

# **Moleküle als funktionelle Oberfläche an Nanostrukturen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

**Doctor rerum naturalium**

**(Dr. rer. nat.)**

an der

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

im

Fachbereich Chemie  
der Universität Hamburg

vorgelegt von Annik Abel

Hamburg 2013



Tag der Disputation: 19.12.2013

1. Gutachter: Prof. Dr. Julien Bachmann

2. Gutachter: Prof. Dr. Peter Burger



## Eidesstattliche Versicherung und Erklärung über frühere Promotionsversuche

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich, Annik Abel, die Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Außerdem versichere ich, dass von mir, Annik Abel, keine früheren Promotionsversuche mit dieser oder einer anderen Dissertation erfolgt sind. Es wurde nur dieser Antrag auf Eröffnung eines Promotionsverfahrens eingereicht.

Hamburg, im Oktober 2013

Annik Abel



## Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird dargestellt, wie redoxaktive, an einer Oberfläche funktionalisierte Moleküle chemisch und elektrochemisch zwischen zwei Zuständen geschaltet werden. Hierfür werden flache Substrate und poröse Nanostrukturen als Template eingesetzt, die durch elektrochemische Oxidation von Aluminium in sauren Elektrolyten hergestellt werden. Diese Aluminiumoxidmembranen weisen genau einstellbare geometrische Parameter, wie die Länge der Poren und deren Durchmesser, auf. Der Durchmesser ist von der verwendeten Säure und der angelegten Spannung, die Länge von der Dauer der zweiten Anodisation abhängig. Anschließend wird ein Halbleiter, in diesem Falle Titandioxid ( $\text{TiO}_2$ ), mit dem Atomlagenabscheidungsprozess (ALD) an den Poreinnenwänden und an der Oberfläche etwa 10-20 nm dünn abgeschieden. Die Wachstumsrate, sowie die Kristallinität dieser  $\text{TiO}_2$ -Schicht wird mithilfe von Röntgenreflektometrie (XRR) und Röntgendiffraktion oder Röntgenbeugung (XRD) bestimmt. Dieser oxidische Halbleiter dient beim elektrochemischen „Schalten“ als Überträger einer Ladung, die für den Wechsel des Oxidationszustands zuständig ist.

Als redoxaktives Molekül wird Ferrocenessigsäure (FAA) verwendet. Es wird gezeigt, dass sich durch das Schalten, also das Oxidieren und das Reduzieren der Moleküle mit einem chemischen Oxidanten, Nitrosoniumtetrafluoroborat ( $\text{NOBF}_4$ ), die physikalischen Eigenschaften, wie die Farbe, der Magnetismus und die Kapillarität der Proben verändert werden können. Durch das Anlegen einer Spannung wird ein ähnliches Verhalten erzielt. Die Menge der funktionalisierten Moleküle wird mit mehreren unabhängigen Methoden bestimmt. Durch elektrochemische Messmethoden, wie die Chronocoulometrie, können die geschalteten Moleküle quantifiziert werden.

Die gewonnenen Erkenntnisse werden auf weitere Molekülsysteme übertragen. Zuerst wird das einfach aufgebaute, aber große Biomolekül, Invertase aus *Saccharomyces cerevisiae*, welches ein Säure-Base-Enzym ist, auf seine Aktivität hin getestet. Später werden auch komplexere, redoxaktive Enzyme, wie Hydrogenasen, mittels Elektrochemie auf ihre katalytische Wirkung vermessen. Es werden erste Versuche mit Cyaninfarbstoffen und Porphyrinen durchgeführt. Der Schwerpunkt dieser Untersuchungen mittels UV-Vis-Spektroskopie und elektrochemischen Messungen wird auf die Reversibilität der Reaktion gelegt.

## Abstract

This thesis shows how redox active molecules functionalized on a surface switch chemically and electrochemically between two states. Therefore, flat substrates and porous nanostructures are used as templates, which are produced by electrochemical oxidation of Alumina in acid electrolytes. These Alumina membranes have exactly adjustable geometric parameters, as the length of the pores and their diameter. The diameter depends on the used acid and the applied voltage, the length depends on the duration of the second anodisation.

Afterwards, a semiconductor here titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) will be deposited by atomic layer deposition (ALD) on the walls of pores and on their surfaces with a thickness of 10-20 nm. The growth rate plus the crystallinity of this  $\text{TiO}_2$ -layer will be determined by X-ray reflectivity (XRR) and X-ray diffraction (XRD). This oxidic semiconductor acts as a conductor for the electrochemical „switch“, which is responsible for the change of the oxidation state.

Ferroceneacetic acid (FAA) used as redox active molecule. It is demonstrated that due to the „switch“, i.e. the oxidation and reduction of these molecules by the chemical oxidant nitrosonium tetrafluoroborate ( $\text{NOBF}_4$ ) the physical properties as color, magnetism and capillarity can be changed. By applying voltage a similar behaviour is achieved. The amount of the functionalized molecules is determined by several independent methods. The switched molecules can be quantified by electrochemical measurements such as chronocoulometry.

The achieved results are transferred to other molecule systems.

First, a simply constructed, but large biomolecule, Invertase of *Saccharomyces cerevisiae*, which is an acid-base enzyme, will be tested on activity. Later on, the catalytic effects of more complex redox active molecules like Hydrogenase are measured electrochemically. First experiments with cyanine dyes and porphyrines are conducted. The focus of these analyses by UV-Vis spectroscopy and electrochemical measurements is the reversibility of the reaction

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung.....	1
1.1. Einleitung.....	1
1.2. Zielsetzung.....	4
2. Theoretische Grundlagen.....	5
2.1. Nanostrukturen.....	5
2.2. Atomlagenabscheidung (ALD).....	7
2.3. Ferrocen (Fc) und Ferrocenessigsäure (FAA).....	8
2.4. Cyaninfarbstoffe.....	10
2.5. Porphyrine.....	13
2.6. Enzyme.....	14
2.7. Elektrochemie.....	16
2.8. Instrumentelle Methoden.....	25
3. Redoxaktivität an Grenzflächen: Moleküle als funktionelle Oberfläche an flachen Substraten...	31
3.1. Charakterisierung der redoxaktiven Moleküle in Lösung: Fc vs. FAA.....	31
3.2. Charakterisierung der flachen Substrate für die Verwendung von funktionalisierter FAA...	38
3.3. Funktionalisierte FAA auf flachen Substraten.....	48
3.4. Zusammenfassung und Ausblick.....	52
3.5. Experimenteller Teil.....	54
4. Moleküle als funktionelle Oberfläche an strukturierten Substraten .....	57
4.1. Charakterisierung der nanostrukturierten Oberflächen.....	57
4.2. Funktionalisierung der FAA auf Nanostrukturen.....	61
4.3. Chemisches Schalten der FAA mit NOBF <sub>4</sub> .....	62
4.4. Elektrochemisches Schalten der FAA.....	67
4.5. Quantifizierung der funktionalisierten FAA.....	71
4.6. Zusammenfassung und Ausblick.....	83
4.7. Experimenteller Teil .....	84
5. Invertasen als funktionelle Oberfläche.....	89
5.1. Einleitung.....	89
5.2. Funktionalisierung der Linker und Enzyme.....	90
5.3. Strukturelle Charakterisierung der Linker- und Enzymschicht.....	91
5.4. Funktionale Charakterisierung: Enzymaktivität.....	97
5.5. Zusammenfassung und Ausblick.....	105
5.6. Experimenteller Teil.....	106
6. Ausblick: neue Richtungen.....	109
6.1. Im Hinblick auf Ferrocenessigsäure: .....	109

alternative Farbstoffe.....	109
6.2. Im Hinblick auf andere Enzyme: .....	116
Funktionalisierung von Hydrogenasen auf Elektroden .....	116
6.3. Experimenteller Teil.....	121
7. Fazit.....	125
8. Literatur.....	127
9. Anhang.....	137
9.1. Verwendete Geräte.....	137
9.2. Verwendete Chemikalien.....	138
9.3. Global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Gefahrstoffen (GHS-Sätze).....	142
9.4. Danksagung.....	156
9.5. Abkürzungsverzeichnis.....	158
9.6. Hinweise auf Veröffentlichung von Resultaten dieser Arbeit.....	165
9.7. Lebenslauf.....	166

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: schematische Darstellung der elektrochemischen Oxidation von Aluminium: hexagonale Anordnung und Porenwachstum des Aluminiumoxids.....	6
Abbildung 2: Strukturformel von (a) Ferrocen und (b) Ferrocenessigsäure.....	9
Abbildung 3: (a) Schema der Cyaninfarbstoffe, wobei X und Y Heteroatome sind, die elektronegativer als Kohlenstoff sind Vorlage basiert auf [60] und (b) Cyaninfarbstoff S 0046.....	10
Abbildung 4: Energieniveaus der gebildeten Dimere: (a) H-Dimere sind parallel angeordnet (b) oblique-Geometrie der Dimere nicht ganz parallel angeordnet (c) J-Dimere sind in der head to tail Geometrie angeordnet.....	12
Abbildung 5: Ni-Porphyrin (P 1).....	13
Abbildung 6: schematischer Aufbau zur Anodisation.....	18
Abbildung 7: (a) Eingangssignal und (b) Ausgangssignal bei einer CV-Messung.....	19
Abbildung 8: (a) Eingangssignal und (b) Ausgangssignal vor und zurück gemessen bei einer DPV-Messung.....	21
Abbildung 9: (a) Eingangssignal (b) Ausgangssignal vor (if) und zurück (ir) gemessen bei einer SWV-Messung.....	23
Abbildung 10: (a) Eingangssignal und (b) Ausgangssignal im Hinblick auf Strom und Ladung einer CC-Messung.....	24
Abbildung 11: (a) Schematische Darstellung einer van der Pauw Messung vor und (b) nach zyklischer Vertauschung.....	27
Abbildung 12: Oxidation von FAA durch NOBF <sub>4</sub> .....	31
Abbildung 13: (a) Absorptionsspektrum von Ferrocen (schwarz) und oxidiert durch NOBF <sub>4</sub> (rot) .	33
Abbildung 14: (a) Oxidation von FAA durch NOBF <sub>4</sub> , (b) Reduktion von FAA durch Ascorbinsäure	34
Abbildung 15: (a) CV von Fc (c = 0,001 mol/L) mit (C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>4</sub> N <sup>+</sup> BF <sub>4</sub> <sup>-</sup> in CH <sub>3</sub> CN (c = 0,5 mol/L)) mit Pt-Draht gegen Ag-Draht, Vorschubgeschwindigkeit 50 mV/s, Spannungserhöhung 10 mV und maximaler Strom von 0,01 mA .....	35
Abbildung 16: (a) CV von FAA (c = 0,001 mol/L) in K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung (c = 0,5 mol/L) mit Pt-Draht gegen Ag/AgCl, Vorschubgeschwindigkeit 50 mV/s, Spannungserhöhung 10 mV und maximaler Strom von 0,01 mA .....	36
Abbildung 17: EPR-Spektren von Fc <sup>+</sup> -Kristallen und FAA <sup>+</sup> in Lösung.....	37
Abbildung 18: schematischer Abscheidungsprozess von TiO <sub>2</sub> mithilfe des ALD-Prozesses.....	40
Abbildung 19: (a) Wachstumsrate von TiO <sub>2</sub> mithilfe der ALD abgeschieden, bestimmt durch Ellipsometrie mit einer fest eingestellten Wellenlänge von 632 nm und mit Ti(OiPr) <sub>4</sub> bei 45 °C.....	41
Abbildung 20: ALD Wachstum von TiO <sub>2</sub> , untersucht anhand von UV-Vis-Spektren bei einer Wellenlänge von 375 nm.....	42
Abbildung 21: (a) XRR-Messung unterschiedlicher TiO <sub>2</sub> -Schichten abgeschieden per ALD, .....	43
Abbildung 22: Charakteristischer Ausschnitt aus XRD-Messungen von TiO <sub>2</sub> bei unterschiedlichen Annealingtemperaturen.....	44
Abbildung 23: (a) Stromdichte von verschiedenen Elektroden mit FAA (c = 0,0001 mol/L) in K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung (c = 0,05 mol/L) mit pH 7 gegen Ag/AgCl.....	46
Abbildung 24: Rasterelektronenmikroskop (REM)-Aufnahme von TiO <sub>2</sub> -Partikeln aus einer 2 M	

TiCl <sub>4</sub> -Lösung auf einem flachen Substrat.....	48
Abbildung 25: (a) CC-Messung: Ausschnitte von Zeit-Ladungskurven von funktionalisierter FAA auf flachem Substrat in K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Puffer (c = 0,05 mol/L) mit pH 7 gegen Ag/AgCl mit einer Probenperiode von 0,01 s.....	49
Abbildung 26: (a) Verlauf von vorwärts und rückwärts geschalteter FAA in K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Puffer (c = 0,05 mol/L) mit pH 7 gegen Ag/AgCl mit einer Probenperiode von 0,01 s,.....	50
Abbildung 27: (a) Rückseite einer 54 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 35 nm .....	58
Abbildung 28: (a) Vorderseite einer 36 µm langen AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 140 nm.....	59
Abbildung 29: (a) Verbund der Nanostrukturen auf Oxalsäurebasis: Länge von 54 µm, Porendurchmesser von 25 nm und einer 10 nm dünnen TiO <sub>2</sub> -Schicht .....	60
Abbildung 30: Reaktionsschema: Funktionalisierung von FAA an nanostrukturierten Oberflächen .....	61
Abbildung 31: Absorptionsspektrum von FAA auf einer 60 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 50 nm und einer 10 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht in Abhängigkeit der Zeit. 62	62
Abbildung 32: Reaktionsschema: Oxidation mit NOBF <sub>4</sub> .....	63
Abbildung 33: Absorptionsspektrum von funktionalisierter FAA auf einer 60 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 19 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht .....	64
Abbildung 34: Kapillareffekte an einer 45 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 12 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht: .....	65
Abbildung 35: EPR-Spektren von FAA <sup>+</sup> in Lösung und funktionalisiert auf nanostrukturierter Oberfläche 18 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 43 nm und einer 12 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht.....	66
Abbildung 36: (a) ITO auf Glas im Absorptionsspektrum .....	67
Abbildung 37: Funktionalisierung und elektrochemisches Schalten nach 2 V der FAA an einer 45 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 45 nm und einer 12 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht.....	68
Abbildung 38: Absorptionsspektren von funktionalisierter FAA und geschalteter FAA mit unterschiedlichen Methoden bei einer 50 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 10 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht.....	69
Abbildung 39: Kapillareffekte an einer 45 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 10 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht vor und nach dem elektrochemischen Schalten: .....	70
Abbildung 40: (a) schematische Darstellung einer Membran zur Bestimmung der Rauigkeit einer Membran. (b) die makroskopisch sichtbare Oberfläche des AAO (hier abzüglich der durch die Porenöffnungen verursachten Löcher in Rot dargestellt) wird durch die in (c) gelb gekennzeichnete mikroskopische Mantelfläche F <sub>mantel</sub> der zylindrischen Poren stark vergrößert.....	71
Abbildung 41: (a) Differenzspektren verschiedener Molverhältnisse von NOBF <sub>4</sub> zu FAA (c = 3,5·10 <sup>-3</sup> mol/L) in der Lösung (CH <sub>3</sub> CN:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 1:1) .....	73
Abbildung 42: Oxidation von funktionalisierten FAA-Molekülen an einer 53 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 45 nm und einer TiO <sub>2</sub> -Schicht von 10 nm (lila) und vollständig oxidierten FAA-Molekülen (c = 3,5·10 <sup>-3</sup> mol/L) in Lösung (CH <sub>3</sub> CN:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 1:1) (grün) mit bekannter Konzentration .....	74

Abbildung 43: 45 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 20 nm und einer 12 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht mit funktionalisierter FAA.....	78
Abbildung 44: Vergleich von flachem Substrat (Si-SiO <sub>2</sub> -Cr-Au-TiO <sub>2</sub> ) zur nanostrukturierten Oberfläche (66µm lange AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 45 nm und einer 10 nTiO <sub>2</sub> -Schicht).....	79
Abbildung 45: (a) Reproduzierbarkeitstests von drei AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit gleichen geometrischen Parametern (A mikro = 58 cm <sup>2</sup> ).....	80
Abbildung 46: AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis mit (a) unterschiedlichen Durchmessern (A mikro von unten nach oben: 16 cm <sup>2</sup> , 20 cm <sup>2</sup> , 22 cm <sup>2</sup> ).....	81
Abbildung 47: Fehlordnungen bei der Herstellung von AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit (a) 54 µm Länge und (b) 45 µm Länge; Porendurchmesser ist nicht bestimmbar.....	85
Abbildung 48: 45 µm lange AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einer dünnen Goldschicht. mit einem Porendurchmesser von 40 nm, einer 10 nm TiO <sub>2</sub> -Schicht und mit einer dünnen Goldschicht bei verschiedenen Vergrößerungen.....	88
Abbildung 49: Ellipsometrische Größen (a) Psi und (b) Delta, aufgetragen gegen die Wellenlänge: Modell und gefittete Dicken von SiO <sub>2</sub> , Linker und Linker und Enzym.....	93
Abbildung 50: Höhenuntersuchung des Linkers mittels AFM: (a) überarbeitete Aufnahme des AFM's im Scanbereich, (b) ausgewertetes Höhenprofil mit überlagertem Fit.....	95
Abbildung 51: Höhenuntersuchung von Linker und Enzym mittels AFM: (a) überarbeitete Aufnahme des AFM's im Scanbereich, (b) ausgewertetes Höhenprofil mit überlagertem Fit.....	96
Abbildung 52: Reaktionsgleichung für die Umsetzung der Glucose im Assay.....	97
Abbildung 53: (a) Absorptionsspektren von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen (1-10 mmol/L) in 1 cm Quarzglasküvette vermessen und (b) Verlauf der Kalibrationsgraphen bei 540 nm und 610 nm.....	98
Abbildung 54: (a) Absorptionsspektren von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen (1-10 mmol/L) in 1 cm Quarzglasküvette vermessen und (b) Verlauf der Kalibrationsgraphen bei 540 nm und 610 nm.....	99
Abbildung 55: (a) Absorptionsspektren von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen (1-10 mmol/L) in 1 cm Quarzglasküvette vermessen und (b) Verlauf der Kalibrationsgraphen bei 540 nm und 610 nm.....	100
Abbildung 56: Kalibrationsgraph bei 610 nm.....	101
Abbildung 57: Glucoseaktivität an flachen unterschiedlich großen Substraten mit 10 nm TiO <sub>2</sub> und 10 nm SiO <sub>2</sub> Schichten, getestet in 0,3 M Saccharose-Natriumacetat-Puffer Lösung mit einem pH-Wert von 4,7 bei 40 °C für 30 min.....	102
Abbildung 58: Glucoseaktivität an verschieden langen AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit 10 nm SiO <sub>2</sub> -Schichten und 10 nm TiO <sub>2</sub> -Schichten, getestet in 0,3 M Saccharose-Natriumacetat-Puffer Lösung mit einem pH-Wert von 4,7 bei 40 °C für 30 min.....	103
Abbildung 59: zeitlicher Verlauf der Aktivität der Invertasen gemessen an der Glucosekonzentration .....	104
Abbildung 60: Reaktionsgleichung für die Funktionalisierung der Oberfläche.....	106
Abbildung 61: Reaktionsgleichung für die Reaktion mit dem Linker.....	107
Abbildung 62: Reaktionsgleichung für die Immobilisierung der Enzyme.....	107
Abbildung 63: Strukturformeln der getesteten Farbstoffe: .....	111

Abbildung 64: Absorptionsspektren der verwendeten Farbstoffe in Lösung und funktionalisiert (45 $\mu\text{m}$ lange AAO-Membran auf Oxalsäurebasis, Porendurchmesser 40 nm und eine 10 nm $\text{TiO}_2$ -Schicht).....	112
Abbildung 65: (a) - (l): CV (mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 50 mV/s) und SWV-Messungen (Spannungserhöhung 25 mV, Frequenz 25 Hz) von den verwendeten Farbstoffen mit einem Pt-Draht (rot) und einer GCE (schwarz) .....	116
Abbildung 66: (a) CV der Hydrogenaseaktivität an einer Glaskohlenstoffelektrode (GCE) (Scanrate bei 200 mV/s, max. Strom 1 mA).....	118
Abbildung 67: a) CV's einer AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis (30 $\mu\text{m}$ lang, Porendurchmesser 290 nm und einer 15 nm $\text{TiO}_2$ -Schicht) mit Hydrogenasen aus E.coli bei unterschiedlichen Vorschubgeschwindigkeiten (100 und 200 mV/s, max. Strom 1 mA) im TRIS-Puffer mit einem pH-Wert von 8 gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode vermessen .....	119

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: UV-Vis-Daten von Ferrocen und Ferrocennessigsäure.....	9
Tabelle 2: Elektrochemische Daten von Ferrocen und Ferrocennessigsäure.....	9
Tabelle 3: charakteristische Daten von Fc, Fc+, FAA, FAA+ in Lösung gemessen via UV-Vis-, elektro-chemisch, EPR-Messungen.....	38
Tabelle 4: Wachstumsraten von ITO bei unterschiedlichen Modi bestimmt durch Ellipsometrie.....	45
Tabelle 5: berechnete Werte des spezifischen Widerstands und des Flächenwiderstands bei einer ITO-Schichtdicke im AC-Modus von 202 nm und im DC-Modus von 189 nm.....	45
Tabelle 6: Verwendung von unterschiedlichen flachen Substrate, die als Elektrode benutzt wurden .....	47
Tabelle 7: Temperaturen und Zeiten des ALD-Prozesses von Titandioxid.....	54
Tabelle 8: Wachstumsraten von Chrom und Gold.....	54
Tabelle 9: Verhältnis der geschalteten Moleküle auf unterschiedlichen Templaten mithilfe der CC-Messungen quantifiziert.....	82
Tabelle 10: Temperaturen und Zeiten des ALD-Prozesses von Titandioxid auf Membranen.....	87
Tabelle 11: Übersicht der mittels Ellipsometrie gemessenen Schichtdickenvariation bei den verschiedenen prozessierten Proben.....	94
Tabelle 12: Temperaturen und Zeiten des ALD-Prozesses von Siliziumdioxid .....	108
Tabelle 13: Löslichkeit der Farbstoffe: löslich (+), unlöslich (-), teilweise löslich (+/-) und die dazugehörigen Absorptionsmaxima.....	110



# 1. Einleitung und Zielsetzung

## 1.1. Einleitung

### 1.1.1. Oberflächen

Viele chemische, biologische und physikalische Phänomene sind mit einem Austausch von Energie, Materie und Ladung an und über einer Grenzfläche verbunden. Beispiele hierfür sind die heterogene Katalyse [1], die Energieumsetzung in der Photovoltaik [2], die Photosynthese bei zellulären Prozessen [3], sowie bei Batterien [4,5]. Speziellere Anwendungen basieren auf einer funktionellen Oberfläche, wie z.B. beim Medikamententransport, in der Medizindiagnostik, bei Mikrofluiden und bei der Elektrophorese [6,7].

Die besonderen Eigenschaften von Festkörperoberflächen resultieren aus einer Unterbrechung der Kristallgitterstruktur. Dieses beinhaltet ein Fehlen der Ionen oder Atome in der letzten Kristallgitterschicht. Dadurch kommt es oft zu einer Erhöhung der chemischen Reaktivität an der Oberfläche, die z.B. durch die Einstellung des pH-Wertes oder der Temperatur kontrolliert werden kann.

Im Gegensatz zu den statischen Eigenschaften von Festkörpern können bei Molekülen die Eigenschaften durch Redoxreaktionen, das Anlegen eines magnetischen Feldes oder photochemisch verändert werden.

Im Folgenden werden drei unterschiedliche Vorgehensweisen vorgestellt, wie die Eigenschaften der Oberflächen durch Veränderung des pH-Wertes und durch ein magnetisches oder optisches Signal beeinflusst werden können.

Lahann *et al.* [8] untersuchten Oberflächen, die sich reversibel durch Veränderung des pH-Wertes schalten lassen, sich somit ihre Kapillarität von hydrophil zu hydrophob verändert. Die Oberflächen weisen somit auf einen dynamischen Wechsel ihrer grenzflächenaktiven Eigenschaften hin. Im beschriebenen Fall wird Azabenzol (Pyridin) elektrisch induziert an die Oberfläche angelagert.

Das Benetzen der Oberfläche mit Pyridin ist bestimmt durch die oberflächenlimitierten Einschicht-Moleküle, die für den Übergang von hydrophil zu hydrophob verantwortlich sind. Da dieser Vorgang reversibel ist, lassen sich die nach außen sichtbaren Oberflächeneigenschaften gezielt manipulieren, ohne dabei die chemischen Eigenschaften des Materials dauerhaft zu verändern.

Katz *et al.* [9] untersucht die kontrollierte Beeinflussung des hydrophilen Charakters von mit Alkylresten funktionalisierten Magnetit-Nanopartikeln mit Hilfe von äußeren Magnetfeldern. Werden diese Nanopartikel an Elektrodenoberflächen gebunden, so können elektrochemische Prozesse, die in wässriger Lösung stattfinden, durch Wechsel in den hydrophoben Zustand vollständig unterbunden werden. Der Gebrauch der hydrophoben magnetischen Nanopartikel kontrolliert also die elektrokatalytische Umwandlung.

Muraoka *et al.* [10] entwickelten ein simples, leicht umkehrbares Redoxsystem, das photochemisch auf Licht reagiert. Diese photochemische Redoxreaktion basiert auf Titandioxid, einem Halbleiter, der im UV-Bereich absorbiert und eine Bandlücke von 3,2 eV [11] aufweist. Als Redoxpaar fungiert hier Ferrocen/Ferrocenium-Ion, da es eine sehr bekannte und stabile Redoxchemie aufweist. Ferroceniumsalze sind in polaren Lösungsmitteln löslich, bei der Reduktion entsteht Ferrocen, das aber schlecht in polaren Lösungsmitteln löslich ist. Sie produzieren mit Octadecyltrichlorsilan eine kovalent gebundene hydrophobe Monoschicht auf der Oberfläche der TiO<sub>2</sub>-Partikel. Die Elektronenlochpaare bilden sich in der Nähe der Oberfläche des Halbleiters durch die Absorption von Photonen und der damit verbundenen Anhebung eines Valenzelektrons in das Leitungsband aus. Diese reversible Photoneneinlagerung durch Ferrocen in eine hydrophobe Halbleiteroberfläche passiert durch das Licht und die chemische Oxidation.

Im Gegensatz zu diesen Anwendungen, die eine planare Oberfläche benutzen, wird in dieser Arbeit der Vergleich zwischen flachen Substraten und nanostrukturierten Membranen dargestellt. Durch die Nanostrukturierung einiger Template kann die Oberfläche im Gegensatz zum Volumen und dadurch vermutlich den Effekt der Funktionalisierung deutlich vergrößert werden. Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten eine Nanostrukturierung vorzunehmen.

### 1.1.2. Nanostrukturierung

Es gibt verschiedene Methoden, die für eine Strukturierung der Oberfläche sorgen können. Hierbei handelt es sich um Verfahren, die durch einen Materialabtrag oder -auftrag funktionieren. Durch diese Methoden erhält man die Strukturierungen auf den jeweiligen Materialien. Die nächsten beiden Methoden sind Materialabtragungen durch Ionenstrahlen oder gepulste Laserstrahlung.

Bei dem Ionendünnungs-Verfahren (FIB; engl.: *Focused Ion Beam*) wird durch geeignete elektrostatische und magnetische Linsen ein Ionenstrahl, meistens aus Gallium- oder Helium-Ionen auf einen Punkt der Probe fokussiert und über die Oberfläche gerastert. Dabei werden Sekundärelektronen frei, die detektiert werden und auch eine Abbildung der Oberfläche ermöglichen können. Werden Prozessgase verwendet, können diese für einen Auf-

bau der Oberfläche sorgen und oftmals die Ätzselektivität erhöhen. Vor allem findet das Ionendünnungs-Verfahren in der Halbleiterindustrie Anwendung [12].

Bei der Laserablation wird durch Beschuss mit gepulster Laserstrahlung ein Materialabtrag einer Oberfläche geschaffen. Hierbei wird die Energie der Photonen auf die Elektronen des Festkörpers abgegeben. Durch diese hohe Energie werden thermische Schwingungen der Atomkerne angeregt, die zum Lösen chemischer Bindungen führen. Somit können Elektronen aus dem Festkörper gelangen. Die Kationen verursachen durch die Coulomb-Abstoßung einen Materialabtrag an der Oberfläche. In der Analytik können somit kleinste Mengen von Proben abgetragen werden [13].

Bei der chemischen Gasphasenabscheidung (CVD; engl.: *Chemical Vapour Deposition*) handelt es sich, um ein Verfahren der Nanostrukturierung durch Materialauftragungen. Es beruht auf einer Gasphasenreaktion, wobei auf der erhitzten Oberfläche eines Substrats ein Feststoff aus der Gasphase abgeschieden wird. Anwendungen sind häufig in der Elektronikindustrie [14]. Dieses Verfahren ist ähnlich, wie das in dieser Arbeit verwendete Atomlagenabscheidungs-Verfahren. Die Unterschiede werden in der Arbeit weiter erläutert.

Die Nanostrukturierung in dieser Arbeit erfolgt durch eine Selbstordnung der Poren beim Anlegen einer Spannung. Die Geometrie der in dieser Arbeit verwendeten Nanostrukturen (Anodische Aluminiumoxidmembranen) kann bei dem Herstellungsprozess genau eingestellt werden. Hierbei ist eine Vergrößerung der nutzbaren Oberfläche bis um den Faktor  $10^3$  möglich.

Die Oberflächen der flachen Substrate und auch der nanostrukturierten Membranen werden zunächst mit einer dünnen Titandioxid-Schicht mit Hilfe des Atomlagenabscheidungs-Verfahrens (ALD) versehen und anschließend mit redoxaktiven Molekülen funktionalisiert. Durch eine angelegte Spannung soll ein Wechsel des Oxidationszustands stattfinden.

## **1.2. Zielsetzung**

Es sollen eindeutig definierte Nanostrukturen mithilfe elektrochemischer Oxidation von Aluminium in säurehaltigen Elektrolyten hergestellt werden [15-21]. Man erhält eine durch Selbstordnung formierte, periodische Nanostruktur aus parallel angeordneten Poren. Mithilfe des Atomlagenabscheidungs-Verfahrens (ALD) können verschiedene Oxide abgeschieden werden. Man erhält somit eine gewisse Komplexität. In dieser Arbeit soll der Halbleiter Titandioxid auf die Oberfläche dieser porösen Nanostrukturen abgeschieden werden und auf seine Kristallinität hin überprüft werden. Des Weiteren soll die Wachstumsrate bestimmt werden.

Die Oberfläche dieser beschichteten Template wird mit redoxaktiven molekularen Gruppen, hier mit Ferrocenessigsäure (FAA), funktionalisiert. Nachdem eine kontrollierbare Strategie zur Anknüpfung solcher chemischen Gruppen erarbeitet wurde, soll untersucht werden, wie diese chemisorbierten Einheiten elektrochemisch reagieren. Beide erreichbaren Oxidationszustände werden auf ihre Unterschiede bezüglich ihrer physikalischen Eigenschaften, wie Kapillarität, Magnetismus und optische Eigenschaften hin untersucht. Die geschalteten Moleküle sollen quantifiziert werden.

## 2. Theoretische Grundlagen

### 2.1. Nanostrukturen

In den letzten 10 - 20 Jahren hat die Nanotechnologie immer mehr an Bedeutung gewonnen [22]. Das Präfix „Nano“ beschreibt kleinste Strukturen in der Dimension von  $10^{-9}$  m. Diese Größenordnung ist besonders interessant, da viele physikalischen und chemischen Gesetzmäßigkeiten ihren Ursprung auf dieser Größenskala besitzen und somit interdisziplinär gearbeitet werden kann. Daher resultieren hier unterschiedlichste Anwendungsgebiete, wie z.B. in der Lebensmittelindustrie [23], in der Farb- und Lacktechnik [24], in der Elektro- und Informationstechnik [25], sowie in der pharmazeutischen Industrie [26].

Man kann Nanostrukturen noch in Hinsicht auf ihre unterschiedlichen Dimensionen einteilen [27].

- 0 D: Nanopartikel, „Nanodots“
- 1 D: Nanoröhren, Nanodrähte
- 2 D: sehr dünne Nanofilme, wie z.B. „Nanodiscs“, „Nanosheets“
- 3 D: komplexere Nanotemplate, wie z.B. „Nanocubes“

Besonders interessant im Hinblick auf die vorliegende Arbeit ist die Kategorie der 3 D-Nanostrukturen. Die „Nanocubes“ weisen eine hohe innere Oberfläche auf und neigen zur Selbstorganisation trotz Ecken und Kanten. Einsatz finden sie als Datenspeicher oder auch als Wasserstoffspeicher aufgrund der großen Oberfläche [28].

Das grundlegende Gerüst für alle in dieser Arbeit hergestellten Nanostrukturen sind sogenannte poröse Aluminiumoxidmembranen. Es sind hinsichtlich der Geometrie zylindrisch, parallel selbstangeordnete Poren, die eine große Oberfläche im Verhältnis zum Volumen aufweisen und somit in die 3 D-Kategorie fallen. Deren Synthese soll im folgenden Abschnitt kurz vorgestellt werden.

#### 2.1.1. Anodisches Aluminiumoxid (AAO; engl.: *Anodic Alumina Oxidation*)

Aluminium zählt zu den unedlen Metallen ( $E^\circ = -1,66$  V) und neigt daher zur Korrosion. Es bildet mit Sauerstoff eine dünne Oxidschicht ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), die vor weiterer Korrosion schützt. Diese äußerst dünne Schicht wird im Herstellungsprozess elektrisch weiter oxidiert, um

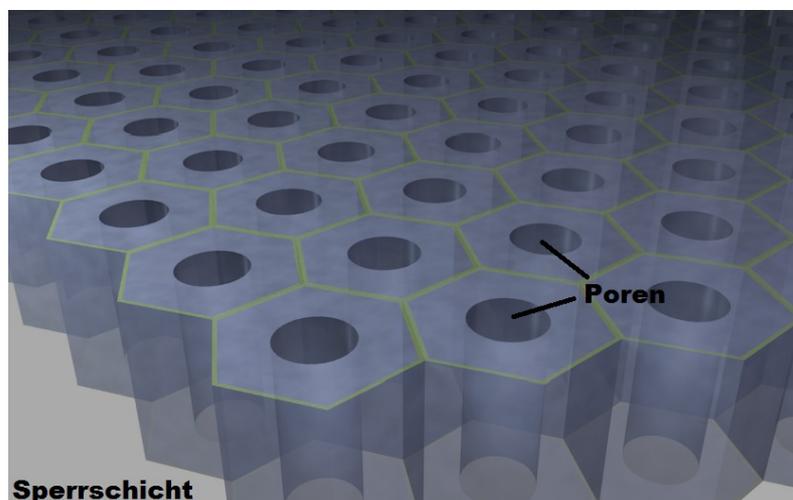
eine harte, korrosionsbeständige und widerstandsfähige Schicht gegen organische und anorganische Lösungsmittel zu erhalten. Diesen Prozess nennt man Eloxierung oder Eloxal-Verfahren, was für **elektrochemische Oxidation** von **Aluminium** steht [29]. An der Kathode (Pt-Netz) läuft folgende Reaktion ab:



Das Aluminium ist bei diesem Prozess als Anode geschaltet und wird im säurehaltigen Elektrolyten hierbei oxidiert.



Es bildet sich nach dem Einschalten des Stroms zuerst eine dünne, porenfreie dielektrische Sperrschicht, ein sog. „barrier-layer“ aus. Die angelegte Spannung ist für das Wachstum dieser Schicht verantwortlich. Die Organisation der Strukturen kommt dadurch zustande, dass das Oxid mehr Volumen aufnimmt als das Metall. Weil lateral kein Platz zum Ausdehnen ist, entstehen mechanische Spannungen. Diese werden wiederum am effizientesten entspannt, wenn die Poren regelmäßig angeordnet sind. Somit erhält man die charakteristische hexagonale Wabenstruktur des Aluminiumoxids.



**Abbildung 1:** schematische Darstellung der elektrochemischen Oxidation von Aluminium: hexagonale Anordnung und Porenwachstum des Aluminiumoxids

Durch den regelmäßigen Ablauf wird Aluminium zu Aluminiumoxid oxidiert und es kommt zu Porenlängen von 10-100  $\mu\text{m}$ , die von der Dauer der Anodisation abhängig sind. Der Durchmesser dieser nanoporösen Aluminiumoxidmembranen ist durch die Wahl und Konzentration der Säure, der angelegten Spannung, sowie der Temperatur des säurehaltigen Elektrolyten einstellbar [30-36]. Anwendungen dieser geometrisch genau einstellbaren Na-

nostrukturen findet man im Bereich der Katalysatoren [37,38], chemischer Filter [39], Gasensoren [40] und als Nanotemplate [41,42] aufgrund ihrer mechanischen, chemischen und thermischen Stabilität. Durch die Verwendung von unreinem Aluminium erhält man eine ungeordnete Struktur; daher fällt die Wahl in dieser Arbeit auf sehr reines, 99,999%iges Aluminium.

## 2.2. Atomlagenabscheidung (ALD)

In den 1970er Jahren wurden von Suntola in Finnland die ersten selbstlimitierenden Abscheidungen von Zinksulfid an Oberflächen aus der Gasphase durchgeführt. Dieser Vorgang wurde als Atomlagenepitaxie beschrieben [43]. Das Verfahren fand häufig Anwendung in verschiedenen Bereichen, wie der Nanotechnologie, bei Katalysatoren, bei optischen und elektronischen Materialien und in der siliziumbasierten Mikroelektronik [44].

Es werden unterschiedliche Reaktanden, also Prekursoren eingesetzt, die aufeinanderfolgend in die Reaktionskammer einströmen. Besonders ist, dass die Reaktanden nacheinander eingeleitet werden und somit nicht direkt miteinander reagieren, sondern jeweils nur mit der zuvor chemisorbierten Monolage des anderen Prekursors. Sonst kann es schnell zu „Chemical Vapour Deposition“ (CVD) kommen [15,45]. Diese Prekursoren können fest, flüssig, sowie auch gasförmig sein. Sie sollten allerdings einen niedrigen Dampfdruck besitzen, um somit milde Reaktionsbedingungen (z.B. niedrige Temperaturen) zu schaffen [46]. Nach einer Verweilzeit muss der erste Prekursor vollständig aus der Kammer entfernt werden, da die Reaktion sonst ungehindert im Gasgemisch stattfindet und somit nicht mehr limitierend auf dem zu beschichteten Material abläuft.

Aufgrund der selbstlimitierenden Eigenschaft der Oberflächenchemie ist die Atomlagenabscheidung hervorragend geeignet, um auch auf strukturierten Oberflächen homogene Filme abzuscheiden [47]. Es kommt im Gegensatz zu anderen Depositionsverfahren zu keinem Abschattungseffekt. Bei der Abscheidung in lange Poren, wie sie beim AAO vorkommen, muss nur auf eine ausreichende Diffusionszeit nach dem Einleiten der Prekursoren in die Kammer geachtet werden.

Während des Prozesses wird ständig mit einem inerten Trägergas wie Argon oder Stickstoff gespült, um den Transport der Moleküle in der Kammer zu gewährleisten und eventuelle nicht reagierende Moleküle mit hinauszutragen. Im Idealfall wird eine molekulare Monolage während eines Zyklus aufgebaut. Dieses Schicht auf Schicht Verfahren ist selbstlimitierend. Wenn die funktionellen Gruppen am Molekül gesättigt sind, gibt es keinen weiteren Aufbau.

Man kann die Reaktanden in zwei Klassen unterteilen. Prekursoren mit und ohne einem Metallion. Während des Prozesses gehen die Prekursoren ohne Metallion eine vollständige Reaktion meistens mit einem Prekursor mit Metallion ein.

Reaktanden mit Metallionen sind Verbindungen mit Halogeniden oder organischen Resten, wie Alkyl-, Alkoholaten und Cyclopentadienylresten.

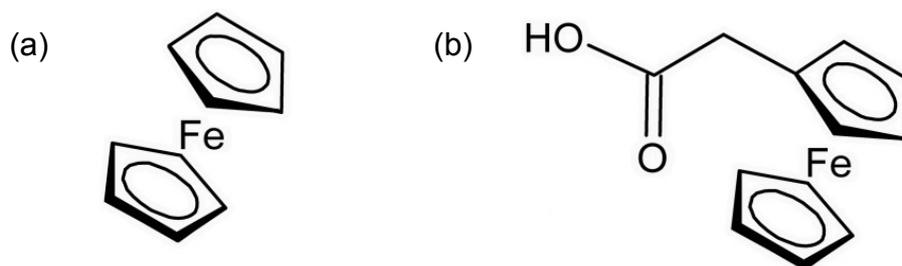
Es können Oxide, Sulfide, Nitride, sowie auch Selenide und Fluoride abgeschieden werden [45]. Prekursoren ohne Metallionen sind häufig Wasser, Sauerstoff, Ozon und Wasserstoffperoxid. Diese Prekursoren bilden Oxide. Für die Nitride kommen Ammoniak, Hydrazin und Amine als Stickstoffquelle in Frage [45].

In dieser Arbeit wird der Halbleiter Titandioxid auf die flachen und strukturierten Substrate abgeschieden. Der Abscheidungsprozess wird in Kapitel 3.2.1 ausführlicher beschrieben.

### **2.3. Ferrocen (Fc) und Ferrocenessigsäure (FAA)**

Ferrocen wurde zufällig 1951 von Kealy *et al.* bei der Synthese vom aromatischen Fulvalen [ $C_{10}H_8$ ] entdeckt, wobei die Forschergruppe von Cyclopentadienylanionen als Grignardverbindungen ausging und durch eine Oxidation von Eisentrichlorid zum Dihydrofulvalen gelangen wollte. Anschließend sollte durch eine Dehydrierung das gewünschte Fulvalen synthetisiert werden. Dieses Experiment schlug fehl und es entstanden gelbliche Ferrocen-Kristalle [ $Fe(C_5H_5)_2$ ] [48].

Kurz darauf stellte Miller *et al.* im Zusammenhang mit dem Haber-Bosch-Prozess aus Cyclopentadien und Stickstoff bei 300 °C und unter Luftdruck Ferrocen her. Die Arbeitsgruppe versuchte aus gesättigten und ungesättigten Kohlenwasserstoffen mithilfe des Eisenoxid-Mischkatalysators, der zur Herstellung von Ammoniak benötigt wird, Amine zu synthetisieren [49].



**Abbildung 2:** Strukturformel von (a) Ferrocen und (b) Ferrocenessigsäure

Die typische Sandwich-Struktur von Ferrocen wurde erst später durch Infrarotspektroskopie (IR), Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) und Röntgen-Kristallographie aufgeklärt. Ferrocen gilt als Metallocen, da es eine metallorganische Verbindung ist. Mit den beiden Cyclopentadienylanionen gibt es ein delocalisiertes  $\pi$ -Elektronensystem, welches für den aromatischen Charakter sorgt. Das Fe(II)-Kation gibt seine sechs Außenelektronen zur Bindung, sowie die drei  $\pi$ -Elektronenpaare von den Liganden dazu. Der Komplex besteht somit aus 18 Elektronen, erfüllt die 18-Elektronen-Regel und besitzt die Kryptonkonfiguration. Ferrocen ist diamagnetisch, thermisch und chemisch stabil und löst sich schlecht in Wasser [50]. Die Elektrochemie des Redoxpaares  $Fc/Fc^+$  und seiner Derivate ist gut bekannt und wird daher auch als redoxaktives Molekül in dieser Arbeit verwendet.

Ferrocenessigsäure (FAA; engl.: *Ferroceneacetic Acid*) ist ein Derivat von Ferrocen. Es beinhaltet eine funktionelle Gruppe, die Carboxylgruppe, durch die es wasserlöslich wird. Ferrocenessigsäure hat einen pKs-Wert von 4 und gehört somit zu den starken bis mittelstarken Säuren. Besonders durch die Carboxylgruppe im Molekül, die hier als funktionelle Gruppe wirkt, eignet es sich gut zum kovalenten Anbinden an andere Strukturen [51,52].

Absorptionsbanden	
Ferrocen in $CH_3CN$ [53]	330 nm / 440 nm
Ferrocenessigsäure in $C_4H_8O_2$ [54]	420 nm

**Tabelle 1:** UV-Vis-Daten von Ferrocen und Ferrocenessigsäure

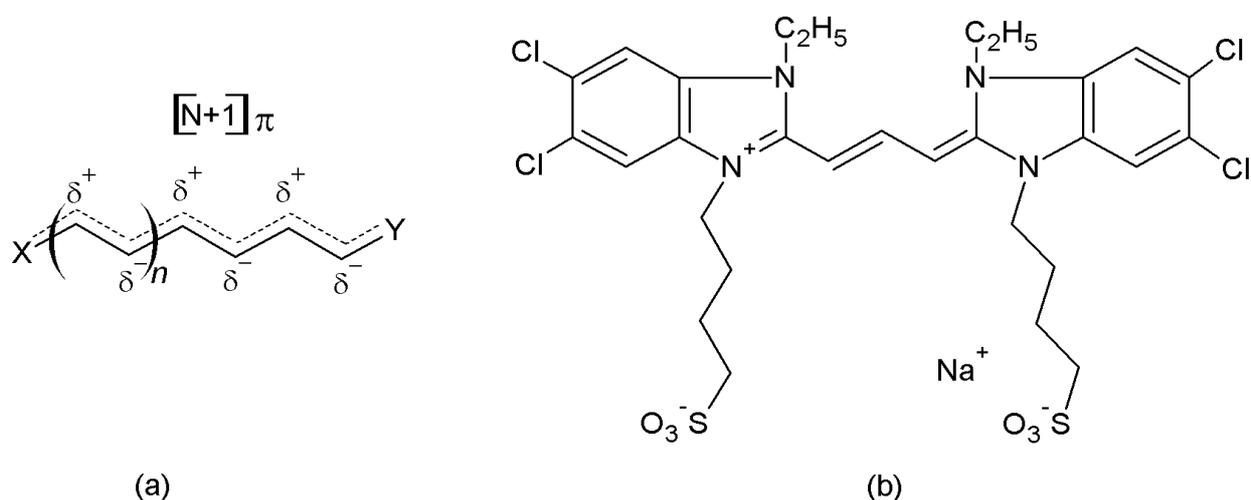
$E_{1/2}$ vs. Ag/AgCl	
Ferrocen in $CH_3CN$ mit $(Bu)_4N(PF_6)$ [53]	+0,35 V
Ferrocenessigsäure in $H_2O$ mit $Na_2SO_4$ bei pH=7 [55]	+0,14 V

**Tabelle 2:** Elektrochemische Daten von Ferrocen und Ferrocenessigsäure

Ferrocenessigsäure besitzt keine signifikante Absorptionsbande im Wellenlängenbereich zwischen 400 - 500 nm. Daher wird im Verlauf der Arbeit mit weiteren redoxaktiven Molekülen, wie Cyaninfarbstoffen und Porphyrinen gearbeitet. Diese Farbstoffe weisen im Absorptionsspektrum eindeutig zuzuweisende Banden auf, die sich durch die Wahl des Lösungsmittels beeinflussen lassen. Diese Eigenschaften werden in den nächsten Kapiteln genauer beschrieben.

## 2.4. Cyaninfarbstoffe

1856 wurde von Williams der erste Cyaninfarbstoff „Cyanin“ synthetisiert; er gehört zu den Polymethinfarbstoffen [56]. Diese Farbstoffklasse, bestehend aus einer Anreicherung von Methingruppen mit mindestens zwei Stickstoff-Heteroatomen [57], findet hauptsächlich im technischen Bereich, z.B. in der analogen Fotografie [58], und im biologischen Bereich, z.B. als Marker Anwendung [59]. Die Polymethine besitzen ähnliche C-C-Bindungslängen, wie sie üblicherweise auch in aromatischen Molekülen vorkommen. Durch dieses konjugierte Bindungssystem gibt es spektroskopisch gesehen bei der Absorption von Licht eine Besonderheit, die „Vinylenschiebung“. Die Erweiterung einer Vinyleinheit in einem Molekül, also zwei Methingruppen, beeinflusst das Absorptionsspektrum in der Hinsicht, dass es sich um etwa 100 nm in den längerwelligeren Spektralbereich verschiebt. Dies gilt idealerweise nur bei symmetrischen Cyaninfarbstoffen [60].



**Abbildung 3:** (a) Schema der Cyaninfarbstoffe, wobei X und Y Heteroatome sind, die elektronegativer als Kohlenstoff sind Vorlage basiert auf [60] und (b) Cyaninfarbstoff S 0046

König und Ismailsky konnten schon durch ihre ideale Betrachtung von konjugierten Farbstoffsystemen über die Eigenschaften des Farbstoffsystems näherungsweise Vorhersagen machen. Nach König und Ismailsky besteht ein idealer Farbstoff aus einem Donor, der über

ein konjugiertes  $\pi$ -Elektronensystem seiner Struktur mit einem Akzeptor wechselwirkt. Dieses Prinzip ist bei den Cyaninfarbstoffen idealerweise gegeben, da sowohl Donor als auch Akzeptor in den Endgruppen eines Moleküls vorhanden sind. Die endständigen Heteroatome (N, O, S) oder heterocyclischen Endgruppen sind elektronegativer als Kohlenstoff. Somit kommt es zu alternierenden Ladungsdichten entlang des Moleküls. Die Cyaninfarbstoffe werden auch in kationische (Cyaninfarbstoffe), anionische (Oxonolfarbstoffe) und neutrale (Merocyanine) Polymethine unterschieden [57,61].

Interessant werden die Cyaninfarbstoffe durch ihre unterschiedlichen funktionellen Gruppen, wie z.B.  $\text{NH}_2$ - oder  $\text{SO}_3$ -Gruppen, die für das kovalente Anbinden an Oberflächen in dieser Arbeit eine große Rolle spielen.

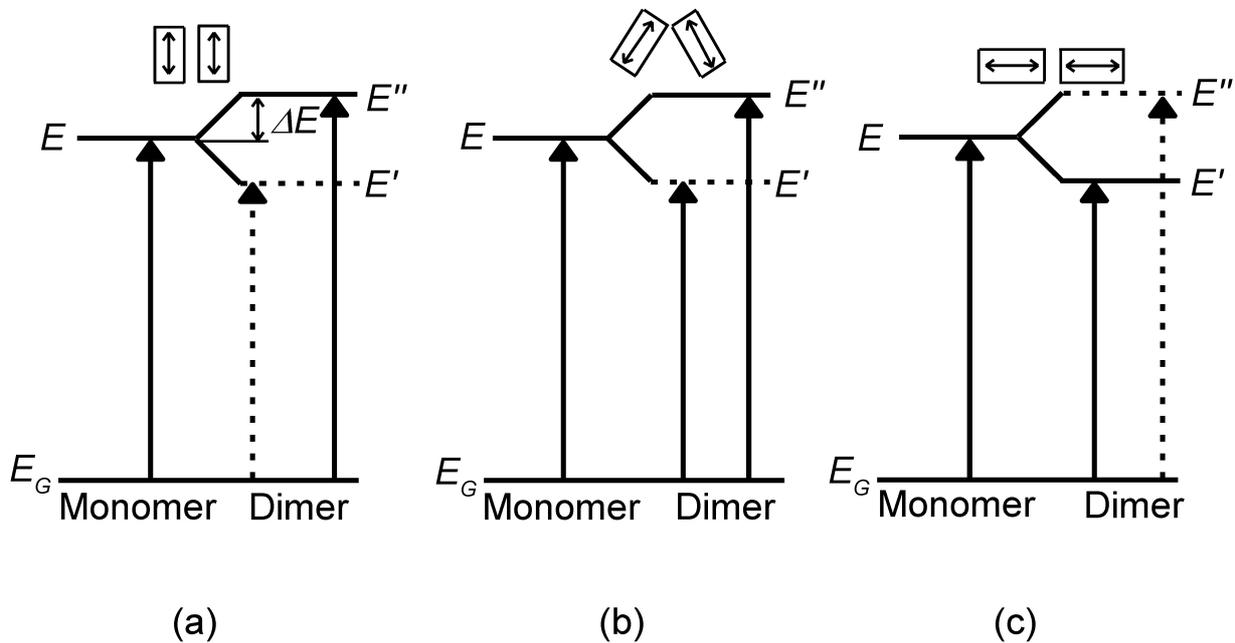
### 2.4.1. Aggregatbildung von Cyaninfarbstoffen

Bei den Cyaninfarbstoffen kommt es oft zu einer Abweichung vom Lambert-Beer'schen Gesetz.

$$E(\lambda) = \varepsilon(\lambda) c d_k \quad (3)$$

Die Farbstoffkonzentration  $c$  ist nicht zur ermittelten Extinktion  $E$  bei einer bestimmten Wellenlänge  $\lambda$  proportional. Dies gilt besonders in wässrigen Lösungsmitteln und bei hohen Konzentrationen. Außerdem hängt diese Änderung von der Struktur des Farbstoffs, sowie den äußeren Bedingungen, wie z.B. Lösungsmittel, pH-Wert und Polarität des Lösungsmittels ab. Im Absorptionsspektrum spiegelt sich dieses Verhalten wider. Die Intensität der Hauptbande nimmt mit steigender Konzentration ab und dafür tauchen neue Peaks bei anderen Wellenlängen auf. Dieses Verhalten ist auf die Bildung von Dimeren und höheren Aggregaten bei den Cyaninfarbstoffen zurückzuführen [62]. In dieser Arbeit soll auch geklärt werden, ob es einen Unterschied im Absorptionsspektrum zwischen den an der Oberfläche funktionalisierten Farbstoffmolekülen und den Molekülen in Lösung gibt.

Durch die „Molekulare Exzitonen-Theorie“ kann die Bandenaufspaltung und Bandenverschiebung der Absorptionsspektren erklärt werden. Hierbei kommt es zu einer Kopplung der Übergangsdipolmomente der Farbstoffmoleküle, die an der Dimerbildung beteiligt sind und zu einer exzitonischen Aufspaltung des angeregten Zustands des Dimers [63,64].



**Abbildung 4:** Energieniveaus der gebildeten Dimere: (a) H-Dimere sind parallel angeordnet (b) oblique-Geometrie der Dimere nicht ganz parallel angeordnet (c) J-Dimere sind in der head to tail Geometrie angeordnet

Gestrichelte Linien sind verbotene Übergänge, durchgezogene Linien erlaubte Übergänge Vorlage basiert auf [62]

Bei den H-Aggregaten (H-Dimere) sind die Farbstoffmoleküle im Dimer parallel ausgerichtet und im Absorptionsspektrum ist eine hypsochrome Verschiebung der Absorptionsbande zu beobachten. Hier ist nur ein elektronischer Übergang in den energetisch höheren Zustand erlaubt, der Übergang in das energetisch niedrigere Niveau ist symmetrieverboten. Bei der nicht ganz parallelen Anordnung der Dimere (oblique Geometrie) kommt es manchmal zu schwachen neuen Absorptionsbanden bei höheren und kürzeren Wellenlängen. Der Übergang in den energetisch günstigeren Zustand ist nun teilweise gegen die vorherige aufgestellte Auswahlregel möglich. Man spricht von J-Aggregaten (J-Dimere) bei der „head to tail“ Geometrie der Dimere. Nun ist es ohne Einschränkungen möglich, in den energetisch niedrigeren Zustand überzugehen, der höher gelegene ist verboten. Es kommt zu einer bathochromen Verschiebung im Absorptionsspektrum [56,62].

## 2.5. Porphyrine

1912 wurde von Küster die erste Tetrapyrrolstruktur entdeckt, doch aufgrund des Makrozykluses, also der hohen vermutlichen Instabilität, wurden seine Ergebnisse nicht anerkannt und die Verbindung nicht weiter untersucht. [65]. Fischer *et al.* gelang es 17 Jahre später, die gleiche Verbindung, das Hämin, aus geeigneten substituierten Pyrrol-Edukten zu synthetisieren [66]. Das Hämin, sowie alle Porphyrine bestehen aus vier Pyrrolringen, die über eine Methingruppe verbunden sind. Diese alternierenden Doppelbindungen bilden eine planare Struktur. Der vierzählige Ligand des Chelatkomplexes im Porphyrinsystem ist in biologischen Systemen von großer Wichtigkeit. Es sind organische makrocyclische Verbindungen, die in der Natur und im menschlichen Körper eine große Rolle spielen, wie z.B. Chlorophyll und Hämoglobin. Oft besitzen sie ein zentrales Metallion, welches von den vier Stickstoffatomen umgeben ist. Das Porphin ist der einfachste Vertreter seiner Art. Die Vielfalt der Seitenketten ist groß und variabel [29].

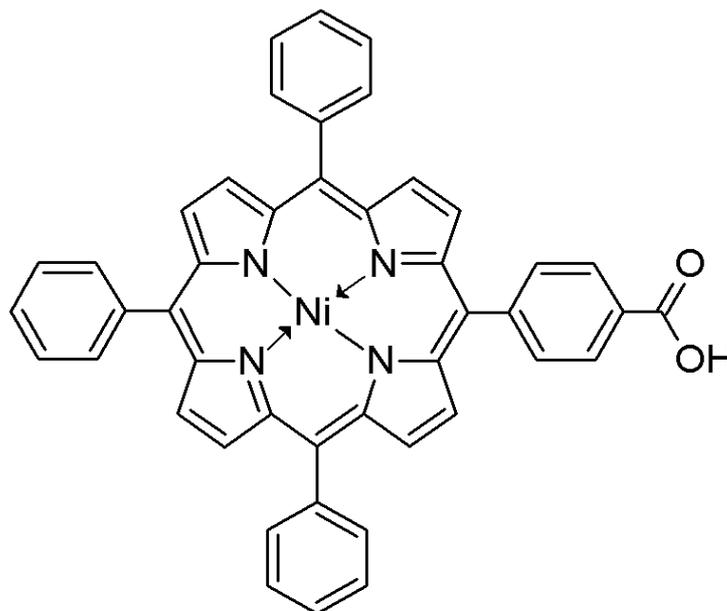


Abbildung 5: Ni-Porphyrin (P 1)

In Abbildung 5 ist ein Ni-Porphyrin mit einer Carboxylgruppe zu sehen, mit dem einige Experimente durchgeführt wurden. Auch hier übernimmt die Carboxylgruppe das Anbinden an die Oberfläche.

Im Absorptionsspektrum von Porphyrinen beobachtet man charakteristische Absorptionsbanden. Die Hauptabsorptionsbande befindet sich üblicherweise im Nah-UV-Bereich bei einer Wellenlänge von 390 - 430 nm. Diese Bande nennt man B-Bande oder nach ihrem Entdecker Soret-Bande, der 1883 eine intensive Bande des Hämoglobins bei 400 nm ge-

funden hat. Diese Soret-Bande ist typisch für alle cyclischen 18 Elektronen Tetrapyrrole. Es gibt allerdings noch bis zu vier weitere Banden bei höheren Wellenlängen, die Q-Banden genannt werden. Aufgrund der starken  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen in Porphyrinen kommt es oft zu Aggregationen in Lösung wie bei den Cyaninfarbstoffen [67].

### 2.6. Enzyme

Enzyme sind Naturstoffe, meistens Proteine, die chemische Reaktionen in Organismen katalytisch unterstützen. Sie werden auch als biologische Katalysatoren bezeichnet und liegen häufig in der Tertiär- oder Quartärstruktur vor. Die Primärstruktur des Proteins bildet die Sequenz der Aminosäuren. Durch Wasserstoffbrückenbindung zwischen NH- und CO-Gruppen der Peptidbindungen wird das Protein gefaltet und bildet eine Nahordnung aus, die Sekundärstruktur. Man unterscheidet diese in  $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblattstruktur. Die Tertiärstruktur kommt dadurch zustande, dass außer NH- und CO-Gruppen auch andere funktionelle Gruppen im Molekül vorkommen, die durch die räumliche Anordnung miteinander wechselwirken. Diese Wechselwirkungen basieren auf ionischen Bindungen, van-der-Waals-Kräften oder Disulfidbrücken zweier Cysteinreste. Bei der Quartärstruktur gibt es nicht nur eine Peptidkette, sondern mehrere Untereinheiten. Diese sind nicht über Peptidbindungen miteinander verbunden, sondern über intermolekulare Kräfte. Die räumliche Anordnung dieser Untereinheiten zeichnet die Quartärstruktur aus [68].

Das aktive Zentrum eines Enzyms wird als der Teil bezeichnet, der katalytisch wirksam ist. Das Substrat wird an das aktive Zentrum gebunden und es entsteht ein Enzym-Substrat-Komplex, wobei das Substrat jetzt für die Reaktion aktiviert ist. Daraufhin bildet sich ein Enzym-Produkt-Komplex, der schließlich in das ursprüngliche Enzym und das Reaktionsprodukt zerfällt. Man spricht auch vom Schlüssel-Schloss-Prinzip. Das aktive Zentrum eines Enzyms weist auf eine sehr hohe Spezifität hin, daher kann es nur ein Substrat oder eine Substratklasse binden. Außerdem sind sie auch wirkungsspezifisch [69].

In vielen Bereichen kommen Enzyme zum Einsatz. In der Lebensmittelindustrie werden z.B. Amylasen in Brauerei oder Bäckerei und in der Stärkeverzuckerung eingesetzt. Pectinasen dienen zur Klärung von Fruchtsäften und Proteasen finden in der Käseherstellung Verwendung. Des weiteren sind sie in der Waschmittelindustrie von besonderer Bedeutung, wo Proteasen zum Entfernen von eiweißhaltigem Schmutz (Blut, Milch usw.) zum Einsatz kommen. Besonders reine Enzyme benötigt man in der klinischen Chemie für kosmetische Präparate zur enzymatischen Analyse [70].

In dieser Arbeit wurden verschiedene Experimente mit Enzymen durchgeführt im Hinblick auf die Funktionalisierung der Nanostrukturen. Es wurden zwei Arten von Enzymen verwendet: Invertasen und Hydrogenasen, die im nächsten Abschnitt weiter erläutert werden.

### 2.6.1. Invertasen

Invertasen kommen in der Natur häufig vor, z.B. in Hefen, Pilzen, Pflanzen und Bakterien. Auch im menschlichen Körper und anderen Säugetieren spielen sie im Verdauungstrakt eine große Rolle. Es handelt sich um Säure-Base Enzyme, die Haushaltszucker (Saccharose) zu gleichen Teilen in Fructose und Traubenzucker (Glucose) umwandeln können. Das Produkt wird nach enzymatischer Aufspaltung auch als Invertzucker bezeichnet. Invertasen werden auch Saccharase oder  $\beta$ -Fructofuranosidase genannt [71]. Das Ferment aus Hefe kann die Polarisation einer Saccharoselösung von rechtsdrehend (Saccharose) zu linksdrehend (Fructose) ändern. Dieses Ferment wurde Ende des 19. Jahrhunderts unter dem Namen Invertin bekannt, wobei Michaelis und Menten dessen Enzymkinetik untersuchten [72].

Anwendung heute findet die Hefeinvertase in der Süßwarenindustrie und ist als Zusatzstoff E 1103 deklariert. Sie dient als Weichhalter und Feuchthaltemittel in Süßwaren, da die Spaltung der Saccharose in den Invertzucker das Auskristallisieren verhindert und Fructose hygroskopisch wirkt [73].

In dieser Arbeit wurden Invertasen aus *Sacchromyces cervisiae* verwendet, die als funktionelle Oberflächen auf unterschiedliche Template aufgebracht wurden.

### 2.6.2. Hydrogenasen

Hydrogenasen sind Enzyme, die Wasserstoff reversibel oxidieren und Protonen reduzieren können. Man kann sie aufgrund ihres aktiven Zentrums in drei Hauptklassen einteilen. Diese [Fe]-, [NiFe]- und [FeFe]-Zentren, die nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip reagieren, sind für den Stoffwechsel von Bakterien, Archaeen und teilweise auch für Eukaryoten essentiell. Es sind redoxaktive Enzyme [74].

In Verbindung mit Sauerstoff werden sie inaktiv, da sie an Luft schnell oxidieren. Der Sauerstoff bindet sich an das Eisenatom im aktiven Zentrum und verhindert somit, dass das Eisenatom „frei“ ist für weitere Reaktionen. Es wird sozusagen im aktiven Zentrum geblockt und die Hydrogenase wird irreversibel zerstört [75]. Die Experimente wurden mit [NiFe]-Hydrogenasen durchgeführt und werden hier weiter beschrieben. [NiFe]-Hydrogenasen sind oft an der Membran gebunden und wichtig bei der Atmung, um Wasserstoff zu oxidieren, wobei Stoffe, wie Nitrate oder Sulfate als (milde) Oxidanten dienen. Die [NiFe]-

Hydrogenasen sind die Häufigsten ihrer Art. Sie bestehen aus zwei Untereinheiten, einer kleinen und großen. Das katalytische [NiFe]-Zentrum befindet sich in der großen Untereinheit, der Elektronenaustausch zum und vom [NiFe]-Zentrum sitzt in der kleinen Untereinheit, die aus mindestens einem [4Fe-4S] Zentrum besteht [75-77].

### 2.7. Elektrochemie

Die Elektrochemie beschäftigt sich mit Elektronenaustauschprozessen. Sobald eine Elektrode auf ein gewisses Potential gesetzt wird, entsteht im angrenzenden Elektrolyten eine sog. elektrische Doppelschicht. Diese elektrische Doppelschicht ist eine Grenzfläche, an der die Ladungen in der Umgebung der Elektrode und des Elektrolyten schichtweise entgegengesetzt sind, wie bei einem Kondensator.

Das Modell der Doppelschicht nach Helmholtz beruht darauf, dass sich die Ionen in Lösung aufgrund ihrer entgegengesetzter Ladung an der Elektrode ausrichten. Die Solvathülle der Moleküle sorgt für einen gewissen Abstand (0,1-10 nm in Lösung), den sie gegenüber der Elektrode einhalten. Die äußere Helmholtz-Schicht bezeichnet die solvatisierten Ionen in der Lösung. Das elektrische Feld, welches durch die Oberflächenladung verursacht wird, ist auf die Breite einiger Moleküllagen beschränkt [78].

Bei dem Gouy-Chapman-Modell wird die thermische Bewegung der Ionen, nicht wie im vorigen Modell die starre Anordnung der Ladung, berücksichtigt. Es führt somit zu einer diffusen Doppelschicht, die über mehrere Moleküllagen ausgedehnt ist. Auch hier treten entgegengesetzt geladene Ionen aufgrund der Coulomb-Anziehung vermehrt an der Elektrode auf, wobei gleich geladene Ionen abgestoßen werden. Diese lokale Abweichung der Konzentration führt dazu, dass man elektrochemische Messungen mit einem Hilfselektrolyten (Salz in größerer Konzentration) durchführt, der diese Änderungen auffängt.

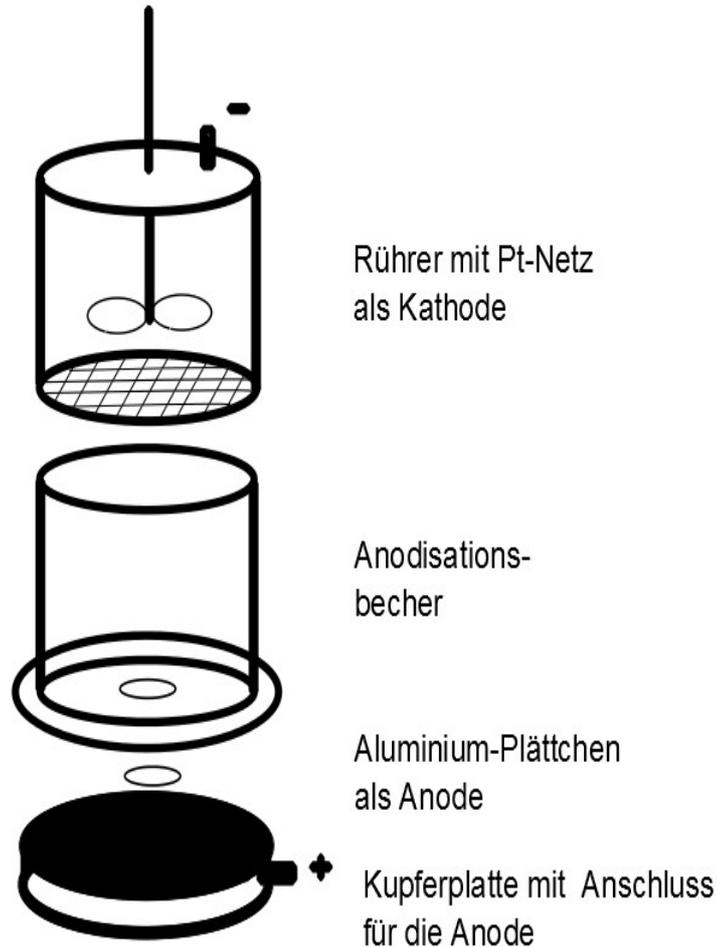
Das Stern-Modell berücksichtigt beide bisher vorgestellten Modelle. In der Nähe der Elektrode kommt es zur eher starren Ausrichtung der Ionen, also der Helmholtz-Schicht und in der Entfernung zur Elektrode kommt es zur Ausbildung der diffusen Gouy-Chapman-Doppelschicht. Das elektrische Potential wird durch die elektrische Doppelschicht in der Nähe der Elektrode beeinflusst und verändert sich mit größerem Abstand zur Elektrode. Das Auf- und Entladen dieser Doppelschicht verursacht einen Strom, der zusätzlich zum galvanischen Strom fließt und oft unerwünscht ist [79].

Elektroden sind Elektronenleiter, die meistens aus einem Metall oder aus Graphit bestehen. In dieser Arbeit wurden die Versuche mit einem Pt-Draht, einer Glaskohlenstoffelektrode (GCE; engl.: *Glassy Carbon Electrode*) oder einer selbst entwickelten Arbeitselektrode, auf die später (Kapitel 4) noch eingegangen wird, durchgeführt. Der typische Messauf-

bau besteht aus einem Dreielektrodensystem [78], einer Arbeitselektrode, einer Gegenelektrode und einer Referenzelektrode (eine Silber/Silberchlorid-Elektrode), die stromlos bleiben sollte.

An der Arbeitselektrodenoberfläche finden die zu untersuchenden Redoxreaktionen statt, daher sollte die Arbeitselektrode chemisch inert sein. Die Referenzelektrode ist eine Elektrode mit einem konstanten Gleichgewichtspotential, das sich schnell und reproduzierbar einstellt. Sie dient als Bezugspunkt der Messungen anderer Elektroden. An der Gegenelektrode (meist einfach ein Pt-Netz oder ein Pt-Draht) laufen Reaktionen ab, die genau den gleichen Anteil am gemessenen Stromfluss haben, wie die Reaktionen an der Arbeitselektrode. Wenn beispielsweise ein Metallion an der Arbeitselektrode reduziert wird, dann muss an der Gegenelektrode etwas oxidiert werden. Der Strom fließt zwischen Gegen- und Arbeitselektrode, das Potential wird zwischen der Arbeits- und der Referenzelektrode gemessen. Wenn es an der Gegenelektrode keine Reaktionen gäbe, würde auch kein Strom fließen.

### 2.7.1. Elektrochemische Zelle



**Abbildung 6:** schematischer Aufbau zur Anodisation

Mit dem in Abb. 6 dargestellten Aufbau wird die elektrochemische Oxidation des Aluminiums durchgeführt, um die AAO-Membranen herzustellen. Das Aluminium selbst ist dabei als Anode geschaltet und ein Pt-Netz dient als Kathode. Mit einem etwas abgewandelten Aufbau (+ und - vertauscht) wird auch das Gold auf der selbst hergestellten Arbeitselektrode abgeschieden und die Chronocoulometrie-Messungen werden teilweise so durchgeführt.

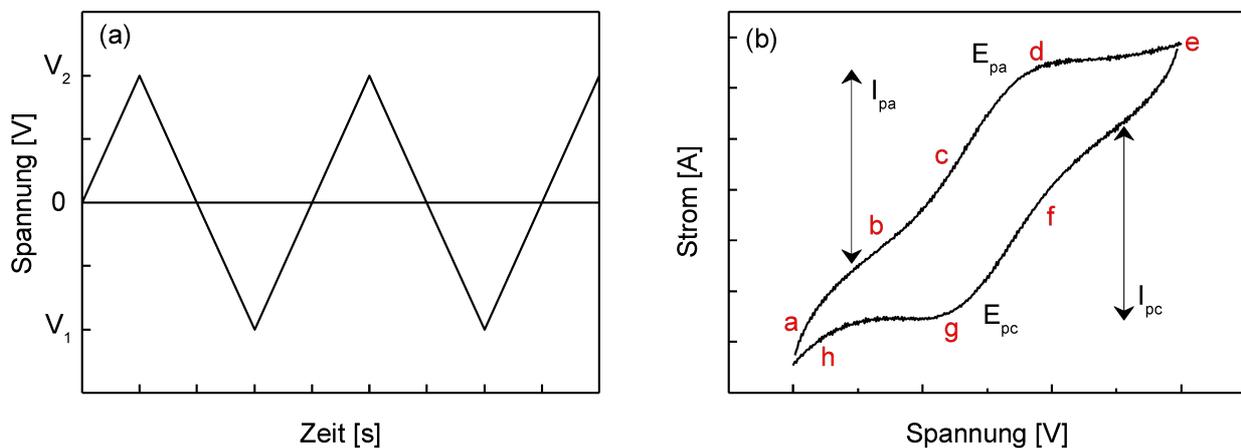
Oft wurde statt dem isolierten Rührer mit integriertem Pt-Netz ein einfacheres Modell benutzt. Dieses war nur ein Pt-Netz mit dazugehörigem Stromanschluss und einer Ag/AgCl-Referenzelektrode.

## 2.7.2. Cyclische Voltammetrie (CV)

Die Cyclovoltammetrie dient nicht nur zu analytischen Zwecken, sondern kann auch Informationen über den Reaktionsmechanismus liefern. Das Verfahren dient hauptsächlich zur Gewinnung neuer Erkenntnisse über reversible Elektrodenprozesse und deren Kinetik [80,81]. Die Redoxprozesse einer Reaktion können durch cyclische Voltammetrie schnell untersucht werden. Man erhält Informationen durch die Lokalisierung der Redoxpotentiale. Der Einfluss von unterschiedlichen Elektrolytlösungen spiegelt sich in einem CV wider, so wie in der Anzahl, der Form und der Lage der Peaks, die für die Anzahl der ausgetauschten Elektronen relevant ist [82].

Bei dem Experiment geht man von einem bestimmten Startpotential  $V_1$  aus, welches zuerst linear bis zu einem zweiten gesetzten Potentialmaximum  $V_2$  ansteigt und dann zeitlich wieder zurückfällt. Dies passiert mit der Vorschubgeschwindigkeit  $v$ . Das Anregungssignal ist also dreieckförmig.

Bei einer einfach reversiblen Reaktion bedeutet das, dass man zwei Peaks im CV erkennen kann. Der erste befindet sich auf dem Hinweg und ist der Reduktionspeak der untersuchten Spezies, auf dem Rücklauf befindet sich der Oxidationspeak, wobei die Arbeitselektrode als Anode fungiert. Es kann auch der umgekehrte Fall eintreten, deshalb ist es wichtig zu wissen, in welche Richtung das Potential gefahren wird.



**Abbildung 7:** (a) Eingangssignal und (b) Ausgangssignal bei einer CV-Messung

Im Bereich a wird ein bestimmtes Startpotential  $V_1$  angelegt, wobei kein Strom fließt. Dieser Zustand wird auch „open circuit potential“ genannt. Die zu untersuchende elektroaktive Spezies wird an dieser Stelle weder oxidiert noch reduziert. Wird die Spannung schnell erhöht (siehe Punkt b), kommt es zu einem Stromfluss. Die Moleküle beginnen an der Elek-

trode zu oxidieren. Bei Punkt c liegt ein Gleichgewicht von oxidierten und gleicher Menge reduzierten Molekülen vor, hier ist die Hälfte des Maximalstroms erreicht. Am Peak (Punkt d) ist die Konzentration der oxidierten Spezies am höchsten, somit auch das Maximum des Stroms (Grenzstrom) erreicht. Anschließend fällt die Konzentration der Moleküle weiter ab und man gelangt zu Punkt e, dem Umkehrpunkt. An diesem Punkt beginnt die Rückreaktion, dabei wird die Spannung wieder auf das Ursprungspotential  $V_1$  gesetzt. Die Oxidation ist vollständig beendet. Bei niedrigeren Spannungen wird im Bereich f die oxidierte Spezies wieder reduziert. Der maximale Grenzstrom in Punkt g deutet auf eine hohe Konzentration hin. Im Bereich h ist die Reduktion beendet und es herrschen Anfangsbedingungen. Dies veranschaulicht auch das dreieckige Eingangssignal (siehe Abbildung 7(a)).

Die Verwendung eines Leitelektrolyten ist wichtig für eine gewisse Grundleitfähigkeit der Lösung und auch um Migrationsströme der Lösung auszuschließen. Die Verbindungen der Leitsalze sollten redox-inert sein und keine Koordinationszüge aufweisen. Die Konzentration der zu untersuchenden elektroaktiven Spezies sollte 100 bis 1000 fach kleiner sein als die des Leitelektrolyten.

Bei der cyclischen Voltammetrie handelt es sich um einen diffusionskontrollierten Prozess. Es kommt zuerst eine Entladung der elektroaktiven Spezies zustande, die sich in der Nähe der Arbeitselektrodenoberfläche befindet und somit als Helmholtz-Schicht betrachtet werden kann. Wenn diese Spezies elektrochemisch umgesetzt wird, werden neue Reaktanden durch Diffusion aus der Lösung zur Oberfläche transportiert und der Strom wird durch den Diffusionskoeffizienten  $D$  der Spezies bestimmt.

Wenn eine elektrochemische Reaktion perfekt reversibel ist, werden theoretisch die folgenden Eigenschaften erreicht:

- Bei reversiblen Ladungstransfer einer Redoxreaktion und unter Standardbedingungen kann die Differenz der Peaks durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$\Delta E = E_{pa} - E_{pc} = 59/n \text{ [mV]} \quad (4)$$

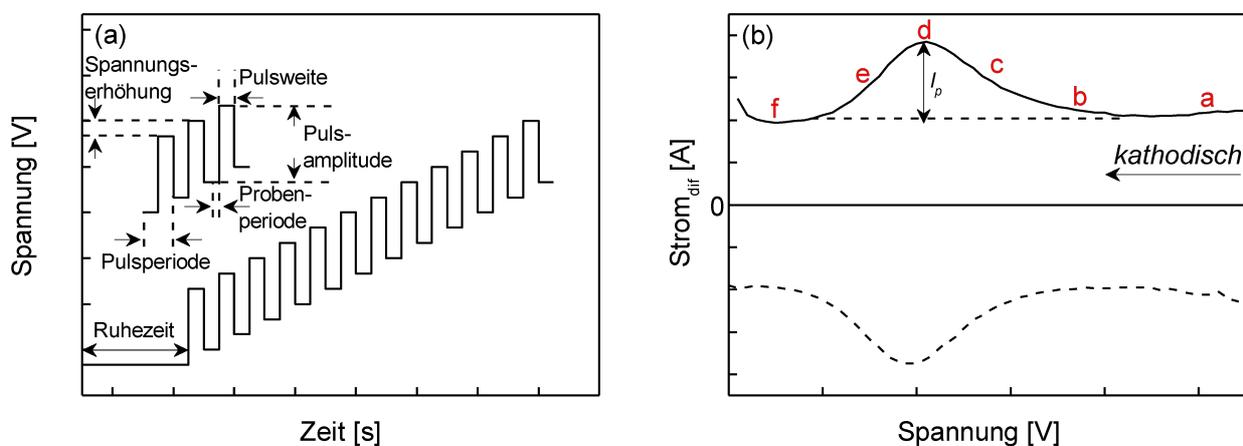
Die Anzahl der ausgetauschten Elektronen  $n$  ist maßgebend bei der Peakseparation und beträgt für eine Einelektronenreaktion 59 mV.

- Das Verhältnis der kathodischen bzw. anodischen Spitzenströme  $I_{pc}$  und  $I_{pa}$  beträgt eins.
- $I \propto \nu^{1/2}$ , wobei  $I$  für einen Spitzenstromwert steht und  $\nu$  für die Vorschubgeschwindigkeit.

In der Realität weichen die Werte von  $I$ ,  $\Delta E$  allerdings von den Idealwerten ab, meistens sind sie höher [83].

### 2.7.3. Differentielle Puls-Voltammetrie (DPV)

Das Verfahren der differentiellen Puls-Voltammetrie dient zur elektrochemischen Spurenanalyse und gehört zu den leistungsfähigsten Pulstechniken der Elektrochemie [84]. Das Eingangssignal besteht aus kleinen Rechteckpotentialen mit konstanter Pulsamplitude, die linear bzw. stufenförmig einer ansteigenden Spannung ausgesetzt sind.



**Abbildung 8:** (a) Eingangssignal und (b) Ausgangssignal vor und zurück gemessen bei einer DPV-Messung

Der Strom wird bei jeder Stufe, einmal vor dem Puls und einmal danach, aufgenommen und die Differenz wird gegen das Potential aufgetragen.

Im Bereich a wird das Startpotential  $V_1$  gesetzt und es gibt keinen Strom, somit findet keine Reaktion an der Elektrode statt. Bei b wird die Elektrode höheren Spannungen ausgesetzt. Gelangt man zu noch positiveren Spannungen, wie es im Bereich c ist, erreicht man einen genügend starken Oxidanten, um die Moleküle zu oxidieren. Bei d fällt an der Elektrodenoberfläche die Konzentration der zu oxidierenden Spezies so schnell, wie der anodische Strom steigt. Man kann sagen, dass an Punkt d die kleinste Konzentration der Moleküle vorliegt aufgrund des hohen Stroms am Peakmaximum. Im Bereich e wird der Strom wieder geringer. In der Nähe der Elektrode gibt es überwiegend oxidierte Moleküle. Im Bereich f ist die vollständige Oxidation gewährleistet.

Der störende Ladestrom wird durch diese Auftragung herausgefiltert, weil er schneller abklingt als der galvanische Strom. Der Faradaysche Strom wird durch einen Rechteckpuls verursacht, der mit  $1/\sqrt{t}$  abnimmt, wobei  $t$  die Zeit ist. Der kapazitive Stromanteil bzw.

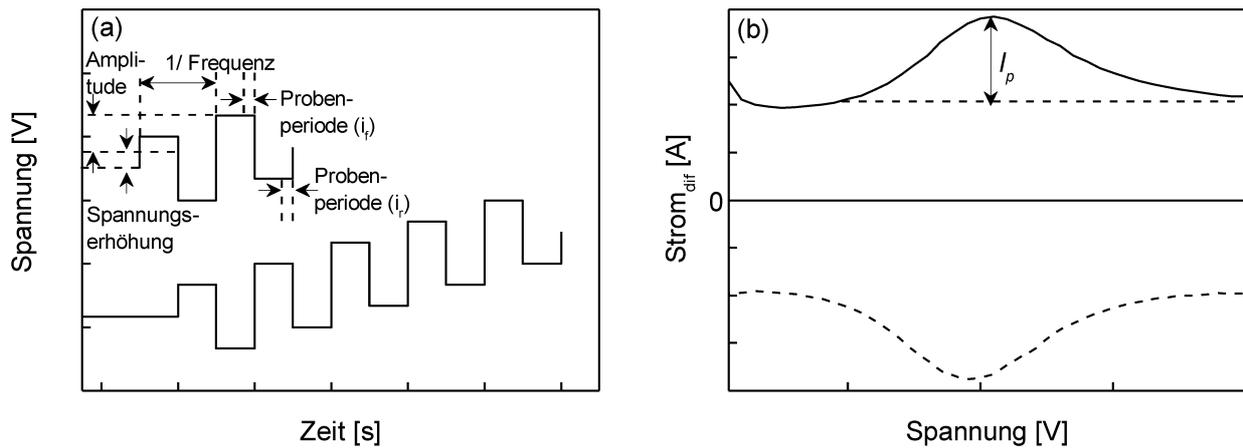
Hintergrundstrom fällt in dieser Zeit exponentiell ab, somit kommt es zum differentiellen Pulsvoltammogramm. Wenn keine Elektrodenreaktion abläuft, ist die Differenz gleich null, bei einer Reaktion ist die Differenz somit am größten und es kommt zu peakförmigen Signalen im Voltammogramm. Für die Auswertung benötigt man die Peakhöhe bzw. die Peakstromstärke  $I_p$ , die linear von der Konzentration  $c$  des Analyten abhängt [82].

$$I_p = \frac{N_A A F_k c \sqrt{D}}{\pi t_p \cdot (1-\sigma)/(1+\sigma)}, \text{ mit } \sigma = \exp\left(\frac{N_A F_k \cdot \Delta E_A}{2 R T}\right) \quad (5)$$

Besonders für geringe Konzentrationen ist dieses Verfahren geeignet, da der Detektionsbereich 1-2 Größenordnungen geringer ist als bei der cyclischen Voltammetrie [83].

#### 2.7.4. Square Wave Voltammetrie (SWV)

Die Square Wave Voltammetrie gehört wie auch die DPV zu den Pulstechniken der Elektrochemie und funktioniert ähnlich. Dieses Verfahren wurde von Barker entwickelt und später von Osteryoung weiterentwickelt [85,86]. Ein großer Vorteil der Square Wave Voltammetrie ist die schnell erfolgende Analyse, die mit großer Vorschubgeschwindigkeit  $v$  und einer hohen Pulsfrequenz vonstatten geht. Daher ist dieses Verfahren besonders für schnelle reversible Prozesse geeignet. Innerhalb von Sekunden kann ein solches Voltammogramm aufgenommen werden; daher ist die Elektrodenoberfläche nur kurze Zeit der elektroaktiven Spezies ausgesetzt. Störreaktionen werden durch die kurze Messzeit unterdrückt. Vor allem findet die Square Wave Voltammetrie in der Fließinjektionsanalyse (FIA) und in der Durchflussmesstechnik Anwendung [81].



**Abbildung 9:** (a) Eingangssignal (b) Ausgangssignal vor ( $i_f$ ) und zurück ( $i_r$ ) gemessen bei einer SWV-Messung

Hierbei besteht das Eingangssignal aus rechteckigen, stufenförmigen Wechselspannungspulsen mit gleicher Amplitude. Der Strom kann am positiven wie auch am negativen Puls vermessen werden. Im Voltammogramm sieht man somit die Rückreaktion des Vorwärtspulses. Um den kapazitiven Stromanteil zu unterdrücken werden die Werte am Ende des Vorwärts- und Rückwärtspulses gemessen. Der Peakstrom  $I_p$  wird bei der SWV wie folgt definiert:

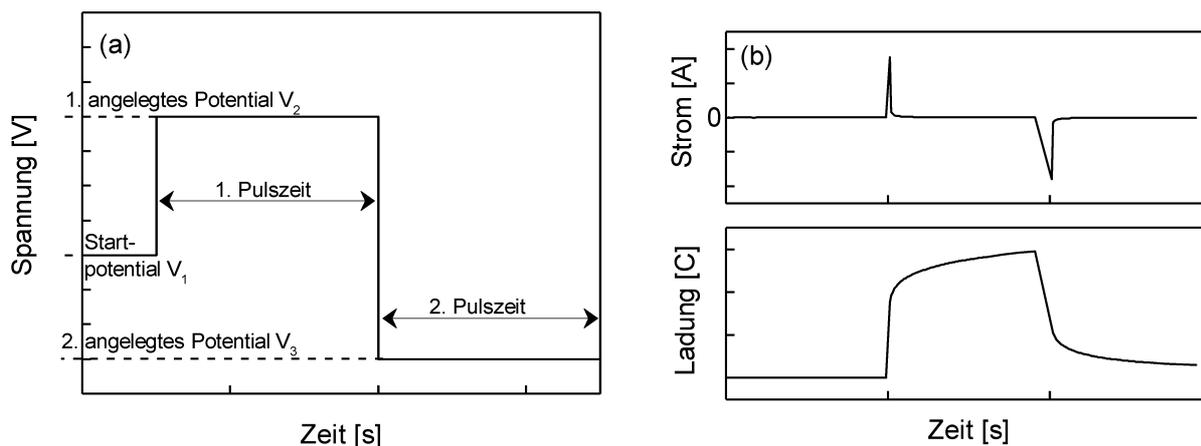
$$I_p = k n^2 \sqrt{D} \cdot \Delta E_A \cdot c \quad (6)$$

Durch die Differenzbildung bekommt man wie im DPV peakförmige Signale, die drei- bis viermal höher sind als bei DPV-Messungen. Diese hohen Werte kommen dadurch zustande, dass der Strom nach der Differenzbildung höher ist als der Stromanteil des Vorwärts- und Rückwärtspulses selbst [82].

### 2.7.5. Chronocoulometrie (CC)

Das Verfahren der Chronocoulometrie wird zur quantitativen Bestimmung der Stoffmenge der oxidierten oder reduzierten Verbindung benutzt. Hierbei wird die Tatsache ausgenutzt, dass die elektrische Ladung bzw. Elektrizitätsmenge nach dem Faraday'schen Gesetz proportional zur umgesetzten Ladung an der Arbeitselektrode ist [87].

Es wird zu Beginn von einem Anfangspotential  $V_1$  ausgegangen, welches dann auf einen Endwert  $V_2$  angehoben und für eine bestimmte Zeit konstant gehalten wird.



**Abbildung 10:** (a) Eingangssignal und (b) Ausgangssignal im Hinblick auf Strom und Ladung einer CC-Messung

Während dieser Zeitdauer, die Pulsweite genannt wird, wird der Strom, der durch die Substratmoleküle an der Arbeitselektrode fließt, gemessen und als Funktion (integrierter Form) der Ladung gegen die Zeit aufgetragen. Bei dem Rücklauf, wenn man den Endwert wieder auf das Startpotential setzt, spiegelt sich die Rückreaktion in der Zeit-Ladungskurve wieder [88].

Der Strom, der an der Arbeitselektrode gemessen wird, setzt sich zum einen aus dem kapazitiven Strom  $i_c$  zusammen. Dieser fließt kurz beim Sprung vom Startpotential auf das Endpotential, dabei wird die elektrische Doppelschicht aufgeladen. Wenn an der Arbeitselektrode elektroaktive Teilchen adsorbiert sind, werden sie umgesetzt und es fließt ein weiterer Strom  $i_{ads}$ . Im weiteren Verlauf fließt nur noch der diffusionskontrollierte Strom  $i_{diff}$ , der durch die Cottrell-Gleichung beschrieben werden kann [89].

$$i_{diff}(t) = n F_k \sqrt{\frac{D c_0}{\pi t}} \quad (7)$$

Vor allem wird das Verfahren der Chronocoulometrie eingesetzt, um den Diffusionskoeffizienten der elektroaktiven Spezies zu bestimmen, sowie Informationen über das Adsorptionsverhalten der untersuchten Substanz und über mögliche chemische Folgereaktionen zu erhalten [90].

## 2.8. Instrumentelle Methoden

### 2.8.1. UV-Vis-Spektroskopie

Bei der UV-Vis-Spektroskopie wird durch geeignete Lichtquellen, wie einer Deuterium- und Halogenlampe ein Wellenlängenbereich von 200 nm bis zu 1100 nm abgedeckt. Die zu untersuchenden Moleküle werden mit elektromagnetischen Wellen des ultravioletten (UV) und sichtbaren (Vis) Lichtes angestrahlt und regen die Valenzelektronen an, sich in ein höheres Energieniveau zu begeben. Die Energie des absorbierten Lichtes beträgt genau die Differenz der Energieniveaus, woraus die Wellenlänge des absorbierten Lichtes berechnet werden kann. Wenn die Energie der Übergänge im sichtbaren Bereich liegt, ist das Molekül farbig und man erhält eine Absorptionsbande (Peak) im sichtbaren Bereich [91].

Die zu untersuchende Lösung wird abzüglich einer Referenzlösung, meistens das Lösungsmittel, vermessen, wobei die Intensität gegen die Wellenlänge aufgetragen wird. Hierfür wird zuerst über einen Monochromator oder ein dispersives Element eine bestimmte Wellenlänge selektiert. Anschließend werden die Lichtstrahlen über Spiegel eingefangen und über einen Detektor im Verstärker ausgelesen.

### 2.8.2. Elektronen Paramagnetische Resonanz-Spektroskopie (EPR)

Bei dem EPR-Verfahren zeigen Moleküle oder andere chemische Spezies, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzen, ein Signal. Dieses Signal wird durch die ungepaarten Elektronen, die sich zwischen den Energieniveaus hin und her bewegen und dabei elektromagnetische Strahlung emittieren oder absorbieren, verursacht. Das EPR-Verfahren verläuft ähnlich wie der NMR-Prozess. Der Unterschied dieser beiden Verfahren ist, dass der Elektronenspin relevant ist und nicht der Spin im Atomkern. Paramagnetische Proben werden Mikrowellen mit einer bestimmten Frequenz ausgesetzt und auf tiefe Temperaturen gebracht, um sie dort zu vermessen [92].

### 2.8.3. Spektroskopische Ellipsometrie

Die spektroskopische Ellipsometrie ist ein schnelles, zerstörungsfreies Messprinzip zur Bestimmung der Dicke von transparenten Schichtsystemen und deren dielektrischen Materialeigenschaften. Sie eignet sich darum hervorragend zur Untersuchung von mechanisch empfindlichen Dünnschichten. Die Methode beruht darauf, dass sich der Polarisationszustand des Lichts unter Reflexion an einem Schichtsystem für dieses charakteristisch mit der verwendeten Wellenlänge ändert. Die Analyse der aufgezeichneten Spektren der ellipsometrischen Größen  $\Psi$  ( $\Psi$ ) und  $\Delta$  ( $\Delta$ ) erfolgt durch computergestützte Simulati-

on ihres theoretischen Verlaufes. Psi ( $\Psi$ ) beschreibt das Amplitudenverhältnis und Delta ( $\Delta$ ) die Phasendifferenz, zusammen mit den Fresnel-Reflektionskoeffizienten  $R_p$  und  $R_s$  ergibt sich folgender mathematischer Zusammenhang [93].

$$\tan \Psi e^{i\Delta} = \frac{R_p}{R_s} \quad (8)$$

Durch ein mathematisches Modell, welches die Wechselwirkungen zwischen dem Licht und der Probenoberfläche beschreibt, kann die Schichtdicke basierend auf der Position und Anzahl der Oszillationen dargestellt werden (siehe auch Kapitel 3.2.1.1 und 5.3.1).

Die Parameter des hierbei zugrunde liegenden optischen Modells (komplexe Brechungsindizes  $N/\lambda = n + i \cdot k$  der Einzelschichten und deren Dicke  $d$ ) werden innerhalb einer Fitprozedur so lange variiert, bis die beste Übereinstimmung zwischen Messung und Simulation erzielt wird. Die Ortsauflösung ist durch die Spotgröße des auf die Probe eingestrahlten Lichtes gegeben (SENpro: Spotgröße  $\varnothing = 2$  mm). Durch die schnelle Messung ermöglicht dieses Verfahren, die Homogenität der Schichtsysteme innerhalb der gesamten Probenfläche beurteilen zu können.

### **2.8.4. Röntgenreflektometrie (XRR; engl.: *X-Ray Reflectivity*)**

Röntgenreflektometrie ist vor allem für die Untersuchung von Oberflächen, Dünnschichten und Mehrschichten geeignet. Diese Methode, ähnlich wie bei der Ellipsometrie macht sich zu nutze, dass Strahlen, hier Röntgenstrahlen, in einem flachen Einfallswinkel auf die homogene flache Probe auftreffen und anschließend reflektiert und detektiert werden [94].

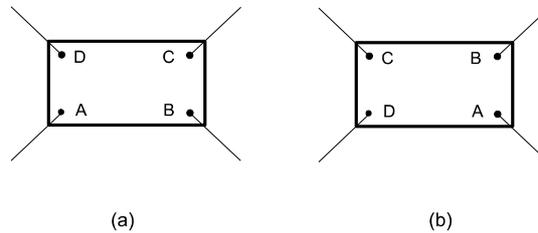
### **2.8.5. Röntgendiffraktion (XRD; engl.: *X-Ray Diffraction*)**

Hierbei wird, wie der Name schon sagt, die Beugung der Röntgenstrahlen an geordneten Strukturen oder am Kristall ausgenutzt, um aus dem Beugungsmuster die Kristallstruktur zu errechnen [78].

### **2.8.6. Messmethode des elektrischen Widerstandes nach *van der Pauw* [95,96]**

Bei diesem Messprinzip kann die Probenform beliebig sein, allerdings sollte die zu vermessene Schicht eine konstante Dicke aufweisen, also homogen und ohne Löcher sein.

Die Kontakte der vier (A-D) Messspitzen sollten möglichst klein sein und am äußeren Rand befestigt werden (siehe Abbildung 11).



**Abbildung 11:** (a) Schematische Darstellung einer van der Pauw Messung vor und (b) nach zyklischer Vertauschung

Zwischen den Punkten A und B wird ein Strom (hier: 100  $\mu\text{A}$ ) eingestellt und die anfallende Spannung bei den Punkten C und D wird gemessen. Anschließend wird der Widerstand von B und C nach zyklischer Vertauschung gleichermaßen gemessen.

$$\begin{aligned} R_{AB,CD} &= \frac{U_{CD}}{I_{AB}} = \frac{U_1}{I_1} \\ R_{DA,BC} &= \frac{U_{DA}}{I_{BC}} = \frac{U_2}{I_2} \end{aligned} \quad (9)$$

Aus dem Widerstand und der bekannten Schichtdicke kann der spezifische Widerstand ermittelt werden. Aufgrund der Tatsache, dass es sich um eine beliebige Form handelt, muss ein Korrekturfaktor  $f$  mit in die Formel einfließen, der aus einer Auftragung Korrekturfaktor gegen den Quotient des Widerstands  $R_{AB,CD}/R_{BC,DA}$  abgelesen werden kann.

$$P = \frac{\pi d}{\ln 2} \cdot \frac{R_{AB,CD} + R_{BC,DA}}{2} \cdot f\left(\frac{R_{AB,CD}}{R_{BC,DA}}\right) \quad [\Omega\text{m}] \quad (10)$$

Für den Flächenwiderstand  $P$  wird der Wert nochmal durch die Schichtdicke  $d$  geteilt. So erhält man als Einheit  $[\Omega/\text{sq}]$ .

### 2.8.7. Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird ein fein gebündelter Elektronenstrahl über die Probenoberfläche gerastert und die dabei direkt zurück gestreuten Elektronen oder die durch den Elektrodenbeschuss verursachten Sekundärelektronen werden detektiert. So

erhält man ein Abbild der Probenoberfläche mit großer Tiefenschärfe. Die Proben sollten leitend, wasserfrei und vakuumbeständig sein [97].

### **2.8.8. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)**

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie kann man Rückschlüsse auf die Struktur der Proben und die chemische Zusammensetzung ziehen, dadurch, dass der Elektronenstrahl durch die Probe hindurch dringt. Die beschleunigten Elektronen aus einer Kathode werden hierbei durch ein Kondensorenliniensystem auf die Probenoberfläche gleichzeitig bestrahlt. Bei Proben mit einer Dicke von einigen 100 nm oder kleinerer Natur können diese durchstrahlt werden. Die Objektivlinse ist für ein leicht vergrößertes Zwischenbild verantwortlich, welches von den nachfolgenden Linsen, wie z.B. der Beugungs-, Zwischen- und Projektivlinse weiter vergrößert wird und auf einen Leuchtschirm projiziert wird. Für so eine Abbildung ist die elastische Streuung der Elektronen wichtig. Hierbei werden die Elektronen durch einen positiv geladenen Kern abgelenkt, verlieren aber nicht an Energie. Diese elastisch gestreuten Elektronen können auch als Primärelektronen bezeichnet werden. Sie werden durch eine magnetische Spule (Objektivlinse) geleitet und man erhält das fluoreszierende Abbild der Probe [98].

### **2.8.9. Kapillareffekte: Hydrophobie/Hydrophilie**

Hier wird das Verhalten an einer Grenzfläche zwischen einer Flüssigkeit (Wasser) und einem festen Körper (Membran) näher beobachtet. Hierbei spielt der Kontaktwinkel zwischen dem Flüssigkeitstropfen und der Oberfläche des Feststoffes, sowie der Oberflächenspannung eine große Rolle [79].

### **2.8.10. Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)**

Das Prinzip bei der Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) beruht auf einer Absorption von Strahlung aufgrund von Wechselwirkungen mit freien Atomen. Eine Atomisierungseinheit im Strahlengang zerlegt die zu untersuchende Substanz oder Lösung in ihre anregbaren Atome, die dann die Intensität des Lichtstrahls beeinflussen [99]. Diese Schwächung des emittierten Lichtes wird detektiert und kann dann mithilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ausgewertet werden, allerdings gilt dies nur für besonders geringe Konzentrationen. Es wird eine Kalibrationsgerade mit bekannten Konzentrationen erstellt und anschließend wird die Probe mit unbekannter Konzentration vermessen und durch lineare Regression ausgewertet.

### **2.8.11. Rasterkraftmikroskopie (AFM; Atomic Force Microscope)**

Bei Untersuchungen mittels der Rasterkraftmikroskopie (AFM; engl.: *Atomic Force Microscope*) wird die Oberfläche mechanisch mit einem Cantilever im Nanometerbereich abgetastet. Der Cantilever ist eine dünne Messnadel bestehend aus Silicium oder aus dem besonders hartem Siliziumnitrid, welches dann noch je nach Messfunktion mit leitenden Substanzen besputtert werden kann. Durch die Morphologie wird positionsabhängig die Spitze unterschiedlich stark ausgelenkt und man erhält durch optische Sensoren ein Höhenprofil [100,101].



### 3. Redoxaktivität an Grenzflächen: Moleküle als funktionelle Oberfläche an flachen Substraten

In diesem Kapitel wird gezeigt, wie eine Methode zur Funktionalisierung von Oberflächen mit redoxaktiven Molekülen etabliert wird und wie die Redoxreaktivität nach der Chemisorption erhalten bleibt. Dieses Anbinden der Moleküle erfolgt zunächst am flachen Substrat und später an nanostrukturierter Oberfläche. Dies soll einen Vergleich schaffen und die Oberflächenvergrößerung der strukturierten Template verdeutlichen. Die physikalischen Eigenschaften dieser Moleküle können so leicht geändert werden, wie z.B. die Farbe, die Hydrophobie oder Hydrophilie, sowie die magnetischen Eigenschaften. Dieses Verhalten der Moleküle soll auch hier näher untersucht werden. Die Änderung durch ein elektrisches Signal wird beispielhaft anhand von Ferrocenessigsäure (FAA; engl.: *Ferroceneacetic Acid*) beschrieben. FAA ist ein Derivat von Ferrocen (Fc), das in der Literatur schon sehr ausführlich beschrieben wurde (siehe Kapitel 2.3). Außerdem soll die Menge der geschalteten Moleküle quantifiziert werden.

#### 3.1. Charakterisierung der redoxaktiven Moleküle in Lösung: Fc vs. FAA

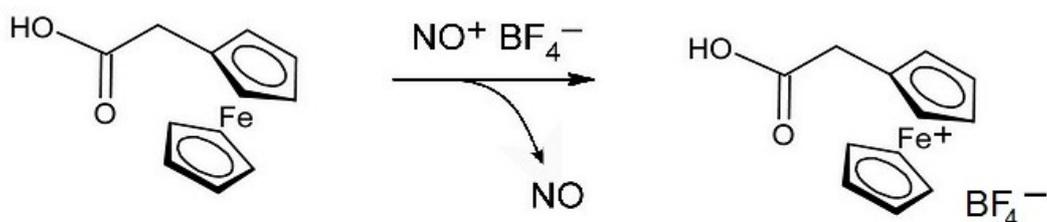


Abbildung 12: Oxidation von FAA durch  $\text{NOBF}_4$

Ferrocen und Ferrocenessigsäure werden in diesem Kapitel genauer betrachtet, um ihr Verhalten in Lösung genauer zu untersuchen und es anschließend auf die Funktionalisierung an feste Oberflächen zu übertragen. Da die Moleküle elektrochemisch geschaltet werden sollen, spielen die Untersuchungen zur Änderung des Oxidationszustands eine große Rolle. FAA wurde ausgewählt, da es mit seiner Carboxylgruppe gut an Oberflächen anbinden kann und die Redoxchemie von Ferrocen und seinen Derivaten bekannt ist [102]. Fc dient hier nur als Vergleich zu FAA und als Negativbeispiel für das Anbinden an

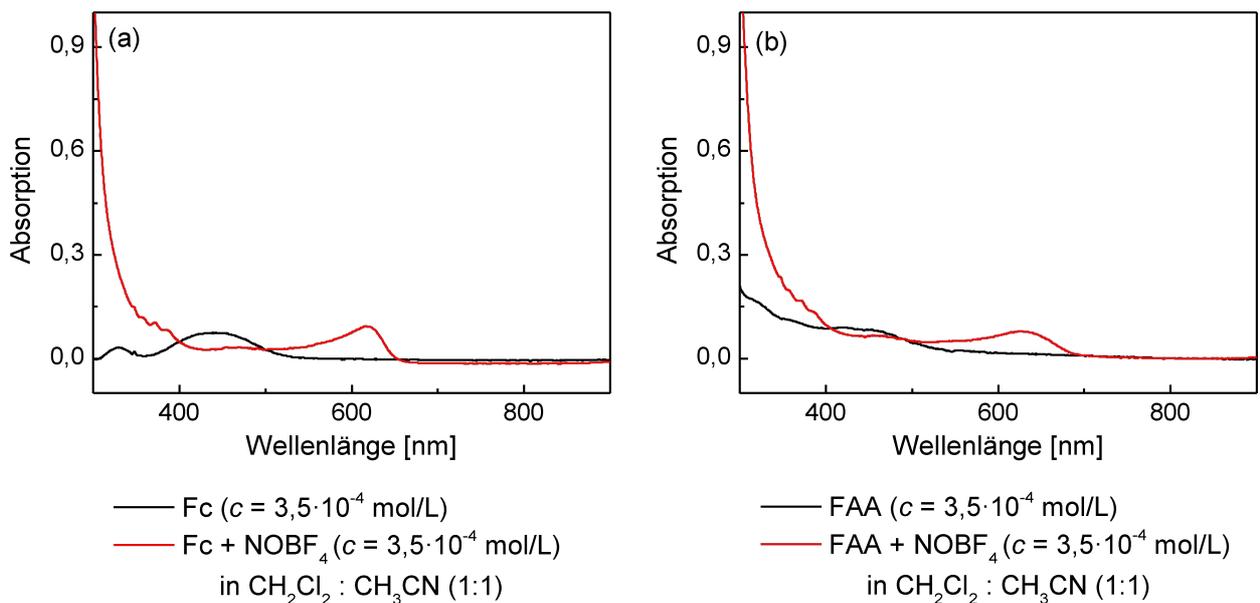
Oberflächen, da es keine funktionelle Gruppe besitzt. Somit wird der Einfluss der funktionellen Gruppe von FAA deutlich gemacht. FAA geht ebenso wie Fc eine reversible Redoxreaktion ein.

Zunächst wird das Schalten durch den chemischen, stöchiometrischen Oxidanten Nitrosiumtetrafluoroborat ( $\text{NOBF}_4$ ) hervorgerufen, um die Änderung des Oxidationszustands zu untersuchen (siehe Abbildung 12).  $\text{NOBF}_4$  ist besonders gut geeignet, da es farblos ist und als Nebenprodukt das Gas NO entsteht, was mit  $\text{N}_2$  verdrängt werden kann und somit in Messungen nicht stören kann [102]. Später wird das Schalten der Moleküle durch eine angelegte Spannung hervorgerufen. Durch die Oxidation der Moleküle treten neue Eigenschaften, wie Farbe, Magnetismus usw. des Moleküls hervor, die auf unterschiedliche Arten vermessen werden können. Im folgenden werden die für die weiteren Untersuchungen relevanten Eigenschaften von Fc und FAA ermittelt und verglichen.

#### 3.1.1. UV-Vis-Spektroskopie

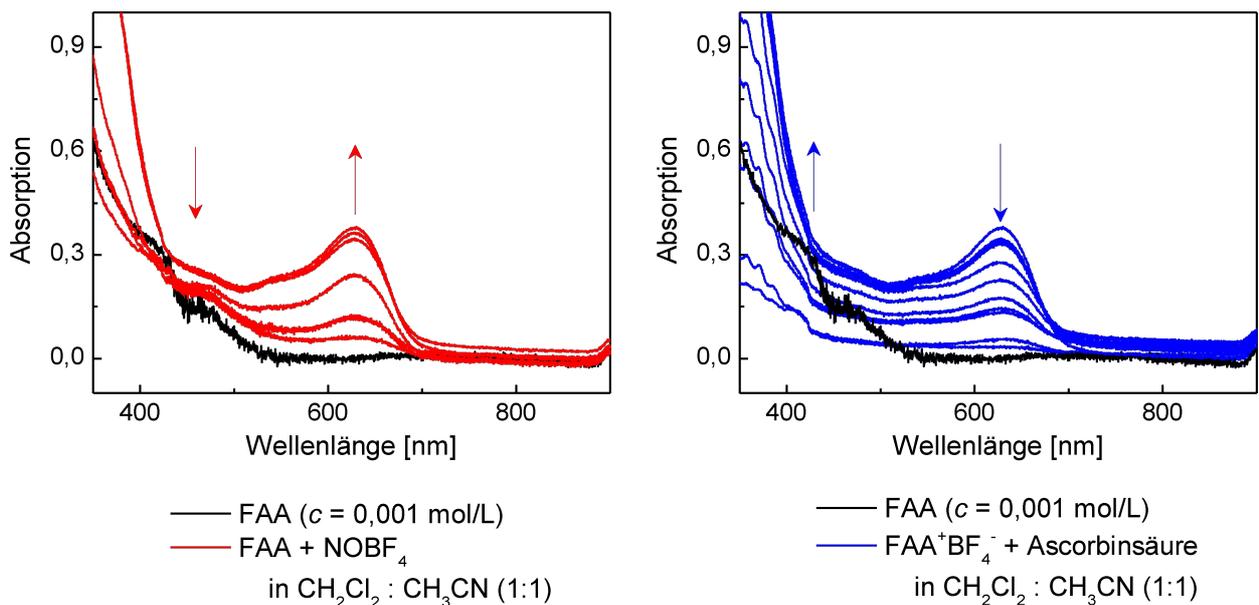
Fc und FAA werden je im Verhältnis 1:1 in einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) und Acetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) gelöst und anschließend mit einer Lösung aus  $\text{NOBF}_4$  versetzt, um das Oxidationsverhalten beider Moleküle vergleichen zu können. Die Farbe der Lösung der redoxaktiven Moleküle ändert sich von braun zu grün, nachdem die Moleküle oxidiert wurden. Dieses Verhalten wird mit Hilfe der UV-Vis-Spektroskopie quantifiziert.

In Abbildung 13 sieht man die Absorptionsspektren von Fc und FAA in Lösung, sowie ihr oxidiertes Zustand durch den chemischen Oxidanten  $\text{NOBF}_4$ . In Abbildung 13(a) erkennt man zwei Peaks im unteren Wellenlängenbereich (siehe Kapitel 2.3). Die besondere Stabilität der  $d_6$ -Konfiguration des Ferrocens wird durch die hohe Energie der Übergänge deutlich. Die  $\pi$ -Elektronen halten sich über den zwei  $\text{C}_5$ -Ringen delokalisiert auf. Außerdem wird deutlich, wie sich der Peak nach der Oxidation zu höheren Wellenlängen verschiebt, sowohl in Abbildung 13(a) als auch in 13(b). Das Absorptionsmaximum des oxidierten Fc's (13(a)) liegt bei 618 nm und im Fall der FAA bei etwa 630 nm. FAA weist ähnliche Merkmale auf, die Peaks sind allerdings aufgrund der verringerten Molekülsymmetrie breiter.



**Abbildung 13:** (a) Absorptionsspektrum von Ferrocen (schwarz) und oxidiert durch NOBF<sub>4</sub> (rot)  
 (b) Absorptionsspektrum von Ferrocenessigsäure (schwarz) und mit NOBF<sub>4</sub> oxidiertes FAA (rot)

In Abbildung 14(a) und (b) wird der Verlauf der chemischen Oxidation und nachfolgender Reduktion von FAA gezeigt. Es wird eine FAA-Lösung ( $c = 0,001$  mol/L) durch eine NOBF<sub>4</sub>-Lösung ( $c = 0,01$  mol/L) erst oxidiert und anschließend durch eine Ascorbinsäurelösung ( $c = 0,01$  mol/L) reduziert. Ascorbinsäure (Vitamin C) ist ein wasserlösliches Reduktionsmittel und wird zu (Semi-)Dehydroascorbinsäure oxidiert [103]. Dadurch wird die Reversibilität der Reaktion dargestellt. Als Lösungsmittel wird im Verhältnis 1:1 Dichlormethan und Acetonitril verwendet. Dieses Verhältnis der Oxidation und Reduktion der Ferrocenessigsäure wird auszugsweise in den Abbildungen 14(a) und (b) dargestellt.



**Abbildung 14:** (a) Oxidation von FAA durch  $\text{NOBF}_4$ , (b) Reduktion von FAA durch Ascorbinsäure

Die Absorptionsbanden der oxidierten und reduzierten FAA sind wichtig für die Übertragung der Funktionalisierung auf die nanostrukturierten Oberflächen.

In Abbildung 14(a) wird gezeigt, dass FAA im Absorptionsspektrum bei  $\sim 450 \text{ nm}$  eine flache Absorptionsbande (schwarz) besitzt, die nach der Oxidation verschwindet. Bei höheren Wellenlängen entsteht mit zunehmender Menge des Oxidanten ein Peak bei  $\sim 630 \text{ nm}$  (rot). Dieser Peak steigt durch den dazugegebenen Oxidanten im entsprechendem Molverhältnis an, dieser Trend wird durch die Pfeile in Abbildung 14 gekennzeichnet.

In Abbildung 14(b) wird die Reduktion mit Ascorbinsäure dargestellt. Der Peak bei  $\sim 630 \text{ nm}$  nimmt linear mit steigender Konzentration der Ascorbinsäure ab und bei  $\sim 450 \text{ nm}$  wieder zu, wobei der Peak nicht die vorherige Höhe erreicht. Dies liegt auch an der Verdünnung, die vorgenommen wurde.

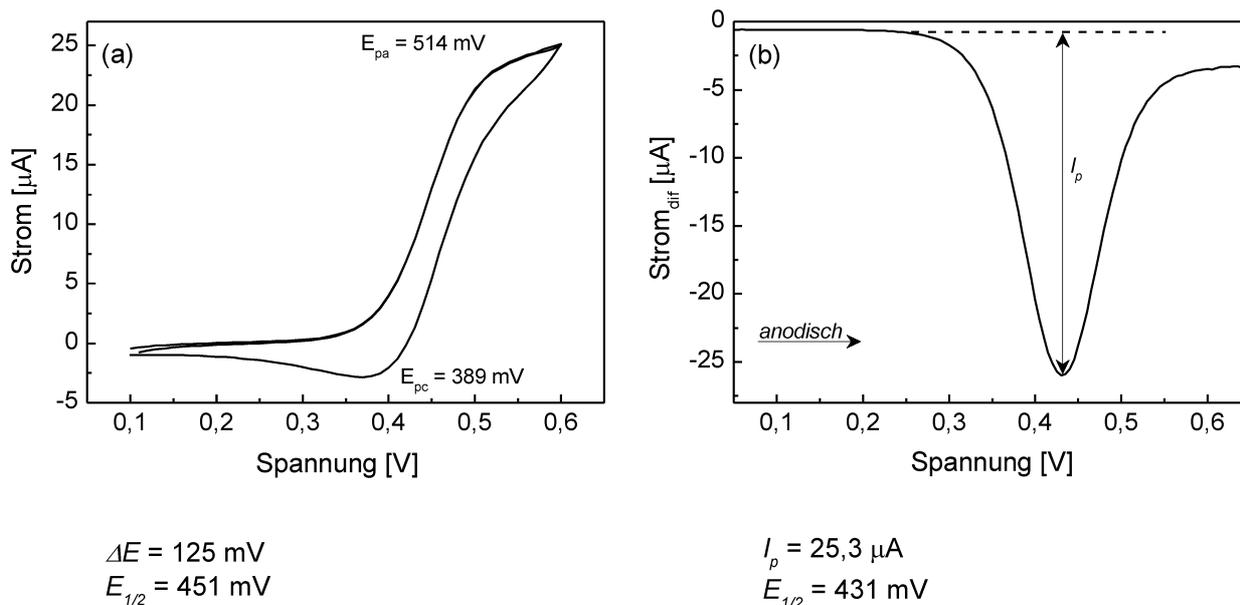
### 3.1.2. Änderung des Oxidationszustands: Elektrochemische Messungen CV vs. DPV

Die elektrochemischen Messungen spielen in dieser Arbeit eine besondere Rolle, da die redoxaktiven Moleküle, wie FAA später an der Oberfläche elektrochemisch geschaltet werden sollen. Die elektrochemischen Messungen in Lösung dienen zur Vorbereitung im Hinblick auf die Funktionalisierung der Oberflächen. Hierzu stellen sich folgende Fragen, die in diesem und im nächsten Kapitel geklärt werden sollen:

- Bei welchem Potential werden die Moleküle oxidiert und wann wieder reduziert?

- Wie verhält sich FAA auf der Oberfläche?
- Kommt es zu einer Verschiebung des Peaks, in Lösung und auf der Oberfläche?

Der Verlauf einer Oxidation wird anschaulich mithilfe der Messtechniken CV und DPV von Ferrocen und FAA in Lösung gegen einen Pt-Draht als Arbeitselektrode erläutert (siehe Abbildung 15).



**Abbildung 15:** (a) CV von Fc ( $c = 0,001 \text{ mol/L}$ ) mit  $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+\text{BF}_4^-$  in  $\text{CH}_3\text{CN}$  ( $c = 0,5 \text{ mol/L}$ ) mit Pt-Draht gegen Ag-Draht, Vorschubgeschwindigkeit  $50 \text{ mV/s}$ , Spannungserhöhung  $10 \text{ mV}$  und maximaler Strom von  $0,01 \text{ mA}$

(b) DPV von Fc ( $c = 0,001 \text{ mol/L}$ )  $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+\text{BF}_4^-$  in  $\text{CH}_3\text{CN}$  ( $c = 0,5 \text{ mol/L}$ ) mit Pt-Draht gegen Ag-Draht, Stufenerhöhung  $5 \text{ mV}$ , Spannungserhöhung  $50 \text{ mV}$ , maximaler Strom von  $0,01 \text{ mA}$  und Pulszeit von  $0,1 \text{ s}$

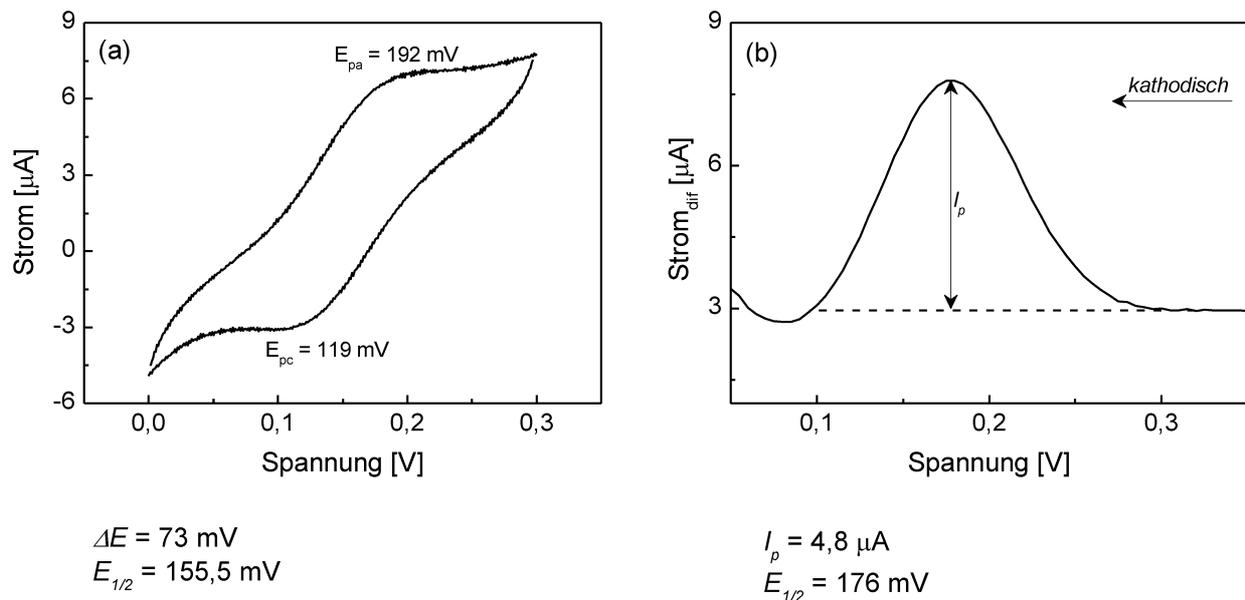
Im Abschnitt 2.7.2 wurde schon ausführlich über die CV-Technik berichtet. In Abbildung 15(a) ist ein CV von Ferrocen in Lösung dargestellt. Das anodische Peakmaximum ist in Abbildung 15(a) nicht sehr ausgeprägt, daher wird auch auf die DPV-Technik zurück gegriffen. In Abbildung 15(b) ist ein typisches DPV einer Fc-Lösung zu sehen. Die Elektrodenprozesse sind die gleichen, wie bei der CV-Technik. Für die Auswertung eines solchen DPV-Graphen ist der Strom  $I_p$  proportional zu der Konzentration der elektroaktiven Spezies.

Die Abläufe beider Messtechniken sind gleich. Allerdings ist im CV noch der Reduktionspeak auf dem Rückweg dargestellt, bei dem die Ferrocenium-Ionen zu Ferrocen reduziert werden. Das Eingangssignal beim CV ist wie schon erwähnt, dreieckförmig. Während beim DPV die Spannung stufenförmig gerastert wird, wobei der Strom einmal am Anfang

und am Ende jeder Stufe aufgenommen wird (siehe Kapitel 2.7). Diese Differenz spiegelt sich im DPV-Graph in der Ordinate wider. Das Halbzellenpotential  $E_{1/2}$  kann durch ein CV berechnet werden, in dem  $E_{pa}$  und  $E_{pc}$  addiert und durch 2 dividiert werden.

Die Abweichung beider Halbzellenpotentiale der unterschiedlichen Techniken liegt an der Pulshöhe der DPV-Technik.

In Abbildung 16 ist ebenfalls ein CV und DPV einer FAA-Lösung gezeigt. Hier soll nicht mehr auf die einzelnen Elektrodenschritte eingegangen werden, diese wurden in den Abschnitten 2.7.2 und 2.7.3 genauer beschrieben. Die Peakmaxima sind hier um etwa 300 mV zu niedrigeren Spannungen verschoben. Diese Abweichung ist auf das Lösungsmittel und den elektrostatischen Effekt durch die geladene Carboxylatgruppe des FAA-Moleküls zurückzuführen [104,105]. Auch hier weichen die Halbzellenpotentiale um die eingestellte Pulshöhe ab.

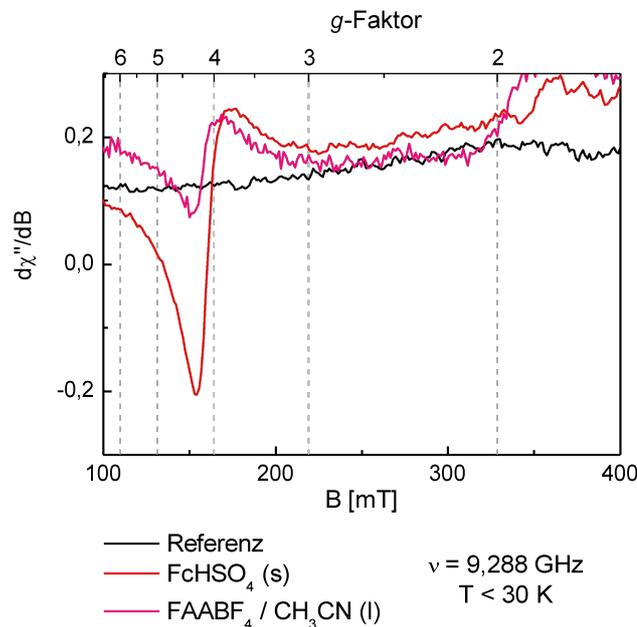


**Abbildung 16:** (a) CV von FAA ( $c = 0,001 \text{ mol/L}$ ) in  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Lösung ( $c = 0,5 \text{ mol/L}$ ) mit Pt-Draht gegen Ag/AgCl, Vorschubgeschwindigkeit 50 mV/s, Spannungserhöhung 10 mV und maximaler Strom von 0,01 mA  
 (b) DPV von FAA ( $c = 0,001 \text{ mol/L}$ ) in  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Lösung ( $c = 0,5 \text{ mol/L}$ ) mit Pt-Draht gegen Ag/AgCl, Stufenerhöhung 5 mV, Spannungserhöhung 50 mV, maximaler Strom von 0,01 mA und Pulszeit von 0,1 s

### 3.1.3. Magnetische Eigenschaften: Elektronen Paramagnetische Resonanz-Spektroskopie (EPR)

Die Moleküle Fc und FAA werden auf ihre magnetischen Eigenschaften untersucht. Sie müssen zunächst chemisch oxidiert werden, um ein Signal im EPR-Spektrum zu bekommen. Eisen(II) im Grundzustand besitzt als Übergangsmetall 3 gepaarte Valenzelektronen

in der  $d$ -Schale. Damit die Valenzelektronen ein Signal geben und paramagnetisch sind, müssen sie eine ungepaarte Zahl an Valenzelektronen aufweisen.



**Abbildung 17:** EPR-Spektren von  $\text{Fc}^+$ -Kristallen und  $\text{FAA}^+$  in Lösung

Das Eisenatom von  $\text{Fc}$  und  $\text{FAA}$  wird zu  $\text{Fe}^{3+}$  oxidiert, also besitzt es noch 5 Valenzelektronen ( $d^5$ ,  $S = 1/2$ ).

Das größere Signal von  $\text{Fc}^+$  im Spektrum (siehe Abbildung 17) ist auf die Menge und Konzentration der oxidierten Spezies zurückzuführen. In Abbildung 17 steht Feststoff ( $\text{Fc}^+$ ) gegen Lösung ( $\text{FAA}^+$ ) im Verhältnis. Toda *et al.* untersuchte Ferrocenmoleküle, die an einer mesoporösen Siliziumdioxid-Oberfläche adsorbiert und anschließend oxidiert wurden. Der  $g$ -Faktor unter basischen Bedingungen bei der Herstellung der mesoporösen Oberfläche liegt bei 4,32 und unter sauren Bedingungen bei 4,19 [106]. Diese Literaturwerte stimmen mit den gemessenen Werten für die Ferrocenium-Ionen in etwa überein.

### 3.1.4. Zusammenfassung

In der folgenden Tabelle werden die Daten der UV-Vis-, elektrochemischen und EPR-Messungen von  $\text{FAA}$  und  $\text{Fc}$  in Lösung, sowie von ihrem oxidierten Zustand zusammengefasst. Diese Werte werden in den folgenden Abschnitten als Referenz dienen.

	<b>Fc</b>	<b>Fc<sup>+</sup></b>	<b>FAA</b>	<b>FAA<sup>+</sup></b>
UV-Vis-Spektroskopie	320 nm, 450 nm	618 nm	430-450 nm	630 nm
$E_{1/2}$ vs. Ag/AgCl	389 mV	512 mV	119 mV	192 mV
EPR-Messungen	-	$g = 4,14$	-	$g = 4,17$

**Tabelle 3:** charakteristische Daten von Fc, Fc<sup>+</sup>, FAA, FAA<sup>+</sup> in Lösung gemessen via UV-Vis-, elektrochemisch, EPR-Messungen

Die Daten von Fc dienen vor allem zum Vergleich zu FAA, wie sich die funktionelle Gruppe im Molekül auf die Lage der Peaks auswirkt. Der Peak von FAA liegt vor allem bei den elektrochemischen Messungen (300 mV gegen Ag/AgCl) bedeutend niedriger als bei Fc. Dies ist auf die Carboxylgruppe im Molekül zurückzuführen [104,105].

Bei den UV-Vis-Messungen, sowie den EPR-Messungen ist eine geringe Verschiebung zu den Literaturwerten zu beobachten (siehe Tabelle 1).

Des Weiteren werden die Daten von FAA als Anhaltspunkt für die Funktionalisierung auf Oberflächen weiter benutzt, um zu sehen, wie sich die charakteristischen Peaks verschieben, wenn die Moleküle an einer festen Oberfläche funktionalisiert sind.

### 3.2. Charakterisierung der flachen Substrate für die Verwendung von funktionalisierter FAA

Das Verhalten der Moleküle in Lösung wurde in den vorherigen Kapiteln beschrieben. Hier soll geklärt werden, welche flachen Oberflächen sich besonders eignen zum Anbinden der Moleküle, um es später auf die Nanostrukturen zu übertragen.

Die flachen Substrate bestehen überwiegend aus einem Si-Wafer, der mit verschiedenen Metallen, wie Chrom und Gold in unterschiedlichen Dicken besputtert wurde. Bei einigen Proben wurde statt dem Metall eine Schicht des transparenten ITO's (Indium tin oxide, 99,99% Reinheit, Anteile: In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (90%) SnO<sub>2</sub> (10%)) im AC- und DC-Modus gesputtert. Für die elektrochemischen Messungen wird mit Leitsilber der Rand des Wafers bedeckt und anschließend für 24 h getrocknet, um die Probe elektrisch leitend zu machen. Außerdem wurde auch Kupferblech als flaches Substrat verwendet und mit Gold elektrochemisch abgeschieden.

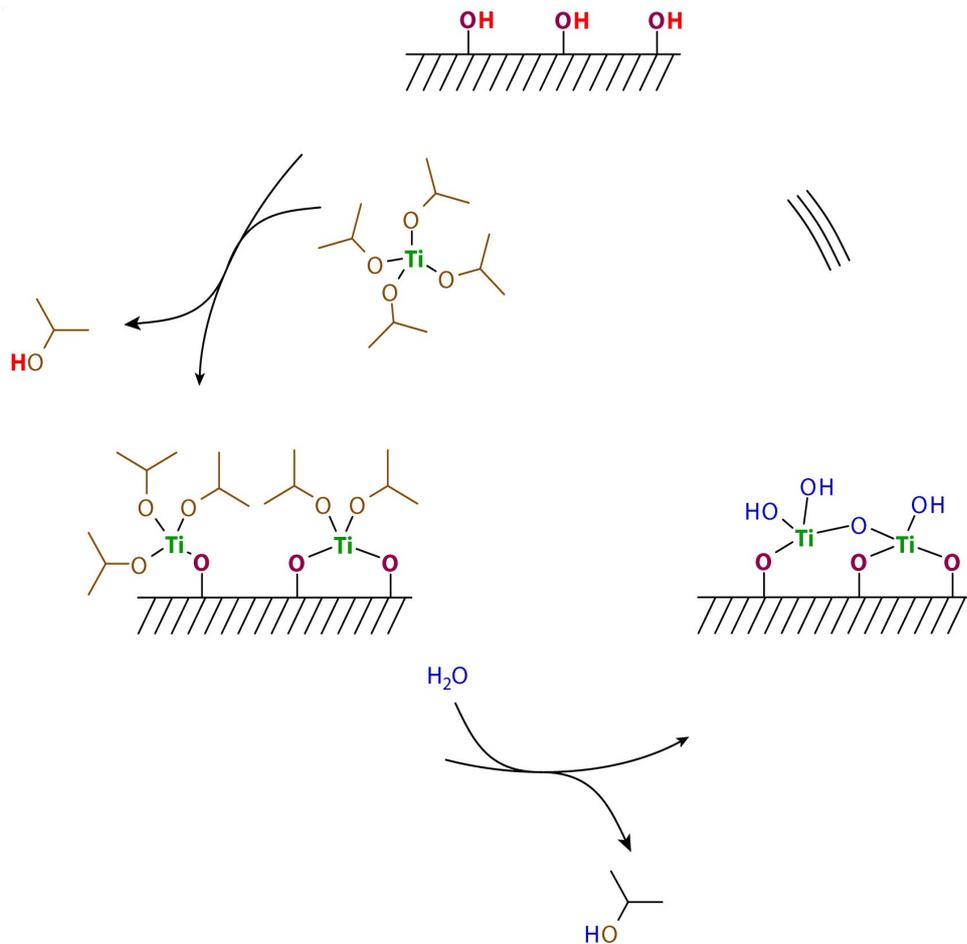
Alle flachen Substrate (zum Überblick: siehe Tabelle 6) besitzen als oberste Schicht eine 10 - 20 nm dünne Titandioxid- (TiO<sub>2</sub>-) Schicht, die mit Hilfe des Atomlagenabscheidung-Verfahrens abgeschieden wurde. Diese Schicht dient als Überträger der Ladung, um die funktionalisierten Moleküle elektrochemisch zu schalten. Titandioxid dient auch laut Literatur zum Anbinden von Molekülen [107-109]. Außerdem ist es durchsichtig, was bei der UV-Vis-Spektroskopie von Vorteil ist, damit die TiO<sub>2</sub>-Schicht im Spektrum nicht stört. Daher

ist der ALD-Prozess und die dazugehörigen Parameter, wie die Schichtdicke und die Kristallinität der TiO<sub>2</sub>-Schicht wichtig und werden im Folgenden vorgestellt.

### **3.2.1. Atomlagenabscheidung (*Atomic Layer Deposition*, ALD): Beschichtung der Substrate mit TiO<sub>2</sub>**

Die Atomlagenabscheidung spielt in dieser Arbeit eine große Rolle. Mit diesem Verfahren wird das leitfähige Material auf die Oberflächen abgeschieden. Ein großer Vorteil ist, dass man nicht nur flache Oberflächen, sondern auch strukturierte Oberflächen homogen beschichten kann (siehe Kapitel 2.2).

Wichtig bei einem Atomlagenabscheidungsprozess sind die Temperaturen, die Zeiten der Verweildauer und die physikalischen Eigenschaften der Ausgangsmoleküle. Die Parameter, wie Temperatur und Zeit werden über ein Programm gesteuert. Die Temperaturen der Prekursorenflaschen und der dazugehörigen Ventile, der Reaktionskammer und des Abgasventils können individuell auf den Prozess abgestimmt werden. Der Erfahrung nach sollte man die Temperaturen so setzen, dass man einen steigenden Temperaturgradienten zur Reaktionskammer hin erhält. Die Zeiten bestimmen, wie lange das Flaschenventil geöffnet wird (open), damit das Molekül austritt, wie lange es in der Reaktionskammer verweilt (exposure), um in der Kammer mit dem Substrat zu reagieren und wie lange anschließend abgepumpt wird (pump), um das nicht reagierende Edukt auszuschleiden. Vor allem der Dampfdruck und der nachfolgende Massentransport der Ausgangsmoleküle bei Temperaturen meist um die < 200 °C ist von besonderer Bedeutung. In der Dampfphase sollten die Prekursoren eine stabile Zusammensetzung besitzen, um eine homogene Abscheidung zu gewährleisten. Außerdem sollten sie eine thermische Stabilität bei längerem Aufheizen auch unter Vakuum aufweisen [45].



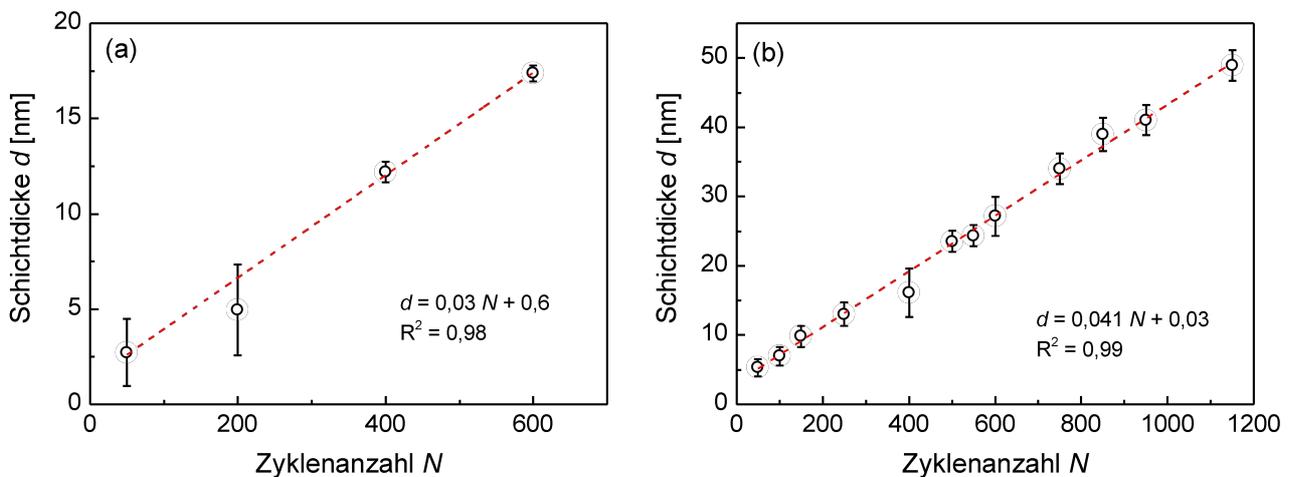
**Abbildung 18:** schematischer Abscheidungsprozess von TiO<sub>2</sub> mithilfe des ALD-Prozesses

In dieser Arbeit wird Titandioxid als Halbleiter verwendet, da es eine große Bandlücke von 3,2 eV aufweist. Titandioxid wird aus den Prekursoren Wasser und Titanisopropylat gewonnen. In der Abbildung 18 ist der Abscheidungsprozess von Titandioxid schematisch dargestellt, die experimentellen Prozessdaten werden in Kapitel 3.5.1 genauer beschrieben. Die zu beschichtenden Oberflächen, wie z.B. Silizium-Wafer oder die Aluminiumoxidmembranen, besitzen terminale Hydroxylgruppen, damit die Titanisopropylatmoleküle unter Abgabe von Isopropanol eine Oberflächenreaktion eingehen können. Es wird eine Monolage an chemisorbierten Titanisopropylatmolekülen ausgebildet. Des Weiteren wird der zweite Prekursor Wasser in die Reaktionskammer eingeleitet, der mit den Titanisopropylatmolekülen reagiert. Isopropanol wird abgegeben. Als Ausgangsmaterial für jede weitere Schicht dienen nun wieder die endständigen Hydroxylgruppen, um weitere Schichten an Titandioxid abzuscheiden.

### 3.2.1.1. Bestimmung der Wachstumsrate von $\text{TiO}_2$ mithilfe der Ellipsometrie

Es werden verschiedene Zyklusanzahlen von 20 - 1200 Zyklen an Titandioxid auf die Siliziumwafer abgeschieden, um sie anschließend am Ellipsometer zu vermessen. Die Messungen werden durch ein mathematisches Modell variiert bis die beste Übereinstimmung zwischen Messung und Simulation erzielt wird, daraus resultiert dann die Schichtdicke (siehe Kapitel 2.8.3 und auch Abb. 49).

Um die Wachstumsrate dünner Oxidfilme, wie hier die  $\text{TiO}_2$ -Schicht, zu bestimmen, wird die gemessene Schichtdicke gegen die Zyklusanzahl aufgetragen.

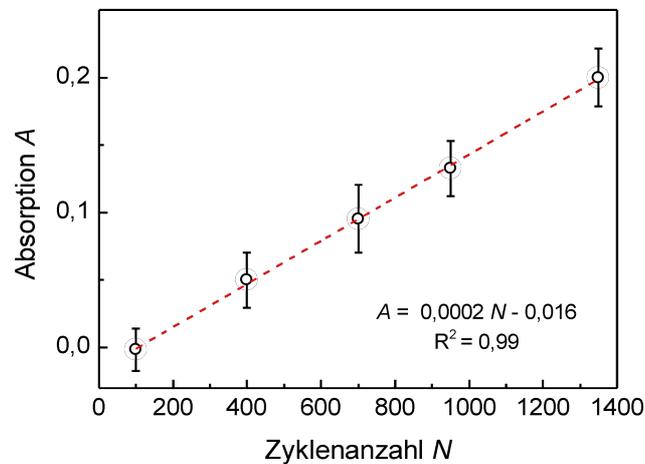


**Abbildung 19:** (a) Wachstumsrate von  $\text{TiO}_2$  mithilfe der ALD abgeschieden, bestimmt durch Ellipsometrie mit einer fest eingestellten Wellenlänge von 632 nm und mit  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$  bei 45 °C

(b) Wachstumsrate von  $\text{TiO}_2$  mithilfe der ALD abgeschieden, bestimmt durch Ellipsometrie mit einer fest eingestellten Wellenlänge von 632 nm und mit  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$  bei 80 °C

Die Wachstumsrate von Titandioxid beträgt 0,03 nm pro Zyklus bei 45 °C als Prekursoren-temperatur von Titanisopropylat ( $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ ). Wenn die Temperatur des Prekursors auf 80 °C erhöht wird, steigt auch die Wachstumsrate (siehe Abbildung 19(b)). Die weiteren Prozesse von  $\text{TiO}_2$  wurden mit der höheren Temperatur durchgeführt und somit entspricht die Wachstumsrate von Titandioxid 0,041 nm pro Zyklus.

### 3.2.1.2. Bestimmung des Wachstums von $\text{TiO}_2$ mithilfe der UV-Vis Spektroskopie

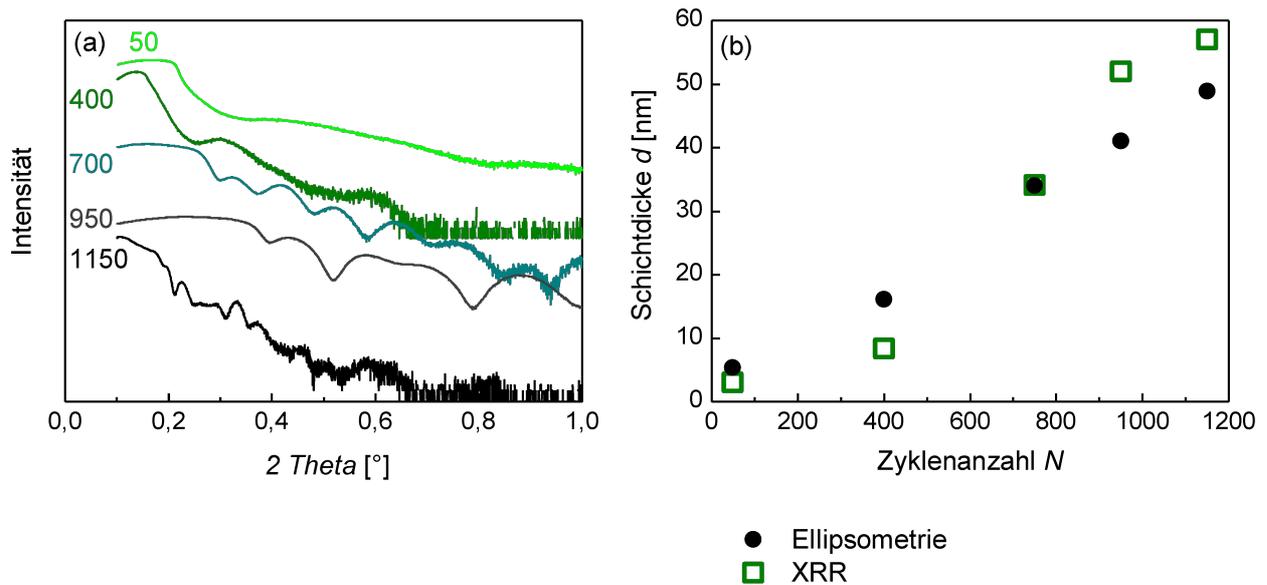


**Abbildung 20:** ALD Wachstum von  $\text{TiO}_2$ , untersucht anhand von UV-Vis-Spektren bei einer Wellenlänge von 375 nm

Um das Wachstum der Schichten mit der UV-Vis-Spektroskopie zu bestimmen, werden verschiedene Zyklusanzahlen von Titandioxid auf Glasplättchen abgeschieden und ein Absorptionsspektrum aufgenommen. Bei 375 nm wird die Absorption gegen die Zyklusanzahl aufgetragen und der lineare Anstieg der Schichten deutet auf ein lineares Wachstum hin. Die Absorption nimmt, wie erwartet, mit steigender Zyklusanzahl zu.

### 3.2.1.3. Bestimmung der Wachstumsrate von $\text{TiO}_2$ mithilfe des XRR-Verfahrens

Die Wachstumsrate von Titandioxid wird auch mit dem Verfahren der Röntgenreflektometrie (XRR; engl.: *X-Ray Reflectivity*) bestimmt (siehe Kapitel 2.8.4). Hierfür werden Si-Wafer mit unterschiedlicher Zyklusanzahl (50 - 1150 Zyklen) von Titandioxid vermessen. Die Intensität der reflektierten Strahlen wird gegen den Winkel aufgetragen (siehe Abbildung 21(a)) [98]. Mit steigender Zyklusanzahl, also dickerer  $\text{TiO}_2$ -Schicht, wird auch ein zunehmendes Signal mit höherer Amplitude deutlich sichtbar.



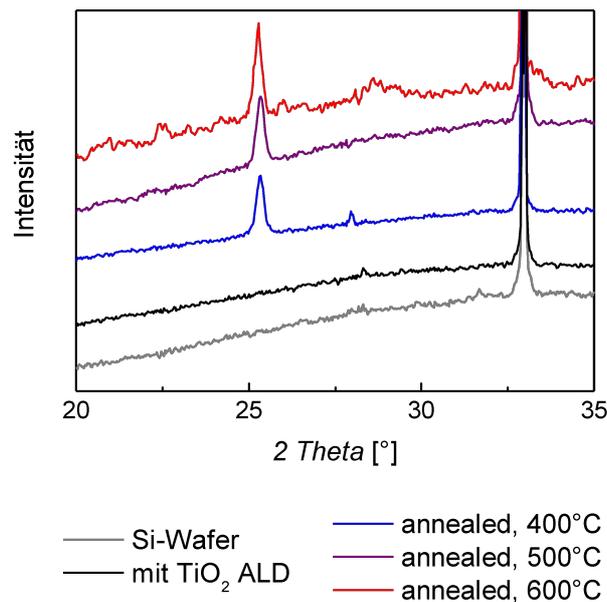
**Abbildung 21:** (a) XRR-Messung unterschiedlicher TiO<sub>2</sub>-Schichten abgeschieden per ALD, (b) Wachstumsrate von TiO<sub>2</sub> ermittelt durch XRR-Verfahren und der Ellipsometrie

Die Wachstumsrate von Titandioxid wird aus beiden Messmethoden (XRR-Verfahren, Ellipsometrie) mit 0,045 nm pro Zyklus ermittelt.

#### 3.2.1.4. Bestimmung der Kristallinität von TiO<sub>2</sub> mithilfe des XRD-Verfahrens

Die Kristallinität der Titandioxid Schicht wird mit der Röntgendiffraktion oder Röntgenbeugung (XRD; engl.: *X-Ray Diffraction*) bestimmt (siehe Kapitel 2.8.5). Im Graph 22 ist die Intensität gegen eine mathematische Funktion des Beugungswinkels aufgetragen, der von strukturellen Parametern, wie z.B. der Gitterkonstanten abhängig ist [78].

Hierfür sind Si-Wafer mit der gleichen Anzahl von Zyklen beschichtet worden, die bei unterschiedlichen Temperaturen von 400 - 600 °C getempert wurden. In Abbildung 22 sieht man den Bereich, der ausschlaggebend für die Modifikation Anatas der Titandioxidschicht ist. Der Peak bei 25° (Referenzwert: 25,3° [110-112]) wächst erst nach dem Tempern.



**Abbildung 22:** Charakteristischer Ausschnitt aus XRD-Messungen von TiO<sub>2</sub> bei unterschiedlichen Annealingtemperaturen

Es gibt drei Modifikationen von Titandioxid, Anatas, Rutil und Brookit. Anatas fängt bei 700 °C sich irreversibel in Rutil umzuwandeln [113]. Auch Brookit wandelt sich unterhalb des Schmelzpunktes in Rutil um. Daher sollte man auf die Annealingtemperatur achten, um keine unerwünschte Modifikation zu erhalten [114]. Für diese Arbeit ist es besonders wichtig, ein kristallines Material zu erhalten, damit es elektrisch besser leitet.

### 3.2.2. Beschichtung der Substrate mit Indiumzinnoxid (ITO)

ITO ist ein Material, welches große Verwendung in der Mikroelektronik findet. Besonders die hohe Transparenz im sichtbaren Bereich und die hohe elektrische Leitfähigkeit macht es als Elektrode in Displays, Touchscreens und Solarzellen interessant [115-118]. In der vorliegenden Arbeit wurden einige Proben mit ITO besputtert, um sie als Elektrode zu benutzen. Auch für spätere Versuche der elektrochemischen *in situ*-UV-Vis-Spektroskopie spielt das durchsichtige ITO eine große Rolle (siehe Kapitel 4). Die ITO-Schichten wurden sowohl im AC-Modus als auch im DC-Modus (etwa 200 nm) an der Sputteranlage durchgeführt (siehe Kapitel 3.5.4 und 3.5.5). Nach Kurdesau *et al.* gibt es deutliche Unterschiede zwischen beiden Modi. Der DC-Modus führte zu einer höheren Abscheiderate mit einer amorphen Struktur. Währenddessen zeigte die ITO-Schicht im AC-Modus eine kristalline Struktur, jedoch eine geringere Abscheiderate [119].

Um einen besseren Überblick, die in dieser Arbeit verwendeten Modi zu bekommen, wurden durch ellipsometrische Messungen folgende Wachstumsraten für die Modi erstellt.

Wachstumsrate	
AC-Modus	8,1 nm / min
DC-Modus	3,2 nm / min

**Tabelle 4:** Wachstumsraten von ITO bei unterschiedlichen Modi bestimmt durch Ellipsometrie

Um den elektrischen Flächenwiderstand dieser Schichten zu bestimmen, wurden einfache 4-Punkt-Messungen durchgeführt nach dem Prinzip von van der Pauw, welches im Abschnitt 2.8.6 näher beschrieben wurde.

In Tabelle 5 sind die gemessenen und berechneten Werte, die in der vorgestellten Messmethode nach van der Pauw, aufgelistet:

	$I_1$	$U_1$	$I_2$	$U_2$	$R_{\emptyset}$	$P$	$P$
	[ $\mu$ A]	[mV]	[ $\mu$ A]	[mV]	[ $\Omega$ ]	[ $\Omega$ /sq]	[ $10^{-6} \Omega$ m]
AC 1	100	-5,1	100	-2,7	38,9	176,1	35,6
AC 1	100	-2,7	100	-5,6	41,2	186,7	37,7
AC 2	100	-2,9	100	-3,3	31,1	141,1	28,5
AC 2	100	-3,5	100	-2,7	30,8	139,6	28,2
DC 1	100	-1,8	100	-1,8	17,8	80,7	15,3
DC 1	100	-1,8	100	-1,7	17,5	79,1	15
DC 2	100	-1,2	100	-2,5	18,5	83,9	15,9
DC 2	100	-2,6	100	-1,2	19,2	86,8	16,4

**Tabelle 5:** berechnete Werte des spezifischen Widerstands und des Flächenwiderstands bei einer ITO-Schichtdicke im AC-Modus von 202 nm und im DC-Modus von 189 nm

In den hier getesteten Bedingungen gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den verwendeten Modi AC und DC. Der spezifische Widerstand liegt in der gleichen Größenordnung bei den beiden Modi. Im Vergleich hat Aluminiumoxid als nicht leitendes Material einen spezifischen Widerstand von  $1,8 \cdot 10^{12} \Omega$ m, Silicium als Halbleiter besitzt einen Wert von  $2,3 \cdot 10^3 \Omega$ m und Gold als Leiter  $2,2 \cdot 10^{-8} \Omega$ m [120]. Somit liegt der spezifische Widerstand von ITO zwischen dem Halbleiterbereich und einem leitfähigen Material. Weitere Versuche für eine homogene Schichtdicke wurden im DC-Modus durchgeführt.

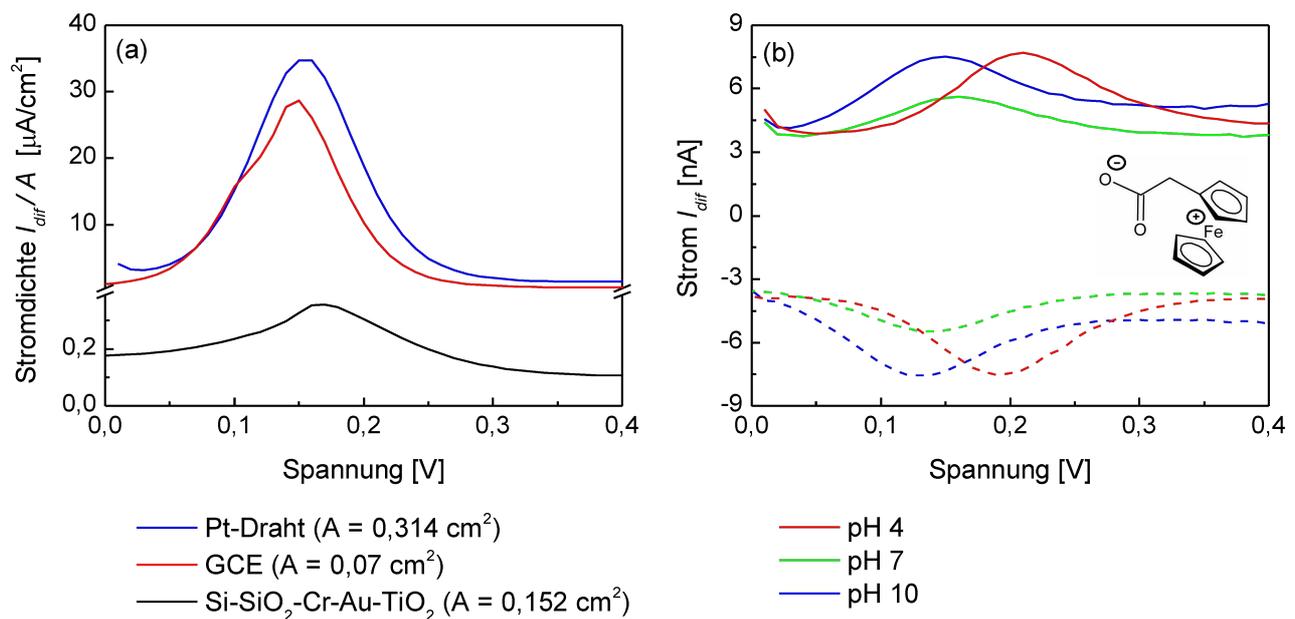
### 3.2.3. Elektrochemie: Verwendung der Substrate als Elektrode

Die gewählte Materialkombination muss folgende Bedingungen erfüllen, um im Weiteren als Elektrode eingesetzt werden zu können:

- elektrische Leitfähigkeit
- reversible Elektrochemie

- chemische und mechanische Stabilität (Haftung)

Dafür wurden DPV-Messungen aufgenommen, um das geeignete Material zu finden, welches als Elektrode fungieren kann. In Abbildung 23(a) wird die Stromdichte von einem Pt-Draht, einer Glaskohlenstoffelektrode und beispielhaft einem flachen Substrat (Chrom-Gold-TiO<sub>2</sub>) gegenüber gestellt. Diese Messung wurde bei pH 7 durchgeführt. Um zu bestätigen, dass es sich hierbei um den Oxidationspeak von FAA handelt, wurden drei FAA-Lösungen mit unterschiedlichem pH-Wert (4, 7 und 10) verwendet, um so auch den pH-Wert abhängigen Shift zu sehen, der in Abbildung 23(b) zu sehen ist.



**Abbildung 23:** (a) Stromdichte von verschiedenen Elektroden mit FAA ( $c = 0,0001$  mol/L) in K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung ( $c = 0,05$  mol/L) mit pH 7 gegen Ag/AgCl

(b) DPV-Messungen von FAA-Lösungen in K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung ( $c = 0,05$  mol/L) gegen Ag/AgCl in Abhängigkeit von unterschiedlichen pH-Werten am Beispiel von einem Si-Wafer mit einer SiO<sub>2</sub>-Schicht (200 nm)-Cr(20 nm)-Au(50 nm)-TiO<sub>2</sub>(14 nm), Stufenerhöhung 10 mV, Spannungserhöhung 10 mV, maximaler Strom von 0,01 mA und Pulszeit von 0,1 s

Der Peak (gestrichelt) ist der Rückweg der Reaktion und um die Stufenerhöhung verschoben. Dieser Peak bestätigt auch die Reversibilität einer Reaktion.

Die DPV-Messungen wurden mit allen selbst hergestellten flachen Substraten durchgeführt, um zu sehen, welches das am meisten geeignete Material für die Übertragung auf die Nanostrukturen ist. In folgender Tabelle sind die Ergebnisse zusammengefasst.

	Haftung	elektrische Leitfähigkeit	chemische Reversibilität	als Elektrode verwendbar
Cr (40 nm) -TiO <sub>2</sub> (13 nm)	-	-	-	-
Cr (20 nm) -Au (20 nm) -TiO <sub>2</sub> (16 nm)	+	+	+	+
Cr (20 nm) -Au (50 nm) -TiO <sub>2</sub> (14 nm)	+	+	+	+
Cr (20 nm) -Au (50 nm) -Cr (40 nm) -TiO <sub>2</sub> (14 nm)	-	-	-	-
ITO (AC 202 nm) -TiO <sub>2</sub> (14 nm)	+	-	-	-
ITO (DC 189 nm) -TiO <sub>2</sub> (14 nm)	+	+	+	+
Cu -TiO <sub>2</sub> (14 nm)	+	-	-	-
Cu -Au (30 min elektrochem. Abscheidung) -TiO <sub>2</sub> (14 nm)	+	+	+	+

**Tabelle 6:** Verwendung von unterschiedlichen flachen Substrate, die als Elektrode benutzt wurden

Die erste Schicht Chrom dient hauptsächlich als Haftuntergrund für die darauffolgenden Schichten. Wenn sich allerdings Chrom direkt vor der TiO<sub>2</sub>-Schicht befindet, ist es als Elektrode nicht wirksam genug. Bei den Proben mit den ITO-Schichten zeigt sich eindeutig die im DC-Modus gesputterten Probe als Favorit. Somit wurde für weitere Abscheidungen der DC-Modus verwendet. Das Kupfer-Substrat mit zusätzlicher elektrochemischer Goldabscheidung zeigt bessere elektrochemische Aktivität. Die Messungen zeigten, dass eine Gold-Schicht unter der TiO<sub>2</sub>-Schicht zu guten Ergebnissen führten. Mit den flachen Substraten, die als Elektrode funktioniert haben, wird die Ferrocennessigsäure an der Oberfläche funktionalisiert. Dies wird im nächsten Abschnitt weiter erläutert.

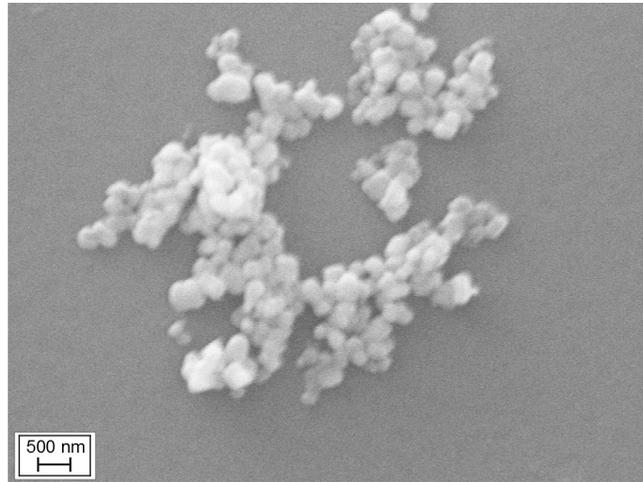
### 3.2.4. Funktionalisierung mit FAA

Bei der Funktionalisierung stellt sich die Frage, welche Methoden angewandt werden, um die FAA kovalent an die Oberflächen anzubinden. Im folgenden werden zwei Methoden vorgestellt.

#### 3.2.4.1. Methode mit Titantetrachlorid (TiCl<sub>4</sub>) [121]

Bei dieser Methode wird das bereits abgeschiedene Titandioxid mit dem ALD-Verfahren mit einer weiteren Titandioxid-Schicht aus einer wässrigen Titantetrachlorid-Lösung versehen. Hierfür wurden 2 Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen ( $c = 2 \text{ M}$ ,  $c = 0,2 \text{ M}$ ) bei 0 °C mit Eiswasser angesetzt. Anschließend wurden die flachen Substrate über Nacht in einem geschlossenen Gefäß in der Lösung eingelagert und mit dest. Wasser gespült und für 30 min bei 450 °C unter Luft im Ofen getempert. Diese zusätzliche amorphe Titan-

dioxid-Schicht soll das Anbinden der funktionellen Gruppe der FAA durch Störstellen in der Schicht erleichtern. Es wurde mit Hilfe der Ellipsometrie eine Schichtdickenzunahme der amorphen Titandioxid-Schicht von etwa 1,2 nm bestimmt.



**Abbildung 24:** Rasterelektronenmikroskop (REM)-Aufnahme von  $\text{TiO}_2$ -Partikeln aus einer 2 M  $\text{TiCl}_4$ -Lösung auf einem flachen Substrat

In den angefertigten UV-Vis-Messungen störte das amorphe Titandioxid aus  $\text{TiCl}_4$  in den Spektren. Daher wurde diese Methode nicht weiter verfolgt. Die REM-Aufnahme zeigt Agglomerationen von Titandioxidpartikeln auf dem Substrat, die für das Stören in den Spektren verantwortlich sein könnten.

#### 3.2.4.2. Methode nach Grätzel [122]

Für diese Methode wurde eine ethanolische Lösung der FAA mit einer Konzentration von etwa  $3 \cdot 10^{-4}$  mol/L angesetzt. Die flachen Substrate wurden für mehrere Tage in dieser Lösung eingelegt und anschließend gründlich mit Ethanol gewaschen, um überschüssige FAA und nicht kovalent gebundene FAA vom Substrat zu befreien. Dieses einfache nachschemische Verfahren wurde beibehalten und für die weiteren Proben verwendet.

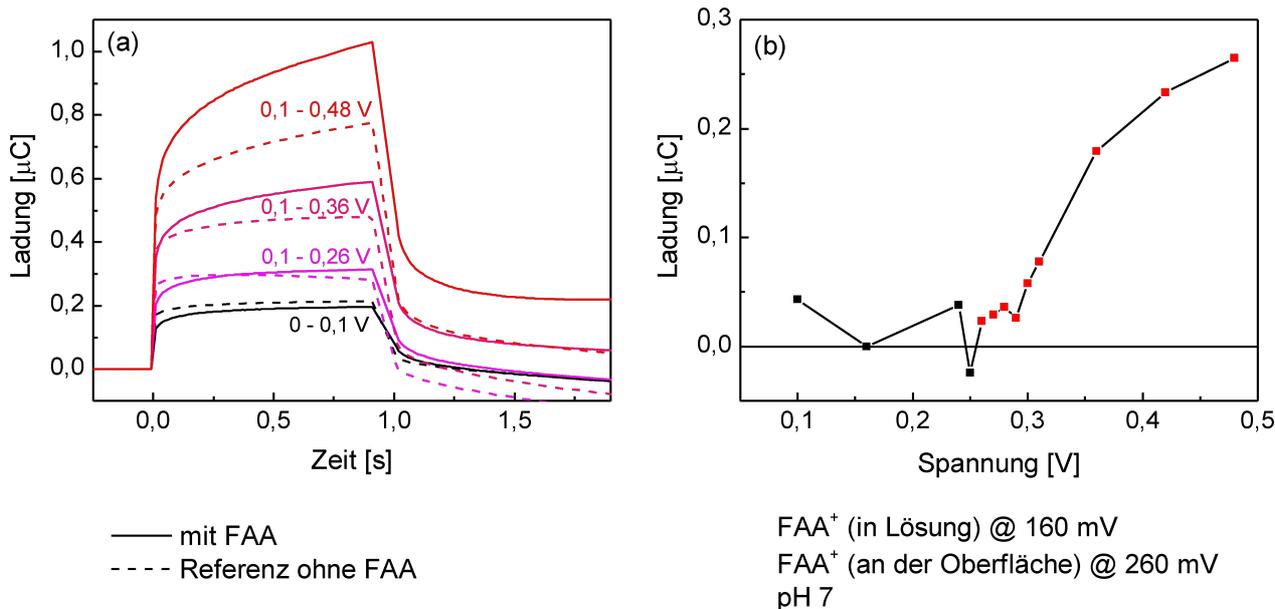
### 3.3. Funktionalisierte FAA auf flachen Substraten

FAA wurde mit der Methode nach Grätzel kovalent an das flache Substrat gebunden und elektrochemisch vermessen. Hierfür wurden Chronocoulometrie- (CC-) Messungen durchgeführt, die eine Zeit-Ladungskurve widerspiegeln (siehe Kapitel 2.7.5). Diese Messungen sind vor allem wichtig, um die Menge der geschalteten bzw. oxidierten Spezies zu quantifizieren.

### 3.3.1. CC-Messungen

Die Proben wurden in einem Anodisationsbecher (siehe Kapitel 2.7.1) eingespannt und mit einem Pt-Netz als Gegenelektrode im  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Puffer mit einem pH-Wert von 7 vermessen. In ungefähren 60 mV Schritten wurde die Spannung langsam höher gesetzt. Dabei wurde die Probe einmal ohne Moleküle an der Oberfläche vermessen und einmal funktionalisiert. Dieser Verlauf wird in Abbildung 25(a) dargestellt. Daraus ergibt sich ein Punkt, an dem die FAA zu  $\text{FAA}^+$  oxidiert wird. Bei 250 mV steigt die Zeit-Ladungskurve mit der funktionalisierten FAA an der Oberfläche über die Referenzprobe hinaus und bleibt stets über der Referenzprobe. Die Referenzprobe bleibt in Form und Steigung ähnlich, gewinnt nur an Ladung durch die höher angelegte Spannung.

Die Differenz dieser beiden Substrate (funktionalisierte Probe und Referenz) wurde gebildet und nach einer Sekunde die Ladung gegen die gesetzte Spannung aufgetragen. Den Verlauf der geschalteten FAA sieht man in Abbildung 25(b).



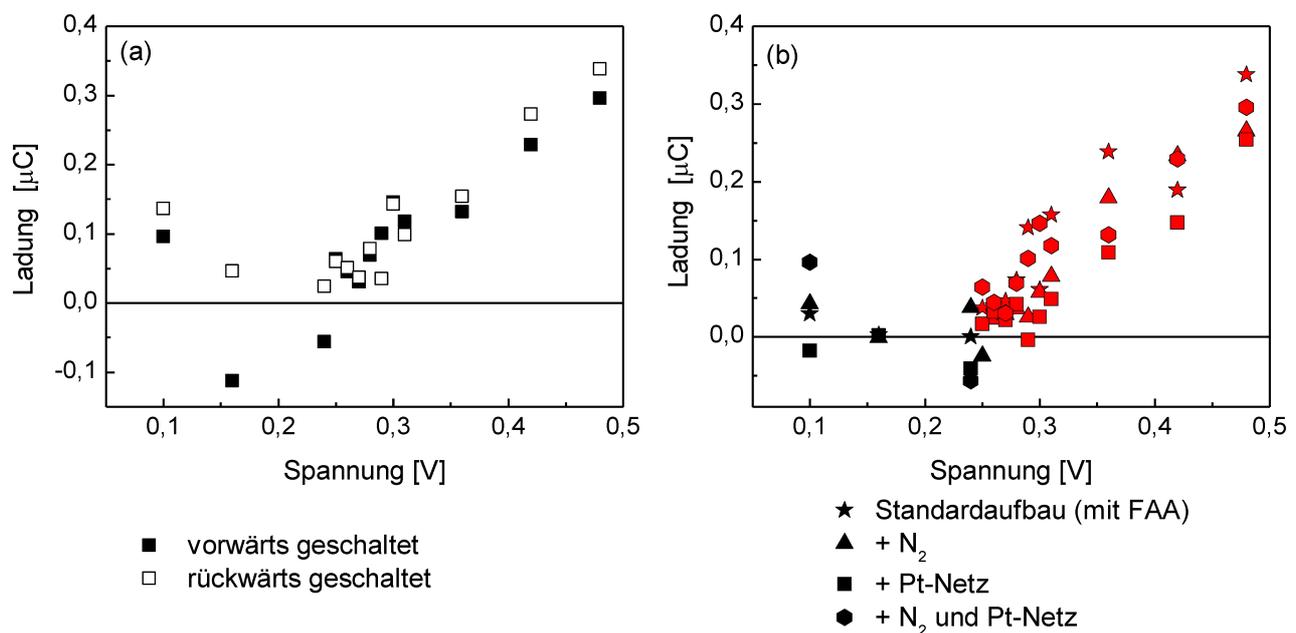
**Abbildung 25:** (a) CC-Messung: Ausschnitte von Zeit-Ladungskurven von funktionalisierter FAA auf flachem Substrat in  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Puffer ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) mit pH 7 gegen Ag/AgCl mit einer Probenperiode von 0,01 s

(b) Verlauf der geschalteten FAA bei unterschiedlichen Spannungen in  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Puffer ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) mit pH 7 gegen Ag/AgCl mit einer Probenperiode von 0,01 s

Die ersten vier Messpunkte erreichen teilweise noch Werte unter Null und ab 260 mV bleiben sie kontinuierlich über Null und steigen stetig. Man kann nun festhalten, dass die Moleküle, ab diesem Punkt ihren Oxidationszustand ändern und bei 260 mV elektrochemisch geschaltet werden. Im Vergleich zur FAA in Lösung ist die Spannung des Oxidationspeak an der Oberfläche etwa um 100 mV höher verschoben. Die Moleküle an der Oberfläche

wechselwirken miteinander, sobald benachbarte Moleküle bereits oxidiert wurden. Das beeinflusst nicht den Anfangswert, sondern nur die Tatsache, dass sie nie zu 100% geschaltet werden können. Der Anfangswert wird allerdings von der nicht mehr negativ geladenen Carboxylat-Gruppe, da diese neutral und gebunden ist, beeinflusst. Hinzu kommt, dass die  $\text{TiO}_2$ -Schicht an sich eine Oberflächenladung aufweist und somit pH abhängig ist.

Die funktionalisierten Molekülen an der Oberfläche werden erst zu höheren Spannungen geschaltet. Man kann dieses Verhalten mit dem Dielektrikum eines Kondensators beschreiben, wobei die C-Atome der Ankereinheit als Dielektrikum fungieren.



**Abbildung 26:** (a) Verlauf von vorwärts und rückwärts geschalteter FAA in  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Puffer ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) mit pH 7 gegen Ag/AgCl mit einer Probenperiode von 0,01 s,

(b) Verlauf der geschalteten FAA unter verschiedenen Bedingungen in  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Puffer ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) mit pH 7 gegen Ag/AgCl mit einer Probenperiode von 0,01 s

Um die Reversibilität der Reaktion zu testen, wurden die CC-Messungen mit einer beliebigen Spannung gewählt und auch rückwärts (von höherer Spannung zu niedriger) gefahren, auch in diesem Falle verlief die Zeit-Ladungskurve sehr ähnlich (siehe Abbildung 26(a)). Außerdem wurden unterschiedliche Kontrollversuche durchgeführt (siehe Abbildung 26(b)), um ausschließen zu können, dass der Strom durch die Größe der Gegenelektrode begrenzt wird. Dafür wurde ein zusätzliches Pt-Netz als Gegenelektrode verwendet. Außerdem wurde zusätzlich Stickstoff in den Puffer geleitet, damit eventuelle Empfindlichkeiten gegenüber Luft ausgeschlossen werden können. Auch unter beiden Bedingungen gemeinsam lässt sich kein signifikanter Unterschied feststellen. Außerdem wurden

Messungen mit der Pufferlösung durchgeführt, die in Kontakt mit der funktionalisierten FAA Elektrode gekommen ist und unter Spannung stand und mit frischem Puffer, um ausschließen zu können, dass sich eventuell die FAA vom Substrat ablöst und somit Einfluss auf die Zeit-Ladungskurve nimmt. Auch bei diesen Messungen ergab sich kein Unterschied. Somit kann gesagt werden, dass die funktionalisierte FAA an der Oberfläche ab 260 mV oxidiert wird.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Versuche wurden die darauffolgenden Messungen an Luft und ohne vergrößerte Gegenelektrode durchgeführt, da die unterschiedlichen Bedingungen keinen signifikanten Einfluss gezeigt haben.

### 3.3.2. Quantifizierung der geschalteten FAA

Um die Menge der oxidierten FAA festzustellen, wird wie folgt vorgegangen:

Die Ladung aus den CC-Messungen wird durch die Faraday-Konstante  $F_k$  dividiert. Das Coulomb-Gesetz wird somit einbezogen (siehe Gl. 11). Dieses besagt, dass der Betrag der Kraft proportional zum Produkt der beiden kugelsymmetrischen Ladungsmengen ist und umgekehrt proportional zum Quadrat der Abstände der Ladungszentren ist [103].

$$\frac{Q}{F_k} = n_{FAA^+} \quad (11)$$

So kann die Menge der oxidierten FAA bei 250 mV gegen Ag/AgCl (Gl. 12) bestimmt werden. Es kann auch bestimmt werden, wie sich das Verhalten der oxidierten Menge mit höher werdender Spannung auswirkt. Die nächsten beiden Rechnungen zeigen am ungefähren Startpunkt der Oxidation (250 mV) und bei 480 mV gegen Ag/AgCl (Gleichung 13) einen Trend der geschalteten Moleküle.

$$\frac{Q_{250mV}}{F_k} = 3,83 \cdot 10^{-13} \text{ mol } e^- \quad (12)$$

$$\frac{Q_{480mV}}{F_k} = 3,5 \cdot 10^{-12} \text{ mol } e^- \quad (13)$$

Um dies mit der absoluten vorhandenen Menge an funktionalisierter FAA-Moleküle zu vergleichen, wird basierend auf einer Abschätzung der Molekülgröße die FAA-Molmenge bestimmt. Durch Abschätzungen einer C-C-Bindung der FAA, die etwa  $1,5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2$  [103] beträgt, besitzt das ganze Molekül eine Fläche von  $6 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \times 6 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2$ . Somit hat FAA

etwa eine Größe  $F_{FAA}$  von  $3,6 \cdot 10^{-19} \text{ m}^2$ . Die makroskopische Fläche  $F_{macro}$  des flachen Substrats beträgt  $1,52 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$ . Diese Fläche  $F_{macro}$  wird durch die Fläche des Moleküls  $F_{FAA}$  dividiert und mit der Avogadrokonstanten  $N_A$  multipliziert, um die gesamte Molanzahl  $n_{FAA}$  von FAA auf dem flachen Substrat zu bekommen, siehe Gleichung 14.

$$\frac{F_{macro}}{F_{FAA} N_A} = n_{FAA} \quad (14)$$

Die absolute Menge an FAA beträgt somit  $7,01 \cdot 10^{-11} \text{ mol}$ .

Daraus wird das Verhältnis sichtbar, dass am Anfang jedes 200ste Molekül (Gl. 15) oxidiert wird und bei 480 mV gegen Ag/AgCl jedes 20ste den Oxidationszustand (Gleichung 16) ändert.

$$250 \text{ mV} = \frac{n_{FAA^+} : n_{FAA}}{200} \quad (15)$$

$$480 \text{ mV} = \frac{n_{FAA^+} : n_{FAA}}{20} \quad (16)$$

Um eine vollständige Sättigung, also ein komplettes Schalten aller Moleküle in Abbildung 25(b) zu sehen, muss allerdings die Spannung zu hoch gewählt werden wegen der Coulomb-Wechselwirkungen zwischen den benachbarten Molekülen. Um ein Zerstören der Probe zu vermeiden, wurde davon abgesehen.

Im nächsten Kapitel (4) dieser Arbeit wird die Menge der funktionalisierten FAA-Moleküle experimentell ermittelt.

### 3.4. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kapitel wurden die einzelnen Komponenten, des später zu untersuchenden Systems etabliert:

- die physikalischen und chemischen Charakteristika der Moleküle in der Lösung
- die Definition von geeigneten Elektrodenoberflächen
- das Anbinden und die Funktion der Moleküle an flachen Elektroden

Die Gegenüberstellung von Ferrocen und Ferrocenessigsäure zeigte vor allem bei den elektrochemischen Messungen (CV, DPV) eine erhebliche Verschiebung. Die Carboxylgruppe in der Ferrocenessigsäure verursacht einen Shift zu niedrigeren Spannungen. In den UV-Vis-Messungen zeigt Ferrocen aufgrund seiner Symmetrie zwei kleine Peaks im unteren Wellenlängenbereich, während der Oxidationspeak bei etwa 630 nm bei beiden Spezies etwa gleich ist. Auch bei den EPR-Messungen waren die  $g$ -Faktoren ähnlich, da das Messverfahren auf der Tatsache beruht, dass es auf ungepaarte Spins reagiert. In diesem Fall hat Eisen im oxidierten Zustand eine  $d^5$ -Elektronenkonfiguration.

Die Wachstumsrate der  $\text{TiO}_2$ -Schichten, die mit der ALD-Anlage abgeschieden wurden, wurde mit dem XRR-Verfahren und der Ellipsometrie bestimmt und beträgt  $\sim 0,045$  nm pro Zyklus. Die Kristallinität der  $\text{TiO}_2$ -Schicht wurde zu Anatas ermittelt. Dies ist besonders wichtig, da die kristallinen Strukturen eine höhere Leitfähigkeit aufweisen als amorphe Verbindungen. Anatas besitzt eine Bandlücke von 3,2 eV und zählt somit zu den Halbleitern.

Diese Tatsache begünstigt das Einsetzen von  $\text{TiO}_2$  als Elektrodenmaterial und zeigt auch, dass vor allem Gold als darunterliegende Schicht sich sehr gut eignet. Auch ITO wurde als zusätzliches Elektrodenmaterial getestet, wobei sich nur die im DC-Modus abgeschiedene ITO-Schicht als geeignet erwies.

Im Vergleich zwischen dem flachen Substrat als Elektrode, dem Pt-Draht und der Glaskohlenstoffelektrode ist jedoch die Stromdichte des flachen Substrats am geringsten. Dies ist eventuell auf den Kontakt der obersten leitenden Schicht, hier das  $\text{TiO}_2$ , zu dem Untergrund durch Leitsilber zurückzuführen.

Das Funktionalisieren der FAA-Moleküle an der Oberfläche ist durch die Methode nach Grätzel gewährleistet. Die Reversibilität der Reaktion zeigt sich auch in Abbildung 26(b). Hier wird die Spannung zuerst hochgefahren und anschließend wieder herabgesetzt. Die Ladungsmenge in beiden Fällen ist nahezu identisch. Somit konnten die CC-Messungen zur Quantifizierung der geschalteten Moleküle ohne Probleme durchgeführt werden. Daraus ergab sich, dass jedes 200ste FAA-Molekül bei 250 mV gegen Ag/AgCl oxidiert wird und bei etwa 500 mV gegen Ag/AgCl schon jedes 20ste Molekül der FAA oxidiert wird. Das komplette Schalten aller funktionalisierten FAA-Moleküle, um somit eine vollständige Sättigung zu erreichen, erwies jedoch als nicht sinnvoll, da dabei die Probe zerstört wird.

In diesem Kapitel wurden die Prozesse und Methoden vorgestellt und etabliert, um diese im nächsten Kapitel auf die nanostrukturierten Proben zu übertragen. Auch in Kapitel 4 werden verschiedene Methoden zur Bestimmung der absoluten Menge der funktionalisierter Moleküle angewandt und mit den flachen Substraten verglichen.

## 3.5. Experimenteller Teil

### 3.5.1. ALD-Prozess: Titandioxid

Bei der Abscheidung von Titandioxid werden Wasser und Titan(IV)isopropylat als Ausgangsmoleküle (Prekursoren) eingesetzt. Titanisopropylat besitzt einen sehr niedrigen Dampfdruck von 0,1 mbar bei 20 °C [123].

In der folgenden Tabelle werden die Temperaturen und Zeiten des Prozesses dargestellt.

	T <sub>Prekursor</sub>	T <sub>Ventil</sub>	T <sub>Kammer</sub>	T <sub>Abgas</sub>	t <sub>open</sub>	t <sub>exposure</sub>	t <sub>pump</sub>
H <sub>2</sub> O	40 °C	90 °C	120 °C	180 °C	0,5 s	25 s	50 s
Ti(iOPr) <sub>4</sub>	80 °C				2 s	25 s	40 s

**Tabelle 7:** Temperaturen und Zeiten des ALD-Prozesses von Titandioxid

### 3.5.2. Elektronen Paramagnetische Resonanz-Spektroskopie

Für die EPR-Messung werden reine Fc-Kristalle mit konz. Schwefelsäure oxidiert [124] und eine FAA-Lösung wird mit NOBF<sub>4</sub> oxidiert. Die oxidierten Fc-Kristalle und die FAA-Lösung werden in vorgesehene Probenhalter gefüllt, eingefroren und bei einer Temperatur von unter 30 K und einer Frequenz von 9,3 GHz vermessen.

### 3.5.3. Sputterprozess von Chrom und Gold

Die Proben werden vorsichtig mit doppelseitigem Klebeband über Kopf befestigt, da sich die Targets für Chrom und Gold am Boden des Cressington Research-Coaters befinden. Die Kammer wird geschlossen und bei einem Basisdruck von  $2 \cdot 10^{-6}$  mbar wird Argon in die Kammer eingeleitet. Der Argondruck ( $1,2 \cdot 10^{-2}$  mbar) wird mit einem Nadelventil eingestellt und so gewählt, dass er der niedrigste mögliche ist, um das Plasma zu zünden. Die Sputterraten der Metalle betragen:

	Wachstumsrate
Chrom	10,25 nm / min bei 80 mA
Gold	4,89 nm / min bei 40 mA

**Tabelle 8:** Wachstumsraten von Chrom und Gold

Die Zeit für die gewünschte Schichtdicke wurde gestoppt und anschließend wurden die Proben wieder entfernt.

### **3.5.4. ITO-Sputtern im AC-Modus**

Die Proben wurden zentriert unterhalb des ITO-Targets auf dem Rotationsteller der Sputteranlage angeordnet. Der Shutter wird als Schutz vor das Target gesetzt, die Kammer geschlossen und die Gasleitung für Stickstoff und Argon werden geöffnet. Bei einem Druck von  $5 \cdot 10^{-5}$  Torr wird das Argon in die Kammer eingeleitet. Im AC-Modus wird der Flow für Argon zuerst auf 35 sccm eingestellt und die Leistung langsam auf 80 W hoch geregelt, wobei das Plasma gezündet wird. Anschließend wird langsam der Argon Flow auf 15 sccm herunter geregelt und die Leistung auf 125 W gesteigert. Der Shutter wird vor dem Target entfernt und die Zeit für die Wachstumsrate (30 - 45 min) wird genommen. Nachdem Beenden wird die Leistung langsam herunter geregelt, um eventuelle Risse und das Durchbrennen des Targets zu vermeiden.

### **3.5.5. ITO-Sputtern im DC-Modus**

Im DC-Modus wird ähnlich verfahren, wie im AC-Modus. Bei einem Druck von  $5 \cdot 10^{-5}$  Torr wird auch ein Argon-Durchfluss von 35 sccm eingestellt und bei einer Spannung von 350 V langsam hoch geregelt, bis das Plasma gezündet hat. Dann wird der Durchfluss des Argon-Stroms auf 15 sccm reduziert und die Leistung etwa auf 19 - 20 W eingestellt. Hierbei erhält man Werte von etwa 380 V und einen Strom von 50 mA. Der Druck befindet sich im Bereich von  $5,5 \cdot 10^{-3}$  Torr. Wenn die Leistung konstant ist, wird der Shutter vor dem Target entfernt und die Zeit wird für die Wachstumsrate aufgenommen.

### **3.5.6. Elektrochemische Goldabscheidung**

Die mit Gold zu beschichtende Probe wird im Becher eingespannt und mit einer Gegenelektrode versehen. Die enthaltende Gold-Lösung (Auruna) wird eingefüllt und bei 3 V wird für 30 min bis zu einer Stunde Gold abgeschieden. Der Strom beläuft sich auf etwa 0,3 - 0,7 mA. Die Fläche der Proben betrug  $2 \times 2 \text{ cm}^2$ , wobei die mit Gold zu beschichtende Fläche einen Durchmesser von etwa 2 cm hatte. Der Aufbau ist in Abschnitt 2.7.1 dargestellt.

### **3.5.7. Herstellung des Dikaliumhydrogenphosphat-Puffers für elektrochemische Messungen**

Es werden 7,8 g Dikaliumhydrogenphosphat ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) eingewogen und in 1 L dest. Wasser gelöst. Der pH-Wert Bereich liegt zwischen 6 - 8. Mit Phosphorsäure wird der pH-Wert von 7 eingestellt.

### **3.5.8. Herstellung der Farbstofflösung nach *Grätzel***

Die redoxativen Moleküle hier FAA werden in einer Konzentration ( $c \approx 3 \cdot 10^{-4}$  mol/L) in einer ethanolischen Lösung gelöst und die Proben (flach und nanostrukturiert) werden für mehrere Tage eingelegt. Nach 4 Tagen ist die Absorption am höchsten. Danach werden die Membranen gründlich mit Ethanol gewaschen, um nicht kovalent gebundene Farbstoffe zu entfernen.

## **4. Moleküle als funktionelle Oberfläche an strukturierten Substraten**

Die Aluminiumoxidmembranen dienen als Grundgerüst dieser Arbeit. Sie werden als Matrix für die Atomlagenabscheidung verwendet und anschließend für die Funktionalisierung der redoxaktiven Moleküle gebraucht. Die Idee basiert auf der Natur, da es bei Pflanzen- und menschlichen Zellen ähnliche Größen im Bereich der Nanoskala gibt, die wie Kanäle oder Röhrchen aufgebaut sind. Zum Beispiel die Mitochondrien (Länge 0,5 – 10  $\mu\text{m}$ ), die von einer Doppelmembran umgeben sind und als „Energiekraftwerke“ bezeichnet werden, da sie am Aufbau des Adenosintriphosphat-Moleküls beteiligt sind [125]. Die vielen Variationen der hergestellten Nanostrukturen (Aluminiumoxidmembranen), die im Labor möglich sind, den Durchmesser und die Länge der Poren nach Belieben einzustellen, sind von großem Vorteil und für die Quantifizierung der funktionalisierten Moleküle unumgänglich.

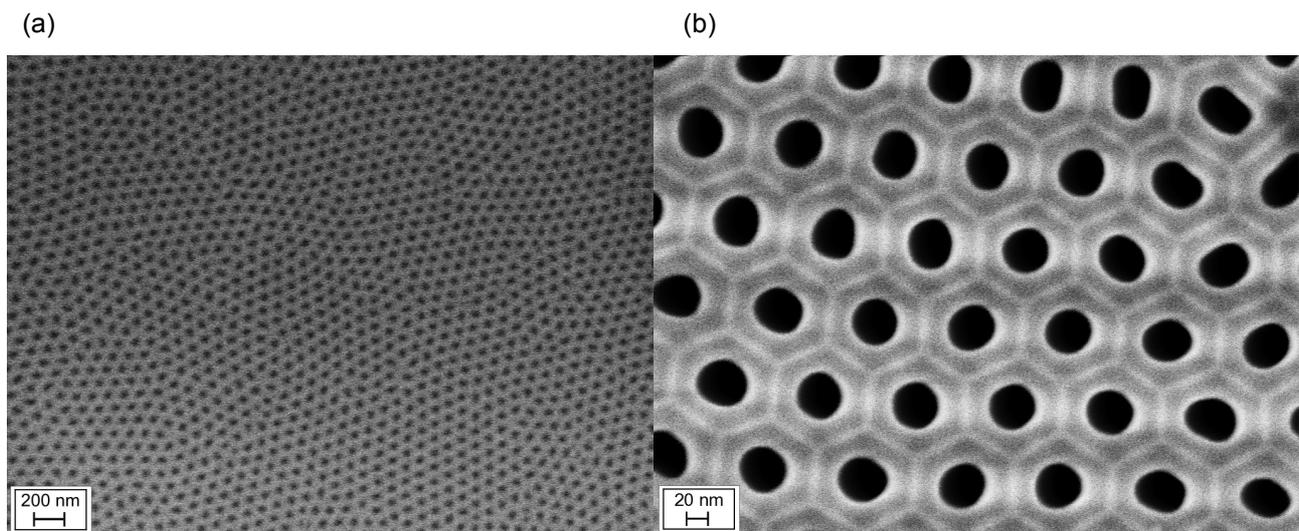
Dieser Teil der Arbeit beinhaltet Beschreibungen der durchgeführten Experimente, sowie eine Zusammenstellung der Ergebnisse. Er umfasst die Herstellung der Nanostrukturen, die Beschichtung von  $\text{TiO}_2$  mithilfe des Atomlagenabscheidungsverfahrens (ALD), sowie die Funktionalisierung von redoxaktiven Molekülen an die Oberfläche der Nanostrukturen. Die gewonnenen Ergebnisse aus Kapitel 3 werden hier angewandt und erweitert. Zur Bestimmung der Anzahl der redoxaktiven Moleküle wurden verschiedene Analysemethoden angewandt. Sie werden im folgenden Teil vorgestellt.

### **4.1. Charakterisierung der nanostrukturierten Oberflächen**

Die nanostrukturierten Oberflächen wurden mittels elektrochemischer Oxidation von Aluminium hergestellt, der genaue Prozess der Herstellung befindet sich in Kapitel 4.7.1. Man verwendet hier zwei unterschiedliche Säuren (Oxalsäure:  $\text{pK}_{\text{S}1} = 1,25$ ; Phosphorsäure:  $\text{pK}_{\text{S}1} = 2,15$ ) [29], die mit der angelegten Spannung Einfluss auf die Größe der Poren nehmen und somit die Größe der Oberfläche beeinflussen. Das Besondere ist, dass man die geometrischen Parameter, wie die Länge der Poren und den Durchmesser, genau einstellen kann und somit die vergrößerte Oberfläche genau berechnen kann. Diese Aluminiumoxidmembranen sind die Basis dieser Arbeit und werden hier mithilfe der Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie charakterisiert.

### 4.1.1. Rasterelektronenmikroskopie (REM)

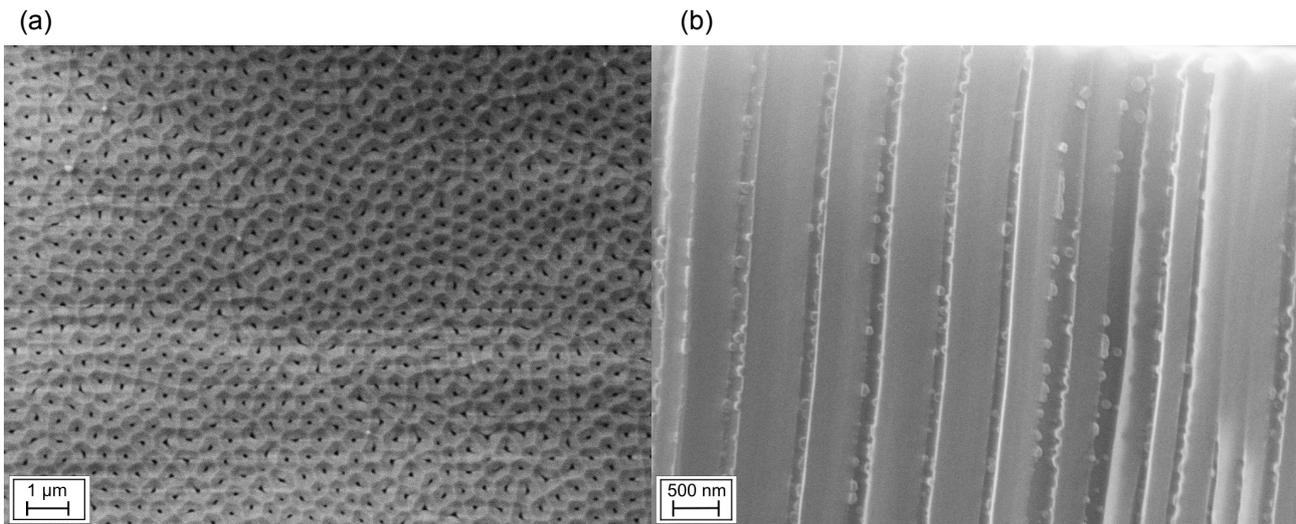
Die Rasterelektronenmikroskopie (siehe Kapitel 2.8.7) ist sehr interessant für die ersten Untersuchungen der Aluminiumoxidmembranen. Man kann dadurch schnell und zerstörungsfrei die Proben auf den Durchmesser hin untersuchen. Aufnahmen von Vorder- und Rückseiten der Proben wurden mittels eines kurzen Ausschleusens aus der Probenkammer bewerkstelligt (siehe Abbildung 27).



**Abbildung 27:** (a) Rückseite einer 54 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 35 nm

(b) Vorderseite einer 18 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 43 nm

Allerdings musste man für die Längenbestimmung der Poren einen Querschnitt, die sog. „cross-section“ untersuchen, dafür muss die Probe gebrochen werden. Damit ist ein weiteres Arbeiten mit den AAO-Membranen als Elektrode fast unmöglich. Die ermittelten Längen beruhen auf Zeitmessungen (siehe Kapitel 4.7.1) der zweiten Anodisation und der am Anfang durchgeführten Querschnittsbilder. Beispielhaft ist ein Ausschnitt eines Querschnittsbildes in Abbildung 28 dargestellt.



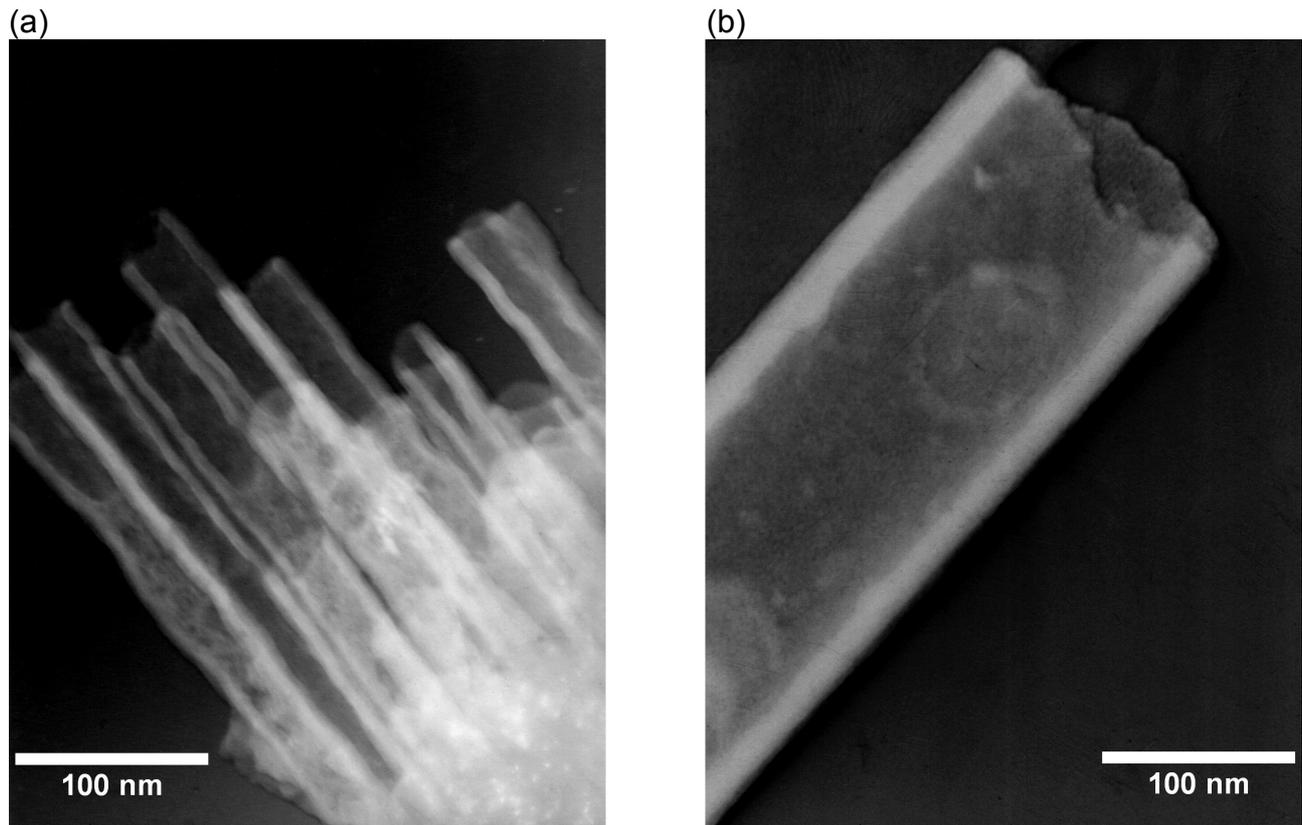
**Abbildung 28:** (a) Vorderseite einer 36 µm langen AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 140 nm

(b) Querschnitt einer 54 µm langen AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 160 nm

#### 4.1.2. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Im Gegensatz zu der Rasterelektronenmikroskopie kann man die Proben durchleuchten, also mit einem Elektronenstrahl durchdringen (siehe auch Abschnitt 2.8.8). Dafür müssen allerdings die Proben aus ihrer festen Struktur gelöst werden und auf einem TEM-Trägernetz (TEM-Grid) aufgebracht werden. Somit ist die Probenvorbereitung etwas komplexer als bei der REM (siehe Kapitel 4.7.7).

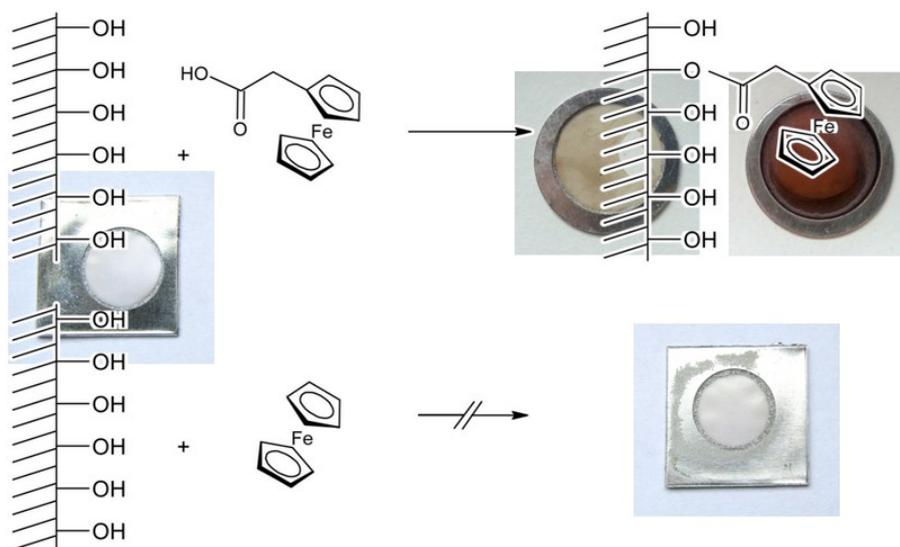
In Abbildung 29(a) sieht man einen Verbund der AAO-Nanostrukturen auf Oxalsäurebasis mit einer dünnen  $\text{TiO}_2$ -Schicht, die noch nicht komplett aus der eigentlichen Struktur gelöst sind. In 29(b) ist ein einzelnes AAO-Röhrchen auf Phosphorsäurebasis zu erkennen. Auch hier ist deutlich die  $\text{TiO}_2$ -Schicht und sogar die Beschaffenheit (Rauheit) der Probe zu erkennen. Bei TEM-Aufnahmen kann man Rückschlüsse über die Geometrien (Durchmesser, Länge) der Proben, die mit ALD abgeschiedenen  $\text{TiO}_2$ -Schichten und auch auf die Zusammensetzung der Proben, also ihrer Struktur ziehen.



**Abbildung 29:** (a) Verbund der Nanostrukturen auf Oxalsäurebasis: Länge von 54  $\mu\text{m}$ , Porendurchmesser von 25 nm und einer 10 nm dünnen  $\text{TiO}_2$ -Schicht

(b) einzelnes Röhrchen auf Phosphorsäurebasis: Länge von 42  $\mu\text{m}$ , Porendurchmesser von 110 nm und einer 20 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht

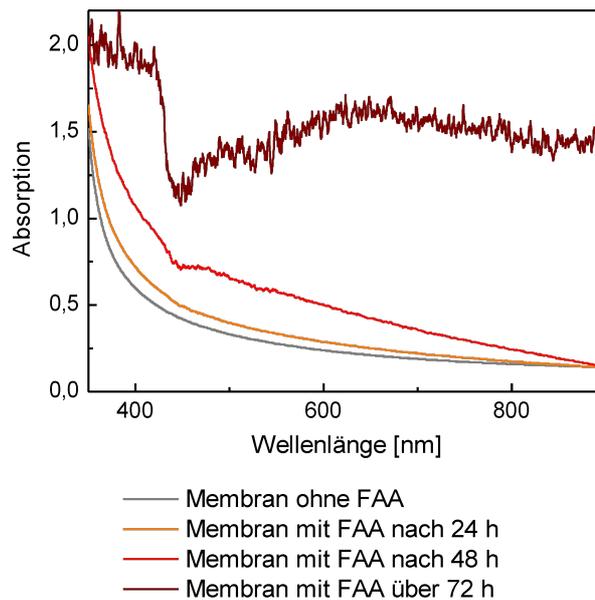
## 4.2. Funktionalisierung der FAA auf Nanostrukturen



**Abbildung 30:** Reaktionsschema: Funktionalisierung von FAA an nanostrukturierten Oberflächen

45 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 10 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (links und rechts unten) 9 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis (hell) und einer 45 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis (dunkel) mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 10 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (rechts oben)

Bei der Funktionalisierung der FAA an den nanostrukturierten Oberflächen wird die Methode nach Grätzel, die im vorherigen Kapitel beschrieben wurde, verwendet. In der Abbildung 30 sieht man die nanostrukturierten Proben, mit denen gearbeitet wurde. Hierbei handelt es sich um AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis beschichtet mit einer etwa 10 nm dicken  $\text{TiO}_2$ -Schicht, die Membranen weisen unterschiedliche Längen auf. Dies erkennt man vor allem nach der Funktionalisierung der Membranen mit FAA durch die Intensität der Färbung, die mit abnehmender Porenlänge abnimmt. Als Kontrollexperiment wird auch Ferrocen verwendet, wobei deutlich zu erkennen ist, dass es zu keiner Verfärbung der Membran kommt. Dies bestätigt, dass für das kovalente Anbinden an die Oberfläche die funktionelle Gruppe der FAA ausschlaggebend ist und nicht unumgänglich ist.



**Abbildung 31:** Absorptionsspektrum von FAA auf einer 60 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 50 nm und einer 10 nm TiO<sub>2</sub>-Schicht in Abhängigkeit der Zeit

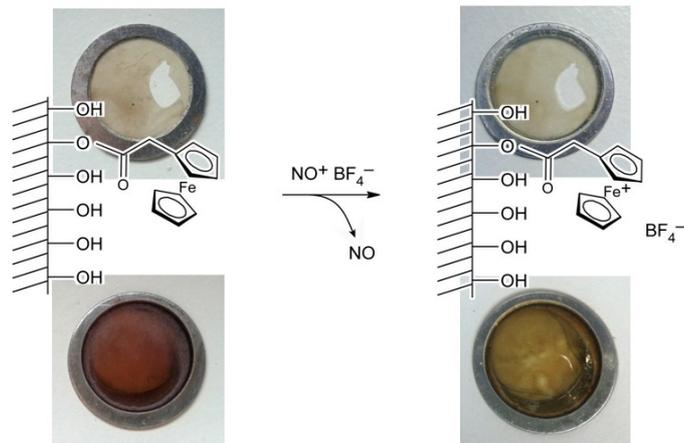
Die Abbildung 31 zeigt das Absorptionsspektrum einer AAO-Membran auf Oxalsäurebasis funktionalisiert mit FAA nach unterschiedlichen Zeiten. Das Einlegen der Membran in die Farbstofflösung nach dem Verfahren von Grätzel sollte mindestens 48 h lang dauern. Nach dieser Zeit zeigen sich erste Erfolge der Funktionalisierung der FAA. Der Peak bei 450 nm fängt langsam an zu wachsen. Nach über 72 h zeigt sich im Absorptionsspektrum der funktionalisierten Membran ein Rauschen. Dies deutet auf eine Sättigung sowie eine zusätzliche Lichtstreuung durch die an der Oberfläche gebildeten FAA-Kristalle hin.

### 4.3. Chemisches Schalten der FAA mit NOBF<sub>4</sub>

Bei den nanostrukturierten Oberflächen kommt es auch zum Einsatz des Oxidanten NOBF<sub>4</sub>, um erstmals einen Überblick über das Verhalten der oxidierten FAA auf der Membran zu bekommen (siehe Abbildung 32).

- Wie verschiebt sich der Peak (UV-Vis- und EPR-Spektroskopie), wenn die FAA an den nanostrukturierten Oberflächen funktionalisiert ist?
- Macht es einen Unterschied zu flachen Substraten oder zur Lösung?

Dieses Verhalten soll mit der UV-Vis-Spektroskopie geklärt werden, die EPR-Spektroskopie kommt erneut zum Einsatz und auch die Kapillareffekte, wie die Hydrophilie, sowie Hydrophobie sollen näher untersucht werden.



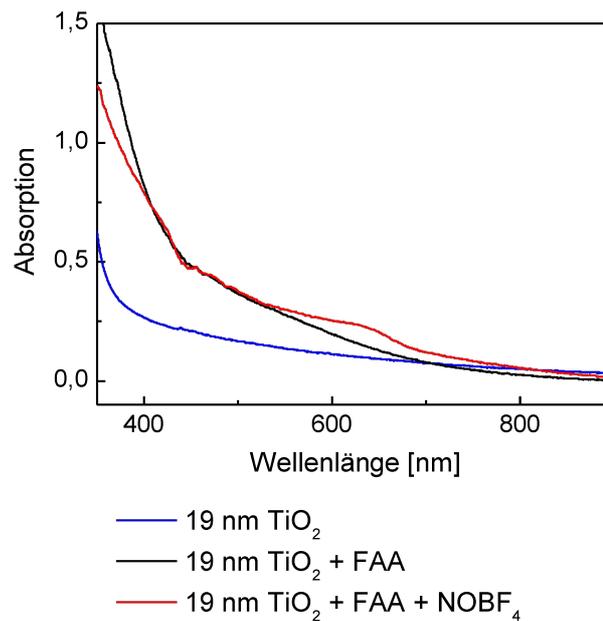
**Abbildung 32:** Reaktionsschema: Oxidation mit  $\text{NOBF}_4$

9  $\mu\text{m}$  AAO-Membran auf Oxalsäurebasis (links oben) und eine 45  $\mu\text{m}$  AAO-Membran auf Oxalsäurebasis (links unten) mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 10 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (rechts oben) und rechts nach der Oxidation mit  $\text{NOBF}_4$

In Abbildung 32 ist deutlich erkennbar, dass sich die Färbung der Membranen nach der Oxidation mit  $\text{NOBF}_4$  verändert. Bei der dünnen Membran sieht man es etwas schlechter, aber dennoch erkennt man den Farbwechsel von braun zu grün. Dieser Farbwechsel wird näher untersucht mithilfe der UV-Vis-Spektroskopie.

#### 4.3.1. Optische Eigenschaften: UV-Vis-Spektroskopie

Das Reaktionsschema und die Fotos in Abbildung 32 zeigen optisch eine Veränderung nach dem chemischen Schalten der FAA und auch im Absorptionsspektrum in Abb. 34 sieht man deutlich den Peak bei etwa 630 nm, wie es auch im Fall der FAA in Lösung war (siehe Tabelle 3). Der Peak des Absorptionsspektrums verschiebt sich kaum in Lösung und auf der nanostrukturierten Oberfläche.

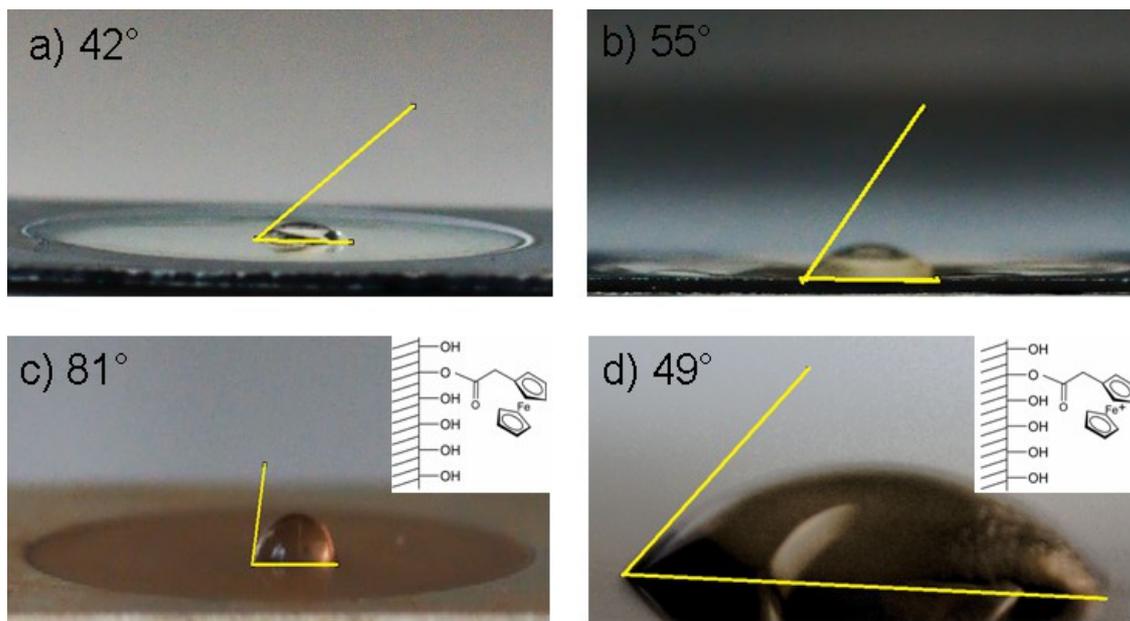


**Abbildung 33:** Absorptionsspektrum von funktionalisierter FAA auf einer 60 µm AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 19 nm TiO<sub>2</sub>-Schicht

Für die Absorptionsmessung wurde eine Membran ohne TiO<sub>2</sub>-Schicht, mit TiO<sub>2</sub>, mit zusätzlich funktionalisierter FAA und in der oxidierten Form mit NOBF<sub>4</sub> vermessen. In Abbildung 34 wurden die Absorptionsspektren der jeweiligen reinen Aluminiumoxidmembranen subtrahiert. Die Absorptionsbande von der funktionalisierten FAA an der Oberfläche ist eher schwach ausgeprägt (schwarz) und erinnert eher an eine breite Schulter (bei etwa 450 nm) als an einen signifikanten Peak. Das Absorptionsverhalten der FAA in Lösung (siehe Kapitel 3.1.1) ist ähnlich, dennoch ist der Peak der FAA in Lösung ausgeprägter und eindeutiger zu bestimmen. Allerdings ist der Peak der oxidierten FAA gut im Spektrum zu erkennen (rot).

#### 4.3.2. Kapillareffekte: Hydrophilie/Hydrophobie

Die physikalischen Eigenschaften dieser Proben ändern sich mit Änderung des Oxidationszustands der FAA. Nicht nur die Farbe ändert sich, wie es in Kapitel 4.3.1 beschrieben wurde, sondern auch die kapillaren Eigenschaften. Die Kapillarität beschreibt, wie sich die Kapillaren in Kontakt mit Flüssigkeiten verhalten (siehe auch Kapitel 2.8.9). Dadurch, dass die nanostrukturierte Probe eine so große Oberfläche hat, ist zu erwarten, dass man über die Oberflächenmoleküle diese Eigenschaft stark beeinflussen kann.



**Abbildung 34:** Kapillareffekte an einer 45 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 12 nm TiO<sub>2</sub>-Schicht:

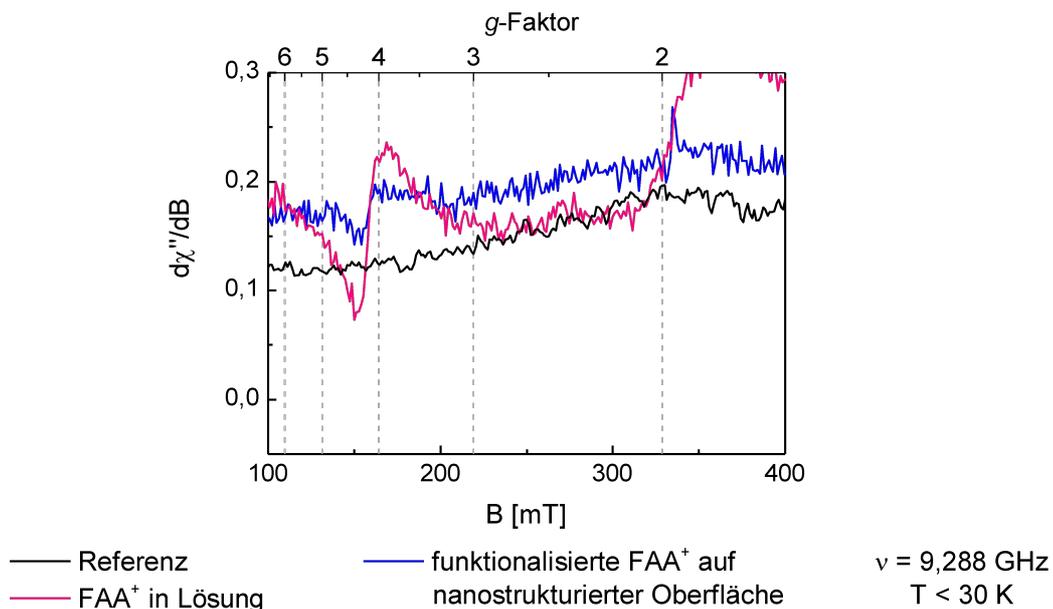
- (a) AAO-Membran auf Oxalsäurebasis (hydrophiler Charakter: 42°),
- (b) + 12 nm TiO<sub>2</sub> (hydrophiler Charakter: 55°),
- (c) + 12 nm TiO<sub>2</sub> + FAA (hydrophober Charakter: 81°),
- (d) + 12 nm TiO<sub>2</sub> + FAA<sup>+</sup> + NOBF<sub>4</sub> (hydrophiler Charakter: 49°)

In Abbildung 34 sind die Kontaktwinkel zwischen Wasser und der Probenoberfläche eingezeichnet. Die unterschiedlichen Membranen geben Aufschluss über die Hydrophilie und Hydrophobie der Proben. Bei kleinen Winkeln spricht man von hydrophilen Proben, der Tropfen zerläuft sozusagen auf der Oberfläche. Einen hydrophoben Charakter erhält man, wenn der Kontaktwinkel um 90° liegt und bei superhydrophoben Proben beträgt der Winkel etwa 160°. In diesem Fall spricht man auch vom Lotus-Effekt, bei dem die Flüssigkeit von der Oberfläche abperlt [79].

Die Hydrophilie der reinen Membran (a) verhält sich ähnlich, wie mit einer dünnen TiO<sub>2</sub>-Schicht (b). Im Bild a zu b steigt der Kontaktwinkel gering, die Probe gewinnt mehr an hydrophobem Charakter. Im Bild c handelt es sich um eine mit FAA funktionalisierte Membran, wo eindeutig die Hydrophobie der Probe nachgewiesen werden kann. Nach anschließender Oxidation durch den chemischen Oxidanten NOBF<sub>4</sub> (d) kehrt der hydrophile Charakter der Probe zurück, dies kann man auch auf die Ladung der Ferrocen-Einheit zurückführen.

### 4.3.3. Magnetische Eigenschaften mittels der EPR-Spektroskopie

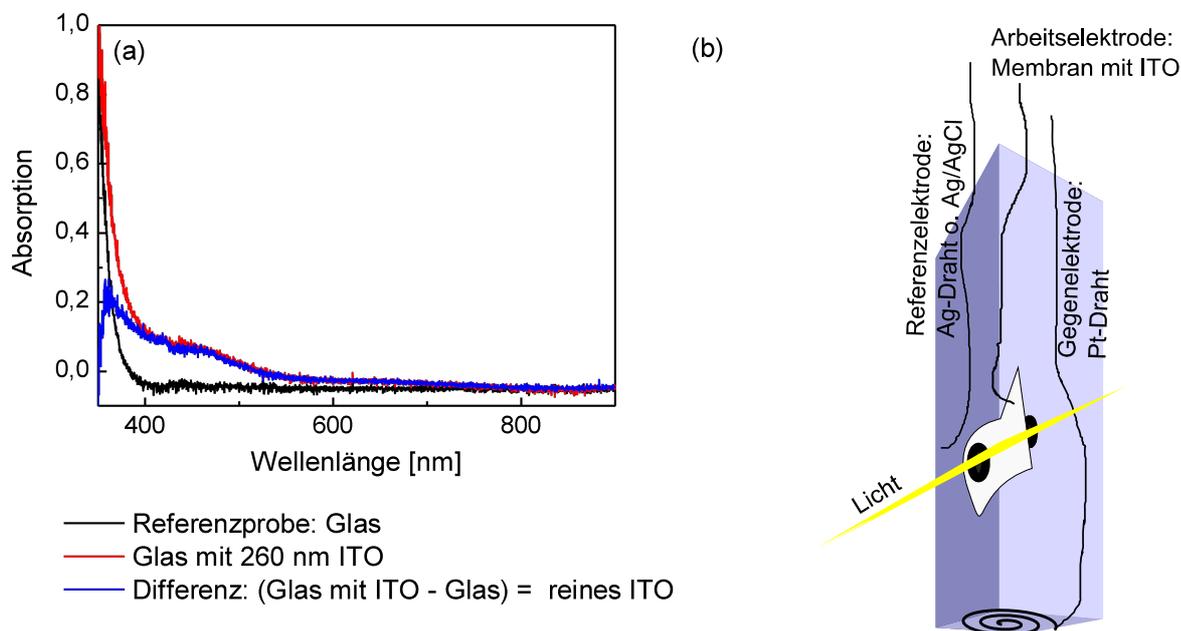
Nach der Oxidation durch den chemischen Oxidanten ändert sich neben der Farbe und den kapillaren Eigenschaften auch die magnetischen Eigenschaften. Dies wird durch ein EPR-Spektrum veranschaulicht. Hier ist neben der schon gezeigten  $\text{FAA}^+$  in Lösung (siehe Abbildung 17) auch zum Vergleich eine funktionalisierte AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit oxidiertem  $\text{FAA}$  dargestellt. Hier gibt es, wie zu erwarten, einen Peak mit einem  $g$ -Faktor bei 4,14 (siehe Abbildung 35).



**Abbildung 35:** EPR-Spektren von  $\text{FAA}^+$  in Lösung und funktionalisiert auf nanostrukturierter Oberfläche 18  $\mu\text{m}$  AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 43 nm und einer 12 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht

Mit diesen ersten Ergebnissen des Schaltens der  $\text{FAA}$  durch einen chemischen Oxidanten kann auf die Frage zum Anfang hin, ob sich die Peaks in den jeweiligen Analysemethoden verschieben, mit nein geantwortet werden. Die Peaks sowohl in Lösung als auch funktionalisiert liegen im UV-Vis-Absorptionsspektrum etwa  $\pm 5 \text{ nm}$  verschoben. Der  $g$ -Faktor aus den EPR-Spektren liegt im gleichen Bereich, nur die Intensität ist geringer, da die Konzentration der Lösung oder Probe für die Intensität verantwortlich ist.

#### 4.4. Elektrochemisches Schalten der FAA

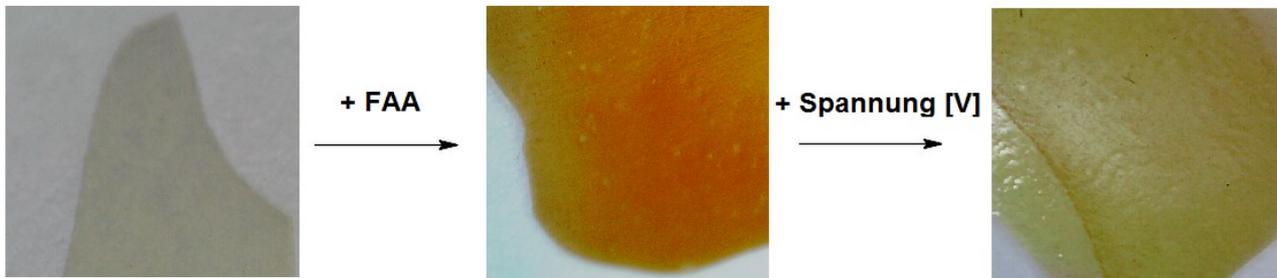


**Abbildung 36:** (a) ITO auf Glas im Absorptionsspektrum

(b) *in situ*-UV-Vis Aufbau zum elektrochemischen Schalten der funktionalisierten FAA

Für die Versuche zum elektrochemischen Schalten wurde zuerst der Einfluss der ITO-Schicht im Absorptionsspektrum an Glassubstraten getestet. Dafür wurde eine Referenzprobe und eine weitere Probe mit einer 260 nm dicken ITO-Schicht vermessen. Das Absorptionsspektrum ist in Abbildung 36(a) dargestellt. Für die weiteren Versuche wurde aufgrund der Leitfähigkeitsmessungen eine Schichtdicke von 200 nm gewählt. Die Leitfähigkeit des ITO's wurde in Kapitel 3.2.2 näher erläutert. Bei den Versuchen zum elektrochemischen Schalten an einer AAO-Membran wurden die Proben mit einer ITO-Schicht (200 nm) besputtert und in einer Quarzglasküvette elektrochemisch und *in situ*-UV-Vis spektroskopisch vermessen (siehe Abbildung 36(b)). Hierbei wurden im Transmissions- oder Absorptionsspektrum keine verwertbaren Ergebnisse produziert. So dass ein anderer Aufbau gewählt werden musste, wobei die ITO-Schicht aufgrund des durchsichtigen gut leitendem Material für die spektroskopischen Aufnahmen besonders wichtig war. Für den neu gewählten Aufbau, der nicht mehr zwingend in einer Quarzglasküvette stattfand (siehe auch Kapitel 2.7.1), wurde nach jedem Schalten der FAA (siehe Abbildung 37), also das Verändern der Spannung, die Probe aus der Lösung genommen, getrocknet und ein Transmissionsspektrum mithilfe einer Ulbrichtkugel aufgenommen.

Der Platindraht wurde nur mit einem Baumwollhandschuh angefasst, um große Potentialunterschiede und somit ein unerwünschtes Oxidieren oder Reduzieren der Probe zu vermeiden.



**Abbildung 37:** Funktionalisierung und elektrochemisches Schalten nach 2 V der FAA an einer 45  $\mu\text{m}$  langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 45 nm und einer 12 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht

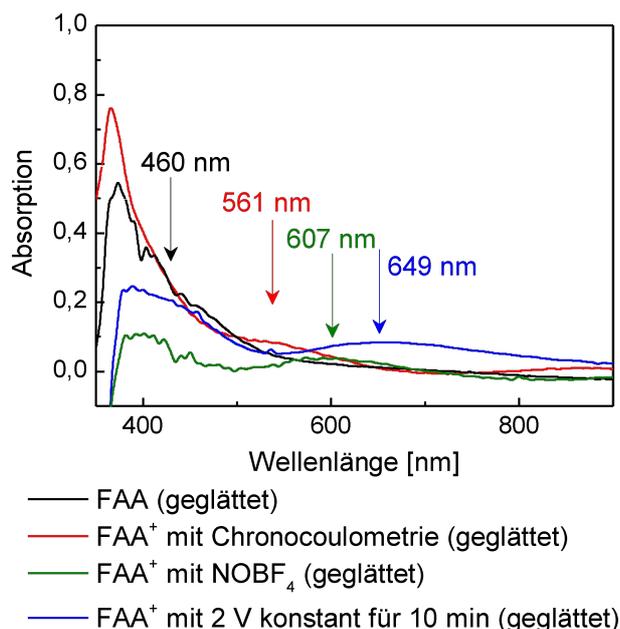
In Abbildung 37 sieht man deutlich die Färbung der funktionalisierten Membran und nach dem Wechsel des Oxidationszustands von braun zu grün. Dieses Verhalten wird im folgenden Abschnitt durch die UV-Vis-Spektroskopie weiter untersucht.

#### 4.4.1. Optische Eigenschaften: UV-Vis-Spektroskopie

Bei diesen Proben wurden Transmissionsspektren aufgenommen, die mit einer langen Integrationszeit, einer Ulbrichtkugel und einem passenden schwarzen Probenhalter vermessen wurden. Zum Veranschaulichen der Daten wurden diese Transmissionsdaten nach folgender Formel in die Absorption umgerechnet und anschließend mit der mathematischen Funktion FFT-Filter geglättet.

$$A = -\log(T) \quad (17)$$

In Abbildung 38 wird das Absorptionsspektrum einer 50  $\mu\text{m}$  langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis bei unterschiedlich angewandten Methoden zur Oxidation der funktionalisierten FAA-Moleküle gezeigt.



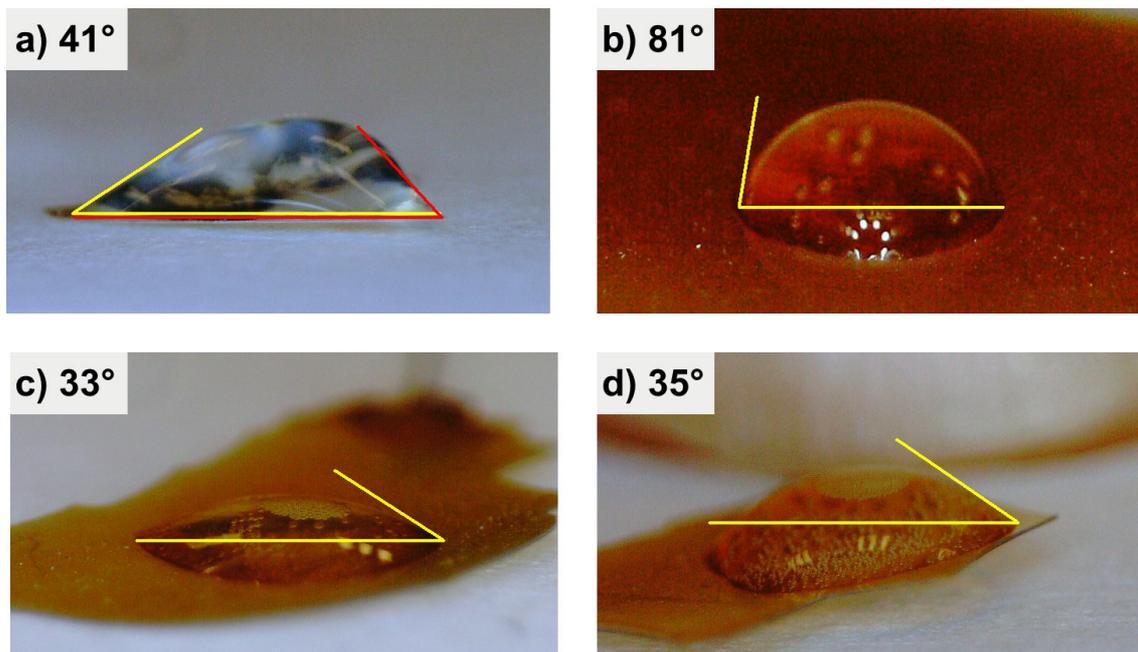
**Abbildung 38:** Absorptionsspektren von funktionalisierter FAA und geschalteter FAA mit unterschiedlichen Methoden bei einer 50  $\mu\text{m}$  langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 40 nm und einer 10 nm TiO<sub>2</sub>-Schicht

In Abb. 38 sind unterschiedliche Methoden zum Schalten der FAA dargestellt. Zur Erinnerung wurde auch das Absorptionsspektrum von funktionalisierter FAA (schwarz) dargestellt. Man sieht drei weitere Peaks von 561 nm bis zu 649 nm. Der rote Peak (561 nm) wurde mit der Chronocoulometrie durchgeführt, hierbei wurden die Proben 1 s oxidiert und anschließend wieder für 1 s auf das eingestellte Ursprungspotential gesetzt, um anschließend sie wieder einer höheren Spannung auszusetzen. Mithilfe des chemischen Oxidanten NOBF<sub>4</sub> erhält man einen Oxidationspeak bei etwa 610 nm (grün), der auch mit den vorherigen chemischen Oxidationen übereinstimmt. Bei dem Verfahren, wo über einen längeren Zeitraum (10 min) mit einer konstanten, hohen Spannung geschaltet wird, ist der Peak zu noch höheren Wellenlängen verschoben (blau). Dies könnte an einer eventuellen Reorganisation der Moleküle an der Oberfläche liegen und somit kann es zu einer Peakverschiebung kommen. Sohn *et al.* beschrieb die elektronische Struktur von Metallocenen, wobei er zwei Absorptionsbanden bei  $\sim 560$  nm und  $\sim 620$  nm für das Ferrocenium-Ion fand. Die bei niedrigeren Wellenlängen beschrieb er als d-d-Transfer und bei höheren Wellenlängen für den Austausch der Liganden-Metall-Ladungstransfer Elektronen [126]. Diese zwei Peaks finden sich auch in Abbildung 38 wieder.

Auch die ITO-Schicht hat einen Einfluss auf das Absorptionsspektrum (siehe Abbildung 36(a)). Hier wurde allerdings eine 200 nm ITO-Schicht verwendet, um den Einfluss gering zu halten.

#### 4.4.2. Kapillareffekte: Hydrophobie oder Hydrophilie

Hier werden die Proben untersucht, die elektrochemisch geschaltet wurden. Die Daten können mit denen aus Kapitel 4.3.2 verglichen werden, die mit dem Oxidanten  $\text{NOBF}_4$  geschaltet wurden. Hierbei zeigt sich das gleiche Verhalten. Die einzige Probe, die hydrophoben Charakter aufweist, ist die mit FAA funktionalisierte Membran. Der Kontaktwinkel beträgt  $81^\circ$ , auch im Fall der chemischen Oxidation mit  $\text{NOBF}_4$  spiegelt sich das Verhalten der Hydrophobie mit der funktionalisierten FAA wider.



**Abbildung 39:** Kapillareffekte an einer  $45\ \mu\text{m}$  langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von  $40\ \text{nm}$  und einer  $10\ \text{nm}$   $\text{TiO}_2$ -Schicht vor und nach dem elektrochemischen Schalten:

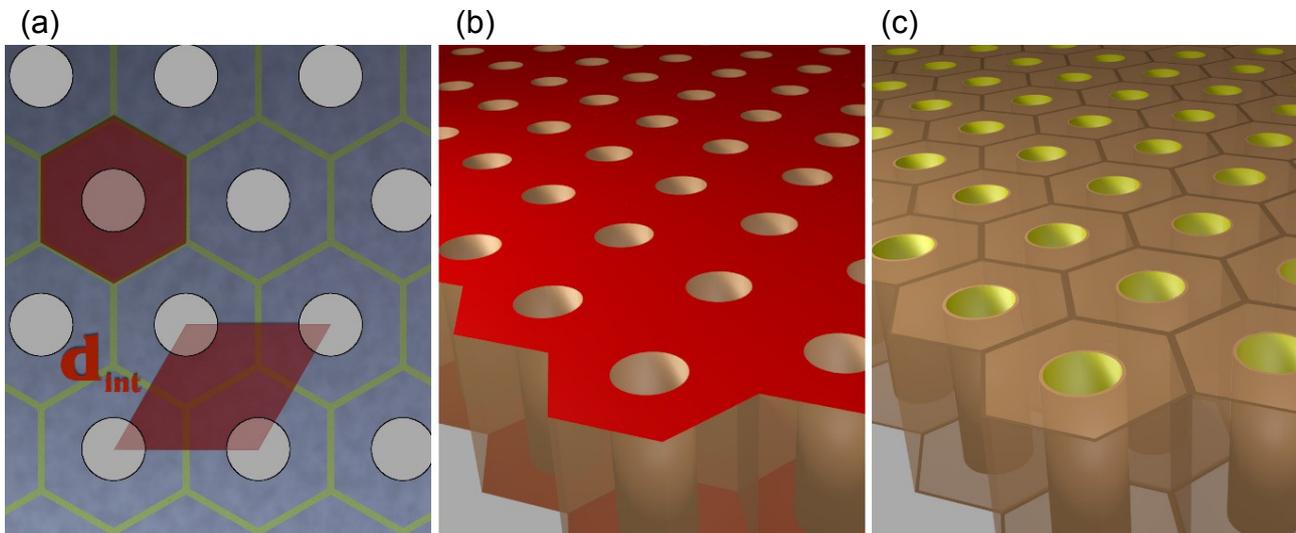
- a) AAO-Membran auf Oxalsäurebasis +  $10\ \text{nm}$   $\text{TiO}_2$  (hydrophiler Charakter:  $41^\circ$ ),
- b) +  $10\ \text{nm}$   $\text{TiO}_2$  + FAA (hydrophober Charakter:  $81^\circ$ ),
- c) +  $10\ \text{nm}$   $\text{TiO}_2$  +  $\text{FAA}^+$  + elektrochem. Schalten mithilfe der CC-Messungen (hydrophiler Charakter:  $33^\circ$ ),
- d) +  $10\ \text{nm}$   $\text{TiO}_2$  +  $\text{FAA}^+$  + elektrochem. Schalten mithilfe der CC-Messungen (hydrophiler Charakter:  $35^\circ$ )

Die Proben vor dem Schalten, nur mit der dünnen  $\text{TiO}_2$ -Schicht zeigen geringe Abweichungen im Kontaktwinkel von etwa  $10^\circ$  zu denen in Abb. 34 dargestellten Proben. Dies ist auf die etwas dünnere  $\text{TiO}_2$ -Schicht zurückzuführen. Nach dem Schalten mit  $\text{NOBF}_4$  erhält man einen Winkel von  $49^\circ$ , bei dem elektrochemischen Schalten bis zu  $2\ \text{V}$  mithilfe der Chronocoulometrie sind die Winkel um  $10 - 15^\circ$  kleiner. Bei dem elektrochemischen Schalten befinden sich die Proben in einer  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Pufferlösung (pH-Wert 7), die dieses Verhalten beeinflussen könnte.

Diese Versuche zeigen eindeutig, dass das Ändern des Oxidationszustands der funktionalisierten Moleküle durch ein elektrochemisches Schalten möglich ist.

## 4.5. Quantifizierung der funktionalisierten FAA

In vorherigen Abschnitten dieses Kapitels wurde gezeigt, wie die FAA an der Oberfläche der nanoporösen Aluminiumdioxid-Membranen gebunden werden kann und es wurden Methoden vorgestellt, wie eine anschließend erfolgte Oxidation dieser Moleküle aufgrund ihrer optischen oder magnetischen Eigenschaften bzw. ihrem Verhalten polarer Flüssigkeiten gegenüber qualitativ nachgewiesen werden kann. Im Folgenden wird ein einfaches Modell vorgestellt, das es ermöglicht, die Ergebnisse aus der UV-Vis-Spektroskopie ebenfalls für eine quantitative Analyse heranzuziehen. Die daraus gewonnenen Mengenangaben können in der Folge dafür verwendet werden, den während der CC-Messungen aufgezeichneten Ladungstransfer für die Bewertung der Effektivität des elektrochemischen Schaltens zu benutzen. Zur Quantifizierung von Molekülen gibt es unterschiedliche Methoden, hauptsächlich beschäftigt sich die Analytik mit diesen Messmethoden. Im Folgenden stelle ich Methoden vor, um die gesamte Menge der funktionalisierten FAA zu bestimmen um dann die Menge mit den geschalteten Molekülen zu vergleichen.



**Abbildung 40:** (a) schematische Darstellung einer Membran zur Bestimmung der Rauigkeit einer Membran. (b) die makroskopisch sichtbare Oberfläche des AAO (hier abzüglich der durch die Porenöffnungen verursachten Löcher in Rot dargestellt) wird durch die in (c) gelb gekennzeichnete mikroskopische Mantelfläche  $F_{mantel}$  der zylindrischen Poren stark vergrößert

### 4.5.1. Berechnung der mikroskopischen Membranoberfläche

Die gesamte für die Funktionalisierung zur Verfügung stehende Oberfläche einer Membran lässt sich durch eine mikroskopische Betrachtung der Porenstruktur abschätzen. Zur Vereinfachung wird hierbei angenommen, dass die Poren großflächig in einem hexagonalen Gitter angeordnet sind. Dies liegt zwar bei den verwendeten selbst geordneten Membranen nur in Domänen mit einer Kantenlänge von wenigen Porenabständen vor, im Mittel über die gesamte Membran gesehen ist diese Betrachtungsweise hingegen gerechtfertigt.

Sind die mikroskopischen Parameter der Membran bekannt, d.h. der mittlere Durchmesser  $d_p$  und die Länge  $l$  der Poren sowie der Abstand  $d_{\text{int}}$  zweier Porenmittelpunkte, so lässt sich die Rauigkeit  $R$  der Membran berechnen, die die Oberflächenvergrößerung aufgrund der Nanostrukturierung angibt, und später für die Quantifizierung mittels UV-Vis-Spektroskopie benötigt wird. Da sich die gesamte Membran aus einer regelmäßigen Anordnung von  $N$  der in Abb. 40(a) dargestellten Elementarzellen mit Oberfläche  $F_{\text{EZ}}$  ergibt, ist die Angabe der makroskopischen Probenfläche  $F_{\text{macro}}$ , also das sichtbare Ausmaß des verwendeten Probenstückes für explizite Berechnung von  $R$  nicht zwingend notwendig:

$$F_{\text{macro}} = N \cdot F_{\text{EZ}} \quad \text{mit} \quad F_{\text{EZ}} = \frac{\sqrt{3}}{2} \cdot d_{\text{int}}^2 \quad (18)$$

Unter Berücksichtigung der weiteren in Abbildung 40(b) und (c) veranschaulichten Teilflächen, namentlich die Mantelfläche  $F_{\text{pore}}$  einer Pore und die Kreisfläche  $F_{\text{circ}}$  der Porendflächen,

$$F_{\text{pore}} = \pi \cdot d_p \cdot l \quad , \quad F_{\text{circ}} = \frac{\pi}{4} \cdot d_p^2 \quad , \quad (19)$$

ergibt sich die mikroskopische Gesamtfläche  $F_{\text{micro}}$  der Membran durch einfaches Aufsummieren der einzelnen Beiträge:

$$F_{\text{micro}} = 2 F_{\text{macro}} + N \cdot (F_{\text{pore}} - 2 F_{\text{circ}}) \quad (20)$$

$F_{\text{macro}}$  muss in dieser Formel mit dem Faktor 2 multipliziert werden, da die Membran sowohl auf der Ober- als auch der Unterseite funktionalisiert werden kann.

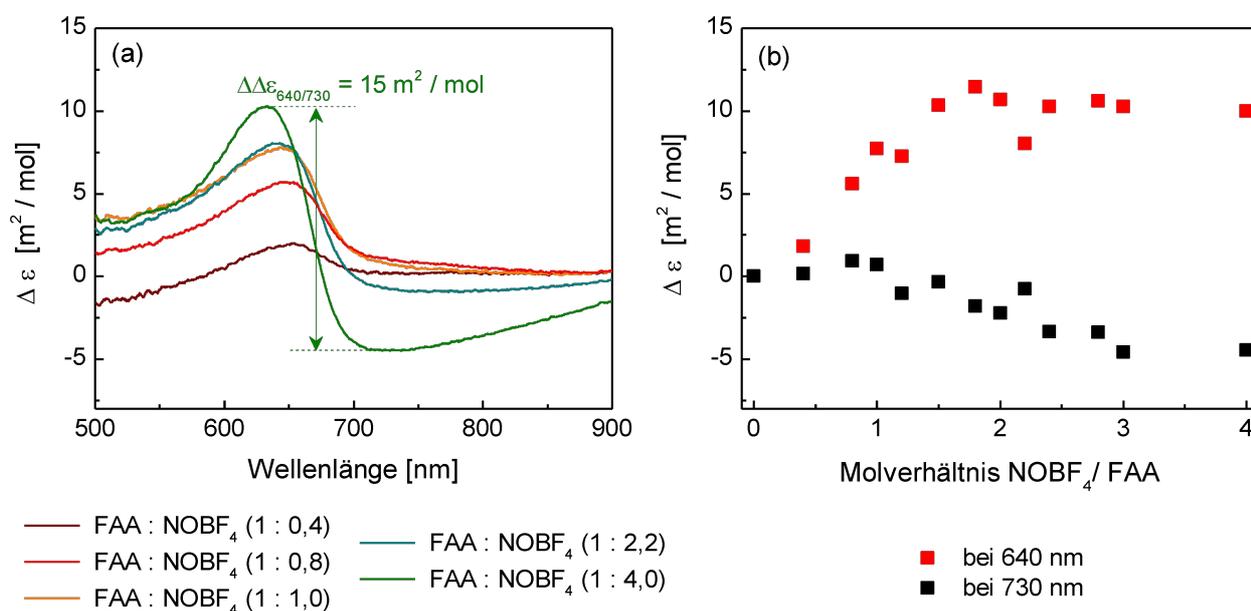
Die Rauigkeit  $R$  der Membran ergibt sich nun als Quotient aus den eben definierten mikroskopischen und makroskopischen Membranflächen:

$$R = \frac{F_{\text{micro}}}{F_{\text{macro}}} = 2 \cdot \left( \frac{1}{3} \frac{\pi d_p}{d_{\text{int}}^2} \cdot \left( l - \frac{d_p}{2} \right) + 1 \right) \quad (21)$$

Typische Werte für die Rauigkeit liegen bei den hier verwendeten AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis im Bereich von  $R \approx 10^3$ . Dies bedeutet für eine Probe der Größe  $F_{\text{macro}} = 1 \text{ cm}^2$ , dass man eine effektive Fläche von ca. 1,6 DIN A4-Seiten erhält, die für die Funktionalisierung zur Verfügung steht.

#### 4.5.2. Quantifizierung mithilfe der UV-Vis-Spektroskopie

Die im letzten Abschnitt abgeschätzte Rauigkeit einer Probe ermöglicht es nun, die erwartete optische Absorption zu berechnen, die durch die oxidierte FAA an der Membranoberfläche verursacht wird. Hierzu muss zunächst der Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  der geschalteten Ferrocenessigsäuremoleküle experimentell in dem Wellenbereich bestimmt werden, der den in Abschnitt (4.4.1) untersuchten charakteristische Absorptionsverlauf aufweist.



**Abbildung 41:** (a) Differenzspektren verschiedener Molverhältnisse von NOBF<sub>4</sub> zu FAA ( $c = 3,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$ ) in der Lösung (CH<sub>3</sub>CN:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1:1)

(b) Verlauf mit fortlaufender Oxidation im Hinblick auf das Absorptionsmaximum FAA<sup>+</sup> bei 640 nm (rot) und 730 nm (schwarz)

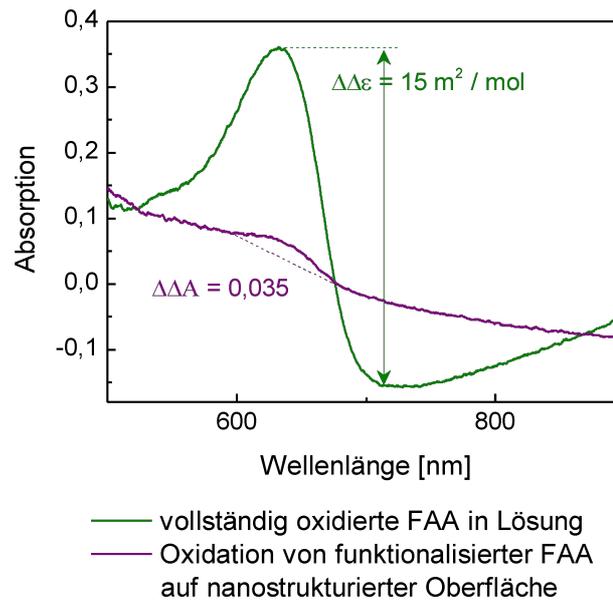
Bei den in Abbildungen 41(a) dargestellten Graphen handelt es sich um prozessierte Absorptionsspektren der FAA-Moleküle in Lösung nach der Oxidation durch Hinzugabe von

unterschiedlichen Konzentrationen des Oxidationsmittels  $\text{NOBF}_4$ . Die direkt gemessenen Absorptionskurven der Lösungen mit unterschiedlichen Mengenverhältnissen  $q_{\text{mol}}$  der gelösten Stoffe wurden zunächst mittels zusätzlich durchgeführter UV-Vis-Messungen an reinen  $\text{NOBF}_4$ -Lösungen jeweils gleicher Konzentration korrigiert. Zusammen mit der bekannten FAA-Konzentration  $c_{\text{FAA}} = 3,5 \text{ mol m}^{-3}$  und der Schichtdicke  $d_k = 1 \text{ cm}$  der Messküvette erhält man den spektralen Verlauf  $\Delta\varepsilon(\lambda)$  des Extinktionkoeffizienten durch Ferro-cenessigsäure im oxidierten Zustand in Lösung:

$$\Delta\varepsilon(\lambda) = \frac{\Delta A}{c_{\text{FAA}} \cdot d_k} = \frac{A_{\text{FAA/NOBF}_4} - A_{\text{NOBF}_4}}{c_{\text{FAA}} \cdot d_k} \quad (22)$$

In Abb. 41(b) sind die so gemessenen Werte für  $\Delta\varepsilon$  bei den Wellenlängen  $\lambda = 640 \text{ nm}$  und  $\lambda = 730 \text{ nm}$  bis zum maximalen untersuchten Molverhältnis  $\text{NOBF}_4/\text{FAA} = 4$  zusammengetragen. Mit zunehmender Menge des Oxidationsmittels steigt der ermittelte Extinktionskoeffizient bei der kürzeren der beiden betrachteten Wellenlängen fast linear an, bis dieser Wert ab etwa  $q_{\text{mol}} = 2$  stagniert.  $\Delta\varepsilon$  bei  $\lambda = 730 \text{ nm}$  wird als Bezugsgröße des Hintergrundsignals angesehen, um den Einfluss des gelösten Zustandes der  $\text{FAA}^+$ -Moleküle für die späteren Betrachtungen separieren zu können. Dass diese Annahme gerechtfertigt ist und dieser Punkt des Spektrums nicht mehr unmittelbar zur dominierenden Absorptionsbande gezählt werden kann, ist an der zunächst erfolgenden leichten Abnahme von  $\Delta\varepsilon_{730}$  mit zunehmender Menge des Oxidanten zu erkennen. Ab  $q_{\text{mol}} \approx 3$  beobachtet man auch in diesem oberen Bereich des Spektrums die Annäherung an einen konstanten Wert.

Die Differenz der Koeffizienten bei den beiden Wellenlängen unter der Annahme der bei diesem Sättigungs-Molverhältnis vollständig erfolgten Oxidation der FAA wird als Extinktionskoeffizient  $\Delta\Delta\varepsilon_{640/730} = \Delta\Delta\varepsilon = 15 \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1}$  von  $\text{FAA}^+$  festgelegt. Bei diesem Wert handelt es sich um eine Materialkonstante, welche bei gleichbleibender Analyse der vorliegenden Absorptionsspektren ebenfalls bei der Untersuchung von funktionalisierten und oxidierten AAO-Membranen Verwendung finden kann.



**Abbildung 42:** Oxidation von funktionalisierten FAA-Molekülen an einer 53  $\mu\text{m}$  langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 45 nm und einer  $\text{TiO}_2$ -Schicht von 10 nm (lila) und vollständig oxidierten FAA-Molekülen ( $c = 3,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L) in Lösung ( $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 1:1) (grün) mit bekannter Konzentration

In Abbildung 42 wird zu dem bekannten Spektrum der vollständig oxidierten FAA-Lösung auch ein Spektrum einer mit FAA funktionalisierten und oxidierten AAO-Membran gezeigt.

Für die Berechnung des Platzbedarfs eines FAA-Moleküls wird für die noch fehlende Abschätzung der Querschnittsfläche  $F_{\text{molec}}$  eine quadratische Ausdehnung des  $\text{FAA}^+$ -Moleküls mit der Kantenlänge von vier CC-Bindungen angenommen. Mit  $d_{\text{cc}} = 1,5 \cdot 10^{-10}$  m erhält man somit die von einem Molekül besetzte mikroskopische Oberfläche von

$$F_{\text{molec}}^{\text{assum}} = 3,6 \cdot 10^{-19} \text{ m}^2 \quad (23)$$

Die Lichtabsorption ist direkt proportional zur Moleküldichte auf der zu untersuchenden Oberfläche bzw. zur Molmenge  $n_{\text{FAA}^+}$  an  $\text{FAA}^+$ -Molekülen pro Fläche, durch die der Lichtstrahl in dem Spektrometer hindurchtritt. Geht man von der vollständigen Besetzung einer unstrukturierten Probe aus, so kann diese Größe direkt mit der Querschnittsfläche  $F_{\text{molec}}$  eines Moleküls berechnet werden. Bei strukturierten Proben muss die Rauigkeit  $R$  als zusätzlicher Faktor in die Formel miteinbezogen werden, da sie die effektive Moleküldichte entsprechend erhöht: Unter der Annahme, dass alle FAA-Moleküle vollständig oxidiert wurden, wird die Molmenge der makroskopischen Fläche ( $n_{\text{FAA}^+}$ ) mit folgender Gleichung bestimmt.

$$n_{\text{FAA}^+}^{\text{unstruc}} = \frac{1}{N_A \cdot F_{\text{molec}}} \quad , \quad n_{\text{FAA}^+}^{\text{struc}} = \frac{\Delta \Delta A}{\Delta \Delta \varepsilon} = \frac{R}{N_A \cdot F_{\text{molec}}} \quad , \quad (24)$$

wobei  $\Delta \Delta A$  die Höhe des Absorptionsmaximum durch  $\text{FAA}^+$  relativ zum noch vorhandenen Untergrund angibt, nachdem zuvor das Spektrum einer unbehandelten Referenzmembran abgezogen wurde. Hier erhält man folgenden Ausdruck  $n_{\text{FAA}^+} = 2,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol/m}^2$ .

Durch die bekannte Geometrie der AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit folgenden Parametern  $d_p = 45 \text{ nm}$ ,  $d_{\text{int}} = 100 \text{ nm}$  und  $l = 53 \text{ }\mu\text{m}$  errechnet sich die Rauigkeit nach Gleichung 21 der hier verwendeten Oxalsäuremembran zu  $R = 870$ .

Um das besetzte Gebiet der Membran eines  $\text{FAA}$ -Moleküls ( $F_{\text{molec}}$ ) zu bestimmen, wird die Rauigkeit der Membran durch die Avogadro-Konstante multipliziert mit der makroskopischen Molmenge dividiert:

$$F_{\text{molec}} = \frac{R}{N_A \cdot n_{\text{FAA}^+}^{\text{struc}}} \quad (25)$$

So erhält man eine Größe eines  $\text{FAA}$ -Moleküls von  $F_{\text{molec}} = 6,28 \cdot 10^{-19} \text{ m}^2$ . Dieser Wert liegt in der gleichen Größenordnung, wie schon der abgeschätzte Wert aus Gleichung 23.

Außerdem kann man einen Vergleich zwischen dem direkt ablesbaren Wert ( $\Delta \Delta A$ ) aus einem der  $\text{FAA}$ -Spektren (Membranmessung, siehe Abbildung 42) und dem theoretischen Wert der Peakhöhe ziehen, der sich anhand der Molekülgröße (mittels CC-Bindungen), der Membranparameter und der Messung bei bekannter Konzentration von  $\text{FAA}$  in Lösung ergibt.

Durch Auflösen von Gleichung 26 nach  $\Delta \Delta A$  erhält man somit einen Ausdruck für die zu erwartende Höhe des Absorptionspeaks bei der spektroskopischen Analyse einer Membranprobe:

$$\Delta \Delta A_{\text{theo}} = \frac{R}{N_A \cdot F_{\text{molec}}} \cdot \Delta \Delta \varepsilon \quad (26)$$

Oder direkt unter der Angabe der Absorption  $\Delta \Delta A_{\text{sol}}$  von  $\text{FAA}^+$  in der Referenzlösung und der hier verwendeten Konzentration  $c_{\text{FAA}}$ :

$$\Delta \Delta A_{\text{theo}} = \frac{0,1 \text{ m} \cdot R}{N_A \cdot F_{\text{molec}} [\text{m}^2] \cdot c_{\text{FAA}} [\text{mol L}^{-1}]} \cdot \Delta \Delta A_{\text{sol}} \quad (27)$$

Mit  $d_p = 45 \text{ nm}$ ,  $d_{\text{int}} = 100 \text{ nm}$  und  $l = 53 \text{ }\mu\text{m}$  errechnet sich die Rauigkeit und die erwartete Absorption der hier verwendeten AAO-Membran auf Oxalsäurebasis zu:

$$R \approx 870 \rightarrow \Delta \Delta A_{\text{theo}} \approx 0,058 \quad . \quad (28)$$

Dieser Wert kann mit dem Ergebnis Absorptionsmessungen an den Membranen verglichen werden. In Abbildung 42 ist ein solches experimentelles Ergebnis zusammen mit dem Spektrum der Referenzlösung zu sehen. Mit  $\Delta \Delta A_{\text{exp}} = 0,035 = 0,07 \Delta \Delta A_{\text{sol}}$  ist die Peakhöhe zwar wesentlich geringer als die im Referenzspektrum, hebt sich aber dennoch deutlich vom Signaluntergrund ab. Verglichen mit dem zuvor berechneten theoretischen Wert hat man im Experiment nur in etwa zwei Drittel der Absorption vorliegen:

$$\frac{\Delta \Delta A_{\text{exp}}}{\Delta \Delta A_{\text{theo}}} \approx 0,64 = f \quad (29)$$

Die wahrscheinlichste Ursache für diese Diskrepanz ist, dass der Querschnittes eines Moleküls  $F_{\text{molec}}$  als zu klein abgeschätzt worden ist, was zu einer zu großen Anzahl der an der Absorption beteiligten Moleküle in der theoretischen Betrachtung führt.

Äquivalent hierzu ist aber auch eine zu hoch kalkulierte Packungsdichte der Moleküle an der Oberfläche, da nicht sichergestellt ist, dass die fabrizierte Membran komplett mit FAA benetzt ist. Dies bedeutet, dass Fehlstellen in der Funktionalisierung vorhanden sein können. Aufgrund der Proportionalitäten in Gl. 27 kann dieser Sachverhalt mit der Einführung des obigen Verhältnisses  $f$  als Vorfaktor bei der Berechnung der Stoffmenge beschrieben werden. Dieser gibt nämlich ebenfalls den Quotienten aus relativer Restfunktionalisierung während der spektroskopischen Überprüfung und der idealen vollständigen Besetzung an.

Somit kann also die Stoffmenge an FAA auf einem Probenstück der Fläche  $F_{\text{macro}}$  angegeben werden, die während der CC-Messungen elektrochemisch oxidiert werden kann:

$$n_{\text{molec}} = \frac{f \cdot F_{\text{micro}}}{N_A \cdot F_{\text{molec}}^{\text{assum}}} = \frac{f \cdot R \cdot F_{\text{macro}}}{N_A \cdot F_{\text{molec}}^{\text{assum}}} \quad , \quad (30)$$

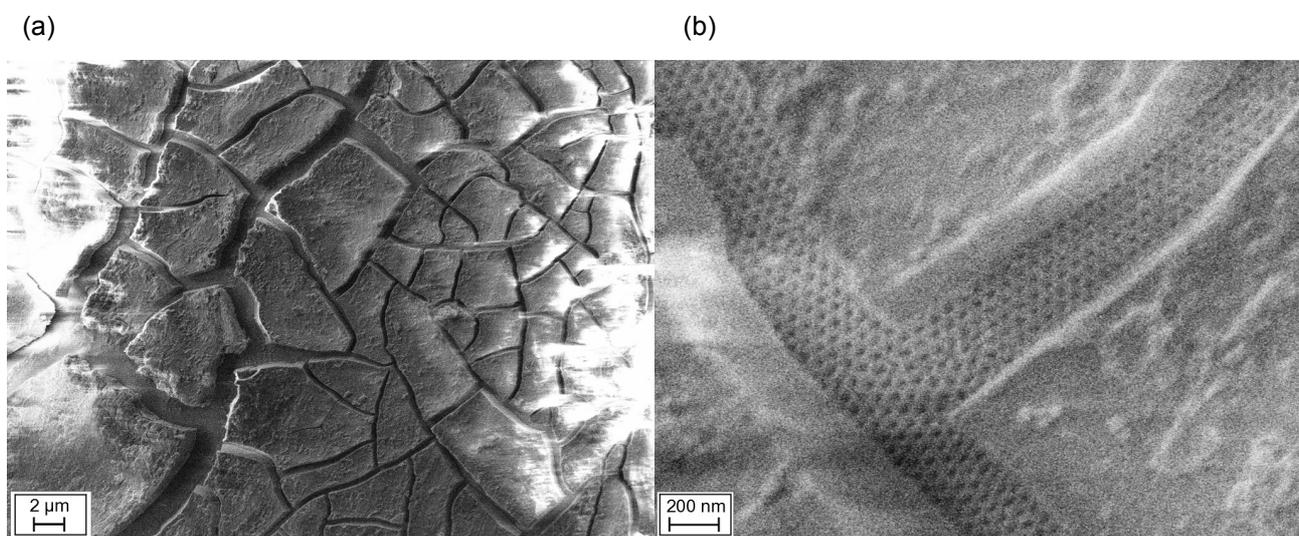
oder direkt aus den gemessenen und bekannten Größen durch Einsetzen von  $f$  und anschließend Gl. 27:

$$n_{\text{molec}} = \frac{c_{\text{FAA}} [\text{mol L}^{-1}]}{0,1 \text{ m}} \cdot \frac{\Delta \Delta A_{\text{exp}}}{\Delta \Delta A_{\text{sol}}} \cdot F_{\text{macro}} \quad . \quad (31)$$

Für die Berechnung dieser Größe ist also die Kenntnis der Membranparameter nicht nötig, sondern nur die Ergebnisse aus der Spektroskopie an der Referenzlösung und an dem verwendeten Probenstück selbst, sowie dessen makroskopischen Abmessungen.

### 4.5.3. Quantifizierung mithilfe der chemischen Analyse: Atomabsorptionsspektroskopie

Für dieses Analyseverfahren wurde eine Membran mit bekannter Geometrie mit FAA funktionalisiert und chemisch untersucht. Hierbei wird das Hauptaugenmerk auf die Menge des Eisens gelegt, um so Rückschlüsse auf die funktionalisierten FAA-Moleküle zu ziehen.

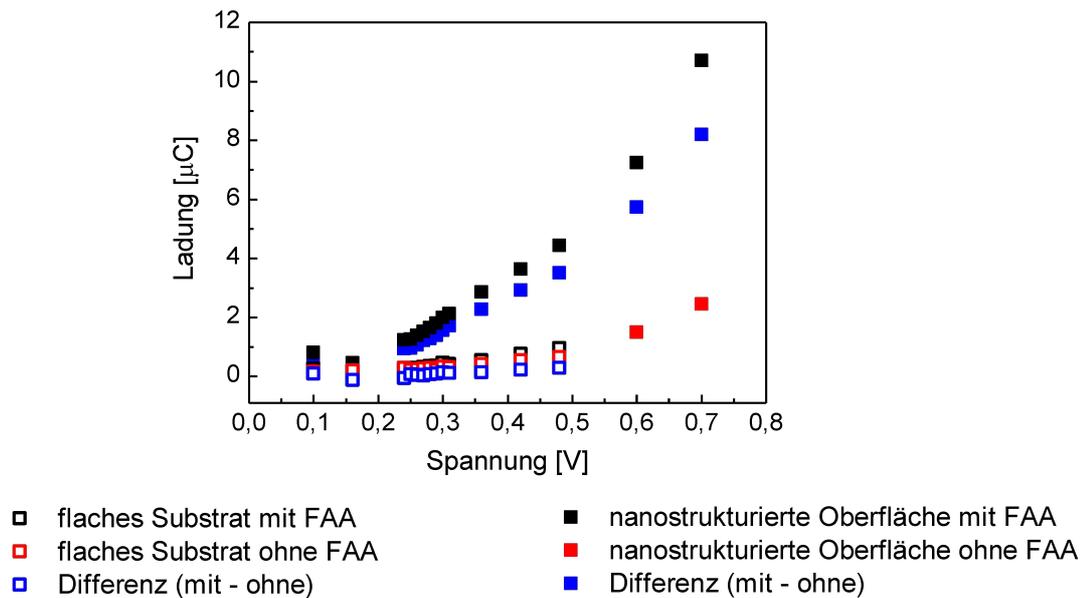


**Abbildung 43:** 45 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 20 nm und einer 12 nm TiO<sub>2</sub>-Schicht mit funktionalisierter FAA

Die Membran wurde in einer kleinen Menge Königswasser aufgelöst und auf 25 mL verdünnt ( $m_{ges} = 25$  g). Man erhält durch das Atomabsorptionsverfahren einen Wert von 4,9 ppm. Berechnet wurde allerdings ein Wert von 0,39 ppm. Bei einigen Membranen zeigte sich am Rasterelektronenmikroskop (siehe Abbildung 43) eine dünne Schicht, die auf eine Ansammlung von FAA-Molekülen zurückzuführen ist. Daher ist wohl die gemessene Menge der funktionalisierten redoxaktiven FAA etwas höher als die berechnete. Es ist vor allem an der hier gezeigten Oberfläche aufgrund von Evaporation keine Monolage vorhanden.

#### 4.5.4. Quantifizierung der geschalteten FAA mithilfe der CC-Messungen

Zur Quantifizierung der geschalteten Moleküle wird wie in Kapitel 3.3.2 vorgegangen. Das Coulomb-Gesetz (11) liegt diesem Sachverhalt zugrunde. Hierbei wird die Ladungsmenge  $Q$  durch die Faraday-Konstante  $F_k$  dividiert und man erhält die Anzahl der oxidierten Spezies. In Abbildung 44 wird der Vergleich zwischen einem flachen Substrat und einer 66  $\mu\text{m}$  langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis gemacht.



**Abbildung 44:** Vergleich von flachem Substrat ( $\text{Si-SiO}_2\text{-Cr-Au-TiO}_2$ ) zur nanostrukturierten Oberfläche (66  $\mu\text{m}$  lange AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einem Porendurchmesser von 45 nm und einer 10  $\text{nTiO}_2$ -Schicht)

Bei der nanostrukturierten Probe auf Oxalsäurebasis wird unter Berücksichtigung der mikroskopischen Fläche folgendes Verhältnis der geschalteten Moleküle dargestellt (siehe Gl. 32 Und 33).

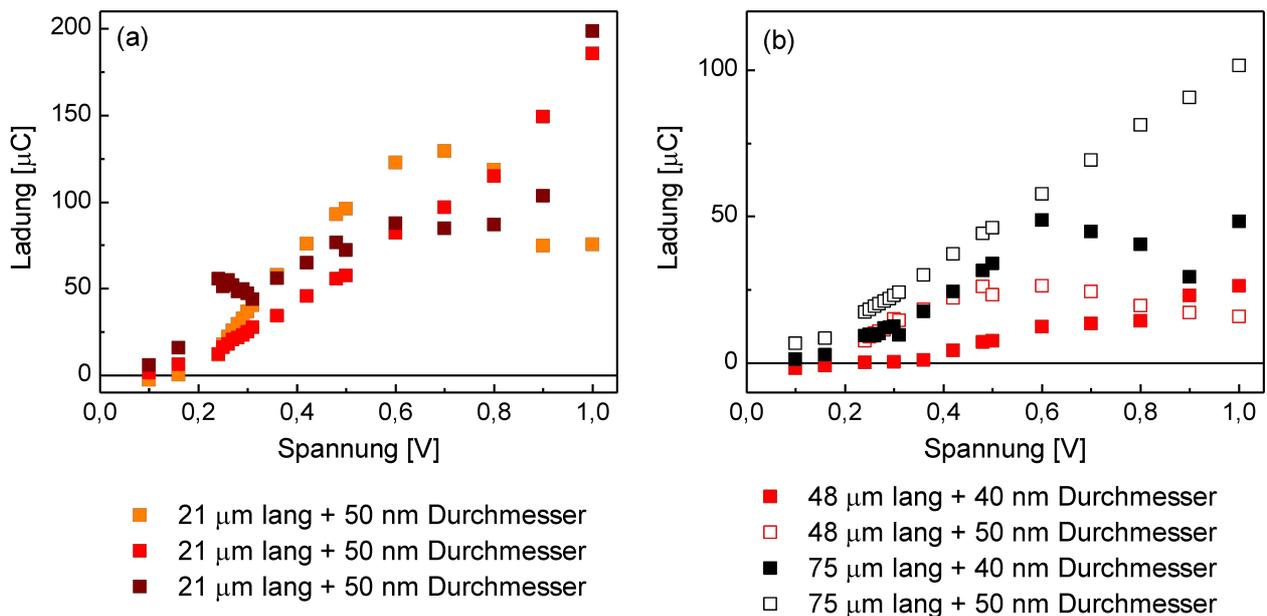
$$250 \text{ mV} = \frac{n_{\text{FAA}^+} : n_{\text{FAA}}}{1000} \quad (32)$$

$$700 \text{ mV} = \frac{n_{\text{FAA}^+} : n_{\text{FAA}}}{100} \quad (33)$$

Man sieht deutlich, dass die geschaltete Menge an funktionalisierten Molekülen um ein fünffaches höher ist als beim flachen Substrat aus Kapitel 3.3.2. Die höhere Ladungsmen-

ge der AAO-Membran liegt an der vergrößerten Oberfläche und an dem kapazitiven Stromanteil der Probe.

Des weiteren werden einige AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit unterschiedlichen Längen und Durchmessern verglichen. In Abbildung 45(a) sind drei gleich lange und gleiche Größe an Durchmessern an AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis dargestellt. Man sieht deutlich, dass sie während des elektrochemischen Schaltens etwa die gleiche Ladungsmenge bei gleicher Spannung besitzen. Dies ist ein Zeichen für die Reproduzierbarkeit der Proben.



**Abbildung 45:** (a) Reproduzierbarkeitstests von drei AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit gleichen geometrischen Parametern ( $A_{\text{mikro}} = 58 \text{ cm}^2$ )

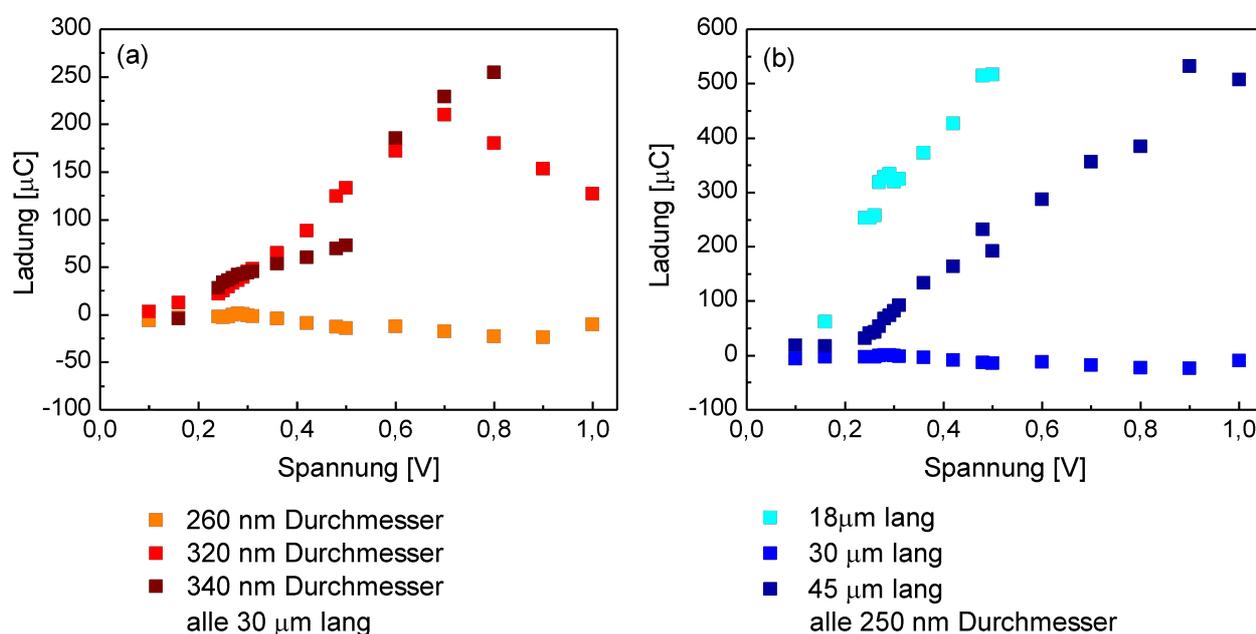
(b) Vergleich von unterschiedlichen Durchmessern und Längen einiger AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis ( $A_{\text{mikro}}$  von unten nach oben:  $106 \text{ cm}^2$ ,  $132 \text{ cm}^2$ ,  $165 \text{ cm}^2$ ,  $207 \text{ cm}^2$ )

Alle hier verwendeten AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis besitzen eine 10 nm dünne  $\text{TiO}_2$ -Schicht.

In Abb. 45(b) ist ein Vergleich von AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit unterschiedlichen Durchmessern und Längen dargestellt. In rot dargestellt sind zwei Membranen mit gleicher Länge, aber unterschiedlichen Durchmessern daraus geht hervor, dass die mit größerem Durchmesser auch eine höhere Ladungsmenge besitzt. Der gleiche Trend geht auch bei längeren Membranen (schwarz) hervor. Vergleicht man nun schwarz mit rot, also gleiche Durchmesser mit unterschiedlichen Längen, bestätigt sich auch das Verhalten. Je größer die Oberfläche, desto höher die Ladungsmenge. Betrachtet man allerdings (a) und (b), so wird deutlich, dass die kürzeren AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis eine höhere Ladungsmenge aufweisen. Entlang der Poren kommt es zu einem Potentialabfall durch

den ohmschen Widerstand in der  $\text{TiO}_2$ -Schicht. Daher weisen die kürzeren Membranen einen idealeren Verlauf auf. Es ist davon auszugehen, dass die FAA-Moleküle somit nicht die komplette Länge der Poren besetzen.

In Abbildung 46 ist ein Vergleich zwischen AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis mit unterschiedlichen geometrischen Parametern dargestellt. In Abb. 46(a) sind Membranen mit unterschiedlich weit geöffneten Porendurchmesser zu sehen. Man erkennt, dass die Ladungsmenge mit zunehmendem Durchmesser wächst. Dieser Trend ist auf die vergrößerte mikroskopische Oberfläche zurück zu führen.



**Abbildung 46:** AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis mit (a) unterschiedlichen Durchmessern ( $A_{\text{mikro}}$  von unten nach oben:  $16 \text{ cm}^2$ ,  $20 \text{ cm}^2$ ,  $22 \text{ cm}^2$ )

(b) verschiedenen Längen ( $A_{\text{mikro}}$  von unten nach oben:  $10 \text{ cm}^2$ ,  $15 \text{ cm}^2$ ,  $23 \text{ cm}^2$ )

Alle hier verwendeten Membranen besitzen eine 10 nm dünne  $\text{TiO}_2$ -Schicht.

In 46(b) sind AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis mit unterschiedlichen Längen dargestellt. Hier ist das Verhalten ähnlich, wie bei den AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis, dass die kürzeren Membranen eine höhere Ladungsmenge aufweisen. Dies lässt sich auf die Verteilung der FAA-Moleküle entlang der Poreinnenwände zurückführen. Je länger die Poren, desto schwieriger ist es, die komplette Funktionalisierung zu gewährleisten. Dies gilt auch für die, mit der ALD abgeschiedenen  $\text{TiO}_2$ -Schicht. Es kommt auch zum Potentialabfall entlang der Poren in der  $\text{TiO}_2$ -Schicht durch den Ohmschen Widerstand. Außerdem fällt auf, dass die Ladungsmenge der Phosphorsäuremembranen bedeutend größer ist als bei den AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis. Dies liegt an einer besseren und

vollständigeren Oberflächenbesetzung der Moleküle. Obwohl die Poren viel größer sind und somit die mikroskopische Oberfläche kleiner ist als bei den AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis. Die Poren werden nicht sofort bedeckt, wie es oft im Falle der AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis war.

Vergleicht man die beiden AAO-Membrantypen auf Oxalsäurebasis und Phosphorsäurebasis, so wird beispielhaft an einer 45 µm langen und mit einem Porendurchmesser von 250 nm auf Phosphorsäurebasis eine mikroskopische Fläche von 0,0023 m<sup>2</sup> berechnet. Um das Verhältnis zur Quantifizierung der geschalteten Moleküle an einer AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis durchzuführen, wird wie in Kapitel 3.3.2 vorgegangen.

$$250 \text{ mV} = \frac{n_{\text{FAA}^+} : n_{\text{FAA}}}{30} \quad (34)$$

$$700 \text{ mV} = \frac{n_{\text{FAA}^+} : n_{\text{FAA}}}{3} \quad (35)$$

Hieraus ergibt sich, dass sich auf den ersten Blick die nanostrukturierten Membranen auf Phosphorsäurebasis eher wie ein flaches Substrat unter Berücksichtigung der mikroskopischen Fläche der Membran verhalten. In der folgenden Tabelle werden die Verhältnisse aller Substrate zusammengefasst.

	<b>A<sub>makro</sub> [cm<sup>2</sup>]</b>	<b>A<sub>mikro</sub> [cm<sup>2</sup>]</b>	<b>n<sub>FAA+</sub> : n<sub>FAA</sub> bei 250 mV</b>	<b>n<sub>FAA+</sub> : n<sub>FAA</sub> bei 700 mV</b>
Flaches Substrat	0,152	-	200	bei 480 mV: 20
AAO-Membran auf Oxalsäurebasis	0,152	182,82	1000	100
AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis	0,152	23	30	3

**Tabelle 9:** Verhältnis der geschalteten Moleküle auf unterschiedlichen Templaten mithilfe der CC-Messungen quantifiziert

Trotz der größeren spezifischen Oberfläche bei den AAO-Membranen sieht man große Unterschiede. Die Probe der AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis hat eine viel geringere mikroskopische Oberfläche als die auf Oxalsäurebasis und dies wird in den CC-Messungen sichtbar.

## 4.6. Zusammenfassung und Ausblick

Die redoxaktiven funktionalisierten FAA-Moleküle an einer nanostrukturierten Oberfläche sind sowohl chemisch mit dem Oxidanten Nitrosoniumtetrafluoroborat als auch elektrochemisch durch eine angelegte Spannung über die oxidische Halbleiterschicht, die TiO<sub>2</sub>-Schicht, reversibel schaltbar.

Das Schalten der Moleküle, die an einer Oberfläche funktionalisiert sind, lässt sich auch durch die UV-Vis-Daten belegen. Dazu kann angewendet werden, dass die Oberflächeneigenschaften einer festen Probe geschaltet werden können. Man sieht eindeutig eine Änderung in der Farbe, also auch im Absorptionsspektrum und im Verhalten der Hydrophobie/Hydrophilie (siehe Abbildung 39).

Die Quantifizierung ist durch verschiedene Verfahren möglich. Hier wurden Atomabsorptionsmessungen, Abschätzungen und spektroskopische Verfahren gewählt. Aber auch elektrochemische Methoden geben Aufschluss über die Menge der geschalteten Moleküle an der Oberfläche. Die Daten liegen alle etwa in der gleichen Größenordnung. Die Quantifizierung ist mittels UV-Vis-Spektroskopie nahezu perfekt. Es ist schwierig nachzuweisen, dass es sich um eine Monolage der funktionalisierten FAA handelt. Allerdings bekommt man bei der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDX; engl.: *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*) keinen signifikanten Eisen-Peak, dieses Verhalten lässt eher auf eine Monolage schließen. Diese Methode ist nicht empfindlich genug, um das Eisen zu detektieren. Elektrochemisch kann man beweisen, dass die geschaltete Menge über das angelegte Potential einstellbar ist.

Bei den CC-Messungen kann man zusammenfassend sagen: Je kürzer die Membran, desto höher ist die Ladungsmenge der Membranen. Je größer die Oberfläche der AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis, desto mehr nimmt die Ladungsmenge (siehe Abbildung 45(b)) zu.

Die AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis haben eine geringe mikroskopische Oberfläche, allerdings eine höhere Ladungsmenge. Dieses Verhalten lässt sich auf den hohen Widerstand der TiO<sub>2</sub>-Schicht zurückführen und würde durch die Auswahl eines besser leitenden Oxids verbessert werden. In diesem Kapitel wurden die Methoden und Prozesse erfolgreich auf die Nanostrukturen übertragen. Des Weiteren sollen andere Moleküle getestet werden. Im nächsten Kapitel wird ein Enzym, die Invertase, an flache und nanostrukturierte Oberflächen funktionalisiert und auf die Aktivität hin getestet.

## **4.7. Experimenteller Teil**

### **4.7.1. Elektrochemische Oxidation von Aluminium**

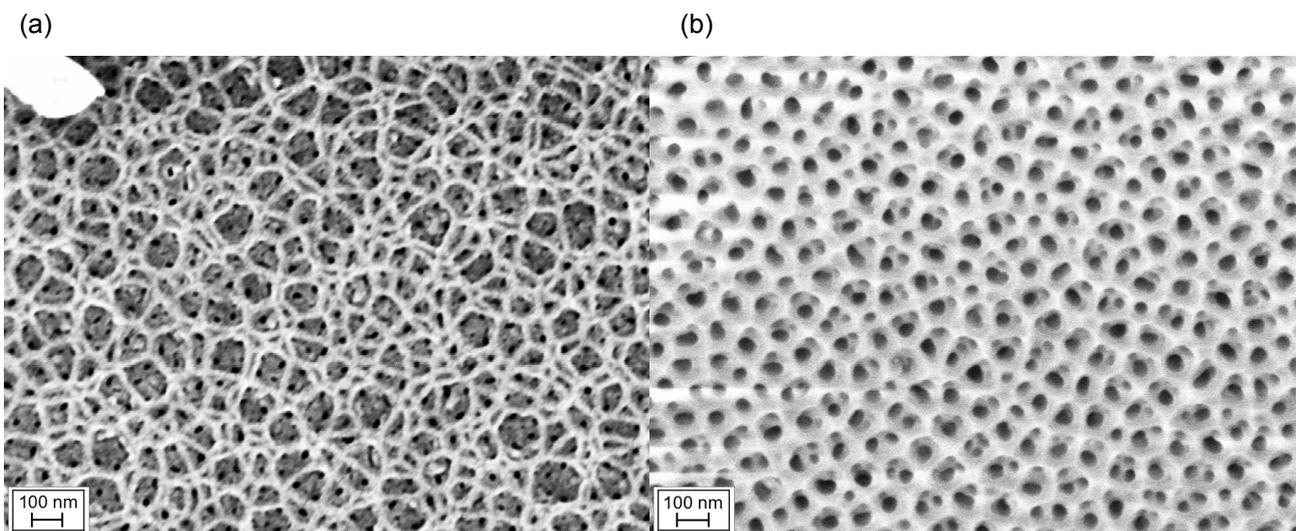
Die Basis dieser Arbeit bildet das nanoporöse Aluminiumoxid, welches hier als Templat verwendet wird. Die Geometrien dieser Struktur sind genau einstellbar mithilfe der angelegten Spannung, der verwendeten Säure und Dauer der zweiten Anodisation und machen sie somit besonders interessant. Die Herstellung der benutzten Membrantypen wird im nächsten Kapitelabschnitt dargestellt. Man erhält so unterschiedliche Längen und Porengrößen dieser Struktur.

#### **4.7.1.1. Aluminiumoxidmembranen auf Oxalsäurebasis**

Bei der Herstellung der AAO auf Oxalsäurebasis wird zunächst reines Aluminiumblech (99,999%) in  $2 \times 2 \text{ cm}^2$  oder  $4 \times 4 \text{ cm}^2$  große Quadrate geschnitten und gepresst. Es folgt eine Reinigung mit dest. Wasser und Ethanol, um Staub und Klebstoffreste zu entfernen. Die gesäuberten Al-Plättchen werden in die Anodisationsbecher (siehe Abb. 6) für  $4 \times 2 \text{ cm}$  Membranen oder  $1 \times 4 \text{ cm}$  Membranen eingebaut. Zunächst werden die Al-Plättchen für fünf Minuten und bei 20 V elektropoliert mit einem Perchlorsäure-/Ethanolgemisch (Verhältnis: 1:3). Alle 30 s ändert der Rührer die Richtung, um eine homogene Zirkulation zu gewährleisten. Die Spannung wird erstmal niedrig gehalten etwa bei 3,6 V, damit sich ein Gleichgewicht einstellen kann und der Strom nicht zu schnell steigt. Zunächst fällt der Strom auf 0,8 A und steigt dann nur noch sehr gering. Der Strom sollte nicht über 2 A hinausgehen. In der Regel erhält man nach Einstellung des stationären Zustands einen Strom von 1 - 1,5 A. Das Elektropolieren wird verwendet, um eine ungleiche Oberfläche zu begradigen, dabei erwärmt sich die Lösung, daher wird die Lösung nach Gebrauch wieder in den Kühlschrank gestellt, bevor sie weiterverwendet wird. Das sorgt für ein nicht so schnelles Einsteigen des Stroms. Es wird anschließend mit dest. Wasser gereinigt.

Für die eigentliche Anodisation werden nun die Anodisationsbecher auf die Kühlplatten gestellt und mit 0,3 M Oxalsäure befüllt und auf  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  herunter gekühlt, wobei der Umlaufkühler auf etwa  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  eingestellt wird. Die Becher werden mit einem isolierten Deckel, der einen Rührer beinhaltet versehen und es wird eine Spannung von 40 V angelegt. Der Strom pro Becher liegt bei etwa 0,01 - 0,02 A, für das ganze Set wird ein Maximalstromwert eingestellt, um bei einem eventuellen Durchbrennen der Zellen den Schaden gering zu halten. Der interne Porenabstand liegt bei dieser Spannung bei etwa 100 nm. Die erste Anodisation läuft für 18 - 20 h. Anschließend werden die Anodisationsbecher mit dest. Wasser gespült.

Die Struktur nach der ersten Anodisation ist ungeordnet. Die hexagonale Ausrichtung der Poren kommt erst am Ende, also am Boden zustande. Das restliche Aluminiumoxid wird im Wärmeschrank bei 45 °C ohne Rühren durch Chromsäure aufgelöst. Das vollständige Auflösen des Aluminiumoxids kann bis zu 18 h dauern, dabei werden die Anodisationsbecher mit Petrischalen bedeckt, damit es nicht zu Verdunstungen kommt. Man kann nachdem man mit dest. Wasser gespült hat, feststellen ob die Anodisationsbecher lange genug in Chromsäure waren, indem man die Membranen mit Druckluft trocknet. Wenn sie glänzend erscheinen, sind sie in der Regel in Ordnung, sind sie allerdings trüb vor allem am Rand und es bildet sich ein trüber Ring, deutet es auf ein nicht vollständiges Auflösen des Aluminiumoxids hin und die Becher werden mit Chromsäure noch für einige Stunden zurück in den Wärmeschrank gestellt. Dies hat sich mithilfe des REM`s bestätigt (siehe Abbildung 47(a)). An den Stellen, wo es trüb ist, gibt es eine Art Überwuchs, der wie eine Anhäufung von langen Fäden aussieht. Es ist das noch nicht abgelöste Aluminiumoxid, das sich ungeordnet an der Oberfläche ansammelt. Außerdem gab es weitere Fehlorderungen, die viel mehr Poren aufweisen als normal. Dies liegt an einer unterbrochenen Anodisation und dem Ausbau der Aluminum-Plättchen. Daher werden bei einer erneut durchgeführten Anodisation neue Poren gebildet. Dies führt zu einer doppelten Besetzung der Poren und somit erhält man teilweise vier Poren in einer Pore (siehe Abbildung 47(b)).



**Abbildung 47:** Fehlorderungen bei der Herstellung von AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit (a) 54  $\mu\text{m}$  Länge und (b) 45  $\mu\text{m}$  Länge; Porendurchmesser ist nicht bestimmbar

Die zweite Anodisation wird wie die erste durchgeführt, wobei die Dauer der zweiten Anodisation die Länge der Poren bestimmt. Die Wachstumsgeschwindigkeit beträgt etwa 3  $\mu\text{m}$  pro Stunde bei konstantem Stromfluss.

#### **4.7.1.2. Aluminiumoxidmembranen auf Phosphorsäurebasis**

Die Herstellung der AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis erfolgt ähnlich, wie die der AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis. Nachdem Reinigen und Elektropolieren der Aluminiumplättchen werden die Anodisationsbecher auf 2 - 3 °C gekühlt, wobei der Umlaufkühler auf -0,5 °C eingestellt wird. Die Konzentration bei den AAO-Membranen auf Phosphorsäurebasis ist geringer und wird bei der ersten Anodisation in zwei Hälften dazugegeben. Zu den herunter gekühlten 100 mL dest. Wasser gibt man beim Erreichen der Temperatur 0,345 mL Phosphorsäure hinzu. Dann wird etwa nach 1,5 h, da die Temperatur durch die Zugabe der Säure erhöht wird, eine Spannung von 195 V angelegt und beim Einpendeln des Stroms gibt man die andere Hälfte der Phosphorsäure hinzu. Die erste Anodisation läuft etwa 20 - 24 h nach Zugabe beider Hälften Säure. Auch hier erfolgt im Anschluss die Behandlung mit Chromsäure im Wärmeschrank bei 45 °C für mindestens 18 h ohne Rühren, um das Aluminiumoxid aufzulösen, da sich die hexagonale Anordnung der Poren erst in der Tiefe ausbildet.

Die Dauer der zweiten Anodisation bestimmt auch hier die Länge der Poren und man geht ähnlich wie bei der ersten Anodisation vor. Der einzige Unterschied ist nachdem die Anodisationsbecher mit dest. Wasser herunter gekühlt sind, gibt man die vollständige Menge der Phosphorsäure 0,688 mL hinzu und wartet, dass sich die Temperatur wieder bei 2 °C einpendelt. Danach wird die Spannung von 195 V angelegt und die Wachstumsrate der Porenlänge beträgt hier auch etwa 3 µm pro Stunde.

#### **4.7.2. Herstellung der Elektropolierlösung**

Für die Lösung zum Elektropolieren wird eine Perchlorsäure/Ethanol-Lösung verwendet. Dafür wird ein Teil (50 mL) Perchlorsäure und drei Teile (150 mL) Ethanol langsam unter ständigem Rühren vermengt.

#### **4.7.3. Herstellung der Chromsäure**

Es werden 1,8 g Chromtrioxid mit 4,15 mL (7,1 g) 85% Phosphorsäure eingewogen und anschließend mit dest. Wasser auf 100 mL aufgefüllt.

#### **4.7.4. Herstellung der sauren Kupferchlorid-Lösung**

Es werden 13,6 g Kupferchlorid Dihydrat eingewogen, mit 400 mL dest. Wasser vermengt und unter ständigem Rühren werden vorsichtig 100 mL Salzsäure hinzugefügt.

#### 4.7.5. ALD-Prozess von TiO<sub>2</sub> in Membranen

Der Prozess von Titandioxid ist der gleiche, wie in Kapitel 3.5.1. Die Prozesszeiten ändern sich allerdings, da die Struktur komplexer ist, daher sind die Verweilzeiten ( $t_{\text{exposure}}$ ) länger gewählt. Das liegt daran, dass die Prekursoren genügend Zeit haben auch in langen Poren zu reagieren.

	T <sub>Prekursor</sub>	T <sub>Ventil</sub>	T <sub>Kammer</sub>	T <sub>Abgas</sub>	t <sub>open</sub>	t <sub>exposure</sub>	t <sub>pump</sub>
H <sub>2</sub> O	40 °C				0,5 s	60 s	80 s
Ti(iOPr) <sub>4</sub>	90 °C	105 °C	120 °C	100 °C	2 s	60 s	80 s

**Tabelle 10:** Temperaturen und Zeiten des ALD-Prozesses von Titandioxid auf Membranen

#### 4.7.6. Annealing der Nanostrukturen

Die Nanostrukturen werden hochkant in kleine Porzellantiegel gestellt und dann im Ofen für 1 Stunde auf 400 °C gebracht und dann für 4 weitere Stunden bei 400 °C unter Stickstoff getempert. Anschließend wird die Temperatur des Ofens in etwa 3 Stunden auf Raumtemperatur gebracht. Das langsame Aufheizen und Abkühlen der Nanostrukturen ist besonders wichtig, damit die Membranen nicht brechen oder sich aufrollen. Wenn dies nicht geschah, platzten sie in der Mitte auf und rollten sich zum Aluminiumrand hin auf. Die hochkante Position zeigte auch mehr Erfolge als wenn man die Membranen auf den sehr heißen Boden des Ofens legte. Wenn es möglich war, wurde auf die Herstellung sehr dünner Membranen verzichtet.

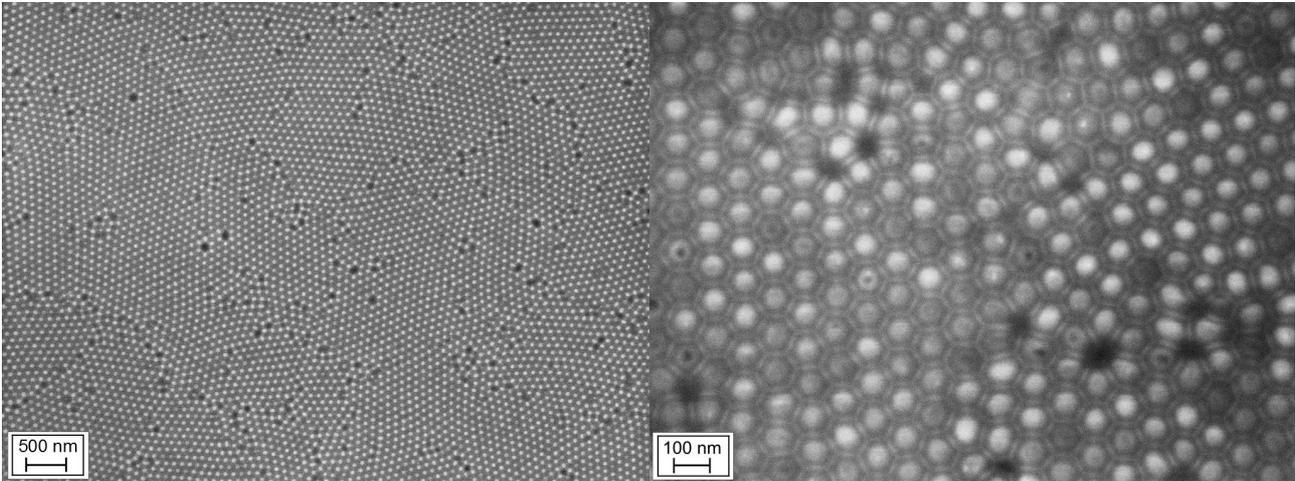
#### 4.7.7. TEM-Probenvorbereitung

Zur Vorbereitung für die TEM-Bilder werden die Membranen in Chromsäure gelöst, um so die einzelnen Röhrchen der Membranen zu untersuchen. Anschließend wird die Lösung in Eppendorfer-Gefäße überführt. Die Lösung wird zentrifugiert, um die kleinen Röhrchen am Boden der Eppendorfer-Gefäße zu erhalten. Die überschüssige Lösung wird abgenommen und erneut mit Wasser versetzt bis der pH-Wert 7 erreicht war. Dann wird mit Ethanol aufgefüllt. Mit einer kleinen Mikropipette wird ein Tropfen der Lösung auf ein TEM-Grid gegeben und für ein paar Minuten getrocknet.

### 4.7.8. Elektrochemische Goldabscheidung

(a)

(b)



**Abbildung 48:** 45  $\mu\text{m}$  lange AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einer dünnen Goldschicht, mit einem Porendurchmesser von 40 nm, einer 10 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht und mit einer dünnen Goldschicht bei verschiedenen Vergrößerungen

Die Membranen werden von verschiedenen Winkeln mit einer dünnen Goldschicht (3x 60 s) besputtert und anschließend für die elektrochemische Goldabscheidung in einen Becher (siehe Kapitel 2.7.1) eingespannt. Das Verfahren wurde in Kapitel 3.5.6 näher beschrieben. In Abbildung 48 sieht man eine AAO-Membran auf Oxalsäurebasis mit einer dünnen Goldschicht.

## 5. Invertasen als funktionelle Oberfläche

In den vorherigen Kapiteln wurde die Redoxaktivität von Molekülen, wie z.B. der Ferrocen-essigsäure, an flachen und nanostrukturierten Substratoberflächen näher beschrieben. Es wurde ein relativ kleines, stabiles redoxaktives Molekül an die Oberfläche funktionalisiert und durch ein angelegtes, elektrisches Potential geschaltet. Das dadurch veränderte Verhalten zeigt auch Wirkung in den physikalischen Eigenschaften, wie man in Kapitel 4 sehen kann. In diesem Kapitel soll nun ein komplexes Makromolekül, das Enzym Invertase, an flache und nanostrukturierte Oberflächen mit einem Linker angebunden werden und auf seine Aktivität hin untersucht werden. Bei diesem Säure-Base-Enzym wird die Aktivität mithilfe eines Glucose-Assays nach Sumner bestimmt. Diese Methode wird mit der UV-Vis-Spektroskopie analysiert. Des Weiteren wird ein weiterer ALD-Prozess von Siliziumdioxid ( $\text{SiO}_2$ ) [127] auf die unterschiedlichen Template angewandt. Somit wird die Aktivität nicht nur im Hinblick auf die Substrate (flach und nanostrukturiert), sondern auch auf das Anbinden an die Oxidoberfläche ( $\text{TiO}_2$  und  $\text{SiO}_2$ ) untersucht.

### 5.1. Einleitung

Enzyme sind Biokatalysatoren, die bestimmte Reaktionen beschleunigen. Sie sind substrat- und wirkungsspezifisch [128,129]. Sie reagieren sehr sensibel auf ihre Umgebung. Die Temperatur [130,131], sowie der pH-Wert [132] sind von großer Bedeutung, um eine enzymkatalysierte Reaktion ablaufen zu lassen. Durch extreme Bedingungen verlieren sie ihre Aktivität und können auch ihre chemische Struktur verändern (Denaturierung). Somit können sie nicht mehr ihre spezifischen Reaktionen eingehen [128,129]. Der Einsatz von Enzymen aufgrund ihrer hohen Kosten und Instabilität ist in der Industrie als Biosensoren und im pharmazeutischen Bereich eher selten [133]. Um den Einsatz zu erleichtern, werden geeignete neue Methoden gesucht, um die Enzyme auf Template zu funktionalisieren [134-136]. Die Herausforderung besteht darin, sie nach der Reaktion wieder zu isolieren, da die meisten Enzyme nur im wässrigen Medium löslich sind. Daher gewinnt die Verwendung von Lösungsmitteln [137,138] und immobilisierten Enzymen an festen Strukturen immer mehr an Bedeutung [139]. Die Vorteile sind ein einfaches Entfernen der Enzyme, längere Lebensdauer der Enzyme und größere thermische Stabilität bei höheren Prozess-temperaturen. Dadurch steigt der Umsatz der Produktion und auch eine schnellere Isolierung des gewünschten Produkts ist möglich [140,141].

Bei der häufigsten Anwendung werden die Enzyme bei dem Prozess der Enzymimmobilisierung auf anorganische Matrizen, wie z.B. auf Gold-Nanopartikel, mesoporöse Siliziumgerüste oder auf Kohlenstoffnanoröhrchen aufgebracht. Sie werden dann als Biosensoren, Enzymelektroden und Biokatalysatoren verwendet [142-144].

Im Folgenden wird die Funktionalisierung mit dem Enzym Invertase an flachen Substraten, wie auch an den Aluminiumoxidmembranen vorgestellt. Invertase ist ein komplexeres und empfindlicheres Makromolekül als die redoxaktive Ferrocennessigsäure aus dem vorherigen Kapitel 4.

Die Funktionalisierung an die Substratoberfläche erfolgt hier über einen Linker, wie in Abschnitt 5.2 beschrieben wird. Außerdem wird die Umsetzung zur Glucose dokumentiert und ein Vergleich der funktionalisierten Oberfläche vorgenommen.

In der Gruppe von Dr. James Mdoe werden Arbeiten mit Invertasen an porösem  $\text{SiO}_2$  mit unterschiedlichen Porendurchmessern durchgeführt [145]. Während eines Aufenthaltes von Dr. Mdoe in Hamburg und danach wurden diese Arbeiten auf flache Substrate und auf die porösen Aluminiumoxidmembranen übertragen und erweitert. Die Größe der funktionalisierten Invertasen wurde charakterisiert. Außerdem wurde die Art des Substrats variiert vom flachen Substrat bis zur nanostrukturierten Membran. Auch die Art des Oxids, an der die Invertasen immobilisiert werden, wurde geändert, um später die Aktivität der Enzyme unter den unterschiedlichen Bedingungen vergleichen zu können.

In dieser Arbeit wird besonderes Augenmerk auf den

- Nachweis und die Quantifizierung der Anbindung an  $\text{TiO}_2$  (auf flache Substrate) und
- die Quantifizierung der Aktivität an flachen und strukturierten Oberflächen gelegt.

## 5.2. Funktionalisierung der Linker und Enzyme

Als flache Substrate wurden Si-Wafer mit einer kommerziellen 200 nm  $\text{SiO}_2$ -Schicht verwendet. Des weiteren wurden sie mit einer etwa 10 nm dünnen  $\text{SiO}_2$ - oder  $\text{TiO}_2$ - Schicht mit Hilfe der ALD beschichtet. Auch die Aluminiumoxidmembranen mit verschiedenen Längen und Durchmessern wurden mit einem dünnen  $\text{SiO}_2$ - oder  $\text{TiO}_2$ -Film mit Hilfe des ALD-Reaktors überzogen. Die Substrate werden in drei Teilschritte (siehe Kapitel 5.6) bis zur Immobilisierung der Enzyme unterteilt [145].

1) Funktionalisierung der Oberfläche mit 3-Aminopropyltrimethoxysilan (APTMS): Auf der einen Seite gehen die Hydroxylgruppen der Substratoberfläche mit den Methoxygruppen des APTMS eine kovalente Bindung ein. Durch dieses Anhaften des APTMS an der Oberfläche wird eine Polysiloxan Schicht ausgebildet.

2) Reaktion mit dem Linker Glutaraldehyd: Der Glutaraldehyd dient hier als Linker, also zum Vernetzen der Substratoberfläche mit den Enzymen. Eine der beiden reaktiven Aldehydgruppen des Glutaraldehyds reagiert mit der Aminogruppe des APTMS, die andere im nächsten Schritt mit dem Enzym.

3) Immobilisierung der Enzyme: Eine Imin-Einheit der Invertase reagiert mit der noch freien Aldehydgruppe des Linkers zum gesamten enzymimmobilisierten Substrat, welches so für die strukturelle und funktionale Charakterisierung eingesetzt wird.

### **5.3. Strukturelle Charakterisierung der Linker- und Enzymschicht**

Nach Ausführung der im vorherigen Abschnitt beschriebenen Teilschritte wird als Ergebnis eine homogen ausgeprägte Schicht über den gesamten Untergrund hinweg angenommen. Tatsächlich sind selbst beim Benetzen des Linkers und bei der Immobilisierung von Enzymen auf sehr planaren Oberflächen, wie sie in Form der Siliziumdioxid-Substrate vorliegen, keine gleichförmigen Resultate aufgrund von fehlenden reaktiven Oberflächengruppen oder zu geringer Oberflächenenergie [146-148] zu erwarten. Es liegt eine Dickenvariation über den Bereich vor. Zum anderen liegt dies an der im Vergleich zum APTMS und des verwendeten Linkers großen räumlichen Ausdehnung dieser Biomoleküle. Invertase besitzt eine Primärstruktur von 513 Aminosäuregruppen und somit einem Volumen von ca.  $6,3 \times 4,3 \times 4,5$  nm (Invertase aus *T.maritima*) [149]. Dies führt im Vergleich zu der, in den Kapiteln 3 und 4, behandelten Ferrocenensigsäure zu unvollständigen Abdeckung der Oberfläche. Im Gegensatz dazu, kann unzureichendes Spülen während der Prozessierung (siehe Kapitel 5.6.1) die Bildung von Rückständen aus Linkermolekülen und Enzymen hervorrufen, die keine kovalenten Bindungen eingegangen sind. Dies kann zu hohen Schwankungen der Dicke der organischen Schicht führen.

Um Rückschlüsse auf eine geglückte Synthese ziehen zu können und die erzeugten funktionalisierten Oberflächen von ihrer Topographie her charakterisieren zu können, wurden zwei Messmethoden angewandt. Die spektroskopische Ellipsometrie (siehe auch Kapitel 2.8.3 und 3.2.1.1) und die Rasterkraftmikroskopie (siehe Abschnitt 2.8.11) lassen unabhängig voneinander eine Schichtdickenbestimmung zu und werden im unteren Abschnitt detaillierter erklärt.

#### **5.3.1. Spektroskopische Ellipsometrie**

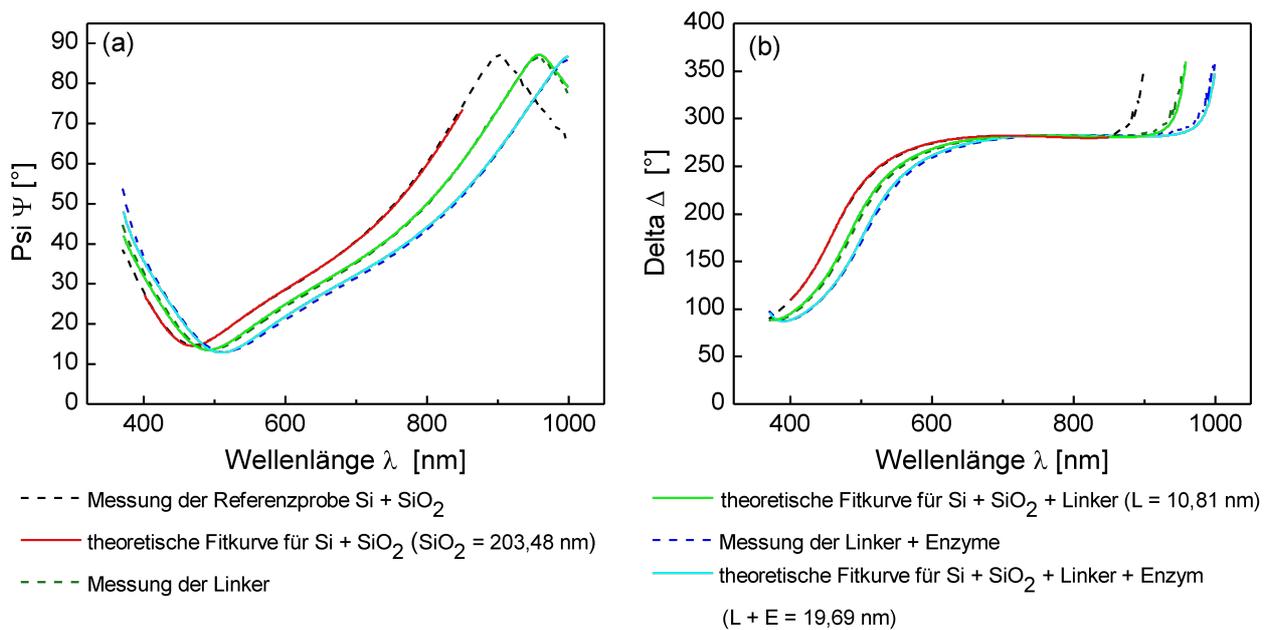
Die Ellipsometrie wird neben der schon in Kapitel 3 durchgeführten Charakterisierung von transparenten Oxiden und deren Schichtdicken auch bei der Vermessung einer Vielzahl

von organischen Materialien [150,151] und Biomaterialien [152-155] erfolgreich angewendet. Hierbei müssen aber einige besondere optische Eigenschaften dieser Schichten in Betracht gezogen werden, die eine mögliche Fehlerquelle darstellen können: Viele organische Materialien zeigen eine starke optische Anisotropie. Deshalb muss eine erweiterte Analyseverfahren in Betracht gezogen werden.

*"In actual analysis, film thicknesses of  $d > 100 \text{ \AA}$  are generally required for mathematical inversion. When the dielectric function of an inversion layer is quite different from that of an underlying layer, however, mathematical inversion can be performed even at  $d \sim 50 \text{ \AA}$ . If optical models are too simplified, anomalous structures appear in extracted dielectric functions and correct dielectric functions cannot be determined."* [93, S. 203]

Wird der Brechungsindex aber weitestgehend als isotrop angenommen, z.B. für amorphes  $\text{SiO}_2$ , polykristallines  $\text{TiO}_2$  oder willkürlich orientierte Moleküle, so ist das herkömmliche verwendete optische Standardmodell, welches die Grundlage vieler Computerprogramme zum Fitten optischer Spektren bildet, für die Schichtdickenbestimmung ausreichend [156]. Des Weiteren liegen gewöhnlich kleine dielektrische Konstanten und somit ein niedriger Realteil des Brechungsindex  $n$  vor, welcher mit dem Wert von Siliziumdioxid ( $n = 1,46$  bei  $633 \text{ nm}$ , Luft  $n = 1,002$  bei  $589 \text{ nm}$ , ITO  $n = 1,7$  bei  $633 \text{ nm}$ , Glycerin  $n = 1,47$  bei  $589 \text{ nm}$ , PMMI ein thermoplastischer Kunststoff  $n = 1,53$  bei  $589 \text{ nm}$ ) vergleichbar ist. Hat aber das Substrat und die zu untersuchende Schicht nahezu identische optische Konstanten, so ist technisch nur eine von einander unabhängige Bestimmung von  $n$  und  $d$  bei Schichtdicken  $> 10 \text{ nm}$  praktikabel [93]. Eine Verbesserung kann man durch alternative Substrate (z.B. Metalle) erzielen, die einen hohen Brechungsindex besitzen. Diese sind aber nicht für die in diesem Kapitel durchgeführte Funktionalisierung aufgrund fehlender OH-Gruppen verwendbar. Bei sehr dünnen Schichten sind die Ergebnisse der Ellipsometrie also nicht eindeutig, womit zu deren Verifizierung andere Methoden herangezogen werden müssen. Der niedrige Brechungsindex der organischen Materialien hat aber auch einen entscheidenden Vorteil. Er führt dazu, dass die Oberflächenrauheit nur einen vernachlässigbaren Effekt auf die ellipsometrischen Größen hat [93], wodurch sie nicht bei der Analyse berücksichtigt werden muss.

Die nach den in Abschnitt 5.6.1 beschriebenen Schritten erzeugten Proben auf flachen Substraten wiesen bei der Betrachtung im Tageslicht die für dünne Schichten variabler Dicke charakteristischen Interferenzeffekte in Form von irisierender bunter Färbung auf. Für die Messung am Ellipsometer wurden Si-Wafer Stücke einmal blank, mit Linker und zusätzlich mit dem Enzym vermessen. Um einen Überblick über die entstandenen Dicken zu bekommen, ist man bei den Messungen und der Auswertung am Ellipsometer wie folgt vorgegangen:



**Abbildung 49:** Ellipsometrische Größen (a) Psi und (b) Delta, aufgetragen gegen die Wellenlänge: Modell und gefittete Dicken von SiO<sub>2</sub>, Linker und Linker und Enzym

Zunächst wurde die Dicke der SiO<sub>2</sub>-Schicht des thermisch oxidierten Silizium-Wafers zu  $d_{\text{SiO}_2} = 203,5$  nm bestimmt, um das optische Modell durch sukzessive Einbeziehung aller folgenden Schichten optimal anpassen zu können (siehe Abbildung 49, schwarz-rot). Durch die Vorabmessung dieses Referenzwafers wird die spätere Anzahl von freien Fitparametern deutlich reduziert, womit ein verlässlicheres Endresultat für die organischen Schichten erzielt wird.

Um das Modell noch weiter zu vereinfachen, wurde sowohl für den Linker, als auch für das Enzym ein konstanter Brechungsindex von  $n = 1,5$  im betrachteten Spektralbereich angenommen. Somit geht man von einer verschwindenden Dispersion aus. Ebenso wurde die Lichtabsorption durch alle Schichten im verwendeten Wellenlängenbereich als vernachlässigbar festgelegt (Extinktionskoeffizient  $k = 0$ ). Daraus resultiert, dass man mit einem sehr einfachen Modell die aufgenommenen Spektren von Linker und Enzym nur die Schichtdicke über den gesamten Bereich gleichzeitig anfitzt und den Brechungsindex konstant lässt.

Für die mit dem Linker behandelten Wafer erhält man an mehreren vermessenen Positionen eines einzelnen Wafers höchst unterschiedliche Werte, was die eingangs vermutete Dickenvariation bestätigt. In Tabelle 11 sind die vorkommenden Extremalwerte der reinen Linker-Schichtdicke und der resultierende Mittelwert aufgelistet. Aufgrund dieser Erkenntnis erweist es sich als sinnvoll, die hinzukommende Enzymschicht nicht als unabhängige Schicht in das optische Modell einzubauen, sondern sie mit dem Linkerfilm zusammenzu-

fassen. Eine solche Analyse ist aufgrund des als gleich groß festgelegten Brechungsindex der beiden Moleküle möglich. Dass dieses äußerst vereinfachte optische Modell noch einen Fit mit sehr geringer Abweichung an die aufgenommenen Spektren zulässt, ist in Abbildung 49 zu sehen. Die beiden exemplarischen Spektren für die Proben mit Linker und diejenigen mit zusätzlich gebundenem Enzym können durch die Simulation nahezu perfekt wiedergegeben werden (siehe Abbildung 49, grün: Linker; blau: Linker und Enzym).

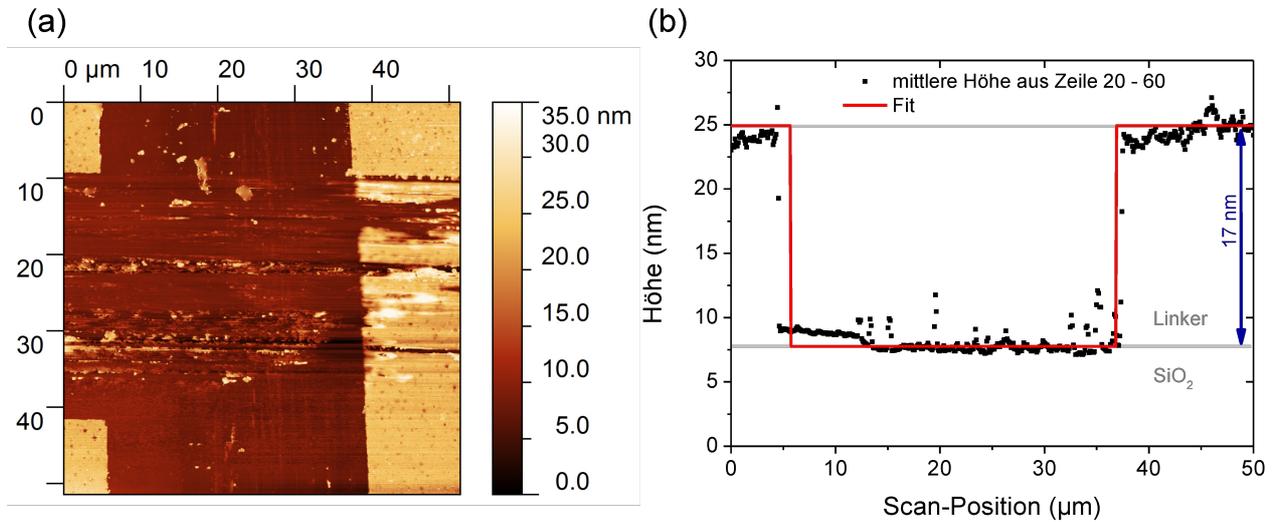
Die bei dieser kombinierten Schicht auftretenden Filmstärken sind ebenfalls in Tabelle 11 zusammengefasst. Die Werte der Enzymschichtdicke (Enzyme) sind aus den gemessenen Daten berechnet. Subtrahiert man den Mittelwert  $\bar{d}_{\text{Linker}}$  von der mittleren Dicke  $\bar{d}_{\text{Linker+Enzym}}$ , so resultiert daraus eine abgeschätzte Enzymlänge von  $\bar{d}_{\text{Linker}} = 25,5$  nm. Der Literaturwert des Volumens von Invertase aus *T.maritima* beträgt  $6,3 \times 4,3 \times 4,5$  nm [149], somit ist die Länge eines Monomers um ein 4faches kleiner als bei den gemessenen Werten, liegt aber im Bereich der errechneten Enzymschichtdicke.

	Linker	Linker + Enzym	Enzym
$d_{\min}$ [nm]	6	20	14
$d_{\max}$ [nm]	16	55	39
$d_{\text{mittel}}$ [nm]	10,7	36,2	25,5

**Tabelle 11:** Übersicht der mittels Ellipsometrie gemessenen Schichtdickenvariation bei den verschiedenen prozessierten Proben

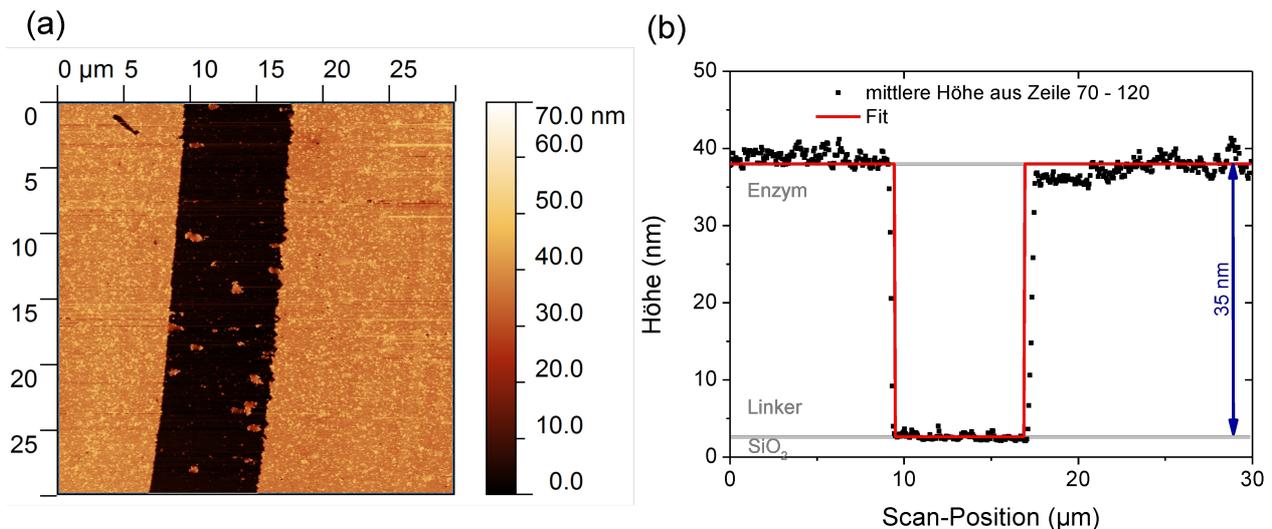
Wenn der Brechungsindex  $n$  höher gewählt und nicht als konstant angenommen wird, so wird die Schichtdicke  $d$  geringer. Umgekehrt gesehen, wählt man ein kleinen Wert für  $n$  als Brechungsindex, so wird die Schichtdicke groß. Allerdings wurde davon abgesehen, da es sich hier um ein organisches Material handelt und diese Materialien einen Brechungsindex  $n$  um die 1,5 bei 633 nm aufweisen.

### 5.3.2. Rasterkraftmikroskopie (AFM; Atomic Force Microscope)



**Abbildung 50:** Höhenuntersuchung des Linkers mittels AFM: (a) überarbeitete Aufnahme des AFM's im Scanbereich, (b) ausgewertetes Höhenprofil mit überlagertem Fit

Um hierbei die Dicken einzelner Schichten bestimmen zu können, muss man wohldefinierte Stufenkanten erzeugen, die die Oberflächen der unterschiedlichen verwendeten Materialien des Systems lateral unterscheidbar machen. Somit muss also eine entsprechende Topographie der zu untersuchenden Proben gezielt erzeugt werden. Dieses Probendesign kann während der Präparation berücksichtigt werden, z.B. mittels Maskenlithographie [157,158], im hier vorliegenden Fall wurde die weiche oberste Materialschicht mit einer sehr feinen Spritzenkanüle (Tip-Durchmesser  $<50\ \mu\text{m}$ ) leicht eingeritzt. Dabei wurde angenommen, dass das organische Material in dem so entstandenen "Graben" vollständig abgetragen wurde, und dass die darunter freiliegende SiO<sub>2</sub>-Schicht nicht beschädigt wurde. Somit erlauben es die senkrecht zum angeritzten Bereich abgerasterten Höheninformationen, ein Profil zu erstellen, aus dem die Dicke der jeweiligen Schichten per Differenzmessung ablesbar ist.



**Abbildung 51:** Höhenuntersuchung von Linker und Enzym mittels AFM: (a) überarbeitete Aufnahme des AFM's im Scanbereich, (b) ausgewertetes Höhenprofil mit überlagertem Fit

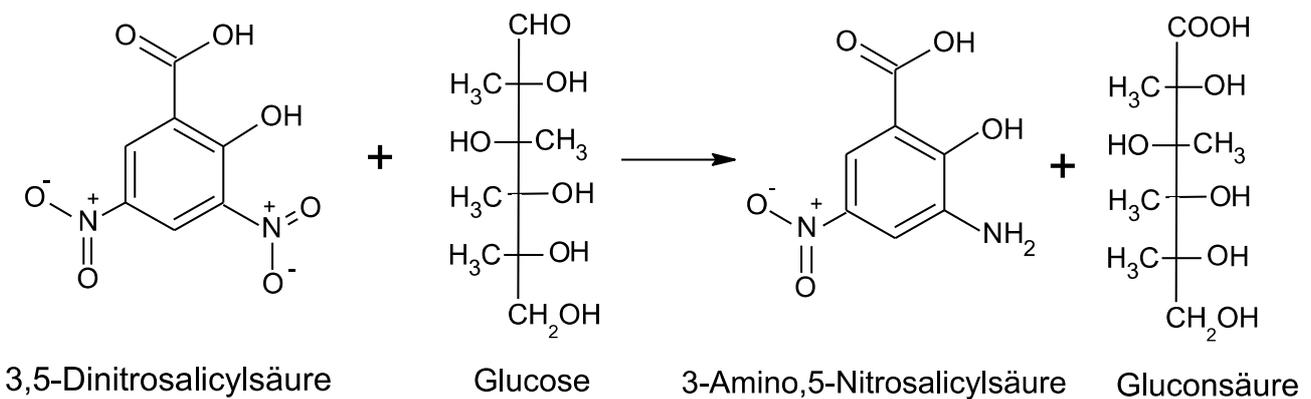
Um die Ergebnisse der Ellipsometrie zu verifizieren, wurden mit einem Rasterkraftmikroskop im Contact Modus, wie zuvor beschrieben, Höhenprofile an äquivalent zu hergestellten Silizium-Wafern erstellt. Diese Profile entstanden durch Mittelung mehrerer Zeilen des Höhenbildes, um das Signal-zu-Rauschen Verhältnis zu erhöhen. Mit Hilfe einer Fitfunktion wurde die Stufenhöhe zwischen den beiden ausgezeichneten Plateaus bestimmt.

Abbildung 50 zeigt eine exemplarische Analyse eines mit Linker benetzten Wafers. Abbildung 51 veranschaulicht die Zunahme der organischen Schicht nach dem Benetzen mit dem Enzym und anschließender Verwendung dieses Substrates in einer Saccharose-Lösung. Die durch das AFM ermittelte Höhe von  $d_{\text{Enzym+Linker}} = 35 \text{ nm}$  der Linker- und Enzymschicht stimmt gut mit den dem Mittelwert aus der Ellipsometrie überein. Es wurde eine rms-Rauigkeit von 5,2 nm über eine bestimmte Fläche der Linker- und Enzymschicht ermittelt unter Vernachlässigung von Partikeln und Artefakten der Probe. Die reine Linkerschichtdicke hingegen liegt bei dem 1,5fachen des auf optischem Wege bestimmten Mittelwerts, aber nur knapp außerhalb des dort vorkommenden Variationsbereiches. Hier liegt die rms-Rauigkeit der reinen Linkerschicht bei 1,3 nm. Die Werte der rms-Rauigkeiten sagen etwas über die Oberflächenbeschaffenheiten der Probe. Je kleiner die Werte sind, desto homogener ist die Struktur der Probe.

Allerdings sollte man die Ergebnisse nur als eine Näherung sehen, da beide Messmethoden für dünne homogene Schichtsysteme oder Dünnschichten geeignet sind, bei den Enzymen ist jedoch aufgrund der Dickenvariation dieses Verhalten nicht erfüllt [146-148].

## 5.4. Funktionale Charakterisierung: Enzymaktivität

Das Enzym Invertase wandelt Saccharose in Fructose und Glucose um. Um die Enzymaktivität bestimmen zu können, wird ein farbmatisches Glucose-Assay nach Miller und Sumner durchgeführt [159]. Diese Untersuchung beruht auf der Tatsache, dass Glucose als Produkt der Reaktion entsteht und diese reduzierende Eigenschaften aufweist. Dadurch können andere Moleküle gebildet werden, die dann charakteristische Eigenschaften im Absorptionsspektrum aufweisen. Diese aus der Biochemie und Biologie bekannten Assays dienen dazu, um biochemische Moleküle zu identifizieren und zu quantifizieren. Bei manchen Biomolekülen kann man mithilfe des Spektrometers die charakteristischen Eigenschaften direkt vermessen, wie z.B. bei Proteinen, die aromatische Aminosäuren besitzen und bei 280 nm eine Absorption aufweisen [160], oder bei Nukleinsäuren, die ungesättigte Ringstrukturen besitzen (260 nm) [161].



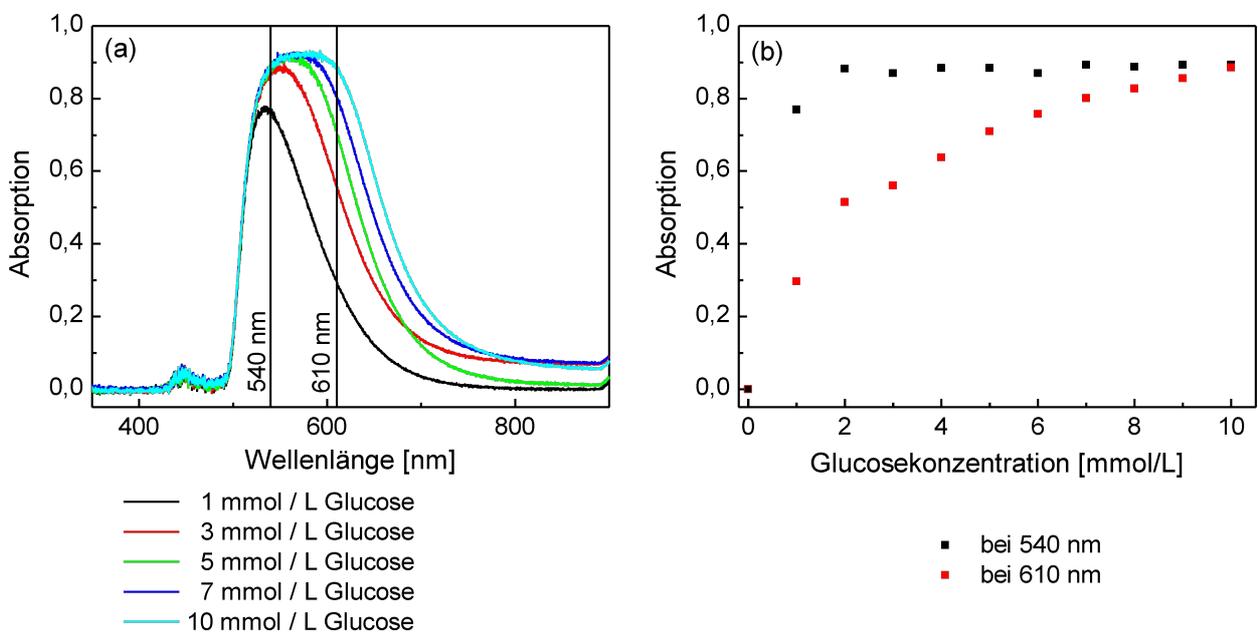
**Abbildung 52:** Reaktionsgleichung für die Umsetzung der Glucose im Assay

Bei diesem farbmatischen Glucose-Assay wird die Aktivität der Invertase indirekt vermessen. Die Carbonylgruppe im Glucosemolekül wirkt der 3,5-Dinitrosalicylsäure (DNS) gegenüber als Reduktant. Es entsteht dabei die gefärbte, quantifizierbare 3-Amino-5-Nitrosalicylsäure. Wenn also Glucose von den Invertasen gebildet wurde, wird diese auch die spezifische Reaktion mit dem DNS-Reagens (siehe Abbildung 52) der Glucose-Untersuchung eingehen.

Es gibt einen Farbwechsel der Lösung von gelb zu rot-braun. Diese Farbumwandlung ist ein Beweis für die Aktivität der Invertase. Das evtl. nicht vollständig umgesetzte DNS-Reagenz (3,5-Dinitrosalicylsäure) stört bei der optischen Messung nicht, da das Absorptionsmaximum bei niedrigeren Wellenlängen liegt.

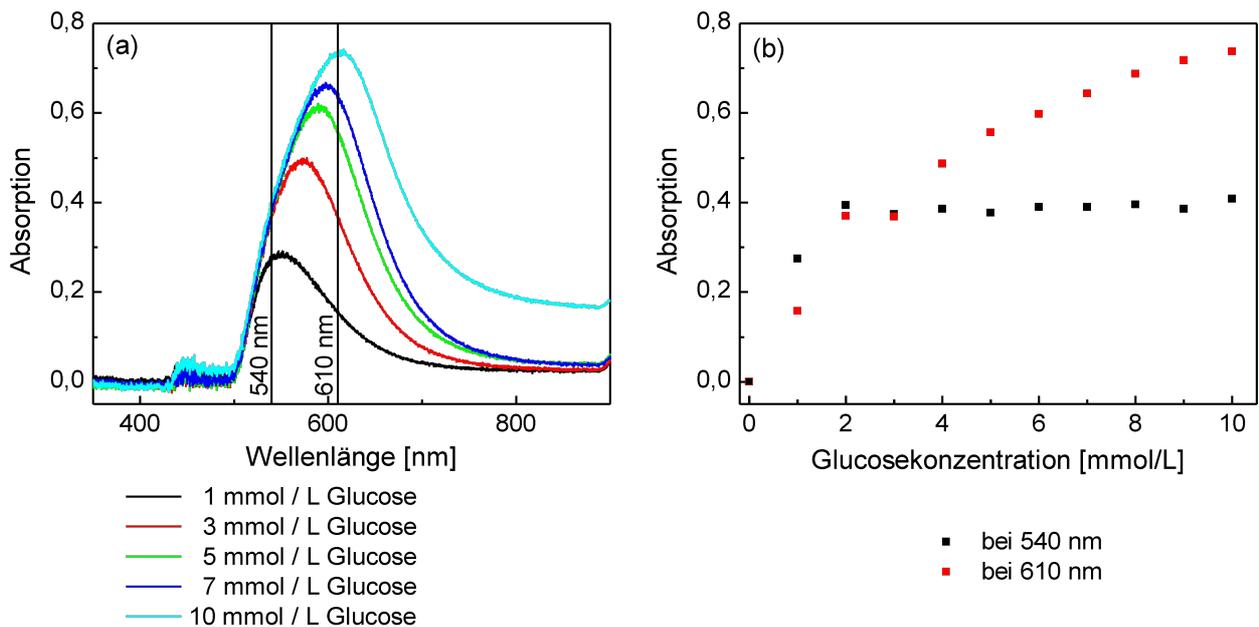
### 5.4.1. Vergleich der Kalibrationsgraphen bei unterschiedlichen Wellenlängen

Der Bereich der gewählten Glucosekonzentrationen befindet sich im unteren mmol-Bereich, da pro Mol der 3,5-Dinitrosalicylsäure, welches sich in dem DNS-Reagenz ( $c = \sim 22 \text{ mmol/L}$ ) befindet, ein Mol Zuckermolekül umgesetzt wird. Die Menge des absorbierenden Stoffes, also der 3-Amino-5-Nitrosalicylsäure ist also proportional mit der Menge des vom Enzym umgesetzten Zuckers. Es werden unterschiedliche Glucosekonzentrationen vermessen, um einen Kalibrationsgraphen zu erstellen und somit unbekannte Konzentrationen bestimmen zu können. Hierfür wurden 3 unterschiedliche Fälle betrachtet: Die Literatur geht von einer Wellenlänge von 540 nm aus, um den Kalibrationsgraphen zu erstellen [159].



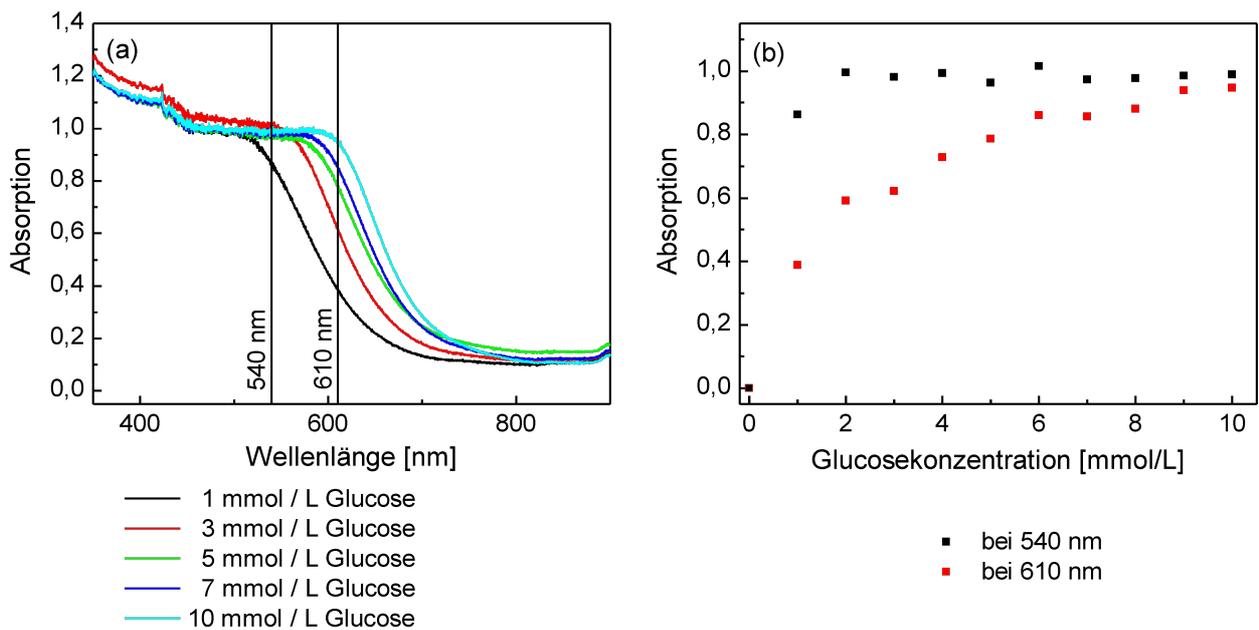
**Abbildung 53:** (a) Absorptionsspektren von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen (1-10 mmol/L) in 1 cm Quarzglasküvette vermessen und (b) Verlauf der Kalibrationsgraphen bei 540 nm und 610 nm

**1. Fall:** als Referenzlösung zur Vermessung der Spektren wurde Wasser mit dem DNS-Reagenz verwendet und ein Referenzspektrum aufgenommen. Die unterschiedlichen Glucosekonzentrationen wurden in einer 1 cm Quarzglasküvette vermessen. In Abbildung 53(a) sieht man die Absorptionsspektren der Glucoselösung. Die Kalibrationsgerade ähnelt eher eine Sättigungskurve mit exponentiellen Verlauf (siehe Abbildung 53(b)).



**Abbildung 54:** (a) Absorptionsspektren von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen (1-10 mmol/L) in 1 cm Quarzglasküvette vermessen und (b) Verlauf der Kalibrationsgraphen bei 540 nm und 610 nm

**2. Fall:** als Referenzlösung wird eine Saccharose-Lösung mit dem DNS-Reagenz versetzt und vermessen. Abbildung 54(a) zeigt deutlich, dass der Peak bei etwa 540 nm sich auch zu höheren Wellenlängen verschiebt und somit das Aufnehmen eines Kalibrationsgraphen nicht viel Sinn macht. Bei einer Konzentration von 3 mmol und höheren Glucosekonzentrationen kommt es schon zu einer Sättigung. Dieses Verhalten spiegelt sich in Abbildung 54(b) wider. Daher wird auch hier das Aufnehmen der Kalibrationsgeraden bei 610 nm bevorzugt. Es ist ein ähnliches Verhalten wie in Fall 1.



**Abbildung 55:** (a) Absorptionsspektren von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen (1-10 mmol/L) in 1 cm Quarzglasküvette vermessen und (b) Verlauf der Kalibrationsgraphen bei 540 nm und 610 nm

**3. Fall:** Es wird keine Referenzlösung verwendet und man nimmt die Spektren nacheinander auf. Der Verlauf der zunehmenden Glucosekonzentrationen ist in Abbildung 55(a) dargestellt.

Aus der Abbildung 55 wird deutlich, dass die Punkte der Geraden eher das Verhalten einer Sättigungskurve widerspiegeln als einer steigenden Kalibrationsgeraden. Betrachtet man die Absorptionsspektren nun bei 610 nm, sieht man den Anstieg der einzelnen Konzentrationen. Die Zunahme der Absorption mit steigender Konzentration ist hier eindeutig. Daher wird auch die Auswertung bei 610 nm in Betracht genommen.

In diesen drei Fällen wird eine Erstellung des Kalibrationsgraphen bei einer Wellenlänge von 610 nm bevorzugt, anders als in der Literatur beschrieben, da in allen Fällen bei einer Wellenlänge von 610 nm eine Zunahme der Absorption mit steigender Glucosekonzentration vorliegt [159]. Auch hier sieht man bei höheren Glucosekonzentrationen eine auftretende Sättigung, daher wird der Fit nicht linear durchgeführt. Dieses Verhalten kann auf die Lichtstreuung an großen Biomolekülen zurückgeführt werden [162].

#### 5.4.2. Bestimmung des Kalibrationsgraphen

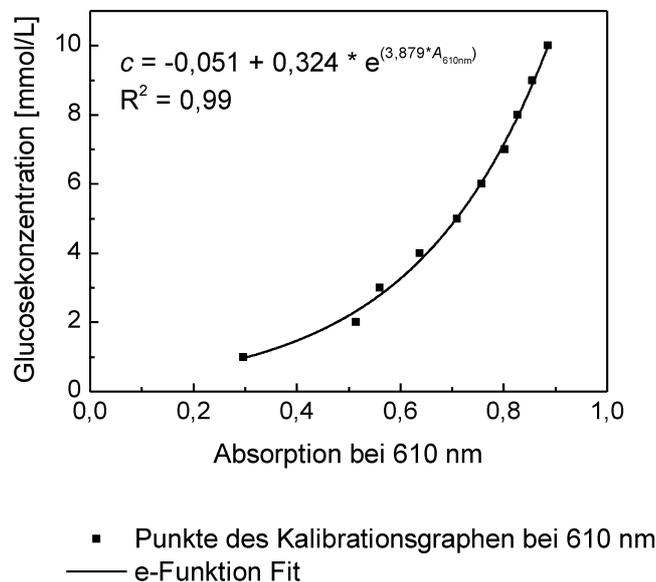
Das Lambert-Beer'sche Gesetz spielt in der UV-Vis-Spektroskopie eine große Rolle und gilt nur für ideal verdünnte Lösungen [163]. Bei dem schon erwähnten Gesetz (siehe Gleichung 1.1) wird die Absorption  $A$  durch die Glucosekonzentration  $c$  und die optische Weglänge  $d$  bestimmt:

chung 3) wird beschrieben, dass die Extinktion von der Schichtdicke der Küvette, der molaren Konzentration und dem Extinktionskoeffizienten abhängig ist.

Durch das Lambert-Beer-Gesetz und normalerweise der Kalibrationsgeraden kann man den Extinktionskoeffizienten bestimmen, indem man aus der Steigung der Geraden durch lineare Regression und der Konstanten des Lambert-Beer-Gesetzes, hier die Dicke der Küvette  $d_k$  das Produkt bildet. Allerdings resultiert, wie man aus dem Abschnitt 5.4.1 erkennt, hier kein linearer Zusammenhang in dem Kalibrationsgraphen und somit basiert die Auswertung nicht auf dem Lambert-Beer-Gesetz. Damit sich der Fehler nicht durch alle Messungen und Auswertungen schleicht, fittet man hier nicht linear, sondern über die e-Funktion mit folgender Formel an:

$$y = y_0 + A \cdot e^{R_0 \cdot x} \quad (36)$$

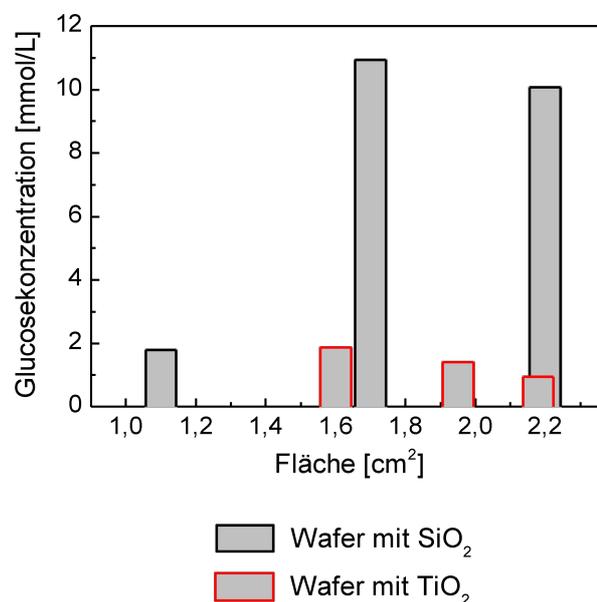
In Abbildung 56 ist der Kalibrationsgraph (Fall 1: H<sub>2</sub>O mit DNS-Reagenz) bei einer Wellenlänge von 610 nm dargestellt. Der große Konzentrationsbereich ist besonders wichtig für den Vergleich beider Substrate. Nun können die unbekanntes Glucosekonzentrationen der unterschiedlichen Substrate berechnet und verglichen werden.



**Abbildung 56:** Kalibrationsgraph bei 610 nm

### 5.4.3. Vergleich der Enzymaktivität auf flachen Substraten zu nanostrukturierten Membranen

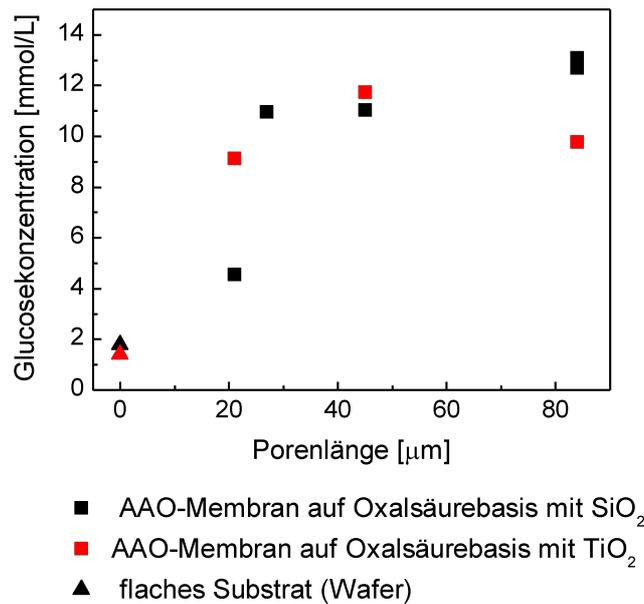
Die Konzentration  $c$  kann nun auch berechnet werden, sie kann darüber hinaus auch zur Quantifizierung der Moleküle dienen. Daraus folgt, dass man mit der angefitteten Funktion von den Proben die Glucosekonzentrationen bestimmen kann. Die Proben der zu untersuchenden Template wurden nach 30 min genommen und anschließend, wie in Kapitel 5.6.3 beschrieben, verarbeitet. Man erhält für die Glucosekonzentration  $c$  folgende Werte für die Si-Wafer mit einer dünnen  $\text{SiO}_2$ - oder  $\text{TiO}_2$ -Schicht. Bei der Auswertung muss auch die Geometrie der Substrate berücksichtigt werden.



**Abbildung 57:** Glucoseaktivität an flachen unterschiedlich großen Substraten mit 10 nm  $\text{TiO}_2$  und 10 nm  $\text{SiO}_2$  Schichten, getestet in 0,3 M Saccharose-Natriumacetat-Puffer Lösung mit einem pH-Wert von 4,7 bei 40 °C für 30 min

Wenn man die Werte von den Wafer-Stücken mit  $\text{SiO}_2$  und  $\text{TiO}_2$  vergleicht, liegen die Werte von  $\text{SiO}_2$  alle höher. Vor allem bei den Wafern mit der extra abgeschiedenen  $\text{SiO}_2$ -Schicht (Mitte und rechts) per ALD-Verfahren ist der Umsatz der Glucose besonders hoch. Die Template mit Titandioxid weisen weniger Aktivität als die mit der  $\text{SiO}_2$ -Schicht auf.

Die mit  $\text{TiO}_2$  beschichteten Substrate bevorzugen zum Anbinden Carboxylat-, Sulfonat- und Phosphonat-Gruppen [107-109]. Die häufige Benutzung der Invertasen über einen Zeitraum von 3 Monaten, bei richtiger Lagerung im Puffer bei 4 °C, spielt keine sonderlich große Rolle und lässt die Glucoseaktivität nur geringfügig kleiner werden.

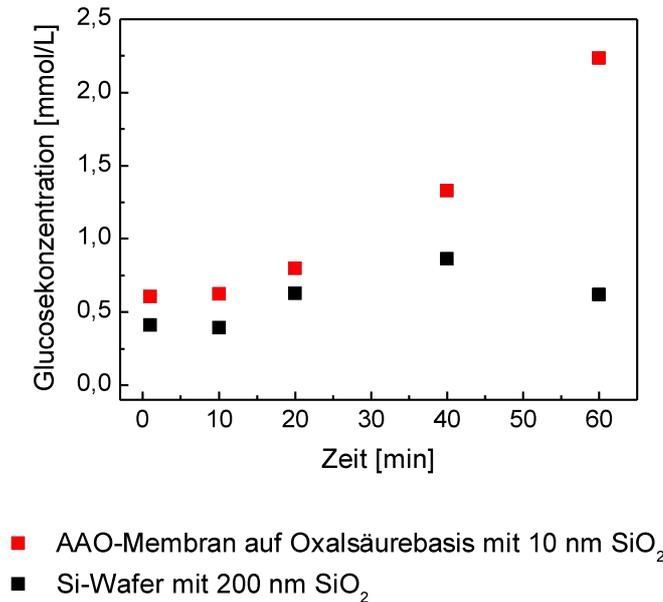


**Abbildung 58:** Glucoseaktivität an verschiedenen langen AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis mit 10 nm SiO<sub>2</sub>-Schichten und 10 nm TiO<sub>2</sub>-Schichten, getestet in 0,3 M Saccharose-Natriumactat-Puffer Lösung mit einem pH-Wert von 4,7 bei 40 °C für 30 min

Bei den nanostrukturierten Membranen liegt die Aktivität der Invertasen auf dem ersten Blick höher als bei den flachen Substraten. Die Oberfläche der Membranen auf Oxalsäurebasis ist hier allerdings bedeutend höher, sie beträgt zwischen 78 cm<sup>2</sup> und 306 cm<sup>2</sup>. Daher ist die Konzentration hier nur gering. Eventuell sollte man die Aktivität der Invertasen nur an der makroskopischen Oberfläche (2 cm<sup>2</sup>) betrachten, da mit der Größe von Linker und Enzym ein tiefes Eindringen in die Poren wahrscheinlich verhindert wird. Man sieht auch in Abbildung 58, dass ab etwa einer Porenlänge von 30 µm die Glucosekonzentration konstant bleibt. Die Benetzung mit TiO<sub>2</sub> führt zu einer etwas geringeren Aktivität der Enzyme. Aus diesem Verhalten wird deutlich, dass der Transport entlang der Poren begrenzend ist.

Die getesteten Substrate waren maximal 3 Monate alt. Hier wäre es sicherlich interessant mehr Versuche an Membranen auf Phosphorsäurebasis durchzuführen. Der Porendurchmesser kann erheblich größer gewählt werden und je dicker die Membranen hier sind, desto stabiler sind sie in der Weiterverarbeitung. Allerdings besitzen sie eine geringere spezifische Oberfläche. Die Ergebnisse der Schichtdicken von Linker und Enzym von etwa 35 nm und eine Abscheidung eines gewählten Oxids von etwa 10 nm Dicke schließen somit fast die nanostrukturierten Oberflächen auf Oxalsäurebasis aus. Das Weiten der Poren von AAO-Membranen auf Oxalsäurebasis sorgt für eine immer größer werdende Instabilität der Membranen und somit kommen sie in Zukunft für weitere Untersuchungen mit Invertasen nicht mehr in Betracht. Im nächsten Abschnitt soll die Aktivität der Enzyme über die Zeit betrachtet werden.

#### 5.4.4. Zeitlicher Verlauf der Enzymaktivität



**Abbildung 59:** zeitlicher Verlauf der Aktivität der Invertasen gemessen an der Glucosekonzentration  
 Membranparameter: 21 µm lang, Porendurchmesser 45 nm und 10 nm SiO<sub>2</sub>-Schicht

Der Aktivitätsverlauf der Glucose gemessen anhand der Glucosekonzentration bei verschiedenen Zeiten von 1 min - 60 min wird an einem Beispiel einer Membran auf Oxalsäurebasis und einem kommerziellen Si-Wafer verglichen. Hierbei wird das Volumen der abgenommenen Menge an Saccharose-Lösung nach 1 min, 10 min, 20 min, 40 min und 60 min wieder aufgefüllt, um eine konstante Ausgangskonzentration zu gewährleisten.

Der Verlauf der Aktivität mit der Zeit am Si-Wafer und an der nanostrukturierten Membran zeigt einen Anstieg bei der 21 µm langen AAO-Membran auf Oxalsäurebasis, allerdings eher einen konstanten Verlauf des flachen Substrats. Bei dem flachen Substrat liegt das Maximum der Aktivität bei 40 min. Danach fällt die Enzymaktivität wieder. Also sollte man die Probennahme zwischen 20 min und 40 min durchführen, um in beiden Fällen die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können. Der unterschiedliche Verlauf ist auf die Oberfläche der Substrate zurückzuführen, da die Invertasen am flachen Substrat nur an der Oberfläche gebunden sind, können sie auch nur dort reagieren und der Konzentrationsverlauf verläuft konstant (0,4 - 0,8 mmol/L). Bei der Membran ist die Oberfläche aufgrund der Porenstruktur größer und anders verteilt, daher dauert es länger bis die Invertasen auch in den Poren die Saccharose-Lösung umgesetzt haben. Es kommt zu einem Anstieg der Konzentration (0,6 - 2,2 mmol/L).

## 5.5. Zusammenfassung und Ausblick

Das Funktionalisieren der Linker und Enzyme konnte auf die flachen Substrate und auch auf die Aluminiumoxidmembranen übertragen werden, allerdings muss man die Größe der Linker- und Enzymschicht, sowie die abgeschiedene Oxidschicht mit dem ALD-Reaktor berücksichtigen. Von Vorteil könnte hier auch der Gebrauch von nanostrukturierten Oberflächen mit Porendurchmesser  $>100$  nm sein, da sie von Anfang an einen größeren Durchmesser als die anodischen Membranen auf Oxalsäurebasis besitzen und somit hat man eine größere Vielfalt in Bezug auf die Oxiddicke und die Enzyme hätten mehr Platz in die Poren einzudringen. Die Ergebnisse zur Schichtdicke der Linker und Enzyme befindet sich im unteren zweistelligen Nanometerbereich. Mit beiden Messmethoden, sowohl mit der spektroskopischen Ellipsometrie als auch mit der Rasterkraftmikroskopie erhält man eine Linker- und Enzymdicke von circa 36 nm. Dieser Wert ist eventuell höher als in der Literatur, da das Enzym nicht als Monomer vorliegt. Der Literaturwert für die Enzymdicke beträgt etwa 6,3 nm, allerdings wurde diese Invertase aus *T. Maritima* isoliert und kommt somit aus einer anderen Invertasenart [149]. Die errechnete Variation der Enzymschichtdicken liegt mit Extremwerten von 4 nm bis zu 49 nm im Bereich des Literaturwertes.

Die Enzymaktivität wurde mittels eines modifizierten Glucose-Assays nach Sumner durchgeführt. Hierfür wurde ein Kalibrationsgraph von unterschiedlichen Glucosekonzentrationen erstellt, der bei höheren Konzentrationen in Sättigung ging und daher auch nicht linear gefittet wurde. Aufgrund der Streuungseffekte an großen Biomolekülen in Lösung kommt es hier zu dieser Sättigung. Mit diesem Kalibrationsgraphen wurden die unbekanntes Glucosekonzentrationen der enzymfunktionalisierten Substrate berechnet. Auf flachen und nanostrukturierten Substratoberflächen und auch mit beiden Oxiden wurde Enzymaktivität nachgewiesen.

Bei dem Prozess der Anbindung der Linker und Enzyme könnte eventuell eine längere Reaktionsdauer und ein sehr homogenes Einstellen des Rührers von Vorteil sein, um ein gleichmäßiges Verteilen in den Poren zu gewährleisten. Die Ergebnisse bei den Substraten mit einer Siliziumdioxidschicht waren allerdings höher als bei denen mit einer Titandioxidschicht. Hier könnten weitere Versuche zum Tempern der  $\text{TiO}_2$ -Schicht durchgeführt werden und auch eine dickere Schichtdicke könnte von Vorteil sein, um eine bevorzugte Kristallinität ausrichten zu können, um so besser an die Oxidoberfläche anzudocken.

Viele der erzielten Ergebnisse aus den Kapiteln 3 und 4 können auch auf größere Moleküle angewandt werden. Bei der Funktionalisierung der Enzyme eignen sich sowohl flache Substrate als auch nanostrukturierte Membranen mit großem Durchmesser. Die unterschiedlichen Oxide, die wichtig sind zum Anhaften der Linker und Enzymschicht, weisen Unterschiede an der Umsetzung der Saccharose durch die Invertase in Glucose und Fruc-

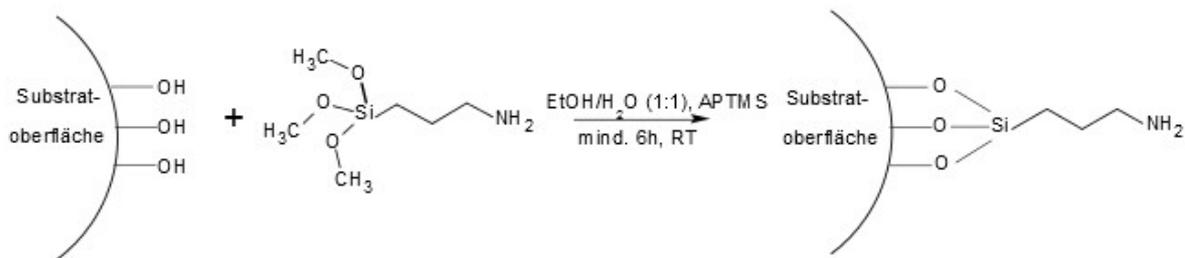
tose auf. Diese Reaktion ist wichtig für den Enzymaktivitätstest. Auch die Redoxaktivität anderer Enzyme, wie z.B. Hydrogenasen, bei denen elementarer Wasserstoff umgesetzt wird, ist beachtenswert. Besonderes Augenmerk wird auf das Verhalten der Hydrogenasen gelegt, wie sie sich auf einer Substratoberfläche verhalten. Dies wird im nächsten Kapitel 6 etwas genauer betrachtet.

## 5.6. Experimenteller Teil

### 5.6.1. Funktionalisierung der Linker und Enzyme [145]

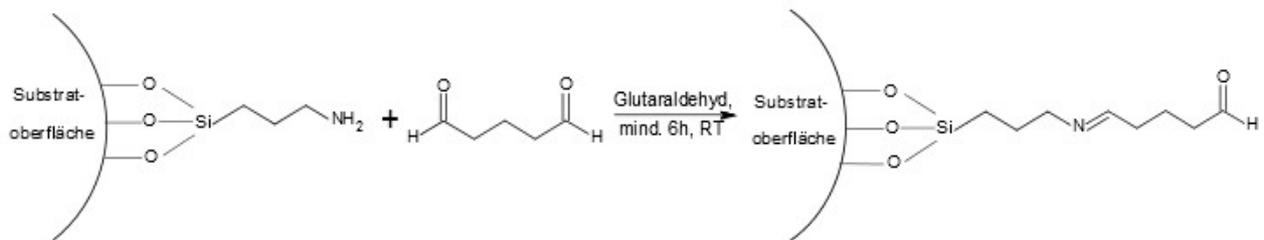
Die flachen und nanostrukturierten Substrate werden nach folgendem Schema für die Funktionalisierung der Invertasen behandelt. Die Immobilisierung der Invertasen erfolgt in drei Schritten:

1) *Funktionalisierung der Oberfläche:* Zuerst wird die Oberfläche des schon beschichteten Substrats mit dem jeweiligen Oxid in eine 1:1-Lösung aus Ethanol und Wasser (gesamt 60 mL) getaucht und unter Rühren erfolgt die Zugabe (2 mL) von 3-Aminopropyltrimethoxysilan (APTMS), wobei für mindestens sechs weitere Stunden bei Raumtemperatur gerührt wird. Anschließend werden die Substrate erst mit Ethanol und dann mit dest. Wasser gewaschen und langsam über drei Rampen (40 °C, 75 °C, 90 °C) über Nacht bei 110 °C im Ofen unter ständigem Stickstoffstrom getrocknet. Das Abkühlen erfolgt auch wieder über die drei Temperaturbereiche.



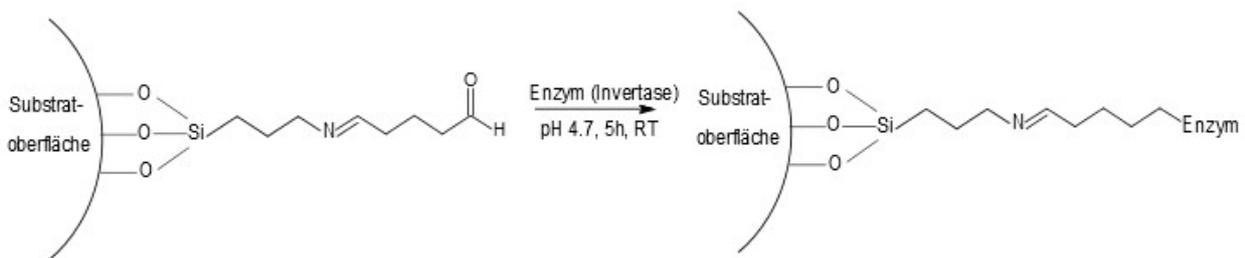
**Abbildung 60:** Reaktionsgleichung für die Funktionalisierung der Oberfläche

2) *Reaktion mit dem Linker:* Im zweiten Schritt erfolgt die Reaktion mit dem Glutaraldehyd. Hierbei wird eine 25%ige Glutaraldehyd-Lösung mit den Substraten für mindestens sechs Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Substrate werden mit dest. Wasser gewaschen und über Nacht im Kühlschrank bei 4 °C inkubiert.



**Abbildung 61:** Reaktionsgleichung für die Reaktion mit dem Linker

3) *Immobilisierung des Enzyms:* Im letzten Schritt kommt es zur Funktionalisierung der Invertasen. Die Substrate werden in 10 mL Natriumacetat-Puffer ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) bei einem pH-Wert von 4,7 getaucht und unter ständigem Rühren werden 0,03 g Enzym (1 mmol) hinzugefügt. Die Lösung wird für fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend werden die Substrate mit dest. Wasser gereinigt und über Nacht bei  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  inkubiert.



**Abbildung 62:** Reaktionsgleichung für die Immobilisierung der Enzyme

Bei der Immobilisierung auf den nanostrukturierten Substraten muss beachtet werden, dass der Aluminiumring nicht benetzt wird und somit als zusätzliche Fläche mit in die Rechnungen eingeht. Um das zu vermeiden wird daher dieser Al-Ring mit Nagellack maskiert.

### 5.6.2. ALD-Prozess von Siliziumdioxid ( $\text{SiO}_2$ )

Für den Prozess werden folgende Prekursoren 3-Aminopropyltriethoxysilan, Wasser und Ozon verwendet. Die Prozesszeiten befinden sich in Tabelle 12:

## 5. Invertasen als funktionelle Oberfläche

	T <sub>Prekursor</sub>	T <sub>Ventil</sub>	T <sub>Kammer</sub>	T <sub>Abgas</sub>	t <sub>open</sub>	t <sub>exposure</sub>	t <sub>pump</sub>
H <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> Si (OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	100 °C	130 °C	160 °C	100 °C	2 s	60 s	90 s
H <sub>2</sub> O	40 °C				0,5 s	60 s	90 s
Ozon	RT				0,2 s	60 s	90 s

**Tabelle 12:** Temperaturen und Zeiten des ALD-Prozesses von Siliziumdioxid

### 5.6.3. Enzymaktivität messen mit dem Glucose-Assay [164]

Hierfür wird eine 0,3 M Saccharose-Lösung in Natriumacetat-Puffer (pH-Wert 4,7, siehe 5.6.4) angesetzt und mit den enzymimmobilisierten Substraten (10 mL / Substrat) bei 40 °C für 30 min erwärmt. Anschließend wird von dieser Lösung 3 mL abgenommen, mit 3 mL DNS-Reagenz (Herstellung siehe 5.6.5) versetzt und auf 90 °C für 5-15 min erhitzt. Bei der Umwandlung von 3,5-Dinitrosalicylsäure, einem Bestandteil des DNS-Reagenz in 3-Amino-5-Nitrosalicylsäure, durch Glucose verfärbt sich die Lösung von gelb zu rotbraun. Um die Farbe zu stabilisieren, gibt man vor dem Abkühlen 1 mL einer 40%igen Kalium-Natriumtartrat-Lösung hinzu. Man lässt nun auf Raumtemperatur abkühlen und kann die Daten mithilfe des UV-Vis-Spektrometers aufnehmen.

### 5.6.4. Herstellung des Natriumacetat-Puffers

Es werden 6,8 g Natriumacetat ( $c = 0,05 \text{ mol/L}$ ) eingewogen und in 500 mL dest. Wasser gelöst. Der pH-Wert Bereich des Na-Acetat-Puffers liegt zwischen 4,5 - 5,5. Mit Essigsäure wird der pH-Wert von 4,7 eingestellt.

### 5.6.5. Herstellung des DNS-Reagenz

Für das DNS-Reagenz benötigt man 0,5 g 3,5-Dinitrosalicylsäure, 0,1 g Phenol, 0,01 g Natriumsulfit und 3,2 g Natriumhydroxid und füllt im 100 mL Messkolben mit dest. Wasser auf. Die gelbliche Lösung wird solange gerührt bis sich alle Stoffe gelöst haben. Das Natriumhydroxid ist für das alkalische Milieu der Lösung verantwortlich, in der die Reduktion der 3,5-Dinitrosalicylsäure stattfindet.

### 5.6.6. Herstellung der Kaliumnatriumtartratlösung

Es werden 40 g Kaliumnatriumtartrat (Rochelle-Salz) eingewogen und in 60 mL Wasser gelöst, um eine 40%ige Lösung zu bekommen. Dieses Salz hat die Aufgabe, das DNS-Reagenz vor Oxidation des gelösten Sauerstoffs zu schützen und somit die Farbe zu stabilisieren.

## **6. Ausblick: neue Richtungen**

### **6.1. Im Hinblick auf Ferrocenessigsäure:**

#### **alternative Farbstoffe**

Nachdem beispielhaft in Kapitel 3 und 4 gezeigt wurde, dass man Ferrocenessigsäure an einer Oberfläche durch ein elektrisches Signal schalten kann, sollen nun andere redoxaktive Moleküle mit z.B. einem höheren Extinktionskoeffizienten, sowie einer schärferen Absorptionsbande, geschaltet werden. Wichtig ist dabei, dass diese Moleküle redoxaktiv sind, die Reaktionen reversibel verlaufen und dass die Moleküle eine funktionelle Gruppe zum kovalenten Anbinden an die Oberfläche besitzen. Besonders interessant sind Farbstoffe wie z.B. Porphyrine und Cyaninfarbstoffe (siehe Abbildung 63) aufgrund ihrer hohen Farbintensität. Daher besitzen sie auch einen großen Extinktionskoeffizienten [165,166]. Besonderes Augenmerk wird auf die Versuche in Lösung gelegt, um zu sehen, ob sie sich überhaupt funktionalisiert an der Oberfläche beweisen können. Das charakteristische Verhalten einiger Cyaninfarbstoffe und Porphyrine wird in den nächsten Abschnitten genauer erläutert, sowie ihre Besonderheiten.

#### **6.1.1. Löslichkeit und Absorptionsspektren der getesteten Cyanine und Porphyrine im Vergleich**

In diesem Abschnitt wird untersucht, in welchem Lösungsmittel die verwendeten Farbstoffe (Strukturformeln der getesteten Farbstoff in Abb. 63) sich lösen und wie sie sich im Absorptionsspektrum, in Lösung und an der Oberfläche funktionalisiert, verhalten. Die Tabelle 13 zeigt, dass sich alle getesteten Farbstoffe in Ethanol lösen.

	EtOH	MeOH	H <sub>2</sub> O	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluol	1,2-dichlorbenzol
S 0046	+	+	+	+	+/-	-	+/-
	520 nm	517 nm	586 nm	518 nm	589 nm		589 nm
S 0769	+	+	-	+	+	+	+
	520 nm	520 nm		522 nm	530 nm +342 nm	536 nm	536 nm
S 0837	+	+	+	+	+	-	+/-
	808 nm	808 nm	543 nm	805 nm	821 nm		837 nm
Cy 3	+	+	+	+	+	+	+
	516/549 nm +337/749 nm	514/548 nm +344/744 nm	513/543 nm	516/547 nm	518/553 nm	528/563 nm	525/560 nm
P 1	+	+/-	-	+	+	+	+
	410/526 nm	408/522 nm		410/536 nm	413/526 nm	419/528 nm	418/530 nm
P 4	+	+	-	+/-	+/-	-	+/-
	412/525 nm	412/522 nm		409 nm	413 nm		418 nm

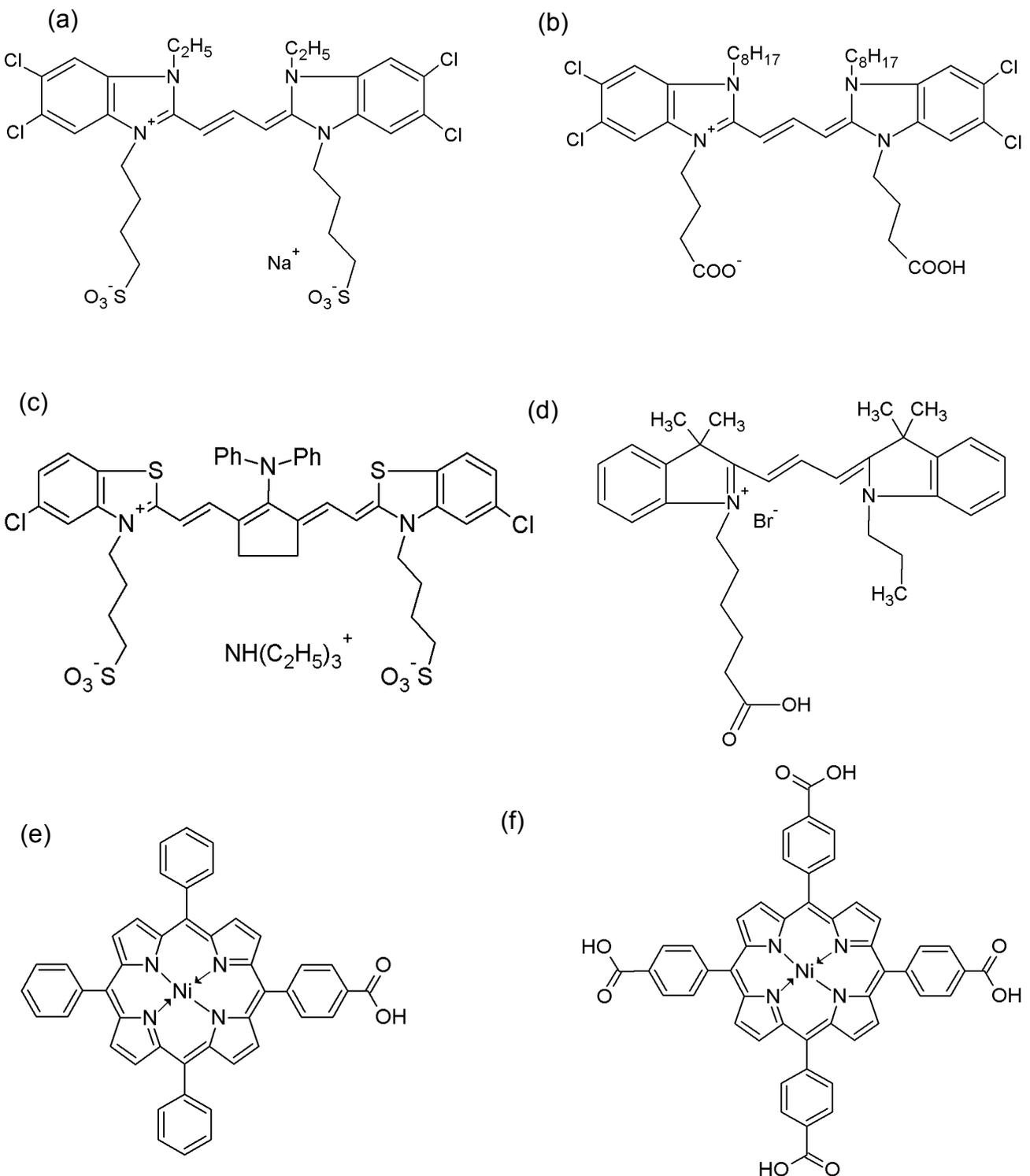
**Tabelle 13:** Löslichkeit der Farbstoffe: löslich (+), unlöslich (-), teilweise löslich (+/-) und die dazugehörigen Absorptionsmaxima

Daher werden die aufgenommenen Absorptionsspektren, siehe Abbildung 64, mit dem Lösungsmittel Ethanol dargestellt, um sie besser miteinander vergleichen zu können. Einige Cyaninfarbstoffe neigen zu Aggregatbildungen, was vorher in Kapitel 2.4.1 beschrieben wurde. Dieses Verhalten wird in der Tabelle durch die rot markierten zusätzlichen Maxima sichtbar. Auch bei den Porphyrinen (P 1 und P 4) gibt es Hinweise darauf (siehe Kapitel 2.5), hier werden die charakteristischen Absorptionsbanden (B- und Q-Banden) im Absorptionsspektrum sichtbar.

In Abbildung 64 sind die Absorptionsspektren der verwendeten Farbstoffe in Lösung (EtOH) und funktionalisiert an der Membran mit Foto dargestellt. Die Spektren der Membranen wurden als Transmission aufgenommen und nach Gleichung 17 in die Absorption umgerechnet und anschließend geglättet. Das Rauschen bei den funktionalisierten Farbstoffen kommt durch die hohe Konzentration zustande und durch die Membran als Untergrund. Die relativ dicken Membranen mit den funktionalisierten Molekülen absorbieren so stark, dass die Peaks breiter erscheinen, als sie eigentlich sind. Da die Spektren eine Differenz von zwei oder noch höheren Absorptionswerten darstellen, befindet man sich in der Sättigung des Detektors.

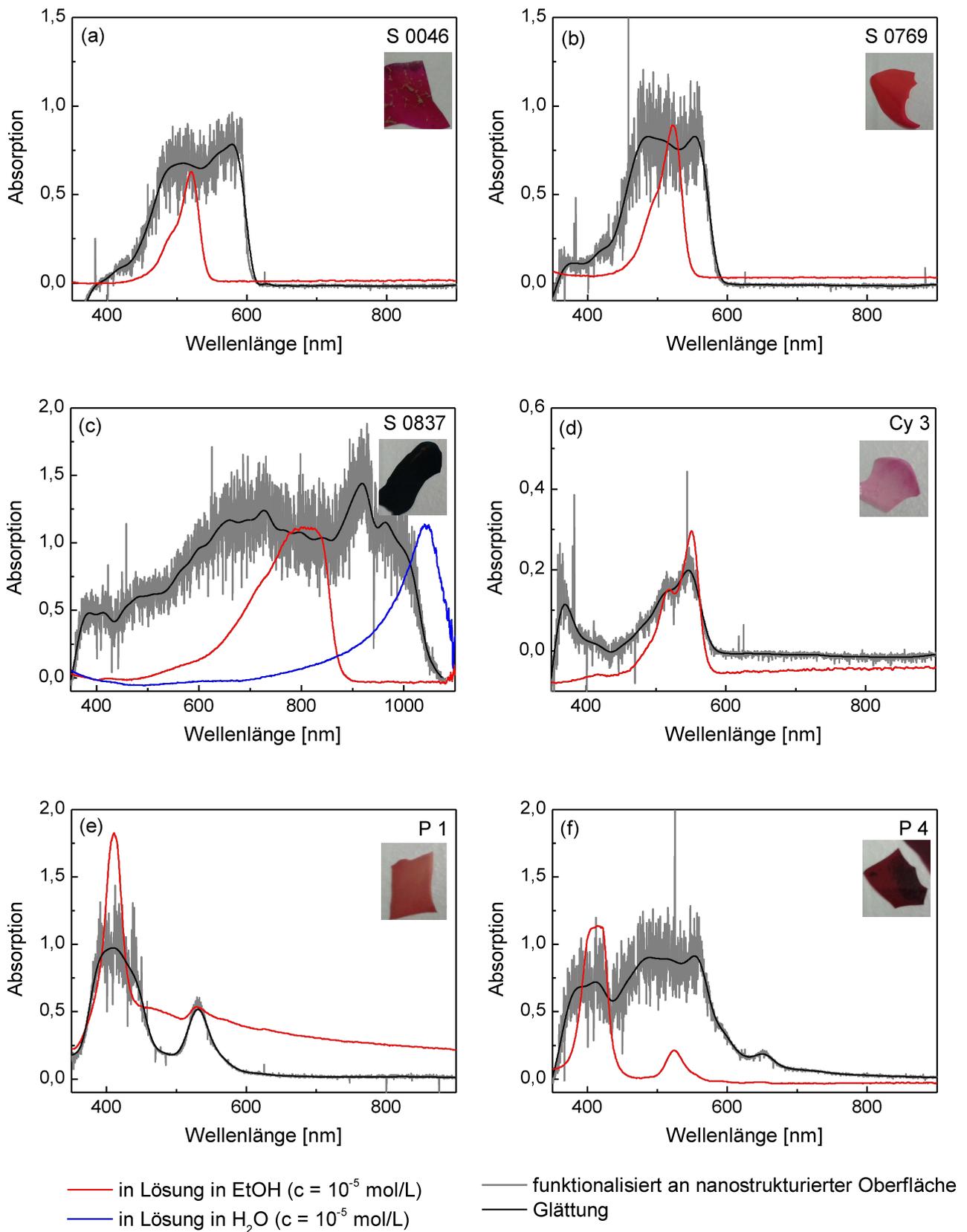
Bei allen Spektren stimmen die Spektren in Lösung und funktionalisiert auf der Membran überein. Allerdings bildet (c) eine Ausnahme, hier zeigen sogar die verwendeten Lösungsmittel (EtOH: rot, H<sub>2</sub>O: blau) je eine Absorptionsbande, die nicht mit dem Spektrum der Membran übereinstimmen. Der Peak der Membran liegt zwischen den beiden in Lösungen aufgenommenen Spektren. Betrachtet man das Foto der gefärbten Membran, sieht man deutlich, dass es sich um eine dunkelblaue bis fast schwarze Färbung handelt, die auf eine hohe Absorption schließen lässt. Bei allen Farbstoffen bis auf S 0837 lassen sich die

Peaks eindeutig (hohe Extinktionskoeffizienten) den Farbstoffen zuordnen. Dadurch wären diese Farbstoffe spektroskopisch gesehen, geeigneter als FAA. FAA hat eine etwas breite Absorptionsbande bei etwa 450 nm (siehe Kapitel 3.1) und somit war es schwieriger den FAA-Peak eindeutig zu identifizieren.



**Abbildung 63:** Strukturformeln der getesteten Farbstoffe:

(a) S 0046, (b) S 0769, (c) S 0837, (d) Cy 3, (e) P 1 und (f) P 4

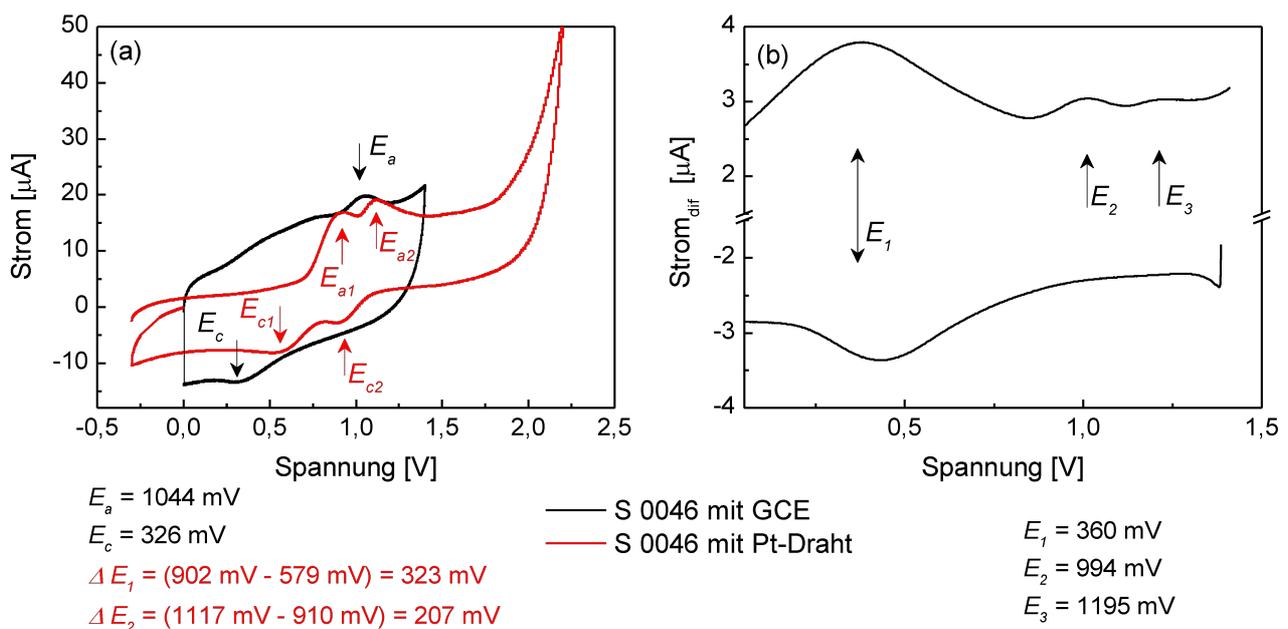


**Abbildung 64:** Absorptionsspektren der verwendeten Farbstoffe in Lösung und funktionalisiert (45  $\mu$ m lange AAO-Membran auf Oxalsäurebasis, Porendurchmesser 40 nm und eine 10 nm  $TiO_2$ -Schicht)

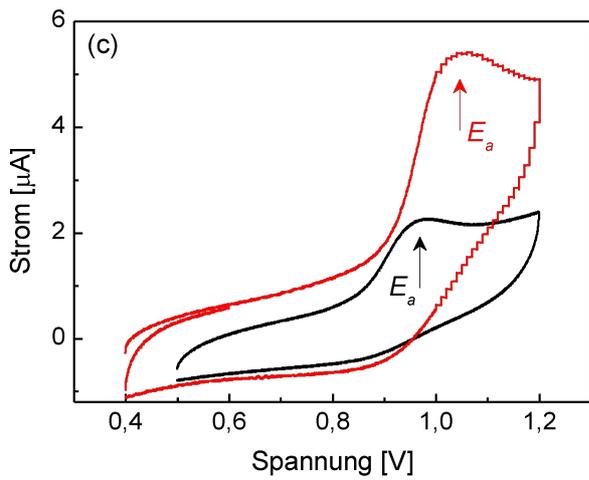
Bei der Oxidation mit dem chemischen Oxidanten  $\text{NOBF}_4$  kam es zu einer Abnahme des signifikanten Peaks im Absorptionsspektrum und ein neuer Peak entstand. Bei der anschließenden Reduktion mit Ascorbinsäure sind jedoch alle Peaks verschwunden und der erste signifikante Peak blieb aus. Daraus folgt, dass die Reduktion mit dem chemischen Reduktanden Ascorbinsäure nicht ausreichte oder die Moleküle nicht reversibel schaltbar sind, also sich zersetzen. Um das weiter zu untersuchen, wurden elektrochemische Messungen der Farbstofflösungen durchgeführt. Das Verhalten wird im nächsten Kapitel näher erläutert.

### 6.1.2. Elektrochemische Untersuchungen der redoxaktiven Farbstoffe

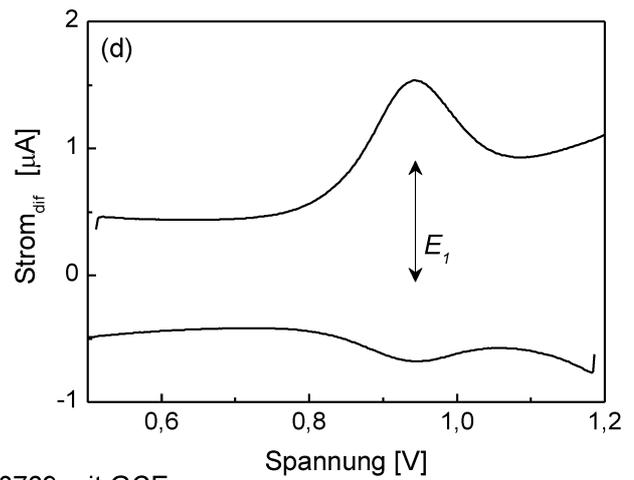
Die Farbstoffe wurden elektrochemisch untersucht. Es wurden CV-Messungen am Pt-Draht und mit einer Glaskohlenstoffelektrode (GCE) durchgeführt, sowie SWV-Messungen mit der GCE. Bei den CV-Messungen wurden zwei unterschiedliche Arbeitselektroden benutzt, um vor allem bei dem Platin-Draht katalysierte Reaktionen mit dem Farbstoff auszuschließen [167-169]. Die SWV-Messungen wurden durchgeführt, da es sich um eine sensiblere Messmethode als die CV-Messungen handelt (siehe Kapitel 2.7.4). Hier kann man anhand der Peaks, den Hin- und Rückweg, sofort erkennen, ob die Reaktion reversibel ist. In den nachfolgenden Abbildungen werden die verschiedenen elektrochemischen Messungen für die einzelnen Farbstoffe dargestellt.



6. Ausblick: neue Richtungen

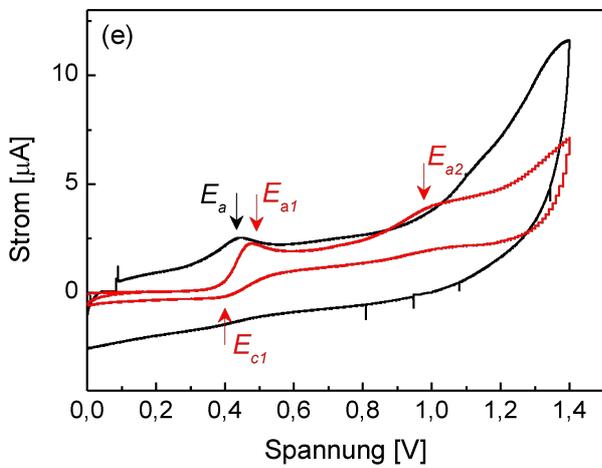


$E_a = 972 \text{ mV}$   
 $E_a = 1042 \text{ mV}$

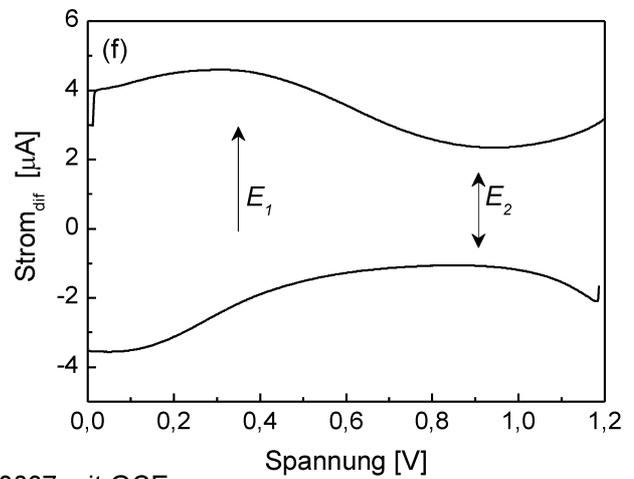


$E_1 = 930 \text{ mV}$

— S 0769 mit GCE  
 — S 0769 mit Pt-Draht

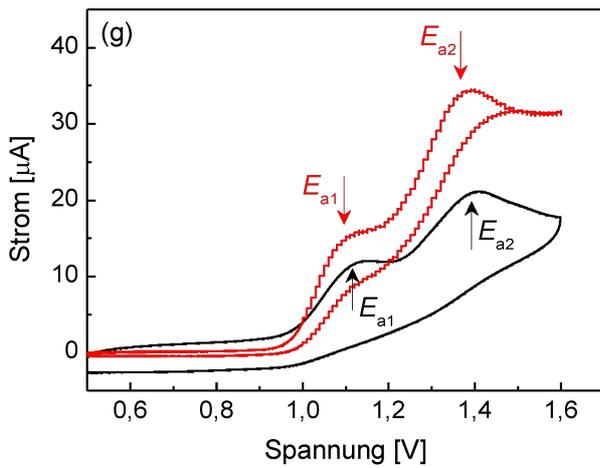


$E_a = 444 \text{ mV}$   
 $\Delta E_1 = (481 \text{ mV} - 401 \text{ mV}) = 80 \text{ mV}$   
 $E_{a2} = 993 \text{ mV}$



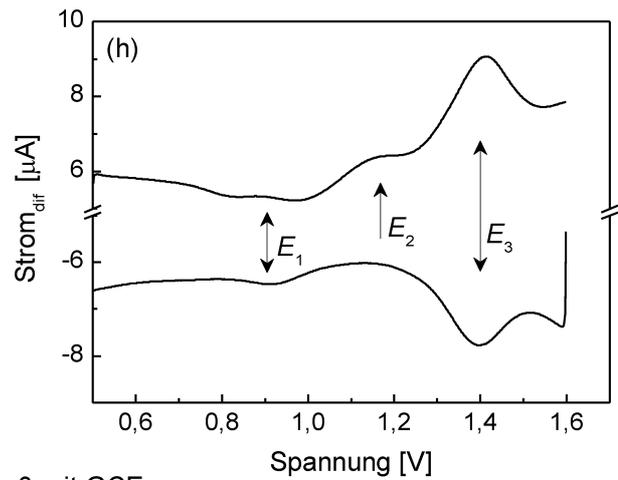
$E_1 = 310 \text{ mV}$   
 $E_2 = 930 \text{ mV}$

— S 0837 mit GCE  
 — S 0837 mit Pt-Draht

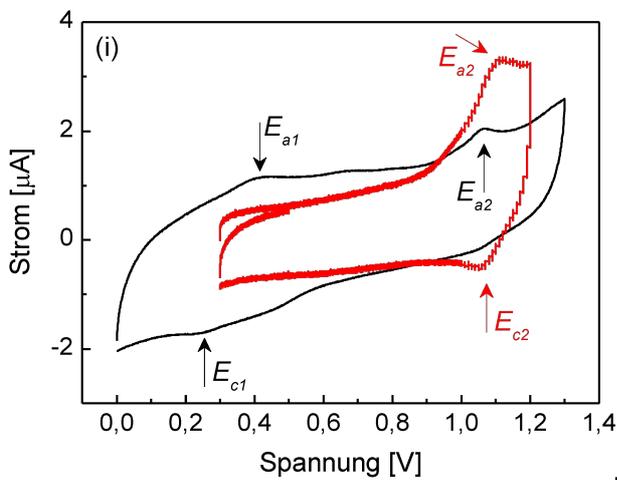


$E_{a1} = 1123 \text{ mV}$   
 $E_{a2} = 1397 \text{ mV}$   
 $E_{a1} = 1100 \text{ mV}$   
 $E_{a2} = 1383 \text{ mV}$

— Cy 3 mit GCE  
 — Cy 3 mit Pt-Draht

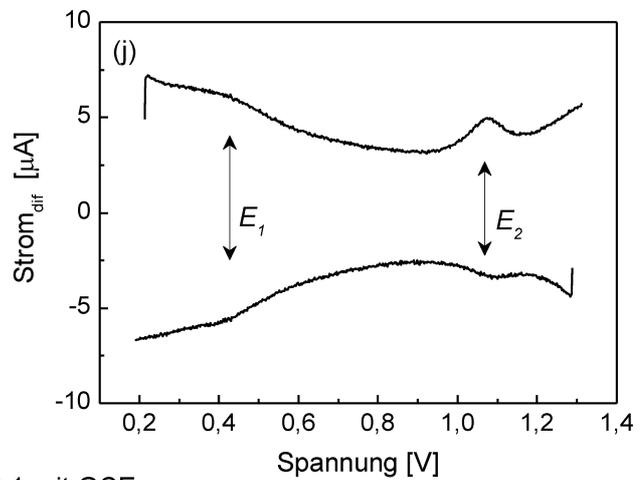


$E_1 = 893 \text{ mV}$   
 $E_2 = 1162 \text{ mV}$   
 $E_3 = 1410 \text{ mV}$

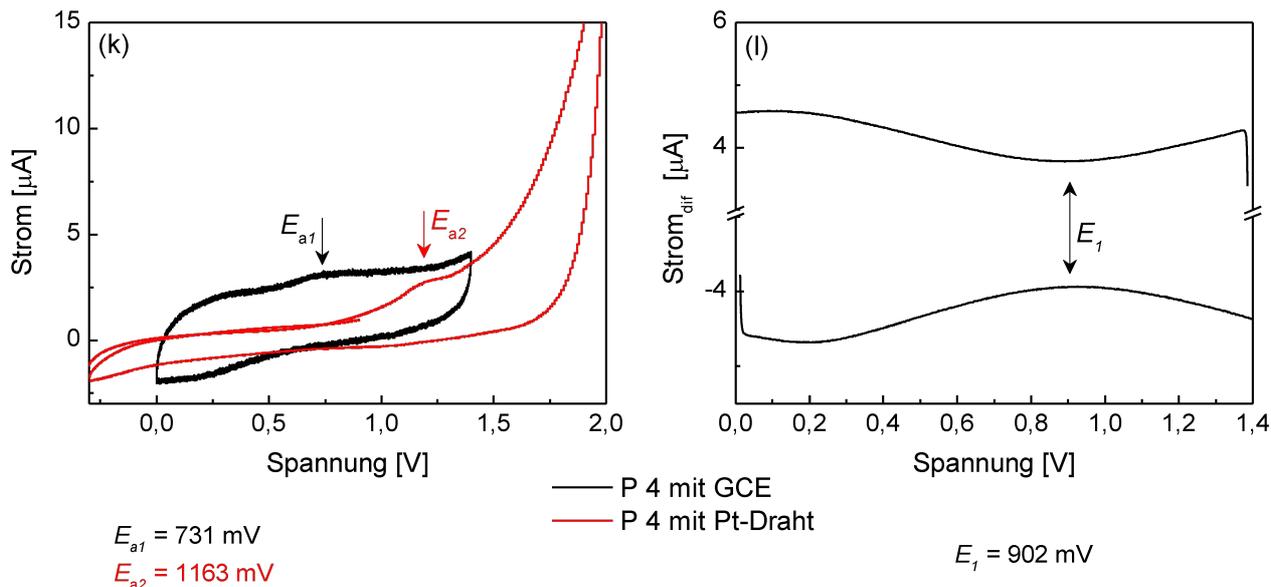


$\Delta E_1 = (406 \text{ mV} - 239 \text{ mV}) = 167 \text{ mV}$   
 $E_{a2} = 1066 \text{ mV}$   
 $\Delta E_2 = (1115 \text{ mV} - 1058 \text{ mV}) = 57 \text{ mV}$

— P 1 mit GCE  
 — P 1 mit Pt-Draht



$E_1 = 400 \text{ mV}$   
 $E_2 = 1064 \text{ mV}$



**Abbildung 65:** (a) - (l): CV (mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 50 mV/s) und SWV-Messungen (Spannungserhöhung 25 mV, Frequenz 25 Hz) von den verwendeten Farbstoffen mit einem Pt-Draht (rot) und einer GCE (schwarz)

Alle Messungen der getesteten Farbstoffe ( $c = 0,001 \text{ mol/L}$ ) wurden mit dem Leitsalz  $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+\text{BF}_4^-$  in  $\text{CH}_3\text{CN}$  ( $c = 0,5 \text{ mol/L}$ ) gegen einen Ag-Draht vermessen

Aufgrund dieser ersten Voruntersuchungen der Farbstoffe konnte die Wahl etwas eingeschränkt werden, wobei darauf geachtet werden musste, dass die Messungen der Reversibilität (Redoxaktivität) alle in Lösung stattgefunden haben. Somit sollte in Zukunft das Verhalten der Farbstoffe funktionalisiert an der Oberfläche näher betrachtet werden, um eventuelle Veränderungen miteinzubeziehen. Dafür werden die Farbstoffe (alle, aber nur im bestimmten Spannungsbereich) ausgewählt, die reversible Peaks, also im SWV-Graph auf Hin- und Rückweg schließen lassen, ausgewählt. Für weitere Untersuchungen kommen S 0046, Cy 3 und P 1 in Frage. Die anderen Farbstoffe besitzen alle reversible Peaks im Spannungsbereich von 0,8 - 1,3 V, dieser Peak könnte auch nach einer  $\text{H}_2\text{O}$ -Spaltung folgen. S 0837 wird aufgrund des Absorptionsspektrums nicht in die engere Auswahl genommen. Die ausgewählten Farbstoffe (S 0046, Cy 3 und P 1) weisen auch in Tabelle 13 in fast allen Lösungsmitteln eine Löslichkeit auf.

## 6.2. Im Hinblick auf andere Enzyme:

### Funktionalisierung von Hydrogenasen auf Elektroden

Im Gegensatz zu den Invertasen, welche Säure-Base-Enzyme sind (siehe Kapitel 5), handelt es sich bei den Hydrogenasen um eine redoxaktive Spezies. In diesem Abschnitt wer-

den die vorgestellten Methoden aus den Kapiteln 3 - 5 angewandt. Durch die Redoxaktivität dieser Enzyme ist es besonders wichtig, dass der intra- und intermolekulare Elektronentransport optimiert abläuft. Daher ist der Umgang mit diesen empfindlichen Biosystemen etwas komplexer. Sie sind sehr instabil in sauerstoffreicher Umgebung, oxidieren schnell und werden langsam inaktiv. Die [NiFe]-Hydrogenasen weisen besonders hohe katalytischen Produktivitäten auf [170]. Diese membrangebundenen Hydrogenasen spalten Wasserstoff (siehe Gleichung 37), der in dieser Arbeit durch elektrochemische Messungen detektiert wird.

Es wurden Experimente mit Hydrogenasen aus einer Anreicherungskultur von Bakterien vom „Sisters Peak“ und aus *E.coli* durchgeführt. Die Enzymaktivität wurde, wie auch im vorherigen Kapitel, allerdings hier durch elektrochemische Messungen, wie z.B. CV nachgewiesen. Außerdem wurden hier verschiedene Elektrodenoberflächen (Pt-Draht, Glaskohlenstoffelektrode und nanostrukturierte Membranen) getestet, um eine beste Funktionalisierung zu gewährleisten und sie miteinander vergleichen zu können. Die Enzyme wurden durch einfaches Auftropfen/Eintauchen der Enzymlösung auf die Template aufgebracht (siehe Kapitel 6.3.5).

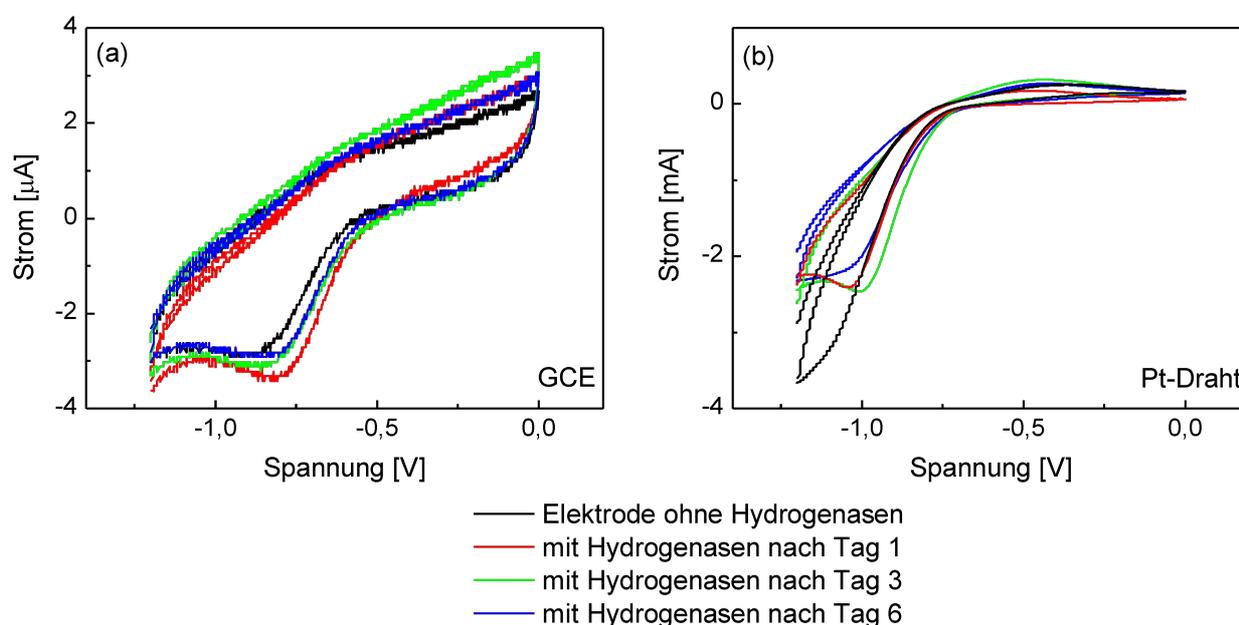
### 6.2.1. Funktionale Charakterisierung: Enzymaktivität

Die redoxaktiven Hydrogenasen spalten Wasserstoff in Protonen und Elektronen und umgekehrt (siehe Gleichung 37). Um die Aktivität dieser Enzyme zu messen, wurde elektrochemisch verfahren. Hierfür wurden die Hydrogenasen auf die Elektrodenoberflächen aufgebracht (siehe Kapitel 6.3.5) und über ein Dreielektrodensystem (siehe Kapitel 2.7) im TRIS-Puffer (Herstellung siehe 6.3.6) bei pH 8 vermessen. Es wurden cyclische Voltammogramme (CV) durchgeführt, die besonders für schnelle Elektrodenprozesse geeignet sind (siehe Theorieteil 2.7.2). Man rasterte hier einen Spannungsbereich von zuerst -0,7 V zu 0 V ab, da in diesem Bereich Wasserstoff oxidiert wird (-130 mV bei pH 7 vs. NHE, abhängig vom pH-Wert, Hydrogenasenart und deren Aktivitätszustand) [171-173]. Wenn es Wasserstoff geben würde, wird er an dieser Stelle oxidiert. Der Peak tritt erst auf, nachdem man  $H^+$  reduziert hat. Dies beweist die Anwesenheit von Wasserstoff. Dann wurde der Bereich mit negativeren Spannungen gewählt, also der Aktivitätsbereich der Hydrogenasen. Dieser Bereich erstreckt sich von 0 V zu -1,2 V (Wasserstoffreduktion: -420 mV bei pH 7 vs. NHE, abhängig vom pH-Wert, Hydrogenasenart und deren Aktivitätszustand) [171-173].



## 6.2.2. Enzymstabilität: zeitlicher Verlauf an flachen Elektrodenoberflächen

Die Stabilität der Hydrogenasen aus der Anreicherungskultur vom „Sisters Peak“ wurde über einen Zeitraum von 6 Tagen an flachen Elektroden (an einem Pt-Draht und einer Glaskohlenstoffelektrode (GCE)) untersucht. Unter einer Anreicherungskultur versteht man eine Anzucht von Mikroorganismen bzw. Zellen, die zur Vermehrung dieser Organismen dient. In den Abbildungen 66(a) und (b) sieht man die Hydrogenaseaktivität dargestellt in einem CV über mehrere Tage an einer Glaskohlenstoffelektrode und einem Pt-Draht. Der Spannungsbereich beider Elektroden reichte von -1,2 V über 0 V wieder zu -1,2 V und die Vorschubgeschwindigkeit betrug 200 mV/s. Es wurde als Referenzelektrode eine Ag/AgCl-Elektrode verwendet.



**Abbildung 66:** (a) CV der Hydrogenaseaktivität an einer Glaskohlenstoffelektrode (GCE) (Scanrate bei 200 mV/s, max. Strom 1 mA)

(b) CV der Hydrogenaseaktivität am Pt-Draht (Vorschubgeschwindigkeit bei 200 mV/s, max. Strom 1 mA)

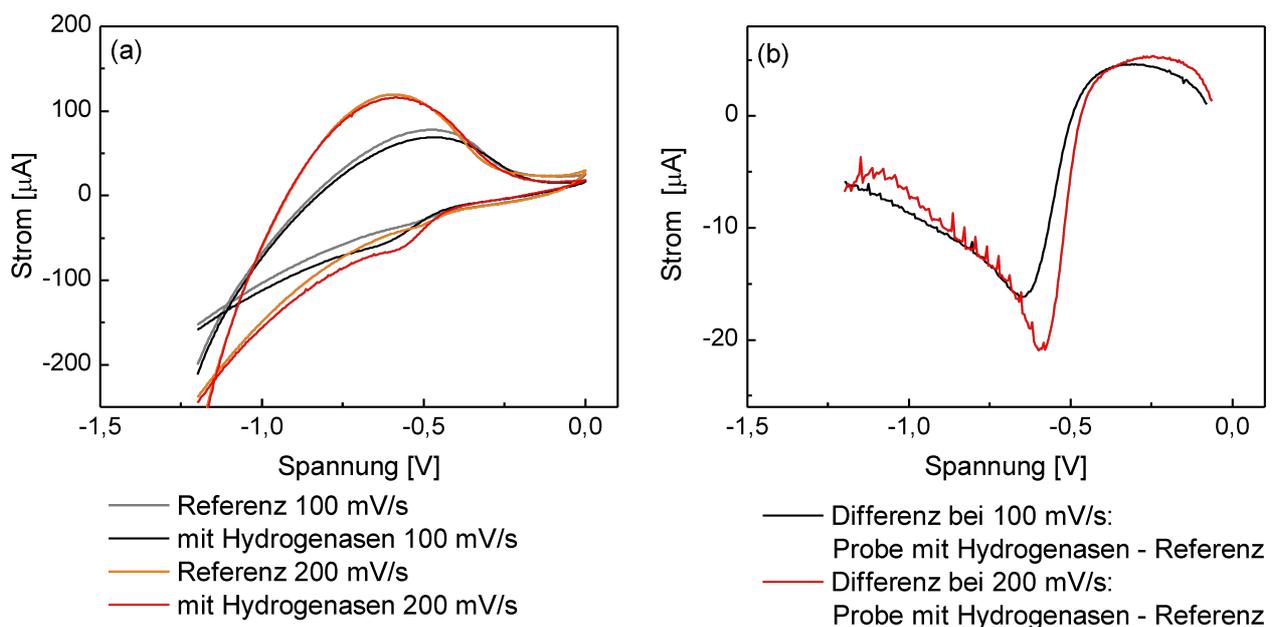
Alle Messungen wurden im TRIS-Puffer (pH-Wert 8) gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode vermessen.

Man erkennt in beiden Abbildungen deutlich den Reduktionspeak der bei etwa -0,85 V liegt. Hier wurden  $H^+$ -Ionen zu elementarem Wasserstoff reduziert. Bei dem Pt-Draht in Abbildung 66(b) sieht man sogar deutlich die anschließende Oxidation (etwa -0,48 V) des redoxaktiven Enzyms. Der höhere Strom bei dem Pt-Draht liegt an der größeren Oberfläche der Elektrode. Außerdem wird deutlich, wie die Aktivität der Hydrogenasen im Laufe der Zeit abnimmt. Nach 6 Tagen nehmen sie fast die Kurve der Referenzmessung ohne En-

zym (schwarz) an. Der Reduktionspeak von Wasserstoff wird durch die Enzyme selbst verschoben aufgrund ihrer katalytischen Wirkung.

### 6.2.3. Enzymaktivität an nanostrukturierten Elektroden

Die Versuche an den nanostrukturierten Oberflächen wurden mit den Hydrogenasen aus einer *E.coli*-Kultur durchgeführt. Es wurden CV's erstellt, um einen Einblick auf die nanostrukturierten Membranen zu bekommen.



**Abbildung 67:** a) CV's einer AAO-Membran auf Phosphorsäurebasis (30  $\mu\text{m}$  lang, Porendurchmesser 290 nm und einer 15 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht) mit Hydrogenasen aus *E.coli* bei unterschiedlichen Vorschubgeschwindigkeiten (100 und 200 mV/s, max. Strom 1 mA) im TRIS-Puffer mit einem pH-Wert von 8 gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode vermessen

(b) Ausschnitt aus Graph (a) und die daraus gebildete Differenz bei unterschiedlichen Vorschubgeschwindigkeiten

In Abbildung 67(a) sieht man im CV einen Peak bei -0,6 V. Dieser Peak taucht erst nach der Funktionalisierung mit den Hydrogenasen auf, daher wird angenommen, dass es sich um den Reduktionspeak von Wasserstoff handelt. Der Reduktionspeak liegt bei -420 mV vs. NHE. Dazu muss noch ein Potential von 220 mV für die Silber/Silberchlorid-Elektrode subtrahiert werden [171-173]. Um den Peak deutlicher darzustellen (siehe Abbildung 67(b)), wurde die Differenz zwischen der Membran mit Hydrogenasen von der Referenzprobe subtrahiert. Der Peak liegt, wie zu erwarten bei etwa -0,6 V gegen Ag/AgCl gemessen. Hier bestätigt der Peak, dass es sich um den Reduktionspeak von Wasserstoff handelt.

#### 6.2.4. Zusammenfassung und Ausblick

Die ersten Voruntersuchungen der Porphyrine und Cyaninfarbstoffe ergaben, dass man sie durchaus auf die Membran funktionalisieren kann, allerdings beim elektrochemischen Schalten können nur bestimmte Spannungsbereiche gewählt werden. In Abbildung 65 wird deutlich, in welchem Bereich die Farbstoffe sich zersetzen und nicht reversibel schaltbar sind. Diese Messungen wurden nur in Lösung durchgeführt, daher wäre es ratsam auch Messungen im funktionalisierten Zustand durchzuführen. Für weitere Messungen aufgrund der vorangegangenen Experimente würden S 0046, Cy 3 und P 1 weiter in Betracht kommen.

Die Hydrogenasen lassen sich ohne ein geeignetes Linkersystem sowohl auf flache Elektrodenoberflächen als auch auf nanostrukturierte Oberflächen aufbringen, wie es im Fall der Invertasen (siehe Kapitel 5.2) war.

Bei der GCE lässt sich das Funktionalisieren der Hydrogenasen eventuell durch eine vorherige Oberflächenaktivierung der Elektrodenoberfläche durch Schwefelsäure verbessern. Die Literatur [174,175] besagt, dass man z.B. vorher die GCE mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 50 mV/s mit 1 M Schwefelsäure aktivieren soll, um eine Carbonylgruppenlastige Oberfläche zu bekommen, an denen die Hydrogenasen leichter anbinden können. Durch diese Oberflächenaktivierung könnte man in den CV-Messungen besser den Reduktions- und Oxidationspeak des Wasserstoffs erkennen.

Platin wirkt in vielen Reaktionen katalytisch [167-169], daher könnte man hier annehmen, dass sich das Anbinden der Hydrogenasen auch ohne Linkersystem stabilisierend auswirkt. Bei den Messungen am Pt-Draht zeigt sich ein ausgeprägter Reduktionspeak als auch der dazugehöriger Oxidationspeak von Wasserstoff.

Die Reduktionspeaks von Wasserstoff sind bei den zwei Hydrogenasearten etwas verschoben. Die Hydrogenasen aus der Anreicherungskultur weisen einen Peak bei -0,85 V auf, die der *E.coli*-Kultur bei -0,6 V gegen eine Ag/AgCl-Elektrode gemessen. Dieses Verhalten lässt auf die verschiedenen Aktivierungszustände bzw. Redoxprozesse innerhalb der Hydrogenasen schließen [171]. Hier könnte das Funktionalisieren der Hydrogenasen durch ein geeignetes Linkersystem verbessert werden.

Außerdem zeigten die funktionalisierten, nanostrukturierten Membranen schon nach 1 h keine Aktivität mehr. Dieses Verhalten sollte weiter untersucht werden, ob die Hydrogenasen der Anreicherungskultur stabiler gegenüber Sauerstoff sind als die der *E.coli*-Kultur. Die Herausforderung hierbei ist die Anzüchtung und die damit verbundene Zellzahl der Hydrogenasen der Anreicherungskultur. Die Hydrogenasen sind schwieriger zu züchten, allerdings weisen sie eine längere Stabilität gegenüber Sauerstoff auf.

## 6.3. Experimenteller Teil

In Zusammenarbeit mit dem AK J.-Prof. Dr. Perner aus dem Biozentrum Klein Flottbeck in Hamburg wurden uns die Hydrogenasen aus *E.coli* und aus der Anreicherungskultur zur Verfügung gestellt.

### 6.3.1. Kulturzüchtung von *E.coli*

Unter anaeroben Bedingungen werden die *E.coli* Bakterien über Nacht bei 37 °C in LB-Medium (Herstellung siehe 6.3.7) in Serumflaschen gewachsen. Für den Zellaufschluss müssen sich die Bakterien in konzentrierter Lösung befinden und von dem Nährmedium befreit werden. Hierfür wird diese Stammlösung in der Glovebox (Atmosphäre: 95% Stickstoff und 5% Wasserstoffgas) in verschließbare Zentrifugenbecher umgefüllt und bei 8000 rpm, bei 4 °C und für 15 min zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Zellpellet wird mit TRIS-Puffer wieder suspendiert. Es erfolgt eine erneute Zentrifugation, bei allerdings 12000 rpm, 4 °C und wieder für 15 min, um so Reste des Nährmediums zu entfernen und sie in die Pufferlösung zu überführen. Der Überstand wird entsorgt und das Zellpellet wird im TRIS-Puffer mit Dithiothreitol (DTT; 1 mM) versetzt und erneut resuspendiert. Das DTT wirkt in diesen kleinen Konzentrationen stabilisierend auf die Hydrogenasen. Nun erfolgt der Zellaufschluss mit der French-Press-Methode und der Ultraschallmethode.

Für die French-Press-Methode benötigt man 3 mL der bakterienhaltigen Lösung, die in der Presse auf über 1000 bar gebracht werden und durch ein Ventil über einen Schlauch schlagartig auf Normaldruck versetzt werden. Diese Verfahren wird 3x wiederholt, um viele Zellmembranen aufzutrennen.

Bei der Ultraschallmethode wird bei einer Frequenz von 30 kHz (60% Amplitude und 0,5 cycles) ein Metallstäbchen in die Lösung gebracht und für 5x je 30 s eingewirkt. Jedes Mal wird die Lösung für je 30 s auf Eis abgekühlt, um der Hitze entgegen zu wirken.

Das erhaltene Zellysat wird bei 5000 G für 4 min zentrifugiert, um evtl. nicht aufgeschlossene Zellen und die Zelltrümmer zu separieren. Der immer noch trübe Überstand wird in der Ultrazentrifuge bei 32600 rpm und 4 °C für 1 h zentrifugiert. Im gebildeten Zellpellet verblieben die membrangebundenen Hydrogenasen. Das Pellet wird mit DDT versetztem TRIS-Puffer (300 µL) resuspendiert.

### **6.3.2. Kulturzüchtung der Anreicherungskultur**

Das Nährmedium (Herstellung siehe 6.3.8) für die Anreicherungskultur vom „Sisters Peak“ wird zunächst autoklaviert. Die Vitaminlösung (10 mL, Herstellung siehe 6.3.10) wird steril gefiltert, sowie eine separat autoklavierte Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5%; 20 mL) werden hinzugefügt. Das Nährmedium wird in Serumflaschen bis zur Hälfte unter einer Sterilbank befüllt und versiegelt. Die Gummistopfen werden mit Ethanol abgeflammt und für 2 oder 3 min je nach Serumflaschengröße mit folgender Gasmischung begast: 79% H<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub> und 1% O<sub>2</sub>. Diese Gasmischung entspricht einer microaerophilen Aufzucht. Es erfolgt nun die Impfung der Anreicherungskultur. Für 3 Wochen wird inkubiert, wobei das Gasgemisch wöchentlich erneuert wird.

### **6.3.3. Bradford-Test zur Protein-Bestimmung**

Der Bradford-Test dient näherungsweise zur Bestimmung der Proteinkonzentration einer Lösung. Der Farbstoff Coomassie-Brilliant-Blue-G 250 gehört zu der Gruppe der Triphenylmethanfarbstoffe und findet im Bereich der Medizin und Chemie Anwendung in der Protein-färbung. Dort lagert sich der Farbstoff an die basischen Seitenketten der Aminosäuren an und führt zu einer unselektiven Anfärbung. Dieses Verhalten macht man sich auch beim Bradford-Test zunutze. Man versetzt die zu untersuchende Lösung mit dem Farbstoff und nimmt photometrisch bei einer Wellenlänge von 595 nm auf. Es wird mit dem Standardprotein Rinderserumalbumin eine Eichreihe aus Lösungen bekannter Konzentrationen erstellt, um den Extinktionskoeffizienten durch lineare Regression zu bestimmen.

### **6.3.4. Herstellung der nanostrukturierten Elektroden**

Die Herstellung der nanostrukturierten Elektroden verlief wie in Kapitel 4.7.8. Die elektrochemische Goldabscheidung dauerte 1 h bei 3 V und einem Strom von etwa 0,3 - 0,7 mA, um eine homogene Goldschicht zu erhalten.

### **6.3.5. Aufbringen der Hydrogenasen**

Das Aufbringen der Hydrogenasen an die flachen Elektrodenoberflächen, wie dem Pt-Draht und der Glaskohlenstoffelektrode verlief über einfaches Eintauchen und Antrocknen. Bei den nanostrukturierten Elektroden wurden mithilfe einer Mikropipette einige Tropfen des Zellysats auf die Membranoberfläche gegeben. Nach einigen Minuten wurde der Vorgang wiederholt, bis die Flüssigkeit evaporiert war.

### 6.3.6. Herstellung des TRIS-Puffers

Es wird eine 50 mM Trishydroxymethylaminomethan-Lösung mit einem pH-Wert von 8,0 hergestellt. Die Lösung wird für mind. 30 min mit Stickstoff begast um den Sauerstoff auszutreiben.

### 6.3.7. Herstellung des LB-Mediums

Das LB-Medium (*engl.: lysogeny broth*) ist wichtig für die Züchtung der *E.coli*-Bakterien. Hierfür werden folgende Chemikalien eingewogen: Es werden 10 g Natriumchlorid ( $c = 0,17 \text{ mol}$ ), 10 g Trypton und 5 g Hefeextrakt eingewogen. Anschließend wird mit dest. Wasser auf 1 L aufgefüllt und der pH-Wert wird auf 7 eingestellt.

### 6.3.8. Herstellung des Nährmediums für die Anreicherungskultur

Es werden folgende Salze eingewogen, anschließend mit dest. Wasser auf 3 L aufgefüllt und autoklaviert. 90 g NaCl, 0,42 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,42 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , 0,75 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 10,2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 12,54 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , 0,99 g KCl, 0,03 g  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , 1,5 mg  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  und 1,5 mg  $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ . Außerdem werden noch 30 mL der Spurenelemente-Lösung (siehe Kapitel 6.3.9) hinzugefügt und mit dest. Wasser aufgefüllt.

### 6.3.9. Herstellung der Spurenelemente-Lösung

Hierfür werden folgende Salze eingewogen:

1,5 g  $\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}_6$ ; 3 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,5 g  $\text{MnSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ; 1,0 g NaCl; 0,1 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,18 g  $\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,18 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,01 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,02 g  $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,01 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 0,01 g  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ; 0,025 g  $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  und 0,3 mg  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .

### 6.3.10. Herstellung der Vitaminlösung

Es werden 2 mg Biotin, 2 mg Folsäure, 10 mg Pyridoxin-HCl, 5 mg Thiamin-HCl \*  $2 \text{H}_2\text{O}$ , 5 mg Riboflavin, 5 mg Niacin, sowie 5 mg D-Ca-pantothenat, 0,1 mg Vitamin B 12, 5 mg p-Aminobenzoesäure und 5 mg - Liponsäure eingewogen und anschließend mit dest. Wasser auf 1 L aufgefüllt.



## 7. Fazit

Die gewonnenen Ergebnisse und Ansätze werden im Hinblick auf die Zielsetzung (siehe siehe 1.2) zusammengefasst. In der vorliegenden Arbeit ist das Ziel den Oxidationszustand redoxaktiver Moleküle an einer Oberfläche mittels einer angelegten Spannung zu ändern.

In Kapitel 3 wird vor allem das Hauptaugenmerk auf flache Substrate bzw. unterschiedliche Elektrodenmaterialien gelegt, die auf chemische Reversibilität, Haftung und elektrische Leitfähigkeit getestet werden. Der ALD-Prozess von Titandioxid wird vorgestellt. Die Wachstumsraten werden mithilfe von Ellipsometrie und dem XRR-Verfahren zu 0,045 nm pro Zyklus ermittelt. Die Kristallinität, die eine große Rolle in dieser Arbeit spielt, da über die TiO<sub>2</sub>-Schicht die funktionalisierten Moleküle geschaltet werden sollen, wird zu Anatas bestimmt. Anatas besitzt eine Bandlücke von 3,2 eV und zählt somit zu den Halbleitern. Außerdem wurde die Methode zur Funktionalisierung nach Grätzel der redoxaktiven Moleküle vorgestellt und etabliert. Mit dem ausgewählten Molekül, Ferrocenessigsäure (FAA) werden die weiteren Versuche durchgeführt. Des Weiteren werden Kontrollexperimente mit dem chemischen Oxidanten Nitrosoniumtetrafluoroborat (NOBF<sub>4</sub>) durchgeführt, um zu sehen wie sich FAA oxidiert verhält. Dafür wurden UV-Vis Daten, elektrochemische Messungen, die Kapillarität im Hinblick auf den Kontaktwinkel und magnetische Messungen durchgeführt.

In Kapitel 4 werden die gewonnenen Ergebnisse auf die nanostrukturierten Proben übertragen. Hier kann gesagt werden, dass die redoxaktiven FAA-Moleküle sowohl an flachen Substraten als auch an den Nanostrukturen reversibel über die TiO<sub>2</sub>-Schicht schaltbar sind. Die Quantifizierung der funktionalisierten Moleküle ist durch verschiedene Verfahren möglich. Das spektroskopische Verfahren zeigte ein nahezu übereinstimmendes Ergebnis für die gesamten Platzbedarf eines FAA-Moleküls auf den Nanostrukturen. Die elektrochemischen Messungen (CC-Messungen) beweisen, dass die geschaltete Menge an funktionalisierten Moleküle bei einer bestimmten Spannung einstellbar ist.

Es sollten allerdings noch Verbesserungen in der Herstellung der Elektroden vorgenommen werden, wie man den Transport entlang der Poren verbessert. Die Leitfähigkeit der TiO<sub>2</sub>-Schicht könnte durch Auswahl eines besser leitenden Oxids vergrößert werden.

In Kapitel 5 werden große Biomoleküle, wie die Invertase aus *Saccharomyces cerevisiae* an die Oberfläche von flachen und nanostrukturierten Proben funktionalisiert und vermessen. Die Invertase ist ein Säure-Base-Enzym und wird mit einem bestimmtem Linkersys-

tem auf die Proben aufgebracht. Die Linker- und Enzymdicke wird mit der Ellipsometrie und der Rasterkraftmikroskopie bestimmt. Mit einem Glucose-Assay nach Sumner kann spektroskopisch auf die Glucoseaktivität getestet werden. Hier fanden Vergleiche zwischen flachen und strukturierten Templaten statt. Außerdem wurden Vergleiche durchgeführt, an welchen Schichten, ob  $\text{SiO}_2$ - oder  $\text{TiO}_2$ -Schicht, das Anbinden des Linkersystems besser funktioniert um die steigende Aktivität der Glucose zu messen. Die  $\text{SiO}_2$ -Schicht erwies sich für das Anbinden des Linkers als besser, da  $\text{TiO}_2$ -Schichten vor allem für Carboxylat-, Sulfonat- und Phosphonat-Gruppen gut geeignet sind. Zur Verbesserung des Anbindens an die  $\text{TiO}_2$ -Schicht können weitere Versuche im Hinblick auf die Schichtdicke und das Tempern gemacht werden, um so eine kristalline Struktur zu erhalten.

Kapitel 6 gibt einen Ausblick auf weitere redoxaktive Moleküle, wie z.B. Porphyrine und Cyaninfarbstoffe, die einen höheren Extinktionskoeffizienten und somit eine breitere Absorptionsbande besitzen. Mit diesen Molekülen wurden erste Experimente auf ihre chemische Reversibilität durchgeführt mithilfe der UV-Vis-Spektroskopie und elektrochemischen Messungen. Des Weiteren wurde das empfindliche, redoxaktive Enzym Hydrogenase an unterschiedliche Elektroden ohne ein bestimmtes Linkersystem aufgebracht und elektrochemisch untersucht. Hier wurde gezeigt, dass der Wasserstoff-Reduktionspeak im CV bei den unterschiedlichen Templaten deutlich erkennbar ist und somit die Redoxprozesse innerhalb der Hydrogenasen ohne besondere Immobilisierung stattfinden. Allerdings lässt die Aktivität der Hydrogenasen schon nach wenigen Tagen nach.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass redoxaktive Moleküle und auch komplexere und empfindlichere Moleküle, wie die Enzyme an unterschiedlichen Templaten funktionalisiert werden können und auch durch eine angelegte Spannung ihren Oxidationszustand ändern können. Dadurch werden, wie aus den Kapiteln ersichtlich wird, die physikalischen Eigenschaften, wie Farbe, Magnetismus und die Kapillarität geändert.

Die erzielten Ergebnisse und Ansätze können für weitere Forschungen von Bedeutung sein. Dafür sind bereits weitere Proben zur Analyse (AAS) und Quantifizierung mittels EPR zur FAU-Erlangen eingeschickt worden, um den Oxidationszustand genauer zu definieren bzw. wieviele der funktionalisierten Moleküle geschaltet worden sind. Dieses Arbeit dient vor allem zur Grundlage für den gezielten Energieaustausch an Grenzflächen. Es könnte auch Anwendung im Bereich eines „Membranventils“ finden, welches durch die Änderung der Kapillarität für bestimmte Lösungsmittel durchlässig wird und somit können nur bestimmte Reaktionen stattfinden.

## 8. Literatur

- [1] G. Ertl; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3524
- [2] B. O'Regan, M. Grätzel; *Nature* **1991**, 353, 737-740
- [3] M. Mrksich; *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 267
- [4] D. Rolison, J. Long, J. Lytle, A. Fischer, C. Rhodes, T. McEvoy, M. Bourg, A. Lubers; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 226-252
- [5] F. Cheng, J. Liang, Z. Tao, J. Chen; *Advanced Materials* **2011**, 23, 1695-1715
- [6] A. K. Gupta, M. Gupta; *Biomaterials* **2005**, 26, 3995
- [7] W. L. Hau, D.W. Trau, N. J. Sucher, M. Wong, Y. Zohar; *J. Micromech. Microeng.* **2003**, 13, 272
- [8] J. Lahann, S. Mitragotri, T. N. Tran, H. Kaido, J. Sundaram, I. S. Choi, S. Hoffer, G. A. Somorjai, R. Langer; *Science* **2003**, 299, 5605
- [9] E. Katz, L. Sheeney-Haj-Ichia, B. Basnar, I. Felner, I. Willner; *Langmuir* **2004**, 20, 9714
- [10] M. Muraoka, S. L. Gillett, T. W. Bell; *Angew. Chem.* **2002**, 41, 19, 3653
- [11] M. Grätzel, F. P. Rotzinger; *Chemical Physics Letters* **1985**, 118,5, 474-477
- [12] S. Reyntjens, R. Puers; *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2001**, 11, 287-300
- [13] R. E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, S. S. Mao; *Talanta* **2002**, 57, 425-451
- [14] K. L. Choy; *Progress in Materials Science* **2003**, 48, 57-170
- [15] F. Keller, M. S. Hunter, D. L. Robinson; *J. Electrochem. Soc.* **1953**, 100, 411
- [16] J. P. O'Sullivan, G.C. Wood; *Proc. R. soc. London A* **1970**, 317, 511
- [17] H. Masuda, F. Hasegawa, S. Ono; *J. Electrochem. Soc.* **1997**, 144, L 127
- [18] G. E. Thompson; *Thin solid Films* **1997**, 297, 192
- [19] L. Ba, W. S. Li; *J.Phys.D: Appl. Phys.* **2000**, 33, 2527

- [20] J. W. Elam, D. Routkevitch, P. P. Mardilovich, S. M. George; *Chem. Mater.* **2003**, 15, 3507
- [21] H. Masuda, K. Fukuda; *Science* **1995**, 268, 1466
- [22] T. Meyer; *Dissertation* **2000**
- [23] H. Chen, J. Weiss, S. Fereodoon; *Foodtechnology* **2006**, 3, 30-36
- [24] H. Paschen, C. Coenen, T. Fleischer, R. Grünwald, D. Oertel, C. Revermann; *Nanotechnologie Entwicklung, Forschung, Anwendung* **2004**; Springer-Verlag Berlin
- [25] S. Luryi, J. Xu, A. Zaslavsky; *Nature* **2000**, 406, 1021
- [26] P. Connelly, T. Minh Vuong, M. Murcko; *Nature Chemistry* **2011**, 3, 692-695
- [27] M. Osada, T. Sasaki; *Adv. Mater.* **2011**, 20, 1-19
- [28] S. Disch, E. Wetterskog, R. P. Hermann, G. Salazar-Alvarez, P. Busch, T. Brückel, L. Bergström, S. Kamali; *Nano Letters* **2011**, 11, 1651-1656
- [29] M. Binnewies, M. Jäckel, H. Willner, G. Rayner. Canham; *Allgemeine und Anorganische Chemie* **2004**, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg
- [30] F. Keller, M. S. Hunter, D. L. Robinson; *J. Electrochem. Soc.* **1953**, 100, 411
- [31] J. P. O`Sullivan, G.C. Wood; *Proc. R. soc. London A* **1970**, 317, 511
- [32] H. Masuda, F. Hasegawa, S. Ono; *J. Electrochem. Soc.* **1997**, 144, L 127
- [33] G. E. Thompson; *Thin solid Films* **1997**, 297, 192
- [34] L. Ba, W. S. Li; *J.Phys.D: Appl. Phys.* **2000**, 33, 2527
- [35] J. W. Elam, D. Routkevitch, P. P. Mardilovich, S. M. George; *Chem. Mater.* **2003**, 15, 3507
- [36] H. Masuda, K. Fukuda; *Science* **1995**, 268, 1466
- [37] G. Patermarakis, C. Pavlidou; *J. Catal.* **1994**, 147, 140
- [38] D. Miller, M. Moskovits; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 11, 9250
- [39] S. B. Lee, D. T. Mitchell, L. Trofin, T. K. Nevanen, H. Soderlund, C. R. Martin; *Science* **2002**, 296, 2198

- [40] O. K. Varghese, D. W. Gong, M. Paulose, K. G. Ong, C. A. Grimes, E. C. Dickey; *J. Mater. Res.* **2002**, 17, 1162
- [41] H. Masuda, M. Satoh; *Jpn. J. Appl. Phys.* **1996**, 35, L 126
- [42] D. Routkevitch, T. Bigioni, M. Moskovits, J. M. Xu; *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 14037
- [43] T. Suntola and J. Andson, U.S.-Patent 1977, Nr.: 4,058 , 430
- [44] M. Leskelä, M. Ritala; *Thin Solid Films* **2002**, 409, 138
- [45] Y. Tung Chong; *Dissertation* **2011**
- [46] H. Wedemeyer; *Diplomarbeit* **2012**
- [47] A. Langner; *Dissertation* **2008**
- [48] T. J. Kealy, P. L. Pauson; *Nature* 1951, 168,1039
- [49] S. A. Miller, J. A. Tebboth, J. F. Tremaine; *J. Chem. Soc.* **1952**, 632
- [50] H. Werner; *Angew. Chem. Int Ed.* **2012**, 51, 6052
- [51] K. Balasubramanian, M. Burghard; *Chem. Unserer Zeit* **2005**, 39, 16–25
- [52] A. Holländer, W. Klein, M. Keusgen; *BIOSpektrum* **2003**, 1, 39-41
- [53] P. S. Tanner, W. E. Jones, Jr. Clifford, E. Myers, M. S. Whittingham. Presented at the 210th National Meeting of the *American Chemical Society*, Chicago, IL, **1995**; paper CHED 51
- [54] V.M. Fomin, A. E. Shirokov; *Russian Journal of General Chemistry* **2009**, 79,11, 2304-2316
- [55] N. Guota, F. Bonomi, D. M. Kurtz Jr., N. Ravi, D. L. Wang, B. H. Huynh; *Biochemistry* **1995**, 34, 3310-3318
- [56] A. Mishra, R. Behera, P. Behera, B. Mishra, G. Behera, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 1973-2011
- [57] A. Varja; *Dissertation* **2010**
- [58] M. Doja; *Chemical Reviews* **1931**, 11, 273-321
- [59] G. Patonay, J. Salon, J. Sowell, L. Strekowski; *Molecules* **2004**, 9, 40-49
- [60] O. Keray, *Dissertation* **2007**

- [61] W. König, *J. Prakt. Chemie* **1926**, 112, 1-36
- [62] F. Luschtinetz; *Dissertation* **2010**
- [63] G. Scheibe; *Angewandte Chemie* **1937**, 50, 212–219
- [64] M. Kasha, M. Ashraf El-Bayoumi, *Pure Applied Chemistry* **1965**, 11, 371–392
- [65] W. Küster, *Z. Physiol. Chem.* **1912**, 82, 463
- [66] S. Aronoff, C. Weast; *J. Org. Chem.* **1941**, 6, 550–557
- [67] A. Tenea; *Dissertation* **2004**
- [68] N. Campbell, J. Reece, J. Markl; *Biologie* **2003**, 6.Auflage, Spektrum Akademischer Verlag
- [69] E. Fischer; *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985–2993
- [70] M. Kula; *Chemie in unserer Zeit* **1980**, 2, 61-70
- [71] B. Schäfer; *Dissertation* **2012**
- [72] K. Johnson, R. Goody; *Biochemistry* **2011**, 50, 8264-8269
- [73] G. Vollmer, M. Franz; *Chemische Produkte im Alltag* 1991, Thieme-Georg-Verlag
- [74] A. Paschos; *Dissertation* **2002**
- [75] C. Lambertz, N. Leidel, K. Havelius, J. Noth, P. Chernev, M. Winkler, T. Happe, M. Haumann; *J. Biological Chemistry* **2011**, 286,40614-40622
- [76] M. Sezer, S. Frielingsdorf, D. Millo, N. Heidary, T. Utesch, M. Mroginski, B. Freidrich, P. Hildebrandt, I. Zebger, I. Weidinger; *J. Phys. Chem.* **2011**, 115, 10368-10374
- [77] R. Hedderich; *BIOspektrum* **2003**, 6, 694- 697
- [78] D. Bayer; *Dissertation* **2012**
- [79] P. Atkins; *Physikalische Chemie* **2001**, Wiley-VCH Weinheim, 3. Auflage
- [80] J. Heinze; *Angew. Chem.* **1984**, 96, 823-840
- [81] D. Gosser; *Cyclic Voltammetry-Simulation and Analysis of Reaction* **1993**, VCH, New York
- [82] H. Channaa; *Dissertation* **2008**
- [83] T. Reißig; *Wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Gymnasien* **2008**

- [84] E. Parry, R. Osteryoung; *Anal. Chem* **1965**, 57, 1634-1637
- [85] G. Barker, I. Jenkins; *Analyst* **1952**, 77, 685-696
- [86] J. Osteryoung, R. Osteryoung; *Anal. Chem.* **1985**, 57, 101A-110A
- [87] F. Anson, R. Osteryoung; *J. Chem. Ed.* **1983**, 60, 293
- [88] W. Heineman; *Curr. Sep.* **1986**, 7, 58
- [89] S. Dümmling; *Dissertation* **2000**
- [90] F. Anson; *Anal. Chem.* **1966**, 38, 54
- [91] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie* **2002**, Georg Thieme Verlag, 6. überarbeitete Auflage
- [92] S. Schleidt; *Dissertation* **2006**
- [93] H. Fujiwara; *Spectroscopic Ellipsometry*; Wiley **2007**
- [94] L. G. Paratt; *Physical Review* **1954**, 95, 359-369
- [95] L. J. Van der Pauw; *Phil. Res. Rep.* **1958**, 13, 1
- [96] R. Chwang, B. J. Smith, C. R. Crowell; *Solid-State Electronics* **1974**, 17, 1217-1227
- [97] M. von Ardenne; *Zeitschrift für Physik* **1938**, 109, 553-572
- [98] L. Reimer, H. Kohl; *Transmission Electron Microscopy: Physics of Image Formation*, Springer Series In Optical Sciences 36 **2008**, 5. Auflage, Springer-Verlag, New York
- [99] B. Welz, M. Sperling; *Atomic Absorption Spectrometry* **1999**, 3. überarbeitete Auflage, Wiley-VCH Verlag, Weinheim
- [100] G. Binnig, C. Quate, C. Gerber; *Physical Review Letters* **1986**, 56, 930-934
- [101] F. Giessibl; *Reviews of Modern Physics* **2003**, 75, 949-983
- [102] N. G. Connelly, W. E. Geiger; *Chem. Rev.* **1996**, 96, 877-910
- [103] K. P. Vollhardt, N. E. Schore; *Organische Chemie* **2005**, 4. Auflage, Wiley-VCH Verlag, Weinheim
- [104] A. Simic, D. Manojlovic, D. Segan, M. Todorovic; *Molecules* **2007**, 12, 2327-2340
- [105] C. Dostert; *Dissertation* **2013**

- [106] Y. Toda, S. Ishimaru, R. Ikeda, T. Mitani, S. Kitao, M. Seto; *J. of Physics and Chemistry of Solids* **2004**, 65, 471-473
- [107] Y. X. Weng, L. Li, Y. Liu, L. Wang, G. Z. Yang; *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 4356-4363
- [108] U. Schubert, A. Lorenz, N. Kundo, T. Stuchinskaya, L. Gogina, A. Salanov, V. Zai kovskii, V. Maizlish, G. P. Shaposhnikov; *Chemische Berichte/Recueil* **1997**, 130, 1585-1589
- [109] D. Zhao, C. Chen, Y. Wang, H. Ji, W. Ma, L. Zang, J. Zhao; *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 5993- 6001
- [110] Calculated from ISCD using POWD-12++ (**1997**)
- [111] J. K. Burdett, T. Hughbanks, G. J. Miller, J. W. Richardson, J. V. Smith; *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 3639
- [112] K. Thamaphat, P. Limsuwan, B. Ngotawornchai; *Nat. Sci.* **2008**, 42,357-361
- [113] N. Nolan, M. Seery, S. C. Pillai; *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 16151-16157
- [114] F. Dache, P. Y. Simons, R. Roy; *The American Mineralogist* **1968**, 53, 1929-1939
- [115] Y. Leterrier, L. Medico, F. Demarco, J.-A.E. Manson, U. Betz, M. F. Escola, M. Khar-razi, Olsson, F. Atamny; *Thin Solid Films* **2004**, 460,156
- [116] N. Kikuchi, E. Kusano, E. Kishio, A. Kinbara; *Vacuum* **2002**, 66, 365
- [117] T. Nakada, Y. Hirabayashi, T. Tokado, D. Ohmori, T. Mise; *Solar Energy* **2004**, 77, 739
- [118] A. N. Tiwari, G. Khrypunov, F. Kurdesau, D.L. Batzner, A. Romeo, H. Zogg; *Progress in Photovoltaics: Research and Application* **2004**, 12, 33
- [119] F. Kurdesau, G. Khripunov, A. F. da Cunha, M. Kaelin, A. N. Tiwari; *Journal of Non-Crystalline Solids* **2006**, 352, 1466-1470
- [120] D. R. Lide: *CRC Handbook of Chemistry and Physics: A ready-reference book of chemical and physical data* **2009**, 90. Auflage, CRC Taylor & Francis, Boca Raton
- [121] M. K. Nazeeruddin, A. Kay, I. Rodicio, R. Humphry-Baker, E. Müller, P. Liska, N. Vlachopoulos, M. Grätzel; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 6382-6390

- [122] T. Bessho, E. Yoneda, J.-H. Yum, M. Guglielmi, I. Tavernelli, H. Imai, U. Rothlisberger, M. Nazeeruddin, M. Grätzel; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 5930-5934
- [123] M. Ritala, M. Leskelä, L. Niinistö, P. Haussalo; *Chem. Mater.* **1993**, 5, 1174-1181
- [124] C. Janiak, H.-J. Meyer, D. Gudat, R. Alsfasser; *Riedel Moderne Anorganische Chemie* **2012**, Walter de Gruyter Verlag, Berlin
- [125] S. A. Detmer, D. C. Chan; *Nature Reviews: Molecular Cell Biology* **2007**, 8, 870-879
- [126] Y. S. Sohn, D. N. Hendrickson, H. Gray; *Journal of the American Chemical Society* **1971**, 93:15, 3603-3612
- [127] J. Bachmann, R. Zierold, Y. T. Chong, R. Hauert, C. Sturm, R. Schmidt-Grund, B. Rheinländer, M. Grundmann, U. Gösele, K. Nielsch; *Angew. Chem.* **2008**, 47, 6177-6179
- [128] P. A. Dalby; *Recent Patents on Biotechnology* **2007**, 1, 1-9
- [129] A. Radzicka, R.A. Wolfenden; *Science* **1995**, 267, 90-93
- [130] A. Merz, M. Yee, H. Szadkowski; *Biochemistry* **2000**, 39,880-889
- [131] K. Miyazaki, P. Wintrode, R. Grayling, D. Rubingh, F. Arnold; *J. Mol. Biol.* **2000**, 297, 1015-1026
- [132] J. Cherry; *Current Opin Biotech.* **2000**, 11, 250-254
- [133] J. Liang, Y. Li, V. Yang; Review, *J. of Pharmaceutical Science* **2000**, 89, 979-990
- [134] A. Glieder, E. Farinas, F. Arnold; *Nat. Biotechnol* **2002**, 20, 1135, 1139
- [135] Y. Yoshikuni, T. Ferrin, J. Keasling; *Nature* **2006**, 440, 1078-1082
- [136] M. Hartmann; *Chem. Mat.;* **2005**, 17, 4577
- [137] J. Moore, F. Arnold; *Nat. Biotechnol* **1996**, 14, 458-467
- [138] J. Hao, A. Berry; *Protein Eng. Des. Sel.* **2004**, 17, 689-697
- [139] U.Haker; *Dissertation* **2000**
- [140] E. Hibbert, F. Baganz, H. Hailes; *Biomol Eng.* **2005**, 22, 11-19
- [141] J. Sylvestre, F. Cedrone, M. Delcourt; *Org. Process Res Dev* **2006**, 10, 562-571
- [142] M. Qhobosheane, S. Santra, P. Zhang, W. Tan; *Analyst* **2001**, 126, 1274-1278

- [143] Y. Xiao, F. Patolsky, E. Katz, J. F. Hainfeld, I. Willner; *Science* **2003**, 299, 1877-1881
- [144] J. Wang, Review; *Electroanalysis* **2005**, 17, 1
- [145] E. B. Mubofu, J. E. G. Mdoe, G. Kinunda; *Catal. Sci. Technol.* **2011**, 1, 1423-1431
- [146] J. Roth; *Dissertation* **2009**
- [147] T. Yokoi, H. Yoshitake, T. Tatsumi; *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 951-957
- [148] S. Huh, J.W. Wiench, J. Yoo, M. Pruski, V. Lin; *Chem. Mater.* **2003**, 15, 4247-4256
- [149] F. Alberto, C. Bignon, G. Sulzenbacher, B. Henrissat, M. Czjzek; *J. of Biological Chemistry* **2004**, 279, 18, 18903-18910
- [150] D. Grosso, A. Balkenende, P. Albouy, A. Ayral, H. Amenitsch, F. Babonneau; *Chem. Mater.* **2001**, 13, 1848-1856
- [151] R. Jordan, A. Ulman, J. Kang, M. Rafailovich, J. Sokolov; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 1016-1022
- [152] F. Tiberg, M. Landgren; *Langmuir* **1993**, 9, 927- 932
- [153] P. Tengvall, I. Lundström, B. Liedberg; *Biomaterials* **1998**, 19, 407-422
- [154] H. Arwin, *Thin Solid Films* **1998**, 313-314, 764-774
- [155] H. Arwin, *Thin Solid Films* **2000**, 377-378, 48-56
- [156] Sentech, *SENpro Manual*
- [157] G. Abadal, A. Boisen, Z. Davis, O. Hansen, F. Grey; *Applied Physics Letters* **1999**, 74, 3206-3208
- [158] R. Gassilloud; *Dissertation* **2006**
- [159] M. Blaesén; *Dissertation* **2006**
- [160] W. Eckert, J. Kartenbeck; Proteine: Standardmethoden der Molekular- und Zellbiologie: Präparation, Gelelektrophorese, Membrantransfer und Immundetektion; Springer-Verlag 1997, Berlin
- [161] L. Schomacher; *Dissertation* **2007**
- [162] M. Roskamp; *Dissertation* **2010**
- [163] M. Otto, Analytische Chemie **2000**, Wiley-VCH Verlag, 2. Auflage

- 
- [164] G. Miller; *Anal. Chem.* **1959**, 31 426
- [165] C. Kelting; Dissertation **2011**
- [166] A. Quart; Dissertation **2000**
- [167] P. Starsser; *Chemie Ingenieur Technik* **2009**, 81, 573-580
- [168] K. Heyns, H. Paulsen; *Angew. Chem.* **1957**, 69, 600-608
- [169] P. Hugo, M. Jakubith; *Chemie Ingenieur Technik* **1972**, 6, 383-387
- [170] C. Lambertz, N. Leidel, K. Havelius, J. Noth, P. Chernev, M. Winkler, T. Happe, M. Haumann; *J. Biological Chemistry* **2011**, 286,40614-40622
- [171] R. Cammack, M. Frey, R. Robson; Hydrogen as a Fuel. Learning from Nature **2001**, Taylor & Francis Verlag London, New York
- [172] T. Lissolo, S. Pulvin, D. Thomas; *J. Biolog. Chem.* **1984**, 259, 11725-11729
- [173] R. Mege, C. Bourdillon; *J. Biolog. Chem.* **1985**, 260, 14701-14706
- [174] P. Mayer, R. Holze; *J. Solid State Electrochem* **2001**, 5, 402-411
- [175] W. Smyrl, R. Atanasoski, L. Atanasoska, L. Hartshorn, M. Lien, K. Nygren, E. Fletcher; *J. Electroanal. Chem.* **1989**, 264, 301-304



## 9. Anhang

### 9.1. Verwendete Geräte

In der Herstellung:

- Alle verwendeten Chemikalien wurden mit der Feinwaage von *Ohaus Explorer Pro* abgewogen. Die Lösungen wurden mit dest. Wasser aus der *Millipore Direct-Q3* Anlage angesetzt und das Ultraschallbad von *VWR* wurde zum Reinigen oder zum Auflösen der Chemikalien in Lösung verwendet.
- Für die elektrochemische Anodisation des Aluminiums, also die Herstellung der Membranen wurde als Spannungsquelle für Spannungen bis zu 200 V der *Power Supply EA-PS-8360-10 DT* verwendet.
- Der Spannungsgeber für die Rührer bei der Anodisation war von der Firma *Volta-craft PS-1302-D*.
- Zum Kühlen des Anodisationsaufbaus wurde der Kühler von der Firma *Thermo Scientific Phoenix II* verwendet.
- Das Entfernen des restlichen Aluminiumoxids nach der ersten Anodisation wurde bei 45 °C im Wärmeschrank *Venti-Line* von *VWR* durchgeführt.
- Die Proben, wie die AAO-Membranen oder die Siliziumwafer wurden im Ofen von *Nabertherm P 330* getempert.
- Die Abscheidungen von Titandioxid wurden mit der ALD-Anlage „*Isodora*“, die im Selbstbau aufgebaut wurde, durchgeführt.
- Für die ITO-Schichten wurde der Sputter coater von Torr benutzt.
- Die Gold- und Chrombeschichtungen für die Elektroden wurden mit dem Modell *Research-coater* von *Cressington* ausgeführt.
- Die dünnen Goldschichten für REM-Messungen wurden mit dem Sputter coater *108 auto* von *Cressington* durchgeführt.
- Gold aus Auruna-Lösung wurde elektrochemisch mit dem *Keithley 2400 SourceMeter* abgeschieden.
- Die pH-Wert Einstellungen der Lösungen wurden mit dem pH-Meter (Modell: pH 100) von *VWR international* durchgeführt.

In der Analyse:

- Die ellipsometrischen Schichtdickenbestimmungen wurden mit einem Ellipsometer von Dr. Riss und von Sentech Instruments GmbH (Modell: SENpro) durchgeführt.
- Die Absorptions- und Transmissionsmessungen wurden mit dem UV-Vis Spektrometer von Ocean Optics HR 4000 mit der Lichtquelle DH-2000-BAL ausgeführt.
- Mit dem Potentiostat/Galvanostat/ZRA Reference 600 von Gamry Instruments wurden die elektrochemischen Messungen durchgeführt.
- Die REM-Bilder wurden bei einer Spannung von 5 kV (Proben ohne Gold) und bei 20 kV (Proben mit Gold) am Sigma oder Evo MA10 von Zeiss aufgenommen.
- Die TEM-Aufnahmen wurden an einem Philips TEM 400 T bei einer maximalen Spannung von 120 kV durchgeführt.
- Die Röntgendiffraktogramme wurden am X'Pert-Diffraktometer von Philipps unter Verwendung von der Bragg-Brentano-Geometrie und von Kupfer-K<sub>α</sub>-Strahlung aufgenommen (Spannung = 45 kV; Strom = 40 mA).
- Die XRR-Messungen wurden mit dem Gerät PANalytical X'Pert Pro durchgeführt unter Verwendung des triple axis-Monochromators und des point-Detektors.

## 9.2. Verwendete Chemikalien

Substanz [Firma]	Signalwort	H-Sätze	P-Sätze	Entsorgung
Aceton [Applichem]	Gefahr	225,319,336	210,233, 305+351+338	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
Acetonitril wasserfrei 99,8% [Sigma Aldrich]	Gefahr	225,332,302,312, 319	210, 305+351+338, 403+235	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
3-Aminopropyl- triethoxysilan [Aldrich Che- mistry]	Gefahr	302,314,317	280, 305+351+338, 310	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
3-Aminopropyltri- methoxysilan [Aldrich Che- mistry]	Gefahr	302,314,317	280, 305+351+338, 310	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel

Substanz [Firma]	Signalwort	H-Sätze	P-Sätze	Entsorgung
Auruna-Lösung [Umicore]	Achtung	315,319	280,305	Behälter für Anorganische Säuren
Chromtrioxid [Sigma Aldrich]	Gefahr	271,350,340,361f, 330,311,301,372, 314,334,317,410	201,273,280, 301+330+331, 304+340, 305+351+338, 309+310	Behälter für Chromsäure
Cy 3 [AK ]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
1,2-Dichlorbenzol [Honeywell]	Achtung	302,315,319,335, 410	261,273, 305+351+338, 501	Behälter für halogenhaltige Lösungsmittel
Dichlormethan [Honeywell]	Achtung	351	281, 308+313	Behälter für halogenhaltige Lösungsmittel
Di-Kaliumhydro- genphosphat [Sigma Aldrich]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
3,5, Dinitrosalicyl- säure 98% [Acros Organics]	Achtung	302-315-335	261	Behälter für Feststoffe
Essigsäure 99,7 % [Sigma Aldrich]	Gefahr	226,314	280, 301+330+331, 307+310, 305+351+338	Behälter für Säuren
Ferrocen [Strem Chemi- cals]	Gefahr	228,302	210	Behälter für Feststoffe
Ferrocenessig- säure [Aldrich]	Achtung	315,319,335	262	Behälter für Feststoffe
Glucose wasser- frei D(+) [Fisher Chemical]	-	-	-	Behälter für Feststoffe

Substanz [Firma]	Signalwort	H-Sätze	P-Sätze	Entsorgung
Glutaraldehyd-Lösung (50%) [Sigma Aldrich]	Gefahr	331,301,314,334, 317,400	280, 305+351+338, 270,260,273, 308+313	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
Gold-Target	-	-	-	Behälter für Feststoffe
ITO-Target [Plasmaterials]	Achtung	315,319,335	261, 305+351+338	Behälter für Feststoffe
Invertase from baker`s yeast [Sigma Life Science]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
Isopropanol [Applichem]	Gefahr	225,319,336	210,233, 305+351+338	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
Kaliumnatriumtartrat kristallin [Fisher Chemical]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
Kupferchlorid-Dihydrat [Merck]	Achtung	302,315,319,410	260,273, 302+352, 305+351+338	Behälter für Feststoffe
Methanol [Sigma Aldrich]	Gefahr	225,331,311,301, 370	210,233,280, 302+352	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
Natriumacetat Trihydrat [Sigma Aldrich]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
Natriumhydrogensulfit [Acros Organics]	Achtung	302 EUH: 031	233, 301+312	Behälter für Feststoffe
Natriumhydroxid [Fisher Chemical]	Gefahr	314,290	280, 301+330+331, 309+310, 305+351+338	Behälter für Feststoffe

Substanz [Firma]	Signalwort	H-Sätze	P-Sätze	Entsorgung
Oxalsäure [VWR Prolabo]	Achtung	312,302	261, 302+352, 304+340,312	Behälter für Feststoffe
Perchlorsäure 70% [Sigma Aldrich]	Gefahr	271,314	260,280, 303+361+353, 305+351+338, 310	Behälter für Perchlorsäure/ Ethanol Gemisch
Phenol [Sigma Aldrich]	Gefahr	341,331,311,301, 373,314	280, 302+352, 301+330+331, 309,310, 305+351+338	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel (gelöst)
Phosphorsäure 85% [Sigma Aldrich]	Gefahr	314	280, 301+330+331, 305+351+338, 309+310	Behälter für Anorganische Säuren
P 1 [Porphyrin Systems]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
P 4 [Porphyrin Systems]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
Saccharose (D+) [Fisher Chemical]	-	-	-	Behälter für Feststoffe
Salpetersäure 65% [Merck]	Gefahr	272,314	220,280, 305+351+338, 310	Behälter für Anorganische Säuren (nitratthaltig)
Salzsäure 37% [Fisher Chemical]	Gefahr	314,335	280, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338 405,501	Behälter für Anorganische Säuren
Schwefelsäure [Sigma Aldrich]	Gefahr	314	280, 301+330+331, 309,310, 305+351+338	Behälter für Anorganische Säuren
S 0046 [FEW- Chemicals]	-	-	261,280	Behälter für Feststoffe
S 0769 [FEW- Chemicals]	Achtung	315	261,264	Behälter für Feststoffe

Substanz [Firma]	Signalwort	H-Sätze	P-Sätze	Entsorgung
S 0837 [FEW- Chemicals]	-	-	261,270	Behälter für Feststoffe
Tetrabutylammo- niumtetrafluoro- borat [Sigma Aldrich]	Gefahr	302,315,318,335	261,280 305+351+338	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
Toluol [VWR Prolabo]	Gefahr	225,361d,304,373 ,315,336	210, 301+310, 331, 302+352	Behälter für halogenfreie Lösungsmittel
Tris(hydroxyme- thyl)aminomethan [Sigma Aldrich]	Achtung	315,319	261, 302+352 305+351+338	Behälter für Feststoffe
Wasser	-	-	-	Ausguss

### 9.3. Global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Gefahrstoffen (GHS-Sätze)

#### 9.3.1. Gefahrenhinweise (H-Sätze)

Physikalische Gefahren:

- H 200 Instabil, explosiv.
- H 201 Explosiv, Gefahr der Massenexplosion.
- H 202 Explosiv; große Gefahr durch Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
- H 203 Explosiv; Gefahr durch Feuer, Luftdruck oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
- H 204 Gefahr durch Feuer oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
- H 205 Gefahr der Massenexplosion bei Feuer.
- H 220 Extrem entzündbares Gas.
- H 221 Entzündbares Gas.
- H 222 Extrem entzündbares Aerosol.

---

H 223	Entzündbares Aerosol.
H 224	Flüssigkeit und Dampf extrem entzündbar.
H 225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H 226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
H 228	Entzündbarer Feststoff.
H 240	Erwärmung kann Explosion verursachen.
H 241	Erwärmung kann Brand oder Explosion verursachen.
H 242	Erwärmung kann Brand verursachen.
H 250	Entzündet sich in Berührung mit Luft von selbst.
H 251	Selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H 252	In großen Mengen selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H 260	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase, die sich spontan entzünden können.
H 261	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase.
H 270	Kann Brand verursachen oder verstärken; Oxidationsmittel.
H 271	Kann Brand oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel.
H 272	Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.
H 280	Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren.
H 281	Enthält tiefgekühltes Gas; kann Kälteverbrennungen oder –Verletzungen verursachen.
H 290	Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

#### Gesundheitsgefahren:

H 300	Lebensgefahr bei Verschlucken.
H 301	Giftig bei Verschlucken.
H 302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H 304	Kann bei Verschlucken und Eindringen in die Atemwege tödlich sein.
H 310	Lebensgefahr bei Hautkontakt.
H 311	Giftig bei Hautkontakt.

- H 312      Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt.
- H 314      Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
- H 315      Verursacht Hautreizungen.
- H 317      Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
- H 318      Verursacht schwere Augenschäden.
- H 319      Verursacht schwere Augenreizung.
- H 330      Lebensgefahr bei Einatmen.
- H 331      Giftig bei Einatmen.
- H 332      Gesundheitsschädlich bei Einatmen.
- H 334      Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
- H 335      Kann die Atemwege reizen.
- H 336      Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
- H 340      Kann genetische Defekte verursachen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 341      Kann vermutlich genetische Defekte verursachen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 350      Kann Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 351      Kann vermutlich Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 360      Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen (konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 361      Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen (konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

- H 362 Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen.
- H 370 Schädigt die Organe (oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 371 Kann die Organe schädigen (oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 372 Schädigt die Organe (alle betroffenen Organe nennen) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H 373 Kann die Organe schädigen (alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

## Kombinationen:

H 300 + H 310

Lebensgefahr bei Verschlucken oder Hautkontakt.

H 300 + H 310 + H 330

Lebensgefahr bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.

H 300 + H 330

Lebensgefahr bei Verschlucken oder Einatmen.

H 301 + H 311

Giftig bei Verschlucken oder Hautkontakt.

H 301 + H 311 + H 331

Giftig bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.

H 301 + H 331

Giftig bei Verschlucken oder Einatmen.

H 302 + H 312

Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt.

H 302 + H 312 + H 332

Gesundheitsschädlich bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.

H 302 + H 332

Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.

H 310 + H 330

Lebensgefahr bei Hautkontakt oder Einatmen.

H 311+ H 331

Giftig bei Hautkontakt oder Einatmen.

H 312 + H 332

Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt oder Einatmen.

Umweltgefahren:

H 400 Sehr giftig für Wasserorganismen.

H 410 Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

H 411 Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

H 412 Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

H 413 Kann für Wasserorganismen schädlich sein, mit langfristiger Wirkung.

H 420 Schädigt die öffentliche Gesundheit und die Umwelt durch Ozonabbau in der äußeren Atmosphäre.

### **9.3.2. Ergänzende Gefahrenmerkmale (EUH-Sätze)**

EUH 001 In trockenem Zustand explosiv.

EUH 006 Mit und ohne Luft explosionsfähig.

EUH 014 Reagiert heftig mit Wasser.

EUH 018 Kann bei Verwendung explosionsfähige / entzündbare Dampf /Luft-Gemische bilden.

EUH 019 Kann explosionsfähige Peroxide bilden.

EUH 044 Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.

---

EUH 029	Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase.
EUH 031	Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase.
EUH 032	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
EUH 059	Die Ozonschicht schädigend.
EUH 066	Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
EUH 070	Giftig bei Berührung mit den Augen.
EUH 071	Wirkt ätzend auf die Atemwege.
EUH 201	Enthält Blei. Nicht für den Anstrich von Gegenständen verwenden, die von Kindern gekaut oder gelutscht werden könnten.
EUH 202	Cyanacrylat. Gefahr. Klebt innerhalb von Sekunden Haut und Augenlider zusammen. Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
EUH 203	Enthält Chrom(VI). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 204	Enthält Isocyanate. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 205	Enthält epoxidhaltige Verbindungen. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 206	Achtung! Nicht zusammen mit anderen Produkten verwenden, da gefährliche Gase (Chlor) freigesetzt werden können.
EUH 207	Achtung! Enthält Cadmium. Bei der Verwendung entstehen gefährliche Dämpfe. Hinweise des Herstellers beachten. Sicherheitsanweisungen einhalten.
EUH 208	Enthält (Name des sensibilisierenden Stoffes). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 209	Kann bei Verwendung leicht entzündbar werden.
EUH 210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
EUH 401	Zur Vermeidung von Risiken für Mensch und Umwelt die Gebrauchsanleitung einhalten.

### **9.3.3. Sicherheitshinweise (P-Sätze)**

#### Allgemeines:

- P 101 Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungsetikett bereithalten.
- P 102 Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
- P 103 Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen.

#### Prävention:

- P 201 Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
- P 202 Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
- P 210 Von Hitze / Funken / offener Flamme / heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen.
- P 211 Nicht gegen offene Flamme oder andere Zündquelle sprühen.
- P 220 Von Kleidung /.../ brennbaren Materialien fernhalten/entfernt aufbewahren.
- P 221 Mischen mit brennbaren Stoffen /... unbedingt verhindern.
- P 222 Kontakt mit Luft nicht zulassen.
- P 223 Kontakt mit Wasser wegen heftiger Reaktion und möglichem Aufflammen unbedingt verhindern.
- P 230 Feucht halten mit ....
- P 231 Unter inertem Gas handhaben.
- P 232 Vor Feuchtigkeit schützen.
- P 233 Behälter dicht verschlossen halten.
- P 234 Nur im Originalbehälter aufbewahren.
- P 235 Kühl halten.
- P 240 Behälter und zu befüllende Anlage erden.
- P 241 Explosionsgeschützte elektrische Betriebsmittel / Lüftungsanlagen / Beleuchtung /... verwenden.
- P 242 Nur funkenfreies Werkzeug verwenden.
- P 243 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen.

- 
- P 244 Druckminderer frei von Fett und Öl halten.
- P 250 Nicht schleifen / stoßen /.../ reiben.
- P 251 Behälter steht unter Druck: Nicht durchstechen oder verbrennen, auch nicht nach der Verwendung.
- P 260 Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol nicht einatmen.
- P 261 Einatmen von Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol vermeiden.
- P 262 Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen.
- P 263 Kontakt während der Schwangerschaft / und der Stillzeit vermeiden.
- P 264 Nach Gebrauch ... gründlich waschen.
- P 270 Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
- P 271 Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
- P 272 Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.
- P 273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- P 280 Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.
- P 281 Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
- P 282 Schutzhandschuhe / Gesichtsschild / Augenschutz mit Kälteisolierung tragen.
- P 283 Schwer entflammbar / flammhemmende Kleidung tragen.
- P 284 Atemschutz tragen.
- P 285 Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen.

## Reaktion:

- P 301 Bei Verschlucken:
- P 302 Bei Berührung mit der Haut:
- P 303 Bei Berührung mit der Haut (oder dem Haar):
- P 304 Bei Einatmen:
- P 305 Bei Kontakt mit den Augen:
- P 306 Bei kontaminierter Kleidung:
- P 307 Bei Exposition:

- P 308 Bei Exposition oder falls betroffen:
- P 309 Bei Exposition oder Unwohlsein:
- P 310 Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P 311 Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P 312 Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P 313 Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P 314 Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P 315 Sofort ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P 320 Besondere Behandlung dringend erforderlich (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
- P 321 Besondere Behandlung (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
- P 322 Gezielte Maßnahmen (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
- P 330 Mund ausspülen.
- P 331 Kein Erbrechen herbeiführen.
- P 332 Bei Hautreizung:
- P 333 Bei Hautreizung oder -ausschlag:
- P 334 In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
- P 335 Lose Partikel von der Haut abbürsten.
- P 336 Vereiste Bereiche mit lauwarmem Wasser auftauen. Betroffenen Bereich nicht reiben.
- P 337 Bei anhaltender Augenreizung:
- P 338 Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
- P 340 Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
- P 341 Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
- P 342 Bei Symptomen der Atemwege:
- P 350 Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.

- P 351 Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen.
- P 352 Mit viel Wasser und Seife waschen.
- P 353 Haut mit Wasser abwaschen / duschen.
- P 360 Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
- P 361 Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen.
- P 362 Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
- P 363 Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
- P 370 Bei Brand:
- P 371 Bei Großbrand und großen Mengen:
- P 372 Explosionsgefahr bei Brand.
- P 373 Keine Brandbekämpfung, wenn das Feuer explosive Stoffe / Gemische / Erzeugnisse erreicht.
- P 374 Brandbekämpfung mit üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus angemessener Entfernung.
- P 375 Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.
- P 376 Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.
- P 377 Brand von ausströmendem Gas: Nicht löschen, bis Undichtigkeit gefahrlos beseitigt werden kann.
- P 378 ... zum Löschen verwenden.
- P 380 Umgebung räumen.
- P 381 Alle Zündquellen entfernen, wenn gefahrlos möglich.
- P 390 Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermeiden.
- P 391 Verschüttete Mengen aufnehmen.

Kombinationen:

P 301 + P 310

Bei Verschlucken: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

P 301 + P 312

Bei Verschlucken: Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

P 301 + P 330 + P 331

Bei Verschlucken: Mund ausspülen. Kein Erbrechen herbeiführen.

P 302 + P 334

Bei Kontakt mit der Haut: In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.

P 302 + P 350

Bei Kontakt mit der Haut: Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.

P 302 + P 352

Bei Kontakt mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen.

P 303 + P 361 + P 353

Bei Kontakt mit der Haut (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.

P 304 + P 340

Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.

P 304 + P 341

Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.

P 305 + P 351 + P 338

Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P 306 + P 360

Bei Kontakt mit der Kleidung: Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.

P 307 + P 311

Bei Exposition: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

P 308 + P 313

Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat Einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P 309 + P 311

Bei Exposition oder Unwohlsein: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

P 332 + P 313

Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P 333 + P 313

Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P 335 + P 334

Lose Partikel von der Haut abbürsten. In kaltes Wasser tauchen /nassen Verband anlegen.

P 337 + P 313

Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P 342 + P 311

Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

P 370 + P 376

Bei Brand: Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.

P 370 + P 378

Bei Brand: ... zum Löschen verwenden.

P 370 + P 380

Bei Brand: Umgebung räumen.

P 370 + P 380 + P 375

Bei Brand: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.

P 371 + P 380 + P 375

Bei Großbrand und großen Mengen: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.

Aufbewahrung:

- P 401 ... aufbewahren.
- P 402 An einem trockenen Ort aufbewahren.
- P 403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
- P 404 In einem geschlossenen Behälter aufbewahren.
- P 405 Unter Verschluss aufbewahren.
- P 406 In korrosionsbeständigem /... Behälter mit korrosionsbeständiger Auskleidung aufbewahren.
- P 407 Luftspalt zwischen Stapeln / Paletten lassen.
- P 410 Vor Sonnenbestrahlung schützen.
- P 411 Bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C / ... aufbewahren.
- P 412 Nicht Temperaturen von mehr als 50 °C aussetzen.
- P 413 Schüttgut in Mengen von mehr als ... kg bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C aufbewahren.
- P 420 Von anderen Materialien entfernt aufbewahren.
- P 422 Inhalt in / unter ... aufbewahren

Kombinationen:

P 402 + P 404

In einem geschlossenen Behälter an einem trockenen Ort aufbewahren.

P 403 + P 233

Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

P 403 + P 235

Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

P 410 + P 403

Vor Sonnenbestrahlung geschützt an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

P 410 + P 412

Vor Sonnenbestrahlung schützen und nicht Temperaturen von mehr als 50 °C aussetzen.

P 411 + P 235

Kühl und bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C aufbewahren.

Entsorgung:

P 501 Inhalt / Behälter ... zuführen.

P 502 Informationen zur Wiederverwendung/Wiederverwertung beim Hersteller/Lieferanten erfragen.

## 9.4. Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde im Zeitraum von November 2009 bis Januar 2013 am Institut für Angewandte Physik, sowie am Interdisziplinärem Nanowissenschafts-Centrum Hamburg (INCH) der Universität Hamburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Julien Bachmann angefertigt.

Für die interessante Aufgabenstellung, die mir gebotenen Arbeitsmöglichkeiten, die hervorragende Betreuung und für die stets offene Tür möchte ich mich in erster Linie bei Prof. Dr. Julien Bachmann bedanken.

Für die Übernahme des Korreferates möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Peter Burger bedanken.

Für die freundliche Aufnahme auch in Gruppe K des Instituts für Angewandte Physik, sowie die Benutzung ihrer Labore bedanke ich mich bei Prof. Dr. Kornelius Nielsch.

Für den Bau des Anodisationsaufbaus, sowie den Membranenhalter für die UV-Vis-Spektroskopie, sowie für viele Schrauben danke ich der gesamten mechanischen Werkstatt des IAP's unter der Leitung von Herrn Benecke und der Elektronikwerkstatt für viele Meter Kabel unter der Leitung von Herrn Biedermann.

Ich möchte mich auch bei Reinhold Meißner für viele praktische Tipps, sowie das Beibringen des „richtigen Lötens“ bedanken.

Besonderer Dank gilt:

- Stephan Martens (IAP, Gruppe Nielsch) für viele Hilfestellungen in der Welt der Physik, wo oft Erklärungsbedarf war und ist, seine Geduld und die Hilfe beim Bedienen einiger „Geräte“, wie z.B. der Sputteranlage, des EPR-Messgeräts und des Ellipsometers und das Korrekturlesen dieser Arbeit.
- Dr. Robert Zierold (IAP, Gruppe Nielsch) für die Benutzung der Henriette für so einige ALD-Abscheidungen von  $\text{TiO}_2$  und seinen guten Tipps.
- Dr. Kristina Pitzschel (IAP, Gruppe Nielsch) für eine kurze gemeinsame Zeit in ihrem Büro und immer aufbauende Worte, sowie viele nette Stunden am TEM an der TU Hamburg-Harburg.
- Jan Michels (IAP, Gruppe Bachmann) für die Einweisung der ALD-Anlage Isodora und das Durchhalten bis zum Ende
- Hannes Wedemeyer (IAP, Gruppe Bachmann) für Fotos und REM-Aufnahmen

- Sven Kolodzey (IAP, Gruppe Bachmann) für die besten REM-Bilder am Sigma und das Bedienen des AFM`s
- Dr. James Mdoe (Universität Dar es Salaam) und Grisell Reyes-Rios (IAP, Gruppe Bachmann) für die Zusammenarbeit bei dem Thema der Invertasen
- Moritz Hansen (BZ Klein Flottbeck, Gruppe Perner) für die Züchtung und die Bereitstellung der Hydrogenasen
- Dr. Hauke Heller (IPC, Gruppe Weller) für XRD-Messungen, sowie das Bereitstellen des REM`s Evo, AFM`s, sowie das Infrarotspektrometer
- Daniela Weinert (IPC, Gruppe Weller) für die Einweisung am AFM
- Dr. Andriy Zolotaryov (IAP, Gruppe Nielsch) für XRR-Messungen
- Sascha Bohse und Boris Landgraf (IAP, Gruppe Hansen) für XRR-Messungen
- Markus Einzinger, Dr. Jörg Sutter und Antigone Roth (Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg) für die AAS-Messungen
- Prof. Dr. Manfred Eich für die Bereitstellung und Benutzung des TEM`s und für die technische Unterstützung bei I. Bucher und F. Riazi an der Technischen Universität Hamburg-Harburg
- Dr. Bernd Güde für das Korrekturlesen dieser Arbeit

Bei meinen Bachelor-Studentinnen/en Yvonne Hinrichsen, Julia Gemmer, Malwin Paufler möchte ich mich für ihre Zusammenarbeit mit Ihnen bedanken.

Bei meinen Kollegen Jan Michels, Hannes Wedemeyer, Sven Kolodzey, Valentin Roscher und Grisell Reyes-Rios möchte ich mich für nette Stunden im Labor, Büro und außerhalb der Uni bedanken. Ich hatte viel Spaß mit euch! Ich hoffe vor allem, dass wir das „perfekte“ Doktoranden Dinner weiter verfolgen werden.

Besonders bedanke ich mich bei meiner Familie, vor allem bei meiner Mutter Maybritt Abel und meinem Bruder Cornelius Abel, die mir mit Rat und Tat immer zur Seite gestanden haben. Bei meinem Freund Nikolaus Theis möchte ich mich herzlich für die gemeinsame Zeit und natürlich für seine guten Ratschläge in allen Lebenslagen bedanken.

## 9.5. Abkürzungsverzeichnis

A	Ampere
A	a) Absorption b) elektroaktive Fläche einer Elektrode
Å	Angström
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AAO	<i>Anodic Alumina Oxidation</i> ; Anodisches Aluminiumoxid
Abb.	Abbildung
AC	<i>alternating current</i> ; Wechselstrom
AFM	<i>Atomic force microscope</i> ; Rasterkraftmikroskop
Ag	Silber
AgCl	Silberchlorid
AK	Arbeitskreis
Al	Aluminium
ALD	<i>Atomic layer deposition</i> ; Atomalgenabscheidung
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Aluminiumoxid
APTMS	3-Aminopropyltrimethoxysilan
Au	Gold
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
C	Kohlenstoff
°C	Grad Celsius
CC	Chronocoulometrie
C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	Fulvalen
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlormethan
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitril
(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>4</sub> NBF <sub>4</sub>	Tetrabutylammoniumtetrafluoroborat
cm	Zentimeter
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
CO-	Carbonyl-
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid

---

Cr	Chrom
Cu	Kupfer
CV	Cyclische Voltammetrie
CVD	<i>Chemical vapour deposition</i> ; chemische Gasphasenabscheidung
Cy 3	Carbocyanin-Farbstoff
0-D	0-dimensional
$\Delta$	Delta; Differenz
$D$	Diffusionskoeffizient
$d$	Schichtdicke
$d_{CC}$	Bindungslänge einer CC-Bindung
$d_k$	Schichtdicke der Messküvette
$d_{int}$	Abstand zweier Porenmittelpunkte
$d_p$	mittlerer Porendurchmesser
d.h.	das heißt
DC	<i>direct current</i> ; Gleichstrom
dest.	destilliert
DNS	3,5-Dinitrosalicylsäure
DPV	Differentielle Puls-Voltammetrie
DTT	Dithiothreitol
$e^-$	Elektronen
$\varepsilon$	Extinktionskoeffizient
$E$	Potential
$\Delta E$	Potentialdifferenz
$\Delta E_A$	Pulsamplitude
$E_{1/2}$	Halbzellenpotential
$E^\circ$	Standardpotential
E 1103	Zusatzstoff: Invertase
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
$E_{pa}$	anodisches Peakpotential
$E_{pc}$	kathodisches Peakpotential
EPR	Elektronen Paramagnetische Resonanz-Spektroskopie

## 9. Anhang

---

EtOH	Ethanol
EUH-Sätze	besondere Gefährdungen
eV	Elektronenvolt
exp,e	Exponentialfunktion
$f$	Korrekturfaktor
$F$	Fläche
$F_{\text{circ}}$	Kreisfläche der Pore
$F_{\text{EZ}}$	Oberfläche einer Elementarzelle
$F_k$	Faraday-Konstante
$F_{\text{macro}}$	makroskopische Probenfläche
$F_{\text{micro}}$	mikroskopische Probenfläche
$F_{\text{molec}}$	Querschnittsfläche eines FAA-Moleküls
$F_{\text{pore}}$	Mantelfläche einer Pore
FAA	<i>Ferroceneacetic acid</i> ; Ferrocenessigsäure
Fc, [Fe(C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ]	Ferrocen
Fc <sup>+</sup>	Ferrocenium-Ion
Fe	Eisen
[FeFe]	Eisen-Eisen
[4Fe-4S]	[4 Eisen-4 Schwefel]-Zentren
FFT	fast Fourier Transform; Fourier Transformation
FIA	Fließinjektionsanalyse
FIB	<i>Focused ion beam</i> ; Ionendünnungs-Verfahren
g	Gramm
G	Erdbeschleunigung ( $G = 9,81 \text{ m/s}^2$ )
GCE	<i>Glassy carbon electrode</i> ; Glaskohlenstoffelektrode
GHS-Sätze	Global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Gefahrstoffen
GHz	Gigahertz
Gl.	Gleichung
h	<i>hour</i> ; Stunde
H	Wasserstoff
H <sub>2</sub> O	Wasser

---

$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_3$	3-Aminopropyltriethoxysilan
H-Sätze	<i>Hazard-Statements</i> ; Gefahrenhinweise
I	Strom
$i_{\text{ads}}$	Strom, der bei der Umsetzung an der Elektrode adsorbierter Teilchen entsteht
$i_{\text{c}}$	kapazitiver Strom
i.e.	<i>id est</i> ; das heißt
$i_{\text{diff}}$	diffusionskontrollierter Strom
$\text{In}_2\text{O}_3$	Indium(III)-oxid
$I_{\text{p}}$	Peakstrom
$I_{\text{pa}}$	anodischer Peakstrom
$I_{\text{pc}}$	kathodischer Peakstrom
IR	Infrarot-Spektroskopie
ITO	Indium tinn oxide; Indiumzinnoxid
k	Extinktionskoeffizient
$k$	Konstante
K	Kelvin
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	<i>di</i> -Kaliumhydrogenphosphat
kHz	Kilohertz
konz.	konzentriert
$\lambda$	Lambda, Wellenlänge
$l$	Porenlänge
L	Liter
LB	Lysogeny Broth
ln	natürlicher Logarithmus
log	Logarithmus
m	Meter
$\text{m}^2$	Quadratmeter
M	Molar; Mol/Liter
mA	Milliampere
max.	maximal
mbar	Millibar

## 9. Anhang

---

MeOH	Methanol
mg	Milligramm
$m_{\text{ges}}$	Gesamtmasse
min	Minute
mind.	mindestens
mL	Milliliter
mM	Millimolar
mmol	Millimol
mT	Millitesla
mV	Millivolt
$\mu\text{A}$	Mikroampere
$\mu\text{C}$	Mikrocoulomb
$\mu\text{m}$	Mikrometer
$n$	a) Molmenge b) Anzahl der ausgetauschten Elektronen
$n$	Brechungsindex
$N$	Anzahl, Zyklenanzahl
$\text{N}, \text{N}_2$	Stickstoff
$N_A$	Avogadrokonstante
$\text{NH}_2^-$	Amino-
NHE	Normal-Wasserstoffelektrode
Ni	Nickel
NiFe	Nickel-Eisen
nm	Nanometer
NMR	Nuclear magnetic resoance; Kernspinresonanz-Spektroskopie
NO	Stickstoffmonoxid
$\text{NOBF}_4$	Nitrosoniumtetrafluoroborat
$\text{O}, \text{O}_2$	Sauerstoff
OH-	Hydroxyl-
$\Omega\text{m}$	Ohmmeter
$\Omega/\text{sq}$	Ohm / square
$P$	Flächenwiderstand

P 1	5-(4-Carboxyphenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin-Ni(II)
P 4	5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin-Ni(II)
pH	$-\log [H^+]$
pKs	Säurekonstante
PMMI	Polymethacrylmethylimid
ppm	<i>parts per million</i> ; ein Millionstel
P-Sätze	<i>Precautionary-Statements</i> ; Sicherheitshinweise
Pt	Platin
Q	Ladung
$q_{mol}$	Molverhältnis
R	a) Gaskonstante b) Widerstand
$R$	Rauigkeit einer Membran
$R^2$	Korrekturfaktor
$R_p, R_s$	Fresnel-Reflektionskoeffizienten (s- und p- polarisiert)
REM	<i>Scanning electron microscopy</i> ; Rasterelektronenmikroskopie
rms	<i>root mean square</i> ; mittlere Quadratwurzel
rpm	<i>rounds per minute</i> ; Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
S	Schwefel
S 0046	<i>5,6-Dichloro-2-[[5,6-dichloro-1-ethyl-3-(4-sulfobutyl)-benzimidazol-2-ylidene]-propenyl]-1-ethyl-3-(4-sulfobutyl)-benzimidazolium hydroxide, inner salt, sodium salt</i>
S 0769	<i>3-(3-Carboxy-propyl)-2-[3-[3-(3-carboxy-propyl)-5,6-dichloro-1-octyl-1,3-dihydro-benzimidazol-2-ylidene]-propenyl]-5,6-dichloro-1-octyl-3H-benzimidazolium hydroxide, inner salt</i>
S 0837	<i>5-Chloro-2-[2-(3-[2-[5-chloro-3-(4-sulfobutyl)-3H-benzothiazol-2-ylidene]-ethylidene]-2-diphenylamino-cyclopent-1-enyl)-vinyl]-3-(4-sulfobutyl)-benzothiazolium hydroxide, inner salt, triethylammonium salt</i>
sccm	<i>standard cubic centimeters per minute</i> ; Standardkubikzentimeter pro Minute
Si	Silizium
SiO <sub>2</sub>	Siliziumdioxid
SnO <sub>2</sub>	Zinndioxid

## 9. Anhang

---

SO <sub>3</sub>	Sulfonat-
sog.	so genannt
SWV	Square Wave Voltammetrie
<i>t</i>	Zeit
<i>t<sub>p</sub></i>	Pulsdauer
T	Temperatur
<i>T</i>	Transmission
tan	Tangens
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TiCl <sub>4</sub>	Titantetrachlorid
TiO <sub>2</sub>	Titandioxid
Ti(OiPr) <sub>4</sub>	Titantetraisopropylat
TRIS	Trishydroxymethylaminomethan
U	Spannung
u.a.	unter anderem
usw.	und so weiter
UV-Vis	Ultraviolett, Visible (sichtbar)
$\nu^{1/2}$	Vorschubgeschwindigkeit
V	Volt
V <sub>1</sub>	Startpotential
V <sub>2</sub>	Endpotential
vs.	versus
W	Watt
X-ray	Röntgenstrahlung
XRD	<i>X-ray diffraction</i> ; Röntgendiffraktion
XRR	<i>X-ray reflectivity</i> ; Röntgenreflektometrie
z.B.	zum Beispiel

## 9.6. Hinweise auf Veröffentlichung von Resultaten dieser Arbeit

- **Poster:**
- Systematic catalytic current enhancement at nanostructured iron oxide electrodes; J. Gemmer, Y. Hinrichsen, A. Abel, J. Bachmann; Neujahrsempfang 2011 der Landesgraduiertenschule C1-Chemistry in Resource and Energy Management, Hamburg, Preis für das beste Poster
- Innovative Methoden zur Präparation nanostrukturierter Materialien zur Energieumwandlung; Nanostrukturierte Oberflächen; A. Abel, G. Reyes-Rios, V. Roscher, 2012 Information für den Fachbereich Chemie der Universität Hamburg
- **Vorträge:**
- Molecules as functional surfaces on nanostructures; A. Abel; LEXI-Workshop, 2010, Hamburg
- Molecules as functional surfaces; A. Abel, J. Bachmann; LEXI-Treffen, 2011, Hamburg
- Redox-active molecules as functional surface on nanostructures; A. Abel; Contacts to and within molecules, 2012, Hamburg
- Switchable redox-active molecules as functional surface on nanostructures; A. Abel; EMRS 2013, Strasburg
- Systematic catalytic current enhancement for the oxidation of water at nanostructured iron(III)oxide electrodes; J. Gemmer, Y. Hinrichsen, A. Abel, J. Bachmann; EMRS 2013, Strasburg
- **Publikationen:**
- Systematic catalytic current enhancement for the oxidation of water at nanostructured iron(III)oxide electrodes; J. Gemmer, Y. Hinrichsen, A. Abel, J. Bachmann; *J. Catal.* 2012, 290, 220-224

## 9.7. Lebenslauf von Annik Abel

### Persönliche Angaben

geboren am 18. Mai 1983 in Bremen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Telefon: 0176/40290018

E-Mail: annikabel@gmail.com



### Promotion

Seit 2009

Promotionsstudium an der Universität Hamburg, Institut für Angewandte Physik, Interdisciplinary Nanoscience Center Hamburg (INCH)

- Schwerpunkt: Chemische Nanostrukturphysik
- Thema der Doktorarbeit: „Moleküle als funktionelle Oberfläche an Nanostrukturen“
- Landesgraduiertenschule: C1-Chemistry in Resource and Energy Management
- Zusatzseminar am HWWI: Energiepolitik
- Auszeichnung: Bestes Poster 2011 der Landesgraduiertenschule C1-Chemistry and Energy Management
- Veröffentlichung: J. Gemmer, Y. Hinrichsen, A. Abel, J. Bachmann\*, J. Catal. 2012, 290 220-224, "Systematic catalytic current enhancement for the oxidation of water at nanostructured iron(III) oxide electrodes"

### Studium

2002-2009

- Abschluss: Diplom-Chemikerin
- Abschlussnote: gut
- Schwerpunkt: Technische Chemie, Analytik
- Thema der Diplomarbeit: „Untersuchung zur kontinuierlichen Mikroskopierung von Zellsuspensionen“ (in Kooperation mit der Universität Izmir, Türkei)
- November 2008: Auslandsaufenthalt an der Universität Izmir

## **Schulische Ausbildung**

- 1995-1999                      Gymnasium am Schulverbund Lesum, Bremen
- 1999-2002                      Gymnasiale Oberstufe am Schulzentrum Alwin-Lonke-Straße,  
Bremen
- Abschluss: Abitur
  - Leistungskurse: Biologie und Geografie