraus abgeleiteten Standardtrocknungsbedingungen in Abschnitt 2.2 sowie auch Abschnitt 1.2.1 für weiterführende Erläuterungen.

Temperaturen ausgesetzt ist (vgl. Abbildung 2.2), ein potentiell wichtiger Einflussfaktor, der untersucht wurde. Zugleich ist neben dem Einfluss der Temperatur, welche bei der Trocknung Kenngrößen wie bspw. Phasengleichgewicht, Viskosität oder Oberflächenspannung der Beschichtungslösung steuert, auch die Trocknungsgeschwindigkeit eine nicht zu unterschätzende Größe. Sie gibt den Zeitraum zur Strukturausbildung vor, bestimmt den Grad der Übersättigung, wie auch das Auftreten von Schleppströmen und die Mikrostrukturausbildung (vgl. Abschnitt 1.2.3). Aus diesem Grund können Funktionalität und Schichtmorphologie nicht unabhängig voneinander betrachtet werden.

Zur Überprüfung der Hypothese einer temperatur-induzierten Auffaltung des Enzyms während der Prozessierung erfolgte zuerst die Variation der Trocknungsgeschwindigkeit durch sukzessive Erhöhung der Trocknungstemperatur von 25 - 85 °C (vgl. Abschnitt 4.3). Hierzu wurden der Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) sowie die thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) konstant gehalten. Letztere bezeichnet die Dauer während der Prozessierung, in welcher die Filme auf der vorgeheizten Platte liegen und von oben dem temperierten Prallstrahlendüsenfeld des Comb-Nozzle[®]-Trockners ausgesetzt sind (vgl. experimenteller Aufbau in Abschnitt 2.2). Da diese deutlich größer als die abgeschätzte Trocknungsdauer ist, erfolgt nach Verstreichen der Trocknungszeit für die restliche Zeit eine thermische Nachbehandlung der Filme³.

Im Anschluss daran wurden verschiedene Trocknungsszenarien untersucht, um eine möglichst breite Varianz an eingestellten Trocknungsparametern zu erfassen, aber auch um gezielt den Einfluss dominierender Trocknungsgrößen aufzuschlüsseln (vgl. Abschnitt 4.4). Dazu wurde zum einen die thermische Belastungszeit bei 85 °C verdoppelt ($t = 10 \text{ min}$ und $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$), zum anderen die Trocknungsgeschwindigkeit durch Beschleunigung des Stoffübergangskoeffizienten mittels Erhöhung des Wärmübergangskoeffizienten auf $\alpha_g = 90 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ bei 85 °C gesteigert. In einer weiteren Versuchsreihe erfolgte durch Abdeckung des Films nach der Beschichtung die Realisierung einer langsamen und schonenden Trocknung bei Raumtemperatur. Der Wärmeübergangskoeffizient wurde mit

³ Eine Abschätzung der Trocknungszeit sowie der daraus resultierenden thermischen Nachbehandlungszeit für eine rein gasseitig kontrollierte und stationäre Trocknung wird im Anhang in Abschnitt M erläutert; die Ergebnisse sind in Tabelle A.17 für die untersuchten Trocknungsszenarien dargestellt und beinhalten eine vollständige Auflistung der Trocknungsparameter, inklusive der berechneten Filmtemperatur unter Berücksichtigung des über die Heizplatte von unten zugeführten Wärmestroms \dot{Q}_{unten} sowie der daraus bestimmten Trocknungsrate.

$\alpha_g = 5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ abgeschätzt. Als Vergleichsgröße wird die Trocknungsrate verwendet (vgl. dazu Fußnote 3). Darauf aufbauend erfolgte eine Beurteilung der Lagerungsbedingungen bzw. Langzeitstabilität der hergestellten Filme im Vergleich zum in Lösung befindlichen Enzym. Ziel der untersuchten Trocknungsszenarien ist die Beleuchtung des Wechselspiels zwischen katalytischer Funktionalität und Schichtmorphologie, welche durch die Trocknungskinetik gesteuert wird (vgl. Abschnitt 1.2.3).

Um eine Beeinträchtigung der elektrischen Leitfähigkeit durch Anwesenheit des Enzyms zu prüfen und eine grundsätzliche Übertragbarkeit zu gewährleisten, wurde in einer vergleichenden Gegenüberstellung zum Schluss direkt die elektrische Leitfähigkeit im Film geprüft (vgl. Abschnitt 4.5). Zur Sicherstellung statistisch aussagekräftiger Ergebnisse wurden pro Parametersatz fünf bis sechs Filme appliziert und daraus die drei bis vier besten Resultate für die Filmanalyse verwendet.

4.2 Optimierung der Filmzusammensetzung

Mit Blick auf das Ziel, homogene Schichten zu prozessieren, die ebenfalls über eine hohe enzymatische Aktivität verfügen, erfolgte eine Analyse in Abhängigkeit der gewählten Filmzusammensetzung. Hierzu muss weiterhin eine gute Prozessierbarkeit und Homogenität bei gleichzeitig hoher Enzymaktivität gewährleistet werden. Dies sind die zentralen Kenngrößen, auf welche im Folgenden genauer eingegangen wird.

4.2.1 Homogenität und Prozessierbarkeit⁴

Die Untersuchung von Homogenität und Oberflächenstruktur der Filme erfolgte zuerst anhand einer optischen Beurteilung mit der Aufnahme einer Photographie sowie zur detaillierteren Analyse mittels Lichtmikroskop- (LM), Elektronenmikroskop- (REM) und Rasterkraftelektronenmikroskop- (AFM) Aufnahmen. So sind beispielsweise für TS 4 aus dem Puffersalz entstandene Salzkristalle sowie PEDOT:PSS-Agglomerate bereits mit dem Auge zu erkennen (vgl. Abbildung A.25

⁴ Die Ergebnisse wurden in Auszügen im Rahmen der studentischen Arbeit von V. Haas (2015), die im Rahmen dieser Arbeit betreut wurde, erarbeitet und sind bereits in *Engineering in Life Science* 16 (2016), 577 - 585 publiziert.

oben links im Anhang). REM-Aufnahmen dieser Filme zeigen eine sehr inhomogene und raue Filmoberfläche (vgl. Abbildung 4.1 (oben)). Zurückzuführen ist dies auf den hohen Salzgehalt von TS 4 (46 Gew.-%) und den mit 6 Gew.-% geringsten PVA-Gehalt, wodurch die Ausbildung eines geschlossenen und homogenen Films erschwert wird, wie an den einzelnen Salzkristallen am Rand des Films in der vergrößerten Aufnahme (rechts) deutlich zu sehen ist⁵. Mit einer Größe von mehreren 100 μm sind die Puffersalzkristalle auch auf Lichtmikroskopaufnahmen klar ausgeprägt (siehe Abbildung A.24 im Anhang).

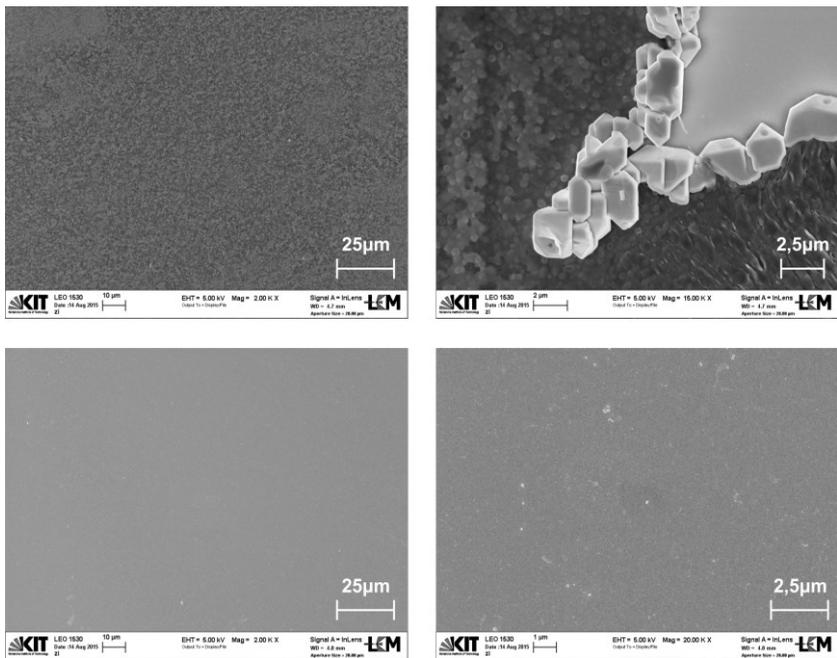


Abbildung 4.1: REM-Aufnahmen von TS 4- (oben) und TS 8-Filmen (unten) bei 2.000-facher (links) sowie 15.000- bzw. 20.000-facher Vergrößerung (rechts).

Darüber hinaus lassen sich auf der Filmoberfläche der REM-Aufnahme sphärisch ausgeprägte Strukturen beobachten, welche insbesondere beim direkten Vergleich in Abbildung 4.1 auf eine heterogene Phase hinweisen: In den oberen beiden Auf-

⁵ Der obere rechte Teil der Aufnahme zeigt das Glassubstrat.

nahmen ist eine Mischphase zu sehen, erkennbar an den unterschiedlichen Grautönen; in den unteren hingegen bei gleicher Vergrößerung eine homogene und gleichmäßige Oberfläche ohne Salzkristallen oder Agglomeraten. Letztere Aufnahmen stellen die Topographie von Filmen des TS 8 dar, welches mit 8 Gew.-% den geringsten Salz- und mit 87 Gew.-% insgesamt den maximalen Polymergehalt besitzt (40 Gew.-% PEDOT:PSS und 47 Gew.-% PVA). Wie erwartet, trägt die Zugabe von PVA zur Bildung homogener und flexibler Filme mit hoher Duktilität und guter Haftkraft bei (Chen et al., 2011) und begünstigt so eine gute Prozessierbarkeit der Beschichtungslösungen.

Die Beobachtungen werden von den im Anhang ergänzten AFM-Aufnahmen bestätigt. So trägt die Salzkristallbildung der TS 4-Filme (Abbildung A.26 oben links im Anhang) mit einer quadratischen Rauheit von $R_q = 205 \pm 1$ nm zur Inhomogenität bei und ist bei der Prozessierung funktioneller Schichten unerwünscht (vgl. Abschnitt 1.2.3). Ebenso ist die heterogene Phase in Form der kugelförmigen Strukturen zu erkennen (oben rechts). TS 8 hingegen weist auch in den AFM-Aufnahmen eine homogene Oberfläche auf, deren quadratische Rauheit mit $R_q = 15 \pm 5$ nm fast um den Faktor 15 geringer ist.⁶

Wie Abbildung 4.2 zeigt, lassen sich für TS 3, welches aus in etwa gleichen Anteilen jeder Komponente besteht (höchster Enzymgehalt mit 29 Gew.-%, 22 Gew.-% Salz sowie 29 Gew.-% PVA und 20 Gew.-% PEDOT:PSS), keine Puffersalzkristalle oder PEDOT:PSS-Agglomerate auf der Filmoberfläche erkennen, weder direkt mit dem Auge (Fotographie oben links), noch auf Lichtmikroskop (oben rechts) oder REM-Aufnahmen (unten). Mit einer Rauheit von $R_q = 23 \pm 0,3$ nm bestätigen die AFM-Aufnahmen zusammen mit den weiteren Mikroskopieaufnahmen die Bildung homogener und ebener Filme (vgl. Abbildung A.26 im Anhang).

Dies belegt die wichtige Rolle der Puffersalz- und PVA-Anteile im Film. Insbesondere das Verhältnis Salz-zu-PVA steuert das Auftreten von Salzkristallen oder Agglomeraten auf der Oberfläche und somit die Ausbildung eines homogenen Films. Ein hoher Salzgehalt führt zu inhomogenen Filmen mit rauen Oberflächen, ein großer PVA-Anteil fördert die Prozessierung homogener, einheitlicher und funktioneller Filme. Aus den Zusammensetzungen der Testsysteme kann durch

⁶ In Tabelle A.19 im Anhang sind die oberflächencharakteristischen Kenngrößen aller untersuchten Stoffsysteme aufgelistet, welche aus zwei $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ Aufnahmen an unterschiedlichen Stellen auf der Filmoberfläche bestimmt wurden. Die Fehlerbalken entsprechen der Mittelwertabweichung.

Vergleich der resultierenden Verhältnisse $x_{s,Salz}/x_{s,PVA}$ die Aussage getroffen werden, dass Salzkristalle oberhalb eines Zahlenwerts von 0,8 zu beobachten sind (vgl. Tabelle A.18 im Anhang)⁷.

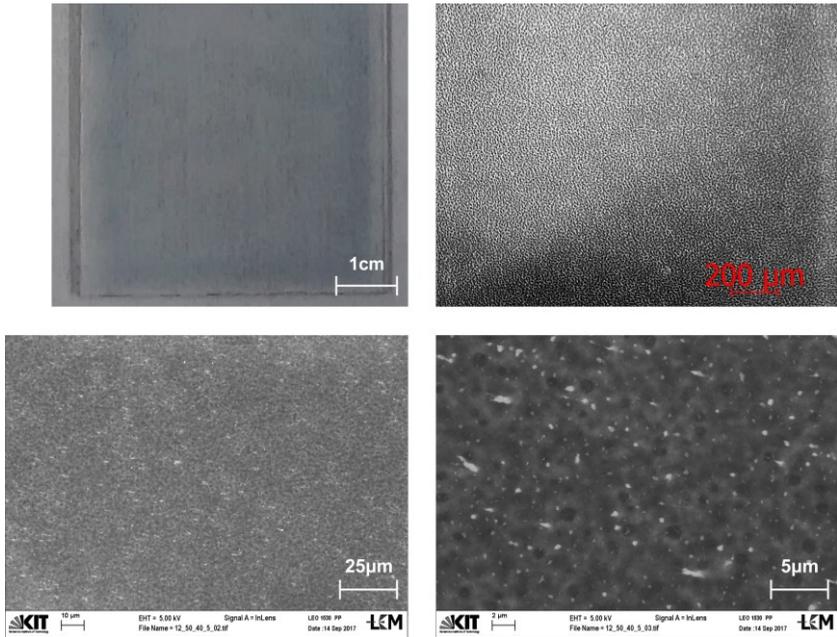


Abbildung 4.2: Fotografie (oben links), Lichtmikroskopaufnahme (oben rechts) sowie zwei REM-Aufnahmen bei 2.000-facher (unten links) sowie 10.000-facher Vergrößerung (unten rechts) von TS 3-Filmen.

4.2.2 Katalytische Aktivität der hergestellten Filme⁸

Nach Analyse der Prozessierbarkeit in Abhängigkeit der Filmzusammensetzung erfolgt nun im Rahmen des diskutierten Arbeitsprogramms (vgl. Abschnitt 1.3) die

⁷ Die Schichtdicke der einzelnen Testsysteme beträgt im Mittel $695 \text{ nm} \pm 79 \text{ nm}$ und ist in Abbildung A.23 im Anhang dargestellt. Als Fehlerbalken wurde die Mittelwertabweichung aufgetragen (vgl. Abschnitt 2.3.1).

⁸ Im Rahmen wissenschaftlichen Fortschritts und stetiger Optimierung wurde die Auswerteroutine angepasst (vgl. Abschnitt 2.6.3) und die Experimente reproduziert. Die neuen Erkenntnisse und Ergebnisse sind bereits in *Engineering in Life Science* 19 (2019), 741 - 748 publiziert und werden ebd. ausführlich diskutiert.

Evaluierung der katalytischen Funktionalität. Zentrale Größe ist hierbei die Enzymaktivität, welche gemäß Gleichung (2.5) mittels Filmanalyse bestimmt wird. Diese Methode, die noch keinen voll funktionsfähigen Sensor voraussetzt, basiert auf dem BCA-Assay und dem entwickelten Aktivität-Assay und wird im Detail in Abschnitt 2.6.3 erläutert.

In Abbildung 4.3 ist die ermittelte Restaktivität des immobilisierten Enzyms in Abhängigkeit des pH-Werts der Beschichtungslösung dargestellt. Die Testsysteme sind nach ihrem PEDOT:PSS-Gehalt im Film unterteilt und mit den in Tabelle 5 eingeführten Symbolen gekennzeichnet. Für jedes Testsystem wurden mindestens drei Filme hergestellt, deren Enzymaktivität zur Verdeutlichung der Reproduzierbarkeit als einzelne Datenpunkte abgebildet ist. Die Fehlerbalken beschreiben die maximale Abweichung der Absorbanz, die aufgrund der Messunsicherheit bei der Enzymkonzentrationsbestimmung zu erwarten ist (vgl. Abschnitt 2.6.3 sowie Abbildung 2.8).

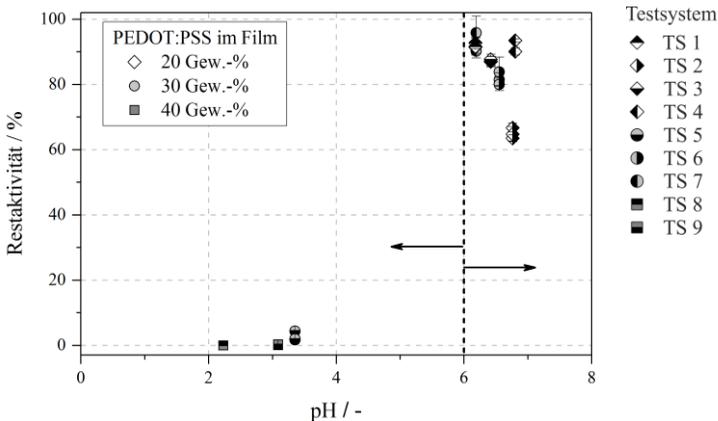


Abbildung 4.3: pH-Wert abhängige Restaktivität des immobilisierten Enzyms für die untersuchten Testsysteme. Unterteilung erfolgt nach dem PEDOT:PSS-Anteil im Film (Rauten: 20 Gew.-%, Kreise: 30 Gew.-%, Quadrate: 40 Gew.-%; Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5). Bereits veröffentlicht in Walz et al. (2019).

Eine Inaktivierung des Enzyms in saurem Milieu (pH 2 - 5) (vgl. Abschnitt 1.2.1) ist für TS 5/8/9 deutlich zu erkennen. Hierbei steuert das Verhältnis von Puffersalz und PEDOT:PSS maßgeblich den pH-Wert der Beschichtungslösung. Mit einem pH-Wert von 2,0 der PH1000-Stammlösung vergrößert ein höherer Salzanteil die Pufferkapazität der Beschichtungslösung und reduziert so den Einfluss des sauren

pH-Werts des leitfähigen Polymers. Eine durchgeführte Titration legt mit einem Faktor von 1,02 (PEDOT:PSS zu Salz) ein in etwa gleiches Verhältnis beider Komponenten nahe, um einen pH-Wert von 6 zu erzielen (vgl. Abbildung A.39 im Anhang). Oberhalb dieses Schwellenwertes ist keine pH-Wert Abhängigkeit für die untersuchten Testsysteme zu beobachten. Folglich wird das Kriterium $\text{pH} > 6$ als notwendige Bedingung eingeführt, die einen Grenzwert beschreibt, unterhalb dessen sich das Enzym bereits in Lösung auffaltet und degradiert, bevor die Beschichtung stattfindet.

Für die Testsysteme mit einem $\text{pH} > 6$ – dies sind alle Testsysteme bis auf TS 5/8/9 – ist ein interessanter Trend zu beobachten: Mit steigendem PVA-Anteil im Film steigt die Enzymaktivität. Dazu ist in Abbildung 4.4 die Restaktivität über dem PVA-Massenbruch im Film aufgetragen. Filme mit guten Filmbildungseigenschaften sind zusätzlich mit einer grauen Raute hervorgehoben. TS 5/8/9, die die notwendige Bedingung nicht erfüllen, sind leicht ausgegraut.

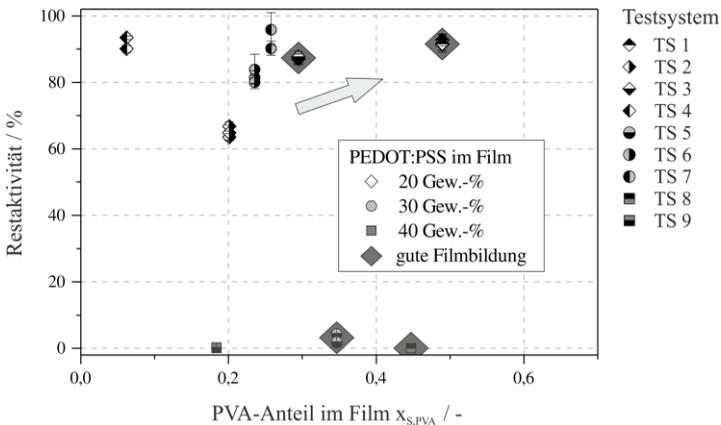


Abbildung 4.4: Restaktivität des immobilisierten Enzyms für die untersuchten Testsysteme als Funktion des PVA-Massenanteils im Film. Unterteilung erfolgt nach dem PEDOT:PSS-Anteil im Film (Raute: 20 Gew.-%, Kreise: 30 Gew.-%, Quadrate: 40 Gew.-%; Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5). Bereits veröffentlicht in Walz et al. (2019).

Auch bezüglich der katalytischen Funktionalität spielt der Filmbildner PVA eine wichtige Rolle. Die Enzymaktivität steigt mit zunehmendem PVA-Gehalt von TS 2 (Raute; rechte Hälfte gefüllt) zu TS 6 (Kreise; rechte Hälfte gefüllt) zu TS 3 (Raute; untere Hälfte gefüllt) und schließlich TS 1 (Raute; obere Hälfte gefüllt)

mit der höchsten katalytischen Aktivität. TS 4 (Raute; linke Hälfte gefüllt) und TS 7 (Kreise; linke Hälfte gefüllt) scheinen nur auf den ersten Blick eine Ausnahme zu bilden, was im Nachfolgenden diskutiert wird.

TS 4 (Raute; linke Hälfte gefüllt) verfügt über eine hohe Enzymaktivität, obwohl der PVA-Gehalt mit 6 Gew.-% relativ gering ist. Zusammen mit 20 Gew.-% PEDOT:PSS in Film besitzt dieses Modellstoffsystem den geringsten Polymeranteil aller untersuchten Testsysteme. Wie bereits im vorherigen Abschnitt 4.2.1 diskutiert, bildet dieses Testsystem keinen Polymerfilm aus. Die sehr inhomogene Filmoberfläche ist von Puffersalzkrystallen und PEDOT:PSS-Agglomeraten durchzogen (s. Aufnahmen in Abbildung A.25 im Anhang). In Anbetracht des ersten geforderten Kriteriums für eine ausreichende Filmbildung ($x_{s,Salz}/x_{s,PVA} < 0,8$) erfüllt TS 4 mit einem Wert von 7,4 diese Anforderung nicht. Bei diesem Testsystem ist keine Polymermatrix vorhanden. Mit Enzym und Puffersalz als Hauptkomponenten bietet dieses System eine Umgebung, die dem natürlichen und stabilen Umfeld eines Enzyms sehr nahekommt, worauf sich schlussendlich die hohe enzymatische Aktivität begründet.

Bei einem Vergleich von TS 4 mit TS 2 (Raute; rechte Hälfte gefüllt) ist eine Abnahme der Restaktivität von 91,8 % auf 65 % zu beobachten. Beide Systeme besitzen den gleichen pH-Wert, sodass der PEDOT:PSS-Gehalt sowie der Salzanteil der jeweiligen Systeme mit 20 Gew.-% bzw. 46 Gew.-% identisch ist. Die Unterschiede ergeben sich für Enzym- und PVA-Gehalt mit $x_{s,Enzym} = 28$ Gew.-% für TS 4 bzw. 14 Gew.-% für TS 2 sowie $x_{s,PVA} = 6$ Gew.-% für TS 4 bzw. 20 Gew.-% für TS 2. Die Steigerung des PVA-Anteils führt zu einer Reduktion des Verhältnisses $x_{s,Salz}/x_{s,PVA}$, welches mit 2,3 oberhalb des erforderlichen Grenzwerts liegt, sodass keine homogenen und einheitlichen Filme hergestellt werden können (s. zusätzlich Aufnahmen in Abbildung A.25 im Anhang). Insgesamt ist der PVA-Gehalt im Film zu gering, um das Enzym in der Polymermatrix ausreichend gegen äußere Einflüsse zu schützen. Wird folglich der Enzymgehalt ohne ausreichende Steigerung des PVA-Anteils reduziert, reicht die Stabilisierung des Enzyms durch sein natürliches Umfeld nicht aus und zugleich ist kein hinreichender Schutz durch eine intakte Polymerkompositmatrix gewährleistet.

Mit Blick auf TS 6 (Kreise, rechte Hälfte gefüllt) und TS 3 (Raute, untere Hälfte gefüllt) steigt die Restaktivität von 82 % (TS 6) auf 87 % (TS 3). Beide Systeme besitzen mit 1,2 das gleiche PEDOT:PSS-zu-Puffersalz-Verhältnis und daher einen ähnlichen pH-Wert (6,6 für TS 6 und 6,4 für TS 3). Mit einem PEDOT:PSS-

Gehalt von 30 Gew.-% von TS 6 bzw. 20 Gew.-% für TS 3 unterscheiden sich dennoch die absoluten Salzanteile im Film (TS 6: 35 Gew.-% sowie TS 3: 23 Gew.-%). Bei einem Enzymgehalt von 28 Gew.-% für TS 3 und 11 Gew.-% für TS 6 leitet sich daraus ein höherer PVA-Gehalt von 29 Gew.-% für TS 3 im Vergleich zu 24 Gew.-% für TS 6 ab. Obwohl TS 3 gegenüber TS 6 nur 5 Gew.-% mehr PVA besitzt und TS 6 mit 54 Gew.-% (TS 3: $x_{s,PVA+PEDOT:PSS} = 0,49$) insgesamt einen höheren Polymeranteil aufweist, führen die Unterschiede bezüglich der Salz- und PVA-Mengen (1. Kriterium) zu homogenen und gut prozessierbaren Filmen für TS 3 (vgl. Diskussion im vorherigen Abschnitt 4.2.1), hingegen zu rauen und unebenen Filmen mit vielen Salzkristallen für TS 6 (vgl. AFM-Aufnahmen in Abbildung A.27 im Anhang), was in einer geringeren Enzymaktivität für TS 6 resultiert. In diesem Vergleich kommt die Bedeutung von PVA als Filmbildner und Immobilisierungsmatrix für das betrachtete Modellstoffsystem deutlich zum Vorschein und betont zugleich dessen Stellenwert, welchen auch die Literatur bestätigt (Chen et al., 2011; Lu et al., 2012). Ein hoher PVA-Anteil verbessert den Erfolg der physikalischen Einbettung in einen funktionellen Polymerkompositfilm und trägt zugleich zu einem wirkungsvolleren Schutz gegenüber äußeren Einflüssen bei. In diesem Zusammenhang dient das Puffersalz der passenden pH-Werteinstellung.

Diese Beobachtungen werden ebenso für TS 1 (Raute, obere Hälfte gefüllt) bestätigt. Mit 92 % besitzt das System nicht nur die höchste katalytische Restaktivität innerhalb der 20 Gew.-% PEDOT:PSS Kategorie (TS 1 - 4), sondern auch den höchsten PVA-Gehalt (49 Gew.-%), sodass mit dieser Zusammensetzung homogene und einheitliche Filme bei zugleich geringer Inaktivierung prozessiert werden können (vgl. AFM-Aufnahmen in Abbildung A.28 sowie Tabelle A.19 im Anhang). Innerhalb der 20 Gew.-% Unterteilung (TS 1 - 4) hat dieses System den geringsten Enzym- (12 Gew.-%) und Salzgehalt (19 Gew.-%). Mit dem geringsten pH-Wert von 6,2 heben Filme dieser Zusammensetzung das zweite Kriterium $\text{pH} > 6$ als notwendige aber nicht hinreichende Bedingung hervor.

Im direkten Vergleich mit TS 3 zeigen sich Unterschiede im Enzym- und PVA-Gehalt beider Systeme. Sie verfügen beide über eine vergleichbar gute Prozessierbarkeit, eine ausgezeichnete Homogenität und ebenso hohe Enzymaktivität und erfüllen somit beide die geforderten Kriterien. Für TS 1 bedeutet die Reduktion des Enzymgehalts im Zuge der Steigerung des PVA-Gehalts keine Einschränkung bezüglich der katalytischen Aktivität und zeigt, dass keine großen Enzymmengen zum Erhalt der katalytischen Funktionalität erforderlich sind. Auch für TS 3 ist

festzuhalten, dass das Enzym in einer intakten und homogenen Polymermatrix eingebettet ist und gegen äußere, während der Beschichtung und Trocknung auftretende Einflüsse wirksam geschützt wird. Mit Blick auf die Herstellung eines voll funktionsfähigen Sensors besteht in diesem Zusammenhang hinsichtlich der anzustrebenden Menge an Enzym im Film Klärungsbedarf. Diese richtet sich nach der Performanz des vorgestellten Modellstoffsystems im finalen Biosensor und ist von einer Vielzahl an Parametern abhängig. Zusätzliche Größen wie Schichtdicke, Diffusions- oder Reaktionskinetik kommen hier zum Tragen und müssen für jede Biosensorarchitektur und -konfiguration individuell bestimmt werden (Wang et al., 1998; Wang et al., 1996; Xu et al., 2006). Die vorgestellten Ergebnisse beschreiben den Enzymstatus im immobilisierten Zustand, während es von den restlichen Komponenten umgeben ist, und geben Auskunft über eine grundsätzliche Eignung der verwendeten Formulierungen mit Blick auf Enzymaktivität und Homogenität. Für weitergehende Aussagen besteht im Rahmen künftiger Untersuchungen weiterer Forschungsbedarf.

Mit Bezug auf die erwähnten Ausnahmen in Abbildung 4.4 (s. Seite 97f.) entspricht TS 7 (Kreise, linke Hälfte gefüllt) dem generellen beobachteten Trend der Zunahme der Enzymaktivität mit steigendem PVA-Gehalt. Mit einer aus allen Filmen gemittelten Restaktivität von 93 % besitzt dieses Stoffsystem insgesamt die höchste katalytische Aktivität aller Systeme. Analog zu den vorherigen Vergleichen (TS 2 mit TS 4 sowie TS 3 mit TS 6) haben auch die Beschichtungslösungen von TS 7 und TS 1 den gleichen pH-Wert (6,2) aufgrund des gleichen PEDOT:PSS-zu-Salz-Verhältnisses von 0,9⁹. Das Salz/PVA-Verhältnis beträgt 1,1 für TS 7 im Vergleich zu 0,4 für TS 1, da TS 7 mit 30 Gew.-% PEDOT:PSS im Film einen höheren Salzanteil vorzuweisen hat. Aus diesem Grund sind mit dem geforderten Kriterium einer ausreichenden Filmbildung von $x_{s,Salz}/x_{s,PVA} > 0,8$ (vgl. Abschnitt 4.2.1) auf den TS 7-Filmen Agglomerate und Partikel zu beobachten (vgl. AFM-Aufnahmen in Abbildung A.29 im Anhang). Dennoch kann auch in diesem System ein Schutz für das Enzym gewährleistet werden, wie die gemessene Enzymaktivität belegt. Bei näherer Betrachtung der Zahlenwerte sind jedoch deutliche Schwankungen festzustellen: Die Enzymaktivität der hergestellten Filme variiert zwischen 90 - 96 % (vgl. alle Datenpunkte von TS 7 in Abbildung 4.4); zugleich weisen die einzelnen Messpunkte für dieses Testsystem mit 2,2 - 5,1 % im

⁹ Mit 30 Gew.-% PEDOT:PSS besitzt TS 7 27 Gew.-% Salz (sowie 17 Gew.-% Enzym). Da TS 1 über 20 Gew.-% PEDOT:PSS verfügt, beträgt die Gesamtmenge an Salz für dieses System 19 Gew.-%.

Vergleich mit den übrigen Testsystemen relativ lange Fehlerbalken auf¹⁰. Die größere Streuung der drei Datenpunkte untereinander und die stärker ausgeprägten Fehlerbalken der einzelnen Datenpunkte¹¹ für TS 7, insbesondere im Vergleich mit TS 1, lassen vermuten, dass kein vollständiger und gleichbleibender Schutz kontinuierlich über die gesamte Schichtfläche vorhanden ist, wodurch die beobachteten Schwankungen verursacht werden. Die für TS 7 ermittelte quadratische Oberflächenrauheit von $R_q = 350 \text{ nm} \pm 227 \text{ nm}$ ist im Vergleich mit den restlichen Testsystemen die am deutlich stärksten ausgeprägte; die Schwankung von 227 nm belegt die erläuterte Inhomogenität der Probe und unterstreicht die Beobachtungen (vgl. Tabelle A.19 im Anhang). Zusammengefasst, in Filmen von TS 1 und TS 7 wird das Enzym ausreichend geschützt, jedoch geht der geringere PVA-Gehalt in TS 7 zu Kosten der Filmqualität. Dies führt zu Ergebnissen mit verminderter Wiederholgenauigkeit (längere Fehlerbalken) und reduzierter Vergleichspräzision (größere Streuung der Datenpunkte). Daher erfüllt TS 7 nicht die geforderten Kriterien und ist zur Prozessierung ungeeignet.

Abschließend ist festzuhalten, dass eine enge Koppelung zwischen Prozessierbarkeit, der resultierenden Filmqualität sowie der katalytischen Restaktivität des Enzyms in Abhängigkeit der Zusammensetzung des Films besteht. Die Herstellung homogener Filme ohne Partikel oder Salzkristalle ist ein zwingend erforderliches Kriterium, um konsistente, reproduzierbare und zuverlässige Resultate bezüglich des Fertigungsschritts als auch der katalytischen Funktionalität zu gewährleisten. PVA zeigt sich als Schlüsselkomponente: Als bekannter Filmformer trägt es zur Bildung homogener Polymerkompositfilme bei und bietet dadurch dem Enzym zugleich Schutz gegen äußere Einflüsse bei der Prozessierung. Damit gliedern sich die Ergebnisse für dieses Modellstoffsystem in die Berichte aus der Literatur über PVA als geeignete Immobilisierungsmatrix auch für Enzyme ein (Doretti et al.,

¹⁰ Die Fehlerbalken der anderen Testsysteme sind deutlich kleiner als 2,7 %. Nur TS 6 bildet eine Ausnahme.

¹¹ Für jedes Testsystem wurden mindestens drei Filme hergestellt, deren Enzymaktivität als einzelne Datenpunkte abgebildet ist. Die dreifache Anfertigung der Filme charakterisiert die Vergleichbarkeit (engl. reproducibility) der Filme und beschreibt somit die Reproduzierbarkeit des gesamten Herstellungsprozesses der Schichten. Sie kann anhand der Streuung bzw. der Schwankungsbreite aller dargestellten Messpunkte für das betrachtete Testsystem (identisches Symbol) abgelesen werden. Die aufgetragenen Fehlerbalken jedes einzelnen Messpunktes hingegen geben Auskunft über die Wiederholgenauigkeit (engl. repeatability) des zweiten Schritts der Filmanalyse bei der spektrophotometrischen Analyse (vgl. Abbildung 2.7 sowie Erläuterungen zur Fehlerbalkenbestimmung in Abschnitt 2.6.3).

1997; Guascito et al., 2014; Guascito et al., 2011). Wesentliches Ziel sollte daher die Maximierung des PVA-Gehalts sein, während zugleich die Verhältnisse Salz-zu-PVA wie auch PEDOT:PSS-zu-Salz nicht vernachlässigt werden dürfen. Durch ersteres wird die Filmqualität gesteuert, wobei bei konstant gehaltenem Feststoffgehalt ein leicht höherer Anteil an PVA erforderlich ist. Letzteres kontrolliert den pH-Wert der Beschichtungslösung, welcher oberhalb von 6 liegen sollte. PEDOT:PSS, welches zur Gewährleistung einer ausreichenden Leitfähigkeit der Polymermatrix benötigt wird (vgl. Kapitel 3), besitzt einen pH-Wert von 2,0, sodass, basierend auf Titrationsexperimenten (vgl. Abbildung A.39 im Anhang), Salz und PEDOT:PSS in gleichen Teilen vorhanden sein sollten.

In Anbetracht all dieser Kriterien manifestieren sich bei der finalen Wahl der geeigneten Zusammensetzung TS 1 und TS 3 als vielversprechende Kandidaten, die die geforderten Kriterien, gute Prozessierbarkeit und hohe Enzymaktivität, erfüllen. TS 1 verfügt im Vergleich zu TS 3 über den größeren PVA-Anteil, TS 3 hingegen über eine höhere Menge an Enzym im Film. Wie bereits erwähnt, ist die anzustrebende Menge an Enzym eine sensorspezifische Größe, deren Bestimmung die Fertigung eines gesamten Sensors erfordert. Der Bau ist nicht Teil dieser Arbeit, könnte aber im Rahmen größerer Forschungs- und Industrieverbünde in Zukunft umgesetzt werden. Zugleich zeigen die Ergebnisse, dass eine Überprüfung des Modellstoffsystems und die Beurteilung der Herausforderungen im Zusammenhang mit Beschichtung und Trocknung (vgl. nächster Abschnitt) auch ohne den Bau eines gesamten Sensors erfolgen können: Denn mittels der entwickelten Methode, der Filmanalyse, ist eine sofortige Evaluierung der Ergebnisse sowie zeitnahe Umsetzung der gewonnenen Erkenntnisse, z. B. bei der Prozessierung und Rezepturoptimierung, möglich, ohne dass eine zeit- und kostenintensive Validierung des Sensorsetups vorgenommen werden muss. Mit Blick auf die Analyse des Einflusses der Herstellungsbedingungen in den nächsten Abschnitten 4.3 und 4.4 ist für aussagekräftige und zuverlässige Ergebnisse eine größere Menge an Enzym von Vorteil, um eine höhere Sensitivität gegenüber möglichen Einflussfaktoren zu gewährleisten (Chen & Dong, 2003; Li & Lin, 2007; Wang et al., 1998; Wang et al., 1996). Daher wurde für die nachfolgenden Untersuchungen Filme mit einer Zusammensetzung nach TS 3 ausgewählt. Eine spätere Reduktion der teuren Komponente und folglich der gesamten Kosten ist weiterhin möglich.

4.3 Einfluss der Trocknungs- bzw. Prozesstemperatur¹²

Vor dem Hintergrund der Wahrung der katalytischen Integrität erfolgt nun nach Prüfung des Einflusses der Zusammensetzung auf Prozessierbarkeit und katalytische Aktivität eine Evaluation der Herausforderungen, welche bei der Prozessierung selbst zu beachten sind und wie sie sich auf die zentralen Kenngrößen, Funktionalität und Filmhomogenität, auswirken. Aufgrund der engen Korrelation zwischen Trocknungskinetik und der sich ausbildenden Schichtmorphologie, deren Einfluss auf die Funktionalität es zu beleuchten gilt, wurde die Restaktivität des in den Film eingebetteten Enzyms analysiert und in Kontext zur Filmtopographie gesetzt. Hierzu wurden katalytisch aktive Polymerkompositfilme konstanter Zusammensetzung gemäß TS 3 (vgl. Tabelle 5) bei unterschiedlichen Trocknungstemperaturen hergestellt und charakterisiert¹³. Eine Bewertung der Filmtopographie erfolgte qualitativ anhand REM- und AFM-Aufnahmen, für eine quantitative Beurteilung wurden die charakteristischen Rauheitskennwerte aus den AFM-Ausnahmen (vgl. Abschnitt 2.3.2) abgeleitet, die Filmanalyse (vgl. Abschnitt 2.6.3) wurde für die Evaluation der Restaktivität herangezogen.

4.3.1 Enzymaktivität

In Abbildung 4.5 ist der Verlauf der Restaktivität¹⁴ bei sukzessiver Steigerung der Trocknungstemperatur von 25 °C auf 85 °C, konstanter thermischer Belastungszeit und konstantem Wärmeübergangskoeffizienten ($t = 5 \text{ min}$; $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) gezeigt (hellgraue Rauten). Es ist zu beachten, dass die thermische Belastungszeit die gesamte Dauer bezeichnet, während der das Enzym den hohen Temperaturen

¹² Die Untersuchungen zum Einfluss der Herstellungsbedingungen wurde in Auszügen in der Bachelorarbeit von K. Schmitt (2017) erarbeitet, die im Rahmen dieser Arbeit betreut wurde.

¹³ Eine Auflistung der untersuchten Trocknungsszenarien ist im Anhang in Tabelle A.17 zu finden. Diese beinhaltet die berechnete Filmtemperatur unter Berücksichtigung des über die Heizplatte von unten zugeführten Wärmestroms \dot{Q}_{unten} sowie die daraus bestimmte Trocknungsrate.

¹⁴ Die Bestimmung der Restaktivität erfolgte unter Berücksichtigung der Referenzfilme in Form des korrigierten Blindwertes (vgl. Abschnitt 2.6.3). Eine potentielle Temperaturabhängigkeit der eingeführten Referenzproben wurde im Rahmen der studentischen Arbeit von K. Schmitt (2017) unter meiner Anleitung untersucht und kann ausgeschlossen werden, wie die im Anhang dargestellten Ergebnisse zeigen (vgl. Abschnitt Q.2).

exponiert ist und welche deutlich größer als die theoretisch abgeschätzte Trocknungsdauer ist. Somit erfolgte nach vollständiger Trocknung eine thermische Nachbehandlung der Filme (vgl. Abschnitt 4.1). Analog zu Abschnitt 4.2.2 wurden drei bis vier Filme pro Temperatur analysiert und deren Enzymaktivität zur Verdeutlichung der Reproduzierbarkeit als einzelne Datenpunkte abgebildet. Die Fehlerbalken berücksichtigen die maximale Abweichung aufgrund der Messunsicherheit bei der Enzymkonzentrationsbestimmung (vgl. Abschnitt 2.6.3 sowie Abbildung 2.8). Zum Vergleich sind in Abbildung 4.5 die Ergebnisse des in Puffer gelösten Enzyms bei 5-minütiger Inkubationszeit in Abhängigkeit der Inkubationstemperatur aufgetragen (weiße Kreise).

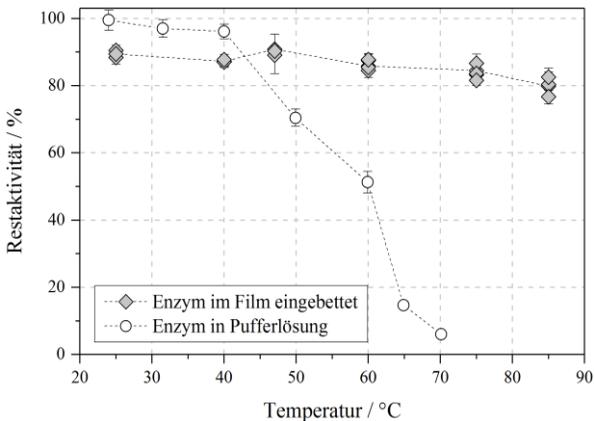


Abbildung 4.5: Einfluss der Trocknungstemperatur auf die Restaktivität des immobilisierten Enzyms bei konstanter Zusammensetzung (TS 3) mit $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$, $t = 5 \text{ min}$ (hellgraue Rauten). Zum Vergleich ist der Verlauf der Restaktivität des in Puffer gelösten Enzyms (weiße Kreise) in Abhängigkeit der Temperatur nach 5 min Inkubationszeit dargestellt (50 mM, pH 6,5).

Bis 47 °C bleibt die katalytische Aktivität des in einen Film eingebetteten Enzyms auf hohem Niveau zwischen 87 % und 90 %. Darüber hinaus weisen die gemessenen Enzymaktivitäten der hergestellten Filme mit zunehmender Temperatur eine größere Streuung auf, insgesamt ist ein Trend hin zu einer leichten Abnahme zu beobachten, bei 85 °C im Mittel auf 80 %. Im Gegensatz zum gelösten Zustand (weiße Kreise), übt die Prozessstemperatur einen geringen Einfluss auf das in den Film eingebettete Enzym aus (hellgraue Rauten). Die Polymerkompositmatrix bietet einen sehr guten Schutz gegenüber höheren Temperaturen und stabilisiert das Enzym über sein Temperaturoptimum von 47 °C (Sorachim, 2020) hinaus, wie

auch der Vergleich mit dem in Pufferlösung befindlichen Enzym verdeutlicht (weiße Kreise). Im gelösten Zustand ist bei einer Inkubationszeit von 5 min bereits für Temperaturen über 40 °C hinaus eine starke Inaktivierung des Enzyms zu beobachten. Wasserstoffbrücken, die die Tertiärstruktur des gelösten Enzyms stabilisieren, beginnen aufzubrechen, Peptidketten falten sich auf; das Enzym verliert seine hochgradig geordnete, katalytisch aktive Konformation (Wang et al., 2010). Es kommt zu irreversiblen Modifikationen in der Proteinstruktur, sodass bei 70 °C die verbleibende Restaktivität nur noch 6 % des nativen Enzyms beträgt (vgl. Abschnitt 1.2.1).

Eine allgemeine Stabilisierung von Enzymen in Immobilisierungsmatrizen gegenüber dem nativen, in Puffer gelösten Zustand wird auch in der Literatur beobachtet. Arslan et al. (2006) beispielsweise betten eine Invertase physikalisch durch einen Komplexbildungsprozess in eine PAA-PVI Matrix ein¹⁵. Das freie Enzym denaturiert in Puffer gelöst komplett ab 50 °C. Im Sensor selbst ist eine maximale Aktivität des Enzyms um etwa 60 °C zu beobachten, welche darüber hinaus in Abhängigkeit der Zusammensetzung der Kompositmatrix deutlich abnimmt (zwischen 20 - 70 %) und auf eine Denaturierung des Enzyms zurückzuführen ist. Ebenso zeigt das Enzym Glucose Oxidase bei Immobilisierung in einem Blend aus PVA und regeneriertem Seidenfibroin eine verbesserte Thermostabilität gegenüber seines gelösten Zustands mit einer maximalen Aktivität bei 40 °C, die bis 50 °C erhalten bleibt, darüber hinaus für Temperaturen bis 70 - 80 °C aber stark abnimmt (Liu et al., 1996). Ähnliches berichten Türkarşlan et al. (2009), die das Redox-Enzym Cholesterol Oxidase in ein Trägermaterial aus leitfähigen Polymeren Polypyrrol (PPy) wie auch PEDOT immobilisieren.

In Anlehnung an die Literatur ist auch für das Redox-Enzym FAD-GDH, das physikalisch in die Polymerkompositmatrix aus PVA und PEDOT:PSS eingebettet ist, eine Verbesserung der Thermostabilität zu beobachten, welche insbesondere mit Blick auf den Einfluss der Prozessierung über eine Filmtemperatur von 80 °C hinaus gewährleistet wird. Wie bereits in Abschnitt 4.2.2 erläutert, ahmt die Polymerkompositmatrix bei optimierter Zusammensetzung die natürliche Mikroumgebung des Enzyms nach, primär zurückzuführen auf die Biokompatibilität von PVA (Doretto et al., 1997; Doretto et al., 1998; Guascito et al., 2014; Guascito et al., 2011;

¹⁵ Invertase spaltet Saccharose in Fructose und Glucose. Die Immobilisierungsmatrix besteht aus den Komponenten Polyacrylsäure (PAA) und Polyvinylimidazol (PVI).

Omidinia et al., 2013). Als Immobilisierungsmatrix stabilisiert es die Tertiärstruktur durch die hohe Anzahl an OH-Gruppen, welche Wasserstoffbrücken mit der Zuckergruppe des Enzyms ausbilden (Wong & Abdul-Aziz, 2008; Xu et al., 2006). Die Umwandlung in eine katalytisch inaktive Proteinkonformation wird gebremst, die Aktivität des in den Film eingebetteten Enzyms bleibt auch bei hohen Temperaturen erhalten bzw. wird nur geringfügig vermindert. Der Schutz wird weiterhin gewährleistet. Mit Blick auf eine spätere Flüssigphasenapplikation im industriellen Maßstab ist insbesondere die Thermostabilität von großer Bedeutung, da die Trocknung der Beschichtungslösung bei Temperaturen deutlich oberhalb des eigentlichen stabilen Bereichs des nativen Enzyms erfolgen kann und so die Verwendung des Modellstoffsystems für das künftige Einsatzgebiet sichergestellt wird.

4.3.2 Schichtmorphologie

Dennoch ist in Abbildung 4.5 mit steigender Trocknungstemperatur der Trend hin zu einer größeren Streuung der ermittelten Enzymaktivität zwischen den einzelnen untersuchten Proben zu beobachten ($< 2\%$ für $T < 47\text{ °C}$, $\approx 6\%$ bei 85 °C). Als mögliche Ursache hierfür kommt die zu beobachtende Veränderung in Struktur und Morphologie der hergestellten Filme in Frage. Durch den Temperaturanstieg verändern sich bei konstantem Stoffübergangskoeffizient temperatursensitive Größen der Beschichtungslösung, wie bspw. das Phasengleichgewicht, die Viskosität oder die Oberflächenspannung. Diese Größen beeinflussen das Phasenverhalten bzw. eine mögliche Phasenseparation.

Für vergleichbare Ergebnisse bzw. eine gezielte Analyse dominierender Einflussgrößen bei der Trocknung sind definierte und kontrollierte Trocknungsparameter von großer Bedeutung, wie die REM-Aufnahmen in Abbildung 4.6 belegen: Diese zeigen die Oberflächenmorphologie für eine schrittweise Erhöhung der Prozess-temperatur bei konstanter Zusammensetzung gemäß TS 3 (von oben links nach unten rechts, Vergrößerungsmaßstab: 10.000)¹⁶. Abhängig von der gewählten Trocknungstemperatur sind deutliche Unterschiede zu sehen: zum einen sind weiße Strukturen zu beobachten, zum Teil wolkenartig und flächig verteilt (oben links), zum Teil aber auch tropfenförmig und einzeln verstreut. Zum anderen ist

¹⁶ Für ein umfassendes Bild sind weitere Abbildungsmaßstäbe im Anhang ergänzt: 2.000-fache Vergrößerungen in Abbildung A.30 sowie 20.000-fache in Abbildung A.31.

eine flächig ausgedehnte, heterogen geprägte Mischphase, erkennbar an unterschiedlichen Grautönen, zu sehen, die eine kraterartige, von Einbuchtungen durchzogene Oberfläche aufweist.

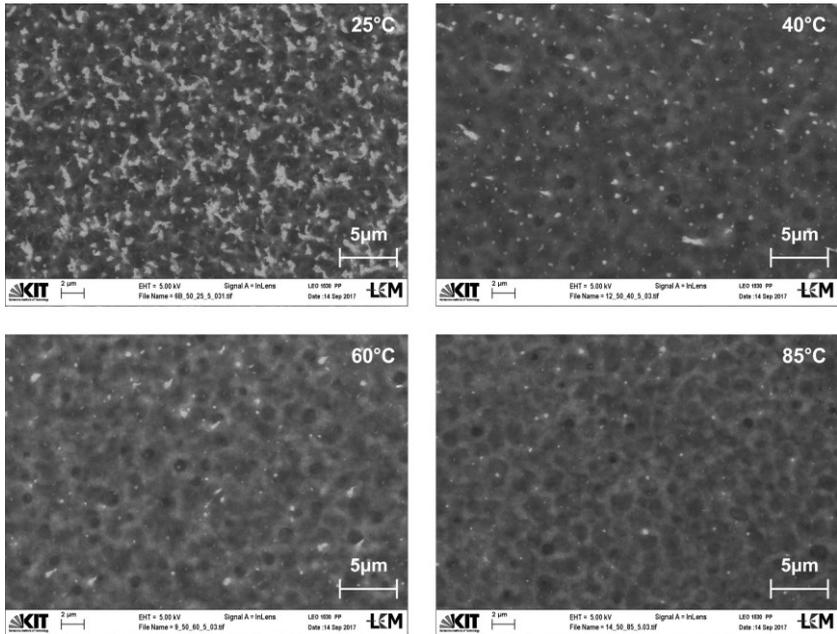


Abbildung 4.6: REM-Aufnahmen von TS 3 bei sukzessiver Steigerung der Trocknungstemperatur von 25 °C (oben links) auf 85 °C (unten rechts) bei gleicher Vergrößerung (10.000-fach). Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) und thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) sind konstant. Weitere Abbildungsmaßstäbe sind im Anhang in Abschnitt O.1 ergänzt.

Besonders deutlich sind die weißen Bereiche bei 25 °C ausgeprägt, die sowohl runde als auch längliche Formen besitzen und sich über die gesamte Aufnahme flächig verteilen. Mit steigender Temperatur reduzieren sich diese Strukturen sowohl in Größe als auch Häufigkeit deutlich, sodass bei 85 °C nur noch vereinzelt kleinere weiße Punkte zu beobachten sind. Ein Vergleich mit Schichten, die ohne Enzym, aber bei identischen Prozessbedingungen hergestellt wurden (vgl. Referenzfilme in Abschnitt 2.6.3), legt nahe, dass es sich bei den wolkenförmigen und

flächlich verteilten Strukturen um Puffersalz handelt, welches sich sehr wahrscheinlich um das Enzym gruppiert und das Enzym einlagert¹⁷ (vgl. Abbildung A.32 oben im Anhang). Das Zusammenschrumpfen auf kleinere, tropfenähnliche Formen, zusammen mit der allgemeinen Abnahme der weißen Bereiche mit steigender Temperatur lässt eine bessere Löslichkeit des Salzes vermuten. Aufgrund einer geringeren Übersättigung bilden sich während der Trocknung weniger Keime, sodass eine kleinere Menge an Puffersalz auskristallisiert. In Gegenwart des Enzyms scheint dies stärker ausgeprägt zu sein und zugleich eine Puffersalzkumulation auf enzymreiche Bereiche zu bewirken, potentiell erkennbar an der Ausbildung von Netzwerk ähnlichen Strukturen (vgl. Abbildung A.31 und Abbildung A.32 im Anhang mit größerem Vergrößerungsmaßstab).

Darüber hinaus sind ebenfalls Veränderungen in der bereits erwähnten heterogenen Mischphase mit steigender Temperatur zu beobachten, welche die Polymerkompositmatrix bildet und sehr wahrscheinlich primär aus den Komponenten PEDOT:PSS und PVA besteht. Während es scheint, dass sich Puffersalz und Enzym bei 25 °C sehr fein verteilt vermehrt auf der Oberfläche der Matrix ablagern, suggerieren die Aufnahmen bereits ab 40 °C eine erfolgreiche Einlagerung beider Komponenten in die Polymerkompositmatrix. Zugleich ist eine Modifikation der Oberflächenstruktur der Matrix zu erkennen: Diese wirkt mit zunehmender Temperatur weniger homogen, die kraterartigen Domänen und Einbuchtungen scheinen sich zu vergrößern und zu vertiefen (vgl. Abbildung A.30 und Abbildung A.31 im Anhang mit weiteren Abbildungsmaßstäben).

Diese Beobachtungen werden sowohl qualitativ als auch quantitativ durch die ausgewerteten AFM-Aufnahmen¹⁸ unterstützt. In Abbildung 4.7 ist die quadratisch gemittelte Rauheit der Schichten, die mit den diskutierten Trocknungsparametern hergestellt wurden, in Abhängigkeit der Trocknungstemperatur dargestellt. Als Fehlerbalken wurde das Konfidenzintervall mit einem Vertrauensniveau von 95 % aufgetragen, welches aus zwei bis fünf 20 x 20 µm² Aufnahmen bestimmt wurde.

¹⁷ Ohne Enzym bildet sich im Vergleich ein deutlich feineres, flächigeres und flechtenartiges Netzwerk aus, welches mit steigender Temperatur zunehmend verschwindet (vgl. linke Spalte in Abbildung A.32 im Anhang). Die Kumulation der weißen Bereiche, die in tropfenförmige und Netzwerk ähnlichen Strukturen resultieren, ist in Abwesenheit des Enzyms nicht zu beobachten, was auf die Einlagerung des Enzyms in die weißen Strukturen schließen lässt.

¹⁸ Die angefertigten AFM-Aufnahmen sind in Anlehnung an die in den REM-Aufnahmen gezeigten Temperaturen im Anhang in Abbildung A.38 dargestellt.

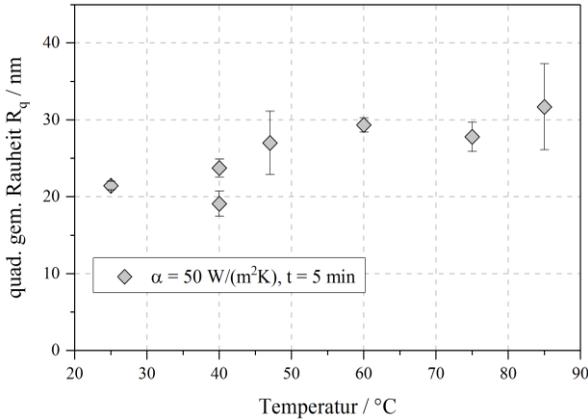


Abbildung 4.7: Quadratisch gemittelte Rauheit R_q der Filme in Abhängigkeit der Trocknungstemperatur bei konstanter Zusammensetzung (TS 3) mit $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$, $t = 5 \text{ min}$ (hellgraue Rauten).

Mit steigender Temperatur werden die Schichten inhomogener. Die gemittelte Rauheit R_q nimmt mit 21,5 nm (25 °C) auf 32 nm (85 °C) um fast 50 % zu. Ebenso zeigen sich mit Temperaturzunahme tendenziell größere Varianzen zwischen den einzelnen Proben, wie die relativ langen Fehlerbalken verdeutlichen. Im Vergleich zur Polymerkompositmatrix ohne Enzym und Puffersalz (vgl. Abschnitt 3.4.2 sowie Tabelle A.19 und Tabelle A.20 im Anhang) sind die Zahlenwerte der bestimmten Oberflächenrauheit in etwa eine Größenordnung größer, aber weiterhin vergleichbar mit Ergebnissen aus der Literatur (Zabihi et al., 2015). Die bereits erwähnte Phasenseparation der Komponenten könnte als Ursache für eine Erhöhung der Rauheit in Frage kommen. Durch Zunahme der Löslichkeit mit steigender Temperatur sinkt die Keimbildungszahl. Es bilden sich weniger Kristallisationskeime, die sich formenden Einbuchtungen und Krater werden größer und zum Teil tiefer. Dies zeigt auch der Vergleich der AFM-Aufnahmen in Abbildung A.38 im Anhang.

Eine weitere, mögliche Erklärung für den Anstieg könnte in der bereits thematisierten, strukturellen Umwandlung von PEDOT:PSS liegen (vgl. Abschnitt 1.2.2 sowie 3.3.2). Das leitfähige Polymer erfährt bei Temperierung der Schichten in Abhängigkeit von der Temperatur Konformationsänderungen hin zu größeren und kristallineren Domänen, was mit einer Erhöhung der Oberflächenrauheit korreliert (Horii et al., 2015; Huang et al., 2003; Huang et al., 2005; Kim et al., 2012;

Sanchez-Sanchez et al., 2019). Hervorgerufen wird dies durch eine in der Literatur postulierte Phasenseparation von PEDOT:PSS. Durch die thermisch induzierten Strukturänderungen können sich in der trockenen Schicht größere PEDOT-reiche Domänen (engl. grains) bilden, welche zugleich einen Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit hervorrufen (Huang et al., 2003; Huang et al., 2005; Kim et al., 2012; Sanchez-Sanchez et al., 2019).

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte während des Trocknungsschrittes eine thermische Nachbehandlung der Proben, da, wie bereits erwähnt, die abgeschätzte Trocknungszeit geringer war als die eingestellte thermische Belastungszeit. Erstere verkürzt sich zusätzlich mit steigender Temperatur, sodass die theoretische Nachbehandlungszeitspanne zunimmt (vgl. Abschnitt 4.1 sowie Tabelle A.17 im Anhang). In Analogie zu den Beobachtungen aus der Literatur ist es daher möglich, dass Veränderungen der Morphologie in der Polymerkompositmatrix auftreten und den temperaturbedingten Anstieg der Rauheit verursachen können. Dennoch wird ein direkter Vergleich mit Literaturdaten erschwert, da sowohl die Wahl des Beschichtungsprozesses, die Zusammensetzung und die Trocknungs- und Nachbehandlungsschritte einen großen Einfluss auf die Rauheit ausüben, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen (vgl. Kapitel 3 sowie Abschnitt 4.2). Vielmehr sollten beschriebenen Trends als Hinweise oder Indizien betrachtet werden. Eine weitere Erforschung möglicher Ursachen wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter vertieft, da aufgrund der erwarteten Temperatursensitivität des Enzyms während der Prozessierung die katalytisch aktive Komponente im Mittelpunkt stand. Eine potentiell sofortige Inaktivierung und folglich damit verbundener Verlust des teuren Materials sollte vermieden werden. Für eine weitere Vertiefung sind in weiterführenden Arbeiten Untersuchungen zur Leitfähigkeitsänderung der katalytisch aktiven Polymerkompositmatrix ggf. sinnvoll.

Zusammengefasst ist mit steigender Temperatur der Trend hin zu Schichten mit einer rauerer Oberfläche zu erkennen. Auch eine ungleichmäßigere Verteilung der Domänen über die Filmoberfläche wird vermutet. Wie die Analyse der Enzymaktivität zeigt, streuen die Ergebnisse mit steigender Temperatur, sodass hier ein Zusammenhang mit der steigenden Inhomogenität der Schichten angenommen werden kann. Dennoch ist festzustellen, dass die katalytische Aktivität insgesamt auf einem relativ hohen Niveau bleibt.

4.4 Betrachtung verschiedener Trocknungsszenarien¹⁹

Wie in Abschnitt 4.1 bereits erwähnt, wurden zur weiteren Vertiefung des Trocknungseinflusses bzw. zur Aufschlüsselung dominierender Einflussgrößen neben der Prozesstemperatur gezielt verschiedene Trocknungsszenarien²⁰ untersucht. Ausgangspunkt ist zum einen eine Intensivierung der Herstellungsbedingungen durch Verlängerung der thermischen Belastungsdauer (vgl. Abschnitt 4.4.1), welche sich neben der Temperatur in einer vergleichenden Gegenüberstellung der Ergebnisse des gelösten Enzyms als weiterer wichtiger Belastungsfaktor herausgestellt hatte (vgl. Abbildung 2.2). Zum anderen steht eine Beschleunigung der Trocknungskinetik durch Erhöhung der Trocknungsgeschwindigkeit im Mittelpunkt, welche eng mit der Ausbildung der Schichtmorphologie korreliert. Sie gibt den Zeitraum zur Strukturausbildung vor, bestimmt den Grad der Übersättigung und muss klar vom Einfluss der Temperatur differenziert werden (vgl. Abschnitt 4.4.2). Darüber hinaus erfolgt zur Abdeckung eines möglichst großen Parameter-raums eine äußerst langsame und schonende Trocknung, die im Kontext des Einflusses auf Funktionalität und Schichtmorphologie bewertet wurde (vgl. Abschnitt 4.4.3). Analog zu Abschnitt 4.3 werden die beiden Kenngrößen Enzymaktivität und Filmhomogenität in Bezug zueinander gesetzt.

Als Vergleichsgröße der verschiedenen Szenarien wird die Trocknungsrate \dot{m}_w verwendet, da sie die geschwindigkeitsbestimmende Größe bei einer gasseitig kontrollierten Trocknung ist. Sie ist über die Kinetik in der Gasphase für einseitige, binäre Diffusion idealer Gase gemäß Gleichung (4.1) definiert

$$\dot{m}_w = \beta_{wg} \cdot \tilde{\rho}_g \cdot \tilde{M}_w \cdot \ln \left(\frac{1 - \tilde{y}_{w,\infty}}{1 - \tilde{y}_{w,ph}} \right) \quad (4.1)$$

mit der molaren Masse \tilde{M}_w des Lösemittels Wassers und der molaren Gasdichte $\tilde{\rho}_g$. Die wichtigen Einflussgrößen der Trocknungskinetik sind der Stoffübergangskoeffizient β_{wg} und die beiden Wassermolenbrüche $\tilde{y}_{w,ph}$ an der Phasengrenze sowie $\tilde{y}_{w,\infty}$ im Bulk der Gasphase. Der Molenbruch des Lösemittels an der Pha-

¹⁹ Die Untersuchungen zum Einfluss der Herstellungsbedingungen wurden in Auszügen in der Bachelorarbeit von K. Schmitt (2017) erarbeitet, die im Rahmen dieser Arbeit betreut wurde.

²⁰ Die gewählten Trocknungsparameter sind im Detail im Anhang in Tabelle A.17 dargestellt.

sengrenze $\tilde{y}_{W,ph}$ ist von der Filmtemperatur abhängig und kann mittels der Antoine-Gleichung beschrieben werden, der Molenbruch im Kern der Gasphase $\tilde{y}_{W,\infty}$ wird von der Gas- bzw. Trocknungstemperatur sowie von der Wasserbeladung im Trockner beeinflusst. Der Stoffübergangskoeffizient β_{wg} hängt von den Strömungsbedingungen im Trockner ab, wie bspw. Strömungsgeschwindigkeit und Trocknergeometrie. Er ist eine Funktion der Reynold-Zahl und über $\beta_{wg} = \delta_{wg}/l_c$ eng mit dem Diffusionskoeffizienten δ_{wg} verknüpft. Er wird ebenfalls von der Temperatur beeinflusst. Die Lewis-Korrelation (Gleichung (4.2)) erlaubt eine direkte Bestimmung des Stoffübergangskoeffizienten β_{wg} über den Wärmeübergangskoeffizienten α_g mit Hilfe der Lewis-Kennzahl (Gleichung (4.3) mit $n = 0,42$ für eine turbulente und $n = 1/3$ für eine laminare Strömung).

$$\frac{\alpha_g}{\beta_{wg}} = \tilde{\rho}_g(T_g) \cdot \tilde{c}_{p,g}(T_g) \cdot Le(T_g)^{1-n} \quad (4.2)$$

$$Le = \frac{Sc}{Pr} = \frac{\kappa}{\delta_{wg}} = \frac{\lambda(T_g)}{\tilde{\rho}_g(T_g) \cdot \tilde{c}_{p,g}(T_g) \cdot \delta_{wg}(T_g)} \quad (4.3)$$

Die Betrachtungen heben die Film- und Gastemperatur, den Gasvolumenstrom bzw. Anströmgeschwindigkeit sowie die Beladung der Gasphase mit Wasser als wichtige Kenngrößen hervor, über die sich die Trocknung beeinflussen lässt. Zugleich ist ersichtlich, dass die Erhöhung der Trocknungstemperatur sich auf die Parameter β_{wg} , $\tilde{y}_{W,ph}$ und $\tilde{y}_{W,\infty}$ auswirkt, während eine Änderung des Gasvolumenstroms einzig α_g und damit β_{wg} variiert.

In Abbildung 4.8 ist für die untersuchten Trocknungsszenarien die Restaktivität über der Trocknungsrate unter Berücksichtigung der Referenzfilme (vgl. Fußnote 14) dargestellt. Bei maximaler Trocknungstemperatur (85 °C) erfolgte die Analyse des Einflusses der thermischen Belastungsdauer (graue Quadrate) und der Trocknungsgeschwindigkeit (dunkelgraue Kreise). Zur Realisierung einer langsamen Trocknung wurden Schichten bei Raumtemperatur prozessiert und abgedeckt getrocknet (weiße Dreiecke). Bei der Bestimmung der Trocknungsrate wurde der Wärmeübergangskoeffizient mit 5 W/(m²K) abgeschätzt (vgl. Fußnote 3).

In Analogie zu den vorherigen Abschnitten wurden drei bis vier Filme pro Trocknungseinstellung für die Bestimmung der Restaktivität hergestellt und unter Berücksichtigung der Referenz analysiert (vgl. Fußnote 14). Zur Verdeutlichung der Reproduzierbarkeit werden sie als einzelne Datenpunkte im Diagramm dargestellt

(vgl. Erläuterung in Fußnote 11 in Abschnitt 4.2.2). Ein Datenpunkt entspricht somit der Restaktivität des immobilisierten Enzyms einer Schicht und basiert auf drei bis vier Konzentrationsbestimmungen und fünf bis sieben Aktivität-Assays. Die Fehlerbalken berücksichtigen die maximale Abweichung aufgrund von Messunsicherheiten bei der Einstellung der Enzymkonzentration (vgl. Abschnitt 2.6.3 sowie Abbildung 2.8).

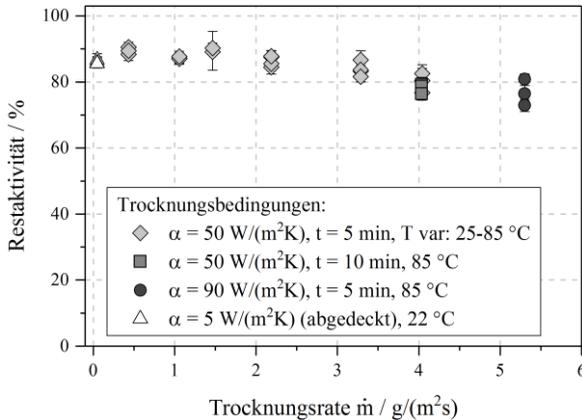


Abbildung 4.8: Restaktivität des in TS 3-Filmen immobilisierten Enzyms in Abhängigkeit der Trocknungsrate bei varierten Trocknungsbedingungen: Variation der Trocknungstemperatur bei konstantem Wärmübergangskoeffizienten und konstanter thermischer Belastungszeit (hellgraue Rauten), verdoppelte thermische Belastungszeit bei $85 \text{ }^\circ\text{C}$ (graue Quadrate), schnelle Trocknung durch Steigerung des Wärmübergangskoeffizienten ($\alpha_g = 90 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) bei $85 \text{ }^\circ\text{C}$ und 5-minütiger thermischer Belastung (dunkelgraue Kreise), langsame Trocknung durch Abdeckung des Films bei Raumtemperatur (weiße Dreiecke; Annahme $\alpha_g = 5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$). Auflistung der vollständigen Trocknungsparameter: Tabelle A.17 im Anhang.

Zur Einordnung der Ergebnisse ist der Einfluss der Trocknungstemperatur (hellgraue Rauten), welcher ausführlich in Abschnitt 4.3 diskutiert wurde, als Funktion der Trocknungsrate in Abbildung 4.8 ergänzt. Diese variiert zwischen $0,43 - 4,0 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$. In Bezug auf Lithium-Ionen-Batterien wird eine Trocknungsrate von $\dot{m}_w < 0,75 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ als niedrig, ab $\dot{m}_w > 1 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ als hohe Trocknungsrate betrachtet (Jaiser et al., 2016). Vor diesem Hintergrund wurde durch Temperaturvariation mit Trocknungszeiten von $t < 1 \text{ min}$ bzw. $\dot{m}_w > 1,5 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ bereits sehr schnell getrocknet (vgl. Tabelle A.17). Dies verdeutlicht einmal mehr den guten Schutz, den die Einbettung des Enzyms in die Polymerkompositmatrix bietet,

insbesondere vor dem Aspekt, dass es sich um eine isotherme Trocknung handelt und sich keine Beharrungstemperatur²¹ im Film einstellt.

In Anlehnung an diesen Vergleich zeigt die katalytische Aktivität des im Film immobilisierten Enzyms gegenüber den weiteren gewählten Trocknungsszenarien, welche in Abbildung 4.8 dargestellt sind, eine unerwartet geringe Sensitivität. Insgesamt ist eine leichte Abnahme der Enzymaktivität erst ab einer Trocknungsrate von $2 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ zu beobachten, die im direkten Gegensatz zur beschleunigten Denaturierung des gelösten Enzyms bei Steigerung der Expositionsdauer steht (siehe Abbildung 2.2 in Abschnitt 2.2). Die Polymermatrix verbessert mit steigender Trocknungsrate nicht nur die Thermostabilität gegenüber dem gelösten Zustand, sie bietet auch bei den weiteren betrachteten Trocknungsszenarien einen guten Schutz und ist in der Lage, das Enzym gegen das Auffalten der Peptidketten ausreichend zu stabilisieren. Im Gegensatz dazu belegt die Analyse der Oberflächenmorphologie der Schichten in Abhängigkeit der gewählten Trocknungsparameter einen deutlichen Einfluss (Übersicht aller Szenarien: Abbildung A.37 im Anhang). Auf die Entwicklung der Filmmorphologie im Zusammenhang mit Enzymaktivität und gewählten Trocknungsszenarien wird im Folgenden genauer eingegangen.

4.4.1 Thermische Belastungsdauer

Das erste Trocknungsszenario vergleicht bei konstanter Trocknungsrate von $\dot{m} = 4,05 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ mit $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ und $\vartheta_g = 85 \text{ }^\circ\text{C}$ die Auswirkung einer Verlängerung der thermischen Belastungszeit von 5 auf 10 Minuten (hellgraue Rauten und graue Quadrate in Abbildung 4.8). Es ist angelehnt an den Einfluss der Inkubationszeit im gelösten Zustand des Enzyms, welcher eine wichtige Rolle spielt (vgl. Abbildung 2.2). Mit Bezug auf die eingangs in Abschnitt 4.4 erläuterten Betrachtungen zur Trocknungsrate, ruft eine Verlängerung der Belastungszeit keine Veränderung der Trocknungskinetik hervor. Die Parameter, die die Trocknungsgeschwindigkeit bestimmen, werden konstant gehalten. Durch Verdoppelung der thermischen Belastungszeit erhöht sich ausschließlich die Dauer der Nachbehandlungszeit um fünf Minuten (vgl. Tabelle A.17 im Anhang).

Die Verlängerung der thermischen Belastungszeit bewirkt eine leichte Abnahme der Restaktivität zu beobachten, im Mittel von 79,9 % auf 78,0 % mit Verlänge-

²¹ Weitere Erläuterungen zur gaseitig kontrollierten Trocknung in Abschnitt M im Anhang.

rung der Dauer. Da zugleich aber auch die Streuung der einzelnen Proben mit steigender Temperatur zunimmt (vgl. Abschnitt 4.3), beschreibt die geringfügige Inaktivierung bei längerer Exposition eher einen Trend und keine eindeutige Abhängigkeit. Der direkte Vergleich mit dem gelösten Enzym verdeutlicht dies: Nach 15-minütiger Inkubation bei 80 °C beträgt die Restaktivität des in Lösung befindlichen Enzyms noch 5,1 % (vgl. Abbildung 2.2).

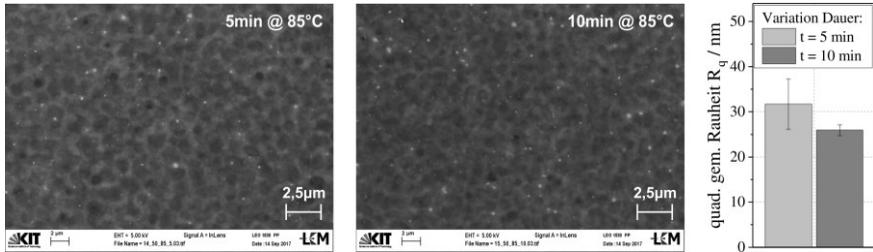


Abbildung 4.9: REM-Aufnahmen von TS 3 bei variiert thermischer Belastungszeit $t = 5$ min (links) und $t = 10$ min (Mitte) in 20.000-facher Vergrößerung sowie aus AFM-Aufnahmen abgeleitete quadratisch gemittelte Rauheit R_q der Filme beider Szenarien (rechts). Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) und Trocknungstemperatur (85 °C) sind konstant. Im Anhang sind weitere Abbildungsmaßstäbe (vgl. Abbildung A.33) und ein Vergleich der Oberflächenrauheit aller Szenarien (vgl. Abbildung A.37) ergänzt.

Bei Betrachtung der REM-Aufnahmen (vgl. Abbildung 4.9) lassen sich auf den ersten Blick keine großen Unterschiede bezüglich der ausgebildeten Oberflächenstruktur erkennen: Beide Proben weisen auf der Oberfläche punktuell weiße Strukturen auf, die sich in Form, Größe und Häufigkeit sehr ähnlich sind und bei denen es sich am ehesten um in Salz eingelagertes Enzym handelt (vgl. Abschnitt 4.3 sowie Fußnote 17). Ebenso zeigt die flächig ausgedehnte, heterogene Mischphase, in die die weißen Punkte eingebettet sind und die sehr wahrscheinlich aus PVA und PEDOT:PSS besteht, eine gute Übereinstimmung in Kontur und Ausprägung der Domänen und Einbuchtungen. Aufgrund gleicher Triebkräfte während der Trocknung ist diese Ähnlichkeit im Erscheinungsbild zu erwarten.

Bei genauerer Betrachtung der Mischphase allerdings erscheint die Oberfläche mit zunehmender Nachbehandlungszeit homogener und die Einbuchtungen weniger tief. Dieses Glätten der Oberfläche bei konstanter Temperatur aber fortschreitender

Behandlungsdauer bestätigen auch die AFM-Aufnahmen²²: Die Rauheit nimmt von 32 nm auf 26 nm um 18 % ab (vgl. Abbildung 4.9 rechts). Ebenso wird die Streuung der untersuchten Proben zueinander geringer, wie die kürzeren Fehlerbalken zeigen. Zurückzuführen ist diese Veränderung sehr wahrscheinlich auf die strukturelle Umwandlung von PEDOT:PSS, welches sich unter Hitzeeinwirkung von der amorphen ‚benzoid‘ (engl.) zu einer kristallinen und eher linearen ‚quinoid‘ (engl.) Struktur mit verbesserter Leitfähigkeit umlagert (Andrei et al., 2017; Sanchez-Sanchez et al., 2019). Literatur zufolge ist die thermisch induzierte Strukturänderung nicht nur von der Temperatur, sondern auch von der Dauer der Exposition abhängig. Während Huang et al. (2005) eine Zunahme der Rauheit mit steigender Temperatur, aber konstanter Nachbehandlungszeit beobachten, berichten andere Autoren von einer Abnahme der Rauheit mit fortschreitender thermischer Belastungsdauer bei konstanter Temperatur (Pingree et al., 2008; Zabihi et al., 2015). Ersteres wird, wie bereits in Abschnitt 4.3 diskutiert, dem Wachstum zu größeren und kristallineren Domänen zugeschrieben. Bei letzterem hingegen dokumentieren Pingree et al. (2008) einen Dichteanstieg der leitfähigen Bereiche über die Höhe der Schicht. Durch eine längere Nachbehandlungszeit verändert sich nicht nur die Oberflächentopographie, sondern auch die Morphologie vertikal im Bulk. Die PEDOT-Partikel lagern sich näher zusammen, die Oberfläche glättet sich und die Rauheit nimmt ab.

In Analogie zu Abschnitt 4.3 scheinen diese Feinheiten in der Morphologie eher einen geringen Einfluss auf die katalytische Funktionalität des Enzyms auszuüben. Ist ab einem gewissen Punkt ein ausreichender Schutz des Enzyms gewährleistet (vgl. Einfluss der Zusammensetzung in Abschnitt 4.2), tragen homogene Schichten im Wesentlichen zu einer verbesserten Reproduzierbarkeit bei, wie anhand der geringen Fehlerbalken bei Analyse der Oberflächenrauheit zu sehen ist (vgl. Gesamtübersicht in Abbildung A.37 im Anhang). Darüber hinaus kann die strukturelle Modifizierung ein Hinweis auf Veränderungen in der elektrischen Leitfähigkeit sein, deren Analyse in Anwesenheit des Enzyms nicht im Fokus dieser Arbeit stand, aber im Rahmen künftiger Forschungsarbeiten weiter vertieft werden sollte.

²² Die Bestimmung der quadratisch gemittelten Rauheit R_q erfolgte aus zwei bis vier $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ AFM-Aufnahmen pro Trocknungseinstellung. Als Fehlerbalken wurde das Konfidenzintervall mit einem Vertrauensniveau von 95 % aufgetragen (vgl. Abschnitt 2.3.2).

4.4.2 Schnelle Trocknung bei konstanter Temperatur

Für eine fundierte Evaluation der Hypothese einer von der Trocknungskinetik abhängigen Auffaltung des Enzyms erfolgt im nächsten Trocknungsszenario bei konstanter Temperatur (85 °C) die Beschleunigung der Trocknung durch Erhöhung des Wärmeübergangskoeffizienten von 50 auf 90 W/(m²K). Dies resultiert in einem Anstieg der Trocknungsrate von 4,0 g/(m²s) auf 5,3 g/(m²s), einzig hervorgerufen durch eine Erhöhung des Stoffübergangskoeffizienten von 0,051 m/s auf 0,092 m/s; bei diesem isothermen Versuch bleibt das treibende Konzentrationsgefälle konstant. Ganz im Gegensatz zu den Versuchen zum Einfluss der Trocknungstemperatur (vgl. Abschnitt 4.3): bei letzteren führt die Erhöhung der Trocknungstemperatur zur einer Vergrößerung des treibenden Konzentrationsgefälles $\Delta\tilde{y}_W$ wie auch einem Anstieg des Stoffübergangskoeffizienten von 0,045 m/s bei 25 °C auf 0,051 m/s bei 85 °C, wodurch folglich, wie bereits erwähnt, die Trocknungsrate zunimmt.

Für das in diesem Abschnitt betrachtete Szenario hat die schnelle Trocknung zur Folge, dass das Enzym im gelösten Zustand der hohen Temperatur für eine kürzere Dauer ausgesetzt ist, da sich die Trocknungszeit durch die hohe Trocknungsrate weiter verkürzt (Kommentar zur Trocknungszeit: vgl. Fußnote 3 in Abschnitt 4.1). Die schützende Polymermatrix bildet sich somit schneller aus und umhüllt das Enzym, wodurch eine Auffaltung des Enzyms unter Umständen unterbunden werden kann.

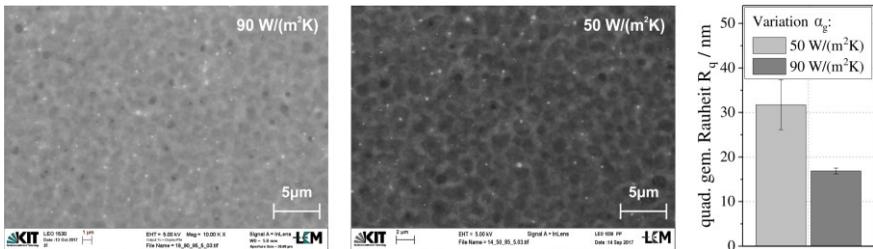


Abbildung 4.10: REM-Aufnahmen von TS 3 bei variiertem Wärmeübergangskoeffizienten (Vergrößerungsmaßstab: 10.000) sowie aus AFM-Aufnahmen abgeleitete quadratisch gemittelte Rauheit R_q der Filme beider Szenarien (rechts). Trocknungstemperatur (85 °C) und thermische Belastungszeit ($t = 5$ min) sind konstant. Im Anhang sind weitere Abbildungsmaßstäbe (vgl. Abbildung A.34) und ein Vergleich der Oberflächenrauheit aller Szenarien (vgl. Abbildung A.37) ergänzt.

Beim Vergleich der REM-Aufnahmen fällt zunächst die deutlich feinere Struktur der Polymerkompositmatrix bei schnellerer Trocknung auf (vgl. Abbildung 4.10 links). Die einzeln erkennbaren Domänen und Einbuchtungen scheinen kleiner, flacher und in größerer Anzahl vorhanden zu sein. Im direkten Vergleich der AFM-Aufnahmen lässt sich dieser Unterschied optisch noch deutlicher erkennen (vgl. Abbildung A.34 im Anhang), aber auch die daraus abgeleitete Rauheit bestätigt diese Beobachtung: Von 32 nm halbiert sie sich fast auf 17 nm mit zunehmendem Wärmeübergangskoeffizienten (vgl. Abbildung 4.10 rechts, Bestimmung R_q ; vgl. Fußnote 22 auf Seite 116). Ähnliche Beobachtungen sind auch in der Literatur für reine PEDOT:PSS-Filme zu finden. Durch Steigerung der Rotationsgeschwindigkeit beim Spin coating wird bei gleicher Schleuderdauer und Temperatur eine schnellere, wenngleich nicht ganz so exakt wie in dieser Arbeit definierte Trocknung erreicht, und eine Abnahme der Rauheit beobachtet (Zabihi et al., 2015).

Bei definierten Trocknungsbedingungen führt die Beschleunigung des Stofftransportes bei 85 °C zu einer Verkürzung der berechneten Trocknungszeit von ca. 25 auf 19 s. Im Vergleich dazu beträgt die geschätzte Trocknungsdauer bei Standardtrocknungsbedingungen ($T_g = 40$ °C und $\alpha_g = 50$ W/(m²K)) in etwa 94 s und ist damit um den Faktor fünf größer (vgl. Tabelle A.17 im Anhang). Ursache für die Ausbildung einer homogeneren Oberflächenmorphologie könnte daher die Entstehung einer größeren Anzahl an Keimen oder Partikeln sein, die beim beschleunigten Lösemittelentzug insgesamt weniger Zeit zum Wachsen haben. Die Komponenten finden kaum Zeit sich umzuverteilen, vielmehr verharren sie in der Konformation, in der sie sich zuletzt im gelösten Zustand befunden haben. Durch eine schnelle Trocknung wird das aktuelle Stadium in gewisser Weise „eingefroren“. Die Ausbildung der Morphologie ist kinetisch limitiert, es ist keine Zeit, potentiell stabilere Gleichgewichtszustände einzunehmen. Der bei detaillierter Betrachtung zu beobachtende leichte Anstieg der Häufigkeit der weißen Punkte im Vergleich zu $\alpha_g = 50$ W/(m²K) könnte ein weiteres Indiz für das „Einfrieren“ sein.

Verglichen mit den bisher diskutierten Trocknungsszenarien, wird die Funktionalität des Enzyms durch eine schnelle Trocknung beeinflusst: Bei einem Wärmeübergangskoeffizienten von 90 W/(m²K) bzw. einer Trocknungsrate von $\dot{m} = 5,3$ g/(m²s) beträgt die katalytische Aktivität des in den Film eingebetteten Enzyms im Mittel 76,8 % und schwankt im Bereich von 73 % bis 81 % (dunkelgraue Kreise in Abbildung 4.8). Damit reduziert sich nicht nur die gemittelte Enzymaktivität verglichen mit $\alpha_g = 50$ W/(m²K) bei 85 °C um 3,9 % bzw. bei 40 °C

um 12 %. Auch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nimmt deutlich ab, wie anhand der größeren Streuung der Messpunkte zu sehen ist: In Analogie zur Ausbildung der Schichtmorphologie ist es möglich, dass die schnelle Trocknung und die dadurch bedingte verkürzte Trocknungszeit ein „Einfrieren“ der momentanen Konstitution der Beschichtungslösung bewirken. Die Komponenten bzw. das Enzym finden kaum Zeit, sich umzuverteilen und einen potentiell günstigeren und stabileren Gleichgewichtszustand einzunehmen. Abhängig von dem gegenwärtigen Zustand, in dem sich das Enzym während des „Einfrierens“ befindet – sei es beispielsweise eine Variation der Konformation bzw. der in direkter Nachbarschaft befindlichen Moleküle der Beschichtungslösung –, ist diese Konstellation bei schneller Trocknung von Beschichtung zu Beschichtung unterschiedlich. Folglich wäre eine dadurch bedingte Inaktivierung unterschiedlich stark ausgeprägt, wodurch schlussendlich die größere Divergenz verursacht werden könnte.

Von ähnlichen Beobachtungen berichten auch Schmidt-Hansberg et al. (2011) im Zusammenhang des Einflusses der Trocknungskinetik auf die Effizienz von Solarzellen. In einer ausführlichen Analyse belegen sie, dass aufgrund einer reduzierten Strukturausbildungszeit bei hoher Trocknungsgeschwindigkeit eine geringere Anzahl an kristallinen Bereichen entsteht, was mit Blick auf die Effizienz einer Solarzelle von Nachteil ist.

Zusammengefasst ergeben sich bei Steigerung der Trocknungsgeschwindigkeit durch Erhöhen des Wärmeübergangskoeffizienten bei 85 °C homogenere Schichten. Doch die gesteigerte Schichtmogenität fällt im Gegensatz zum Einfluss der Prozesstemperatur (vgl. Abschnitt 4.3) oder der thermischen Belastungszeit (vgl. Abschnitt 4.4.1) nicht zugleich zusammen mit einer Verbesserung hin zu reproduzierbareren Ergebnissen in der Enzymaktivität, wie die größere Streuung der Datenpunkte für dieses Szenario belegt (vgl. dunkelgraue Kreise in Abbildung 4.8). Entgegen der Erwartung einer potentiellen Stressreduktion durch Verkürzung der Expositionsdauer, während der das Enzym gelöst vorliegt, führt das „Einfrieren“ der gegenwärtigen Konstellation des Enzyms bei den gewählten Trocknungsparametern vielmehr zu einem verminderten und keinem einheitlichen Schutz durch die Polymerkompositmatrix²³.

²³ Die im Anhang in Abbildung A.34 ergänzte Photographie bekräftigt diese Hypothese: Auf der Filmoberfläche ist in leichten Konturen die Wabenstruktur des Prallstrahlrockners zu erkennen. Im Stau-punkt ergibt sich aufgrund des hohen Wärmeübergangskoeffizienten ein schnelles „Einfrieren“ des

4.4.3 Schonende Trocknung

Zuletzt erfolgte die Analyse einer langsamen und schonenden Trocknung als Vergleich zu den bisherigen Trocknungsszenarien, in dem Lösemittelentzug und Trocknung langsam bei Raumtemperatur mit Hilfe eines abgedeckten Films durchgeführt wird. Dieses Szenario ist für die Untersuchungen im Labormaßstab sehr wichtig, um den Unterschied zu industriellen Bedingungen aufzuzeigen, da es den Einfluss und die Größe der Stellschrauben während der Trocknung zeigt. Der Wärmeübergangskoeffizient wurde mit $\alpha_g = 5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ für den stagnierenden Luftaustausch abgeschätzt und resultiert in einer Trocknungsrate von $\dot{m} = 0,05 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$. Der Stoffübergangskoeffizient ergibt sich zu $\beta_{w,g} = 0,005 \text{ m/s}$, die berechnete Trocknungsdauer liegt für Raumtemperatur knapp unter 35 min.

Wie in Abbildung 4.8 dargestellt, liegt die katalytische Funktionalität des Enzyms für das Szenario einer langsamen Trocknung (weiße Dreiecke in Abbildung 4.8) mit einer mittleren Enzymaktivität von 86,0 % auf gleichem Niveau wie bei Schichten, die im Rahmen des Einflusses der Trocknungstemperatur (vgl. Abschnitt 4.3) bei 65 °C und 50 W/(m²K) hergestellt und analysiert wurden (hellgraue Rauten in Abbildung 4.8 bei $\dot{m} = 2,2 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$). Die Enzymaktivität bei langsamer Trocknung ist damit geringfügig unterhalb dem hohen Niveau bei einer Trocknung mit Temperaturen bis 47 °C und 50 W/(m²K) (vgl. Abschnitt 4.3), weist aber aufgrund der geringen Streuung der Datenpunkte eine sehr gute Reproduzierbarkeit auf. Im Vergleich mit den bereits diskutierten Szenarien bilden diese Trocknungsbedingungen einen wichtigen Grenzfall ab, eine worst-case Betrachtung im Labor. Eine langsamere und schonendere Trocknung ist nicht möglich. Die Ergebnisse zeigen erstmals, dass die Enzymaktivität mit steigender Trocknungsrate erhalten bleibt und damit eine Übertragung aus dem Labor möglich ist. Im Falle einer definierter Trocknung mit $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ und einer Trocknungstemperatur zwischen 25 - 47 °C, welchen den Trocknungsraten im Bereich von 0,5 - 1,5 g/(m²s) entsprechen, ist eine Verbesserung der Enzymaktivität gegenüber diesem Grenzfall zu beobachten. Dies sind gerade mit Blick auf eine spätere Hochskalierung mit Übertragung hin zu industrielle Prozesse wichtige Erkenntnisse.

Das Eintreten des erläuterten worst-case Falls zeichnet sich bei Betrachtung der Filmtopographie ab, wie in Abbildung 4.11 gezeigt ist. Dargestellt sind zwei REM-

momentanen Zustandes, wodurch unter Umständen an dieser Stelle der Polymerfilm das Enzym nur eingeschränkt stabilisiert.

Aufnahmen eines langsam getrockneten Films bei 20.000-facher Vergrößerung: links von der Mitte, rechts vom Rand. Der Vergleich weist auf deutliche Unterschiede in der Ausbildung der Morphologie hin und ist das Ergebnis einer undefinierten und inhomogenen Trocknung im Labor. Die abgedeckte Probe trocknet von außen nach innen. Aufgrund der bereits diskutierten Phasenseparation ergibt sich am Rand eine andere Morphologie als in der Mitte. Die linke REM-Aufnahme von der Mitte des Films besitzt eine Ähnlichkeit mit der Struktur eines bei 25 °C und 50 W/(m²K) kontrolliert getrockneten Films (Abbildung 4.6). Die weißen Strukturen, sehr wahrscheinlich um Enzym akkumuliertes Salz, sind allerdings etwas größer, eher tropfenförmig und nicht ganz so flächig verteilt. Dies spricht für die beobachtete Phasenseparation, die sich mit dem Auge bereits auf dem Film erkennen lässt und unter den milden Trocknungsbedingungen deutlich stärker ausgeprägt ist (vgl. Fotografie in Abbildung A.35 oben im Anhang).

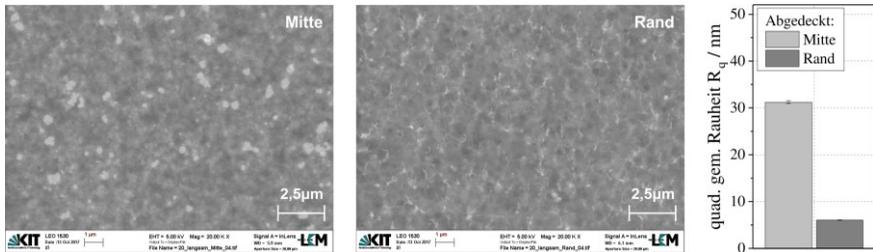


Abbildung 4.11: REM-Aufnahmen von TS 3 bei langsamer Trocknung (Vergrößerungsmaßstab: 20.000) sowie aus AFM-Aufnahmen abgeleitete quadratisch gemittelte Rauheit R_q der Filme (rechts). Die Schichten wurden auf 22 °C temperiert und abgedeckt getrocknet. Im Anhang sind weitere Abbildungsmaßstäbe (vgl. Abbildung A.35) und ein Vergleich der Oberflächenrauheit aller Szenarien (vgl. Abbildung A.37) ergänzt.

Die in der rechten REM-Aufnahme abgebildete Struktur ähnelt mit dem deutlich feineren und flächigeren, weißen Netzwerk dem Erscheinungsbild der Filme ohne Enzym (vgl. Abbildung A.32 im Anhang). Dies legt den Schluss nahe, dass das Enzym mit dem Lösemittel von außen nach innen wandert und so möglichst lange in Lösung bleibt. Es reichert sich am Rand ab und im Innern des Films an. Diese klaren Unterschiede zeigen sich auch in den AFM-Aufnahmen (vgl. Abbildung A.35 im Anhang) bzw. in der daraus bestimmten Rauheit, welche am Rand mit 6 nm sehr gering ist (vgl. Abbildung 4.11 rechts, Bestimmung R_q ; vgl. Fußnote 22 auf Seite 116). In der Mitte jedoch führt die ausgeprägte Berg- und Talstruktur mit

$R_q = 31$ nm insgesamt zu sehr unebenen und inhomogenen Schichten, deren Rauheit sich auf gleichem Niveau wie die bei 85 °C und $50\text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ getrockneten Schichten bewegen (vgl. Abbildung 4.9 rechts). Zur Untermauerung dieser Hypothese wäre in weiterführenden Arbeiten eine getrennte Analyse von Enzymkonzentration sowie Restaktivität an Rand und Mitte sinnvoll.

Obwohl die katalytisch aktive Komponente keiner weiteren durch die Trocknung induzierten Belastung ausgesetzt ist, scheint die bei der abgedeckten Trocknung auftretende Phasenseparation weniger vorteilhaft zu sein als die homogene Topographie einer definiert bei 25 °C und $\alpha_g = 50\text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ getrockneten Probe: Die Enzymaktivität ist um $3,8\%$ geringer (vgl. weiße Dreiecke und hellgraue Rauten mit $\dot{m} = 0,4\text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ in Abbildung 4.8). Die gute Reproduzierbarkeit – verdeutlicht durch die geringe Streuung der Datenpunkte der Enzymaktivität – lässt sich sehr wahrscheinlich auf die geringe Belastung dieses Trocknungsszenarios zurückführen. Ebenso belegen die kleinen Fehlerbalken jedes Datenpunkts eine gute Wiederholgenauigkeit bei der Enzymkonzentrationsbestimmung (vgl. allgemeine Erläuterungen auf Seite 111 sowie Fußnote 11). Im Gegensatz zu den vorherigen Szenarien erfordert diese Einstellung keinen maximalen Schutz des Enzyms durch die Polymermatrix, sodass die Anforderungen an die Matrix geringer sind: Auch bei weniger homogenen Schicht lassen sich reproduzierbare Ergebnisse in der Enzymaktivität erzielen. Eine einheitliche und homogene Beschichtung ist aber ein wichtiges Merkmal zur Gewährleistung der Produktqualität in Serienproduktion.

Abschließend konnte durch Betrachtung des Grenzfalls einer langsamen und schonenden Trocknung erstmals gezeigt werden, dass die Enzymaktivität mit steigender Trocknungsrate erhalten bleibt und die Trocknung insgesamt auch bei höheren Trocknungsraten bis zu $\dot{m} < 1,5\text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ einen geringen Einfluss auf die Funktionalität des Enzyms hat. Sie kommt erst bei sehr hohen Trocknungsraten mit $\dot{m} > 3,0\text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ bzw. intensivierten Bedingungen, wie $T > 80\text{ °C}$ oder $\alpha_g > 50\text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$, zum Tragen. Der Vergleich mit den Erkenntnissen aus dem Labor belegt zudem die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf industriennahe Bedingungen im Rahmen eines späteren Scale-ups. Dabei konnte unter definierten Trocknungsbedingungen bei Trocknungsraten bis zu $\dot{m} < 1,5\text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ eine Verbesserung hinsichtlich Homogenität und zum Teil der Reproduzierbarkeit gegenüber dem worst-case Szenario erzielt werden. Mit steigender Trocknungsrate tritt allerdings die Schichtmorphologie der Polymerkompositmatrix mehr in den Vordergrund (vgl. Gesamtübersicht in Abbildung A.37 im Anhang). Es ist wichtig, wie stark die

Struktur durch die gewählten Trocknungsparameter beeinflusst wird. Hierbei resultieren homogenere Schichten in einer verbesserten Reproduzierbarkeit, welche anhand der geringeren Streuung der Ergebnisse erkennbar ist. Bei einer schonenden Trocknung ist dies aufgrund der geringen Belastung des Enzyms nicht erforderlich.

Zugleich zeigt dieser Grenzfall, dass die fehlende Differenz zu 100 % Aktivität, welche frisch angesetzte FAD-GDH in Puffer gelöst maximal erreicht, für die Filme mit $\dot{m} < 1,5 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$ nicht durch die Trocknung selbst (vgl. Abschnitt 2.2) verursacht wird. Wahrscheinlicher ist, dass bereits bei der Ansatzführung ein Teil der Enzymmoleküle ihre hochgradig geordnete und katalytisch aktive Konformation verlieren²⁴. In der Polymerkompositmatrix eingebettet bietet der Film bei Erhöhung der Trocknungsrate einen sehr guten Schutz. Entgegen der Erwartungen nimmt er bei schneller Trocknung ein wenig ab, insgesamt bleibt die Enzymaktivität aber oberhalb von 70 % und somit auf einem recht hohen Niveau.

Zuletzt ist anzumerken, dass zur Evaluierung der Herausforderungen bei der Prozessierung das Stoffsystem, wie auch Zusammensetzung und Feststoffgehalt, konstant gehalten und Trocknungsparameter variiert wurden. Für künftige Arbeiten wäre es sinnvoll, den Einfluss der Dauer des ersten Trocknungsabschnittes, in welchem das Enzym noch gelöst vorliegt, bei konstanten Trocknungsbedingungen aber variiertem Lösemittelgehalt zu evaluieren. Eine Erhöhung des Lösemittelgehalts führt bei gleicher Nassfilmdicke und einer gasseitig kontrollierten Trocknung nicht nur zu einer Reduktion der Schichtdicke, es verlängert sich zugleich auch die Trocknungszeit des ersten Trocknungsabschnittes. Aufgrund der hohen Sensibilität des Enzyms gegenüber Dauer und Ausmaß eines Temperaturanstiegs im gelösten Zustand wäre es vorstellbar, dass auch der Zeitraum, in dem der Film noch feucht ist, einen Einfluss hat, da beispielsweise die Inaktivierung des Enzyms primär im gelösten Zustand erfolgen könnte. Hierzu wäre eine breitere Datenbasis erforderlich.

²⁴ Eine direkte Analyse der Restaktivität des in der Beschichtungslösung gelösten Enzyms ist aufgrund der Blaufärbung des dispergiert vorliegenden PEDOT:PSS nicht möglich, da die Bestimmung der Enzymkinetik auf der Entfärbung des Redox-Farbstoffes beruht (vgl. Abschnitt 2.6.2).

4.4.4 Langzeitstabilität und Lagerung

Zur Prozessierung katalytisch aktiver Polymerkompositfilme ist es wichtig, dass die Funktionalität des Enzyms auch über einen längeren Zeitraum erhalten bleibt und neben den Einflussfaktoren bei der Trocknung ebenso die Lagerstabilität des Enzyms im eingebetteten Zustand beurteilt wird.

In Abbildung 4.12 ist die katalytische Aktivität von Schichten dargestellt, die unter Standardtrocknungsbedingungen prozessiert wurden und deren Analyse zum Teil direkt nach der Herstellung am nächsten Tag, zum Teil nach 36 Tagen erfolgte (hellgraue Rauten).

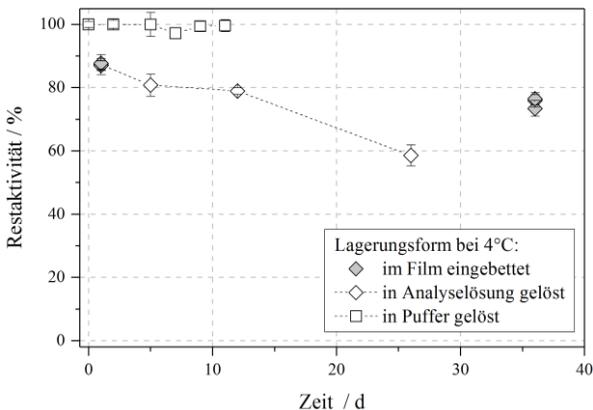


Abbildung 4.12: Restaktivität des Enzyms in Abhängigkeit der verstrichenen Zeit für variierte Lagerungsformen: eingebettet im Film (hellgraue Rauten), aus dem Film herausgelöst und in der Analyselösung gelagert (weiße Rauten) sowie als Stammlösung in Puffer (100 mM Kaliumphosphatpuffer, pH7,0) gelöst (weiße Quadrate). Die Herstellung der Filme erfolgte bei Standardtrocknungsparametern ($T = 40\text{ °C}$, $\alpha_g = 50\text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ und $t = 5\text{ min}$). Zwischen den Analysen wurden Film, Analyselösung bzw. Stammlösung bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

Zum direkten Vergleich der unterschiedlichen Lagerungsformen wurde die Alterung der bei der Filmanalyse erhaltenen Analyselösung des ersten Tages untersucht und die Enzymaktivität des im gelösten Zustand befindlichen Enzyms bestimmt²⁵ (weiße Rauten). Die Stabilität der nativen Enzymlösung, in 100 mM

²⁵ Die aus dem Aktivität-Assay ermittelte molar-spezifische Reaktionsrate bezieht sich auf die native Enzymlösung aus der Kalibrierung (vgl. Abschnitt 2.6), sodass die bestimmte Restaktivität bereits

Kaliumphosphatpuffer gelöste FAD-GDH bei pH 7,0, ist ebenfalls in Abbildung 4.12 gezeigt (weiße Quadrate). Die Lagerung der Filme und der Enzymlösungen erfolgte vor und nach der Analyse im Kühlschrank bei 4 °C.

Im Lieferzustand liegt das Enzym als gelbes, gefriergetrocknetes Pulver vor und ist laut Hersteller bei -20 °C mindestens 12 Monate haltbar, ohne dass es zu einer Verminderung der katalytischen Funktionalität kommt; bei Lagerung des Enzympulvers bei 4 °C bleibt die Restaktivität über 3 Monate nahezu konstant und beträgt nach 6 Monaten immer noch 95 % (Sorachim, 2020). Das in Puffer gelöste Enzym, die Stammlösung, ist bei Aufbewahrung im Kühlschrank bei 4 °C im untersuchten Zeitraum von elf Tagen stabil (weiße Quadrate). Es zeigt keine irreversiblen Konformationsänderungen und kann ohne Beeinträchtigung eine Woche lang verwendet werden (vgl. Abschnitt 2.1). Im Vergleich dazu reduziert sich die Enzymaktivität des in den Film eingebetteten Enzyms im Zeitraum von 35 Tagen im Mittel von 87,3 % auf 75,3 %, was einer relativen Abnahme von 13,8 % entspricht (hellgraue Rauten). Zugleich ist ein leichter Anstieg der Streuung der einzelnen Proben mit zunehmendem Alter zu beobachten (< 1 % für $t = 1$ d, ≈ 3 % für $t = 36$ d).

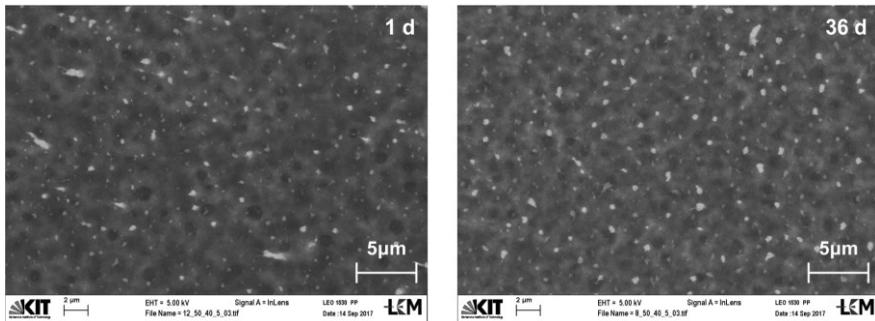


Abbildung 4.13: REM-Aufnahmen von TS 3 mit unterschiedlichem Alter in 10.000-facher Vergrößerung, hergestellt bei Standardtrocknungsrandbedingungen ($T = 40$ °C, $\alpha_g = 50$ W/(m²K) und $t = 5$ min): 1 Tag nach der Beschichtung (links), 36 Tage nach der Beschichtung (rechts). Weitere Abbildungsmaßstäbe sind im Anhang in Abbildung A.36 ergänzt.

Erste Indizien für die Ursache können den REM-Aufnahmen in Abbildung 4.13 entnommen werden, welche die Filmtopographie eines Films von Tag 1 (links)

den Einfluss der Zusammensetzung bei der physikalischen Immobilisierung des Enzyms in die Polymerkompositmatrix berücksichtigt und dadurch nicht 100 % entspricht (vgl. Abschnitt 4.2).

und Tag 36 (rechts) darstellen. Mit zunehmender Lagerungszeit ist auf der Filmoberfläche eine deutlich größere Anzahl an weißen Strukturen zu erkennen, deren zu Beginn zum Teil tropfenförmiges Aussehen (links) in ein eher punktförmiges Erscheinungsbild übergeht und auf eine Umlagerung von Salz und ggf. auch Enzym hinweist²⁶. Parallel erhöht sich die Rauheit von 19 nm auf 24 nm (vgl. AFM-Aufnahmen in Abbildung A.36 unten im Anhang). Diese Beobachtungen scheinen auf ein Voranschreiten der bereits beobachteten Phasenseparation hinzuweisen, indem Salz und Enzym vermehrt zur Oberfläche migrieren. Es besteht die Möglichkeit, dass die Umlagerung und eine dadurch bedingte, potentielle Exposition des Enzyms an der Oberfläche die Zunahme der Streuung der Proben verursacht und so ein einheitlicher Schutz in der Polymerkompositmatrix nicht mehr über die gesamte Filmoberfläche gewährleistet wird.

Insgesamt ist festzuhalten, dass die Immobilisierung des Enzyms in der Polymerkompositmatrix trotz einer zu beobachtenden Inaktivierung einen positiven Einfluss auf Stabilität des Enzyms ausübt. Der Vergleich der Enzymlagerung im gelösten Zustand in der Analyselösung (weiße Rauten in Abbildung 4.12) zeigt eine Reduktion der katalytischen Aktivität auf 57 % nach bereits 26 Tagen. Dies entspricht einem Aktivitätsverlust von 32,9 % bezogen auf die Funktionalität an Tag 1 und bestätigt im direkten Vergleich eine Langzeitstabilität des eingebetteten Enzyms bei Lagerung im Kühlschrank. Auch verglichen mit Literaturdaten ist eine Lagerstabilität von einem Monat akzeptabel, da Arslan et al. (2006) für einen Invertase-Biosensor nach 25 Tagen beispielsweise keine Enzymaktivität mehr detektieren. Für einen industriellen Einsatz ist die Zeitspanne von einem Monat noch deutlich zu kurz. Hierzu sollten in künftigen Arbeiten größere Lagerungsdauern untersucht und eine mögliche Verkapselung des Films in Erwägung gezogen werden. Dennoch sind die ersten Ergebnisse vielversprechend und zeigen eine Stabilisierung des Enzyms durch die Polymerkompositmatrix.

Abschließend kann zusammengefasst werden, dass die Sensitivität des Enzyms gegenüber Trocknung und Herstellung deutlich geringer ist als erwartet. Bei der gewählten Filmzusammensetzung bietet die Polymerkompositmatrix nicht nur unter extremen Trocknungsbedingungen einen guten Schutz, dieser bleibt zugleich auch für einen längeren Zeitraum erhalten. Für die Prozessierung bedeutet dies eine grö-

²⁶ Für ein umfassendes Bild sind im Anhang in Abbildung A.36 weitere Abbildungsmaßstäbe ergänzt.

ßere Flexibilität bei der Wahl der Prozessparameter, sodass künftig die Standardtrocknungsbedingungen angepasst und beispielsweise auch die Annealingtemperatur erhöht werden kann.

4.5 Analyse der elektrischen Leitfähigkeit eines katalytisch aktiven Films – Proof of Concept

Mit dem Ziel einer zuverlässigen Überprüfung der katalytischen Aktivität bei der Immobilisierung funktionaler Biomoleküle in elektrisch leitfähige Polymerkompositsschichten beschäftigt sich der erste Teil der Arbeit (Kapitel 3) mit der Prozessierung der Polymerkompositmatrix ohne Enzym. Ausgangspunkt ist die Erhaltung und Gewährleistung einer möglichst guten Prozesskontrolle in Verbindung mit der Erfassung, Einschätzung und Beurteilung der Haupteinflussfaktoren. Die nur begrenzt verfügbare Komponente FAD-GDH musste zudem sparsam eingesetzt werden. Im Mittelpunkt stehen daher zunächst die charakteristischen Kenngrößen wie Homogenität und elektrische Leitfähigkeit.

Der zweite Teil (Kapitel 4) widmet sich der katalytischen Funktionalität der Polymerkompositmatrix und berücksichtigt dazu das Enzym. Hauptaugenmerk liegt auf dem Erhalt der katalytischen Aktivität sowie der Erarbeitung und Bewertung der dominierenden Einflussparameter auf diese während der Prozessierung, da eine potentiell sofortige Inaktivierung und folglich damit verbundener Verlust des teuren Enzyms vermieden werden sollte. Daher erfolgte in diesem Kontext eine ausführliche Analyse der Enzymaktivität, die elektrische Leitfähigkeit stand nicht im Fokus. Bei der Filmanalyse wird das Enzym aus dem Film herausgelöst, wodurch die Schicht zum Teil zerstört wird. Eine Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit des Films wäre im Anschluss an die Enzymfreisetzung aufgrund der invasiven Methodik der Filmanalyse (vgl. Abschnitt 2.6.3) nicht möglich gewesen. Daher erfolgt in diesem Abschnitt separat eine direkte Analyse eines katalytisch aktiven Films und somit eine Prüfung der grundsätzlichen Übertragbarkeit im Rahmen eines allgemeinen ‚proof of concept‘. Ziel ist die Evaluation der elektrischen Leitfähigkeit am Beispiel eines der in Abschnitt 4.1 vorgestellten Testsystems.

Mit Blick auf den ersten Teil der Arbeit (Kapitel 3 bzw. Abschnitte 3.3 und 3.6) stehen die Polymerblends PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 im Fokus, deren Polymerkompositmatrix 40 Gew.-% bzw. 20 Gew.-% PEDOT:PSS enthalten (vgl. Tabelle 2). Schichten beider Zusammensetzungen erreichen nicht die als Richtwert

postulierte, theoretische Mindestleitfähigkeit von 1 S/m (Tsuji-mura et al., 2006; Yamashita et al., 2013), wobei PEDOT:PSS40 diese abhängig von der Schichtdicke nur geringfügig unterschreitet, wohingegen PEDOT:PSS20 mit einer elektrischen Leitfähigkeit im Bereich von 0,1 S/m bereits eine Dekade darunter liegt.

In Anlehnung an Abschnitt 4.2, in dem die Optimierung der Filmzusammensetzung erfolgt, wird TS 7, ein Stoffsystem mit 30 Gew.-% PEDOT:PSS, für diese Fallstudie ausgewählt. Mit einer Zusammensetzung von $x_{s,PEDOT:PSS} = 30$ Gew.-%, $x_{s,PVA} = 26$ Gew.-%, $x_{s,Enzym} = 17$ Gew.-% und $x_{s,Salz} = 27$ Gew.-% repräsentiert TS 7 ein Stoffsystem mit dem höchsten möglichen PEDOT:PSS-Anteil und zugleich aktivem Enzym, da für Testsysteme mit 40 Gew.-% PEDOT:PSS (TS 8 und 9) keine katalytische Aktivität detektierbar war. Unter den untersuchten Testsystemen ist es u. a. der Kandidat mit der höchsten Enzymaktivität. Auch wenn TS 7 nicht die definierten Anforderungen an die Prozessierbarkeit erfüllt, da der geringe PVA-Gehalt im Verhältnis zum Salzanteil die Filmqualität beeinträchtigt, wird das Enzym dennoch ausreichend geschützt, wie eine mittlere Aktivität von 93 % gezeigt hat. Um nicht zu stark von der theoretisch erforderlichen Mindestleitfähigkeit abzuweichen und auch eine potentielle Limitierung durch die Messtechnik auszuschließen, wird dieses System für eine grundsätzliche Einordnung der elektrischen Leitfähigkeit im Vergleich zu PEDOT:PSS40, PEDOT:PSS20 sowie der theoretischen Leitfähigkeit im Rahmen des ‚proof of concept‘ verwendet.

In Abbildung 4.14 ist die elektrische Leitfähigkeit von Schichten gemäß TS 7 mit einer Schichtdicke von 750 nm dargestellt. Die erläuterte Inhomogenität von Schichten dieser Zusammensetzung ist die Ursache für die relativ langen Fehlerbalken in der Schichtdicke (vgl. Abschnitt 4.2.2). Zusätzlich sind die aus den Messdaten empirisch ermittelten Potenzansätze zur Beschreibung der schichtdickenabhängigen elektrischen Leitfähigkeit von PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 aufgeführt (vgl. Abschnitt 3.3.2) und die aus der Literatur abgeleitete, theoretisch erforderliche elektrische Leitfähigkeit ist ergänzt (Tsuji-mura et al., 2006; Yamashita et al., 2013).

Es ist deutlich zu sehen, dass die gemessene elektrische Leitfähigkeit (2,7 S/m im Mittel) mehr als eine bzw. fast zwei Dekaden oberhalb des für PEDOT:PSS40 bzw. PEDOT:PSS20 erwarteten Wertes liegt (vgl. $\sigma_{PVA60} = 0,184$ S/m bzw. $\sigma_{PVA80} = 0,072$ S/m, jeweils bei $h_{tr} = 750$ nm). Für einen Film mit 30 Gew.-% PEDOT:PSS (und 70 Gew.-% PVA) wäre eine elektrische Leitfähigkeit zwischen PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 zu erwarten gewesen. Somit lässt sich für dieses

System eine Steigerung der elektrischen Leitfähigkeit erkennen, welche im Vergleich mit einem Film mit gleichem PEDOT:PSS-Gehalt, aber ohne Salz und Enzym in etwa der theoretisch erforderlichen elektrischen Leitfähigkeit entspricht.

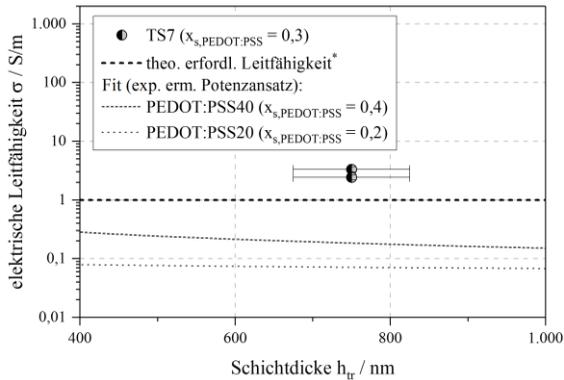


Abbildung 4.14: Elektrische Leitfähigkeit des untersuchten Testsystems TS 7 in S/m in Abhängigkeit der Trockenschichtdicke in nm im Vergleich zu den gefitteten Potenzansätzen (gestrichelte Linien) für PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20. Die Prozessierung der Schichten erfolgte per Rakelverfahren am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei Standardbeschichtungs- und Trocknungsbedingungen.

*Aus der Literatur wird als Richtwert eine theoretisch erforderliche Mindestleitfähigkeit von in etwa 1 S/m abgeleitet (Tsujimura et al., 2006; Yamashita et al., 2013).

Ein Blick in die Literatur zeigt, dass Salze in PEDOT:PSS-Filmen u. a. als sekundärer Dotand zugesetzt werden, um eine Leitfähigkeitssteigerung zu erreichen (Apraksin et al., 2017; Elschner et al., 2011; Liu et al., 2020; Mazaheripour et al., 2018; Xia et al., 2010; Xia & Ouyang, 2009; Zhao et al., 2015; Zhu et al., 2016; Zhu et al., 2015). Abhängig von Salz, Salzkonzentration und Präparationstechnik lässt sich hierbei eine breite Varianz bezüglich der möglichen Steigerung erzielen. Allen gemein ist eine sogenannte Ionenaustauschreaktion (engl. ion-exchange reaction), in welcher PEDOT nicht länger als Gegenion zu PSS im Polyelektrolyt-komplexes fungiert, sondern durch das Salzkation substituiert wird. Analog bildet PEDOT intermolekulare Wechselwirkungen mit dem Salzanion aus. Durch diesen Austausch werden die Coulomb-Wechselwirkungen zwischen PEDOT und PSS geschwächt, es ergibt sich eine größere Mobilität der Ladungsträger innerhalb der PEDOT-reichen Bereiche; die elektrische Leitfähigkeit nimmt zu (Apraksin et al., 2017; Xia et al., 2010; Xia & Ouyang, 2009; Zhao et al., 2015; Zhu et al., 2016; Zhu et al., 2015). Der Erfolg der Austauschreaktion bestimmt die Größenordnung

des Verstärkungsfaktors der elektrischen Leitfähigkeit und wird in erster Linie durch das Kation selbst, die Ionenkonzentration sowie durch den sogenannten ‘softness parameter’²⁷ des Kations gesteuert (Liu et al., 2020; Xia & Ouyang, 2009). Laut Xia et al. (2010) spielt das Anion eine untergeordnete Rolle, allerdings begünstigt eine hohe Säurekonstante der korrespondierenden Säure die Salzdissoziation und die Ionenaustauschreaktion²⁸.

Nach aktuellem Wissensstand sind in der Literatur keine Forschungsergebnisse zu finden, in denen direkt die Salze eines Kaliumphosphatpuffers²⁹ als Additiv zur Leitfähigkeitssteigerung verwendet werden. Primär Salze aus multikovalenten Kationen und kleinen Anionen, wie bspw. CuCl_2 , kommen zum Einsatz. Ein direkter Vergleich ist daher nur schwer möglich. Trotzdem kann die beobachtete Verbesserung der elektrischen Leitfähigkeit für Filme mit gleichem PEDOT:PSS-Gehalt möglicherweise durch Anwesenheit der Puffersalze erklärt werden. Silva et al. (2008) berichten, dass die Zugabe von Kaliumdihydrogenphosphatsalz zur Beschichtungslösung von PEDOT:PSS-Filmen in einer Verbesserung der Leitfähigkeit resultiert, welche sie u. a. mit Hilfe von theoretischen Modellierungen auf eine Ausrichtung der Polymerketten zurückführen (Silva et al., 2011). Im Zusammenhang mit Hydrogelen kommt vermehrt PEDOT:PSS zum Aufbau eines leitfähigen Hydrogelgerüsts zum Einsatz (Åsberg & Inganäs, 2003; Słoniewska et al., 2020). Åsberg und Inganäs (2003) synthetisieren bspw. ein gepuffertes³⁰ Hydrogel aus PEDOT:PSS und Poly(4-vinylpyridin) (P4VPy), das als Enzymelektrode fungiert und erfolgreich bei geringen Spannungen betrieben werden kann. Auch wenn sich der elektrische Widerstand der trockenen Schichten bei Pufferzugabe verdreifacht

²⁷ Der ‘softness parameter’ ist ein Maß für die Bindungsenergie eines Ions zu anderen Ionen (Marcus, 1986) und kann in diesem Zusammenhang als die Bindungsstärke zwischen Kation und PSS betrachtet werden: je positiver, desto besser funktioniert die Austauschreaktion und desto größer ist die Leitfähigkeitssteigerung (Xia & Ouyang, 2009).

²⁸ Die Substitution der Ionen und der dadurch erzielte Abschirm-Effekt werden abhängig von der Präparationstechnik zusätzlich durch das Auswaschen des nicht leitfähigen PSS verstärkt. Bspw. wird durch eine Nachbehandlung von PEDOT:PSS-Filmen mit wässriger Salzlösung eine größere Steigerung erreicht, als dies durch Zugabe des Salzes direkt in die Beschichtungslösung möglich ist (Apraksin et al., 2017; Xia & Ouyang, 2009; Zhao et al., 2015). Wie Zhao et al. (2015) anmerken, lässt sich allerdings durch letzteres Vorgehen die Leitfähigkeit kontrollierter optimieren.

²⁹ Der in der Arbeit verwendete Puffer wird aus Phosphatsalzen hergestellt mit Dikaliumhydrogenphosphat Trihydrat ($K_2HPO_4 \cdot H_2O$) als Base und Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) als Säure.

³⁰ Das verwendete Puffersystem der Forschungsarbeit besteht aus Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) und Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4).

und für das daraus synthetisierte Hydrogel im Vergleich noch höher liegt, beeinträchtigt dies die Bio-Hydrogel-Elektrode nicht; diese kann ohne Schwierigkeiten verwendet werden. Hierbei darf allerdings nicht übersehen werden, dass der Vergleich des elektrischen Widerstands zu reinen PEDOT:PSS-Schichten erfolgt, so dass der geringere Anteil des leitfähigen Polymers im gepufferten System unberücksichtigt bleibt³¹. Eine Auswirkung der Enzymzugabe auf die Leitfähigkeit beobachteten die Autoren nicht. Słoniewska et al. (2020) evaluieren den Einsatz verschiedener Puffer auf die Eigenschaften eines leitfähigen PEDOT:PSS-Hydrogels während dessen Synthese und bewerten den Phosphatpuffer als das geeignetere Material u. a. aufgrund einer besseren Elektroaktivität. Auch wenn die letzten beiden Literaturbeispiele Eigenschaften von Hydrogelen beschreiben, welche im Rahmen dieser Arbeit nicht hergestellt wurden, übt der Phosphatpuffer einen positiven Einfluss auf die Eigenschaften der Elektrode aus und beeinträchtigt deren Performance kaum.

Zusammengefasst belegt das Beispiel, dass auch ein katalytisch aktiver Polymerkompositfilm weiterhin elektrisch leitfähig ist und eine Steigerung gegenüber der erwarteten elektrischen Leitfähigkeit erzielt wird, welche für das untersuchte Testsystem leicht oberhalb des definierten Richtwerts liegt. Mit Blick auf das ‚proof of concept‘ in diesem Abschnitt wurden die Erwartungen für TS 7 übertroffen und keine Limitierung durch die Messtechnik beobachtet. Da jedoch die Prozessierbarkeit dieses Testsystems eingeschränkt ist und die Filmherstellung nur mit einer verminderten Wiederholgenauigkeit und reduzierten Vergleichspräzision zu Kosten der Filmqualität erfolgen kann, sollte im Rahmen weiterführender Arbeiten die Analyse der elektrischen Leitfähigkeit katalytisch aktiver Filme fortgesetzt werden. Basierend auf den Ergebnissen aus Kapitel 4 und den Erkenntnissen des ‚proof of concept‘ bietet sich hierfür TS 3 an, da dieses als vielversprechender Kandidat über eine gute Prozessierbarkeit verfügt und sich dessen Schichten durch eine hohe Homogenität und katalytische Funktionalität auszeichnen.

³¹ Ein Vergleich der elektrischen Leitfähigkeit der TS 7-Schichten mit reinen PEDOT:PSS-Filmen (PEDOT:PSS100) dieser Arbeit würde ebenfalls eine Reduktion der Leitfähigkeit ergeben (vgl. Abbildung 3.4).

4.6 Fazit

Während im ersten Teil der Arbeit (vgl. Kapitel 3) die Prozessierung der Polymerkompositmatrix ohne Enzym, bestehend aus PVA und PEDOT:PSS, sowie deren Eigenschaften im Mittelpunkt standen, widmet sich der zweite Teil (vgl. Kapitel 4) der katalytischen Funktionalität des Enzyms. Ziel ist deren Erhaltung sowie eine fundierte Evaluation, welche Einflussfaktoren bei der Prozessierung eine Rolle spielen und berücksichtigt werden müssen (vgl. Abschnitt 1.3).

Durch Anwesenheit des in Puffer gelösten Enzyms ergibt sich für die katalytisch aktiven Polymerkompositfilme ein quaternäres System, für welches zunächst die Prozessierung homogener Schichten mit hoher Qualität und hoher Enzymaktivität in Abhängigkeit der Zusammensetzung analysiert wurde. Dem Filmbildner PVA fällt hierbei eine Schlüsselrolle zu. Bei Variation der Filmzusammensetzung zeigt sich, dass bei konstantem Feststoffgehalt insbesondere das Verhältnis des Massenbruchs von Salz zu PVA Homogenität und Prozessierbarkeit steuert. So treten oberhalb eines Wertes von $x_{s,Salz}/x_{s,PVA} > 0,8$ unerwünschte Salzkristalle auf, wodurch inhomogenen Filmen mit rauer Oberfläche entstehen. Die Überprüfung belegt, dass für reproduzierbare und belastbare Ergebnisse in der Fertigung, aber auch hinsichtlich der Enzymaktivität die Herstellung homogener, partikelfreier Filme zwingend erforderlich ist (vgl. Abschnitt 4.2.1). Ferner demonstriert die Auswertung der Filmanalyse, dass ein steigender PVA-Gehalt die Bildung homogener Polymerkompositfilme fördert, wodurch zugleich der Schutz des Enzyms verbessert und die Enzymaktivität weniger beeinträchtigt wird (vgl. Abschnitt 4.2.2). Ziel sollte daher die Maximierung des PVA-Gehaltes sein. Darüber hinaus kontrolliert das PEDOT:PSS-zu-Salz-Verhältnis den pH-Wert der Beschichtungslösung, welcher oberhalb 6,0 zur Vermeidung einer Inaktivierung des Enzyms vor der Applikation liegen muss. Zum Erreichen dieses Schwellenwertes sollten beide Komponenten in gleichen Teilen im trockenen Film vorliegen. Unter Berücksichtigung dieser Richtlinien kommen zwei der insgesamt neun untersuchten Zusammensetzungen, TS1 und TS3, als potentielle Kandidaten in Frage. TS 1 besitzt gegenüber TS 3 einen höheren PVA-Gehalt, TS 3 verfügt über einen höheren Enzymanteil. Beide Testsysteme enthalten 20 Gew.-% PEDOT:PSS.

Mit Blick auf den Einfluss der Prozessierung, insbesondere der Trocknung und Lagerung, auf Filmqualität und katalytische Funktionalität wurde TS 3 für die Untersuchungen gewählt, da es aufgrund des größeren Enzymanteils im Vergleich zu TS 1 eine höhere Sensitivität gegenüber möglichen Einflussfaktoren verspricht. In

Anlehnung an die beobachtete Denaturierung des in Puffer gelösten Enzyms oberhalb von 40 °C (vgl. Abbildung 2.2 sowie Abschnitt 1.2.1) wird mit fortschreitender Trocknungstemperatur sowie thermischer Belastungsdauer eine Beschleunigung der Inaktivierung erwartet. Zugleich steht die Trocknung in engem Zusammenhang mit der Morphologieausbildung der Schicht, sodass bspw. die Ausbildung von raueren und inhomogenen Schichten den Verlust der katalytischen Funktionalität begünstigen kann. Im Rahmen verschiedener Trocknungsszenarien wurde daher unter definierten Bedingungen einzelne Trocknungsparameter variiert, während die restlichen konstant gehalten wurden. Hierbei zeigt sich, dass durch die physikalische Immobilisierung des Enzyms in der Polymerkompositmatrix eine deutliche Verbesserung der Thermostabilität erzielt wird. Obwohl mit steigender Trocknungstemperatur die Rauheit der Schichten zunimmt, bleibt die katalytische Aktivität des Enzyms auf hohem Niveau bis Filmtemperaturen von über 80 °C hinaus erhalten. Hierbei sind ausschließlich länger werdende Fehlerbalken und ein Anstieg der Streuung der einzelnen Proben (vgl. allgemeine Erläuterungen auf Seite 111 sowie Fußnote 11) ein Indiz dafür, dass die Abnahme der Schichtqualität auf Kosten der Reproduzierbarkeit erfolgt (vgl. Abschnitt 4.3).

Ähnliche Ergebnisse wurden bei Verlängerung der thermischen Belastungszeit sowie der Erhöhung des Wärmeübergangskoeffizienten erzielt (vgl. Abschnitt 4.4): Durch den umfassenden Schutz des Enzyms in der Polymerkompositmatrix ist nur eine geringe Sensitivität der Enzymaktivität bei zu gleich deutlicher Veränderung der Filmtopographie gegenüber den eingestellten u. a. auch extrem gewählten Trocknungsszenarien zu beobachten. Eine Verlängerung der thermischen Belastungsdauer ruft eine Glättung der Schichten hervor. Auch ein Erhöhung des Wärmeübergangskoeffizienten resultiert in homogeneren Filmen, was möglicherweise auf das Entstehen einer größeren Anzahl an Keimen oder Partikeln zurückzuführen ist, die durch den beschleunigten Lösemittelenzug weniger Zeit zum Wachsen haben (vgl. Abschnitt 4.4.2). Die stärkere thermische Belastung von Enzym und Polymerfilm führt jedoch mit zunehmender Trocknungsrate zu einer Verschlechterung der Reproduzierbarkeit in Filmqualität und katalytischer Aktivität, wie anhand der größeren Streuung der Messpunkte und den länger werdenden Fehlerbalken zu sehen ist.

In gleicher Weise verbessert die physikalische Einbettung die Lagerstabilität des Enzyms im Vergleich zum in Puffer gelösten Zustand. Mit einem Aktivitätsverlust von 13,8 % über einen Zeitraum von über einem Monat kann das im Film eingebettete Enzym als langzeitstabil betrachtet werden. Dies sind vielversprechende

Ergebnisse von anwendungstechnischer Relevanz, insbesondere mit Blick auf das gewählte Einsatzgebiet des Modellstoffsystems (vgl. Abschnitt 4.4.4).

Es ist festzuhalten, dass die Sensitivität des Enzyms gegenüber Trocknung und Herstellung deutlich geringer ist als erwartet und die Enzymaktivität auch bei hohen Trocknungsraten erhalten bleibt. Die Polymerkompositmatrix bietet einen sehr guten Schutz, sodass sich die Enzymaktivität auf recht hohem Niveau (über 70 %) befindet. Topographie und Morphologie der Polymerkompositmatrix hängen jedoch stark von den gewählten Trocknungsparametern ab, wobei eine beschleunigte Trocknungskinetik in den meisten Szenarien zu einer Abnahme der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse führt. Für die Prozessierung ist dies ein positives Resultat, da es eine größere Flexibilität hinsichtlich der Prozessparameterwahl bedeutet. Es ermöglicht eine Anpassung der Standardtrocknungsparameter wie auch die Ergänzung eines zusätzlichen Annealingschrittes. Auf letzteren wurde im Rahmen dieser Arbeit aufgrund der postulierten Temperatursensitivität des Enzyms in Kapitel 3 verzichtet. Ferner lag der Fokus der Untersuchungen auf dem noch unbekanntem Einfluss des Beschichtungsprozesses. Der Vergleich mit den Erkenntnissen aus dem Labor bei einer langsamen Trocknung belegt zudem die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf industriennahe Bedingungen im Rahmen eines späteren Scale-ups. Mit Blick auf die verwendete Filmkomposition von TS 3, das aufgrund seines geringeren PVA-Gehalts bzw. größeren Enzymanteil im Vergleich zu TS 1 eine höhere Sensitivität des Enzyms gegenüber verschiedener Trocknungsszenarien nahelegt, ist für Filme mit letzterer Zusammensetzung nicht mit einer Beeinträchtigung durch den Herstellungsprozess zu rechnen. Dank des maximalen PVA-Gehalts sollte ein umfassender Schutz des Enzyms auch für Filme von TS 1 gewährleistet sein.

Die Thematik der elektrischen Leitfähigkeit eines katalytisch aktiven Polymerkompositfilms wurde in einem allgemeinen ‚proof of concept‘ bzw. einer grundsätzlichen Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Kapitel 3 geprüft. Die Evaluation erfolgte anhand TS 7, welches zwar nicht alle geforderten Kriterien erfüllt, aber mit 30 Gew.-% den höchst möglichen PEDOT:PSS-Anteil bei zugleich noch äußerst aktivem Enzym besitzt und für eine grundsätzliche Einordnung im Vergleich zu PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 ausreichend ist. Mit einer elektrischen Leitfähigkeit leicht oberhalb des definierten Richtwerts wurden die Erwartungen an TS 7 übertroffen, sodass eine Beeinträchtigung der elektrischen Leitfähigkeit durch die Anwesenheit des Enzym ausgeschlossen werden kann. Es zeigt sich, dass der Einsatz von Phosphatpuffer einen positiven Einfluss auf die elektrische Leitfä-

higkeit ausübt. Dieses Resultat bestätigt Hinweise aus der Literatur, die einen Leitfähigkeitsanstieg potentiell der Anwesenheit von Salzen zuschreiben (Åsberg & Inganäs, 2003; Silva et al., 2008; Silva et al. 2011, Słoniewska et al., 2020).

Abschließend ist anzumerken, dass sich aus der Überprüfung der formulierten Arbeitshypothese ein deutlich größeres Prozessfenster für die Beschichtung von Biosensordlösungen ergibt als zunächst angenommen. Mit Blick auf das Ziel der Arbeit, funktionsfähige Biomoleküle unter Wahrung ihrer katalytischen Integrität in elektrisch leitfähigen Polymerkompositschichten zu immobilisieren, ergibt sich ein großes Optimierungspotential, das hinsichtlich möglicher Extreme voll ausgenutzt werden kann. Diese potentiell vorhandenen Limits sollten in künftigen Untersuchungen weiter ausgebaut werden. So wäre bspw. die Untersuchung des Einflusses der Trocknung auf die elektrische Leitfähigkeit katalytisch aktiver Filme sinnvoll, wie bereits in Abschnitt 4.3 und 4.4 erwähnt. Zusammengefasst legt diese Arbeit damit einen wichtigen Grundstein zur Einschätzung wesentlicher Einflussparameter bei der Beschichtung und Trocknung von Biosensordlösungen.

5 Schluss

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ausgangspunkt dieser Arbeit war die Hypothese, dass funktionsfähige Biomoleküle in elektrisch leitfähige Polymerkompositschichten immobilisiert werden können. Ziel ist es, homogene Schichten herzustellen, welche über eine hohe enzymatische Aktivität und eine gute elektrische Leitfähigkeit verfügen. Die Aufgabenstellung umfasste eine detaillierte Analyse des Einflusses des Prozesses auf die Schichteigenschaften, um die industrielle Anwendung und die großflächige Realisierung gedruckter Biosysteme voranzutreiben. Dazu soll die gewählte Komposition an Komponenten als potentielle Materialpaarung Anwendung bei der Entwicklung von amperometrischen Glucose-Biosensoren der dritten Generation finden. Diese neue Generation hat einen direkten Elektronentransfer zwischen Enzym und Elektrode unter Eliminierung des toxischen und leicht degradierenden Mediators zum Ziel.

In Vorbereitung auf die Überprüfung der genannten Hypothese wurden zu Beginn Rahmenbedingungen geschaffen, um eine flächige Prozessierung der Polymerkompositschichten unter definierter Prozesskontrolle zu ermöglichen. Für die angestrebte Analyse des Zusammenspiels von Prozess und Schichteigenschaften wurde der Fokus auf Homogenität und elektrische Leitfähigkeit gelegt und zunächst auf den Einsatz des teuren Enzyms verzichtet.

Eine genaue Prozesskenntnis, welche eine definierte Kontrolle von Schichtdicke, Homogenität und Reproduzierbarkeit unmittelbar mit einschließt, erlaubt eine erfolgreiche Übertragung vom Labormaßstab hin zu einer kostengünstigen flächigen Massenproduktion. Für gerakelte Polymerkompositschichten wurde im Hinblick auf Schichtdicke und -homogenität eine akzeptable Streuung und Reproduzierbarkeit erzielt, welche durch den Einsatz des vordosierten Schlitzgussverfahrens auf 99 % gesteigert werden konnte. Durch Implementierung geeigneter Maßnahmen und Optimierungen in der Prozessführung ist bei diskontinuierlicher Fahrweise eine äußerst genaue und reproduzierbare Einstellung der Schichtdicke möglich, sodass keine Einschränkungen gegenüber dem im Allgemeinen kontinuierlich be-

triebenen Schlitzgussverfahren auftreten. Damit wurden zugleich die Voraussetzungen für ein erfolgreiches Scale-up hin zu einer kostengünstigen Massenproduktion geschaffen.

Nach alleiniger Betrachtung der Schichtqualität erforderte die eingangs formulierte Arbeitshypothese eine Quantifizierung der elektrischen Leitfähigkeit der Polymerkompositmatrix, durch welche ein direkter Elektronentransfer hin zur Elektrode gewährleistet werden soll. In Anlehnung an das künftige Einsatzgebiet der Polymerkompositmatrix begünstigt ein hoher PVA-Anteil eine verbesserte Biokompatibilität, zugleich reduziert die postulierte Sensitivität des Enzyms gegenüber äußeren Einflüssen den Parametersatz an verfügbaren Stellschrauben zur möglichen Steigerung der elektrischen Leitfähigkeit: In der Literatur übliche Additive wie bspw. DMSO können nur selektiv eingesetzt werden, um eine teilweise Inaktivierung des Enzyms zu vermeiden. Parallel legt die dokumentierte Temperatursensitivität gelöster Enzymmoleküle nahe, den Einsatz hoher Annealingtemperaturen, ebenso eine potentielle Einflussgröße, zu vermeiden. Um die Ergebnisse auf eine gemeinsame, experimentell abgesicherte Basis zu stellen, wurde zusammensetzungsabhängig die elektrische Leitfähigkeit der Polymerkompositmatrix unter produktionsnahen Beschichtungsbedingungen erfasst und zugleich eine zusammensetzungsabhängige Schichtdickenabhängigkeit aufgezeigt. Eine vergleichende Analyse zeigt, dass dieses Zusammenspiel insbesondere für dünnere Schichten ($h_{tr} < 300$ nm) ausgeprägt ist, der Einfluss mit zunehmender Schichtdicke abnimmt und mittels eines Potenzansatzes quantifiziert werden kann.

Was nun das Zusammenspiel von Beschichtungsprozess und elektrischer Leitfähigkeit angeht, schließt diese Arbeit unmittelbar an die in der Literatur dokumentierte Sensitivität der Schichteigenschaften gegenüber Prozessparametern an und geht gerade durch isolierte Betrachtung des Beschichtungsprozesses, losgelöst vom Trocknungsschritt, über die Untersuchungen in jüngster Zeit hinaus. Unter exakt definierten Randbedingungen hinsichtlich Temperatur und gasseitigem Stoffübergang wurde bei äußerst guter Prozesskontrolle im diskontinuierlich betriebenen Schlitzgussverfahren der Einfluss von Scherkräften auf die elektrische Leitfähigkeit eingehend analysiert. Entgegen den Erwartungen ist keine Beeinflussung durch Scherung, welche bei unterschiedlichen Geschwindigkeiten und Spaltweiten analysiert wurde, bei der Prozessierung zu erkennen. Allein die Schichtdicke zeigt sich bei der Schlitzgussbeschichtung als bestimmende Einflussgröße. Das insbesondere bei der Schleuderbeschichtung beobachtete Wechselspiel von Prozess,

Morphologie und elektrischer Leitfähigkeit legt nahe, dass nicht der reine Beschichtungsprozess, sondern vielmehr die überlagerte und simultan veränderte Trocknungskinetik Ursache für die prozessbedingte Modifikation der elektrischen Leitfähigkeit ist.

Nach sorgfältiger Evaluierung prozessbedingter Einflussparameter erlaubte die Quantifizierung der von der Polymerkompositmatrix absorbierten Wassermenge eine vergleichende Gegenüberstellung des Zusammenspiels zwischen elektrischer Leitfähigkeit und Phasengleichgewichtsverhaltens verschiedener Matrixkompositionen. Basierend auf vorangegangenen Arbeiten zeigen der Flory-Huggins Ansatz sowie das additive Überlagerungsmodell nach Kachel et. al (2013) eine zuverlässige Übereinstimmung mit den experimentellen Daten und ermöglichen eine Quantifizierung des engen Zusammenhangs zur elektrischen Leitfähigkeit. Die Wasseraffinität von PEDOT:PSS wird durch das Zumischen von PVA gesenkt, sodass auch der Einfluss der sorptionsbedingten Leitfähigkeitsänderung abnimmt.

Unter Wahrung einer hohen Produktqualität lässt sich die Polymerkompositmatrix bei definierter Prozesskontrolle ohne Enzym flächig applizieren. Mit Blick auf die zu Beginn angeführte Hypothese – funktionale Biomoleküle unter Wahrung ihrer katalytischen Integrität in eine elektrisch leitfähige Polymerkompositmatrix zu immobilisieren – wurden so die erforderlichen Rahmenbedingungen geschaffen, das Zusammenspiel von Prozess und Schichteigenschaften in Anwesenheit der katalytisch aktiven Komponente zu untersuchen. Um in diesem Stadium der Biosensorentwicklung keinen vollständigen Sensor bereitstellen zu müssen, aber dennoch eine umfassende Überprüfung der Arbeitshypothese zu ermöglichen, wurde als Analysewerkzeug ein spektrophotometrisches Nachweisverfahren entwickelt, das über die Enzymkinetik die katalytische Funktion des Enzyms bestimmt. Nach Ausarbeitung und Validierung einer geeigneten Auswerteroutine erlaubt die sogenannte Filmanalyse die Quantifizierung der katalytischen Aktivität der in Polymerkompositsschichten eingebetteten Enzymmoleküle, sodass schlussendlich die Haupteinflussfaktoren auf die Schichteigenschaften bei der Prozessierung möglichst getreu abgebildet werden können. Dazu wurde der Fokus dieser Arbeit auf Schichtqualität bzw. Prozessierbarkeit sowie katalytische Funktionalität gelegt.

Unter Berücksichtigung des Wechselspiels der Komponenten im Film wurden Richtlinien abgeleitet, die die Prozessierung katalytisch aktiver Polymerkompositsschichten erlauben. Die Anwesenheit des in Puffer gelösten Enzyms führt zunächst zu einem quaternären System, welches im Hinblick auf die genannten Größen bei konstanten Beschichtungs- und Trocknungsbedingungen optimiert wurde.

Dabei fällt insbesondere dem Filmbildner PVA eine Schlüsselrolle zu. Bei Variation der Filmzusammensetzung zeigt sich, dass das Verhältnis Salz-zu-PVA Homogenität und Prozessierbarkeit steuert und sich homogenere Filme mit Blick auf belastbare und reproduzierbare Ergebnisse in der Fertigung als vorteilhaft erweisen. Parallel fördert ein steigender PVA-Gehalt die Bildung homogener Schichten und schafft einheitliche Voraussetzungen zur Immobilisierung des Enzyms. Dadurch wird insbesondere der Schutz des Enzyms verbessert wie auch dessen unerwünschte Inaktivierung gemindert. Zugleich kontrolliert das PEDOT:PSS-zu-Salz-Verhältnis den pH-Wert der Beschichtungslösung, in welcher die Feststoffanteile beider Komponenten in etwa einander entsprechen sollten, um einer vorzeitigen Denaturierung des Enzyms entgegenzuwirken. Am Ende ergaben sich zwei Kompositionen, die als potentielle Kandidaten zur weiteren Analyse in Frage kommen, wobei eines über einen höheren PVA-Anteil verfügt, während das andere den höheren Enzymanteil besitzt.

Was nun den Einfluss der Prozessierung auf die Schichteigenschaften anbelangt, wurde in dieser Arbeit der Fokus auf Trocknung und Lagerung gelegt, da Temperatur, Expositionsdauer und Alter sich in einer vergleichenden Gegenüberstellung zu den Ergebnissen des gelösten Enzyms als Hauptbelastungsfaktoren hinsichtlich der katalytischen Funktionalität erwiesen haben. Mit Blick auf das verwendete Stoffsystem wurde auf das mit dem höheren Enzymanteil zurückgegriffen. Eine größere Menge an Enzym soll eine höhere Sensitivität gegenüber potentiellen Einflussfaktoren bei der Prozessierung gewährleisten und so eine leichtere Identifikation von letzteren ermöglichen. Unter exakt definierten Randbedingungen bezüglich Temperatur, gaseitigem Stoffübergang und Expositionsdauer wurde eine erhebliche Steigerung der Thermostabilität des Enzyms im eingebetteten Zustand beobachtet, sodass insgesamt eine geringe Empfindlichkeit der Enzymaktivität gegenüber Trocknungstemperatur, -geschwindigkeit oder thermischer Belastungsdauer festzuhalten ist. In gleicher Weise verbessert die physikalische Einbettung des Enzyms dessen Lagerstabilität im Vergleich zum in Puffer gelösten Zustand. Die Polymerkompositmatrix bietet folglich einen sehr guten Schutz, was sich als Vorteil zur Unterstützung der genannten Hypothese der Wahrung der katalytischen Integrität bei der Prozessierung erweist. Die Ausbildung der Schichtmorphologie hängt zugleich stark von der thermischen Geschichte des Films ab. Bei zunehmender Intensivierung der Trocknungsbedingungen ist eine Abnahme der Reproduzierbarkeit mit einer Verschlechterung der Filmqualität verbunden, wie die Zunahme der Rauheit und die länger werdenden Fehlerbalken belegen. Aber auch eine insgesamt größere Streuung der Daten bei beschleunigter Trocknungskinetik

legt nahe, dass die Prozessierung von raueren und inhomogenen Schichten den unerwünschten Verlust der katalytischen Aktivität begünstigen kann. Mit Blick auf die in Abschnitt 1.2 aufgezeigten Fragestellungen und die daraus abgeleitete Arbeitshypothese (vgl. Abschnitt 1.3) ermöglichen die Resultate eine zwar unerwartete, aber deutlich größere Flexibilität bei der Auswahl der Prozessparameter als zu Beginn angenommen.

Nachdem nach Prüfung des Zusammenspiels von Prozess und katalytischer Funktionalität die Applikation katalytisch aktiver Polymerkompositschichten gewährleistet werden konnte, basierte die Prüfung der elektrischen Leitfähigkeit auf einer vergleichenden Gegenüberstellung. Diese zeigt, dass durch die Anwesenheit des Enzyms nicht mit einer Beeinträchtigung der elektrischen Leitfähigkeit zu rechnen ist, vielmehr die Erwartungen an die gemessene elektrische Leitfähigkeit übertroffen werden. Diese Arbeit wie auch die Literatur legen nahe, dass der Einsatz von Phosphatpuffer sich positiv auf die elektrische Leitfähigkeit auswirken kann.

Schlussendlich zeigt die vorliegende Arbeit, dass eingangs formulierte Hypothese, welche die Überprüfung der katalytischen Aktivität bei der Immobilisierung funktionaler Biomoleküle in elektrisch leitfähige Polymerkompositschichten in Verbindung mit der Erfassung möglicher Einflussgrößen umfasste, für das betrachtete Modellstoffsystem verifiziert werden kann: elektrisch leitfähige Polymerkompositfilme werden mit einer hohen enzymatischen Aktivität und Homogenität prozessiert. Diese Arbeit legt damit einen wichtigen Grundstein zur Einschätzung wesentlicher Einflussparameter bei der Beschichtung und Trocknung von Biosensordlösungen und unterstreicht zugleich die Eignung des Modellstoffsystems als potentielle Materialpaarung künftiger Biosensoren, direkt aus der Flüssigphase beschichtet zu werden. Auf dem Weg hin zu einem späteren voll funktionsfähigen Biosensor ist dank des erlangten Wissens einer kontrollierten Prozessführung eine einfache Hochskalierung hin zur Realisierung einer kostengünstigen Massenproduktion möglich.

5.2 Ausblick

Die gewählte Komposition an Komponenten dieser Arbeit ist angelehnt an die Idee, als Materialpaarung Anwendung bei der Entwicklung von amperometrischen Glucose-Biosensoren der dritten Generation zu finden. Mit Blick auf eine potentielle Eliminierung des toxischen und schnell degradierenden Mediators (Palomera et al., 2011) soll die nächste Generation eine schnellere Signalübertragung, ggf.

auch eine erhöhte Selektivität und Stabilität des Sensors (Gerard et al., 2002) durch einen direkten Elektronentransfer (Adeloju & Wallace, 1996; Ghindilis et al., 1997; Zhao et al., 2008) ermöglichen. Nach aktuellem Stand der Technik werden solche Hybridsysteme meist durch direkte Polymerisation des Polymers in Gegenwart des Enzyms hergestellt, was keine Prozessierung in hohen Stückzahlen erlaubt (Ahuja et al., 2007).

An den Aspekt der Prozessierung schließt die vorliegende Arbeit unmittelbar an und stellt sich auf dem Weg hin zur Produktion kostengünstiger Biosensoren der Herausforderung, Enzymmoleküle unter Erhalt ihrer katalytisch aktiven Funktion flächig direkt aus der Flüssigphase zu applizieren und in eine elektrisch leitfähige Polymerkompositmatrix zu immobilisieren. Durch Beleuchtung der wesentlichen Einflussparameter bei der Beschichtung und Trocknung von Biosensordlösungen leisten die Ergebnisse einen wichtigen Beitrag zur Weiterentwicklung später voll funktionsfähiger Biosensoren. Dank Verifizierung der zentralen Arbeitshypothese aus Abschnitt 1.3 zeigt die Arbeit insbesondere das Potential der direkten physikalischen Einbettung auf und unterstreicht das Modellstoffsystem als vielversprechenden Kandidaten für den genannten Anwendungsbereich.

Vor diesem Hintergrund wird die erlangte Thermostabilität des eingebetteten Enzyms von besonderem Interesse sein, da sie eine willkommene Flexibilität bei der Anpassung neuer Trocknungsparameter verspricht. Gerade im Hinblick auf die thermische Sensitivität der elektrischen Leitfähigkeit von PEDOT:PSS stellt sich darüber hinaus die Frage nach dem auszuschöpfenden Spielraum zur maximalen Optimierung der Schichteigenschaften, wie bspw. die Ergänzung zusätzlicher Nachbehandlungs- oder Annealingschritte. Zur Quantifizierung sensorsensitiver Kenngrößen, wie Schichtdicke, erforderliche Enzymmenge und elektrische Mindestleitfähigkeit allerdings, ist die Fertigung eines finalen Sensors erforderlich, dessen Bau die Umsetzung personell umfangreicher und kostenintensiver Maßnahmen mit einschließt und im Rahmen größerer Forschungs- oder Industrieverbünde in Zukunft umgesetzt werden kann.

Literaturverzeichnis

- Adams, A., Malkoc, A. & Belle, J. T. L. (2018), 'The Development of a Glucose Dehydrogenase 3D-Printed Glucose Sensor: A Proof-of-Concept Study', *Journal of Diabetes Science and Technology* **12**(1), 176–182. PMID: 28633541. <https://doi.org/10.1177/1932296817715272>
- Adeloju, S. B. & Wallace, G. G. (1996), 'Conducting polymers and the bioanalytical sciences: new tools for biomolecular communications. A review', *Analyst* **121**, 699–703. <http://dx.doi.org/10.1039/AN9962100699>
- Ahmed, M. U., Hossain, M. M., Safavieh, M., Wong, Y. L., Rahman, I. A., Zourob, M. & Tamiya, E. (2016), 'Toward the development of smart and low cost point-of-care biosensors based on screen printed electrodes', *Critical Reviews in Biotechnology* **36**(3), 495–505. PMID: 25578718. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.992387>
- Ahuja, T., Mir, I. A., Kumar, D. & Rajesh (2007), 'Biomolecular immobilization on conducting polymers for biosensing applications', *Biomaterials* **28**(5), 791 – 805. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206008489>
- Albers, J. & Berkowitz, H. L. (1985), 'An Alternative Approach to the Calculation of Four-Probe Resistances on Nonuniform Structures', *Journal of The Electrochemical Society* **132**(10), 2453–2456. <http://jes.ecsdl.org/content/132/10/2453.abstract>
- Albery, J. W. & Craston, D. H. (1987), Amperometric enzyme electrodes: theory and experiment, in A. Turner, I. Karube & G. S. Wilson, eds, 'Biosensors: Fundamentals and Applications', 1st edn, New York: Oxford University Press, pp. 180–210.
- Aleshin, A., Williams, S. & Heeger, A. (1998), 'Transport properties of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/poly(styrenesulfonate)', *Synthetic Metals*

- 94(2), 173 – 177.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677997041672>
- Altvater, A. (2015), Experimentelle Bestimmung von Stofftransportgrößen in Polymernanoschichten, Bachelor Thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Alvarez-Icaza, M. & Bilitewski, U. (1993), ‘Mass production of biosensors’, *Analytical Chemistry* **65**(11), 525A–533A.
<https://doi.org/10.1021/ac00059a001>
- Amine, A., Mohammadi, H., Bourais, I. & Palleschi, G. (2006), ‘Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring’, *Biosensors and Bioelectronics* **21**(8), 1405 – 1423.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566305002198>
- Andrei, V., Bethke, K., Madzharova, F., Beeg, S., Knop-Gericke, A., Kneipp, J. & Rademann, K. (2017), ‘Size Dependence of Electrical Conductivity and Thermoelectric Enhancements in Spin-Coated PEDOT:PSS Single and Multiple Layers’, *Advanced Electronic Materials* **3**(2), 1600473.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aelm.201600473>
- Apraksin, R., Volkov, A., Eliseeva, S. & Kondratiev, V. (2017), ‘Influence of addition of lithium salt solution into PEDOT: PSS dispersion on the electrochemical and spectroscopic properties of film electrodes’, *Journal of Solid State Electrochemistry* **21**(12), 3487–3494.
- Arslan, A., Kiralp, S., Toppare, L. & Bozkurt, A. (2006), ‘Novel Conducting Polymer Electrolyte Biosensor Based on Poly(1-vinyl imidazole) and Poly(acrylic acid) Networks’, *Langmuir* **22**(6), 2912–2915.
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la0530539>
- Åsberg, P. & Inganäs, O. (2003), ‘Hydrogels of a conducting conjugated polymer as 3-D enzyme electrode’, *Biosensors and Bioelectronics* **19**(3), 199 – 207.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566303002203>
- Baehnisch, G. & Rauch, M. (n.d.), ‘H.C. Starck veräußert Clevios an Heraeus [Pressemeldung]’.
https://www.hcstarck.com/de/hc_starck_gruppe/presse/pressemitteilungen/pressearchiv/2010/hc_starck_veraeussert_clevios_an_heraeus_und_fokussiert_kernkompetenzen_.html
- Baesch, S., Scharfer, P., Schabel, W. & Francis, L. (2017), ‘Influence of the drying conditions on the particle distribution in particle-filled polymer films: Predictive simulation of the particle distribution during drying’, *Journal of*

- Composite Materials* **51**(24), 3391–3403.
<https://doi.org/10.1177/0021998316687144>
- Bagchi, D. & Menon, R. (2006), ‘Conformational modification of conducting polymer chains by solvents: Small-angle X-ray scattering study’, *Chemical Physics Letters* **425**(1-3), 114 – 117.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009261406006622>
- Bahadr, E. B. & Sezgentürk, M. K. (2015), ‘Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and bioterror/bio warfare analyses’, *Analytical Biochemistry* **478**, 107–120.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269715001086>
- Baunach, M., Jaiser, S., Cavadini, P., Scharfer, P. & Schabel, W. (2015), ‘Local heat transfer characteristics of a slot nozzle array for batch drying of thin films under industrial process conditions’, *Journal of Coatings Technology and Research* **12**(5), 915–920. <http://dx.doi.org/10.1007/s11998-015-9712-1>
- Baunach, M., Jaiser, S., Schmelzle, S., Nirschl, H., Scharfer, P. & Schabel, W. (2016), ‘Delamination behavior of lithium-ion battery anodes: Influence of drying temperature during electrode processing’, *Drying Technology* **34**(4), 462–473. <https://doi.org/10.1080/07373937.2015.1060497>
- Bisswanger, H. (2014), ‘Enzyme assays’, *Perspectives in Science* **1**(1), 41–55. Reporting Enzymology Data - Recommendations and Beyond.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213020914000068>
- Bisswanger, H. (2015a), Allgemeine Eigenschaften von Enzymen, Enzymtests, in ‘Enzyme - Struktur, Kinetik und Anwendungen’, Wiley-VCH, Weinheim, chapter 4, pp. 81–105.
- Bisswanger, H. (2015b), *Enzyme*, Wiley-VCH, Weinheim. <http://swbplus.bsz-bw.de/bsz42911544xcov.htmhttp://lib.myilibrary.com?id=814382>
- Bisswanger, H. (2015c), Passgerechte Enzyme: Immobilisierung, Enzymreaktoren und künstliche Enzyme, in ‘Enzyme - Struktur, Kinetik und Anwendungen’, Wiley-VCH, Weinheim, chapter 12, pp. 251–263.
- Bisswanger, H. (2015d), Struktur der Enzyme, in ‘Enzyme - Struktur, Kinetik und Anwendungen’, Wiley-VCH, Weinheim, chapter 2, pp. 13–45.
- Bisswanger, H. (2017), *Enzyme kinetics - principles and methods*, third, enlarged and improved edition edn, Wiley-VCH, Weinheim. <http://swbplus.bsz-bw.de/bsz492273723cov.htmhttp://dx.doi.org/10.1002/9783527806461>
- Borgmann, S., Schulte, A., Neugebauer, S. & Schuhmann, W. (2012), Amperometric Biosensors, in ‘Bioelectrochemistry’, Vol. 13 of *Advances in*

- Electrochemical Science and Engineering*, Wiley Online Library, chapter 1, pp. 1–84.
- Brown, R. E., Jarvis, K. L. & Hyland, K. J. (1989), ‘Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances’, *Analytical Biochemistry* **180**(1), 136 – 139.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269789901012>
- Burkart, A. (2015), Experimentelle Untersuchung zum Einfluss der Umgebungsfeuchte auf die Leitfähigkeit einer Polymerfilmmatrix, Bachelor thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Buss, F. (2017), Zur Lösemitteldiffusion in Polymernanoschichten: Schichtdicken- und Konzentrationsabhängigkeit, PhD thesis, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe.
<http://dx.doi.org/10.5445/KSP/1000060263>
- Buss, F., Göcke, J., Scharfer, P. & Schabel, W. (2015), ‘From Micro to Nano Thin Polymer Layers: Thickness and Concentration Dependence of Sorption and the Solvent Diffusion Coefficient’, *Macromolecules* **48**(22), 8285–8293.
<https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b01648>
- Buss, F., Roberts, C. C., Crawford, K. S., Peters, K. & Francis, L. F. (2011), ‘Effect of soluble polymer binder on particle distribution in a drying particulate coating’, *Journal of Colloid and Interface Science* **359**(1), 112 – 120. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979711003523>
- Carvalho, M. S. & Kheshgi, H. S. (2000), ‘Low-flow limit in slot coating: Theory and experiments’, *AIChE Journal* **46**(10), 1907–1917.
<http://dx.doi.org/10.1002/aic.690461003>
- Castiglione, K. (2018), Enzymkinetik, in H. Chmiel, R. Takors & D. Weuster-Botz, eds, ‘Bioprozesstechnik’, 4. Auflage edn, Springer Spektrum, Berlin, chapter 1, pp. 1–44.
- Castiglione, K. & Weuster-Botz, D. (2018), Enzymatische Prozesse, in H. Chmiel, R. Takors & D. Weuster-Botz, eds, ‘Bioprozesstechnik’, 4. Auflage edn, Springer Spektrum, Berlin, chapter 10, pp. 409–447.
- Cavadini, P. (2019), ‘CN Drying Technology UG’.
<https://www.dryingtechnology.de>, abgerufen am 15.11.2019
- Cavadini, P., Schabel, W., Scharfer, P. & Wengeler, L. (2013), ‘Vorrichtung für den Wärme- oder Stoffübergang mit hexagonalen Prallstrahldüsen und Verfahren zur Behandlung von Oberflächenschichten’. WO Patent App.

- PCT/EP2012/003,751.
<http://www.google.com/patents/WO2013045026A1?cl=de>
- Cespedes, F. & Alegret, S. (2000), 'New materials for electrochemical sensing II. Rigid carbon-polymer biocomposites', *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **19**(4), 276 – 285.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016599369900179X>
- Chen, C.-h., LaRue, J. C., Nelson, R. D., Kulinsky, L. & Madou, M. J. (2012), 'Electrical Conductivity of Polymer Blends of Poly(3,4-ethylenedioxythiophene): Poly(styrenesulfonate): N-Methyl-2-pyrrolidinone and Polyvinyl Alcohol', *Journal of Applied Polymer Science* **125**(4), 3134–3141. <http://dx.doi.org/10.1002/app.36474>
- Chen, C.-h., Torrents, A., Kulinsky, L., Nelson, R. D., Madou, M. J., Valdevit, L. & LaRue, J. C. (2011), 'Mechanical characterizations of cast Poly(3,4-ethylenedioxythiophene):Poly(styrenesulfonate)/Polyvinyl Alcohol thin films', *Synthetic Metals* **161**, 2259 – 2267.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677911003729>
- Chen, X. & Dong, S. (2003), 'Sol-gel-derived titanium oxide/copolymer composite based glucose biosensor', *Biosensors and Bioelectronics* **18**(8), 999 – 1004.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095656630200221X>
- Choi, K. H., Sajid, M., Aziz, S. & Yang, B.-S. (2015), 'Wide range high speed relative humidity sensor based on PEDOT:PSS-PVA composite on an IDT printed on piezoelectric substrate', *Sensors and Actuators A: Physical* **228**, 40 – 49.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924424715001065>
- Cinti, S. (2017), 'Polymeric Materials for Printed-Based Electroanalytical (Bio)Applications', *Chemosensors* **5**(4). <https://www.mdpi.com/2227-9040/5/4/31>
- Clark Jr., L. C. & Lyons, C. (1962), 'ELECTRODE SYSTEMS FOR CONTINUOUS MONITORING IN CARDIOVASCULAR SURGERY', *Annals of the New York Academy of Sciences* **102**(1), 29–45.

<https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-6632.1962.tb13623.x>

- Cohen, E. & Guttrof, E. (1992), 'Modern Coating and Drying', *Technology VCH*.
- D. E. Koshland, J. (n.d.), 'Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis', **44**, 98–104.
- Dobroth, T. & Erwin, L. (1986), 'Causes of Edge Beads in Cast Films', *Polymer Engineering & Science* **26**(7), 462–467.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pen.760260704>
- Dominguez, G. P. (2015), Untersuchung des Einflusses der Beschichtungsparameter und der Zusammensetzung auf Leitfähigkeit und Homogenität von leitfähigen Polymergemischfilmen, Bachelor thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Donahue, M. J., Sanchez-Sanchez, A., Inal, S., Qu, J., Owens, R. M., Mecerreyes, D., Malliaras, G. G. & Martin, D. C. (2020), 'Tailoring PEDOT properties for applications in bioelectronics', *Materials Science and Engineering: R: Reports* **140**, 100546.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927796X20300048>
- Dongari, N., Sambasivam, R. & Durst, F. (2007), 'Slot coaters operating in their bead mode', *Coating* **40**(12), 10–15.
- Doretto, L., Ferrara, D., Gattolin, P. & Lora, S. (1997), 'Amperometric biosensor with physically immobilized glucose oxidase on a {PVA} cryogel membrane', *Talanta* **44**(5), 859 – 866.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914096021303>
- Doretto, L., Ferrara, D., Gattolin, P., Lora, S., Schiavon, F. & Veronese, F. M. (1998), 'PEG-modified glucose oxidase immobilized on a PVA cryogel membrane for amperometric biosensor applications', *Talanta* **45**(5), 891 – 898. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914097001914>
- Drummond, J. P., Clarkson, S. J., Zetts, J. S., Hopkins, F. K. & Caracci, S. J. (1999), 'Enhanced electro-optic poling in guest-host systems using conductive polymer-based cladding layers', *Applied Physics Letters* **74**(3), 368–370. <https://doi.org/10.1063/1.123073>
- Durst, F. & Wagner, H.-G. (1997), Slot coating, in S. F. Kistler & P. M. Schweizer, eds, 'Liquid Film Coating - Scientific principles and their technological implications', Chapman & Hall, chapter 11a, pp. 401–426.
- Ekhlaspour, L., Mondesir, D., Lautsch, N., Balliro, C., Hillard, M., Magyar, K., Radocchia, L. G., Esmaeili, A., Sinha, M. & Russell, S. J. (2017),

- 'Comparative Accuracy of 17 Point-of-Care Glucose Meters', *Journal of Diabetes Science and Technology* **11**(3), 558–566. PMID: 27697848.
<https://doi.org/10.1177/1932296816672237>
- Elschner, A., Kirchmeyer, S., Lovenich, W., Merker, U. & Reuter, K. (2011), *PEDOT: principles and applications of an intrinsically conductive polymer*, CRC Press. <http://lib.myilibrary.com/detail.asp?id=290229>
- Fapyane, D., Lee, S.-J., Kang, S.-H., Lim, D.-H., Cho, K.-K., Nam, T.-h., Ahn, J.-P., Ahn, J.-H., Kim, S.-W. & Chang, I. S. (2013), 'High performance enzyme fuel cells using a genetically expressed FAD-dependent glucose dehydrogenase α -subunit of Burkholderia cepacia immobilized in a carbon nanotube electrode for low glucose conditions', *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 9508–9512. <http://dx.doi.org/10.1039/C3CP51864G>
- Ferri, Stefano; Kojima, K. S. K. (2011), 'Review of glucose oxidases and glucose dehydrogenases: A bird's eye view of glucose sensing enzymes', *Journal of Diabetes Science and Technology* **5**(5), 1068–1076.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3208862/>
- Flory, P. J. (1953), *Principles of polymer chemistry*, The George Fisher Baker non-resident lectureship in chemistry at Cornell University, Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Forrow, N. J. & Bayliff, S. W. (2005), 'A commercial whole blood glucose biosensor with a low sensitivity to hematocrit based on an impregnated porous carbon Electrode', *Biosensors and Bioelectronics* **21**(4), 581–587.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566304006086>
- Gerard, M., Chaubey, A. & Malhotra, B. (2002), 'Application of conducting polymers to biosensors', *Biosensors and Bioelectronics* **17**(5), 345 – 359.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566301003128>
- Ghindilis, A. L., Atanasov, P. & Wilkins, E. (1997), 'Enzyme-catalyzed direct electron transfer: Fundamentals and analytical applications', *Electroanalysis* **9**(9), 661–674. <http://dx.doi.org/10.1002/elan.1140090902>
- Gonzalez-Macia, L. & Killard, A. (2017), 4 - Screen printing and other scalable point of care (POC) biosensor processing technologies, in R. J. Narayan, ed., 'Medical Biosensors for Point of Care (POC) Applications', Woodhead Publishing, pp. 69 – 98.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081000724000046>
- Greco, F., Zucca, A., Taccola, S., Menciasci, A., Fujie, T., Haniuda, H., Takeoka, S., Dario, P. & Mattoli, V. (2011), 'Ultra-thin conductive free-standing

- PEDOT/PSS nanofilms', *Soft Matter* **7**, 10642–10650.
<http://dx.doi.org/10.1039/C1SM06174G>
- Guascito, M. R., Chirizzi, D., Malitesta, C., Giotta, L., Mastrogiacomo, D., Valli, L. & Stabili, L. (2014), 'Development and characterization of a novel bioactive polymer with antibacterial and lysozyme-like activity', *Biopolymers* **101**(5), 461–470. <http://dx.doi.org/10.1002/bip.22404>
- Guascito, M. R., Chirizzi, D., Malitesta, C. & Mazzotta, E. (2011), 'Mediator-free amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase entrapped in poly(vinyl alcohol) matrix', *The Analyst* **136**(1), 164–173.
<http://dx.doi.org/10.1039/c0an00194e>
- Gutoff, E. B. & Cohen, E. D. (2006), *Coating and drying defects: Troubleshooting Operating Problems*, John Wiley & Sons.
- Haas, V. (2015), Experimentelle Untersuchung zum Einfluss der katalytischen Aktivität eines in einer Polymerfilmmatrix eingebetteten Enzyms, Bachelor thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Hall, E. A. H. (1995), *Biosensoren : mit 24 Tabellen*, Biotechnologie, Springer.
<https://www.gbv.de/dms/ohb-opac/172750539.pdf>
- Heller, A. & Feldman, B. (2008), 'Electrochemical glucose sensors and their applications in diabetes management', *Chemical Reviews* **108**(7), 2482–2505. PMID: 18465900. <http://dx.doi.org/10.1021/cr068069y>
- Higgins, B. & Scriven, L. (1980), 'Capillary pressure and viscous pressure drop set bounds on coating bead operability', *Chemical Engineering Science* **35**(3), 673 – 682.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009250980800182>
- Hilditch, P. I. & Green, M. J. (1991), 'Disposable electrochemical biosensors', *Analyst* **116**, 1217–1220. <http://dx.doi.org/10.1039/AN9911601217>
- Hopkins, A. R. & Reynolds, J. R. (2000), 'Crystallization Driven Formation of Conducting Polymer Networks in Polymer Blends', *Macromolecules* **33**(14), 5221–5226. <https://doi.org/10.1021/ma991347t>
- Horii, T., Li, Y., Mori, Y. & Okuzaki, H. (2015), 'Correlation between the hierarchical structure and electrical conductivity of PEDOT/PSS', *Polymer Journal* **47**, 695–699.
- Huang, J., Miller, P., de Mello, J., de Mello, A. & Bradley, D. (2003), 'Influence of thermal treatment on the conductivity and morphology of PEDOT/PSS films', *Synthetic Metals* **139**(3), 569 – 572. Proceedings of the Fifth International Topical Conference on Optical Probes of Conjugated Polymers

- and Organic and Inorganic Nanostructures.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677903002807>
- Huang, J., Miller, P., Wilson, J., de Mello, A., de Mello, J. & Bradley, D. (2005), 'Investigation of the Effects of Doping and Post-Deposition Treatments on the Conductivity, Morphology, and Work Function of Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/Poly(styrene sulfonate) Films', *Advanced Functional Materials* **15**(2), 290–296.
<http://dx.doi.org/10.1002/adfm.200400073>
- Illanes, A. (2008), Introduction, in A. Illanes, ed., 'Enzyme biocatalysis - Principles and Applications', Editorial Springer-Verlag New York Inc., United States, chapter 1, pp. 1–56.
- International Diabetes Federation (2019), 'IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium', online. <https://www.diabetesatlas.org/en/>, abgerufen am 04.11.2020
- Jaiser, S., Friske, A., Baunach, M., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017a), 'Development of a three-stage drying profile based on characteristic drying stages for lithium-ion battery anodes', *Drying Technology* **35**(10), 1266–1275. <https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1248975>
- Jaiser, S., Funk, L., Baunach, M., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017b), 'Experimental investigation into battery electrode surfaces: The distribution of liquid at the surface and the emptying of pores during drying', *Journal of Colloid and Interface Science* **494**, 22 – 31.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002197971730070X>
- Jaiser, S., Müller, M., Baunach, M., Bauer, W., Scharfer, P. & Schabel, W. (2016), 'Investigation of film solidification and binder migration during drying of Li-Ion battery anodes', *Journal of Power Sources* **318**, 210 – 219.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775316303561>
- Jaiser, S., Salach, N. S., Baunach, M., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017c), 'Impact of drying conditions and wet film properties on adhesion and film solidification of lithium-ion battery anodes', *Drying Technology* **35**(15), 1807–1817. <https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1276584>
- Jeck, S. (2012), Zum Phasengleichgewicht und Stofftransport in vernetzten Polymersystemen, PhD thesis.
- Jeck, S., Scharfer, P., Schabel, W. & Kind, M. (2011), 'Water sorption in poly(vinyl alcohol) membranes: An experimental and numerical study of solvent diffusion in a crosslinked polymer', *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **50**(5-6), 543–550.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6TFH-511G1J0-3/2/cd28db76d21863b0b4b5152aeb342da1>

- Jönsson, S., Birgersson, J., Crispin, X., Greczynski, G., Osikowicz, W., van der Gon, A. D., Salaneck, W. & Fahlman, M. (2003), 'The effects of solvents on the morphology and sheet resistance in poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-polystyrenesulfonic acid (PEDOT-PSS) films', *Synthetic Metals* **139**(1), 1 – 10. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677902012596>
- Jospeh, A. D. (2012), 'Inkjet reagent deposition for biosensor manufacturing'. <https://patents.google.com/patent/US20120122197A1/en>
- Kachel, S. (2017), Water absorption and transport in protein-polymer mixtures for biosensor films, PhD thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering, München.
- Kachel, S., Scharfer, P. & Schabel, W. (2013), 'Sorption isotherms of mixtures of polymers, proteins and electrolytes - Measurement data and model predictions', *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **68**(0), 45 – 54. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025527011200181X>
- Kawaminami, H., Masao, Y. T., Kitabayashi & Nishiya, Y. (2011), 'Modifizierte flavin-adenin-dinucleotid-abhängige glucose-dehydrogenase'. <https://patents.google.com/patent/EP2083074B1/de>
- Khandelwal, P. C., Agrawal, S. S., Namboothiry, M. A. G. & Gundiah, N. (2014), 'Fabrication of a novel biomaterial with enhanced mechanical and conducting properties', *J. Mater. Chem. B* **2**, 7327–7333. <http://dx.doi.org/10.1039/C4TB01029A>
- Kim, H., Lee, J., Ok, S. & Choe, Y. (2012), 'Effects of pentacene-doped PEDOT:PSS as a hole-conducting layer on the performance characteristics

- of polymer photovoltaic cells', *Nanoscale Research Letters* **7**(1).
<http://dx.doi.org/10.1186/1556-276X-7-5>
- Kirchmeyer, S. & Reuter, K. (2005), 'Scientific importance, properties and growing applications of poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)', *Journal of Materials Chemistry* **15**(21), 2077–2088.
- Kistler, S. F., Schweizer, P. M. et al. (1997), *Liquid Film Coating - Scientific principles and their technological implications*, Chapman & Hall.
- Klempnauer, K.-H., Fischer, L. & Otto, M. K. (2011), Einführung in die Biochemie, in H. Chmiel, ed., 'Bioprozesstechnik', 3. Auflage edn, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, chapter 2, pp. 23–66.
- Koopal, C., Bos, A. & Nolte, R. (1994), 'Third-generation glucose biosensor incorporated in a conducting printing ink', *Sensors and Actuators B: Chemical* **18**(1), 166 – 170.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0925400594870772>
- Kus, M. & Okur, S. (2009), 'Electrical characterization of PEDOT:PSS beyond humidity saturation', *Sensors and Actuators B: Chemical* **143**(1), 177 – 181.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400509006881>
- Lang, U., Naujoks, N. & Dual, J. (2009), 'Mechanical characterization of PEDOT:PSS thin films', *Synthetic Metals* **159**, 473 – 479.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677908003731>
- Lee, I., Kim, G. W., Yang, M. & Taek-Soo, K. (2016), 'Simultaneously Enhancing the Cohesion and Electrical Conductivity of PEDOT:PSS Conductive Polymer Films using DMSO Additives', *ACS Applied Materials & Interfaces* **8**(1), 302–310.
- Lee, S. H., Koh, H. J., Ryu, B. K., Kim, S. J., Jung, H. W. & Hyun, J. C. (2011), 'Operability coating windows and frequency response in slot coating flows from a viscocapillary model', *Chemical Engineering Science* **66**(21), 4953 – 4959. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009250911003873>
- Li, J. & Lin, X. (2007), 'Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in poly(o-aminophenol) film on polypyrrole-Pt nanocomposite modified glassy carbon electrode', *Biosensors and Bioelectronics* **22**(12), 2898 – 2905. Chem and Biosensing Transistors: from materials to systems.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566306005732>
- Liang, B., Li, L., Tang, X., Lang, Q., Wang, H., Li, F., Shi, J., Shen, W., Palchetti, I., Mascini, M. & Liu, A. (2013), 'Microbial surface display of glucose dehydrogenase for amperometric glucose biosensor', *Biosensors*

- and *Bioelectronics* **45**, 19 – 24.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566313000535>
- Liebl, L. (2016), Experimentelle Studie zur Untersuchung der Einflussfaktoren bei der Prozessierung auf die Enzymaktivität in Biosensor-Tinten, Bachelor thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Liese, A., Hilterhaus, L., Howaldt, M. & Chmiel, H. (2011), Enzymkinetik, in H. Chmiel, ed., 'Bioprozesstechnik', 3. Auflage edn, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, chapter 3, pp. 67–98.
- Liu, J., Agarwal, M. & Varahramyan, K. (2008), 'Glucose sensor based on organic thin film transistor using glucose oxidase and conducting polymer', *Sensors and Actuators B: Chemical* **135**(1), 195 – 199.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400508005649>
- Liu, X., Iqbal, A., Ali, N., Qi, R. & Qian, X. (2020), 'Ion-Cross-Linking-Promoted High-Performance Si/PEDOT:PSS Electrodes: The Importance of Cations' Ionic Potential and Softness Parameters', *ACS Applied Materials & Interfaces* **12**(17), 19431–19438. PMID: 32255340.
<https://doi.org/10.1021/acsami.0c00755>
- Liu, Y., Zhang, X., Liu, H., Yu, T. & Deng, J. (1996), 'Immobilization of glucose oxidase onto the blend membrane of poly(vinyl alcohol) and regenerated silk fibroin: morphology and application to glucose biosensor', *Journal of Biotechnology* **46**(2), 131–138.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168165695001824>
- Lu, Y., Li, Y., Pan, J., Wei, P., Liu, N., Wu, B., Cheng, J., Lu, C. & Wang, L. (2012), 'Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/poly(styrenesulfonate)-poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) interpenetrating polymer networks for improving optrode-neural tissue interface in optogenetics', *Biomaterials* **33**(2), 378 – 394.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961211011756>
- Manesh, K., Santhosh, P., Gopalan, A. & Lee, K. (2008), 'Electrocatalytic oxidation of {NADH} at gold nanoparticles loaded poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-poly(styrene sulfonic acid) film modified electrode and integration of alcohol dehydrogenase for alcohol sensing', *Talanta*

- 75(5), 1307 – 1314.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914008000805>
- Marcus, Y. (1986), ‘On enthalpies of hydration, ionization potentials, and the softness of ions’, *Thermochimica Acta* **104**, 389 – 394.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0040603186852133>
- Mazaheripour, A., Majumdar, S., Hanemann-Rawlings, D., Thomas, E. M., McGuiness, C., d’Alencon, L., Chabiny, M. L. & Segalman, R. A. (2018), ‘Tailoring the Seebeck Coefficient of PEDOT:PSS by Controlling Ion Stoichiometry in Ionic Liquid Additives’, *Chemistry of Materials* **30**(14), 4816–4822. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b02114>
- Mehrotra, P. (2016), ‘Biosensors and their applications - A review’, *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* **6**(2), 153–159.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212426815001323>
- Milton, R. D. & Minter, S. D. (2017), ‘Direct enzymatic bioelectrocatalysis: differentiating between myth and reality’, *Journal of The Royal Society Interface* **14**(131), 20170253.
<https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rsif.2017.0253>
- Möhlendick, L. (2017), Parameterstudie zum Einfluss der Scherung auf die Enzymaktivität in Biosensor-Tinten, Bachelor thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Monosik, R., Stredansky, M., Luspai, K., Magdolen, P. & Sturdik, E. (2012), ‘Amperometric glucose biosensor utilizing fad-dependent glucose dehydrogenase immobilized on nanocomposite electrode’, *Enzyme and Microbial Technology* **50**(4-5), 227 – 232.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022912000051>
- Monteiro, T. & Almeida, M. G. (2019), ‘Electrochemical Enzyme Biosensors Revisited: Old Solutions for New Problems’, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **49**(1), 44–66. PMID: 29757683.
<https://doi.org/10.1080/10408347.2018.1461552>
- Mosoiu, D. & Wilsey, C. D. (2010), ‘Method and reagent for producing narrow, homogenous reagent stripes’.
<https://patents.google.com/patent/US7749437B2/en>
- Mydhili, V. & Manivannan, S. (2017), ‘Effect of microstructure on the dielectric properties of poly(vinyl alcohol)-poly(3,4-ethylenedioxythiophene) doped with poly(styrenesulfonate) composite films’, *Journal of Applied Polymer*

- Science* **134**(34), 45079.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.45079>
- Nardes, A., Kemerink, M., de Kok, M., Vinken, E., Maturova, K. & Janssen, R. (2008), 'Conductivity, work function, and environmental stability of PEDOT:PSS thin films treated with sorbitol', *Organic Electronics* **9**(5), 727 – 734.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1566119908000906>
- Nardes, A., Kemerink, M., Janssen, R., Bastiaansen, J., Kiggen, N., Langeveld, B., van Breemen, A. & de Kok, M. (2007), 'Microscopic understanding of the anisotropic conductivity of pedot:pss thin films', *Advanced Materials* **19**(9), 1196–1200. <http://dx.doi.org/10.1002/adma.200602575>
- Nardes, A. M. (2007), On the conductivity of PEDOT:PSS thin films, PhD thesis, Technische Universiteit Eindhoven.
- Omidinia, E., Khanehzar, A., Shadjou, N., Shahbaz Mohamadi, H., Emami, S. H. & Hasanzadeh, M. (2013), 'Covalent Immobilization of Phenylalanine Dehydrogenase on Glutaraldehyde Modified Poly (3,4-ethylenedioxy) Thiophene:poly (styrenesulfonate)/ Polyvinyl Alcohol Conducting Polymer Composite Films for Electrochemical Detection of L-phenylalanine', *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry* **5**(5), 597–608.
http://www.abechem.com/No.%205-2013/2013_5_5_597-608.pdf
- Ouyang, J., Xu, Q., Chu, C.-W., Yang, Y., Li, G. & Shinar, J. (2004), 'On the mechanism of conductivity enhancement in poly(3,4-ethylenedioxythiophene):poly(styrene sulfonate) film through solvent treatment', *Polymer* **45**(25), 8443 – 8450.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386104009668>
- Palomera, N., Vera, J. L., Meléndez, E., Ramirez-Vick, J. E., Tomar, M. S., Arya, S. K. & Singh, S. P. (2011), 'Redox active poly(pyrrole-N-ferrocene-pyrrole) copolymer based mediator-less biosensors', *Journal of Electroanalytical Chemistry* **658**(1-2), 33 – 37.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665711002074>
- Palumbiny, C. M., Liu, F., Russell, T. P., Hexemer, A., Wang, C. & Müller-Buschbaum, P. (2015), 'The Crystallization of PEDOT:PSS Polymeric Electrodes Probed In Situ during Printing', *Advanced Materials* **27**(22), 3391–3397. <http://dx.doi.org/10.1002/adma.201500315>
- Park, Y., Jung, J. & Chang, M. (2019), 'Research progress on conducting polymer-based biomedical applications', *Applied Sciences (Switzerland)* **9**(6). cited By 5. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0->

85063741295&doi=10.3390%2fapp9061070&partnerID=40&md5=bfc3af56c0c0756aa802465ef39d41e7

- Peters, K. (2016), Flüssigprozessierung von Multischicht-OLEDs aus kleinen Molekülen, PhD thesis, Karlsruhe Institute of Technology (KIT).
- Peters, K., Braun, J., Schmidt-Hansberg, B., Scharfer, P. & Schabel, W. (2011), 'Phase equilibrium of water in different types of PEDOT:PSS', *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **50**(5), 555 – 557. Advances in Coating and Drying of Thin Films dedicated to E.U. Schlönder on the occasion of his 80th birthday.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255270110002904>
- Phongphut, A., Sriprachuabwong, C., Wisitsoraat, A., Tuantranont, A., Prichanont, S. & Sritongkham, P. (2013), 'A disposable amperometric biosensor based on inkjet-printed au/pedot-pss nanocomposite for triglyceride determination', *Sensors and Actuators B: Chemical* **178**, 501 – 507. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400513000191>
- Pierce, B. (2018), *Instructions. Pierce Modified Lowry Protein Assay Kit*, Thermo Fisher Scientific, https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0011229_Mod_Lowry_Protein_Asy_UG.pdf (04.08.2018). https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0011229_Mod_Lowry_Protein_Asy_UG.pdf
- Pingree, L. S. C., MacLeod, B. A. & Ginger, D. S. (2008), 'The Changing Face of PEDOT:PSS Films: Substrate, Bias, and Processing Effects on Vertical Charge Transport', *The Journal of Physical Chemistry C* **112**(21), 7922–7927. <https://doi.org/10.1021/jp711838h>
- Raja Ashok, R. P., Thomas, M. S. & Varughese, S. (2015), 'Multi-region to single region shear thinning transitions in drying PEDOT:PSS dispersions: contributions from charge density fluctuations', *Soft Matter* **11**, 8441–8451. <http://dx.doi.org/10.1039/C5SM01000D>
- Raupp, S. (2018), Processing and interdiffusion in multilayer OLEDs, PhD thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering.
- Raupp, S. M., Merklein, L., Hietzschold, S., Zürn, M., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017a), 'Slot die-coated blue smoled multilayers', *Journal of Coatings Technology and Research* **14**(5), 1029–1037. <http://dx.doi.org/10.1007/s11998-017-9964-z>
- Raupp, S. M., Schmitt, M., Walz, A.-L., Diehm, R., Hummel, H., Scharfer, P. & Schabel, W. (2018), 'Slot die stripe coating of low viscous fluids', *Journal*

- of Coatings Technology and Research* **15**(5), 899–911.
<https://doi.org/10.1007/s11998-017-0039-y>
- Raupp, S., Merklein, L., Pathak, M., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017b), ‘An experimental study on the reproducibility of different multilayer {OLED} materials processed by slot die coating’, *Chemical Engineering Science* **160**, 113 – 120.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009250916305887>
- Reichelt, N. (2016), Untersuchungen zum Einfluss des Schlitzgussverfahrens auf Homogenität und Leitfähigkeit von leitfähigen Polymer-Komposit-Filmen, Master thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Richardson-Burns, S. M., Hendricks, J. L. & Martin, D. C. (2007), ‘Electrochemical polymerization of conducting polymers in living neural tissue’, *Journal of Neural Engineering* **4**(2), L6. <http://stacks.iop.org/1741-2552/4/i=2/a=L02>
- Riegel, A.-L., Borzenkova, N., Haas, V., Scharfer, P. & Schabel, W. (2016), ‘Activity determination of FAD-dependent glucose dehydrogenase immobilized in PEDOT: PSS-PVA composite films for biosensor applications’, *Engineering in Life Sciences* **16**(6), 577–585.
<http://dx.doi.org/10.1002/elsc.201600128>
- Riegel, A.-L., Reichelt, N., Scharfer, P. & Schabel, W. (2017), ‘Process-dependent conductivity and film homogeneity of slot-die-coated PEDOT:PSS–PVA composite films’, *Journal of Coatings Technology and Research* **14**(5), 1039–1051. <https://doi.org/10.1007/s11998-017-9981-y>
- Rivnay, J., Owens, R. M. & Malliaras, G. G. (2014), ‘The rise of organic bioelectronics’, *Chemistry of Materials* **26**(1), 679–685.
<http://dx.doi.org/10.1021/cm4022003>
- Romero, O. & Carvalho, M. (2008), ‘Response of slot coating flows to periodic disturbances’, *Chemical Engineering Science* **63**(8), 2161–2173.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009250908000262>
- Romero, O., Suszynski, W., Scriven, L. & Carvalho, M. (2004), ‘Low-flow limit in slot coating of dilute solutions of high molecular weight polymer’,

- Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics* **118**(2), 137 – 156.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377025704000618>
- Ruschak, K. J. (1976), 'Limiting flow in a pre-metered coating device', *Chemical Engineering Science* **31**(11), 1057 – 1060.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009250976870261>
- Rusling, J. F., Wang, B. & Yun, S.-e. (2008), *Electrochemistry of Redox Enzymes*, John Wiley & Sons, Ltd, chapter 2, pp. 39–85.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470753842.ch2>
- Sanchez-Sanchez, A., del Agua, I., Malliaras, G. G. & Mecerreyes, D. (2019), Chapter 6 - Conductive Poly(3,4-Ethylenedioxythiophene) (PEDOT)-Based Polymers and Their Applications in Bioelectronics, in M. R. Aguilar & J. S. Román, eds, 'Smart Polymers and their Applications (Second Edition)', second edition edn, Woodhead Publishing in Materials, Woodhead Publishing, pp. 191 – 218.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081024164000065>
- Sassolas, A., Blum, L. J. & Leca-Bouvier, B. D. (2012), 'Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors', *Biotechnology Advances* **30**(3), 489–511.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073497501100156X>
- Scheller, F. & Schubert, F. (1991), *Biosensors*, Vol. 11, first edn, Elsevier.
https://books.google.de/books?hl=de&lr=&id=TF7AW4kSY1gC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Scheller, F.; Schubert, F. Biosensors, Volume 11, 1st ed.; Elsevier: Amsterdam, 1991.&ots=sbNjKZE3fk&sig=vFQ2Bry6nH75kPjks7hhszCdUro#v=onepage&q&f=falsehttp://digitale-objekte.hbz-nrw.de/webclient/DeliveryManager?pid=2208804&custom_att_2=simple_viewer
- Schmidt-Hansberg, B., Klein, M. F. G., Peters, K., Buss, F., Pfeifer, J., Walheim, S., Colsmann, A., Lemmer, U., Scharfer, P. & Schabel, W. (2009), 'In situ monitoring the drying kinetics of knife coated polymer-fullerene films for organic solar cells', *Journal of Applied Physics* **106**(12), 124501–124501–7.
<http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jap/106/12/10.1063/1.3270402>
- Schmidt-Hansberg, B., Sanyal, M., Klein, M. F. G., Pfaff, M., Schnabel, N., Jaiser, S., Vorobiev, A., Müller, E., Colsmann, A., Scharfer, P., Gerthsen, D., Lemmer, U., Barrena, E. & Schabel, W. (2011), 'Moving through the phase diagram: Morphology formation in solution cast polymer-fullerene

- blend films for organic solar cells', *ACS Nano* **5**(11), 8579–8590.
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn2036279>
- Schmitt, K. (2017), Untersuchung zum Einfluss der Herstellungsbedingungen auf die Filmmorphologie sowie die katalytische Aktivität eines eingebetteten Enzyms, Bachelor thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering. Language: German.
- Schmitt, M. (2014a), 1001 SG_LIB_50 Begleitunterlagen, Technical report, Institut für Thermische Verfahrenstechnik.
- Schmitt, M. (2014b), 2001 DS Düsenschlitten Begleitunterlagen, Technical report, Institut für Thermische Verfahrenstechnik.
- Schmitt, M. (2016), Slot die coating of lithium-ion battery electrodes, PhD thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering.
- Schmitt, M., Baunach, M., Wengeler, L., Peters, K., Junges, P., Scharfer, P. & Schabel, W. (2013), 'Slot-die processing of lithium-ion battery electrodes - Coating window characterization', *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **68**, 32 – 37. Advances in Coating and Drying of Thin Films.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255270112001997>
- Schmitt, M., Diehm, R., Scharfer, P. & Schabel, W. (2015a), 'An experimental and analytical study on intermittent slot die coating of viscoelastic battery slurries', *Journal of Coatings Technology and Research* **12**(5), 927–938.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11998-015-9717-9>
- Schmitt, M., Raupp, S., Wagner, D., Scharfer, P. & Schabel, W. (2015b), 'Analytical determination of process windows for bilayer slot die coating', *Journal of Coatings Technology and Research* **12**(5), 877–887.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11998-015-9701-4>
- Schmitt, M., Scharfer, P. & Schabel, W. (2014), 'Slot die coating of lithium-ion battery electrodes: investigations on edge effect issues for stripe and pattern coatings', *Journal of Coatings Technology and Research* **11**(1), 57–63.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11998-013-9498-y>
- Schroder, D. K. (2006), *Semiconductor material and device characterization*, 3. ed. edn, Wiley [u.a.], Hoboken NJ [u.a.]. <http://swbplus.bsz-bw.de/bsz120868946cov.htm> ; <http://digitale-objekte.hbz->

- nrw.de/webclient/DeliveryManager?pid=2208804&custom_att_2=simple_v
iewer
- Schwartz, B. J. (2003), 'CONJUGATED POLYMERS AS MOLECULAR MATERIALS: How Chain Conformation and Film Morphology Influence Energy Transfer and Interchain Interactions', *Annual Review of Physical Chemistry* **54**(1), 141–172. PMID: 12524429. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physchem.54.011002.103811>
- Sheha, E., Nasr, M. & El-Mansy, M. K. (2013), 'Characterization of poly (vinyl alcohol)/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) poly(styrenesulfonate) polymer blend: structure, optical absorption, electrical and dielectric properties', *Physica Scripta* **88**(3), 035701. <http://stacks.iop.org/1402-4896/88/i=3/a=035701>
- Silva, F., Sales, M., Angélica, R., Maia, E. & Ceschin, A. (2011), 'Characterization of the PEDOT:PSS/KDP mixture on a flexible substrates and the use in pressure sensing devices', *Applied Surface Science* **257**(20), 8594 – 8599. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433211007136>
- Silva, F., Silva, L., Ceschin, A., Sales, M., Moreira, S. & Viana, C. (2008), 'KDP/PEDOT:PSS mixture as a new alternative in the fabrication of pressure sensing devices', *Applied Surface Science* **255**(3), 734 – 736. 11th International Conference on the Formation of Semiconductor Interfaces (ICFSI-11). <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433208016085>
- Sirringhaus, H., Brown, P., Friend, R., Nielsen, M. M., Bechgaard, K., Langeveld-Voss, B., Spiering, A., Janssen, R. A., Meijer, E., Herwig, P. et al. (1999), 'Two-dimensional charge transport in self-organized, high-mobility conjugated polymers', *Nature* **401**(6754), 685–688. <http://www.nature.com/nature/journal/v401/n6754/abs/401685a0.html>
- Soniewska, A., Kasztelan, M., Berbec, S. & Pays, B. (2020), 'Influence of buffer solution on structure and electrochemical properties of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/poly(styrenesulfonate) hydrogels', *Synthetic Metals* **263**, 116363. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677919308537>
- Smith, P., Krohn, R., Hermanson, G., Mallia, A., Gartner, F., Provenzano, M., Fujimoto, E., Goeke, N., Olson, B. & Klenk, D. (1985), 'Measurement of

- protein using bichinonic acid', *Analytical Biochemistry* **150**(1), 76 – 85.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269785904427>
- Smits, F. M. (1958), 'Measurement of Sheet Resistivities with the Four-Point Probe', *Bell System Technical Journal* **37**(3), 711–718.
<http://dx.doi.org/10.1002/j.1538-7305.1958.tb03883.x>
- Sode, K. (2009), 'Glucose dehydrogenase'. DE Patent 60,319,842.
<http://www.google.com/patents/DE60319842T2?cl=de>
- Soleimani-Gorgani, A. (2018), 'Co-solvents roles in PEDOT:PSS ink-jet inks', *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* **9**(2), 025009. <https://doi.org/10.1088%2F2043-6254%2F9a2a0>
- Sorachim (n.d.), 'Glucose Dehydrogenase (FAD dependent) from microorganism GLD-351. Specifications. Product Catalogue', product catalogue.
<http://www.sorachim.com/enzymes/glucose-dehydrogenase-fad-dependent.html>
- Soylemez, S., Kanik, F. E., Ileri, M., Hacıoglu, S. O. & Toppare, L. (2014), 'Development of a novel biosensor based on a conducting polymer', *Talanta* **118**, 84 – 89.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914013008060>
- Strakosas, X., Sessolo, M., Hama, A., Rivnay, J., Stavrinidou, E., Malliaras, G. G. & Owens, R. M. (2014), 'A facile biofunctionalisation route for solution processable conducting polymer devices', *J. Mater. Chem. B* **2**, 2537–2545. <http://dx.doi.org/10.1039/C3TB21491E>
- Suzuki, A. & Tsujimura, S. (2016), 'Long-term continuous operation of fad-dependent glucose dehydrogenase hydrogel-modified electrode at 37 ° C', *Chemistry Letters* **45**, 484–486.
- Takano, T., Masunaga, H., Fujiwara, A., Okuzaki, H. & Sasaki, T. (2012), 'PEDOT nanocrystal in highly conductive PEDOT: PSS polymer films', *Macromolecules* **45**(9), 3859–3865.
- Ternes, S., Börnhorst, T., Schwenzer, J. A., Hossain, I. M., Abzieher, T., Mehlmann, W., Lemmer, U., Scharfer, P., Schabel, W., Richards, B. S. & Paetzold, U. W. (2019), 'Drying Dynamics of Solution-Processed Perovskite Thin-Film Photovoltaics - In Situ Characterization, Modeling, and Process Control', *Advanced Energy Materials* **0**(0), 1901581.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aenm.201901581>
- Thermo, S. (2010), *Thermo Scientific Pierce Protein Assay Technical Handbook. Version 2.*

- https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/Images/integration/1602063_PAssayHB_122910.pdf
- Thévenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A. & Wilson, G. S. (2001), 'Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification', *Biosensors and Bioelectronics* **16**(1-2), 121 – 131.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566301001154>
- Tillmans, J., Hirsch, P. & Hirsch, W. (1932), 'Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C', *Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel* **63**(1), 1–21.
<https://doi.org/10.1007/BF01654240>
- Türkarslan, z., Kayahan, S. K. & Toppare, L. (2009), 'Poly(pyrrole) versus poly(3,4-ethylenedioxythiophene): amperometric cholesterol biosensor matrices', *Journal of Solid State Electrochemistry* **13**(5), 657–663.
- Tsuda, T. (2010), 'Coating Flows of Power-Law Non-Newtonian Fluids in Slot Coating', *Nihon Reorogi Gakkaishi* **38**(4_5), 223–230.
- Tsujimura, S. (2019), 'From fundamentals to applications of bioelectrocatalysis: bioelectrocatalytic reactions of fad-dependent glucose dehydrogenase and bilirubin oxidase', *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **83**(1), 39–48. PMID: 30274547. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1527209>
- Tsujimura, S., Kojima, S., Kano, K., Ikeda, T., Sato, M., Sanada, H. & Omura, H. (2006), 'Novel FAD-Dependent Glucose Dehydrogenase for a Dioxygen-Insensitive Glucose Biosensor', *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **70**(3), 654–659. PMID: 16556981.
<http://dx.doi.org/10.1271/bbb.70.654>
- Turner, A. P. F. (2013), 'Biosensors: sense and sensibility', *Chemical Society Reviews* **42**, 3184–3196. <http://dx.doi.org/10.1039/C3CS35528D>
- Uhlir Jr., A. (1955), 'The Potentials of Infinite Systems of Sources and Numerical Solutions of Problems in Semiconductor Engineering', *Bell System Technical Journal* **34**(1), 105–128.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/j.1538-7305.1955.tb03765.x>
- Valdes, L. B. (1954), 'Resistivity Measurements on Germanium for Transistors', *Proceedings of the IRE* **42**(2), 420–427.
- Vaughan, P. A., Scott, L. D. & McAller, J. F. (1991), 'Amperometric biosensor for the rapid determination of acetaminophen in whole blood', *Analytica*

- Chimica Acta* **248**(2), 361–365.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267000846528>
- Verein Deutscher Ingenieur (2013), *VDI-Wärmeatlas*, VDI-BuchSpringerLinkSpringer eBook Collection, 11., bearb. und erw. Aufl. edn, Springer Vieweg, Berlin, Heidelberg. E. <http://swbplus.bsz-bw.de/bsz370553101cov.htm><https://doi.org/10.1007/978-3-642-19981-3>
- Vikhoreva, G. A., Khomyakov, K. P., Sakharov, I. Y. & Gal'braikh, L. S. (1996), 'Immobilization of proteolytic enzymes in carboxymethylchitin films and sponges', *Fibre Chemistry* **27**(5), 337–342.
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00551148>
- Walz, A.-L., Liebl, L., Schmitt, K., Scharfer, P. & Schabel, W. (2019), 'Commentary regarding: Activity Determination of FAD-Dependent Glucose Dehydrogenase Immobilized in PEDOT:PSS-PVA Composite Films for Biosensor Application', *Engineering in Life Sciences* **19**(11), 741–748. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elsc.201900114>
- Wang, B., Li, B., Deng, Q. & Dong, S. (1998), 'Amperometric Glucose Biosensor Based on Sol-Gel Organic-Inorganic Hybrid Material', *Analytical Chemistry* **70**(15), 3170–3174. PMID: 11013720.
<https://doi.org/10.1021/ac980160h>
- Wang, J. (1999), 'Amperometric biosensors for clinical and therapeutic drug monitoring: a review', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **19**(1-2), 47 – 53.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708598000569>
- Wang, J. (2008), 'Electrochemical glucose biosensors', *Chemical Reviews* **108**(2), 814–825. PMID: 18154363. <http://dx.doi.org/10.1021/cr068123a>
- Wang, J., Pamidi, P. V. A. & Park, D. S. (1996), 'Screen-Printable Sol-Gel Enzyme-Containing Carbon Inks', *Analytical Chemistry* **68**(15), 2705–2708. PMID: 21619216. <https://doi.org/10.1021/ac960159n>
- Wang, W., Nema, S. & Teagarden, D. (2010), 'Protein aggregation - Pathways and influencing factors', *International Journal of Pharmaceutics* **390**(2), 89 – 99. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517310001535>
- Wang, Z., Xu, J., Yao, Y., Zhang, L., Wen, Y., Song, H. & Zhu, D. (2014), 'Facile preparation of highly water-stable and flexible PEDOT:PSS organic/inorganic composite materials and their application in

- electrochemical sensors', *Sensors and Actuators B: Chemical* **196**, 357 – 369. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092540051400183X>
- Weller, R. A. (2001), 'An algorithm for computing linear four-point probe thickness correction factors', *Review of Scientific Instruments* **72**(9), 3580–3586. <https://doi.org/10.1063/1.1394186>
- Wengeler, L. (2014), Coating and drying processes for functional films in polymer solar cells - from laboratory to pilot scale, PhD thesis, Karlsruhe Institute of Technology, Institute of Thermal Process Engineering.
- Wengeler, L., Diehm, R., Scharfer, P. & Schabel, W. (2013a), 'Dependence of opto-electric properties of (semi-) conducting films in polymer based solar cells on viscous shear during the coating process', *Organic Electronics* **14**(6), 1608–1613. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1566119913001237>
- Wengeler, L., Peters, K., Schmitt, M., Wenz, T., Scharfer, P. & Schabel, W. (2014), 'Fluid-dynamic properties and wetting behavior of coating inks for roll-to-roll production of polymer-based solar cells', *Journal of Coatings Technology and Research* **11**(1), 65–73. <http://dx.doi.org/10.1007/s11998-013-9483-5>
- Wengeler, L., Schmitt, M., Peters, K., Scharfer, P. & Schabel, W. (2013b), 'Comparison of large scale coating techniques for organic and hybrid films in polymer based solar cells', *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **68**(0), 38 – 44. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255270112000645>
- Wenner, F. (1915), 'A Method of Measuring Earth Resistivity', *Bulletin of Bureau of Standards* **12**(3), 469–478. https://books.google.de/books?hl=de&lr=&id=xuWPhZYtxUoC&oi=fnd&pg=PA473&dq=A+Method+of+Measuring+Earth+Resistivity&ots=Xc72MuYMM4&sig=8g_WyvoHU7AbWXiJKOP0MEh9rPI#v=onepage&q&f=false
- Wong, F.-L. & Abdul-Aziz, A. (2008), 'Comparative study of poly(vinyl alcohol)-based support materials for the immobilization of glucose oxidase', *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **83**(1), 41–46. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.1774>
- Worfolk, B. J., Andrews, S. C., Park, S., Reinspach, J., Liu, N., Toney, M. F., Mannsfeld, S. C. B. & Bao, Z. (2015), 'Ultrahigh electrical conductivity in solution-sheared polymeric transparent films', *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences* **112**(46), 14138–14143.
<https://www.pnas.org/content/112/46/14138>
- Xia, L., Wei, Z. & Wan, M. (2010), ‘Conducting polymer nanostructures and their application in biosensors’, *Journal of Colloid and Interface Science* **341**(1), 1 – 11.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979709012120>
- Xia, Y. & Ouyang, J. (2009), ‘Salt-Induced Charge Screening and Significant Conductivity Enhancement of Conducting Poly(3,4-ethylenedioxythiophene):Poly(styrenesulfonate)’, *Macromolecules* **42**(12), 4141–4147. <https://doi.org/10.1021/ma900327d>
- Xia, Y. & Ouyang, J. (2011), ‘PEDOT:PSS films with significantly enhanced conductivities induced by preferential solvation with cosolvents and their application in polymer photovoltaic cells’, *J. Mater. Chem.* **21**, 4927–4936.
<http://dx.doi.org/10.1039/C0JM04177G>
- Xia, Y., Sun, K. & Ouyang, J. (2012), ‘Solution-Processed Metallic Conducting Polymer Films as Transparent Electrode of Optoelectronic Devices’, *Advanced Materials* **24**(18), 2436–2440.
<http://dx.doi.org/10.1002/adma.201104795>
- Xu, Z., Chen, X. & Dong, S. (2006), ‘Electrochemical biosensors based on advanced bioimmobilization matrices’, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **25**(9), 899 – 908.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993606001324>
- Yamashita, Y., Ferri, S., Huynh, M. L., Shimizu, H., Yamaoka, H. & Sode, K. (2013), ‘Direct electron transfer type disposable sensor strip for glucose sensing employing an engineered FAD glucose dehydrogenase’, *Enzyme and Microbial Technology* **52**(2), 123 – 128.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022912001810>
- Yoo, E.-H. & Lee, S.-Y. (2010), ‘Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice’, *Sensors* **10**(5), 4558–4576. <https://www.mdpi.com/1424-8220/10/5/4558>
- Zabihi, F., Xie, Y., Gao, S. & Eslamian, M. (2015), ‘Morphology, conductivity, and wetting characteristics of PEDOT:PSS thin films deposited by spin and spray coating’, *Applied Surface Science* **338**, 163 – 177.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433215004444>
- Zhao, C., Meng, Y., Shao, C., Wan, L. & Jiao, K. (2008), ‘Unadulterated Glucose Biosensor Based on Direct Electron Transfer of Glucose Oxidase

-
- Encapsulated Chitosan Modified Glassy Carbon Electrode', *Electroanalysis* **20**(5), 520–526. <http://dx.doi.org/10.1002/elan.200704086>
- Zhao, Y., Cao, L., Li, L., Cheng, W., Xu, L., Ping, X., Pan, L. & Shi, Y. (2016), 'Conducting Polymers and Their Applications in Diabetes Management', *Sensors* **16**(11). <https://www.mdpi.com/1424-8220/16/11/1787>
- Zhao, Z., Richardson, G. F., Meng, Q., Zhu, S., Kuan, H.-C. & Ma, J. (2015), 'PEDOT-based composites as electrode materials for supercapacitors', *Nanotechnology* **27**(4), 042001. <https://doi.org/10.1088%2F0957-4484%2F27%2F4%2F042001>
- Zhu, Z., Liu, C., Xu, J., Jiang, Q., Shi, H. & Liu, E. (2016), 'Improving the electrical conductivity of PEDOT: PSS films by binary secondary doping', *Electronic Materials Letters* **12**(1), 54–58.
- Zhu, Z., Song, H., Xu, J., Liu, C., Jiang, Q. & Shi, H. (2015), 'Significant conductivity enhancement of PEDOT: PSS films treated with lithium salt solutions', *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* **26**(1), 429–434.
- Zucca, A., Yamagishi, K., Fujie, T., Takeoka, S., Mattoli, V. & Greco, F. (2015), 'Roll to roll processing of ultraconformable conducting polymer nanosheets', *Journal of Materials Chemistry C* **3**, 6539–6548. <http://dx.doi.org/10.1039/C5TC00750J>

Anhang

A Verwendete Materialien

Tabelle A.1: Auflistung der in der Arbeit verwendeten Materialien.

Material	Merkmale und zusätzliche Informationen	Hersteller
PE-DOT:PSS	Clevios™ PH1000, Dispersion, PEDOT:PSS = 1:2.5, sowie Abschnitt E	Heraeus Deutschland GmbH & Co. KG
PVA	POVAL 56-98, durchschnittliches Molekulargewicht 195.000 g/mol, Hydrolysegrad 98,4 mol. %, Polymerisationsgrad 4.300, sowie Abschnitt E	Kuraray Europe GmbH
FAD-GDH	GLD-351, EC-Nummer: 1.1.99.10, Reinheit: 99,93 %	Socharim SA, Frankreich
Phosphatpuffer	KH_2PO_4 und $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Reinheit: 99 %, 50 oder 100 mM, pH 7,0	Carl Roth GmbH & Co. KG
Wasser	VE-Wasser: vollentsalzt RODI-Wasser: durch Umkehrosiose deionisiert DD-Wasser: doppelt destilliert	Institutsinterner Ionentauscher Spende vom Engler-Bunte-Institut Carl Roth GmbH & Co. KG
D-Glucose	Reinheit: 99,5 %	Carl Roth GmbH & Co. KG
DCPIP	Reinheit: 90 %	Carl Roth GmbH & Co. KG
DMSO	ROTIPURAN®, Reinheit: 99,8 %, sowie Abschnitt E	Carl Roth GmbH & Co. KG

B Konstruktionszeichnungen

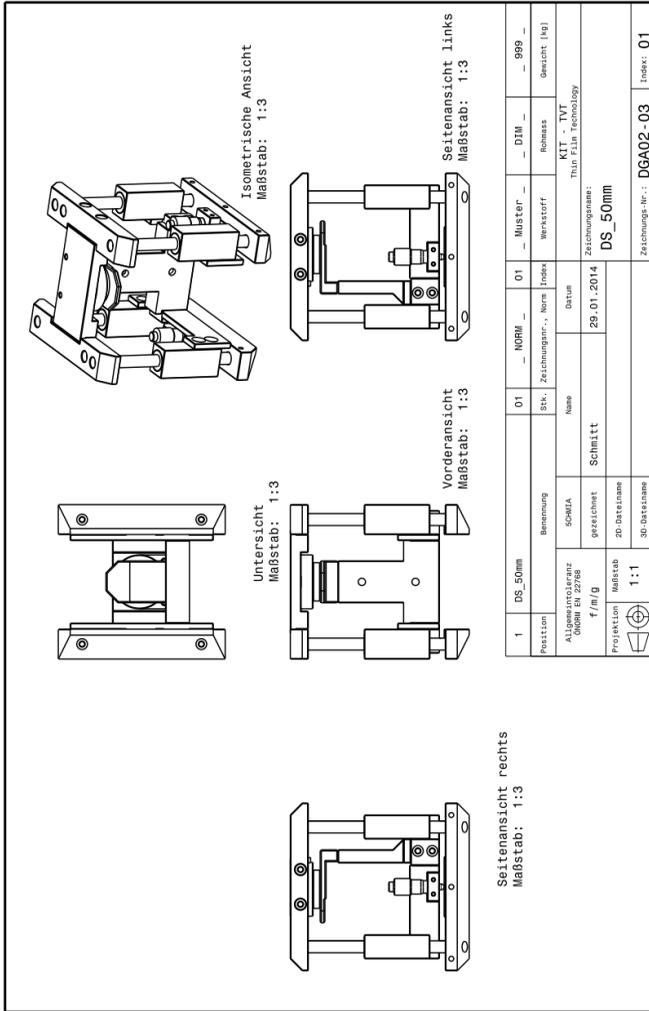


Abbildung A.1: Konstruktionszeichnung des montierten Düsenschlittens 2001 in der Ausführung für bis 50 mm breite Schlitzdüsen. Entnommen aus den Begleitunterlagen 2001 DS-Düsen-schlitten, angefertigt von M. Schmitt (2014a).

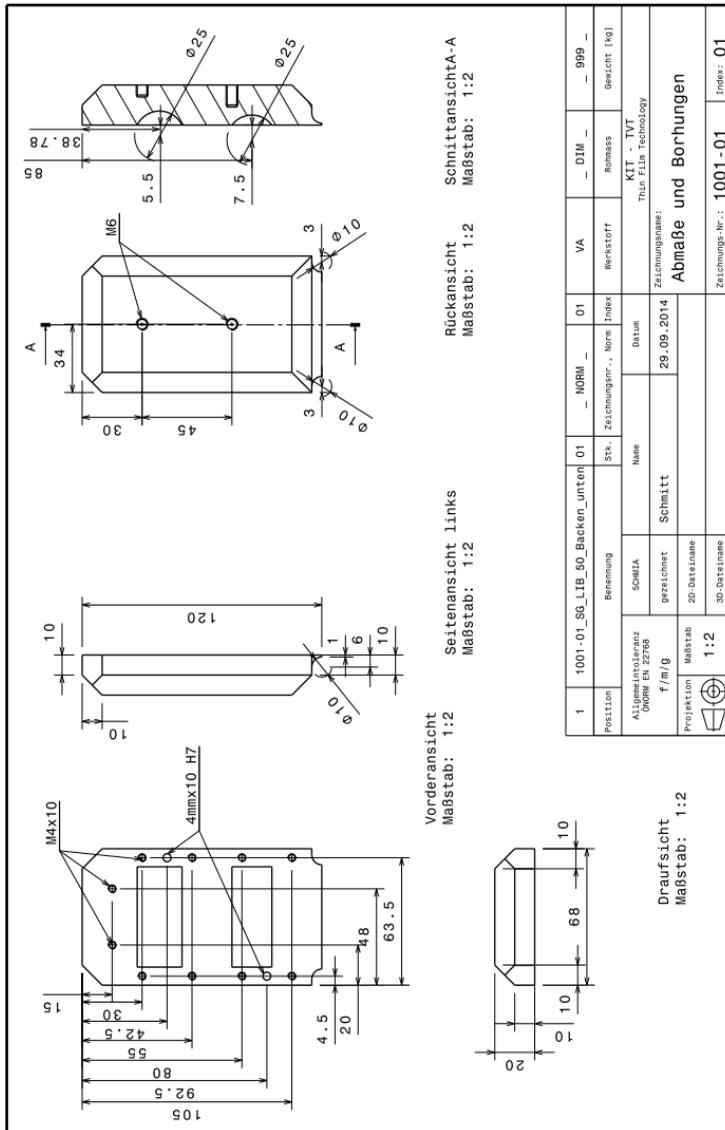


Abbildung A.2: Konstruktionszeichnung des unteren Düsenbacken mit zwei Kavitäten. Entnommen aus den Begleitunterlagen 1001 SG_LIB_50, angefertigt von M. Schmitt (2014b).

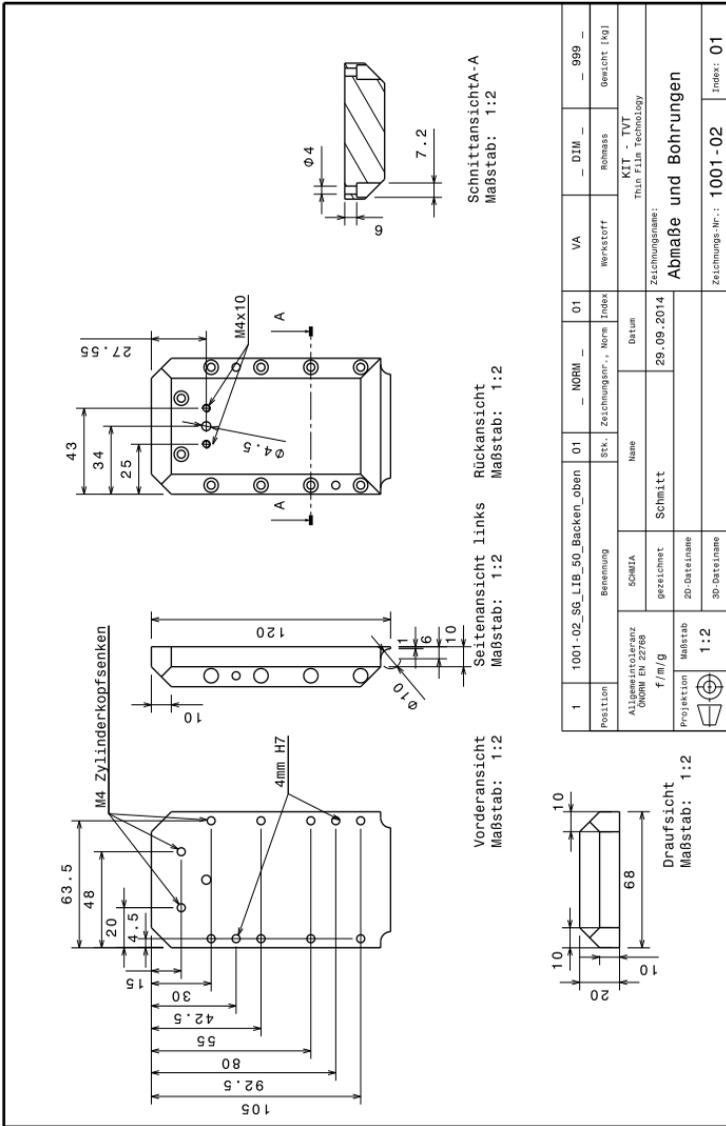


Abbildung A.3: Konstruktionszeichnung des oberen Backen der Schlitzdüse. Entnommen aus den Begleitunterlagen 1001 SG_LIB_50, angefertigt von M. Schmitt (2014b).

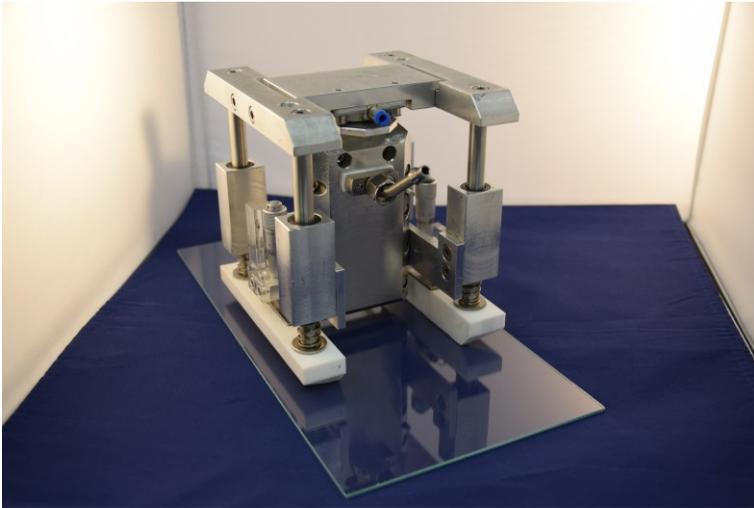


Abbildung A.4: Fotografie des Düsenschlittens 2001 zusammen mit montierter Schlitzdüse.

C Ergänzende Informationen zur Schlitzgussbeschichtung

C.1 Verfahren

Als ein in der Industrie weit verbreitetes Verfahren eignet sich die Schlitzgussbeschichtung insbesondere zur Applikation teurer Materialien mit hohen Anforderungen an Schichthomogenität und Reproduzierbarkeit. Wie bereits erwähnt, zählt die Flüssigphasenbeschichtung zu den vordosierten Beschichtungsverfahren, bei dem das Auftragsmedium ohne Überschuss kontinuierlich bei festgelegtem Volumenstrom \dot{V}_{Besch} durch die Schlitzdüse auf ein sich bewegendes Substrat u_{Besch} aufgetragen wird. Zur Förderung und genauen Dosierung des Fluides kommt eine Pumpe zum Einsatz, wodurch sich die präzise Einstellung der Nassfilmdicke h_{nass} nach der Kontinuitätsgleichung bei bekannter Beschichtungsbreite b zu Nutze gemacht wird (vgl. Gleichung (A.1)). Aus Feststoffgehalt x_{fest} , Feststoffdichte ρ_{fest} und Dichte der Beschichtungslösung $\rho_{Lösung}$ wird die Trockenschichtdicke h_{tr} berechnet (vgl. Gleichung (A.2)), während die Flüssigkeitsdichten unter Annahme einer idealen Mischung aus den beteiligten Komponenten abgeleitet werden (vgl. Gleichung (A.3)).

$$h_{mass} = \frac{\dot{V}_{Besch}}{u_{Besch} \cdot b} \quad \text{mit } [h_{mass}] = \mu\text{m} \quad (\text{A.1})$$

$$h_{tr} = \frac{\rho_{Lösung}}{\rho_{fest}} \cdot x_{fest} \cdot h_{mass} \quad \text{mit } [h_{tr}] = \mu\text{m} \quad (\text{A.2})$$

$$\frac{1}{\rho_{Gemisch}} = \sum_{i=1}^n \frac{x_n}{\rho_n} \quad \text{mit } [\rho] = \text{kg}/\text{m}^3 \quad (\text{A.3})$$

Beim Beschichtungsvorgang wird das Fluid durch einen engen, in der Regel rechteckigen Spalt gefördert, welcher von zwei Metallplatten, den sogenannten Schlitzgießerbacken, begrenzt wird, bevor es am Ende der Düse, den Düsenlippen, austritt und auf das bewegte Substrat aufgetragen wird (vgl. Abbildung A.5). Die Schlitzweite l_s wird durch eine Abstandsfolie (engl. Shim) eingestellt, die über ihre Geometrie ebenfalls die theoretische Beschichtungsbreite b_{theo} vorgibt. Zwei in einer der beiden Düsenbacken befindlichen Verteilkammern, sogenannte Kavitäten, definieren zusammen mit der Shim-Geometrie den Strömungswiderstand und steuern die Fluidverteilung im Innern der Düse (vgl. Abbildung A.2 und Abbildung A.3). Ziel ist eine homogene und gleichmäßige Geschwindigkeitsverteilung der Beschichtungslösung am Austritt aus der Düse. (Schmitt, 2014a)

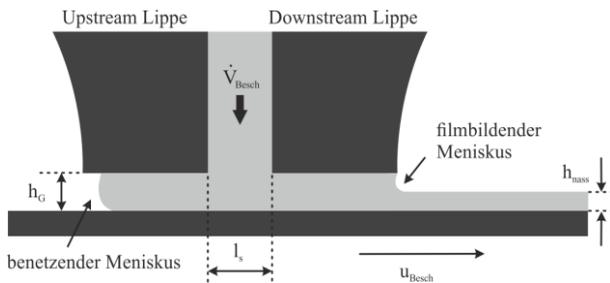


Abbildung A.5: Schematische Zeichnung der Ausbildung der Flüssigkeitsbrücke bei der Schlitzgussbeschichtung in Anlehnung an Raupp, Riegel et al. (2018).

Bei der in dieser Arbeit verwendeten Fahrweise „Bead mode“ bildet sich nach Austritt aus der Düse eine Flüssigkeitsbrücke (engl. coating bead) zwischen Düsenlippen und Substrat aus, die stromaufwärts vom benetzenden Meniskus (engl.

upstream meniskus) und stromabwärts in Beschichtungsrichtung vom filmbildenden Meniskus (engl. downstream meniskus) begrenzt wird. Im Spalt entspricht der Spaltabstand h_G der Höhe der Flüssigkeitsbrücke, während sich nach dem Downstream-Meniskus die Nassfilmdicke h_{nass} einstellt (vgl. Abbildung A.5).

C.2 Stabile Beschichtung und Beschichtungsfenster

Die Stabilität von Up- und Downstream-Meniskus ist von einer Vielzahl an Einflussfaktoren abhängig (Guttoff & Cohen, 2006; Kistler et al., 1997). Vor allem wird sie durch den Druckverlust im Beschichtungsspalt bestimmt: Der sich einstellende Differenzdruck leitet sich u. a. aus den verwendeten Betriebsparametern, der Beschichtungslösung und der Düsengeometrie ab und ist somit für die Ausbildung der Flüssigkeitsbrücke und das Benetzungsverhalten der Düsenlippen verantwortlich. Grundvoraussetzung für eine kontinuierliche und gleichmäßige Beschichtung ist daher eine stabile und voll ausgebildete Flüssigkeitsbrücke, für die die angefahrenen Betriebspunkte innerhalb bestimmter Grenzen liegen müssen. Die Nassfilmdicke h_{nass} nach Gleichung (A.1) ist daher nicht frei wählbar, sondern muss gemäß des entsprechenden Beschichtungsfensters gezielt eingestellt werden. Charakteristische Parameter, wie Beschichtungsgeschwindigkeit u_{Besch} , Beschichtungsspalt h_G , Nassfilmdicke h_{nass} , Oberflächenspannung σ und Viskosität η , werden im dimensionslosen Spalt G und der dimensionslosen Beschichtungsgeschwindigkeit, ebenso bekannt als Kapillarzahl Ca , zusammengefasst (vgl. Gleichung (A.4) und (A.5)) und helfen das Beschichtungsfenster, welches Auskunft über stabile Betriebspunkte gibt, zu quantifizieren (Carvalho & Khesghi, 2000; Kistler et al., 1997; Romero et al., 2004; Wengeler et al., 2014).

$$Ca = \frac{\eta \cdot u_{Besch}}{\sigma} \quad \text{mit } [Ca] = - \quad (A.4)$$

$$G = \frac{h_G}{h_{nass}} \quad \text{mit } [G] = - \quad (A.5)$$

Physikalisch betrachtet beschreibt die Kapillarzahl das Verhältnis viskoser Kräfte zu Grenzflächenkräften, wobei für eine stabile Beschichtung die Kapillarkräfte im Spalt die viskosen Trägheitskräfte in Beschichtungsrichtung überwiegen müssen. Der dimensionslose Spalt erleichtert die Vergleichbarkeit von ähnlichen Systemen.

Bei stabilen Beschichtungsbedingungen müssen Up- und Downstream-Meniskus vollausgebildet und stationär an einen Ort gepinnt sein. Mit Blick auf die Ausbildung beider Menisken werden in der Literatur im Wesentlichen zwei Kriterien betrachtet, die bei Nichterfüllung Defekte induzieren: Zum einen beschriebene Durst und Wagner (1997) für newtonische Lösungen in einem mathematischen Modell verschiedene Zustände des Upstream-Meniskus, welche abhängig von den gewählten Parametern und dem resultierenden Druckverlust zur Mitnahme von Luft (engl. air entrainment) oder Überfüllen (engl. swelling) führen können (Dobroth & Erwin, 1986; Guttoff & Cohen, 2006; Schmitt et al., 2014); zum anderen gibt die aus dem Visko-Kapillar-Modell abgeleitete, sogenannte Mindestflussmenge (engl. low-flow limit) den minimal erforderlichen Beschichtungsvolumenstrom an, der zur vollen Ausbildung des filmbildenden Downstream-Meniskus notwendig ist (Carvalho & Kheshgi, 2000; Romero & Carvalho, 2008; Ruschak, 1976). Nicht zuletzt legt eine Kombination aus beiden Versagensmechanismen das Beschichtungsfenster bzw. die Versagensgrenze mit der zugrundeliegenden physikalischen Ursache fest, deren mathematische Beschreibung bzw. Vorausberechnung Gegenstand vieler Forschungsarbeiten ist (Carvalho & Kheshgi, 2000; Cohen & Guttoff, 1992; Dongari et al., 2007; Durst & Wagner, 1997; Higgins & Scriven, 1980; Lee et al., 2011; Raupp et al., 2018; Ruschak, 1976; Schmitt, 2016; Tsuda, 2010).

D Betriebspunkte und Prozessparameter

D.1 Prozessparameter der Rakelbeschichtung

Tabelle A.2: Auflistung der Parameter der Rakelbeschichtung für PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 in Tabelle 3. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Stoffsystem	$h_G / \mu\text{m}$	$u_{Besch} / \text{m/min}$	V_{Besch} / ml
PEDOT:PSS100	100	6	600
PEDOT:PSS40	90	6	600
PEDOT:PSS20	90	6	600

D.2 Beschichtungsparameter für Prozessanalyse und -einfluss

Die aufgelisteten Beschichtungsparameter beziehen sich auf die in den Abschnitten 3.2, 3.3 und 3.4 dargestellten Ergebnisse.

Tabelle A.3: Auflistung der Beschichtungsparameter für Prozessvergleich. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

	Stoffsystem & Prozess	h_G / μm	u_{Besch} / m/min	$h_{tr,theo}$ / nm	$h_{nass,theo}$ / μm
Abbildung 3.2 links	PEDOT:PSS20 & SG	101	3/1,5	788	43,5
Abbildung 3.2 rechts	PEDOT:PSS20 & R	90	6	-	-
Abbildung 3.2 rechts	PEDOT:PSS20 & SG	101	3	788	43,5
Abbildung A.12	PEDOT:PSS40 & SG	101	1,5/0,75	350	19

R = Rakel, SD = Schlitzdüse

Tabelle A.4: Verwendete Beschichtungsparameter für Schichtdickenverlauf und Reproduzierbarkeit in Abbildung 3.3. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

	Stoffsystem	h_G / μm	u_{Besch} / m/min	$h_{tr,theo}$ / nm	$h_{nass,theo}$ / μm
Links	PEDOT:PSS40-DMSO3	106	1,12	854	55
Rechts	PEDOT:PSS40-DMSO3	106	1,12	854	55
	PEDOT:PSS40-DMSO3	260	0,68	1165	75
	PEDOT:PSS40	106	1,12	854	55

Tabelle A.5: Beschichtungsparameter zur Analyse des Schichtdickeneinflusses in Abbildung 3.5. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Stoffsystem	Prozess	h_G / μm	u_{Besch} / m/min	$h_{tr,theo}$ / nm	$h_{nass,theo}$ / μm
PEDOT:PSS100	R + CNT		s. Tabelle A.2		
PEDOT:PSS40	R + CNT		s. Tabelle A.2		
	SG + CNT	101	0,75/1,5/2,1	350	19

PEDOT:PSS20 R + CNT s. Tabelle A.2
 SG + CNT 101 0,75/1,5/3/6 350/788 19,3/43,5

Applikationswerkzeug: R = Rakel, SD = Schlitzdüse; Versuchsanlage: CNT = Comb-Nozzle®-Trockner, BCT = Batch-Coater-Trockner

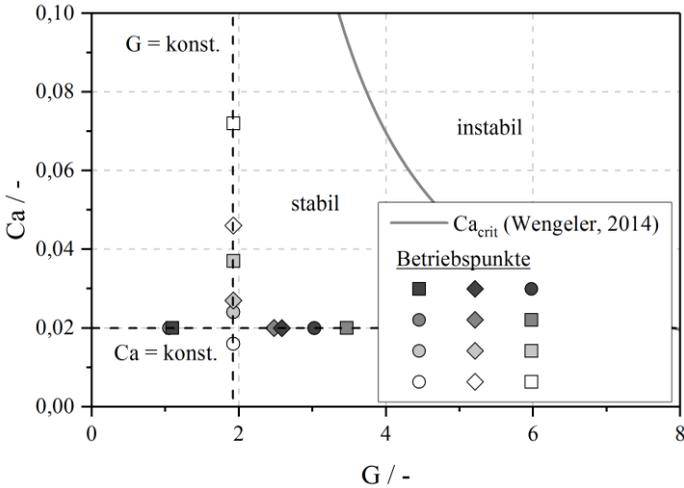


Abbildung A.6: Dimensionsloses Beschichtungsfenster nach Wengeler et al. (2014) für wasser- und lösemittelbasierte Beschichtungslösungen. Betriebspunkte für das Stoffsystem PEDOT:PSS40-DMSO3 mit konstanter Kapillarzahl: dunkelgrau und grau, mit konstantem dimensionslosem Spalt: hellgrau und weiß. Detaillierte Auflistung der Betriebspunkte: s. Tabelle A.6. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2.

Tabelle A.6: Beschichtungsparameter zur Analyse des Prozesseinflusses auf die Leitfähigkeit, dargestellt in Abbildung 3.7. Bereits veröffentlicht in Riegel et al. (2017).

BP	Ca /-	G /-	h_G / μm	h_{nass} / μm	h_{tr} / nm	u / m/min	\dot{V} / ml/min	$\dot{\gamma}$ / $1/\text{s}$	η / Pas
●	0,02	1,05	79	75	1.165	1,32	4,95	278	0,06
◆	0,02	2,48	186	75	1.165	0,82	3,08	74	0,09
■	0,02	3,46	260	75	1.165	0,68	2,55	44	0,11
■	0,02	1,1	106	96,5	1.499	1,12	5,41	176	0,07
◆	0,02	1,93	106	55	854	1,12	3,08	176	0,07
●	0,02	3,03	106	35	544	1,12	1,96	176	0,07
○	0,02	1,93	186	96,5	1.499	0,6	2,89	54	0,10

◇	0,05	1,93	186	96,5	1.499	3	14,48	269	0,06
□	0,07	1,93	186	96,5	1.499	6	28,95	538	0,05
●	0,02	1,93	79	40,1	637	1,8	3,69	380	0,05
◆	0,03	1,93	106	55	854	1,8	4,95	283	0,06
■	0,04	1,93	260	134,9	2.095	1,8	12,14	115	0,08

Tabelle A.7: Beschichtungparameter zur Analyse des Spalteinflusses auf die Leitfähigkeit (vgl. Abbildung 3.8).

Datenreihe	h_G / μm	u_{Besch} / m/min	$h_{tr,theo}$ / nm	$h_{nass,theo}$ / μm
Raute, grau	79/186/260	3,7	854	55
Quadrat, hellgrau	79/186/260	2,6	854	55
Kreis, weiß	79/186/260	1,1	854	55
Dreieck, Spitze unten*	106	1,1	854	55
	79	1,3	1165	75
Dreieck, Spitze oben*	186	0,8	1165	75
	260	0,7	1165	75

*aus Riegel et al. (2017)

Tabelle A.8: Zusätzliche Beschichtungparameter zur Analyse des Schichtdickeneinflusses in Abbildung 3.9.

Datenreihe	Prozess	h_G / μm	u_{Besch} / m/min	$h_{tr,theo}$ / nm	$h_{nass,theo}$ / μm	
Erweiterung	G1	SG + BCT	79	1,32	1165	75
	G2	SG + BCT	186	0,82	1165	75
	Y1	SG + BCT	186	0,6	1499	96,5
	Y2	SG + BCT	186	3	1499	96,5
	Y3	SG + BCT	186	6	1499	96,5
	YI	SG + BCT	186	0,80	854	55
	G1.2	SG + BCT	106	1,12	1165	75
	R2.2	SG + BCT	106	1,12	637	96,5
	P5.1	SG + BCT	79	1,12	854	55
	P5.2	SG + BCT	186	1,12	854	55
P5.3	SG + BCT	260	1,12	854	55	
Rakel	R + CNT	90	6	$V_{Besch} = 800\text{ml}$		

E Charakterisierung der Beschichtungstinten

Aufgrund der beobachteten zeitlichen Veränderung der Viskosität direkt nach Ansetzen und Rühren (30 min) der Lösung wird die Beschichtungslösung immer für 1 h ruhen gelassen. Nach diesem Intervall bleibt die Viskosität der Lösungen konstant und ist gut reproduzierbar. Das Zeitfenster wurde genutzt, um für die Beschichtungen alle erforderlichen Vorbereitungen durchzuführen. Die Charakterisierung der Stoffsysteme erfolgte nach diesem zeitlichen Ablauf bei einer Temperatur von 20 °C (vgl. Abbildung A.7, Tabelle A.9 und Tabelle A.10)

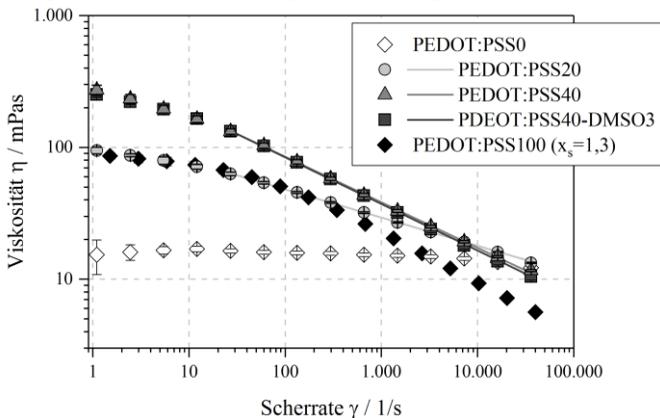


Abbildung A.7: Viskositätsverlauf der untersuchten Modellstoffsysteme PEDOT:PSS0, PEDOT:PSS20, PEDOT:PSS40 (Feststoffgehalt $x_s = 0,023$), PEDOT:PSS40-DMSO3 ($x_s = 0,022$) und reines PH1000 (PEDOT:PSS100, $x_s = 0,013$) sowie die Fitfunktionen (Linien, Fitparameter: s. Tabelle A.9). Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Tabelle A.9: Fitparameter mit η in mPas und Scherrate $\dot{\gamma}$ in 1/s bei konstantem Feststoffgehalt von $x_s = 0,023$ sowie dem gültigen Scherratenbereich. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Stoffsystem	Viskosität mit $\eta = a \cdot \dot{\gamma}^b$		
	a / mPas ^{1+b}	b / -	Gültigkeitsbereich / 1/s
PEDOT:PSS40-DMSO3*	434,96	-0,3570	1,1 - 36.000
PEDOT:PSS40	416,87	-0,3454	1,1 - 36.000
PEDOT:PSS20	128,70	-0,2139	1,1 - 36.000

*aus Riegel et al. (2017)

Tabelle A.10: Feststoffgehalt x_s , Feststoff- bzw. Flüssigkeitsdichte ρ in g/cm³ sowie statische Oberflächenspannung σ in mN/m. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Stoffsystem	Dichte ρ_s	stat. Oberflächen-	Feststoffgehalt x_s
	g/cm ³	spannung σ mN/m	
DMSO	1,1	44,15**	-
PEDOT:PSS100	1,585	69,49 ± 0,17	0,0121
PEDOT:PSS40-DMSO3	1,398	64,14 ± 0,13	0,023
PEDOT:PSS40	1,398	64,43 ± 0,22	0,023
PEDOT:PSS20	1,345	64,80 ± 0,19	0,023
PEDOT:PSS0	1,296*	64,16 ± 0,21	0,025

*aus Jeck (2012), ** aus Yaws (1999)

F Charakterisierung der Polymerkompositfilmen

F.1 Geometrie des Beschichtungssubstrats und Schnittkanten

Pro Beschichtung werden zwei Filme A und B aus dem Beschichtungssubstrat geschnitten. Abhängig von dem Beschichtungsverfahren variiert die Geometrie der Substrate. Eine detaillierte Darstellung der Probengeometrie bzw. Schnittkanten ist in Abbildung A.8 abgebildet.

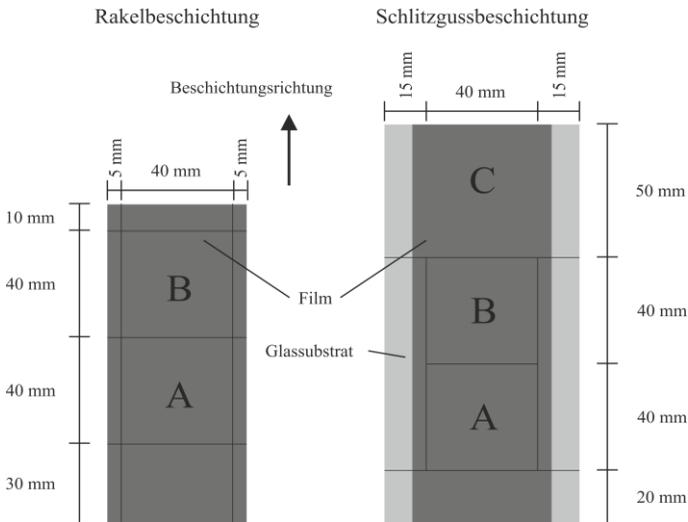


Abbildung A.8: Schematische Darstellung des Beschichtungssubstrats für Rakel- (links) und Schlitzgussbeschichtung (rechts) am Comb-Nozzle[®]-Trockner.

F.2 Messpositionen zur Bestimmung der Schichtdicke

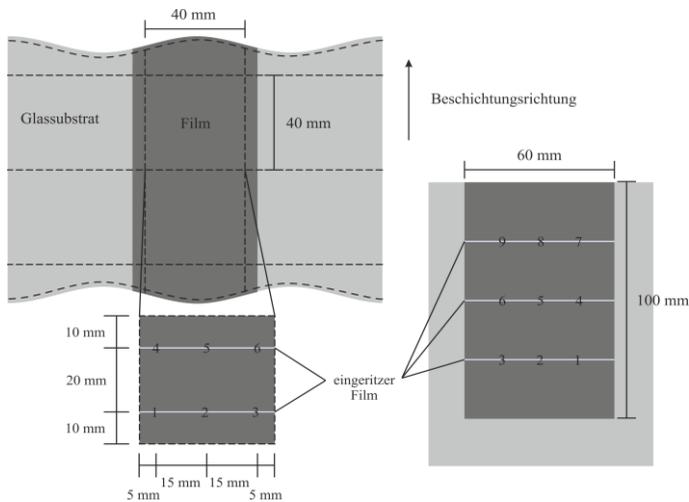


Abbildung A.9: Schematische Darstellung der beschichteten Filme zur Schichtdickenbestimmung mit sechs Messpositionen bei Leitfähigkeitsmessungen (Filmgeometrie: 40 x 40mm²) (links unten) und mit neun Messpositionen bei Analyse der Enzymaktivität (Filmgeometrie: 100 x 60mm²) (rechts).

F.3 Optimierung des Batch-Prozesses

Unmittelbar nach dem Start der Spritzenpumpe liegt kein sprunghafter Anstieg des Volumenstroms vor. Es wird ein sich mit der Zeit aufbauender Volumenstrom beobachtet. Abhängig von dem Absolutwert des gewünschten Volumenstroms ergeben sich Anlaufzeiten von mehreren Sekunden. Abstimmung und Einstellen des ersten Volumenstroms wurde experimentell vorgenommen. Weitere Details sind in der studentischen Arbeit von N. Reichelt (2016) beschrieben.

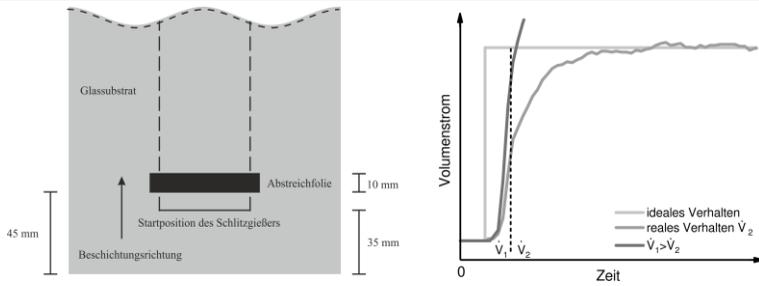


Abbildung A.10: Schematische Darstellung der Positionierung der Abstreiffolie (links) sowie des theoretischen und tatsächlichen Förderverhaltens der verwendeten Spritzenpumpe (rechts).

F.4 REM-Aufnahmen

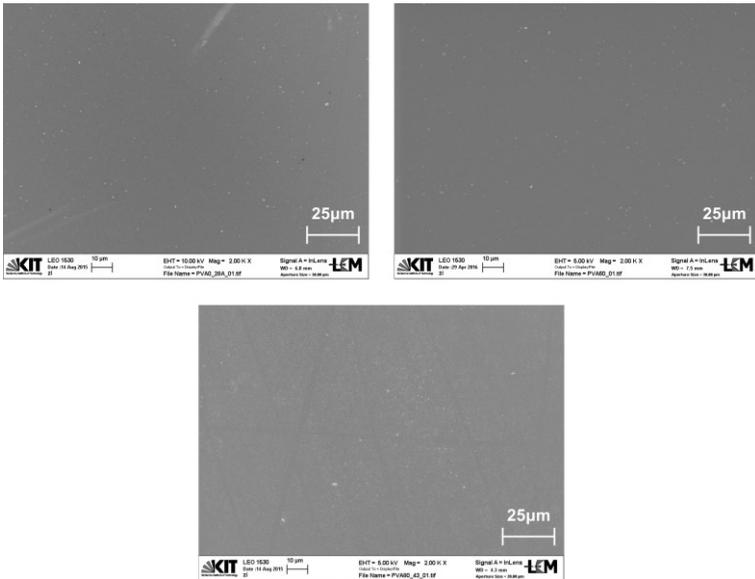


Abbildung A.11: REM-Aufnahmen von PEDOT:PSS100- (oben links), PEDOT:PSS40- (oben rechts) und PEDOT:PSS20- (unten) Schichten bei 2.000-facher Vergrößerung. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

F.5 Entwicklung der Schichtdicke mit Beschichtungslänge

Dargestellt ist die Zunahme der Schichtdicke mit Beschichtungslänge für PEDOT:PSS40 bei variiertter Beschichtungsgeschwindigkeit sowie die theoretisch eingestellte Trockenschichtdicke $h_{tr,theo} = 350$ nm. Die Durchführung erfolgt am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei Standardtrocknungsbedingungen.

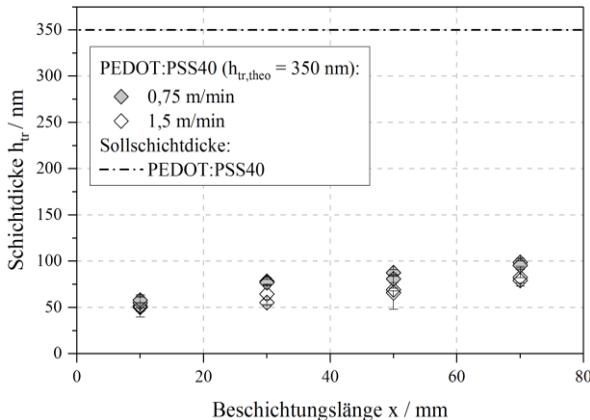


Abbildung A.12: Entwicklung der Trockenschichtdicke mit Beschichtungslänge x für PEDOT:PSS40 bei Prozessierung im Schlitzgussverfahren und variiertter Beschichtungsgeschwindigkeit ($h_{mass} = 19$ μm , $h_{tr,theo} = 350$ nm). Die Durchführung erfolgt am Comb-Nozzle[®]-Trockner bei konstantem Beschichtungsspalt $h_g = 101$ μm und Standardtrocknungsbedingungen. In Tabelle A.3 sind die verwendeten Beschichtungsparameter aufgelistet. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2.

G Ergänzende Informationen zur Vier-Punkt-Messmethode

G.1 Bestimmung des Geometriefaktors nach Smits

Nach Smits (1958) ergibt sich der Geometriefaktor einer zwei dimensional rechteckigen Probe (Länge x Breite: $a \times b$) nach Gleichung (A.6)

$$C_{Smits} = \frac{\pi}{\frac{\pi}{b'} + \ln\left(1 - e^{-\frac{4\pi}{b'}}\right) - \ln\left(1 - e^{-\frac{2\pi}{b'}}\right) + \sum_{m=1}^{\infty} a_m} \quad (A.6)$$

$$a_m = \frac{1}{m} e^{-\frac{2\pi(a'-2)m}{b'}} \frac{\left(1 - e^{-\frac{6\pi m}{b'}}\right) \left(1 - e^{-\frac{2\pi m}{b'}}\right)}{\left(1 + e^{-\frac{2\pi a' m}{b'}}\right)} \quad (A.7)$$

mit $a' = \frac{a}{s}$ und $b' = \frac{b}{s}$.

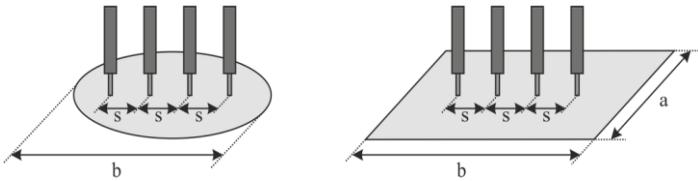


Abbildung A.13: Bestimmung des Geometrie-Korrekturfaktors C nach Smits (1958).

Tabelle A.11: Korrekturfaktor C_{Smits} nach Smits zur Bestimmung des Schichtwiderstands $\rho_s = \frac{v}{I} \cdot C_{Smits}$ mittels der Vier-Punkt-Methode abhängig von der Geometrie. Tabelle wurde in Auszügen aus Smits (1958) übernommen.

b/s	Kreis	b/s	$a/b = 1$	$a/b = 2$
1,5				1,4788
2,0				1,9454
3,0	2,2662		2,4575	2,7000
5,0	3,3625		3,5098	3,5749
7,5	3,9273		4,0095	4,0361
10,0	4,1716		4,2209	4,2357
20,0	4,4364		4,4516	4,4553
40,0	4,5076		4,5120	4,5129
∞	4,5324		4,5324	4,5324

G.2 Schichtdickenkorrekturfaktor

Eine Korrektur der Schichtdicke wurde bereits 1954 von Valdes zusammen mit der Vorstellung der Vier-Punkt-Methode vorgenommen. Für eine unendlich ausgedehnte Schicht auf einer nicht leitfähigen Oberfläche berechnet sich der spezifische Widerstand wie folgt

$$\rho = \frac{\rho_0}{G_7\left(\frac{h_{tr}}{s}\right)} = \frac{2\pi s \cdot \frac{U_{23}}{I_{14}}}{G_7\left(\frac{h_{tr}}{s}\right)} \quad [\Omega \cdot m] \quad (\text{A.8})$$

$$G_7\left(\frac{h_{tr}}{s}\right) = 1 + 4 \frac{s}{h_{tr}} \sum_{n=1}^{n=\infty} \left(\frac{1}{\sqrt{\left(\frac{s}{h_{tr}}\right)^2 + (2n)^2}} - \frac{1}{\sqrt{\left(2\frac{s}{h_{tr}}\right)^2 + (2n)^2}} \right) \quad (\text{A.9})$$

$$G_7\left(\frac{h_{tr}}{s} \rightarrow 0\right) = \frac{2s}{h_{tr}} \cdot \ln 2. \quad (\text{A.10})$$

Gleichung (A.10) findet für Schichten mit $\frac{h_{tr}}{s} < 0,100$ Anwendung, sodass sich der spezifische Widerstand für unendlich ausgedehnte Schichten mit $h_{tr} < 500 \mu\text{m}$ in Übereinstimmung mit Gleichung (A.8) nach Gleichung (2.4) ergibt (Valdes, 1954).

Fast zeitgleich veröffentlicht Uhlir (1955) ein Manuskript, das sich mit der numerischen Lösung des mathematischen Problems zur Beschreibung des Potential bei der Vier-Punkt-Messung beschäftigt. Im Wesentlichen kommt er zur gleichen Lösung, definiert den spezifischen Widerstand einer unendlich ausgedehnten, dünnen Schicht bereits ab $\frac{h_{tr}}{s} \ll 0,5$ (Uhlir Jr., 1955). 1985 schlagen Albers und Berkowitz einen weiteren Lösungsansatz zur Berechnung des spezifischen Widerstands aus der Vier-Punkt-Methode vor und zeigen, dass für $\frac{h_{tr}}{s} < 1$ eine dünne Schicht vorliegt (Albers & Berkowitz, 1985). Im Jahr 2001 schließlich stellt Weller einen Al-

gorithmus vor, der eine akkurate Berechnung der theoretischen Werte des Schichtdickenkorrekturfaktors ermöglicht und bestätigt die korrekte Bestimmung der bereits veröffentlichten Werte von Valdes und von Albers und Berkowitz (Weller, 2001). Zusätzlich ergänzt er eine Fehlerbetrachtung, die die der Präzision dieser Werte beschreibt. Er kommt zu dem Schluss, dass für $\frac{h_{tr}}{s} < 0,01$ (bzw. hier $h_{tr} < 50 \mu\text{m}$) Gleichung (2.2) für eine unendlich ausgedehnte Schicht gültig ist. Für $\frac{h_{tr}}{s} > 3$ entspricht die Schicht einem halbenendlichen Körper und Gleichung (A.8) mit $G_7 = 1$ beschreibt den spezifischen Widerstand korrekt. Der Schichtdickenkorrekturfaktor nach Weller kommt folglich im Bereich $0,01 < \frac{h_{tr}}{s} < 3$ zum Tragen.

H Optimierung des Leitfähigkeitsmessprofils

Im Laufe der durchgeführten Arbeiten wurde das Leitfähigkeitsmessprofil optimiert, um sowohl Genauigkeit als auch Aussagekraft der Messungen zu erhöhen. Im Fokus lagen Stabilität und Reproduzierbarkeit. Ein stabiles Messsignal ermöglicht die Messung einer konstanten Spannungsdifferenz U_{23} und folglich einer aussagekräftigen elektrischen Leitfähigkeit σ . Letztere wird nach Gleichung (2.1) und (2.2) aus ersteren ermittelt. Ziel sind somit möglichst geringe Schwankungen der elektrischen Leitfähigkeit über die Dauer der Messung bei einer guten Wiederholgenauigkeit. Im Rahmen der Optimierung des Messprofils wurde untersucht, welchen Einfluss die mit der Spannungsquelle aufgeprägte Spannung auf die resultierende elektrische Leitfähigkeit hat. Die aufgeprägte Spannung bestimmt den Strom, der über die äußeren beiden Kontakte durch die Schicht geleitet wird (vgl. Abbildung 2.3).

Die Optimierung des Messprofils wurde anhand eines reinen PEDOT:PSS-Films (PEDOT:PSS100 bzw. PH1000), dessen elektrische Leitfähigkeit jeweils längs und quer zur Beschichtungsrichtung mit drei verschiedenen Messprofilen bestimmt wurde (vgl. Tabelle A.12). Die elektrische Leitfähigkeit wurde dazu nach Ermittlung der Offsetspannung bei 0 V (vgl. Abschnitt 2.4.1) zuerst bei 2 V und 18 V für 20 s, im Anschluss zweimal bei 18 V für 20 s und zuletzt zweimal bei 18 V für 120 s ermittelt, wobei zwischen jeder Spannungseinstellung eine Pause von 20 s eingehalten wurde. Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wurde das Messprofil zweimal abgefahren, anschließend die Kontaktspitzen kurz angehoben,

abgesenkt und die Messung ein zweites Mal durchgeführt. Das Anheben und Absenken verändert die Messposition geringfügig und erlaubt eine grobe Einschätzung über die zur erwartende Schwankung bei der Leitfähigkeitsbestimmung.

Die elektrische Leitfähigkeit wurde als Mittelwert aus n Messwerten gebildet. Die Anzahl der Wiederholungen beschreibt die Häufigkeit, mit welcher das gewählte Messprofil an identischer Messstelle ohne Anheben der Messspitzen des Leitfähigkeitsmessstandes durchgeführt wurde. Standardabweichung und Anzahl der Wiederholungen fließen in das Vertrauensintervall VI mit ein, das mit einem Vertrauensniveau von 95% bestimmt wurde. Als Fehlerbalken charakterisiert diese Kenngröße daher die Schwankungen der Messgröße U_{23} . Geringe Werte weisen auf eine während der Messdauer konstante elektrische Leitfähigkeit hin bzw. auf eine Messung mit hoher Stabilität. Erste und zweite Messung sind in Tabelle A.12 für das jeweilige Messprofil in zwei Zeilen separat dargestellt.

Tabelle A.12: Vergleich verschiedener Messprofile längs und quer zur Beschichtungsrichtung durchgeführt am gleichen PEDOT:PSS-Film (PEDOT:PSS100, mittlere Trockenschichtdicke: $\bar{h}_{tr} = 538 \pm 21$ nm): nach Ermittlung der Offsetspannung bei 0 V wurde die Spannungsdifferenz U_{23} bzw. die daraus abgeleitete elektrische Leitfähigkeit σ (vgl. Abschnitt 2.4.1) zuerst bei 2 V und 18 V für 20 s, im Anschluss zweimal bei 18 V für 20 s und zuletzt zweimal bei 18 V für 120 s ermittelt; zwischen jeder Spannungseinstellung wurde jeweils eine Pause von 20 s eingehalten. Die Anzahl an Wiederholungen beschreibt die Häufigkeit der durchgeführten Messungen mit gleichem Messprofil und identischer -position (kein Anheben der Messspitzen).

No.	Messprofil	el. Lf. σ / S/m	VI / S/m	Anzahl Messwerte n / -	Anzahl Wdh. / -
1	2 V & 18 V, je 20 s,	159,2	1,18	263	2
	längs	158,2	2,58	264	2
2	2 x 18 V, je 20 s,	158,9	0,41	266	2
	längs	158,6	0,91	266	2
3	2 x 18 V, je 120 s, längs	162,0	0,60	1562	1
1	2 V & 18 V, je 20 s,	150,8	2,16	144	2
	quer	150,8	1,19	144	2
2	2 x 18 V, je 20 s,	148,9	0,37	144	2
	quer	145,5	0,96	144	2
3	2 x 18 V, je 120 s, quer	153,6	0,73	835	1

el. Lf. = elektrische Leitfähigkeit, VI = Vertrauensintervall, Wdh. = Wiederholung

Die nach Messprofil 1 und 2 ermittelten elektrischen Leitfähigkeiten weichen bei gleicher Messdauer (20 s) nur geringfügig voneinander ab. Sehr wahrscheinlich sind diese Schwankungen auf leichte Inhomogenitäten innerhalb der Schicht selbst zurückzuführen. Auffallend ist jedoch der Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit bei Verlängerung der Messdauer bei Profil 3 (120 s gegenüber 20 s). Dieser Anstieg wird möglicherweise durch ein strominduziertes Aufheizen der Probe verursacht und sollte vermieden werden. Zugleich ist bei Betrachtung der Vertrauensintervalle deutlich zu erkennen, dass bei gleicher Messdauer (20 s) sowohl längs als auch quer sich für Messprofil 1 gegenüber 2 zwei bis sechsmal größere Werte ergeben (1-2,5 S/m gegenüber 0,4-0,9 S/m). Wie eingangs erwähnt, weisen größere Zahlenwerte der Fehlerbalken auf eine ausgeprägte Streuung des Messsignals hin. Als Resultat einer Messung von geringerer Stabilität schwankt die Spannungsdifferenz in Abhängigkeit von der angelegten Spannung stärker um den ermittelten Mittelwert. Hingegen wirkt sich eine Verlängerung der Messdauer (Messprofil 3) im Vergleich zu Messprofil 2 (gleiches Spannungsprofil: zweimal bei 18 V) nicht auf einen Anstieg der Fehlerbalken an. Die Zahlenwerte der Vertrauensintervalle bewegen sich in gleicher Größenordnung. Abschließend ist festzuhalten, dass eine Variation der Spannung (Profil 1) zu Messergebnissen mit verminderter Stabilität führt, eine Verlängerung der Messdauer in einem Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit resultiert. Daher wurde zur Gewährleistung aussagekräftiger und reproduzierbarer Resultate Messprofil 2 für die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit verwendet.

I Ergänzende Leitfähigkeitsmessungen

I.1 Einfluss der Lagerungsdauer unter Stickstoffatmosphäre

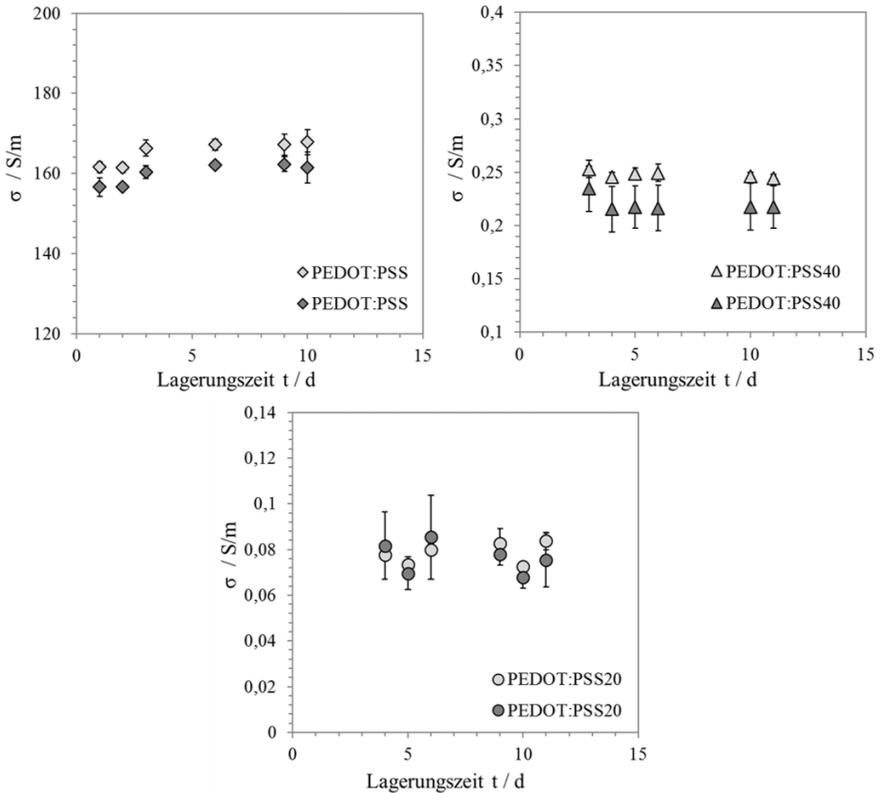


Abbildung A.14: Einfluss der Lagerungsdauer auf die elektrische Leitfähigkeit von PEDOT:PSS100- (oben links), PEDOT:PSS40- (oben rechts) und PEDOT:PSS20- (unten) Schichten unter Stickstoffatmosphäre. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

I.2 Auflistung der abgeleiteten Fitparameter a und b zur Beschreibung der elektrischen Leitfähigkeit

Die Fitparameter der elektrischen Leitfähigkeit in Abhängigkeit der Schichtdicke leiten sich direkt aus den Parametern a_s und b_s der spezifischen Leitfähigkeit ab und wurden nach Gleichungen (3.1) und (3.2) berechnet.

Tabelle A.13: Fitparameter für die schichtdickenabhängige Leitfähigkeit: σ bezeichnet die elektrische Leitfähigkeit in S/m und h_{tr} die Trockenschichtdicke in nm. Die Parameter wurden aus Gleichungen (3.1) und (3.2) berechnet. Der gültige Schichtdickenbereich ist jeweils angegeben. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

Stoffsystem	$\sigma = a \cdot h_{tr}^b$		Gültigkeitsbereich / nm
	$a / \text{S}/(\text{m}\cdot\text{nm}^b)$	$b / -$	
PEDOT:PSS100 + Greco, 2011	63,62	0,1489	45 - 580
PEDOT:PSS40	17,31	-0,6865	55 - 500
PEDOT:PSS20	0,220	-0,1697	110 - 1000

Tabelle A.14: Parameter des Stoffsystems PEDOT:PSS40-DMSO3 für die schichtdickenabhängige Schichtleitfähigkeit σ_s in mS sowie die daraus abgeleitet elektrische Leitfähigkeit σ in S/m. h_{tr} bezeichnet die Trockenschichtdicke in nm. Die Fitparameter a_s und b_s wurden mit Hilfe der Least-Square-Methode berechnet, die Parameter a und b aus Gleichungen (3.1) und (3.2) abgeleitet. Der Fit wurde über Schichtdicken im Bereich von 95 - 2200 nm ermittelt. Zusammensetzung des Stoffsystems: s. Tabelle 2.

Potenzfit: $\sigma_s = (a_s \pm \Delta a_s) \cdot h_{tr}^{b_s \pm \Delta b_s}$				R^2	abgeleitet: $\sigma = a \cdot h_{tr}^b$	
$a_s /$ mS/nm^b	$\Delta a_s /$ mS/nm^b	$b_s / -$	$\Delta b_s / -$		$a /$ $\text{S}/(\text{m}\cdot\text{nm}^b)$	$b / -$
1,64E-4	3,52E-5	1,4439	0,0293	0,998	164,5	0,4439

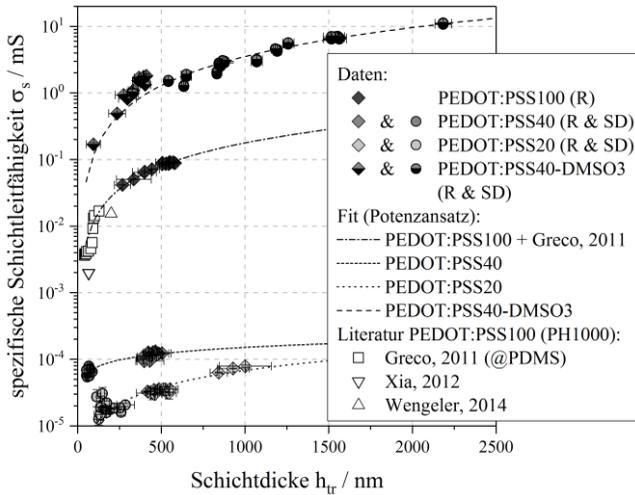


Abbildung A.15: Spezifische Schichtleitfähigkeit mit Literaturvergleich der untersuchten Stoffsysteme (PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40-DMS3) in Abhängigkeit der Trockenschichtdicke mit Annealing (30 min bei 40 °C). Die Prozessierung der Schichten erfolgte per Rakel- (Rauten) & Schlitzgussverfahren (Kreise) für PEDOT:PSS100/40/20 am Comb-Nozzle©-Trockner, für PEDOT:PSS40-DMSO3 am Batch-Coater-Trockner bei Standardbeschichtungs- und Trocknungsparameter. Die Fitfunktionen (gestrichelte Linien) beschreiben die Schichtdickenabhängigkeit der spezifischen Schichtleitfähigkeit für die einzelnen Stoffsysteme. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

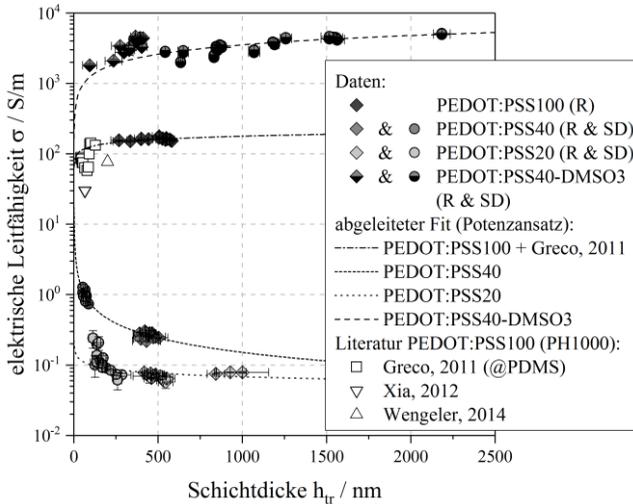


Abbildung A.16: Schichtdickenabhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit sowie die aus der Schichtleitfähigkeit abgeleiteten Fitfunktionen verschiedener PEDOT:PSS-PVA Polymerkompositmatrizen (PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40, PEDOT:PSS20 und PEDOT:PSS40-DMSO3) mit Annealing (30 min bei 40 °C). Die Prozessierung der Schichten erfolgte per Raket- (Rauten) & Schlitzgussverfahren (Kreise) für PEDOT:PSS100/40/20 am Comb-Nozzle®-Trockner, für PEDOT:PSS40-DMSO3 am Batch-Coater-Trockner bei Standardbeschichtungs- und Trocknungsparameter. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

I.3 Stabilität des Messsignals und Reversibilität des Sorptionsprozesses

Auch die Stabilität des Messsignals während der Sorption und die Reversibilität des Sorptionsprozesses soll kurz beleuchtet werden. Abbildung A.17 (links) zeigt eine über mehrere Stunden konstante Leitfähigkeit. Innerhalb des untersuchten Zeitfensters ist keine Steigerung oder Abfall zu beobachten. Zugleich ist zwischen Sorption und Desorption kaum eine Hysterese bezüglich der gemessenen elektrischen Leitfähigkeit zu beobachten, wie der Vergleich der elektrischen Leitfähigkeit vor Sorption und erneut nach Desorption unter Inertgasbedingungen, beispielhaft anhand von reinen PEDOT:PSS-Schichten, in Abbildung A.17 (rechts) belegt. Dies bestätigt auch die in der Literatur formulierte Hypothese, dass das während der Sorption eingelagerte Wasser in Schichten ohne aktive Enzymkomponente in

erster Linie die PEDOT-reichen Regionen auseinanderschiebt und keine strukturellen Veränderungen oder Umlagerungen in der Schicht, wie beispielsweise durch thermische Nachbehandlung, auftritt (Choi et al., 2015; Huang et al., 2005; Kus & Okur, 2009; Nardes et al., 2008). Insbesondere mit Blick auf Biosensoren ist dies eine interessante Beobachtung, da die Wasseraufnahme in aktiven Biosensorschichten zur irreversiblen Veränderungen im Film führen und eine erhöhte Wasseraffinität den Degradationsprozess beschleunigen (Kachel, 2017).

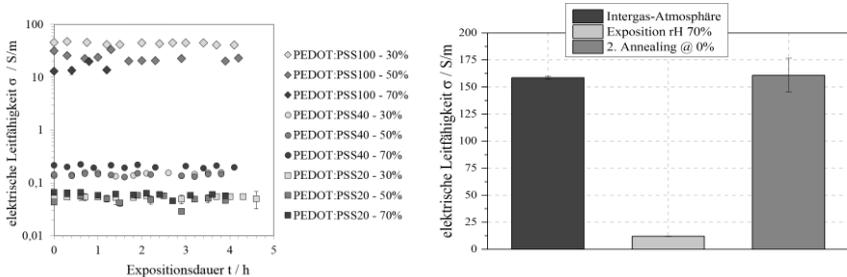


Abbildung A.17: Einfluss der Expositionsdauer (links) auf Stoffsysteme PEDOT:PSS100, PEDOT:PSS40 und PEDOT:PSS20 und die Reversibilität des Sorptionsprozesses am Beispiel für PEDOT:PSS100 (rechts). Gezeigt ist die elektrische Leitfähigkeit links als Funktion der Expositionszeit bei den untersuchten Luftfeuchten (30, 50 und 70 %) und rechts in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen für die gleichen Schichten vor Sorption unter Stickstoffatmosphäre, während Exposition von rH 70 % und nach Desorption und Annealing (30 min bei 40 °C) unter Stickstoffatmosphäre. Zusammensetzung der Stoffsysteme: s. Tabelle 2.

J Konstruktionszeichnung der Sorptionskammer mit kombinierter Leitfähigkeitsmessung

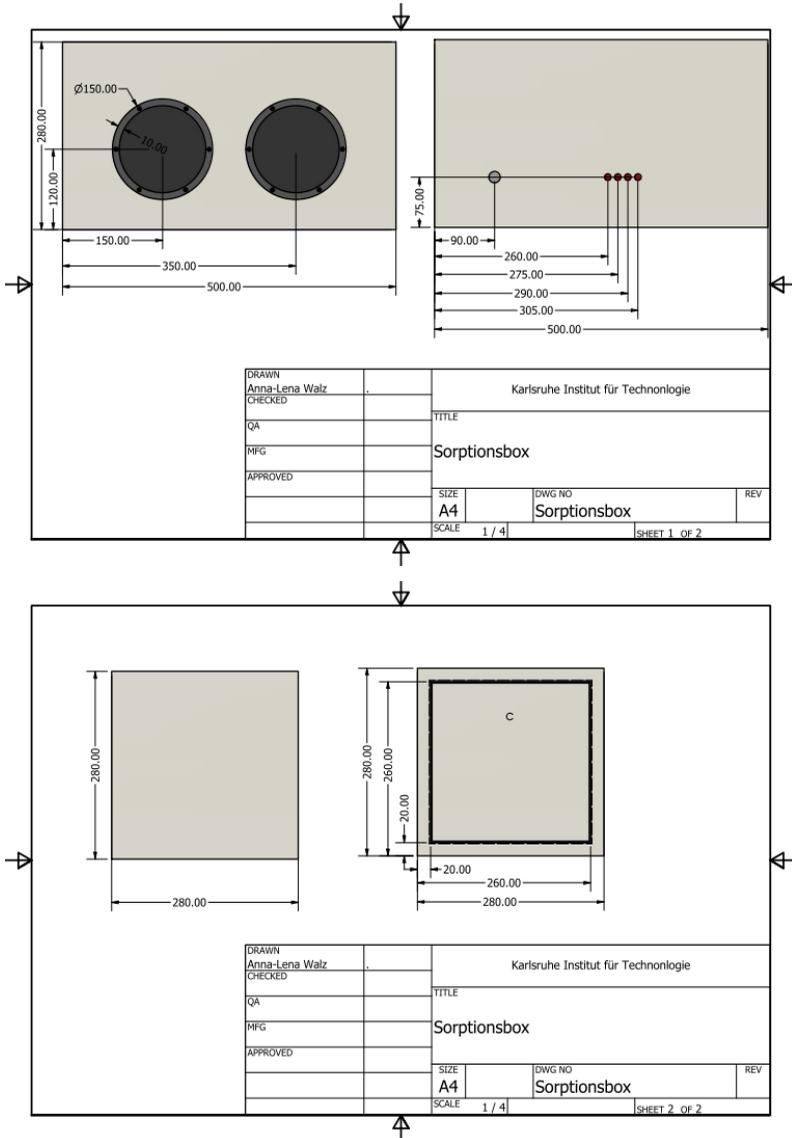


Abbildung A.18: Konstruktionszeichnung der entwickelten Sorptionskammer.

K Flory-Huggins Theorie und Fitparameter

Das Phasengleichgewicht an der Grenzfläche, welches die Menge an Wasser \tilde{x}_w im Film mit dem Partialdruck $p_w^*(T)$ an der Phasengrenze in Beziehung setzt, kann für ein ideales Gas bei moderaten Drücken nach Raoult-Dalton beschrieben werden. Die Aktivität a_w von Wasser in Lösung und Gasphase entsprechen sich ($a_w = \gamma_w \cdot \tilde{x}_w$), sodass sich das Phasengleichgewicht gemäß Gleichung (A.11) ergibt.

$$\tilde{y}_w = \frac{p_w}{p_{total}} = \gamma_w \cdot \tilde{x}_w \cdot \frac{p_w^*(T)}{p_{total}} = a_w \cdot \frac{p_w^*(T)}{p_{total}} \quad (\text{A.11})$$

Das Flory-Huggins Modell (Flory, 1953) wird zur Beschreibung des Phasengleichgewichts von Polymerlösungen verwendet, in welchem die Polymerlösung als ein dreidimensionales Gitter aus Kugeln betrachtet wird. Das Polymer besteht aus einer Kette von freibeweglichen und austauschbaren Kugeln, während die Lösemittelmoleküle als einzelne Kugeln angenommen werden. Aus dem Modell resultiert die Wasseraktivität nach Gleichung (A.12).

$$\ln a_w = \left[\ln \Phi_w + (1 - \Phi_w) - \Phi_p \cdot \frac{\tilde{v}_w}{\tilde{v}_p} \right] + \chi_{wp} \cdot \Phi_p^2 \quad (\text{A.12})$$

Für Wasser-Polymersysteme ist das spezifische molare Volumen ($\tilde{v}_i = \tilde{M}_i / \tilde{\rho}_i$) von Wasser gegenüber des Polymers aufgrund des großen Molmassenunterschieds vernachlässigbar ($\tilde{v}_w / \tilde{v}_p \rightarrow 0$ mit $\tilde{v}_w \ll \tilde{v}_p$). Daraus ergibt sich zur Beschreibung des Phasengleichgewichts Gleichung (3.3) mit den Volumenbrüchen Φ_w und Φ_p von Wasser und Polymer, dem Wechselwirkungsparameter χ_{wp} sowie der Wasseraktivität in der Gasphase a_w , welche über das Verhältnis des Wasserpartialdruckes p_w und des Satttdampfdruckes $p_w(T)$ bei aktueller Temperatur definiert ist.

Der Wechselwirkungsparameter wird an Messdaten gefittet. Die verwendeten empirische Korrelationen zur Beschreibung der Wechselwirkungsparameter χ_{wp} sowie die entsprechenden Fitparameter der in Abbildung 3.10 dargestellten Phasengleichgewichts von PEDOT:PSS100 und PEDOT:PSS0 sind in Tabelle A.15 zusammengefasst.

Tabelle A.15: Fitparameter zur Beschreibung der Konzentrationsabhängigkeit des Flory-Huggins Wechselwirkungsparameters χ_{wp} .

Stoffsystem	Korrelation	a	b	c
PVA*	$\chi_{wp} = a + b \cdot \Phi_w^c$	6,2257	-5,7820	0,0668
PEDOT:PSS	$\chi_{wp} = a + b \cdot \Phi_w + c \cdot \Phi_w^2$	-1,2122	6,2342	-5,5779

*aus Kachel et al. (2013)

An dieser Stelle sollte erwähnt werden, dass in der Herleitung der Flory-Huggins Theorie der Wechselwirkungsparameter χ_{wp} nicht von der Konzentration abhängt. Aus thermodynamisch Perspektive sollte der konzentrationsabhängige Wechselwirkungsparameter daher korrekterweise als χ_{wp}^* bezeichnet werden, da er nicht mit der ursprünglichen Definition aus der Herleitung übereinstimmt.

Wie in Abschnitt 3.5 erläutert, erfolgt eine Quantifizierung der Abweichung zwischen Messdaten und Modell mit Hilfe des von Kachel eingeführten Abweichungsfaktors ζ (Kachel et al., 2013). Er ist gemäß Gleichung (A.13) definiert mit 1 als Erwartungswert bei Übereinstimmung von Modell und Daten.

$$\zeta = \frac{X_{w,Modell}}{X_{w,berechnet}} \quad (\text{A.13})$$

Für die untersuchten Stoffsysteme sind die Abweichungsfaktoren ζ in Abbildung A.19 dargestellt. Diese liegen nahe 1 und belegen die gute Beschreibung der Messdaten mit dem verwendeten Modell. Hin zu kleinen Mengen an absorbierten Wasser treten leicht größer Abweichungen auf.

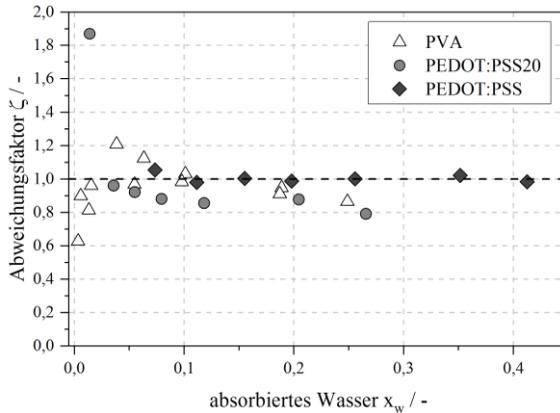


Abbildung A.19: Abweichungsfaktor für PVA (weiße Dreiecke), PEDOT:PSS20 (graue Kreise) und PEDOT:PSS (dunkelgraue Rauten) nach Gleichung (A.13).

L Abschätzung der Sorptionskinetik

PEDOT:PSS-Schichten, zum Teil mit Kompositen, werden in der Literatur beispielsweise als Feuchtesensor vorgeschlagen. Als Messaufnehmer werden sie mit einer kurzen Ansprech- und Erholungszeit charakterisiert (Choi et al., 2015; Kus & Okur, 2009), ein Hinweis für eine schnelle Kinetik. In den meisten Fällen sind die Untersuchungen experimenteller Natur anhand des Sensors. Um den Sorptionseinfluss besser zu quantifizieren bzw. Beobachtungen aus der Literatur mit einem Modell zu validieren, soll im Folgenden eine grobe Abschätzung der Sorptionszeit in Abhängigkeit von Luftfeuchte bei konstanter Schichtdicke für die diskutierten Stoffsysteme erfolgen. Hierfür werden die Reinstoffe aus dieser Arbeit mit einer Schichtdicke von 500 nm (grober Richtwert der untersuchten Schichten) gewählt und eine Simulation der Sorptionskinetik durchgeführt. Der verwendete Ansatz orientiert sich an den in der Literatur vorgestellten Modellen: Jeck et al. (2011) leiten anhand des Vergleichs von Messdaten und Simulationskinetik den binären Diffusionskoeffizient von Wasser in PVA-Polymerschichten aus Sorptionsversuchen ab. Diesen validieren Kachel et al. (2017) mittels definierten Trocknungsversuchen.

Die Simulation der Sorption erfolgt isotherm unter Berücksichtigung des Stofftransports in Gasphase, der Diffusion von Wasser in der Polymerschicht sowie dem Phasengleichgewicht. Letzteres wird mittels des Flory-Huggins Ansatz

gemäß Gleichung (3.3) beschrieben. Es werden die in Tabelle A.15 aufgelisteten Zahlenwerte für den Wechselwirkungsparameter verwendet. Zur Charakterisierung des diffusiven Stofftransports im Polymerfilm wird das Fick'sche Diffusionsmodell angewandt, in dem ein Exponentialansatz nach Gleichung (A.14) zur Beschreibung der Konzentrationsabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten $\delta_{w,p}^V$ verwendet wird.

$$\delta_{w,p}^V = \exp \left\{ -\frac{A + B \cdot X_w}{1 + C \cdot X_w} \right\} \quad \text{mit } [\delta_{w,p}^V] = \text{m}^2/\text{s} \quad (\text{A.14})$$

X_w bezeichnet die Wasserbeladung im Film bezogen auf die Trockenmasse. A, B und C sind Fitparameter. Diese werden in der Simulation an die Konzentrationsprofile der Messdaten angepasst. Die für die Abschätzung der Sorptionskinetik aus der Literatur extrahierten und in der Simulation verwendeten Parameter sind für PVA und PEDOT:PSS in Tabelle A.16 aufgelistet.

Tabelle A.16: Fitparameter zur Beschreibung der Konzentrationsabhängigkeit des Wasserdiffusionskoeffizienten δ_{wp} gemäß Gleichung (A.14).

Stoffsystem	A	B	C
PVA*	37,47	321,70	14,51
PEDOT:PSS**	$D_{wp} = 1,1 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$		

*aus Jeck et al. (2011), **aus Bachelorarbeit Andreas Altvater (2015)

L.1 Simulationsergebnisse der Abschätzung

Die Sorption dominierende Faktoren sind Schichtdicke, Luftfeuchte, Temperatur sowie die Filmzusammensetzung. Die grobe Abschätzung erfolgte isotherm bei Raumtemperatur ($T_g = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), bei denen auch alle Leitfähigkeitsmessungen durchgeführt wurden. Zur Bestimmung eines Stoffübergangskoeffizienten der Gaskinetik wurde ein Wärmeübergangskoeffizient von $\alpha_g = 5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ abgeschätzt, der die ruhende Luft über der Schicht charakterisiert. Als repräsentative Schichtdicke wurden 500 nm gewählt, da die Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichts mit der Schichtdicke steigt und so dicken Schichten ebenfalls berücksichtigt werden. Für die grobe Größtfehlerabschätzung wird von einer trockenen Schicht mit einer Anfangsbeladung von 0 ausgegangen. Das Simulationsergebnis

der Rückbefeuchtung ist für PVA (links) und PH1000 (rechts) in Abbildung A.20 für die untersuchten relativen Luftfeuchten 30, 50 und 70 % dargestellt.

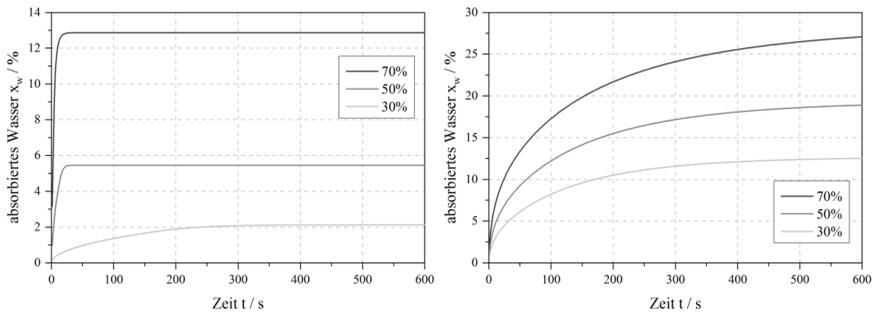


Abbildung A.20: Simulation der isothermen Rückbefeuchtung von einer 500 nm dicken PVA-Schicht (links) sowie PH1000-Schicht (rechts) bei $T_g = 25$ °C. Dargestellt ist der Wassermassenbruch in % als Funktion der Zeit bei 30, 50, 70 % relative Luftfeuchte. Als Anfangsbeladung wurde von einem trockenen Film ausgegangen.

Eine Steigerung der Luftfeuchte beschleunigt die Rückbefeuchtung für reine PVA-Filme. Nach 5 min wird das Sorptionsgleichgewicht bei einer relativen Luftfeuchte von 30 % erreicht, bei 50 und 70 % rH dauert es weniger als eine Minute. Reines PEDOT:PSS zeigt eine deutlich langsamere Rückbefeuchungskinetik. Bei einer relativen Luftfeuchte von 70 % hat sich nach 10 min noch kein Gleichgewicht eingestellt, bei 50 % dauert es in etwa 10 min, bei 30 % geringfügig weniger. Der Diffusionskoeffizient wurde basierend auf einer studentischen Arbeit (Altvater, 2015) mit $\delta_{wp} = 1,1 \cdot 10^{-15}$ m²/s sehr grob abgeschätzt und als konstant angenommen. Hierbei handelt es sich um eine grobe Eingrenzung des Diffusionskoeffizienten. Der Zahlenwert ist als eine erste Einschätzung der Größenordnung zu betrachten. Sehr wahrscheinlich wird die Kinetik deutlich unterschätzt, da kurze Reaktionszeiten in PEDOT:PSS basierten Feuchtesensoren auf eine schnelle Kinetik hinweisen (Choi et al., 2015; Kus & Okur, 2009). Zugleich ist aufgrund des konstanten Diffusionskoeffizienten auch keine Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung mit steigender Luftfeuchte zu erkennen. Dennoch wird auch hier die größere Affinität des leitfähigen Polymers gegenüber PVA deutlich: PH1000 absorbiert für die jeweilige Luftfeuchte eine deutlich größere Menge an Wasser. Auch wenn die Sorptionskinetik für PEDOT:PSS deutlich unterschätzt wird, ist sie für PVA in der Literatur bereits ausführlich validiert und kann sehr präzise beschrieben werden (Jeck, 2012; Jeck et al., 2011; Kachel, 2017; Kachel et al., 2013).

Daher ergibt sich für Kompositfilme aus PEDOT:PSS und PVA als logische Konsequenz eine Sorptionskinetik die zwischen beiden Reinstoffen liegt und folglich im Vergleich zum reinen PH1000 schneller abläuft. Für PEDOT:PSS40- und PEDOT:PSS20-Schichten ist somit eine recht schnelle Gleichgewichtseinstellung zu erwarten. Eine zusätzliche Wartezeit bis zur Leitfähigkeitsmessung über 15 min hinaus, die nach Einschleusung der Proben bis zur Messung verstreichen, ist nicht erforderlich. Dies bestätigt auch die mit fortschreitender Expositionsdauer konstante bleibende Leitfähigkeit in Abbildung A.17 (links).

M Gasseitig kontrollierte Trocknung

M.1 Abschätzung der Trocknungsdauer

Die Abschätzung der Trocknungsdauer erfolgte für eine rein gasseitig kontrollierte Trocknung eines Wasserfilms unter der Annahme einer einseitigen Diffusion. Es wurde zunächst eine isotherme Trocknung auf einer beheizten Platte angenommen. Die Massenbilanz um den Wasserfilm ergibt sich nach Gleichung (A.15)

$$\frac{dM}{dt} = -\dot{m}_w \cdot A = 0 \quad (\text{A.15})$$

Die Charakterisierung der gasseitigen Kinetik erfolgt mittels des Stefan-Maxwell-Ansatzes, welcher sich für einseitige Diffusion im binären Fall auf Gleichung (A.16) reduziert.

$$\dot{m}_w = \beta_{wg} \cdot \tilde{\rho}_g \cdot \tilde{M}_w \cdot \ln \left(\frac{1 - \tilde{y}_{w,\infty}}{1 - \tilde{y}_{w,ph}} \right) \quad (\text{A.16})$$

Durch Kombination beider Gleichungen, Trennung der Veränderlichen und Integration kann daraus die Trocknungszeit nach Gleichung (A.17) bestimmt werden.

$$\begin{aligned}
 t &= \frac{M_w}{\dot{m}_w \cdot A} \\
 &= \frac{\rho_w(T_F) \cdot h_{nass}}{\beta_{wg}(a_g, T_g) \cdot \tilde{\rho}_g(T_g) \cdot \tilde{M}_w \cdot \ln\left(\frac{1 - \tilde{y}_{w,\infty}(T_g, T_{Tau}, p_U)}{1 - \tilde{y}_{w,Ph}(T_F, p_U)}\right)} \quad (A.17)
 \end{aligned}$$

In Gleichung (A.17) beschreibt h_{nass} die Nassfilmdicke des Films, $\rho_w(T_F)$ die temperaturabhängige Dichte von Wasser, \tilde{M}_w die Molmasse von Wasser, $\tilde{\rho}_g(T_g)$ die molare Gasdichte, welche über die ideale Gasgleichung ermittelt werden kann. Die temperatur- und druckabhängigen Molenbrüche von Wasser an der Phasengrenze $\tilde{y}_{w,Ph}(T_F, p_U)$ und in der Umgebung $\tilde{y}_{w,\infty}(T_g, T_{Tau}, p_U)$ ergeben sich unter Annahme eines thermodynamischen Gleichgewichts nach Raoult-Dalton und der Antoine-Gleichung für Wasser. Der Stoffübergangskoeffizient β_{wg} ist über die Lewis-Korrelation (Gleichung (A.18)) mit dem Wärmeübergangskoeffizienten α_g verknüpft und kann mittels der Lewis-Kennzahl nach Gleichung (A.19) und $n = 0,42$ für eine turbulente Strömung bestimmt werden. Bei Standardtrocknungsbedingungen wird ein Wärmeübergangskoeffizient von $\alpha_g = 50 \text{ WW}/(\text{m}^2 \cdot \text{K})$ und eine Trocknungstemperatur von $\vartheta_{Trocknung} = 40^\circ \text{C}$ eingesetzt. Die Beschreibung des Diffusionskoeffizient Wasser-Luft erfolgt nach der temperatur- und druckabhängigen Fuller-Gleichung. Alle Stoffdaten für Luft und Wasser wurden dem VDI-Wärmeatlas entnommen und, wenn erforderlich, temperaturabhängig gefittet (Verein Deutscher Ingenieure, 2013).

$$\frac{\alpha_g}{\beta_{wg}} = \tilde{\rho}_g(T_g) \cdot \tilde{c}_{p,g}(T_g) \cdot Le(T_g)^{1-n} \quad (A.18)$$

$$Le = \frac{Sc}{Pr} = \frac{\kappa}{\delta_{wg}} = \frac{\lambda(T_g)}{\tilde{\rho}_g(T_g) \cdot \tilde{c}_{p,g}(T_g) \cdot \delta_{wg}(T_g, p_U)} \quad (A.19)$$

Der zeitliche Verlauf der Abnahme des Flächengewichts $m_{w,t} = \frac{M_w}{A}$ kann nach Diskretisierung durch sukzessive Aufsummierung aus Gleichung (A.20) abgeleitet werden und ist in Abbildung A.21 dargestellt.

$$m_{w,t} = m_{w,0} - \dot{m}_w \cdot t \quad (A.20)$$

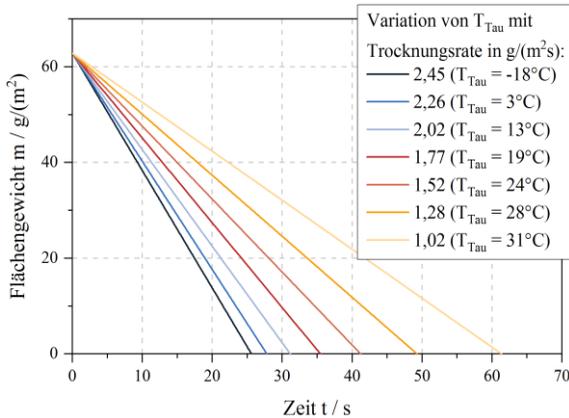


Abbildung A.21: Berechnung der Trocknungsdauer bei Annahme einer rein gaseitig kontrollierten Trocknung eines Wasserfilms mit einer Nassfilmdicke von $63 \mu\text{m}$ bei Variation des Taupunktes im Bereich der beobachteten Schwankungsbreite im Labor während des gesamten Jahres. Verwendete Trocknungsparameter: $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$, isotherme Trocknung bei $\vartheta_g = 40^\circ \text{C}$. Die berechneten Trocknungsraten sind in der Legende ergänzt.

Die Berechnung der isothermen Trocknung bei $\vartheta_g = 40^\circ \text{C}$ erfolgte für eine charakteristische Nassfilmdicke von $63 \mu\text{m}$. Variiert wurde der Taupunkt zwischen -18 bis 31°C im Bereich der beobachteten Schwankungsbreite im Labor während des gesamten Jahres. Die dadurch bedingte Variation der Trocknungsrate zwischen $1,0 - 2,45 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ist in der Legende ergänzt. Die Abschätzung der Trocknungszeit in Abhängigkeit des Taupunktes liegt für eine rein gaseitig kontrollierte, isotherme Trocknung im Bereich von 1 min.

Zur Erfassung der Trocknungszeit bei nicht isothermer Trocknung erfolgte zusätzlich eine Parameterstudie, die eine potentielle Abkühlung des Films berücksichtigt. Hierzu ist für die zeitliche Abnahme des Flächengewichts eines $63 \mu\text{m}$ dicken Wasserfilms die Temperaturdifferenz zwischen Gas- und Filmtemperatur $\Delta T = T_g - T_{\text{Film}}$ als Scharparameter in Abbildung A.22 aufgetragen. Für die Berechnung wurden Standardtrocknungsparameter ($\vartheta_g = 40^\circ \text{C}$ und $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) gewählt, die bestimmten Trocknungsraten sind in der Legende erfasst. Es ist zu beobachten, dass abhängig von der Abkühlung die Trocknungsdauer zwischen 35 s bis hin zu mehr als 3 min variiert.

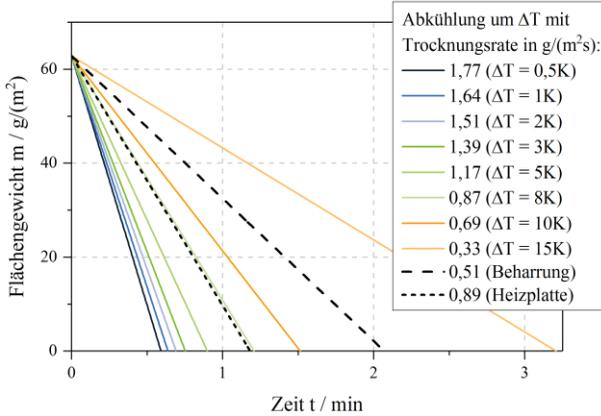


Abbildung A.22: Berechnung der Trocknungsdauer bei Annahme einer rein gasseitig kontrollierten Trocknung eines Wasserfilms mit einer Nassfilmdicke von $63 \mu\text{m}$ bei verschiedenen Filmtemperaturen. Aufgetragen ist der zeitliche Verlauf des Flächengewichts mit $\Delta T = T_g - T_{\text{Film}}$ als Scharparameter. Die berechneten Trocknungsraten sind in der Legende ergänzt. Verwendete Trocknungsparameter: $\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$, $\vartheta_G = 40^\circ \text{C}$ mit Filmabkühlung, $A_{W\ddot{U}}/A_{S\ddot{U}} = 2$. Zusätzlich dargestellt ist die zeitliche Änderung des Wasserfilms, der sich auf Beharrungstemperatur $\vartheta_B = 27,6^\circ \text{C}$ abkühlt (gestrichelt) sowie wenn zusätzlich eine Abschätzung des über die Heizplatte von unten zugeführten Wärmestroms \dot{Q}_{unten} ($\vartheta_F = 32,2^\circ \text{C}$) erfolgt (kurze Striche).

Für eine Einordnung der Temperaturdifferenz, welche durch Abkühlung bei nicht exakt isothermen Bedingungen zu erwarten wäre, wurde eine Energiebilanz aufgestellt (vgl. Gleichungen (A.21) - (A.25)) und zusätzlich der über die Heizplatte von unten zugeführte Wärmestrom \dot{Q}_{unten} mittels einer Kinetik abgeschätzt.

$$\frac{dH_W}{dt} = \dot{Q}_{\text{oben}} + \dot{Q}_{\text{unten}} - \dot{H}_{\text{ab}} \quad (\text{A.21})$$

$$\frac{dH_W}{dt} = \frac{d(mc_{p,W}T_F)}{dt} = \left(c_W \cdot T_F \cdot \frac{dm_W}{dt} + c_{p,W} \cdot m_W \cdot \frac{dT_F}{dt} \right) \cdot A_{S\ddot{U}} \quad (\text{A.22})$$

$$\dot{Q}_{\text{oben}} = \alpha \cdot A_{W\ddot{U}} \cdot (T_g - T_F) \cdot K_A \quad (\text{A.23})$$

$$\dot{Q}_{unten} = k \cdot A_{W\ddot{U}} \cdot (T_{AL} - T_F) \quad (\text{A.24})$$

$$\dot{H}_{ab} = \dot{m} \cdot A_{S\ddot{U}} \cdot (c_{p,W} \cdot T_F + \Delta h_v) \quad (\text{A.25})$$

$$\begin{aligned} \alpha \cdot A_{W\ddot{U}} \cdot (T_g - T_F) \cdot K_A + k \cdot A_{W\ddot{U}} \cdot (T_{AL} - T_F) \\ = \dot{m}_W \cdot \Delta h_v \cdot A_{S\ddot{U}} \end{aligned} \quad (\text{A.26})$$

$K_A = \frac{\Phi}{1-e^{-\Phi}}$ beschreibt mit $-\Phi = \frac{\dot{m}_W \cdot \tilde{c}_{p,W}}{\alpha}$ die Ackermann-Korrektur, welche den Einfluss der Stoffübertragung auf die Wärmeübertragung berücksichtigt. $k \cdot A_{W\ddot{U}}$ entspricht dem Wärmedurchgangskoeffizienten multipliziert mit der wärmeübertragenden Fläche¹. Die Filmtemperatur wird iterativ aus Gleichung (A.26) mit $\vartheta_F = 32,2^\circ \text{C}$ bestimmt ($\dot{m}_W = 0,89 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$, schwarze, fein gestrichelte Linie in Abbildung A.22). Daraus ergibt sich eine Trocknungsdauer von knapp über 70 s ergibt. Darüber hinaus wurde zusätzlich eine worst-case Betrachtung durchgeführt, in welcher die Trocknungsdauer bestimmt wurde, welche sich bei Beharrung ($\vartheta_B = 27,6^\circ \text{C}$) einstellt ($\dot{m}_W = 0,51 \text{ g}/(\text{m}^2\text{s})$, schwarze grobe gestrichelte Linie in Abbildung A.22). Dieser Fall tritt ein, wenn keine Wärmezufuhr von unten über die beheizte Platte erfolgen würde (Versuchsaufbau: siehe Abschnitt 2.2). Mit $\Delta T = 12,4^\circ \text{C}$ läge diese knapp über 2 min, wie in Abbildung A.22 dargestellt. Insgesamt zeigen die Betrachtungen, dass von einer Trocknungsdauer größer als 1,5 min nicht auszugehen ist, da eine Abkühlung von $\Delta T > 10^\circ \text{C}$ nicht zu rechnen ist.

M.2 Untersuchte Trocknungsszenarien

Tabelle A.17: Zusammenfassung der Trocknungsbedingungen für die untersuchten Trocknungsszenarien sowie die abgeschätzte Filmtemperatur T_F , der berechnete Stoffübergangskoeffizient β_{Wg} , Trocknungsrate \dot{m}_g und -zeit t_{tr} bei Berücksichtigung des von unten zugeführten Wärmestroms \dot{Q}_{unten} .

T_g / °C	α_g / W/(m ² K)	t / min	T_{Tau} / °C	T_F / °C	β_{Wg} / m/s	\dot{m}_g / g/(m ² s)	t_{tr} / s	Δt / min
25	50	5	9,9	21,2	0,045	0,43	229	1,2

¹ Details zu den verwendeten Zahlenwerten für die Beschreibung der Kinetik des von unten zugeführten Wärmestroms sind in der studentischen Arbeit von K. Schmitt (2017) aufgeführt. Abschätzung und Berechnung erfolgte unter meiner Anleitung.

40	50	5	11,1	30,9	0,047	1,06	94	3,4
47	50	5	8,4	34,4	0,047	1,47	68	3,9
60	50	5	13,3	41,3	0,049	2,19	46	4,2
75	50	5	9,3	47,1	0,050	3,29	30	4,5
85	50	5	10,6	50,8	0,051	4,04	25	4,6
85	50	10	11,3	50,8	0,051	4,04	25	9,6
85	90	5	10,2	45,4	0,092	5,30	19	4,7
22	5	72*60	9,9	22,1	0,005	0,05	2068	4286

* $\Delta t = t - t_{tr}$ entspricht der thermischen Nachbehandlungszeit

N Oberflächentopographie bei Variation der Zusammensetzung

N.1 Schichtdicke

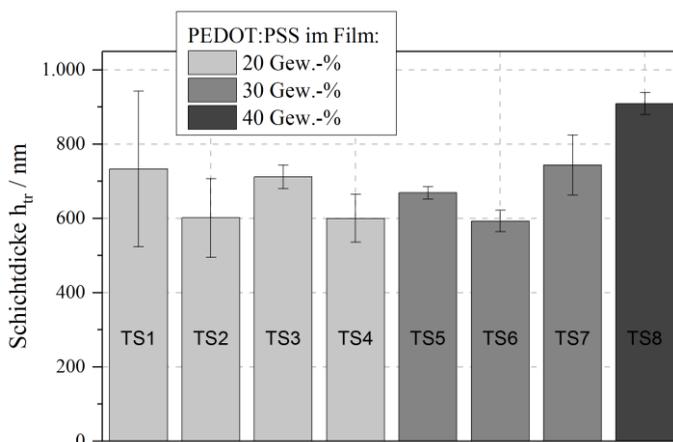


Abbildung A.23: Schichtdicke mit Mittelwertabweichung als Fehlerbalken der untersuchten Testsysteme. Unterteilung erfolgt nach PEDOT:PSS-Anteil im Film. Für TS 9 stehen keine Daten zur Verfügung. Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5.

N.2 Lichtmikroskopie

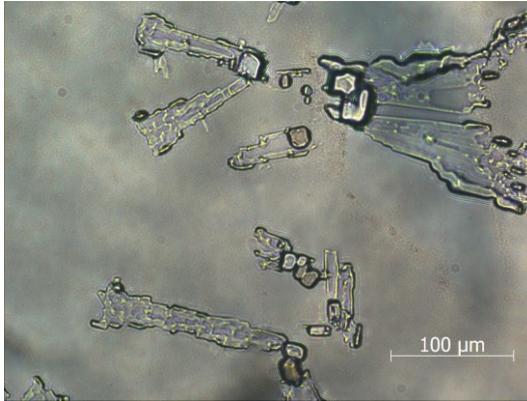


Abbildung A.24: Lichtmikroskopaufnahmen eines TS 4-Films: Salzkristalle von mehreren 100 μm großen Salzkristallen sind deutlich zu erkennen. Die leicht blau schattierte Flächen weisen auf PEDOT:PSS-reiche Bereiche hin.

N.3 Ergänzende REM-Aufnahmen

Tabelle A.18: Übersicht über die beobachtete Salzbildung auf der Filmoberfläche für die untersuchten Testsysteme. Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5.

TS	$x_{s,\text{Salz}}/x_{s,\text{PVA}}$ / -	Salzkristalle
TS1	0,4	nein
TS2	2,8	ja
TS3	0,8	nein
TS4	7,9	ja
TS5	0,5	nein
TS6	1,3	ja
TS7	1,1	ja
TS8	0,2	nein
TS9	1,1	ja

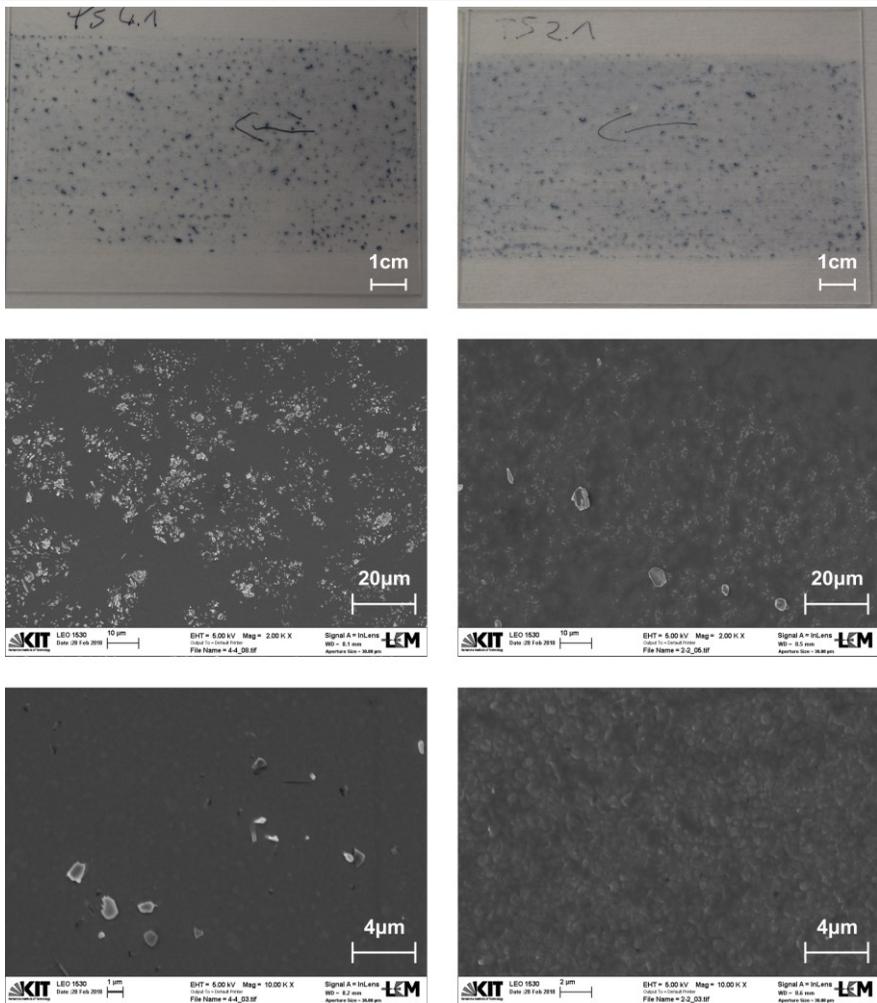


Abbildung A.25: Fotografie (oben) sowie REM-Aufnahmen (Mitte und unten) von TS 4- (links) und TS 2-Filmen (rechts) bei variiertem Vergrößerungsmaßstab. Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5.

N.4 Ergänzende AFM-Aufnahmen und Oberflächenrauheit

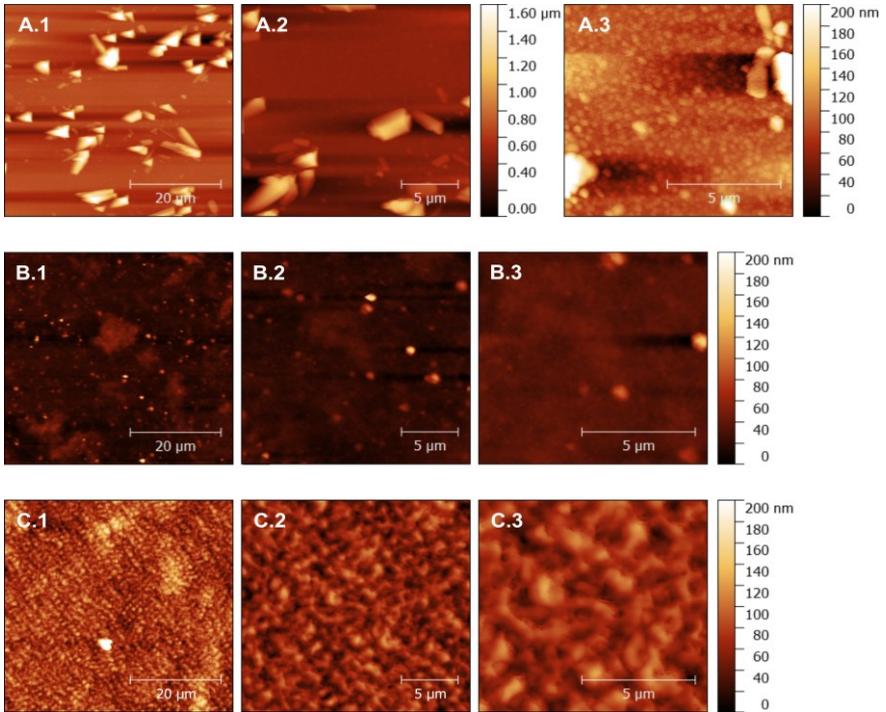


Abbildung A.26: AFM-Aufnahmen von TS 4 (A), TS 8 (B) und TS 3 (C) mit variierten Ausschnittsflächen ($1 \triangleq 50 \times 50 \mu\text{m}^2$, $2 \triangleq 20 \times 20 \mu\text{m}^2$, $3 \triangleq 10 \times 10 \mu\text{m}^2$). Der Maßstab ist für die Aufnahme A.1 und A.2 zur besseren Darstellung angepasst. Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5. Charakteristische Rauheitskennwerte: vgl. Tabelle A.19.

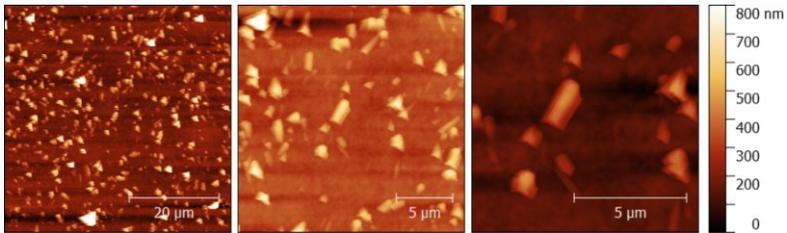


Abbildung A.27: AFM-Aufnahmen von TS 6 mit variierten Ausschnittsflächen (links $\cong 50 \times 50 \mu\text{m}^2$, Mitte $\cong 20 \times 20 \mu\text{m}^2$, rechts $\cong 10 \times 10 \mu\text{m}^2$). Der Maßstab ist zur besseren Darstellung im Vergleich zu Abbildung A.26 angepasst. Zusammensetzung des Testsystems: s. Tabelle 5. Charakteristische Rauheitskennwerte: vgl. Tabelle A.19.

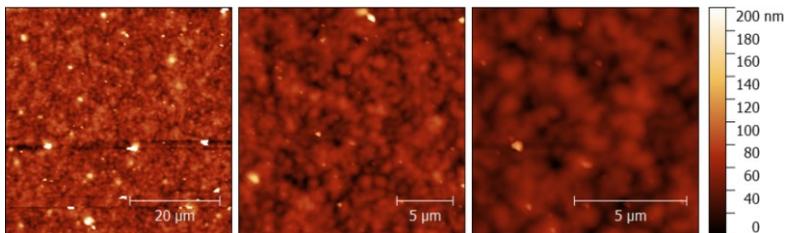


Abbildung A.28: AFM-Aufnahmen von TS 1 mit variierten Ausschnittsflächen (links $\cong 50 \times 50 \mu\text{m}^2$, Mitte $\cong 20 \times 20 \mu\text{m}^2$, rechts $\cong 10 \times 10 \mu\text{m}^2$). Zusammensetzung des Testsystems: s. Tabelle 5. Charakteristische Rauheitskennwerte: vgl. Tabelle A.19.

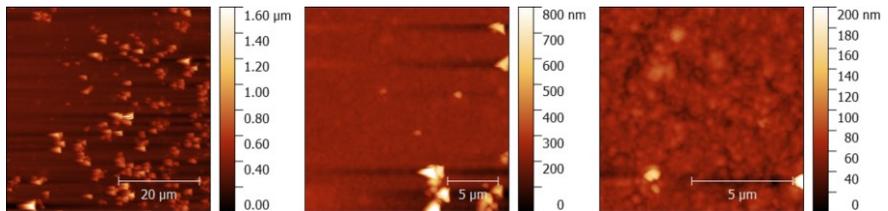


Abbildung A.29: AFM-Aufnahmen von TS 7 mit variierten Ausschnittsflächen (links $\cong 50 \times 50 \mu\text{m}^2$, Mitte $\cong 20 \times 20 \mu\text{m}^2$, rechts $\cong 10 \times 10 \mu\text{m}^2$; unterschiedliche Farbskalierung beachten). Zusammensetzung des Testsystems: s. Tabelle 5. Charakteristische Rauheitskennwerte: vgl. Tabelle A.19.

Tabelle A.19: Auflistung der arithmetischen und quadratische gemittelten Rauheit der untersuchten Testsysteme. Zusammensetzung der Testsysteme: s. Tabelle 5.

Testsystem	R_a / nm	MWabw* / nm	R_q / nm	MWabw* / nm
TS1	14	2	29	6
TS2	28	1	35	1
TS3	17	0,4	23	0,3
TS4	117	3	205	1
TS5	10	1	20	5
TS6	65	5	107	14
TS7	203	129	350	227
TS8	10	3	15	5
TS9	16	3	37	8

*MWabw = Mittelwertabweichung, berechnet aus zwei 50 x 50 μm^2 Aufnahmen.

0 Oberflächentopographie bei Variation der Herstellungsbedingungen

0.1 Ergänzende REM-Aufnahmen

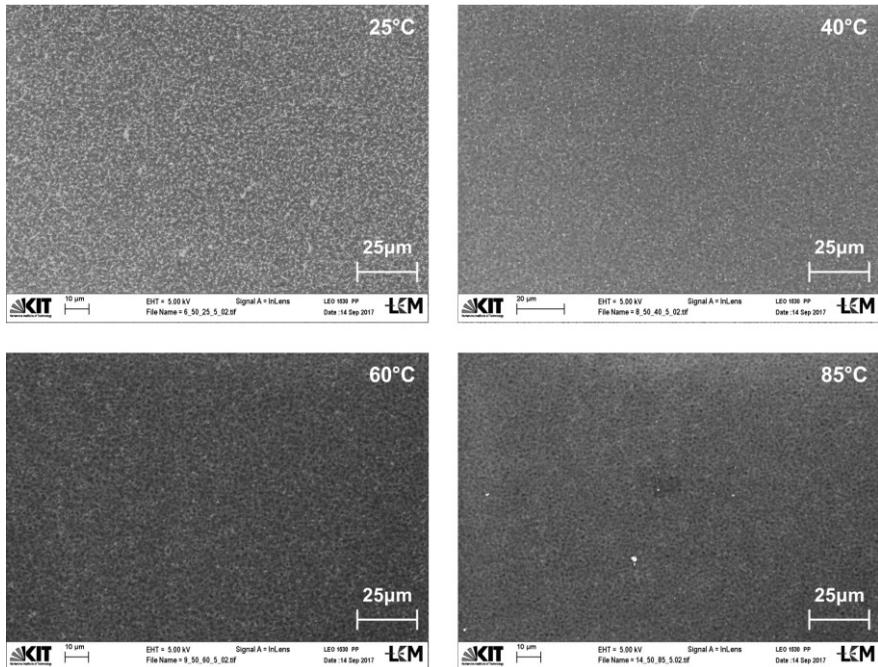


Abbildung A.30: REM-Aufnahmen von TS 3 bei sukzessive Steigerung der Trocknungstemperatur von 25 °C (oben links) auf 85 °C (unten rechts) und gleicher Vergrößerung (2.000-fach). Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) und thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) sind konstant.

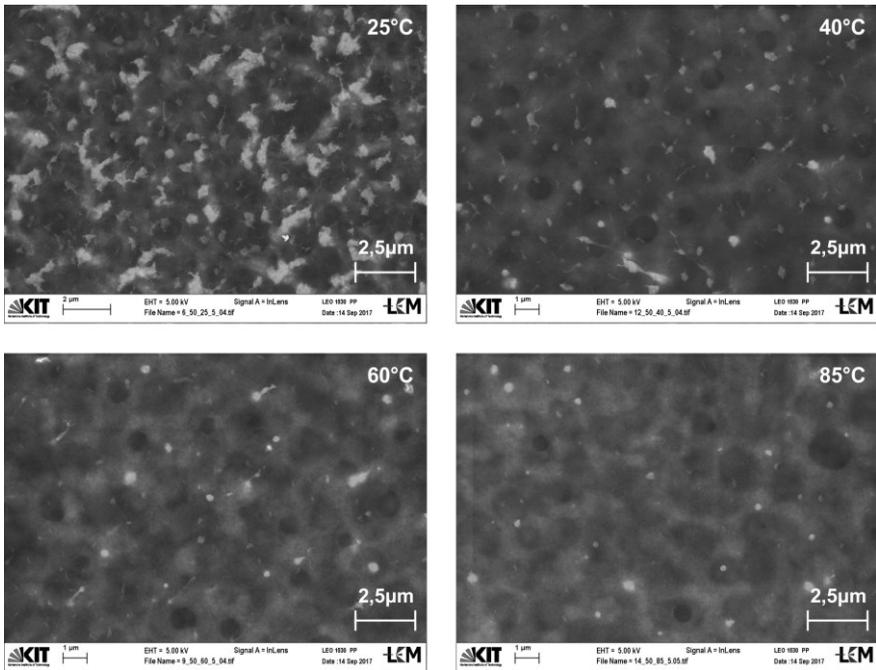


Abbildung A.31: REM-Aufnahmen von TS 3 bei sukzessive Steigerung der Trocknungstemperatur von 25 °C (oben links) auf 85 °C (unten rechts) und gleicher Vergrößerung (20.000-fach). Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) und thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) sind konstant.

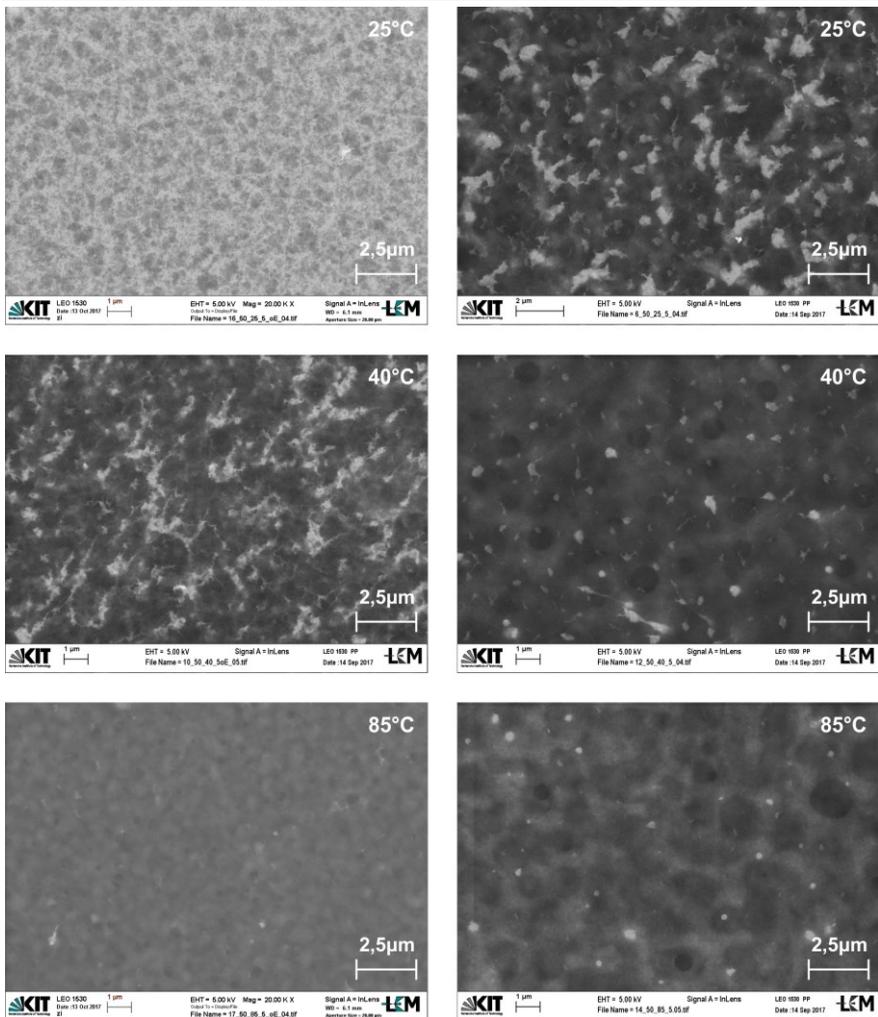


Abbildung A.32: Direkter Vergleich der Oberflächentopographie von Schichten ohne (links) und mit Enzym (rechts): REM-Aufnahmen stellen die Referenzfilme (links) und TS-3-Schichten (rechts) bei sukzessive Steigerung der Trocknungstemperatur von oben (25 °C) nach unten (85 °C) und gleicher Vergrößerung (20.000-fach) dar. Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) und thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) sind konstant.

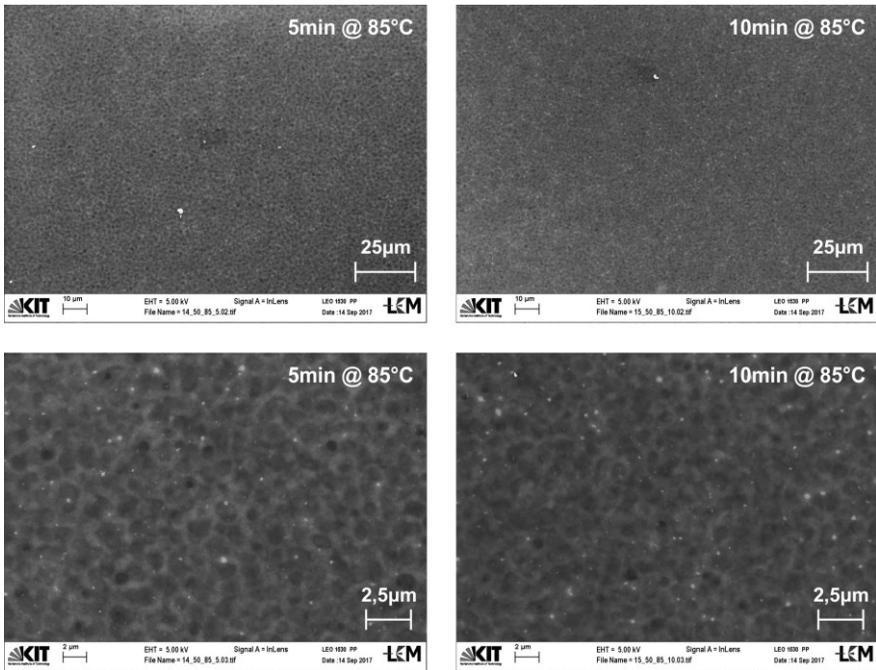


Abbildung A.33: REM-Aufnahmen von TS 3 bei variierter thermischer Belastungszeit $t = 5$ min (links) und $t = 10$ min (rechts) in 2.000- (oben) und 10.000-facher (unten) Vergrößerung. Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) und Trocknungstemperatur ($85 \text{ }^\circ\text{C}$) sind konstant.

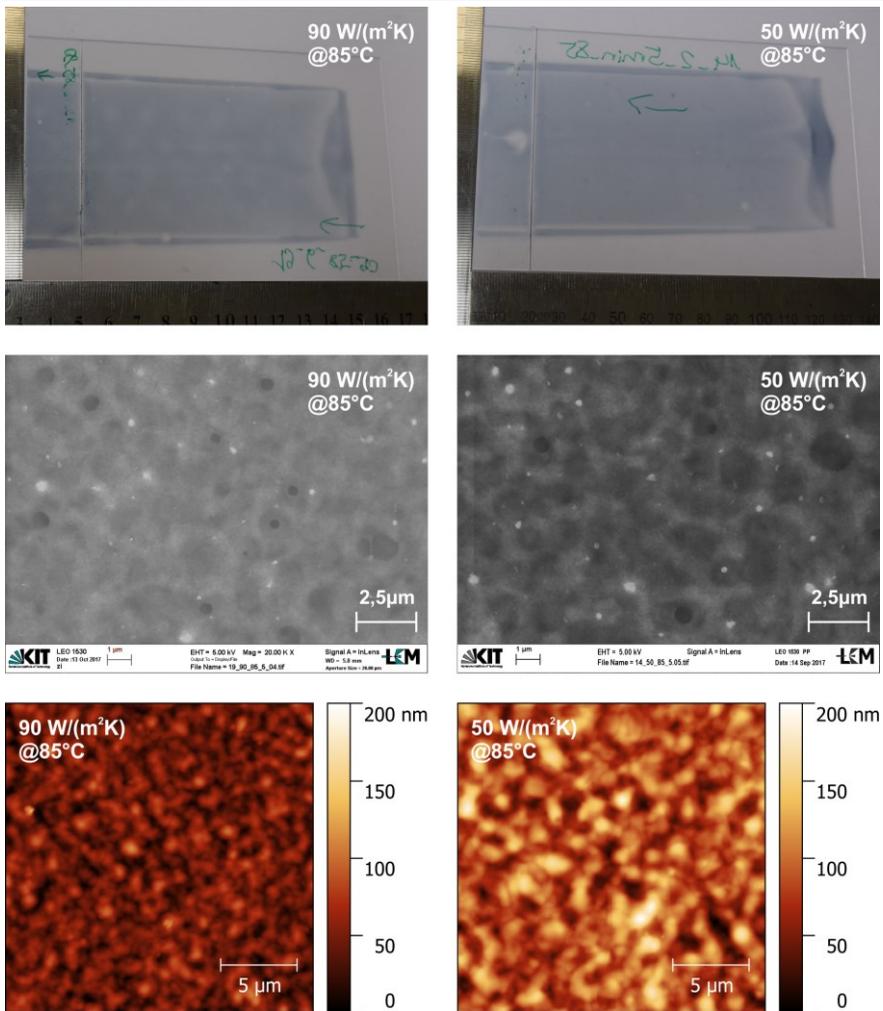


Abbildung A.34: REM-Aufnahmen bei 20.000-facher Vergrößerung (oben) und AFM-Aufnahmen (unten) von TS 3 bei variiertem Wärmeübergangskoeffizient. Trocknungstemperatur (85°C) und thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) sind konstant.

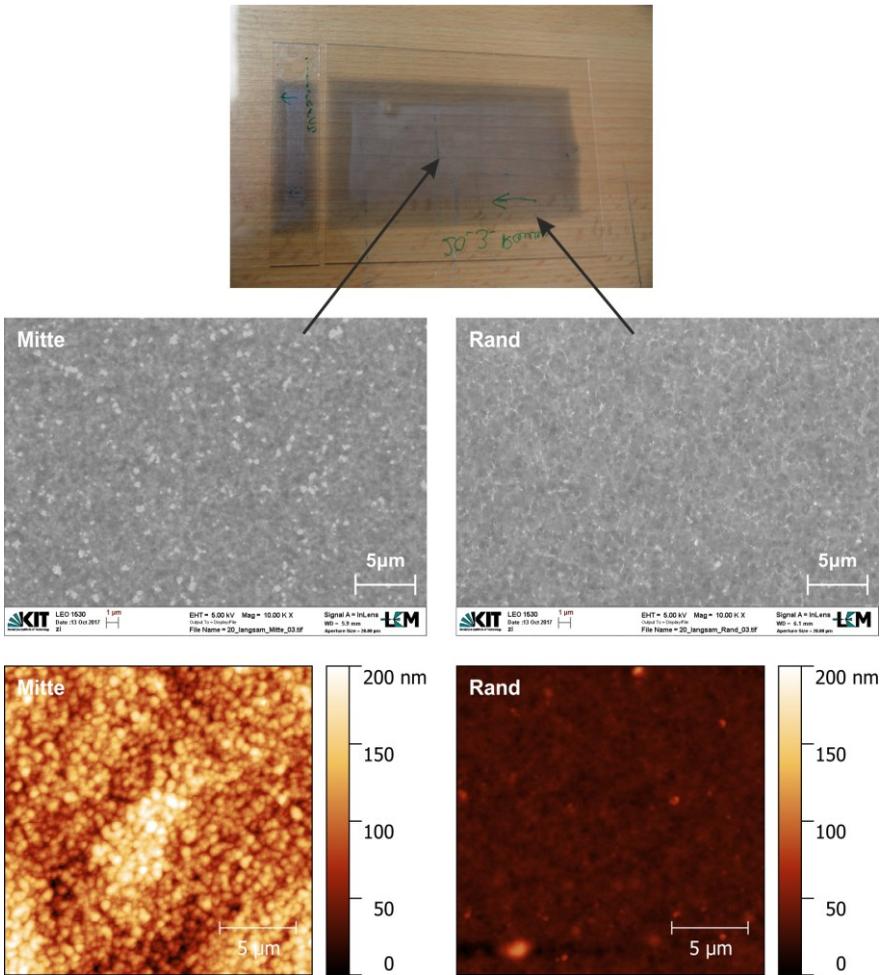


Abbildung A.35: Fotografie (oben), REM-Aufnahmen bei 10.000-facher Vergrößerung (Mitte) und AFM-Aufnahmen (unten) von TS 3 bei langsamer Trocknung. Die Schichten wurden auf 22 °C temperiert und abgedeckt getrocknet.

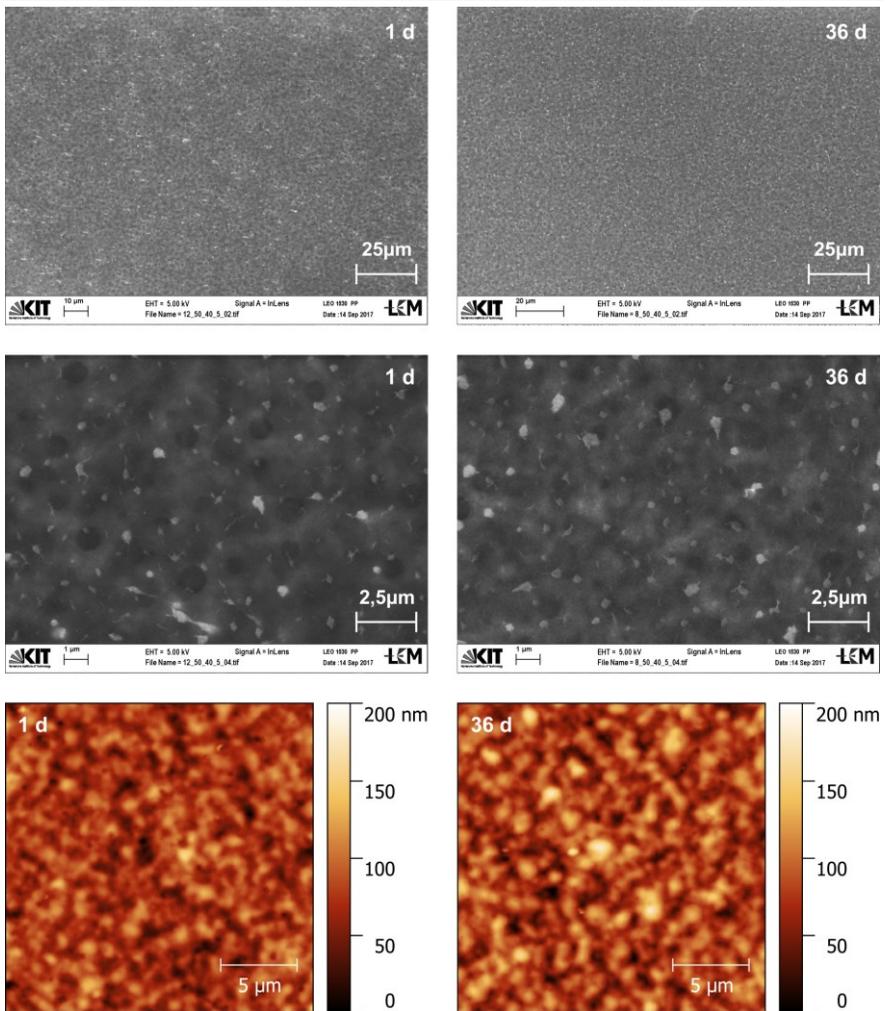


Abbildung A.36: REM-Aufnahmen von TS 3 mit unterschiedlichem Alter bei Standardtrocknungsparameter ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\alpha_g = 50\text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$ und $t = 5\text{ min}$): 1 Tag nach der Beschichtung (links), 36 Tage nach der Beschichtung (rechts) bei 2.000- (oben) und 20.000-facher (Mitte) Vergrößerung sowie die jeweiligen AFM-Aufnahmen (unten).

0.2 Ergänzende AFM-Aufnahmen und Oberflächenrauheit

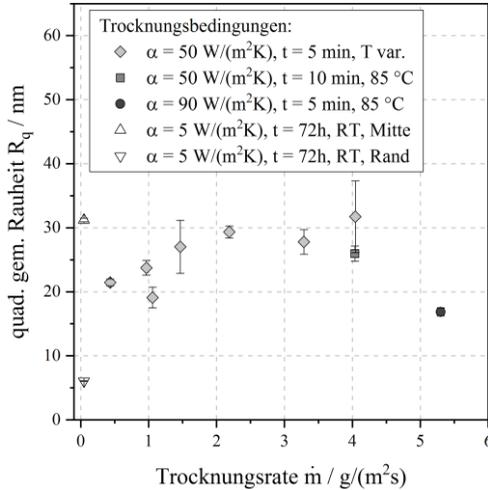


Abbildung A.37: Quadratisch gemittelte Rauheit R_q der TS 3-Filme in Abhängigkeit der Trocknungsrate bei variierten Trocknungsbedingungen: Variation der Trocknungstemperatur bei konstantem Wärmübergangskoeffizienten und konstanter thermischer Belastungszeit (hellgraue Rauten), verdoppelte thermische Belastungszeit bei 85 °C (graue Quadrate), schnelle Trocknung durch Steigerung des Wärmübergangskoeffizienten ($\alpha_g = 90 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$) bei 85 °C und 5-minütiger thermischer Belastung (dunkelgraue Kreise), langsame Trocknung durch Abdeckung des Films bei Raumtemperatur (weiße Dreiecke; Annahme $\alpha_g = 5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$). Auflistung der vollständigen Trocknungsparameter: Tabelle A.17.

Tabelle A.20: Auflistung der arithmetischen und quadratische gemittelten Rauheit der untersuchten Trocknungsszenarien.

T_g / °C	α_g / W/(m ² K)	t / min	\dot{m}_g / g/(m ² s)	R_a / nm	VI* / nm	R_q / nm	VI* / nm
25	50	5	0,4	17,0	0,5	21,5	0,5
40	50	5	1,1	15,3	1,3	19,1	1,6
47	50	5	1,5	20,8	2,0	27,0	4,1
60	50	5	2,2	23,5	0,9	29,3	0,9
75	50	5	3,3	22,4	1,2	27,8	1,9
85	50	5	4,0	23,4	1,4	31,7	5,6
85	50	10	4,0	20,8	1,0	26,0	1,2
85	90	5	5,3	13,5	0,6	16,9	0,6

22,6	5	72	0,05	24,7	0,3	31,2	0,3
22,6	5	72	0,05	3,6	0,02	6,0	0,1

*VI = Vertrauensintervall, berechnet aus fünf - sechs $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ Aufnahmen.

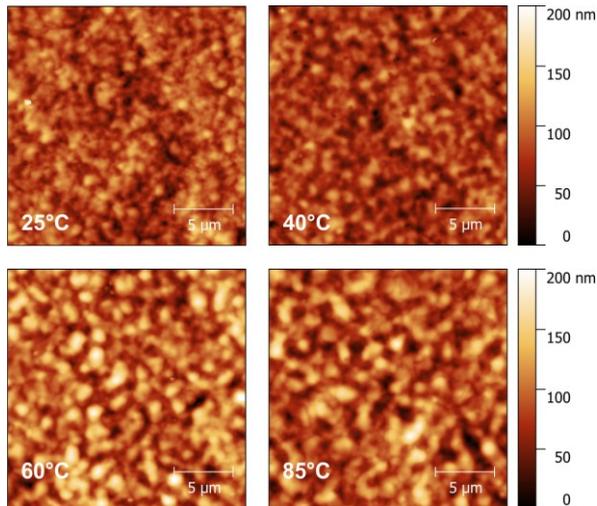


Abbildung A.38: AFM-Aufnahmen ($20 \times 20 \mu\text{m}^2$) von TS 3 bei steigender Prozesstemperatur von oben links nach unten rechts. Wärmeübergangskoeffizient ($\alpha_g = 50 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$), thermische Belastungszeit ($t = 5 \text{ min}$) und Farbskala sind konstant. Zusammensetzung des Testsystems: s. Tabelle 5. Charakteristische Rauheitskennwerte: vgl. Tabelle A.20.

P Ergänzungen zur Filmanalyse

P.1 Titration

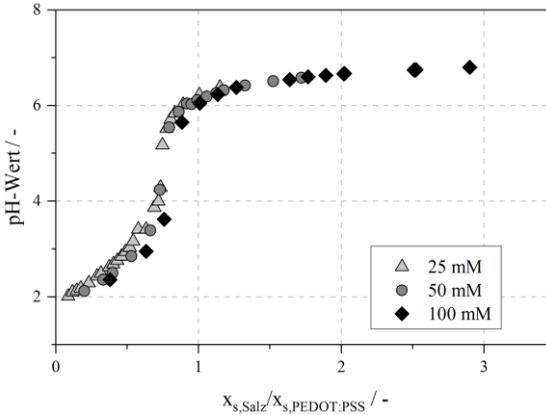


Abbildung A.39: pH-Wertabhängigkeit von $x_{s,Salz}/x_{s,PEDOT:PSS}$.

Q Ergänzende Informationen zum BCA-Assay

Q.1 Kalibrierfunktion des BCA-Assays

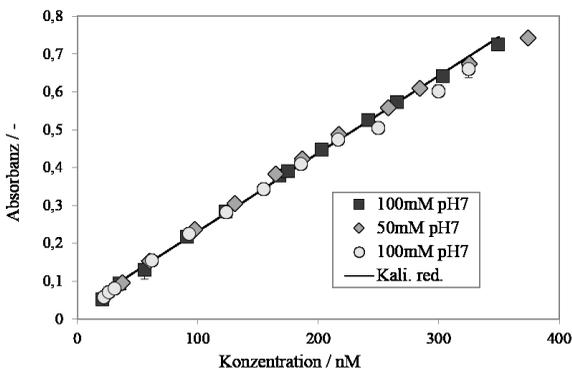


Abbildung A.40: Kalibrierkurve des BCA-Assays zur Bestimmung der FAD-GDH Konzentration. Gültig für die verwendeten Puffersysteme 50 mM und 100 mM Phosphatpuffer, pH 7,0 (Auflistung der Kalibrierparameter: Tabelle 1).

Q.2 Temperaturabhängigkeit des korrigierten Blindwertes der Referenzfilme

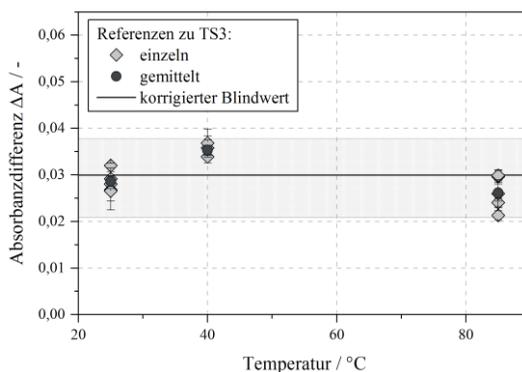


Abbildung A.41: Absorbanzdifferenz zwischen Analyselösung der Referenzfilme und zugehörigem Blindwert in Abhängigkeit der Trocknungstemperatur der Referenzfilme: Die hellgrauen Rauten zeigen die Absorbanz der analysierten Referenzfilme, die dunkelgrauen Kreise den Mittelwert der jeweiligen Trocknungstemperatur. Die durchgezogene Linie beschreibt den angepassten Blindwert, der zur Korrektur der temperaturabhängigen Restaktivität verwendet wurde (vgl. Abschnitte 2.6.3 und 4.3).

R Evaluierung der Anwendbarkeit des Lowry-Assays

Wie bereits ins Abschnitt 2.6.1 erwähnt, traten Diskrepanzen bei der Proteinbestimmung mit dem Lowry-Assay auf, sodass eine allgemeine Anwendbarkeit dieses Protein-Assays auch im Vergleich zum BCA-Assay durchgeführt wurde. Die Überprüfung erfolgte für Schichten der Zusammensetzung von TS 3, da dieses Stoffsystem im Mittelpunkt der Untersuchungen zum Trocknungs- bzw. Prozesseinfluss in den Abschnitten 4.3 und 4.4 steht.

Im ersten Schritt wurden Referenzproben ohne Enzym hergestellt, sogenannte Referenzfilme, deren Zusammensetzung identisch ist zu dem jeweiligen zugehörigen katalytisch aktiven Film mit Enzym. Sie besitzen den gleichen Feststoffgehalt und das Verhältnis der einzelnen Komponenten zueinander wird konstant gehalten. In Anlehnung an das in Abschnitt 2.6.3 beschriebene Vorgehen wurde mittels der Filmanalyse Analyselösungen aus den Referenzfilme hergestellt, welche im Anschluss mit beiden Protein-Assays (Lowry- und BCA-Assay) analysiert wurden.

Auf eine Bestimmung der Enzymaktivität mittels des Aktivität-Assays wurde verzichtet, da die Referenzfilme ohne Enzym appliziert wurden.

Für eine akkurate Proteinkonzentrationsbestimmung darf bei der Überprüfung folglich kein Protein detektiert werden. Es wird daher eine Übereinstimmung der Absorbanz der Analyselösung des Referenzfilms mit dem Blindwert erwartet. Die Absorbanzdifferenz beider Proben (Analyselösung und Blindwert) ist in Abbildung A.42 für die untersuchten Protein-Assays aufgetragen. Der Lowry-Assay zeigt mit einer gemessenen Absorbanzdifferenz von $\Delta A = 0,74$ eine deutliche Abweichung zwischen untersuchter Analyselösung und Blindwert. Verdeutlicht wird dies durch den optischen Vergleich der eingefügten Photographie. Nach Durchführung des Lowry-Assays ist die Analyselösung blau gefärbt und weist potentiell auf die Anwesenheit eines Proteins hin. Da der Referenzfilm kein Protein enthält und bei vorausgegangenen Untersuchungen ohne PVA keine Wechselwirkungen auftraten, liegt die Vermutung nahe, dass möglicherweise in der Analyselösung gelöstes PVA die Proteinbestimmung mit Hilfe des Lowry-Assays beeinträchtigt.

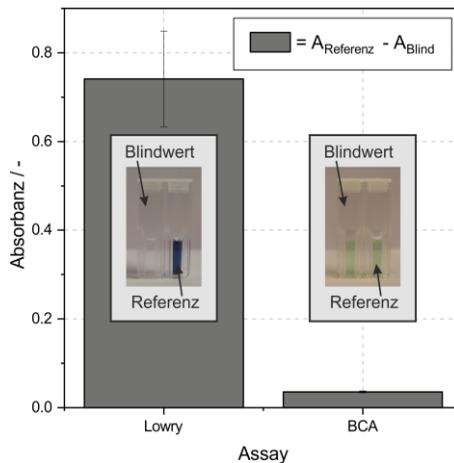


Abbildung A.42: Überprüfung der Anwendbarkeit des Lowry-Assays - Vergleich zwischen Lowry und BCA-Assay. Aufgetragen ist die gemessene Absorbanzdifferenz zwischen Analyselösung des Referenzfilms von TS 3 und dem zugehörigen Blindwert. Bereits veröffentlicht in Walz et al. (2019).

Für den BCA-Assay hingegen kann die geringe Abweichung von $\Delta A < 0,04$ nur messtechnisch erfasst werden. Eine Unterscheidung beider Proben mit dem Auge

ist aufgrund der geringen Differenz nicht möglich (vgl. Fotografie des BCA-Assay rechts in Abbildung A.42). Wie in Walz et al. (2019) ausführlich diskutiert, beeinträchtigt die Anwesenheit von PVA den Lowry-Assay, während die Wechselwirkungen im BCA-Assay nur gering sind. Damit ist der Lowry-Assay nicht geeignet, die Proteinkonzentration in der Analyselösung zu erfassen, sodass auf den BCA-Assay in weiteren Untersuchungen zurückgegriffen wurde. Für eine ausführlichere Diskussion zu den möglichen Ursachen dieser Beobachtungen wird auf Walz et al. (2019) verwiesen, da die Ergebnisse dort bereits veröffentlicht sind.

Wie in Abschnitt 2.6.3 erläutert, ist die geringe Abweichung der Absorbanz bei Verwendung des BCA-Assays vom PVA-Gehalt im Film abhängig (vgl. Abbildung 2.8). Um eine möglichst präzise Konzentrationsbestimmung des Proteins sicherstellen zu können, wurde die Verschiebung des Messsignals in die Auswerterroutine integriert. Dazu erfolgt eine Korrektur des Blindwertes, welche die gemessene Absorbanzdifferenz zwischen Analyselösung des Referenzfilms und Blindwert in Abhängigkeit vom PVA-Gehalt im Film bzw. mittels der angepassten Fitfunktion berücksichtigt.

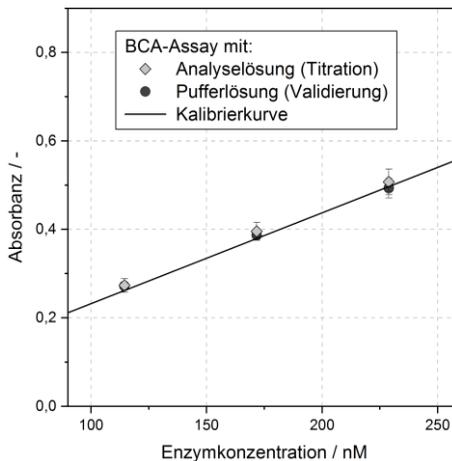


Abbildung A.43: Überprüfung der Anwendbarkeit des BCA-Assays – Validierung des BCA-Assay durch Titration. Bekannte Enzymmengen unterschiedlicher Konzentrationen wurden zu Analyselösung (hellgraue Rauten) und Pufferlösung (dunkelgraue Kreise) titriert und mit der Kalibrierkurve verglichen. Bereits veröffentlicht in Walz et al. (2019).

Als Rechtfertigung für dieses Vorgehen muss eine Linearität der beobachteten Signalverschiebung vorausgesetzt werden, welche im zweiten Schritt geprüft wurde

(vgl. Abbildung A.43). Dazu wurden bekannte Mengen an gelöstem Enzym unterschiedlicher Konzentrationen zur Analyselösung titriert und eine Bestimmung der Proteinkonzentration mit Hilfe des BCA-Assays durchgeführt (hellgraue Rauten). Zur Validierung einer korrekten Konzentrationsbestimmung wurden die gleichen Enzymkonzentrationen ebenfalls zu einer Pufferlösung hinzugefügt (dunkelgraue Kreise) und analysiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung A.43 dargestellt und zeigen alle eine sehr gute Übereinstimmung mit der unabhängig bestimmten Kalibrierkurve (schwarze Linie, Kalibrierparameter: s. Tabelle 1). Mit einer maximalen Abweichung von 1,8 % zwischen Titration und Validierung und 3,5 % zwischen Titration und Kalibrierung ist von einer korrekten Quantifizierung der Enzymkonzentration mit Hilfe des BCA-Assays auszugehen.

Die hier zusammengefassten Ergebnisse sind in größerer Ausführlichkeit bereits in Walz et al. (2019) veröffentlicht und werden ebd. diskutiert.

S Ergänzende Informationen zum Aktivität-Assay

S.1 Herleitung der molaren Reaktionsrate

Die Bestimmung der molaren Reaktionsrate \tilde{r} korreliert nach Gleichung (2.6) mit der zeitlichen Abnahme der Absorbanz $\frac{dA_{605}}{dt}$, welche im Absorbanzmaximum des Farbstoffes bei einer Wellenlänge von $\lambda = 605$ nm aufgenommen und aus der gemessenen Anfangssteigung $\tan \alpha_{605}$ bestimmt wird. Unter Voraussetzung ausreichender Verdünnung leitet sich dieser Zusammenhang aus dem Lambert-Beer'schen Gesetz ab (vgl. Gleichung (A.27)). Auf diese Herleitung wird nachfolgend eingegangen.

Das Lambert-Beer'sche Gesetz beschreibt in der Photometrie die Abschwächung der Intensität der Strahlung beim Durchgang durch ein absorbierendes Medium. Bei bekanntem molaren Absorptionskoeffizienten ϵ_i des absorbierenden Mediums i und bekannter Schichtdicke l der durchstrahlten Küvette stellt es einen Zusammenhang zwischen der Absorbanz A_λ des Materials i für Licht der Wellenlänge λ und der molaren Konzentration \tilde{c}_i des Materials i her. Nach Umformung von Gleichung (A.27) ergibt sich daraus Gleichung (A.28), aus welcher die zeitliche Änderung der molaren Konzentration $\frac{d\tilde{c}_i}{dt}$ abgeleitet werden kann (vgl. Gleichung (A.29)).

$$A_\lambda = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon_{i,\lambda} l \tilde{c}_i \quad \text{mit } [A_\lambda] = - \quad (\text{A.27})$$

$$\tilde{c}_i = \frac{A_\lambda}{\epsilon_{i,\lambda} l} \quad (\text{A.28})$$

$$\frac{d\tilde{c}_i}{dt} = \frac{d \frac{A_\lambda}{\epsilon_{i,\lambda} l}}{dt} = \frac{1}{\epsilon_{i,\lambda} l} \frac{dA_\lambda}{dt} = \frac{1}{\epsilon_{i,\lambda} l} \cdot \tan \alpha_\lambda \quad (\text{A.29})$$

Gleichung (A.29) stellt den mathematischen Zusammenhang zwischen der zeitlichen Änderung $\frac{d\tilde{c}_i}{dt}$ der molaren Konzentration und der eigentlichen Messgröße $\frac{dA_\lambda}{dt}$ her, welche aus der Anfangssteigung $\tan \alpha_\lambda$ der zeitlichen Änderung der Absorbanz bei einer Wellenlänge von $\lambda = 605$ nm ermittelt wird (vgl. Abbildung 2.5). Wie bereits in Abschnitt 2.6.2 erwähnt, erfolgt die Aufnahme des Signals während der linearen Abnahme der Absorbanz, da nur im linearen Bereich die Reaktion ein Fließgleichgewicht (engl. steady-state) erreicht, im Sinne einer Reaktion Nullter Ordnung, in welchem das Substrat linear ab und das Produkt linear zunimmt (Bisswanger, 2017).

Bezogen auf die zugrundeliegende Reaktion des Aktivität-Assays ergibt sich die molare Reaktionsrate $\tilde{r}_{Glucose}$ folglich nach Gleichung (A.30), welche zu Gleichung (2.6) äquivalent ist.

$$\begin{aligned} \tilde{r}_{Glucose} = \tilde{r}_{DCPIP} &= -\frac{d\tilde{c}_{DCPIP}}{dt} = -\frac{1}{\epsilon_{DCPIP} \cdot l} \frac{dA_{605}}{dt} \\ &= -\frac{1}{\epsilon_{DCPIP} \cdot l} \cdot \tan \alpha_{605} \end{aligned} \quad (\text{A.30})$$

Bei einer Wellenlänge von 600 nm und einem pH-Wert von 7,0 beträgt der molare Absorptionskoeffizient von DCPIP $\epsilon_{DCPIP,600} = 16.300 \frac{l}{mol \cdot cm}$ (Kawaminami et al., 2011; Sode, 2009). Die Schichtdicke l der durchstrahlten Küvette misst für alle Versuche 1 cm.

S.2 Kalibrierfunktion des Aktivität-Assays

Tabelle A.21: Parameter der Kalibrierfunktion des Aktivitäts-Assays für Enzymkonzentrationen von 0,05 - 1,0 nM: y bezeichnet die molare Reaktionsrate in $\mu\text{M}/\text{min}/\text{nM}$ und x die Enzymkonzentration in nM. Abhängig von der Wasserqualität, welche für das Ansetzen der Reagenzien verwendet wird, ergeben sich unterschiedliche, aber sehr reproduzierbare Kalibriergeraden (pro Datensatz: $n = 4 - 6$, $p = 0.95$) (vgl. Abschnitt 2.6.2). Gültig für die verwendeten Puffersysteme 50 mM und 100 mM Phosphatpuffer, pH 7,0. Die Parameter wurden mit Hilfe der Least-Square-Methode ermittelt.

	$y = a x + b$		Konz. DCPIP	R^2
	a / $\mu\text{M}/\text{min}/\text{nM}$	b / $\mu\text{M}/\text{min}$	μM	-
DD	32,670	0,629	100	0,998
DD & Rodi	27,249	0,651	100	0,998
VE & Rodi	24,300	0,741	96*	0,995

*nach Gleichung (A.27) korrigierte Konzentration gegenüber Riegel et al. (2016) (vgl. Fußnote 23 in Kapitel 2).

DD = doppelt destilliertes Wasser; RODI = durch Umkehrosmose gewonnenes Wasser (engl. reverse osmosis/de-ionised); VE = vollentsalztes Wasser

S.3 Abhängigkeit des Farbstoffspektrums von Lösemittel und pH

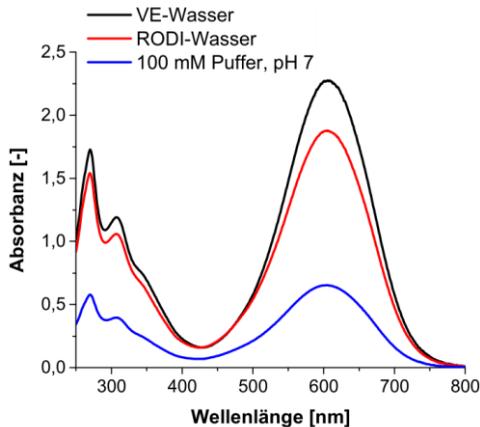


Abbildung A.44: Spektrum einer 1:40 (v/v) verdünnten DCPIP-Lösung bei verschiedenen Lösemitteln.

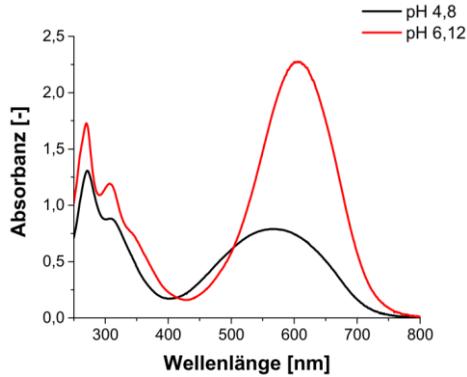


Abbildung A.45: Spektrum einer 1:40 (v/v) verdünnten DCPIP-Lösung bei unterschiedlichen pH-Werten.

S.4 Abhängigkeit der Enzymaktivität von DMSO

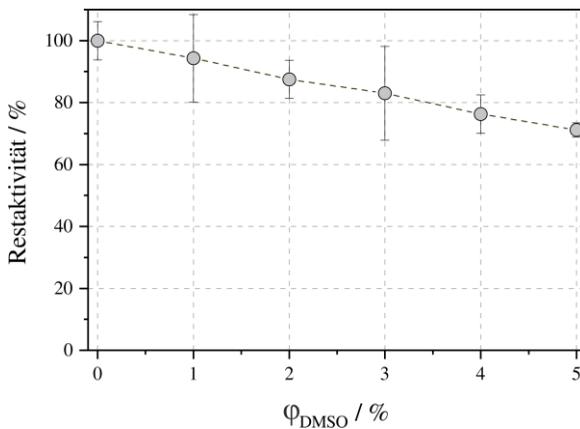


Abbildung A.46: Restaktivität einer 1 mg/ml Enzym-Pufferlösung in Abhängigkeit des DMSO-Gehalts in Volumenprozent. Gezeigt ist der Aktivitätsverlauf für FAD-GDH-Lösungen mit 50 mM Kaliumphosphatpuffer bei pH 6,5.