

**THESE**  
**en cotutelle**  
**entre**

**L'UNIVERSITE BORDEAUX 1**  
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES  
**et**  
**L'UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

présentée à Saarbrücken/ Allemagne

**par Rafael Szamocki**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR**

SPÉCIALITÉ : Chimie-Physique

**SYNTHÈSE CONTRÔLÉE D'ÉLECTRODES MACROPOREUSES**  
**POUR DES APPLICATIONS ÉLECTROCATALYTIQUES**

*Soutenue le 20 décembre 2006*

Après avis de :

M. R. Hempelmann	Rapporteur
M. A. Walcarius	Rapporteur
M. W. Schuhmann	Rapporteur

Devant la Commission d'examen formée de :

MM. F. Giffhorn	Professeur, Universität des Saarlandes, Président
R. Hempelmann	Professeur, Universität des Saarlandes, Rapporteur
A. Walcarius	Professeur, Université de Nancy, Rapporteur
W. Schuhmann	Professeur, Université de Bochum, Rapporteur
A. Kuhn	Professeur, ENSCPB, Examineur
P. Bopp	Professeur, Université de Bordeaux 1, Examineur
H. Natter	Maitre de Conférence, Universität des Saarlandes, Examineur
S. Ravaine	Professeur, CRPP, Examineur



## Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird eine neue Methode zur Synthese hoch-geordneter makroporöser Materialien diskutiert. Hierzu verwendeten wir das Langmuir-Blodgett-Verfahren zur Erzeugung kolloidaler Kristalle, gefolgt von einer elektrochemischen Abscheidung eines Edelmetalls in den Kristallzwischenräumen und anschließendem Auflösen des Templats. Dabei ist es möglich sowohl den Porendurchmesser über den Kolloiddurchmesser, als auch die Dicke des porösen Materials über zeitliche Stromoszillationen exakt zu kontrollieren. Da alle Poren miteinander verbunden sind, besitzen diese Materialien eine sehr große aktive Oberfläche und können für elektrochemische Reaktionen verwendet werden. Die erhaltenen Signale sind um etwa zwei Größenordnungen höher, als im Falle glatter Elektroden. Es gelang die gesamte Oberfläche der makroporösen Elektroden mit einem biokatalytischen System zu modifizieren und somit einen Glukose-Biosensor mit erhöhter Sensitivität und besserer unterer Bestimmungsgrenze zu erhalten. Das Verfahren konnte ebenso auf Ultra-Mikro-Elektroden (UME) übertragen werden. Hierbei konnten zwei Arten makroporöser UMEs mit einer erhöhten Oberfläche hergestellt werden. Durch Biomodifizierung erhielten wir miniaturisierte Sensoren, deren Signal im nA-Bereich lag, im Vergleich hierzu sind die Ströme bei Sensoren aus glatten Elektroden typischerweise in der Größenordnung von einigen pA.

Diese Materialien konnten außerdem zur Herstellung von erneuerbaren Sensorenoberflächen verwendet werden, wobei schichtweise poröses Material auf eine Elektrode aufgebracht wurde. Die porösen Schichten waren dabei durch Zn-Schichten voneinander getrennt, welches leicht wieder gelöst werden kann und somit die untere poröse Schicht freilegt.

**Schlüsselwörter:** Poröse Elektroden; Kolloidale Kristalle; Elektrokatalyse; Elektroanalytik; Biosensorik; Ultramikro-Elektroden.

## Résumé

Dans ce mémoire nous discutons le développement d'une nouvelle procédure d'élaboration d'électrodes macroporeuses hautement organisées en utilisant la méthode Langmuir-Blodgett pour assembler un cristal colloïdal, suivi d'une électrodéposition d'un métal noble dans les interstices du cristal et la dissolution des colloïdes. Le diamètre des pores et l'épaisseur des couches poreuses pouvaient être contrôlées respectivement par la taille des billes et par des oscillations temporelles du courant. Comme toutes les pores sont interconnectées la surface active peut être augmentée de deux ordres de grandeur et toute la surface interne peut être utilisée pour des réactions électrochimiques. Nous avons décoré la totalité de la surface interne avec une monocouche d'une chaîne biocatalytique pour obtenir un biocapteur de glucose avec une meilleure sensibilité et une limite de détection beaucoup plus basse par rapport à une électrode modifiée plane. Cette procédure a été transférée sur les ultra-micro-électrodes (UME). Nous avons développés deux types d'UMEs macroporeuses avec une surface active augmentée. Par biomodification on obtient un capteur miniaturisé avec un signal de l'ordre de grandeur de nA à rapport à un signal de l'ordre de pA en utilisant des électrodes planes.

Par ailleurs ces matériaux pouvaient être utilisés pour l'élaboration de surfaces de capteurs recyclables. À cette fin nous avons préparé des structures type « sandwich », construit par deux couches d'or poreuses séparées par une mince couche de zinc. Par dissolution de la couche intermédiaire la première couche poreuses peut être libérée et utilisée.

**Mots de clés:** Electrodes poreuses; Cristaux colloïdales; Electrocatalyse; Electroanalyse; Biocapteurs; Ultra-micro-électrodes.

### **Abstract**

In the present work a new procedure for the synthesis of highly ordered macroporous materials is reported. We used the Langmuir-Blodgett method for the generation of colloidal crystals followed by electrodeposition of noble metals in the crystal interstices together with a final dissolution of the template. It is possible to control exactly the pore diameter by the particle-size as well as the thickness of the porous layer by observing temporal current oscillations during the metal-deposition. Since all pores are interconnected the active surface area can be increased by almost two orders of magnitude and can be used entirely for electrochemical reactions to increase the signals. We modified the whole active surface area with a biocatalytic system to obtain a glucose-biosensor with enhanced sensitivity and reduced lower detection limit compared to a flat electrode. This procedure was transferred to ultra-micro-electrodes (UME). We could create two different types of macroporous UMEs with an increased surface area. By biomodification we obtained a miniaturized biosensor with a signal in the nA-range, compared to signals typically of some pA for flat UMEs. Furthermore these materials have been used for the fabrication of recyclable sensor surfaces. We prepared sandwich-like structures from layers of porous gold separated by a thin zinc layer. This zinc layer could easily be dissolved to uncover the first porous layer.

**Keywords:** Porous electrodes; Colloidal crystals; Electrocatalysis; Electroanalysis; Biosensors; Ultra micro electrodes.

<i>Inhaltsverzeichnis</i>	1
<b>KAPITEL 1: EINLEITUNG</b>	<b>3</b>
<b>KAPITEL 2: SYNTHESE KOLLOIDALER KRISTALLE</b>	<b>7</b>
2.1 MONODISPERSE KOLLOIDE UND KOLLOIDALE KRISTALLE	8
2.1.1 <i>Stand der Forschung</i>	8
2.1.2 <i>Optische Eigenschaften</i>	15
2.1.3 <i>Synthesen kolloidaler Kristalle</i>	17
<b>KAPITEL 3: SYNTHESE MAKROPORÖSER ELEKTRODEN</b>	<b>32</b>
3.1 STAND DER FORSCHUNG	32
3.2 SYNTHESEN	35
3.2.1 <i>Goldabscheidung in CE-Kristallen</i>	37
3.2.2 <i>Goldabscheidung in LB-Kristallen</i>	44
3.2.3 <i>Goldabscheidung in VD-Kristallen</i>	57
3.2.4 <i>Abscheidung von porösem Platin und Palladium</i>	60
<b>KAPITEL 4: VERBESSERUNG DER ORDNUNG DURCH VORSTRUKTURIERUNG</b>	<b>64</b>
<b>KAPITEL 5: ELEKTROCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG UND ANWENDUNGEN</b>	<b>70</b>
5.1 CHARAKTERISIERUNG DER AKTIVEN OBERFLÄCHE	70
5.1.1 <i>Makroporöses Gold</i>	70
5.1.2 <i>Makroporöses Pt und Pd</i>	77
5.2 BIOSENSORIK	81
5.2.1 <i>Prinzip eines amperometrischen Biosensors</i>	81
5.2.2 <i>Enzymkatalyse</i>	83
5.2.3 <i>Elektronentransfer in enzymatischen Biosensoren</i>	86
5.2.4 <i>Enzymimmobilisierung</i>	90
5.2.5 <i>Entwicklung eines Biosensors auf der Grundlage makroporöser Elektroden</i>	93
5.2.6 <i>Immobilisierung von Enzymen auf makroporösen Elektroden</i>	108
<b>KAPITEL 6: MINIATURISIERUNG</b>	<b>116</b>
6.1 EIGENSCHAFTEN VON ULTRA-MIKRO-ELEKTRODEN	116
6.2 ENTWICKLUNG MAKROPORÖSER ULTRA-MIKRO-ELEKTRODEN	120
6.2.1 <i>Synthese flexibler makroporöser UMEs</i>	124

6.2.2 Herstellung von Typ-A-Ultramikroelektroden .....	126
6.2.3 Herstellung von Typ-B-Ultramikroelektroden .....	129
6.2.4 Elektrochemische Charakterisierung makroporöser UMEs .....	131
6.2.5 Modifizierung von Typ B UMEs mit 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol.....	134
6.2.6 Modifizierung von Typ A Elektroden mit dem System TNF/ NAD <sup>+</sup> / GDH.....	136
<b>KAPITEL 7: REZYKLIERBARE SENSORSYSTEME .....</b>	<b>139</b>
7.1 ABSCHIEDUNG DER ZN-SCHICHT .....	141
7.2 ABSCHIEDUNG MAKROPORÖSEN GOLDES AUF DER ZN-ZWISCHENSCHICHT .....	143
<b>KAPITEL 8: ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....</b>	<b>147</b>
 <b>ANHANG:</b>	
<b>A. SYNTHESSEN.....</b>	<b>151</b>
A.1 POLYSTYROLKOLLOIDE .....	151
A.2 SILIKAKOLLOIDE .....	151
A.3 HYDROPHOBISIERTE SILIKAKOLLOIDE .....	152
A.4 SYNTHESE VON 4-(FERROCENYLCARBONYLOXY)BUTANTHIOL .....	153
A.5 PRÄPARATION KOLLOIDALER KRISTALLE DURCH DAS LB-VERFAHREN .....	156
<b>B. TECHNIKEN UND APPARATUREN.....</b>	<b>157</b>
B.1 DYNAMISCHE LICHTSTREUUNG (DLS) .....	157
B.2 LANGMUIR-BLODGETT-METHODE.....	158
B.3 LASER-INTERFERENZ-STRUKTURIERUNG.....	159
B.4 ELEKTROCHEMISCHE METHODEN .....	160
B.5 RASTER- UND TRANSMISSIONSELEKTRONENMIKROSKOPIE.....	161
B.6 SONSTIGE GERÄTE.....	161
<b>C. ABKÜRZUNGEN .....</b>	<b>163</b>
<b>D. PUBLIKATIONEN UND KONFERENZBEITRÄGE.....</b>	<b>164</b>
D.1 PUBLIKATIONEN .....	164
D.2 KONFERENZBEITRÄGE .....	164
<b>E. DANKSAGUNG .....</b>	<b>166</b>
<b>F. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>169</b>

## **Kapitel 1: Einleitung**

Ein weiterer Bereich der Chemie beschäftigt sich seit langer Zeit mit der Entwicklung heterogener katalytischer Systeme. Die Anwendungen reichen derzeit von der industriellen Synthese über die Energietechnologie bis hin zur chemischen Analytik und Medizintechnik. Hierbei wurden in den letzten Jahrzehnten sowohl in Bezug auf die Entwicklung neuer Katalysatoren als auch neuer Trägermaterialien hervorragende Ergebnisse erzielt. Dabei erfreuen sich in letzter Zeit vor allem zwei in der Technik relativ neue Klassen von Materialien stetig steigender Beliebtheit und Bedeutung. Es handelt es sich hierbei um Nanomaterialien und Biokatalysatoren, wie Enzyme, die in Zukunft wohl die klassischen Katalysatoren immer weiter verdrängen werden. Im Vergleich zu den seit langem bekannten Materialien zeichnen sich diese dadurch aus, dass sie eine oft viel höhere Aktivität aufweisen und meist auch selektiver arbeiten. Als ein Beispiel soll hier nur die „Weiße Biotechnologie“ genannt werden, die in den vergangenen Jahren enorme Erfolge im industriellen Sektor erzielen konnte.

Ein ebenfalls relativ neuer Zweig dieses Forschungsgebietes befasst sich mit Katalysatoren für elektrochemische Reaktionen. Diese Katalysatoren vereinfachen den Elektronentransfer zwischen einer elektrochemisch aktiven Spezies und der Elektrode, erniedrigen also das Überpotential. Wohl am bekanntesten sind die Arbeiten über die Verwendung von Platinmetallen als Katalysatoren für Brennstoffzellen. Auch hier zeichnet sich ab, dass in Zukunft die klassischen Katalysatoren teilweise durch Biokatalysatoren ersetzt werden könnten, wie es schon z.B. von Heller et al. [1-3] und Willner et al. [4-6] gezeigt wurde. Auch aus der elektroanalytischen Chemie sind solche Systeme nicht mehr wegzudenken. So ist es möglich mittels enzymmodifizierter Elektroden mit einer extrem hohen Selektivität Analytkonzentrationen zu bestimmen. Da Enzyme durch ihre metabolische Funktion in der Regel physiologische Moleküle umsetzen, können mit diesen Systemen somit solche Substanzen nachgewiesen werden und deshalb besteht vor allem in der Medizintechnik ein hohes Interesse an Biosensoren. Beispielsweise existieren schon seit einiger Zeit kommerzielle Sensoren zur Bestimmung von Glukosekonzentrationen im Blut diabetischer Menschen, die auf der Basis von enzymmodifizierten Elektroden funktionieren (Abbott Diabetes Care).

Da es sich bei elektrochemischen Prozessen um Oberflächenprozesse handelt, sind in der Regel nur Katalysatoren aktiv, die im Kontakt zur Elektrodenoberfläche stehen, d.h. nur solche Moleküle oder Teilchen, die direkt an die Elektrode gebunden sind oder im

elektrischen Kontakt zu dieser stehen, können eine katalytische Aktivität aufweisen. Um den elektrochemischen Umsatz pro Zeit zu optimieren ist es nötig möglichst viel Katalysator an die Elektrode zu binden. Hierbei ist man jedoch oft durch die Ausbildung geordneter Monoschichten limitiert, die die maximale Katalysatormenge in direktem Kontakt zur Elektrode darstellen. Eine zweite Schicht kann nicht in Kontakt zur Elektrode stehen und somit ist diese nicht katalytisch aktiv. Eine Ausnahme stellen redoxaktive Polymere dar, die selbst leitend sind und eine dreidimensionale Gel-Struktur ausbilden, so dass das gesamte Gelvolumen eine katalytische Aktivität besitzt. Für die meisten anderen Katalysatoren ist es jedoch notwendig die Elektrodenoberfläche selbst künstlich zu vergrößern, um mehr aktiven Katalysator an sie zu binden. Besonders wichtig ist eine Erhöhung der aktiven Oberfläche für implantierbare Systeme wie miniaturisierte Biosensoren oder miniaturisierter Biobrennstoffzellen. Bei der Verwendung sehr kleiner Elektroden, so genannter Ultra-Mikro-Elektroden, ergibt sich hierbei das Problem, dass das Signal eines Sensors bzw. die Leistung einer Brennstoffzelle sehr gering ist. Dieses Problem kann zum Beispiel durch die Verwendung rauer oder poröser Elektroden gelöst werden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der elektrochemischen Synthese und der Bio-modifizierung geordnet makroporöser Elektroden. Zur Synthese wurde hierbei das Templat-Verfahren unter Verwendung kolloidaler Kristalle gewählt. Diese Methode wurde gewählt, da sie es erlaubt hoch geordnete Poren mit genau definiertem Durchmesser zu erzeugen. Die Poren in diesen Materialien sind alle miteinander verbunden, es handelt sich also um eine offene Porosität, die gesamte innere Oberfläche kann deshalb für elektrochemische Prozesse genutzt werden. Aus diesem Grund sollten diese Elektroden mit einem biokatalytischen System zur Glukoseoxidation modifiziert werden um somit einen Glukosebiosensor mit einem durch die große Oberfläche verstärkten Signal darzustellen. Es wurde untersucht, ob dieses Verfahren auch für miniaturisierte Sensoren anwendbar ist. Aus diesem Grund wurde versucht in der gleichen Art und Weise makroporöse Ultra-Mikro-Elektroden herzustellen und diese zu einem solchen miniaturisierten Biosensor zu funktionalisieren.

Ein weiterer Aspekt, der im Rahmen dieser Arbeit behandelt wurde bezieht sich auf die Stabilität biokatalytischer Systeme. Diese ist in der Regel sehr gering und hat zur Folge, dass Biosensoren und Biobrennstoffzellen in der Regel nur über kurze Zeiträume, maximal über wenige Wochen, verwendet werden können. Aus diesem Grund wurde ein neues Verfahren untersucht, unter Zuhilfenahme makroporöser Materialien, die Oberfläche modifizierter Elektroden schonend, einfach und schnell zu erneuern. Hierzu sollten stufenweise poröse

Schichten auf eine Elektrode aufgebracht werden, wobei die einzelnen Stufen durch eine dünne Zinkschicht voneinander getrennt waren.

Da diese geordnet porösen Materialien einen periodisch oszillierenden Brechungsindex besitzen, stellen sie außerdem Materialien da, die als photonische Kristalle verwendet werden könnten. Für diese Anwendung ist es jedoch notwendig, dass die Ordnung nahezu perfekt ist und nur ein geringes Maß an Defekten in diesen Strukturen vorhanden ist. Aus diesem Grund wurde versucht die Porenordnung durch Vorstrukturierung der Substrate mittels Laserstrukturierung zu verbessern.

**Aufbau der Dissertation**

In Kapitel 2 und 3 dieser Arbeit werden zunächst Synthesen makroporöser Materialien illustriert. Hierbei bezieht sich Kapitel 2 auf die Erzeugung kolloidaler Kristalle als Template und anschließend wird in Kapitel 3 das Füllen der Zwischenräume und Auflösen der Template diskutiert. Außerdem wird hier auf optische und topographische Charakterisierungen eingegangen.

Das folgende Kapitel 4 beschäftigt sich mit der Verbesserung der Nah- und Fernordnung durch Laserinterferenzstrukturierung der Substrate. Hier wird vor allem der Einfluss der Untergrundtopographie auf die Struktur erläutert.

Elektrochemische Eigenschaften und Anwendungen dieser porösen Systeme werden in Kapitel 5 behandelt. Hier geht ein erstes Unterkapitel auf die allgemeinen Eigenschaften ein, die auf der vergrößerten aktiven Oberfläche beruhen. Im zweiten Unterkapitel wird explizit auf die Verwendung dieser Materialien als Träger für Biokatalysatoren und deren Verwendung als Biosensoren eingegangen. Besonders auf verschiedene Immobilisierungsmethoden von Enzymen in den porösen Systemen wird an dieser Stelle eingegangen.

Im Folgenden wird dargestellt, wie solche Systeme unter Verwendung von Ultra-Mikro-Elektroden miniaturisiert werden können. Hierzu liefert Kapitel 6 eine ausführliche Beschreibung der Synthese poröser Ultra-Mikro-Elektroden. Im Anschluss findet eine Charakterisierung dieser neuen Elektrodentypen wie in Kapitel 5 beschrieben statt.

Kapitel 7 beschreibt eine neue Möglichkeit die Oberfläche von modifizierten Elektroden schonend und schnell zu rezyklieren. Hier wird auf die Möglichkeit eingegangen makroporöse Elektroden mit einer Zinkschicht zu verschließen, ohne das Poreninnere zu füllen und auf diesen Zinkschichten wiederum makroporöses Material abzuscheiden.

Zum Abschluss gibt Kapitel 8 sowohl eine Zusammenfassung der im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse als auch einen Ausblick.

## Kapitel 2: Synthese kolloidaler Kristalle

Zur Synthese der makroporösen Elektroden wurde die so genannte Templatsynthese gewählt, da diese Methode sehr regelmäßig geordnete und monodisperse Poren ergibt. Hierbei geht man von einer Suspension monodisperser Kolloide (Silika- bzw. Latex-Kolloide) aus, welche zu einem kolloidalen Kristall, einem künstlichen Opal, angeordnet werden. Die Zwischenräume zwischen den Kolloidkugeln in diesem Kristall werden anschließend mit dem gewünschten Material gefüllt und die Kolloide wieder herausgelöst. Übrig bleibt eine poröse Struktur des Materials, wobei die sphärischen Poren alle gleich groß und in einer kubisch dichtesten Packung angeordnet sind (s. Abbildung 2-1).

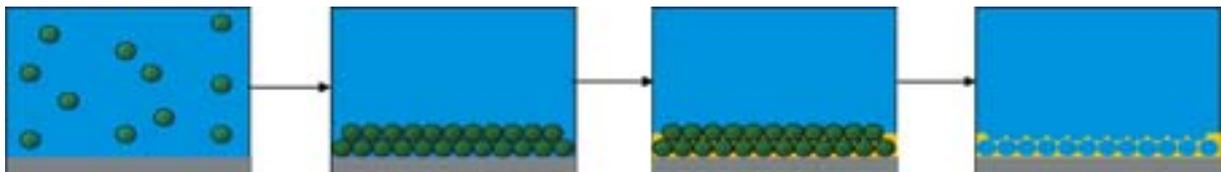


Abbildung 2-1: Prinzip der Templatsynthese.

Die Zwischenräume im Templat wurden im Rahmen dieser Arbeit durch elektrochemische Abscheidung mit Gold, Platin und Palladium gefüllt, so dass poröse Strukturen dieser Metalle erhalten wurden. In der Folge werden nun nacheinander die einzelnen Etappen dieses Syntheseweges beschrieben. Hier wird jeweils zunächst auf in der Literatur beschriebene Verfahren und die Eigenschaften solcher Materialien eingegangen und danach die während dieser Arbeit verwendeten Methoden und die Charakterisierung der erhaltenen Materialien näher beschrieben und diskutiert.

## 2.1 Monodisperse Kolloide und kolloidale Kristalle

### 2.1.1 Stand der Forschung

Monodisperse Kolloide neigen zur Selbstorganisation zu kolloidalen Kristalle mit einer kubisch flächenzentrierten Struktur (FCC), auch künstliche Opale genannt. Hier muss man unterscheiden zwischen dichtest gepackten Strukturen, bestehend aus „Harten Kugeln“, in denen sich die Teilchen untereinander berühren und Strukturen, in denen die Teilchen eine gewisse konstante Distanz untereinander einhalten. In beiden Fällen ist die Voraussetzung eine hohe Monodispersität der Kolloide. In diesem Kapitel sollen zunächst verschiedene Wege zur Synthese monodisperser Kolloide beschrieben werden und darauf folgend werden einige Methoden zur Anordnung dieser Kolloide in geordnete Strukturen erläutert, wie sie in der Literatur verwendet wurden, beschrieben.

#### a) Monodisperse Kolloide

Kolloide können in Bezug auf das sie bildende Material in drei Klassen eingeteilt werden: in anorganische, Polymer- und Kern-Schale-Kolloide [7]. In der ersten Klasse sind vor allem oxidische Kolloide (Silika [8],  $\text{TiO}_2$  oder Magnetit), Edelmetallsole (Gold-Sol) und sulfidische Kolloide ( $\text{ZnS}$ ,  $\text{CdS}$ ) zu nennen. Die Synthese monodisperser, kugelförmiger Kolloide aus anorganischen Materialien ist, mit Ausnahme von  $\text{SiO}_2$ , in der Regel sehr schwer realisierbar, so dass sich diese Materialien in der Regel nicht sonderlich zur Bildung kolloidaler Kristalle eignen. Hingegen wird  $\text{SiO}_2$  sehr häufig für die Synthese solcher Systeme eingesetzt, da Silikakolloide leicht und gut kontrollierbar durch die so genannte Stöber-Synthese erzeugt werden können [8]. Hierbei handelt es sich um eine basisch katalysierte Hydrolyse eines Siloxans in Ethanol. Beim Start der Hydrolyse (Zugabe von Ammoniak) bilden sich zunächst kleine  $\text{SiO}_2$ -Kondensationskeime, welche sehr regelmäßig zu Kugeln anwachsen. Hierbei wachsen kleine Teilchen schneller als große, wodurch die hohe Monodispersität zustande kommt [9]. Die Größe der Kolloide lässt sich hierbei leicht über die Menge an vorgelegtem Siloxan einstellen. Die Oberflächeneigenschaften dieser Kolloide lassen sich zusätzlich leicht durch geeignete Siloxanchemie nachträglich einstellen.

Ein weiterer Ansatz zur Synthese monodisperser, oxidischer Kolloide ist das Mikroemulsionsverfahren [10-13], welches seit einigen Jahren immer häufiger in der Literatur verwendet wird. Dieses Verfahren verläuft ebenso wie die Stöber-Synthese über die Hydrolyse eines Metallalkoxids, nur wird hier der Precursor nicht frei in Lösung, sondern im Inneren einer inversen Mizelle hydrolysiert. Die nach einem Kalzinierungsschritt, zur Eliminierung der Detergentien, erhaltenen Kolloide besitzen die Kugelform und den Durchmesser der Mizellen mit einem sehr hohen Grad an Monodispersität.

Eine weitaus höhere Spanne an Möglichkeiten, sowohl was das Material als auch das Größenspektrum angeht, zur Herstellung von für die Kristallisation geeigneter Kolloide zeigt die Klasse der Polymerkolloide, so genannte Latex-Kolloide. Durch eine Vielzahl an verwendbaren Monomeren mit unterschiedlichen Eigenschaften, wie Brechungsindex, Ladung oder Glasübergangstemperatur, lassen sich maßgeschneiderte Kolloide erzeugen. Auch sind eine Vielzahl von Funktionalisierungen, wie z.B. Fluoreszenzmarkierung oder Bio-modifizierung, möglich.

Für die Synthese solcher Polymerkolloide werden in der Literatur vor allem zwei Methoden verwendet: die „Detergentienfreie Emulsionspolymerisation“ [14-18] und die „Dispersionspolymerisation“ [19, 20]. Die gängigere der beiden Methoden ist die erste, bei der ein wasserunlösliches Monomer in Wasser emulgiert wird und die Reaktion mit einem wasserlöslichen Radikalinitiator (z.B. Kaliumperoxodisulfat) gestartet wird. Die geladenen Initiatorradikale starten die Polymerisation des in Spuren in der wässrigen Phase gelösten Monomers, wobei die so entstandenen Oligomere sowohl eine Ladung, als auch eine hydrophobe Kette besitzen. Die somit selbst als Detergentien fungierenden Oligomere bilden beim Überschreiten der kritischen Mizellbildungskonzentration Mizellen, wobei die Polymerisation im Inneren dieser Mizellen fortgeführt wird. Da die Monomerkonzentration in der wässrigen Phase sehr gering ist, wachsen die Mizellen langsam und außerdem kleine schneller als große. Aus diesem Grund wird wie im Falle der Stöber-Synthese eine sehr hohe Monodispersität erreicht (Abbildung 2-2).

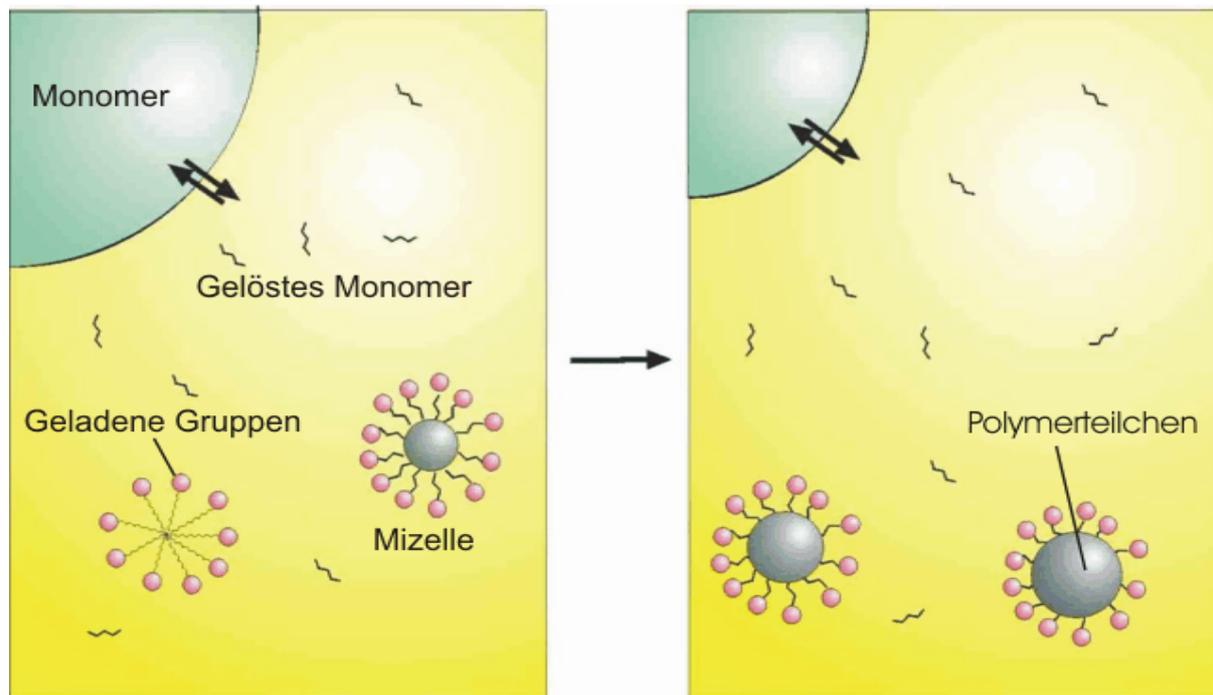


Abbildung 2-2: Schematische Darstellung des Mizellenwachstums bei der detergentienfreien Emulsionspolymerisation [21].

Die Größe der so hergestellten Kolloide lässt sich durch das Verhältnis von Wasser/Monomer kontrollieren und die Oberflächenladung durch den verwendeten Radikalstarter (Kaliumperoxodisulfat: negativ durch Bildung von Sulfatgruppen;  $\alpha,\alpha'$ -Azodiisobutyramidindihydrochlorid: positiv durch Bildung von Ammoniumgruppen) bzw. durch seine Konzentration. Diese Ladungen auf den Teilchenoberflächen bewirken auch, dass die Mizellen während der Polymerisation nicht koagulieren und sind somit ebenfalls für die Monodispersität verantwortlich.

Möchte man monodisperse Kolloide aus Materialien herstellen, die nicht durch übliche Methoden zugänglich sind, so lässt sich dies über eine Synthese von Kern-Schale-Partikeln bewerkstelligen [22-26]. Dabei wird um ein Kolloidteilchen durch eine der oben beschriebenen Methoden eine Silika- bzw. Polymerschale aufgebracht, wobei wiederum monodisperse Teilchen entstehen. Hierbei ist es nicht zwingend notwendig einen monodispersen Kern einzusetzen. So haben Autenrieth et al. [27] magnetische Magnetitkolloide, welche für eine sehr geringe Monodispersität bekannt sind, mit einer Silikaschale umhüllt, wobei monodisperse Teilchen entstanden, die auch zu einem kolloidalen Kristall geordnet werden konnten. Kern-Schale-Teilchen sind sehr interessant, wenn der Kontrast des

Brechungsindex zwischen Kern und Schale sehr groß ist, was besonders für die Erzeugung photonischer Kristalle von höchstem Interesse ist [28].

## b) Kolloidaler Kristalle

Durch die in kolloidalen Systemen vorhandenen Wechselwirkungspotentiale besitzen Suspensionen monodisperser, kugelförmiger Teilchen ein hohes Bestreben geordnete Strukturen auszubilden. Hierzu ist ein mehr oder weniger großer apparativer Aufwand notwendig, wobei die einzelnen Methoden in der Folge beschrieben werden sollen.

Die einfachste Methode ist die Selbstanordnung geladener Kolloide. Diese findet spontan statt, sofern die Suspension frei von Fremdsalzen ist und die Konzentration an Teilchen hoch genug ist [29]. Die Selbstanordnung resultiert aus einer Gleichgewichtseinstellung zwischen repulsiven elektrostatischen Kräften und den attraktiven Van-der-Waals-Wechselwirkungen. Da es sich hierbei um schwache Wechselwirkungen handelt, reagieren diese geordneten Suspensionen jedoch sehr empfindlich in Bezug auf Erschütterungen und Verunreinigungen, wodurch sie ihre Ordnung wieder verlieren. Eine Möglichkeit dieses Problem zu umgehen ist es die Struktur durch Einbetten in ein Polymernetzwerk, einem so genannten Hydrogel, zu stabilisieren [30, 31]. In diesen Strukturen werden die Kolloide durch elektrostatische Wechselwirkungen bzw. durch das Polymernetzwerk auf Distanz gehalten, das heißt die Kugeln berühren sich nicht. Für einige Anwendungen, z.B. für die Synthese poröser Materialien in einer Templatsynthese, ist es jedoch notwendig, dass sich die Teilchen berühren, damit die Kolloide wieder herausgelöst werden können und die Poren untereinander verbunden sind. Hierzu müssen die Teilchen als harte Kugeln wirken, was am besten im trockenen Zustand verwirklicht werden kann. Die einfachste Methode solche Kristalle zu verwirklichen ist die Sedimentierung von Kolloiden in Suspension und anschließendes Eintrocknen [32-35]. Im Falle von Silikakolloiden lässt sich dies durch die hohe Dichte von  $\text{SiO}_2$  ( $2.1\text{-}2.5 \text{ g/cm}^3$ ) im Vergleich zu Wasser leicht durch Einwirken der Gravitation verwirklichen, im Falle von Polymeren (Polystyrol:  $1.05 \text{ g/cm}^3$ ) ist dazu eine Zentrifugation nötig [36]. Diese Methode, bei der man zunächst die Kolloide sedimentieren lässt und dann das Dispersionsmedium langsam eintrocknen lässt, ist auch unter dem Namen „Kontrolliertes Eintrocknen“ bekannt. Im Falle von Latex-Kristallen kann auch ohne vorheriges Sedimentieren verfahren werden, falls das Eintrocknen langsam genug geschieht [14, 37]. Die Durchführung dieser Methode wird im Kapitel 2.1.3 noch näher beschrieben werden.

Anstatt durch die Gravitation kann man die Anordnung der Kolloide auch durch andere äußere Felder, wie etwa ein elektrisches Feld, herbeiführen [38-40]. Hierbei findet eine Elektrophorese statt, wobei im Falle negativ geladener Kolloide die Abscheidung auf der anodischen Elektrode stattfindet.

Kolloidale Kristalle von besonders hoher Qualität können durch die so genannten vertikalen Abscheidungsverfahren erhalten werden. Hierbei wird das Substrat stets senkrecht in eine Suspension getaucht und die Kolloide durch einen sich über das Substrat bewegenden Meniskus abgeschieden (Abbildung 2-3).

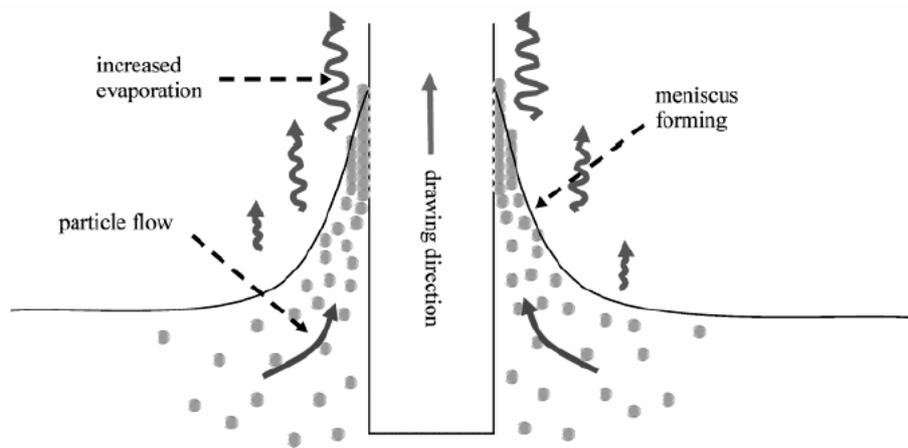


Abbildung 2-3: Schematische Darstellung der Kristallisation eines kolloidalen Kristalls durch einen sich bewegenden Meniskus [23].

Hierbei kann sowohl das Substrat durch einen Motor langsam (wenige hundert nm/s) [14, 41, 42] aus der Suspension gezogen, dem so genannten Dip-coating-Verfahren, oder das Dispersionsmittel langsam verdampft werden (vertical deposition method = VD) [43-45]. Mit diesen Methoden lassen sich kolloidale Kristallfilme von mehreren cm<sup>2</sup> Fläche erzeugen welche sich durch eine sehr einheitliche Dicke und ein weitgehendes Fehlen von Rissen auszeichnen. Allerdings sind diese beiden Methode nur auf Polymerkolloide anwendbar, da im Falle anorganischer Kolloide, wie Silikateilchen, die Dichte der Kugeln so hoch ist, dass sie sedimentieren, bevor sie auf dem Substrat abgeschieden werden können. Verwendet man Latexsuspensionen, so stellt sich dieses Problem nicht, da die Dichte von Polymeren nur unwesentlich höher ist, als die von Wasser, so dass eine Sedimentierung langsam abläuft. Um eine einheitliche Dicke zu erhalten muss man bei der Eintrocknungsmethode darauf achten, dass das gewählte Suspensionsvolumen groß genug ist, da sich sonst bei zu kleinen Volumina

die Konzentration an Kolloiden während des Eintrocknens stetig erhöht. Die Folge ist eine während des Vorgangs immer größer werdende Dicke der Kristalle.

Die Methode, bei der die Dicke der kolloidalen Kristalle am leichtesten und mit der höchsten Genauigkeit kontrolliert werden kann, ist das Langmuir-Blodgett-Verfahren. Hierbei handelt es sich um ein seit langem bekanntes Verfahren, durch welches, in der klassischen Anwendung, geordnete molekulare Monoschichten auf festen Substraten abgeschieden werden, jedoch auch kolloidale Kristalle erzeugt werden können. Bei diesem Verfahren wird zunächst ein so genannter Langmuirfilm auf der Wasser/Luft-Grenzfläche erzeugt. Hierbei wird auf die Wasseroberfläche in einem Langmuir-Blodgett-Trog eine oberflächenaktive Substanz (bzw. monodisperse Kolloide), welche in einem leicht flüchtigen Lösemittel gelöst ist (amphiphile Moleküle) aufgetropft. Beim Verdampfen des Lösemittels bildet sich hierbei ein ungeordneter, wenig dichter Film, wobei die Moleküle so angeordnet sind, dass der polare Teil ins Wasser, der hydrophobe Teil in die Luft ragt. Dieser Film wird mittels einer beweglichen Barriere komprimiert und währenddessen der Oberflächendruck  $\Pi$  in Abhängigkeit von der Fläche  $A$  gemessen (Druck-Flächen-Isotherme, Abbildung 2-4).

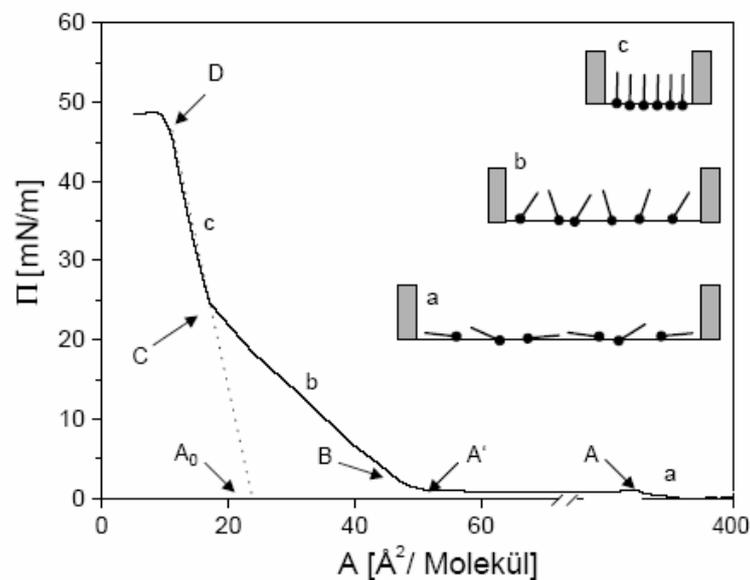


Abbildung 2-4: Schematischer Verlauf einer Druck-Flächen-Isotherme bzw. eines Schub-Flächen-Diagramms mit den verschiedenen Stadien der Filmkompression [46].

Hierbei verhält sich der Film zu Beginn der Komprimierung zunächst wie ein zweidimensionales Gas (a), welches beim Komprimieren einem Phasenübergang unterliegt (A). Bei

weiterem Komprimieren bleibt der Oberflächendruck zunächst durch Kondensation konstant (Zweiphasengebiet zwischen A und A') und das Gas geht schließlich in eine flüssige Phase über (b, Phasenübergang B) und bildet letztendlich einen zweidimensionalen Kristall (c). Beim Überschreiten eines kritischen Drucks (D) schieben sich die Moleküle des Films übereinander und die Monoschicht wird zerstört, der Film kollabiert.

Zur Abscheidung von Monoschichten wird nun ein Oberflächendruck im Bereich der kristallinen Phase c gewählt, der konstant gehalten wird. In diesen geordneten Film taucht man nun das Substrat langsam ein, wobei im Falle eines hydrophoben Substrates eine geordnete Monoschicht so abgeschieden wird, dass der hydrophobe Teil des Moleküls das Substrat berührt. Beim Herausziehen bleibt darauf wiederum eine geordnete Monoschicht haften, wobei diese entgegengesetzt zur ersten ausgerichtet ist, so dass Moleküle mit den hydrophilen Enden gegeneinander gerichtet sind. Beim erneuten Eintauchen wird darauf eine weitere Monoschicht abgeschieden, welche wiederum so orientiert ist, dass die hydrophoben Enden der Moleküle aufeinander zeigen. Durch die Anzahl an Eintauch- und Herausziehschritten ist es möglich die Anzahl der Monoschichten exakt zu kontrollieren. Die Zahl an monomolekularen Schichten entspricht der doppelten Anzahl an Tauchzyklen.

Verwendet man nun anstatt amphiphiler Moleküle Kolloide, so muss man darauf achten, dass die Teilchenoberfläche ein Gleichgewicht zwischen Hydrophilie und Hydrophobie aufweist, damit sich ein Langmuir-Film auf der Wasseroberfläche bilden kann [47-49]. Dies erreicht man dadurch, dass man die von Natur aus geladene Oberfläche von z.B. Silikapartikeln mittels hydrophober organischer Gruppen (z.B. Allyltrimethoxysilan oder Aminopropyltriethoxysilan) modifiziert. Aus solchen Kolloiden lassen sich leicht Langmuir-Filme bilden, in die man nun ein Substrat eintaucht und wieder herauszieht. Hierdurch entstehen Monoschichten hexagonal geordneter Kolloide. Bei monodispersen Kolloiden wird jedoch, im Gegensatz zu amphiphilen Molekülen, nur beim Herausziehen der Substrate eine Schicht abgeschieden. Beim Eintauchen des Substrates lassen sich die Kolloide durch ihren hydrophoben Charakter nicht in die wässrige Phase „drängen“ und somit wird bei diesem Vorgang keine Schicht abgeschieden. Im Falle oberflächenaktiver Moleküle können sich diese so anordnen, dass die hydrophilen Teile ins Wasser und die hydrophoben zum Substrat hin ragen, somit wird hierbei schon beim Eintauchen eine Moleküllage abgeschieden. Bei Kolloiden, welche eine Kugelsymmetrie aufweisen ist ein Eintauchen der Teilchen in die wässrige Phase immer ungünstig in Bezug auf hydrophobe Wechselwirkungen. Dadurch ist bei dieser Methode die Anzahl an Kugelschichten stets gleich der Anzahl an Tauchzyklen.

Diese Methode stellt dadurch ein Verfahren zur schnellen Synthese kolloidaler Kristalle mit einer exakten Kontrolle der Dicke dar.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl das „Kontrollierte Eintrocknen“, die „Vertikale Abscheidung“ als auch das Langmuir-Blodgett-Verfahren angewandt, da diese drei Methoden relativ einfach durchzuführen sind und sehr gut geordnete kolloidale Kristalle bilden. Ihre detaillierte Durchführung wird in Kapitel 2.1.3 beschrieben.

## 2.1.2 Optische Eigenschaften

Da sowohl kolloidale Kristallen als auch inverse Opalen eine mesoskalig periodische Struktur aufweisen, besitzen diese Materialien einen periodisch oszillierenden Brechungsindex, wobei die Periode in der Größenordnung des sichtbaren Lichtes liegt. Neben Absorption, Brechung und diffuser Streuung treten in so aufgebauten Materialien zusätzliche optische Eigenschaften auf, wobei die Ausbreitung elektromagnetischer Wellen in diesen Materialien ähnlich beeinflusst wird wie Elektronen in einem Halbleiter. In einem kristallinen Festkörper durchlaufen Elektronen ein sich periodisch änderndes elektrisches Feld, das durch die periodische Anordnung der Ionenrümpfe im Kristallgitter hervorgerufen wird. In diesem Fall erhält man durch Lösen der Schrödingergleichung als Energieeigenwerte keine diskreten Energiewerte sondern Energiebänder, die bei Halbleitern durch eine Bandlücke voneinander getrennt sind. Besitzt ein Material nun einen periodisch variierenden Brechungsindex, dessen Periode in der Größenordnung der Wellenlänge des sichtbaren Lichtes liegt, so weist das Material eine photonische Bandstruktur auf, welche durch Lösen der Maxwell-Gleichung als deren Eigenwerte erhalten werden kann.

$$\nabla \times \left( \frac{1}{\varepsilon(r)} \nabla \times H(r) \right) = \left( \frac{\omega}{c} \right)^2 H(r) \quad (2-1)$$

Hierbei sind  $\varepsilon(r)$  der Brechungsindex am Ort  $r$ ,  $H(r)$  die harmonischen Moden des magnetischen Feldes,  $\omega$  die Lichtfrequenz und  $c$  die Lichtgeschwindigkeit. Tritt in der photonischen Bandstruktur eine Bandlücke auf, so ist das Material für bestimmte Wellenlängen undurchlässig und man spricht von einem photonischen Kristall. Da jedoch die Bandstruktur eine Abhängigkeit vom Wellenvektor zeigt, kann der Fall auftreten, dass sich

die Bänder für bestimmte Wellenvektoren überlappen, dass also das Licht durch das Material hindurch kann. Solch ein Fall tritt z.B. in der kubisch flächenzentrierten Struktur auf (fcc, siehe Abbildung 2-5).

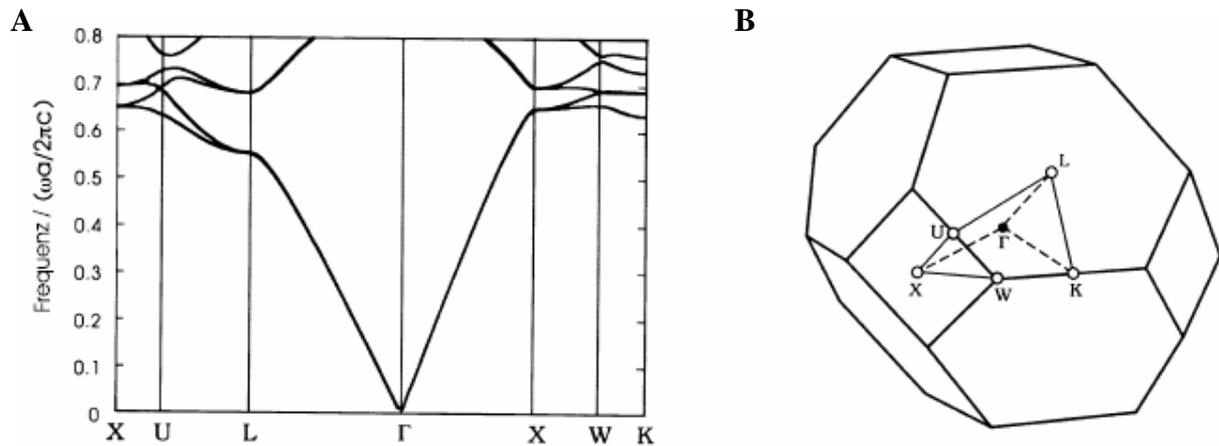


Abbildung 2-5: Photonische Bandstruktur eines inversen Opals mit fcc-Struktur in einem Dielektrikum mit  $\epsilon = 13$  und die Brillouin-Zone für das kubisch flächenzentrierte Gitter [50, 51]. In (A) sind die Frequenzen gezeigt, für die der photonische Kristall für bestimmte Wellenvektoren durchlässig ist. Diese Wellenvektoren sind in (B) als Vektoren L, X, K, U und W im reziproken fcc-Gitter dargestellt.  $\Gamma$  ist der Koordinatenursprung (000).

Ist dies nicht der Fall und es existiert eine Bandlücke für alle Wellenvektoren, spricht man von einer vollständige Bandlücke. Die Bandstruktur ist zum einen von der Struktur des photonischen Kristalls abhängig, zum andern vom Verhältnis der Brechungsindizes, wobei bei einem großen Verhältnis in der Regel eine vollständige Bandlücke auftritt. So findet man für einen inversen Opal mit  $\text{TiO}_2$  ( $n_{\text{Silika}}: n_{\text{Luft}} = 1.46$ ) als Füllmaterial keine vollständige Bandlücke, wo hingegen bei Verwendung von Si ( $n_{\text{Si}}: n_{\text{Luft}} = 3.48$ ) eine vollständige Bandlücke erhalten wird. Dieses Verhältnis zwischen den Brechungsindizes bestimmt auch die Breite der Bandlücke, wo hingegen die Lage durch den mittleren Brechungsindex und die Gitterkonstante festgelegt wird.

Photonische Kristalle erlauben es elektromagnetische Strahlung zu manipulieren und somit optische Schaltkreise ähnlich elektronischer Schaltkreise unter Zuhilfenahme von elektrischen Halbleitern zu konstruieren [52, 53]. Einen photonischen Kristall könnte man somit als optischen Halbleiter bezeichnen. Das photonische Pendant einer Dotierung des Halbleiters ist hierbei das kontrollierte Einfügen von Defekten, was die Möglichkeit eröffnet optische Transistoren zu bauen. Diese photonischen Schaltkreise könnten das Potential besitzen in

Zukunft die elektronischen abzulösen, was durch den Informationstransfer in Lichtgeschwindigkeit Rechenzeiten von z.B. Computern enorm verkürzen würde. Forschungsarbeiten in dieser Richtung beruhen jedoch im Moment noch rein auf theoretischer Basis, da photonische Materialien mit der nötigen Defektstruktur noch nicht zugänglich sind. Technische Anwendungen finden diese Materialien vielmehr als optische Filter, Spiegel oder als Materialien für Laserresonatoren.

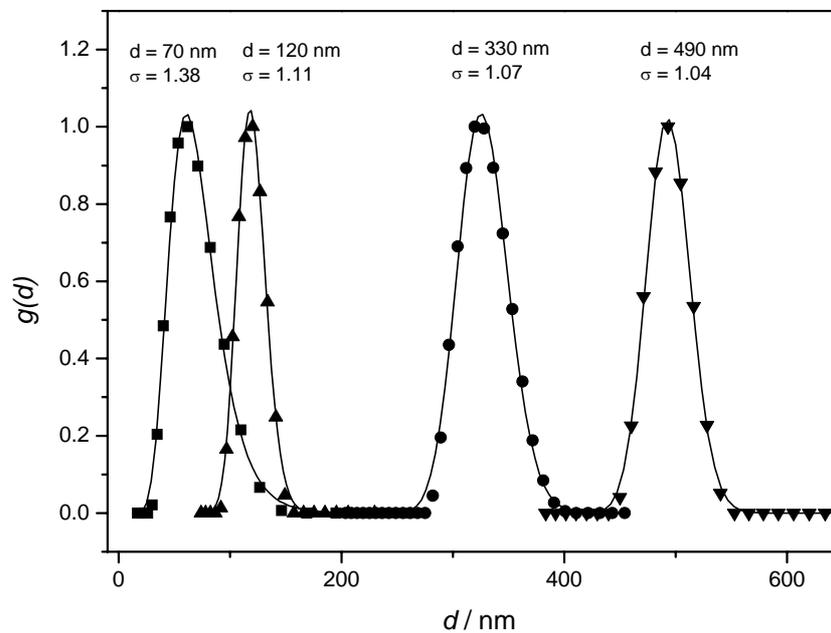
### **2.1.3 Synthesen kolloidaler Kristalle**

#### **a) Monodisperse Kolloide**

Die zur Bildung der kolloidalen Kristalle verwendeten monodispersen Kolloide wurden durch die in Kapitel 2.1.1 beschriebenen Verfahren hergestellt. Polystyrolteilchen wurden durch Emulsionspolymerisation (Synthese siehe Anhang A1.1), Silikakolloide durch das Stöber-Verfahren (Anhang A1.2) synthetisiert. Die Ermittlung der Größenverteilungen der Kolloide erfolgte mittels dynamischer Lichtstreuung, und der mittlere Teilchendurchmesser konnte anhand der Konzentration an Styrol bzw. an Tetraethoxyorthosilikat (TEOS) kontrolliert werden. Um kleine Polystyrolkolloide zu erhalten wurde zu den Reaktionsgemischen geringe Anteile des Comonomers Natrium-4-vinylbenzolsulfonat (VBS) zugegeben, welches durch seine hohe Löslichkeit in Wasser eine größere Zahl an Polymerisationskeimen und somit kleinere Teilchen verursacht. Die erhaltenen Kolloide konnten jeweils in einem breiten Größenspektrum (70 – 490 nm für Polystyrol bzw. 110 – 1500 nm für Silika) hergestellt werden. Mit Ausnahme der kleinsten Teilchen mit einem Mediandurchmesser von 70 nm ( $\sigma = 1.38$ ) gelang die Synthesen mit einer engen Größenverteilung (logarithmische Standardabweichung  $\sigma = 1.04 - 1.11$  (siehe Tabelle 1 bzw. Abbildung 2-6 und Abbildung 2-7).

**Tabelle 1:** Zusammenstellung der erhaltenen mittleren Teilchendurchmesser  $d$  und der Standardabweichung für verschiedene hergestellte Polystyrol- und Silikakolloiden.

Polystyrolkolloide					Silikakolloide			
c(Styrol) / g/L	35	39	40	60	c(TEOS) / g/L	20	40	80
c(VBS) / g/L	5	1	0	0	c(NH <sub>3</sub> ) / g/L	40	75	150
Median d / nm	70	120	330	490	Median d / nm	110	240	620
Standardabweichung $\sigma$	1.38	1.11	1.07	1.04	Standardabweichung $\sigma$	1.27	1.12	1.11



**Abbildung 2-6:** Größenverteilung verschiedener Polystyrolkolloide. Die logarithmische Standardabweichung  $\sigma$  schwankt zwischen 1.38 für die kleinsten synthetisierten Partikel und 1.04 für die größten.

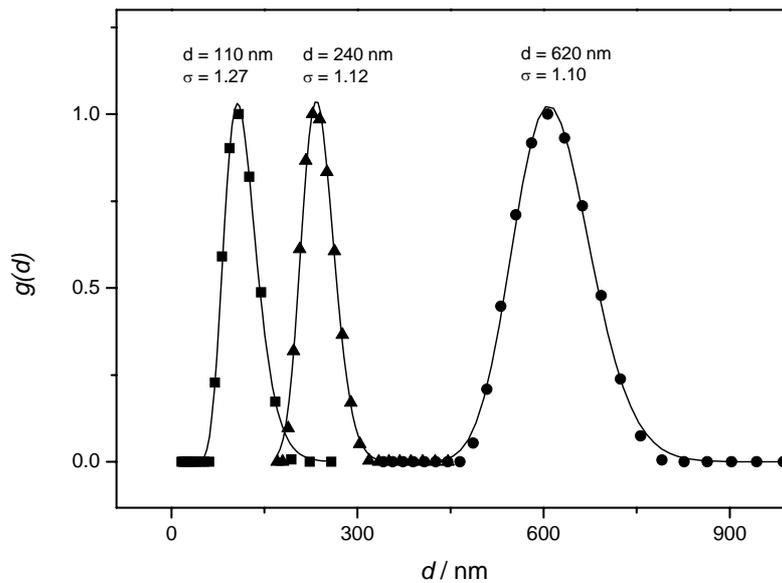
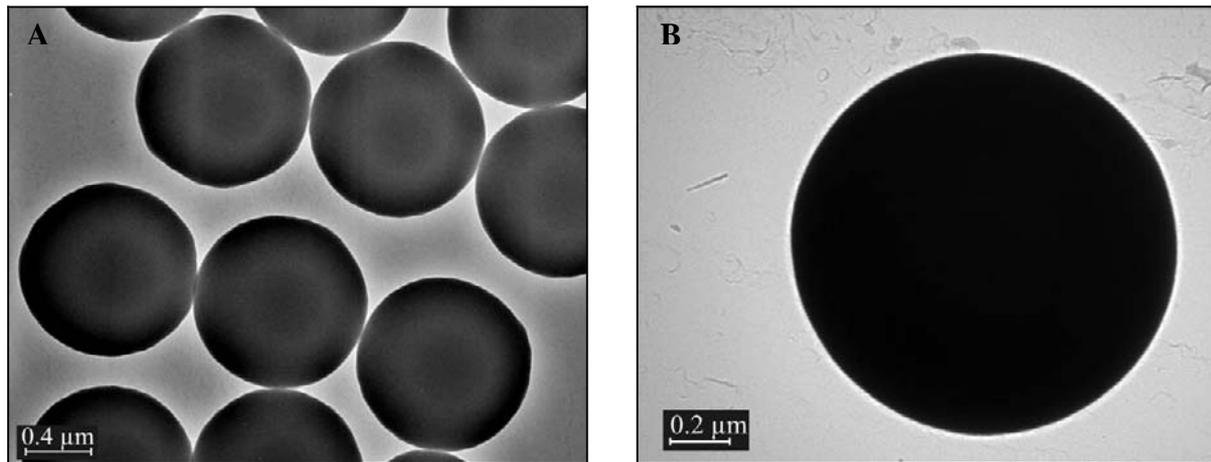


Abbildung 2-7: Durch dynamische Lichtstreuung ermittelte Größenverteilung verschiedenen Silikakolloide.

Mittels der Stöbersynthese ist es schwierig sehr große Kolloide ( $d > 1 \mu\text{m}$ ) zu erhalten, da das Teilchenwachstum mit zunehmendem Durchmesser immer langsamer wird und man ansonsten sehr große Mengen des Monomers in Lösung vorlegen muss. Da für die Synthesen makroporöser Elektroden auch Silikapartikel mit einem Durchmesser  $d > 1000 \text{ nm}$  hergestellt werden sollten, musste auf einen zweistufigen Prozess zurückgegriffen werden, wobei zunächst kleine Kolloide nach der klassischen Stöber-Methode verwendet wurden, welche man als Keime für ein weiteres Teilchenwachstum benutzt (Synthese Anhang A1.3). Der Teilchendurchmesser solch großer Partikel kann durch die langsame Diffusion und die schnelle Sedimentierung nicht mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmt werden, so dass die Größe mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ermittelt wurde (Abbildung 2-8).



*Abbildung 2-8: TEM-Aufnahmen von hydrophobisierten Silikakolloiden. (A):  $d = 1100$  nm, (B):  $d = 1400$  nm.*

Wie auf den Abbildungen sehr gut zu sehen ist sind die Teilchen nahezu ideal kugelförmig und monodispers. Dies sind Voraussetzungen dafür, dass sich ein kolloidaler Kristall bilden kann. Auf diesem Wege wurden Kolloide mit den Durchmessern  $d = 1100$  nm und  $1400$  nm hergestellt.

Die für die Templatsynthese der porösen Elektroden benötigten kolloidalen Kristalle wurden nach drei verschiedenen Verfahren hergestellt, welche deutliche Unterschiede in Bezug auf Ordnung, Vorhandensein von Rissen und Möglichkeit der Kontrolle der Kristalldicke aufwiesen. Bei diesen Verfahren handelte es sich um das Kontrollierte Eintrocknen („controlled evaporation“ = CE), die Vertikale Abscheidung („vertical deposition“ = VD) und die Langmuir-Blodgett-Methode (LB).

In allen drei Fällen erfolgte die Abscheidung der kolloidalen Kristalle auf Goldelektroden, welche aus Glasplättchen, auf die zu Haftzwecken eine dünne Schicht Cr/Ni und darauf eine  $200$  nm dicke Schicht Au aufgesputtert wurde, bestanden. Diese Goldelektroden wurden zunächst gründlich mit destilliertem Wasser und Aceton gewaschen und  $24$  h in eine Lösung aus  $10$  mM Cysteamin in Ethanol getaucht. Dieser Vorgang diente zur Hydrophilisierung des an sich hydrophoben Goldes, damit die geladenen Kolloide auf der Oberfläche haften und abgeschieden werden konnten. Der Effekt der Hydrophilisierung ließ sich mit dem bloßen Auge durch die gute Benetzbarkeit der Substrate mit destilliertem Wasser erkennen.

## b) Kontrolliertes Eintrocknen

Durch das CE-Verfahren gelang es sowohl kolloidale Kristalle aus Latex-Kolloiden ( $d = 490$  nm,  $330$  nm,  $120$  nm,  $70$  nm) als auch Silikakolloiden ( $d = 620$  nm) herzustellen. Auf die Cysteamin-modifizierten Substrate wurde zunächst, zur Begrenzung der Elektrodenfläche, ein Polymerfilm (PE/Polycarbonat) mit einer kreisförmigen Aussparung mit einem Durchmesser von  $6$  mm, aufgeschmolzen. Die Substrate wurden auf eine umgedrehte  $50$  mL Kristallisierschale, welche sich in einer  $250$  mL Kristallisierschale befand, gelegt und auf die Aussparung  $10$   $\mu$ L der jeweiligen Suspension ( $0.3$  gew. % Latex bzw. Silika) aufgetropft. Die große Kristallisierschale wurde daraufhin etwa  $1$  cm hoch mit destilliertem Wasser gefüllt und ein  $250$  mL Becherglas so über die kleine Kristallisierschale mit dem Substrat gestülpt, dass der Rand des Becherglases vollkommen vom Wasser verschlossen war. Dieser Aufbau ermöglichte es die Suspension auf dem Substrat in einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre langsam einzutrocknen. Dies war notwendig, da bei zu schnellem Eintrocknen die Kolloide sich nicht ordnen können und durch die Volumenkontraktion große Risse entstehen. Das Eintrocknen dauerte ca.  $7$  d und ergab deutlich opaleszierende Kristalle mit einem hohen Grad an Ordnung (Abbildung 2-9).

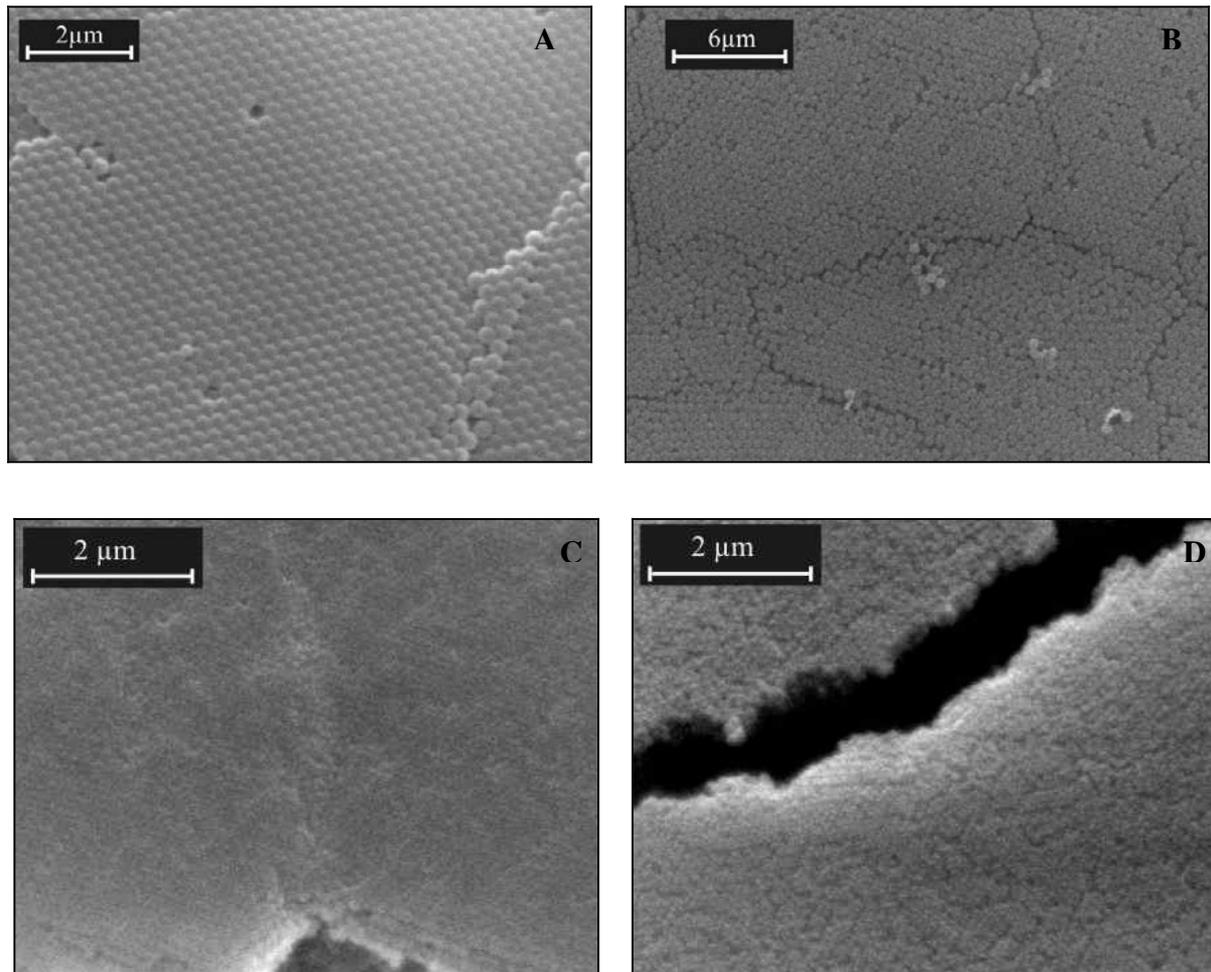


Abbildung 2-9: REM-Aufnahmen kolloidaler Kristalle, hergestellt durch Kontrolliertes Eintrocknen; (A): Polystyrol,  $d = 330 \text{ nm}$ ; (B):  $\text{SiO}_2$ ,  $d = 620 \text{ nm}$ ; (C): Polystyrol,  $d = 120 \text{ nm}$ ; (D): Polystyrol,  $d = 70 \text{ nm}$ .

Wie man auf den Abbildungen erkennen kann, sind die Kolloide in den Kristallen in einer kubisch dichtesten Packung angeordnet und besitzen eine sehr hohe Fernordnung. Die Dichte an Punktdefekten ist gering. Allerdings ist eine Kontrolle der Kristalldicke nur sehr schwer über die Konzentration und das Volumen an Suspension möglich. Ausserdem tritt durch das Eintrocknen eine Kontraktion des Kristalls auf, wodurch Risse in der Struktur entstehen (Abbildung 2-10).

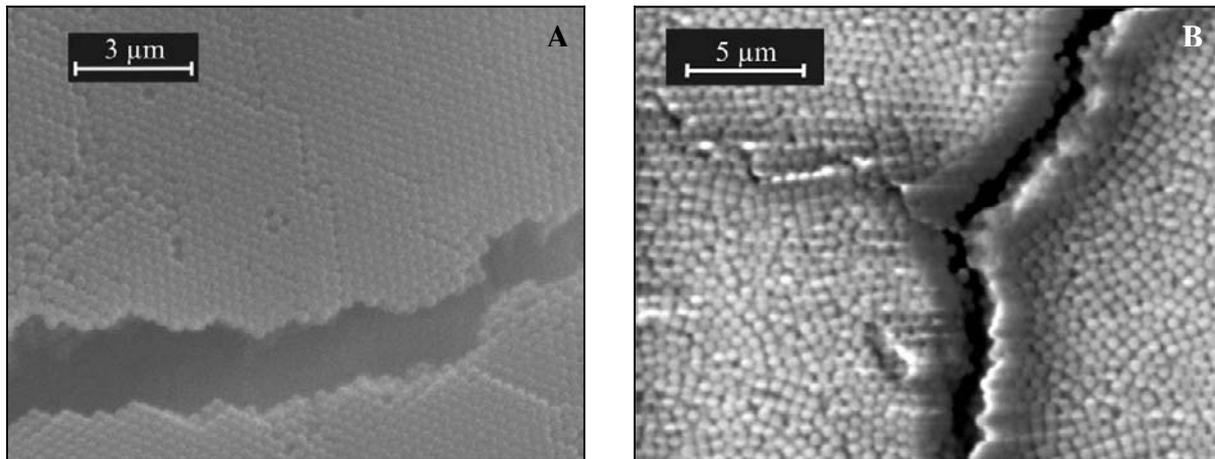


Abbildung 2-10: Risse in durch CE hergestellten kolloidalen Kristallen (A): Polystyryol,  $d = 327 \text{ nm}$ ; (B): Silika,  $d = 615 \text{ nm}$ .

Diese Risse sind sehr problematisch für die nachfolgende elektrochemische Abscheidung in dem Templat, da die Diffusion der Metallionen in das Templat, im Gegensatz zur Diffusion in die Risse, gehemmt ist. Das heißt, die Ionen können leichter in die Risse diffundieren und das Metall sich dort folglich leichter abscheiden. Eine Kontrolle der Dicke des Kristalls ist ebenso wichtig, da ein zu dickes Templat unter Umständen die Diffusion der Metallionen zur Elektrode so weit erschweren kann, dass eine elektrochemische Abscheidung nicht mehr oder nur unter Bildung von Dendriten möglich ist. Zusammenfassend kann man sagen, dass diese Methode durch diese Nachteile nur bedingt für die Verwendung als Templat geeignet ist.

### c) Vertikale Abscheidung

Durch Vertikale Abscheidung konnten nur Kristalle aus Latex-Kolloiden, nicht aber aus Silika erzeugt werden. Da diese Methode relativ zeitaufwendig (4 d) ist, müssen während der gesamten Abscheidungszeit die Kolloide in Suspension verbleiben, ohne dass sie durch die Gravitation sedimentieren.  $\text{SiO}_2$  jedoch besitzt im Vergleich zu Wasser eine relativ hohe Dichte ( $2.1 - 2.5 \text{ g/cm}^3$  je nach Modifikation), deshalb sedimentieren relativ große Silika-Kolloide sehr schnell, so dass nur sehr kleine Teilchen verwendet werden können ( $d < 100 \text{ nm}$ ). Hierbei zeigt sich jedoch, dass kleine Kolloide sich bei dieser Methode nicht gut ordnen und somit nicht kristallisieren. Polystyryol hingegen besitzt eine Dichte, welche der

des Wassers sehr ähnlich ist ( $1,05 \text{ g/cm}^3$ ), wodurch sich dieses Material hervorragend für die VD-Methode eignet. Somit ist sie vor allem für die Herstellung von Latex-Opalen interessant. Zur Abscheidung wurden wie oben beschrieben hydrophilisierte Gold-Substrate benutzt. Diese wurden senkrecht in eine Suspension aus 0.3 Gew. % Latex in Ethanol getaucht und fixiert. Während 4 d bei  $50^\circ\text{C}$  im Trockenschrank trocknet die Suspension langsam ein. Hierbei bewegt sich der Meniskus auf dem Substrat nach unten, wodurch dünne Filme kolloidaler Kristalle abgeschieden werden konnten. Die so hergestellten Substrate wiesen eine stark ausgeprägte Opaleszenz auf, was ein Anzeichen auf einen hohen Grad an Ordnung darstellt (Abbildung 2-11).

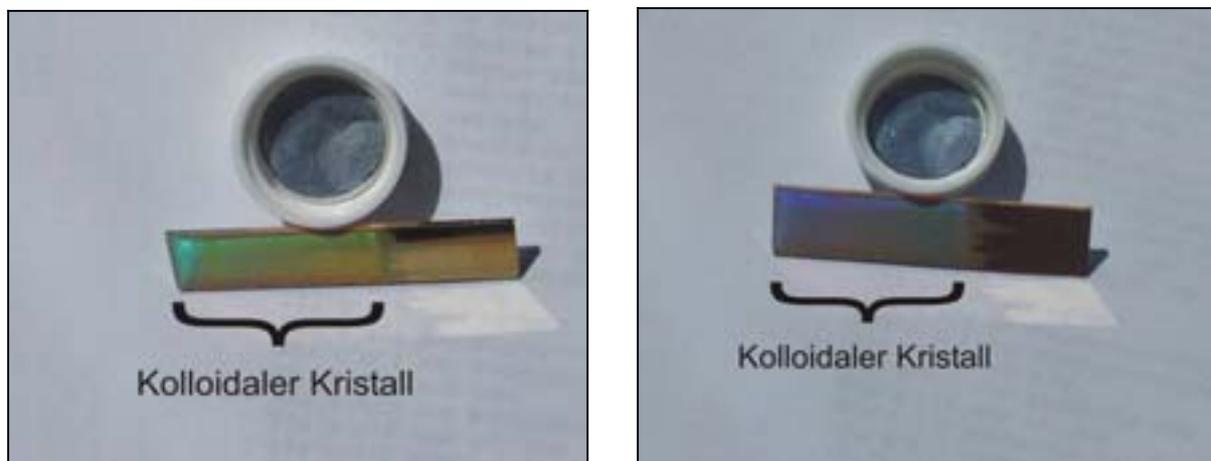


Abbildung 2-11: Durch VD-Methode erzeugter kolloidaler Kristall, Polystyrol,  $d = 330 \text{ nm}$ , angestrahlt durch Sonnenlicht und aus unterschiedlichen Winkeln fotografiert.

Die Kontrolle der Dicke erfolgt über die Konzentration der Suspension. Bei einer Konzentration von 0.3 Gew. % Latex erhält man Kristalle mit einer Dicke von 5 Kugelschichten, bei entsprechend höheren Konzentrationen dickere bzw. bei niedrigeren Konzentrationen dünnere Kristalle (Abbildung 2-12).

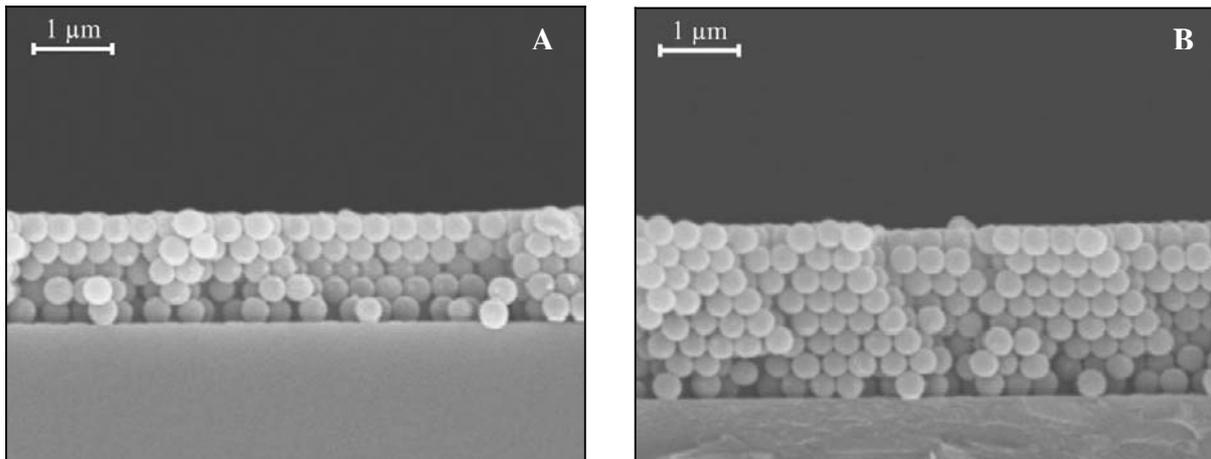


Abbildung 2-12: REM-Aufnahmen von kolloidalen Latex-Kristallen ( $d = 330 \text{ nm}$ ) nach dem VD-Verfahren hergestellt. (A): 5 Schichten (0.3 gew. %), (B): 8 Schichten (0.8 gew. %).

Wie bei der zuvor beschriebenen CE-Methode sind die Kolloide im Kristall nahezu perfekt kubisch dicht geordnet, besitzen jedoch eine relativ hohe Dichte an Korngrenzen (Abbildung 2-13).

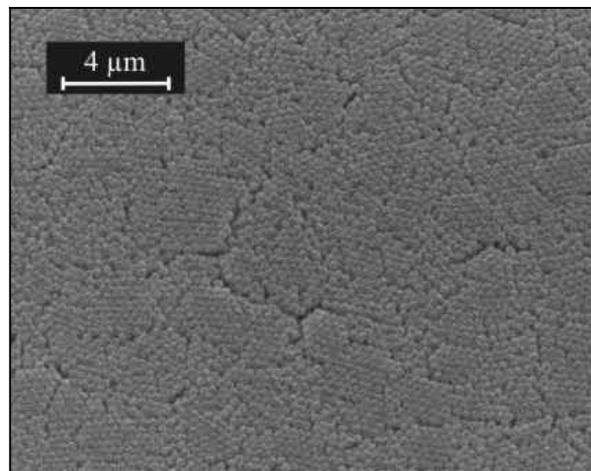


Abbildung 2-13: REM-Aufnahme eines kolloidalen Kristalls aus Polystyrolteilchen,  $d = 320 \text{ nm}$ ; hergestellt durch die VD-Methode.

## d) Langmuir-Blodgett-Technik

Das LB-Verfahren wurde wie von Reculosa et al. [47, 49] beschrieben zur kontrollierten Abscheidung molekularer bzw. kolloidaler Mono- und Multischichten mit definierter Dicke eingesetzt. Dies wurde jedoch nur mit Silikakolloiden erreicht, da es nicht gelang Polymerkolloide zu geordneten Langmuir-Filmen anzuordnen. Hierzu wurden zunächst Silikakolloide mit einer hydrophobisierten Partikeloberfläche hergestellt. Die Modifizierung der Partikel erfolgte mit einem Allylgruppen enthaltenden Siloxan (Allyltrimethoxysilan; Anhang A 3). Nach Verdünnen der Suspension mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Ethanol gab man diese zur Bildung eines geordneten Langmuirfilms auf die Wasseroberfläche. Das Ziehen der Langmuir-Blodgett-Filme wurde nach der Komprimierung wie in Anhang A 5 beschrieben durchgeführt. Die Dicke der hergestellten Kristalle wurde über die Anzahl der Tauchzyklen kontrolliert und betrug bis zu 40 Schichten (Abbildung 2-14).

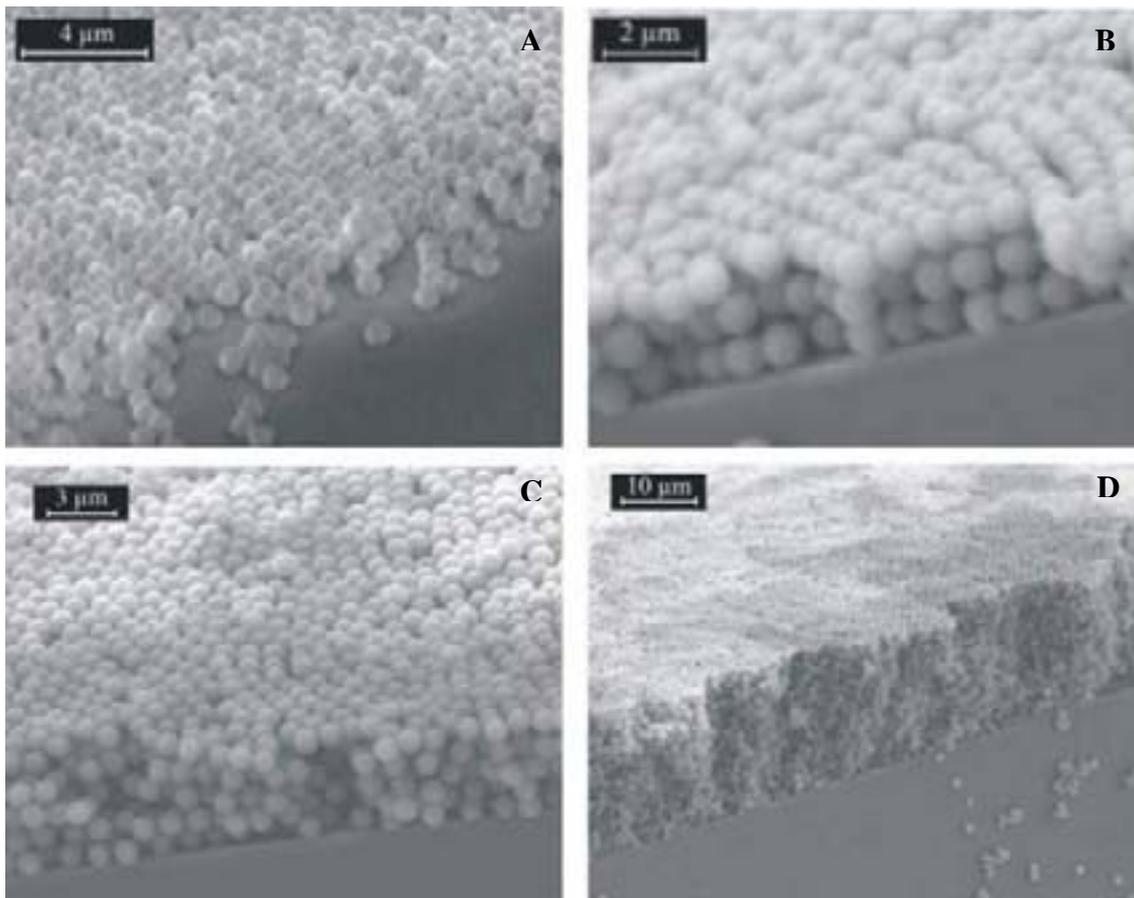
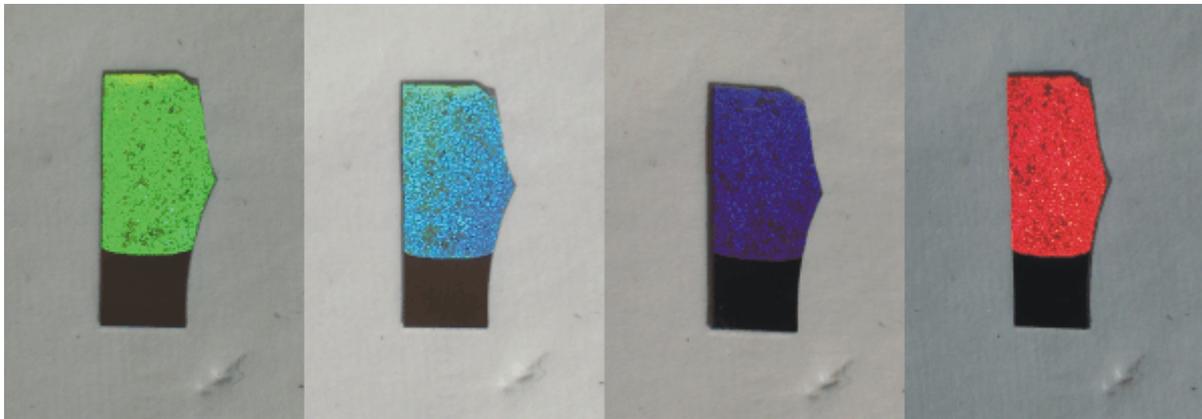


Abbildung 2-14: Durch LB-Technik erzeugte kolloidale Kristalle mit einem Teilchendurchmesser von 1100 nm. (A): 1 Schicht, (B): 3 Schichten, (C): 5 Schichten, (D): 20 Schichten.

Die einfache und genaue Kontrolle der Kristalldicke stellte für diese Methode den entscheidenden Vorteil im Vergleich zu den anderen beschriebenen Methoden dar. Für das elektrochemische Füllen der Zwischenräume des kolloidalen Kristalls wird im Falle einer zu großen Dicke die Diffusion der Metallionen durch das Templat zur Elektrode hin stark behindert, so dass zu erwarten ist, dass in diesem Fall die abgeschiedenen Schichten sehr wenig einheitlich sind. Aus diesem Grund wurden stets Template hergestellt, deren Dicke nur eine oder zwei Schichten größer war, als die gewünschte Dicke der porösen Elektrode.

Die hohe Ordnung der so hergestellten kolloidalen Kristalle erkennt man mit bloßem Auge durch die Opaleszenz der Proben (Abbildung 2-15) und wurde mittels NIR-Spektroskopie quantifiziert.



*Abbildung 2-15: Photographien eines kolloidalen Kristalls aus Silika-Kolloiden,  $d = 680 \text{ nm}$ ; aufgenommen in Sonnenlicht unter verschiedenen Winkeln.*

Die Opaleszenz der Proben kommt durch Bragg-Reflexion zustande, welche nur bei hoch geordneten Proben auftritt. Somit kann diese Eigenschaft als qualitativer Beweis der hohen Ordnung herangezogen werden.

Diese Bragg-Reflexion wurde unter Mithilfe von Transmissionsspektroskopie im nahen IR charakterisiert. Ein typisches Spektrum ist in Abbildung 2-16 zu sehen.

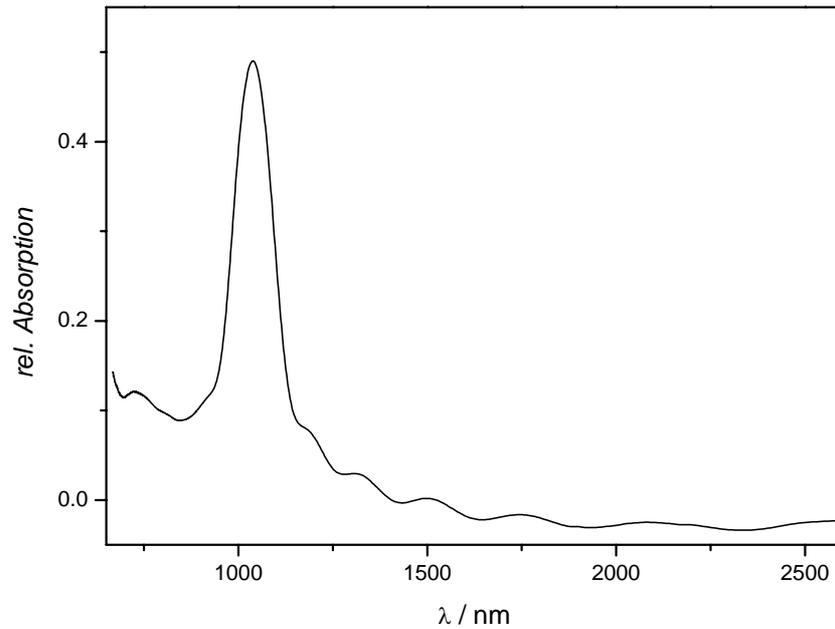


Abbildung 2-16: IR-Transmissionspektrum eines kolloidalen Kristalls ( $d = 460 \text{ nm}$ , 10 Kugelschichten) auf Glas.

In den Spektren lässt sich jeweils ein Hauptpeak erkennen, welcher der Bragg-Streuung 1. Ordnung der (1,1,1)-Ebene nach dem Braggschen Gesetz (Gl. 2-1) zuzuordnen ist.

$$m \cdot \lambda = 2 \cdot n_e \cdot d_{hkl} \cdot \sin \varphi \quad (2-2)$$

Die Zahl  $m$  ist die Ordnung des Bragg-Peaks,  $\lambda$  die Wellenlänge des Bragg-Reflexes,  $n_e$  der mittlere Brechungsindex,  $d_{hkl}$  der Netzebenenabstand zwischen zwei Ebenen mit den Millerschen Indizes (h,k,l). Für die (1,1,1)-Ebene gilt:

$$d_{111} = \sqrt{\frac{2}{3}} \cdot d \quad (2-3)$$

$d$  entspricht hierbei dem Teilchendurchmesser der Kolloide, da ein System aus harten Kugeln vorliegt. Durch den Aufbau des Spektrometers betrug der Bragg-Streuwinkel  $\varphi$  bei allen

Messungen  $90^\circ$ . Der effektive Brechungsindex kann mithilfe des Volumenbruches  $\phi$  aus den Brechungsindizes von  $\text{SiO}_2$   $n_s$  und Luft  $n_l$  berechnet werden:

$$n_e = \sqrt{\phi \cdot n_s^2 + (1 - \phi) \cdot n_l^2} \quad (2-4)$$

Somit ergibt sich für die gestreute Wellenlänge in einem Streuwinkel von  $\phi = 90^\circ$ :

$$\lambda = \sqrt{\frac{8}{3}} \cdot \sqrt{\phi \cdot n_s^2 + (1 - \phi) \cdot n_l^2} \cdot d \quad (2-5)$$

Diese Wellenlänge wird also von der Probe reflektiert, und somit taucht an dieser Stelle ein Absorptionsmaximum im Spektrum auf. Mit  $\phi = 0.74$  (für FCC-Struktur),  $n_s = 1.46$  und  $n_l = 1.00$  ergibt sich für einen FCC-Kristall aus  $\text{SiO}_2$ -Kugeln mit dem Durchmesser  $d = 460$  nm ein Absorptionsmaximum bei 1010 nm, beobachtet wurde ein Maximum bei 1030 nm. Die leichte Verschiebung des Maximums im Vergleich zum berechneten Wert lässt sich dadurch erklären, dass der Brechungsindex des  $\text{SiO}_2$  je nach Modifikation und Herstellungsverfahren zwischen 1.46 und 1.58 variieren kann und für Silikakolloide nicht genau bekannt ist. Außerdem ist der Durchmesser im kolloidalen Kristall nicht derselbe, wie in Suspension, da die Kolloide beim Eintrocknen schrumpfen.

Dieser Bragg-Peak tritt nur bei hoch geordneten Proben auf und ist umso schärfer, je besser die Ordnung im System ist. Im Falle von Abbildung 2-16 deutet der Bragg-Peak, welcher eine Halbwertsbreite von 110 nm besitzt, auf eine hohe Ordnung des Kristalls hin. Die Intensität des Bragg-Peaks steigt linear mit der Anzahl der Kugelschichten, was auf eine sehr regelmäßige Schichtung der Kugeln senkrecht zur Substratoberfläche hindeutet (Abbildung 2-17).

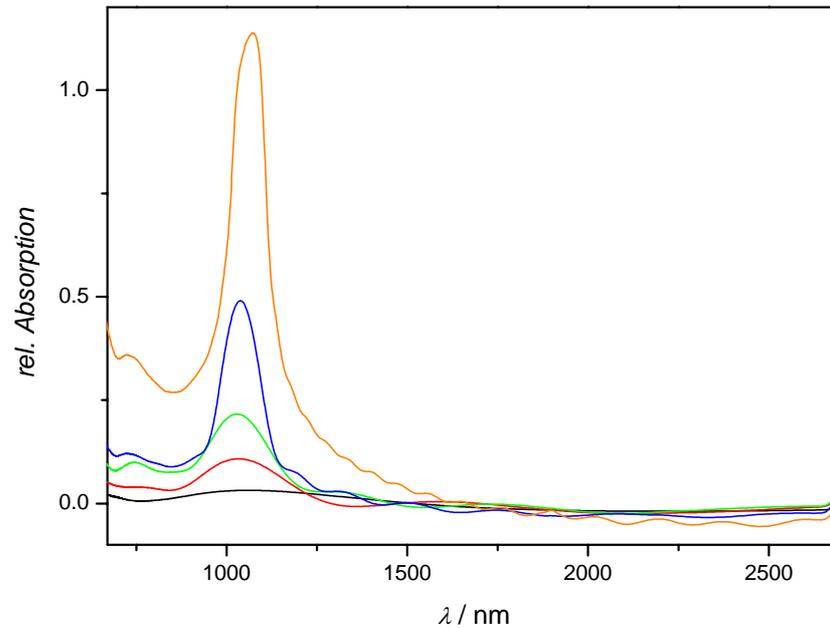


Abbildung 2-17: NIR-Spektren kolloidaler Kristalle ( $d = 460$  nm) mit unterschiedlichen Schichtzahlen; schwarz: 1, rot: 3, grün: 5, blau: 10 und orange: 25 Schichten.

Vergleicht man die Spektren kolloidaler Kristalle mit unterschiedlichen Teilchendurchmessern, so verschiebt sich der Bragg-Peak für größere Kolloide, wie sich mittels Gl. 2-6 erklären lässt, zu höheren Wellenlängen (Abbildung 2-18).

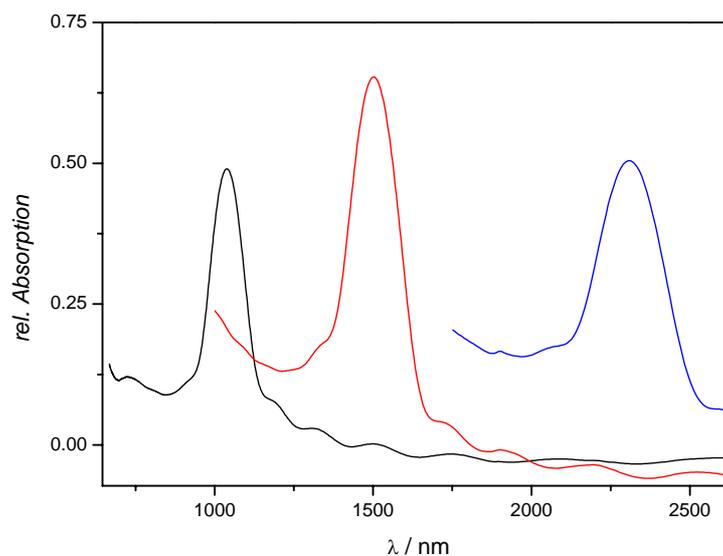


Abbildung 2-18: IR-Transmissionsspektren kolloidaler Kristalle mit unterschiedlichen Kugeldurchmessern schwarz: 460 nm (Bragg-Peak bei 1030 nm), rot: 680 nm (1500 nm), blau: 1100 nm (2310 nm). Alle Proben bestanden aus 10 Kugelschichten.

Die in Abbildung 2-15 gezeigten Opaleszenzfarben kolloidaler Kristalle sind auf dasselbe Phänomen zurückzuführen. Hierbei wird jedoch weißes Licht gestreut, wobei unterschiedliche Wellenlängen in verschiedenen Winkeln gestreut werden.

Eine weitere Auffälligkeit in den Spektren sind Oszillationen in der Absorption bei höheren Wellenlängen, als der Bragg-Wellenlänge. Diese so genannten Fabry-Perrot-Streifen kommen durch Interferenzen zwischen an der Silika-Luft- und der Silika-Glas-Grenzfläche reflektierten Strahlen zustande [47, 49]. Die Anzahl dieser Fabry-Perrot-Streifen steigt hierbei mit der Anzahl der Kugelschichten im kolloidalen Kristall (Abbildung 2-19).

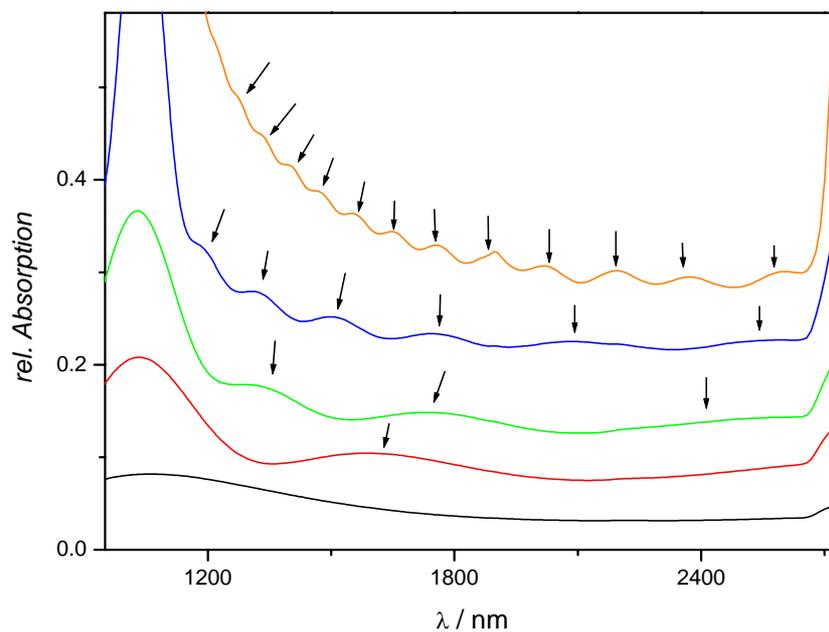


Abbildung 2-19: Fabry-Perrot-Streifen in den NIR-Spektren kolloidaler Kristalle ( $d = 460 \text{ nm}$ ) mit unterschiedlichen Schichtzahlen; schwarz: 1, rot: 3, grün: 5, blau: 10 und orange: 25 Schichten.

Ebenso wie die Bragg-Peaks deuten diese Fabry-Perrot-Streifen auf eine hohe Qualität der kolloidalen Kristalle in Bezug auf ihre Ordnung hin. Diese Streifen treten nur auf, wenn die Kristalle eine sehr einheitliche Dicke besitzen und die Ordnung nahezu perfekt ist.

## Kapitel 3: Synthese makroporöser Elektroden

### 3.1 Stand der Forschung

Makroporöse Materialien finden in der Technik vielseitige Anwendungen z.B. als Katalysatorträger, Membranen, Molekularsiebe oder photonische Kristalle. Auch in der Natur findet man eine große Zahl solcher Materialien, wie etwa Zeolithe oder Bimsstein. Ebenso existiert für die Synthese künstlicher poröser Stoffe eine sehr umfangreiche Anzahl von Methoden. Poröse Materialien können zum einen nach der Ordnung der Poren untereinander (geordnet oder ungeordnet poröse Materialien) oder nach ihrem Porendurchmesser  $d$  eingeteilt werden (mikroporös:  $d < 2$  nm; mesoporös:  $d = 2-50$  nm; makroporös:  $d > 50$  nm). Die Einteilung nach dem Porendurchmesser wurde hierbei von der IUPAC festgelegt [54].

Eine häufig angewandte Methode zur Herstellung poröser Polymere Membranen, meist Polycarbonat, mit monodispersen, allerdings ungeordneten Poren ist das so genannte „Track-etch-Verfahren“. Hierbei wird eine Polymere Membran mit schweren Ionen hoher kinetischer Energie aus einem Kernreaktor oder einem Synchrotron beschossen. Die Ionen durchdringen die Polymere Membran, wobei die Polymerketten gespalten werden und Pfade aus aktiven Endgruppen entstehen. Behandelt man diese aktivierten Membranen mit einem selektiven organischen Lösemittel, so werden die Membranen nur an den aktivierten Endgruppen aufgelöst und es entstehen zylinderförmige monodisperse Poren mit Durchmessern von 10-1000 nm [55, 56]. Diese Membranen werden z.B. für Separationsprobleme verwendet, wobei zum einen durch die Monodispersität Größenseparationen durchgeführt werden können, zum anderen nach Modifikation der Membran chemische Separationen.

Geordnet poröse Systeme können beispielsweise durch anodische Oxidation von Aluminium dargestellt werden. Hierbei bildet sich Aluminiumoxid, das unter bestimmten Bedingungen spontan hexagonal geordnete zylindrische Poren ausbildet [57, 58]. Durch Anlegen einer positiven Spannung am Aluminium in einem Elektrolyten wird dieses zunächst zu homogenen  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Schichten oxidiert. Wird die Oxidation in einem Oxid-auflösenden Elektrolyten, wie  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Oxalsäure oder  $\text{H}_2\text{SO}_4$  durchgeführt, so entstehen Unregelmäßigkeiten an dieser Oxidoberfläche, wodurch Keime für ein Porenwachstum entstehen. An diesen Unregelmäßigkeiten werden die elektrischen Feldlinien lokal fokussiert und ein verstärktes Oxidwachstum findet an diesen Stellen statt. An Stellen kleineren Feldes

wird hingegen das Oxid durch den Elektrolyten aufgelöst. Hierbei bilden sich zunächst zufällig verteilte Poren, die sich durch Gleichgewichtseinstellung mit der Zeit zu hexagonal dichtesten Packungen zylindrischer Poren anordnen. Der Porendurchmesser kann hierbei über die angelegte Spannung kontrolliert werden, wobei bei hohen Spannungen Poren mit großem Durchmesser erhalten werden.

Die gängigste Methode zur Darstellung geordnet poröser Materialien ist jedoch die Templatsynthese. Mit dieser ist es leicht möglich poröse Proben aus vielen unterschiedliche Materialien (Metalle, Halbleiter, Oxide, Graphit, Polymere) darzustellen und den Porendurchmesser dabei exakt zu kontrollieren. Bei dieser Technik wird zunächst ein Templat, eine durch Selbstorganisation erhaltene dreidimensionale periodische Maske, erzeugt, dessen Zwischenräume mittels einer geeigneten Methode mit einem Material gefüllt werden. Nach Entfernen des Templats wird ein poröses Material mit geordneten Poren erhalten. Zum einen können als Template lyotrope Flüssigkristalle, zum anderen auch kolloidale Kristalle verwendet werden. Im Falle lyotroper Phasen erhält man mesoporöse Strukturen mit in der Regel hexagonal angeordneten zylindrischen Poren mit Durchmessern von 2-10 nm. Bisher gelang es z.B. solche Strukturen aus  $\text{SiO}_2$  [59],  $\text{MnO}$  [60] oder Edelmetallen wie Au, Pt bzw. Pd [61, 62] darzustellen.

Viel verbreiteter und von ihrem Einsatzgebiet vielseitiger ist die Templatsynthese mittels kolloidaler Kristalle. Mittels kubisch dichtest gepackten Kolloiden erhält man somit Strukturen, die als inverse Opale bezeichnet werden. Da sich im kolloidalen Kristall die Kugeln gegenseitig berühren, entstehen in dem Material Kanäle, wodurch das Templat wieder vollständig entfernt werden kann und die Poren untereinander verbunden sind. Je nach Methode zur Infiltrierung der kolloidalen Kristalle können sowohl Silikakolloide als auch Polymerkolloide wie Polystyrol- oder PMMA verwendet werden. Zur Infiltrierung kolloidaler Kristalle existiert eine Vielzahl von Strategien und Methoden. Sehr verbreitet ist z.B. das Sol-Gel-Verfahren, mit dem bereits ein breites Spektrum verschiedenartiger makroporöser Metalloxide aus z.B.  $\text{TiO}_2$  [63],  $\text{ZrO}_2$  [36],  $\text{Al}_2\text{O}_3$  [64],  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  [36],  $\text{SnO}_2$  [65] oder  $\text{SiO}_2$  [66, 67] erzeugt werden konnten. Bei dieser Methode wird ein Metallalkoxid oder ein ähnlicher Precursor in alkoholischer Lösung auf das Templat gegeben und eintrocknen gelassen. Der Precursor dringt dabei in das Templat ein und wird dort durch Reaktion mit in der Luft befindlichem  $\text{H}_2\text{O}$  hydrolysiert. Nach Herauslösen des Templats und Kalzinierung wird das poröse Oxid erhalten. Ein Problem bei dieser Methode ist jedoch, dass die Proben zum Entfernen organischer Reste und überschüssigen Wassers kalziniert werden müssen, wobei eine Volumenkontraktion auftritt. Somit stellt das poröse Material kein genaues negatives

Abbild des Templats dar. Deshalb ist zur Herstellung makroporöser Oxide meist das CVD-Verfahren besser geeignet, welches auch leichter kontrollierbar ist, was die Dicke der abgeschiedenen porösen Schichten betrifft. Hierbei wird der jeweilige Precursor aus der Gasphase auf dem erhitzten Substrat abgeschieden, wobei hochreine Oxide entstehen, die nicht weiter behandelt werden müssen. Als Precursoren dienen z.B.  $\text{SiCl}_4$  für die  $\text{SiO}_2$ -Erzeugung [68]. Ebenso lassen sich nicht-oxidische poröse Materialien wie Si [69-71], Ge [72] oder Graphit [73] aus gasförmigem  $\text{Si}_2\text{H}_6$ ,  $\text{Ge}_2\text{H}_6$  bzw. Propylen erzeugen. Möchte man makroporöse Metalle synthetisieren, so lassen sich Oxide mittels Reaktion mit  $\text{H}_2$  bei hohen Temperaturen reduzieren, wie es z.B. von Miguez et al. für Ge [74] oder Yan et al. für Fe, Co und Ni [75] berichtet wurde.

Metalle lassen sich aber auch direkt über „electroless“- oder elektrochemische Abscheidung darstellen. Bei der „electroless“-Abscheidung handelt es sich um eine chemische Methode, die oft zur Metallisierung nicht leitender Substrate verwendet wird. Die hierbei verwendeten Bäder enthalten neben dem jeweiligen Metallsalz zusätzlich Additive und ein Reduktionsmittel. Da die Reduktion durch die Additive kinetisch gehemmt ist, kann die Metallabscheidung nur auf einer mit einem Katalysator modifizierten Oberfläche stattfinden. Hat sie einmal begonnen, so läuft der Prozess autokatalytisch ab. Deshalb müssen für dieses Verfahren die Templatkolloide vor der Bildung eines kolloidalen Kristalls zunächst mit einem Katalysator belegt werden. Hierzu verwendet man meist Gold-Nanopartikel, die über Thiolgruppen an die Kolloidteilchen gebunden werden [44]. Wiederum vielseitiger und besser kontrollierbar ist die elektrochemische Abscheidung. Das Substrat, auf das der kolloidale Kristall aufgebracht wird, muss dazu ein elektronischer Leiter wie Au, Pt oder ITO sein. Das Wachstum des Metalls in das Templat verläuft dabei von der Elektrode her und ist leicht durch die geflossene Ladungsmenge kontrollierbar. Durch elektrochemische Abscheidung wurde bisher die Erzeugung von porösem Au [76-78], Pt [78, 79], Pd [79], Ni [80] und Co [79] berichtet. Aber nicht nur makroporöse Metalle, sondern auch (II-V)-Halbleiter wie CdS oder CdSe [81], Metalloxide wie ZnO [82] oder leitende Polymere wie Polypyrrol [83] oder Polyanilin [84] können über diese Methode dargestellt werden.

Da Nanopartikel mit einem Durchmesser von weniger als 10 nm ohne weiteres in die Zwischenräume eines kolloidalen Kristalls eindringen können, ist es möglich auch solche Teilchen zum Füllen dieser Hohlräume zu nutzen. Hierzu existieren zwei unterschiedliche Strategien. Zum einen kann ein schon gebildeter kolloidaler Kristall in eine Suspension kleiner Nanopartikel getaucht werden, wobei die Suspension in den Kristall eindringt und die Partikel durch Verdampfen des Lösemittels in den Poren agglomerieren, so dass sie das

poröse Material aufbauen. Zum anderen kann der Kristall direkt unter Anwesenheit der Nanopartikel aufgebaut werden. In diesem Fall bildet sich der Kristall, wobei gleichzeitig seine Zwischenräume von den Nanopartikeln gefüllt werden. Die erste Arbeit über diese Methode wurde 1999 von Velev et al. für makroporöses Gold publiziert [85-87] und ist in der Folge von weiteren Autoren auf andere Materialien wie TiO<sub>2</sub> [88], Magnetit [89], CdSe [90], oder Zeolithe [91] übertragen worden.

Für die Herstellung makroporöser Polymere kann man neben der Elektropolymerisation klassische Polymersynthesen verwenden. Hierbei kann ein enorm weites Spektrum unterschiedlicher poröser Materialien wie z.B. Polyurethane [92], Poly(acrylat-metacrylat) [93], PMMA [94], Polystyrol [94-96] usw. erzeugt werden. Ebenso kann das Polymer aus einer hochkonzentrierten Polymerlösung in die Kristallzwischenräume gebracht und das Lösemittel verdampft werden.

Eine weitaus seltener angewandte Methode, die auch nur für sehr wenige Materialien realisierbar ist, ist die Infiltrierung kolloidaler Kristalle mit Schmelzen niedrig-schmelzender Metalle, wie Sb [97] oder Se [98]. Bei dieser Methode kommt es jedoch sehr häufig zu Gaseinschlüssen oder anderen Defekten im makroporösen System. Daneben existieren noch weitere Methoden, die jedoch weniger häufig in der Literatur zu finden sind und auf die deshalb an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden soll.

## **3.2 Synthesen**

Zum Auffüllen der Kristallzwischenräume während der Templatsynthese wurde die elektrochemische Abscheidung gewählt, da diese Methode sehr glatte Abscheidungen ergibt und die abgeschiedene Metallmenge leicht und sehr genau über die geflossene Ladung zu kontrollieren ist. Auch kann man diese Methode leicht auf eine Vielzahl verschiedener Metalle anwenden und der apparative Aufbau ist im Vergleich zu vielen anderen Methoden, wie z.B. CVD, sehr einfach und leicht zu reproduzieren. Abgeschieden wurden beispielhaft die Edelmetalle Au, Pt und Pd, welche besonders für viele katalytische Anwendungen von großem Interesse sind.

Als Template wurden sowohl durch CE, VD als LB hergestellte Kristalle, welche auf Goldelektroden abgeschieden wurden, verwendet. Zur Begrenzung der geometrischen Elektrodenfläche wurden diese mit einem dünnen Film aus nicht leitendem Nagellack

beschichtet, wobei ein Fenster von 6x6mm Fläche freigelassen wurde. Die Elektroden mit dem Templat wurden vorsichtig in das jeweilige Abscheidungsbad getaucht und 15 min in der Lösung belassen, um ein Eindringen der Elektrolytlösung in die Zwischenräume des Kristalls zu erlauben. Die elektrochemische Abscheidung erfolgte in zwei verschiedenen Modi, der Abscheidung bei konstantem Potential und der gepulsten Elektroabscheidung (PED). Hierzu schaltete man die Elektroden in einer potentiostatischen Schaltung als Arbeitselektrode (AE), wobei ein Pt-Blech als Gegenelektrode (GE) und eine mit gesättigter KCl-Lösung gefüllte Ag/AgCl-Elektrode als Bezugs-elektrode (BE) fungierte (Abbildung 3-1). Über einen Potentiostaten mit Pulsgenerator konnte ein konstantes bzw. gepulstes Potentialprofil angelegt werden. In Tabelle 2 sind die verwendeten Abscheidungs-bäder und die zugehörigen Abscheidungs-potentiale zusammengefasst.

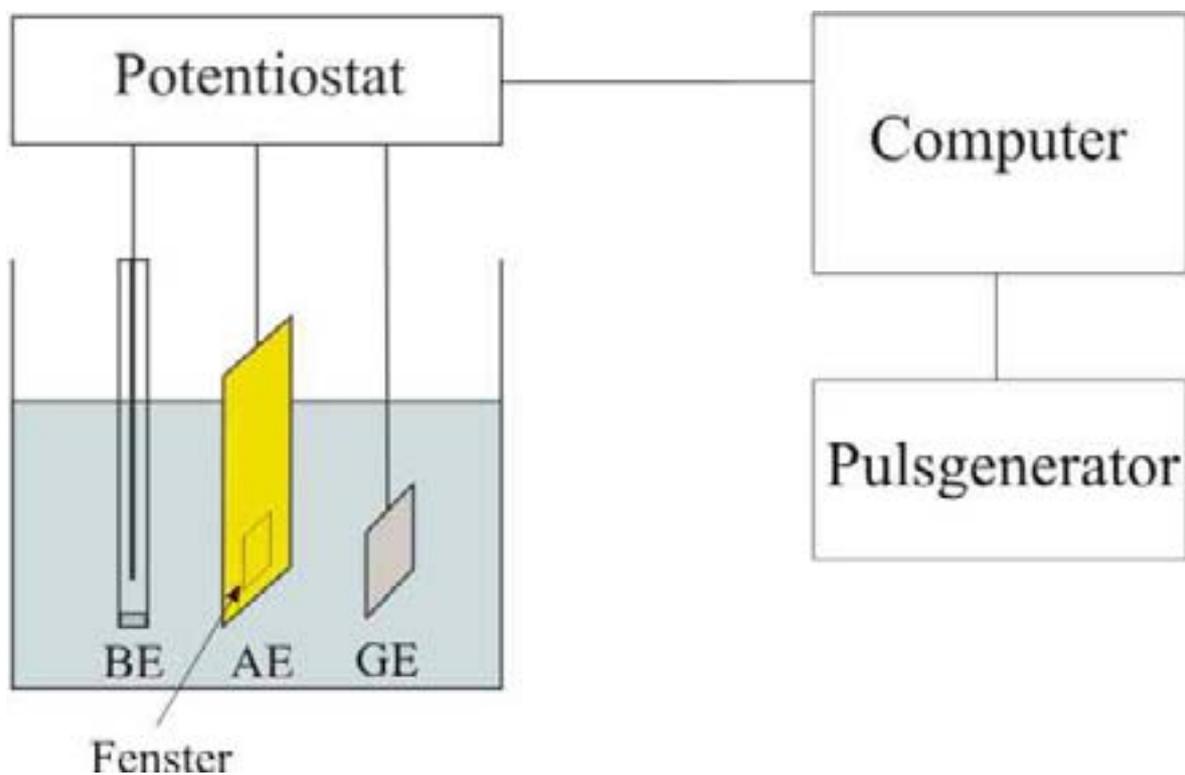


Abbildung 3-1: Schematischer Aufbau einer potentiostatischen Elektrodenschaltung mit Pulsgenerator.

Tabelle 2: Zusammenstellung der verwendeten Abscheidungs-bäder und ihre Abscheidungs-potentiale.

<b>Metall</b>	<b>Au</b>	<b>Pt</b>	<b>Pd</b>
<b>Zusammensetzung</b>	10 g/L Au(I), As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , oberflä- chenaktive Substanzen, sonstige Additive	50 mM H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	40 mM (NH) <sub>4</sub> PdCl <sub>4</sub>
<b>Abscheidungs- potential vs. Ag/AgCl</b>	-658 mV	+142 mV	+ 292 mV
<b>Referenz</b>	Kommerzielles Bad ECF 60 von FA. Metallor	[79]	[79]

### 3.2.1 Goldabscheidung in CE-Kristallen

Die ersten Versuche zur elektrochemischen Abscheidung von Gold in Templaten wurden mit durch CE hergestellten kolloidalen Kristallen aus Latex durchgeführt. Diese wurden zur mechanischen Stabilisierung knapp unterhalb der Glasübergangstemperatur von Polystyrol (80°C) 1 h bei 70°C gesintert, wobei den Kristall bildenden Teilchen leicht miteinander verkleben sollten. Anschließend wurde das Gold bei -658 mV vs. Ag/AgCl aus der Goldlösung abgeschieden und währenddessen der fließende Strom aufgenommen. Durch diese Prozedur konnte jedoch kein Gold auf den templatmodifizierten Elektroden abgeschieden werden, da durch den Sinterprozess die Poren im Templat wohl zu sehr verklebten und somit keine Goldlösung in den Kristall eindringen konnte. In der Folge wurde deshalb im Falle der Kristalle aus Latexteilchen auf eine mechanische Stabilisierung verzichtet, wobei die Stabilität für eine Elektroabscheidung ausreichend war. Durch Anlegen des Abscheidungspotentials während 140 s wurde für eine Elektrode mit einem Templat aus Polystyrolteilchen folgende Strom-Zeit-Kurve erhalten (Abbildung 3-2).

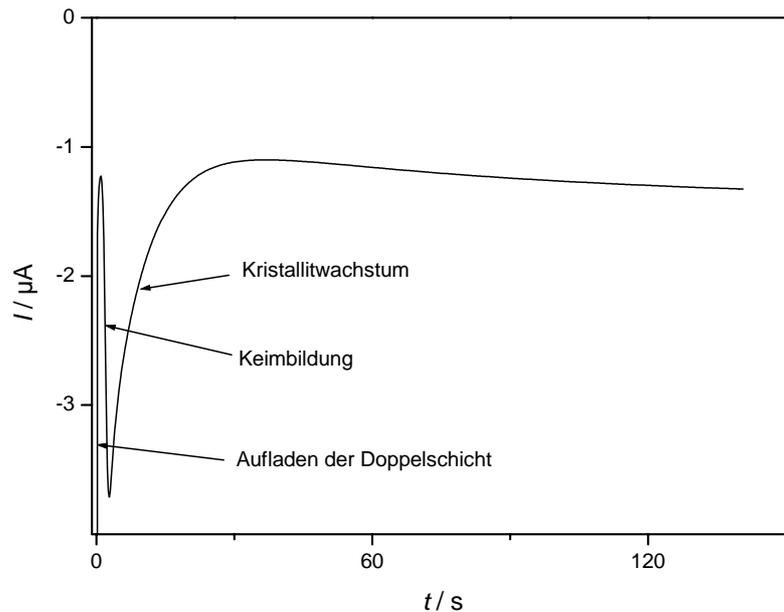
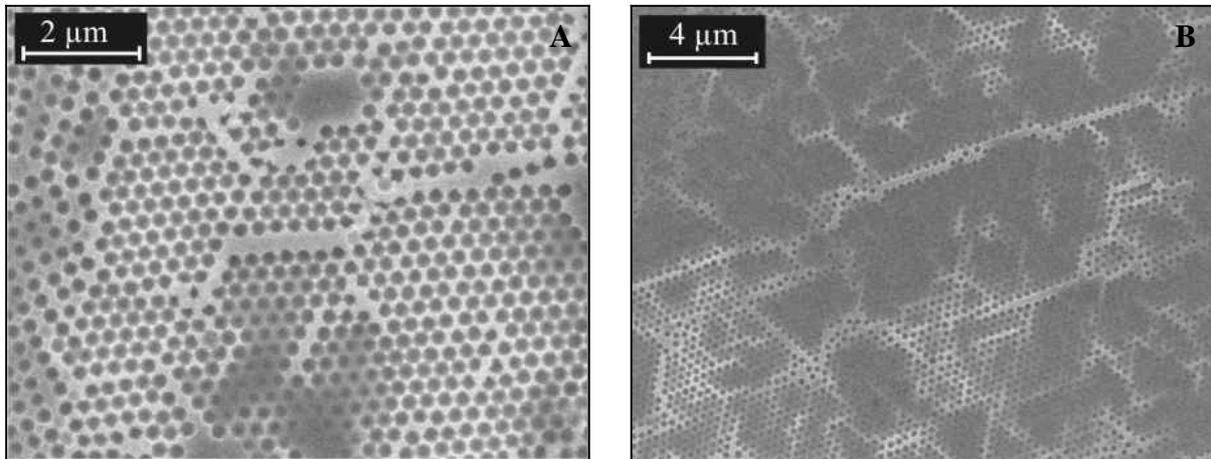


Abbildung 3-2: Strom-Zeitkurve während der Elektroabscheidung von Au in einem Polystyroltemplat,  $d = 330$  nm; durch CE hergestellt.

Die starken Schwankungen des Stromes zu Beginn der Abscheidung kommen durch Kapazitäts- und Kristallisationseffekte zustande. Während der ersten Millisekunden findet eine Aufladung der Doppelschichtkapazität statt, wodurch der Strom zu Beginn sehr groß ist (bis zum ersten Minimum nach weniger als 1 s). Hat sich diese komplett aufgeladen, so fällt der Strom und es tritt die Bildung von Goldkristallisationskeimen ein; der Strom steigt wiederum stark an. Haben sich die Keime gebildet, so fangen diese an zu wachsen, wobei der Strom wieder fällt und sich auf einen nahezu konstanten Wert einpendelt, das Gold wächst in das Templat hinein.

Das Resultat der Abscheidung während 140 s und Auflösen des Templats ist eine poröse Schicht mit der Dicke von etwa einem halben Kugeldurchmesser. Die Poren weisen dieselbe geordnete hexagonale Struktur auf, wie die verwendeten kolloidalen Kristalle (siehe Abbildung 3-3). Jedoch fand die Abscheidung sehr lokal und hauptsächlich in der Nähe von Rissen statt, das heißt auf der Oberfläche der Elektroden konnten nur kleine Partien porösen Goldes aufgefunden werden (Abbildung 3-3 B). Diese lokale Abscheidung hängt wahrscheinlich mit dem hydrophoben Charakter der Polystyrolpartikel zusammen, wodurch die Goldlösung nur schwer in die Kristalle, welche bei der CE-Methode relativ dick sind, hineindiffundiert und somit das Gold nicht an der gesamten Elektrodenoberfläche

abgeschieden werden kann. Aus diesem Grund scheidet sich das Gold wohl hauptsächlich in der Nähe von Rissen ab.



*Abbildung 3-3: REM-Aufnahmen von porösem Gold mit einer Schichtdicke von  $\frac{1}{2}$  Kugelschichten und einem Porendurchmesser von 330 nm; das Templat (Polystyrol) wurde durch CE hergestellt.*

Aufgrund der unregelmäßigen Abscheidung konnte sowohl die Dicke der porösen Schichten als auch die aktive Oberfläche nicht ausreichend kontrolliert werden. Aus diesem Grund wurde dieselbe Methode mit Silikakolloiden durchgeführt, welche wesentlich hydrophiler als Polymerkolloide sind. Durch diese höhere Hydrophilie sollte der Kristall wesentlich besser durch den Abscheidungselektrolyten benetzt und somit viel homogenere Goldschichten abgeschieden werden. Auch diese Template wurden zur Erhöhung der mechanischen Stabilität für die ersten Versuche zunächst gesintert (1 h bei 600°C). Wie im Falle der Polymertemplate wurde daraufhin das Gold mittels Elektroabscheidung im Kristall abgeschieden und letztendlich die Silikakolloide durch fünfminütiges Behandeln mit 5 gew. % Fluorwasserstoffsäure aufgelöst. Durch dieses Verfahren wurden wie im vorherigen Falle sehr unregelmäßige Abscheidungen erhalten, wobei das Gold blumenkohlartige Strukturen bildete (siehe Abbildung 3-4), weshalb nur schwerlich Aussagen über die Ordnung gemacht werden konnten.

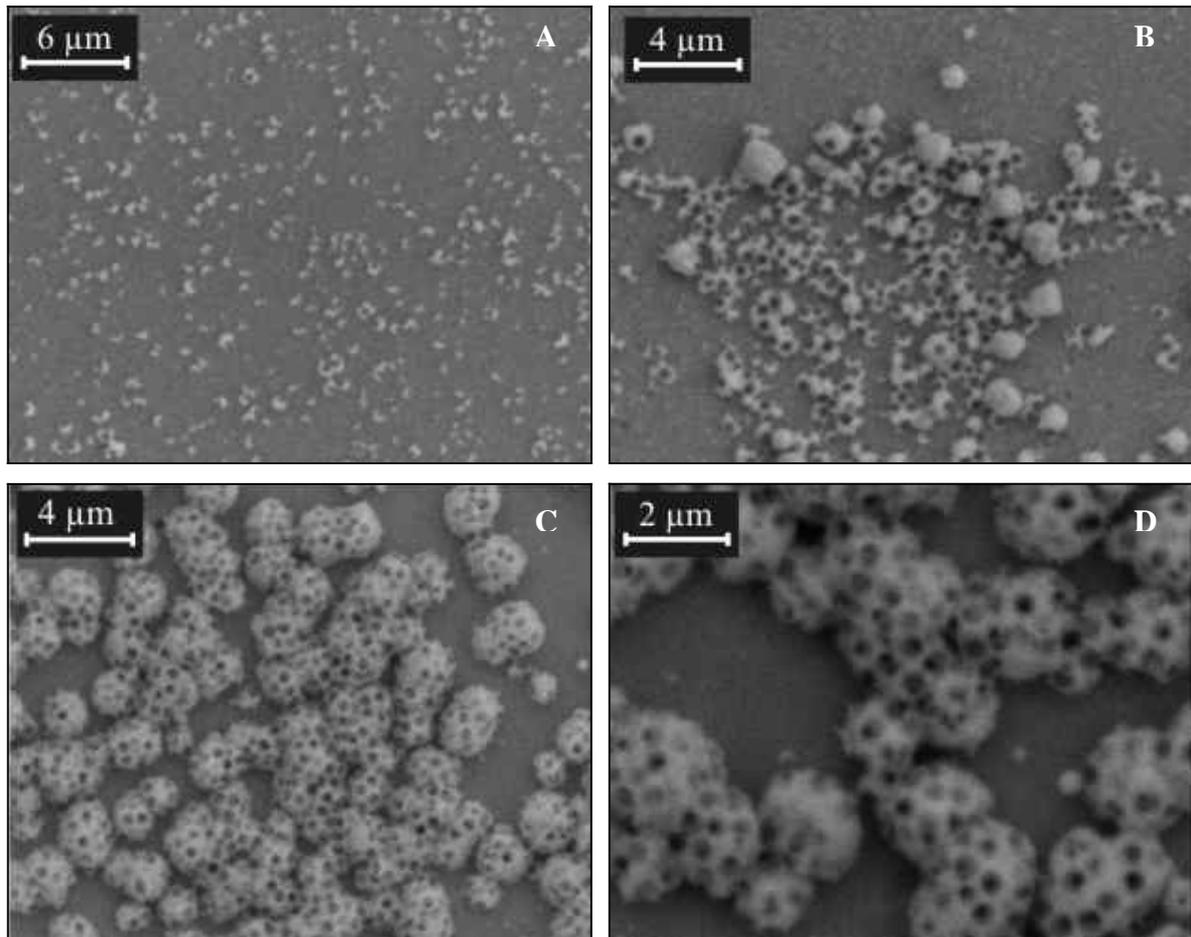
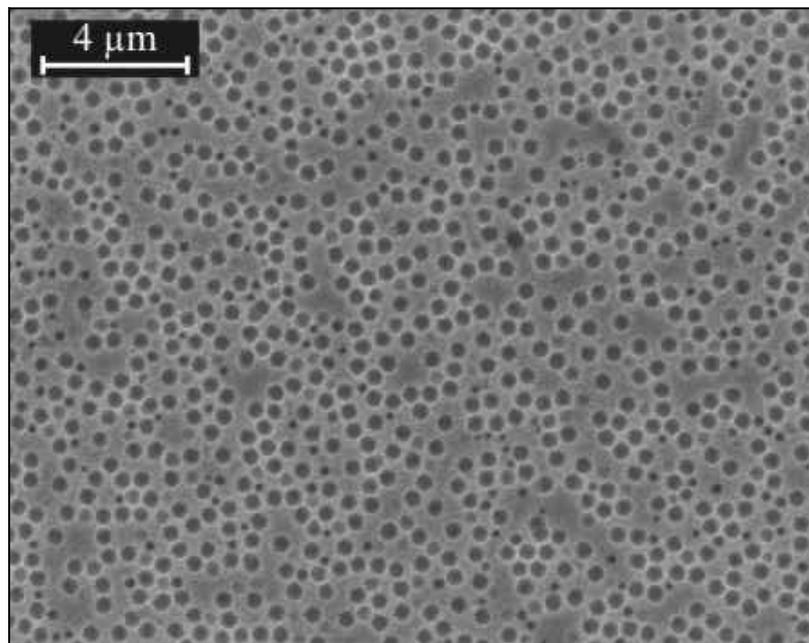


Abbildung 3-4: Abscheidung porösen Goldes mit einem Porendurchmesser von 620 nm. Das Templat wurde durch CE von  $\text{SiO}_2$ -Kolloiden hergestellt und gesintert. (A): nach 100 s gestoppt, (B): nach 500 s gestoppt (C), (D): nach 1000 s gestoppt.

Zu Beginn der Elektroabscheidung bildeten sich verstreut Kristallisationskeime, welche daraufhin zu wachsen begannen und letztendlich zu diesen Gebilden anwuchsen (A-C). Diese punktuell auftretenden Keime sind ein Anzeichen für eine Passivierung der aktiven Oberfläche, bei nicht passivierten Elektrodenflächen ist die Keimbildung sehr homogen über die gesamte Fläche verteilt. Diese Passivierung musste durch das Sintern erfolgt sein, da folgende Experimente ohne Sinterschritt wesentlich homogenere Abscheidungen ergaben. Es lässt sich vermuten, dass diese Passivierung speziell durch die Art der verwendeten Goldelektroden auftrat, welche unter der Goldschicht eine Haftschiicht aus Chrom besaßen. Diese Schicht lässt sich bei unbehandelten Elektroden von der Rückseite her leicht durch die silberne Farbe erkennen. Nach dem Sintern konnte man diese Schicht nicht mehr sehen: die Rückseite zeigte stets einen goldigen Glanz. Aus diesem Grund wurde vermutet, dass das

Chrom durch die erhöhte Temperatur in das Gold hineindiffundiert war und beim Erreichen der Goldoberfläche mit dem vorhandenen Luftsauerstoff isolierende Chromoxide ausbildete. Diese Passivierung ließe sich durch Verwendung von Elektroden ohne Chromschicht bzw. durch Sintern in einer Sauerstofffreien Atmosphäre verhindern. Dies wurde jedoch nicht näher untersucht, stattdessen wurde der Sinterschritt ganz weggelassen.

Die Versuche ohne Sinterschritt ergaben eine wesentlich homogenere Abscheidung (siehe Abbildung 3-5) und auch Poren mit dem Durchmesser der Templatkolloide konnten ausgemacht werden. Jedoch waren diese Poren ungeordnet, was wiederum eine genaue Kontrolle der aktiven Oberfläche unmöglich machte.



*Abbildung 3-5: Abscheidung porösen Goldes mit einem Porendurchmesser von 620 nm; Templat aus SiO<sub>2</sub> mittels CE hergestellt.*

Zunächst wurde vermutet, dass die Unordnung im porösen System durch die geringe mechanische Stabilität des Templats zustande käme und dass das Gold während des Wachstums durch den Kristall diesen zerstört. Während einer Abscheidung bei konstantem Potential entstehen in der Regel relativ große Kristallite, da während des Abscheidungsprozesses die Konzentration an Metallionen direkt an der Elektrodenoberfläche durch Aufbau der Diffusionsschicht gering ist. Bei geringen Ionenkonzentrationen findet keine Keimbildung mehr statt, so dass die bereits bestehenden Kristallisationskeime wachsen

und somit große Kristallite entstehen. Während dieses Wachstums ist es möglich, dass die wachsenden Kristalle das Templat auseinanderdrücken. Um dies zu verhindern wäre es nötig, die Abscheidung so zu gestalten, dass die Kristalle möglichst klein bleiben, also nanokristalline Metalle entstehen. Dies lässt sich im Allgemeinen über eine gepulste Elektrolyse bewerkstelligen, wobei das Potential nicht konstant gehalten wird, sondern periodisch an- und ausgeschaltet wird (siehe Abbildung 3-6).

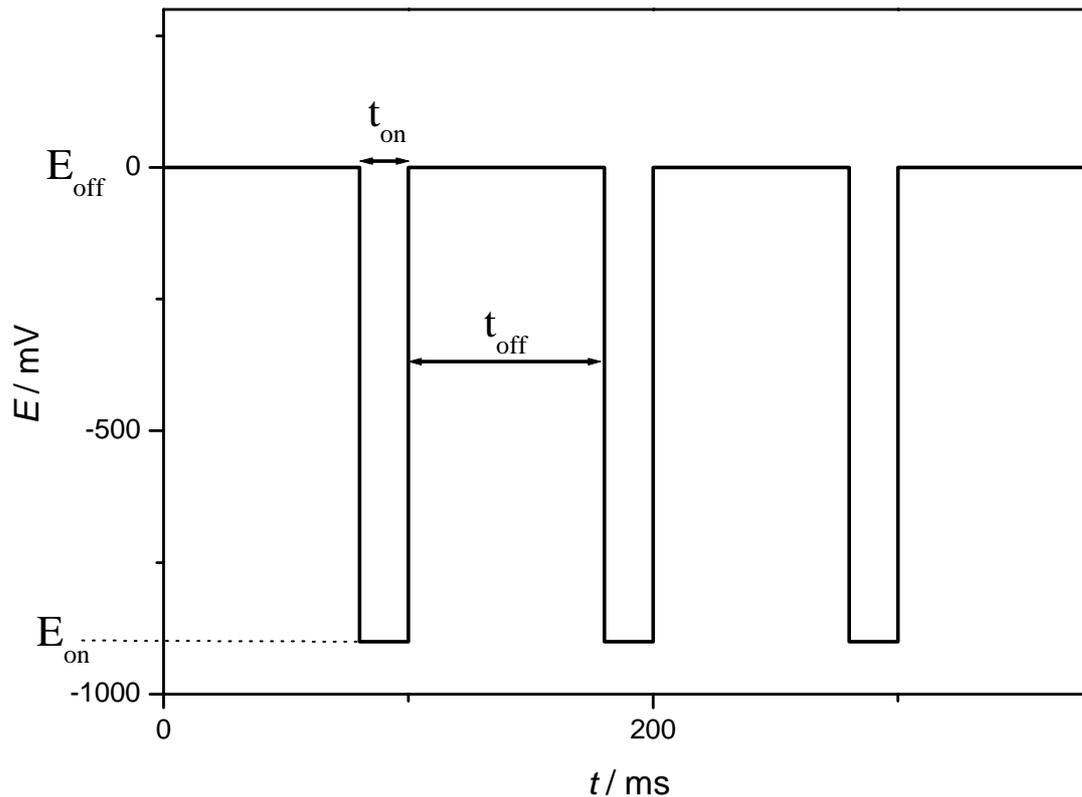


Abbildung 3-6: Prinzip der gepulsten Elektroabscheidung.

Bei dieser Methode treten neben dem Abscheidungspotential und der Abscheidungszeit neue Parameter auf, welche die letztendliche Kristallitgröße entscheidend beeinflussen. So sind die Pulsdauer  $t_{on}$  und die Zeit zwischen den Pulsen  $t_{off}$  dafür verantwortlich, dass die Ionenkonzentration an der Elektrode ständig hoch bleibt. Die Zeit  $t_{on}$  ist so kurz zu wählen, dass die Lösung in der Nähe der Oberfläche nicht total an Metallionen verarmt (einige ms) und während  $t_{off}$ , welche länger gewählt werden sollte, bleibt den Ionen Zeit aus dem Inneren der Lösung durch Diffusion zur Elektrode zu gelangen, so dass im Mittel die Konzentration stets hoch bleibt. Ebenso sind das Pulspotential  $E_{on}$  und das Potential zwischen den Pulsen  $E_{off}$  von großer Wichtigkeit.

Die Goldabscheidungen wurden mit verschiedenen Pulsprofilen versucht, wobei das Pulspotential stets  $-900\text{ mV vs. Ag/AgCl}$  und das Potential zwischen den Pulsen  $0\text{ V}$  betrug. Die verwendeten Pulszeiten  $t_{\text{on}}/t_{\text{off}}$  betragen:  $20\text{ ms}/80\text{ ms}$ ,  $40\text{ ms}/60\text{ ms}$ ,  $20\text{ ms}/30\text{ ms}$  und  $80\text{ ms}/120\text{ ms}$ . Die Gesamtabscheidungszeit (Summe der  $t_{\text{on}}$  während einer Abscheidung) betrug jeweils  $300\text{ s}$ . Wie in Abbildung 3-7 zu sehen ist zeigten die abgeschiedenen Goldschichten weder eine Verbesserung in Bezug auf die Ordnung der Poren, noch konnte eine signifikante Abhängigkeit dieser von den Pulszeiten festgestellt werden. Aus dieser Tatsache wurde geschlossen, dass die mangelnde Ordnung nicht mit der Metallabscheidung zusammenhängt, sondern mit den kolloidalen Kristallen.

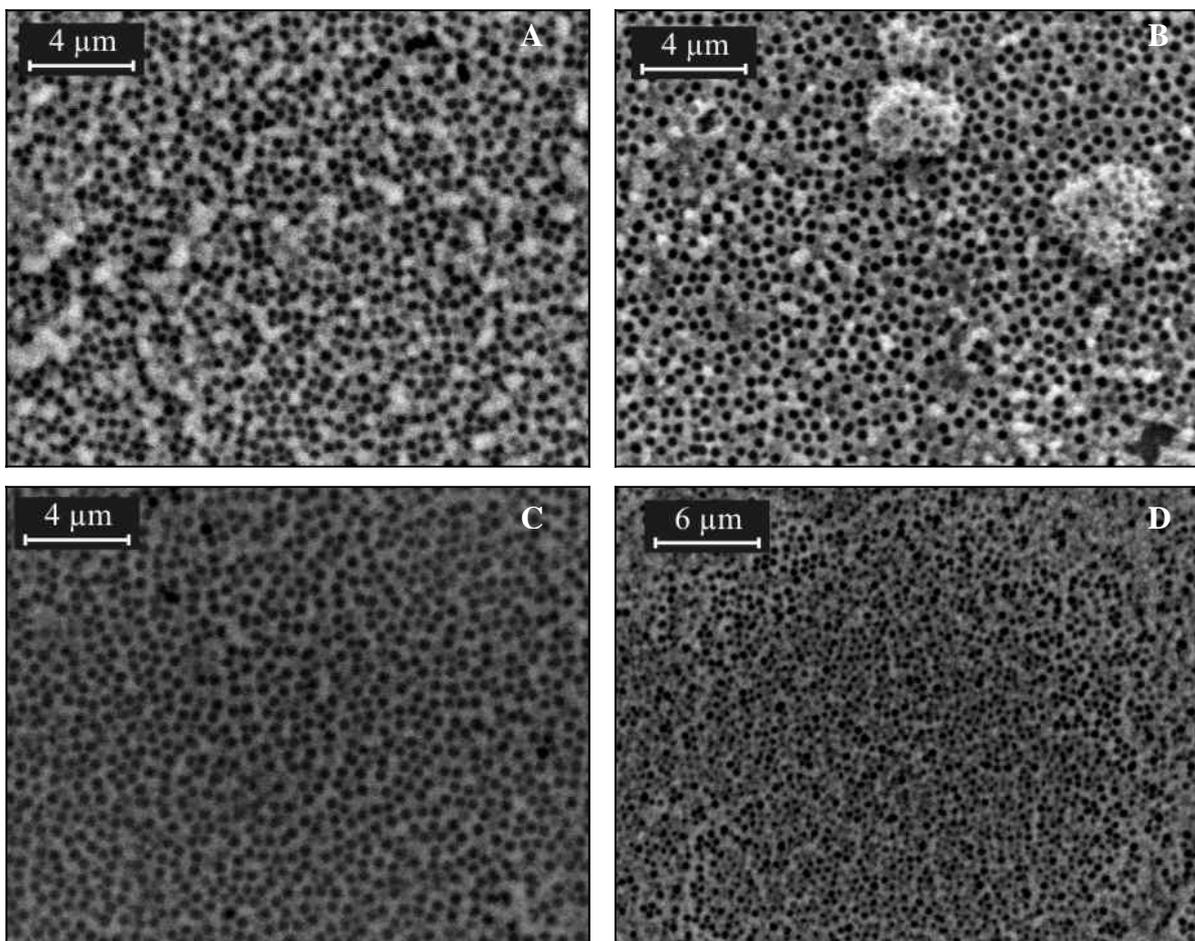


Abbildung 3-7: REM-Aufnahmen von porösem Gold, hergestellt durch PED.

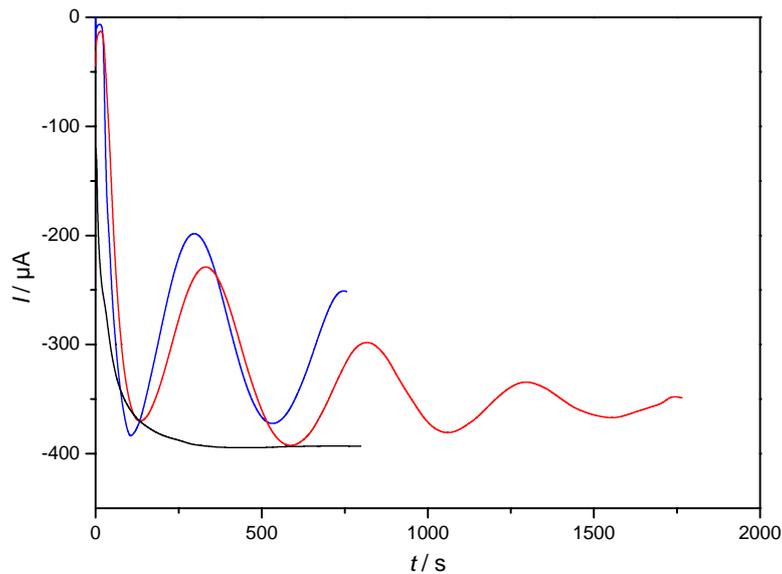
$t_{\text{on}}/t_{\text{off}}$  in ms: (A):  $20/80$ , (B):  $40/60$ , (C):  $20/30$ , (D):  $80/120$ .

Diese Ordnung scheint in den untersten Schichten in der Nähe der Elektrode wesentlich geringer zu sein, als in jenen weiter von der Elektrode entfernt. Diese war ja wie in Abbildung 2-9 auf S. 21 zu sehen sehr gut. Es ist anzunehmen, dass vor dem Eintrocknen der kolloidalen Suspension die Silikapartikel durch ihre hohe Dichte sehr schnell sedimentieren, wobei sie sich direkt auf der Elektrodenoberfläche nicht ordnen können. Aus diesem Grund wurden in der Folge Template verwendet, die nach dem LB- bzw. dem VD-Verfahren hergestellt wurden. Die Kristalle, die durch diese Methoden hergestellt wurden besaßen zum einen eine hohe Ordnung in den unteren Schichten, als auch eine relativ geringe Dicke im Vergleich zu den CE-Kristallen.

### **3.2.2 Goldabscheidung in LB-Kristallen**

Die durch LB hergestellten kolloidalen Kristalle wurden wie im Falle der CE-Kristalle mit einer Maske aus Nagellack bestrichen und ohne jede weitere mechanische Stabilisierung verwendet. Die Elektroabscheidung erfolgte wie mit den CE-Template durch Anlegen eines konstanten Potentials von  $-658$  mV. Eine gepulste Abscheidung wurde nicht durchgeführt, da diese schon bei vorherigen Versuchen keine sichtbare Verbesserung der Qualität der abgeschiedenen Oberflächen erbrachte.

Während der elektrochemischen Abscheidung wurde ein sehr interessanter Stromverlauf gemessen, welcher uns erlaubte die Dicke der abgeschiedenen porösen Schichten direkt und mit hoher Präzision zu kontrollieren. Während des Wachstums des Metalls in den Kristall hinein traten zeitliche Oszillationen des fließenden Reduktionsstromes auf. Die Amplitude dieser Oszillationen betrug fast 50 % des Maximalstromes (ca.  $400 \mu\text{A}$ ), welcher genau dem Strom bei einer Abscheidung auf Gold ohne Templat entsprach (Abbildung 3-8).



**Abbildung 3-8:** Strom-Zeit-Kurve während der potentiostatischen Goldabscheidung in kolloidalen Kristallen (LB) mit einem Kugeldurchmesser von 1100 nm. Abscheidung von 3/2 Kugelschichten: blau, von 7/2 Kugelschichten: rot. Zum Vergleich: Abscheidung auf einer glatten Elektrode (schwarz).

Diese Oszillationen lassen sich durch eine zeitlich oszillierende aktive Oberfläche erklären (Abbildung 3-9). Zu Beginn der Abscheidung berührt jede  $\text{SiO}_2$ -Kugel der ersten Kugelschicht die Elektrodenoberfläche in nur einem Punkt, das heißt die aktive Oberfläche ist näherungsweise gleich der einer Elektrode ohne Templat, der Reduktionsstrom ist maximal (A). Während das Metall in das Templat hineinwächst, wird die von den Kugeln verdrängte Elektrodenfläche stetig größer und die aktive Oberfläche nimmt bis zur Höhe der ersten Halbkugelschicht ab, wo sich die Kugeln gegenseitig berühren. In dieser Höhe ist die aktive Oberfläche minimal, der Strom durchläuft ein Minimum (B). Fährt man mit der Abscheidung fort, so steigt der Abstand der Kugelschnitte auf der Elektrodenoberfläche, die aktive Oberfläche steigt wieder und der Strom durchläuft ein Maximum am Ende der ersten Kugelschicht (C). In der Mitte der zweiten Kugelschicht wiederholt sich die Konformation von B und es folgt wieder ein Minimum. Solche Oszillationen sind schon vorher bei der Ni-Abscheidung durch Opal-ähnliche Strukturen von Yanagida et al. beobachtet worden [80], waren in diesem Fall aber weit weniger ausgeprägt, da vermutlich die Ordnung in den Templaten geringer war.

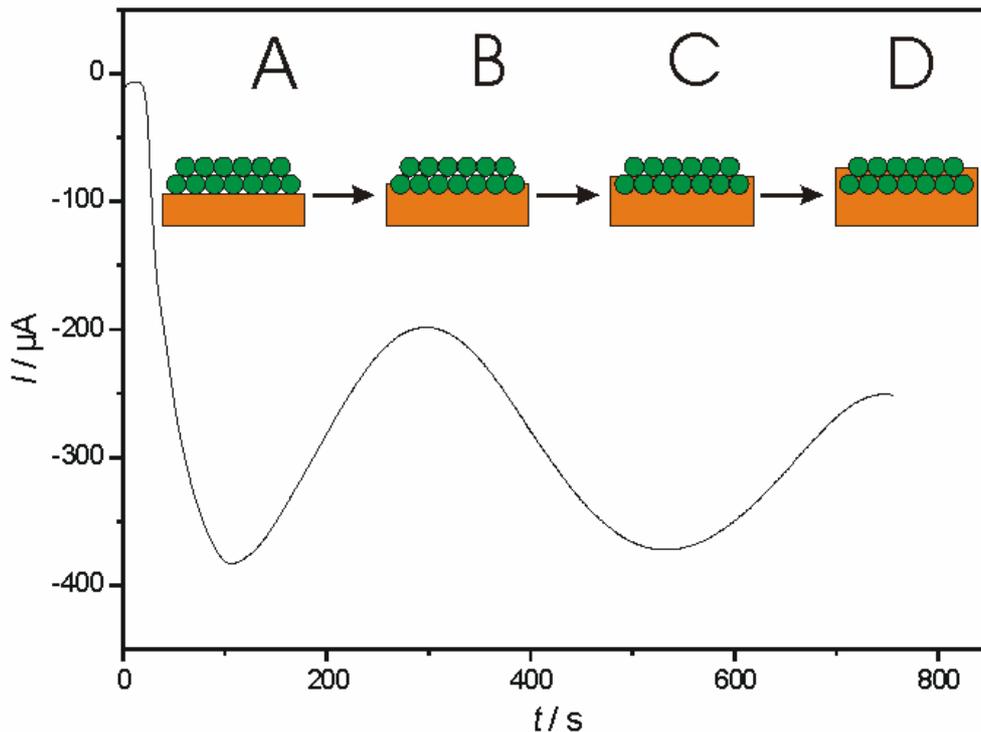


Abbildung 3-9: Veranschaulichung der periodischen Änderung der aktiven Oberfläche und des Stromes während einer Goldabscheidung in einem kolloidalen Kristall.

Die Amplitude dieser Oszillationen klingt allerdings mit der Zeit ab, bis nach etwa 7 Oszillationen ein nahezu konstanter Strom gemessen wird. Dies hängt damit zusammen, dass eine Metallabscheidung nicht vollkommen homogen abläuft. An einigen Stellen befindet sich z.B. das abgeschiedene Metall in der Mitte der dritten Kugelschicht, wobei in anderen Bereichen schon das Ende dieser erreicht ist. Somit mitteln sich mit der Zeit die Oszillationen von verschiedenen Bereichen der Probe gegenseitig heraus, man könnte von Interferenzen lokaler Stromoszillationen sprechen.

Mit Hilfe dieser Oszillationen kann man also genau verfolgen, wo im Templat sich das abgeschiedene Material befindet und die Elektroabscheidung bei der gewünschten Dicke stoppen. Stoppt man in einem Minimum, so erhält man eine geöffnete äußere Pore bei der Dicke von  $\frac{1}{2}$ ,  $1\frac{1}{2}$ ,  $2\frac{1}{2}$  usw. Kugelschichten, stoppt man in einem Maximum, so ist die Porenöffnung der äußersten Schicht minimal bei einer Dicke von 1, 2, 3 usw. Kugelschichten. Somit konnten Elektroden mit porösen Schichten von bis zu  $7\frac{1}{2}$  Porenschichten mit genauer Kontrolle hergestellt werden. Die geordnete kubisch dichteste Struktur dieser porösen Elektroden mit der Dicke von  $\frac{1}{2}$ ,  $1\frac{1}{2}$ ,  $3\frac{1}{2}$  und  $4\frac{1}{2}$  Kugelschichten nach Auflösen des Templats

mittels 5 gew. % HF ist auf den REM- Aufnahmen in Abbildung 3-10 zu sehen. Die Inlays zeigen die jeweiligen Strom-Zeit-Kurven während der Abscheidung.

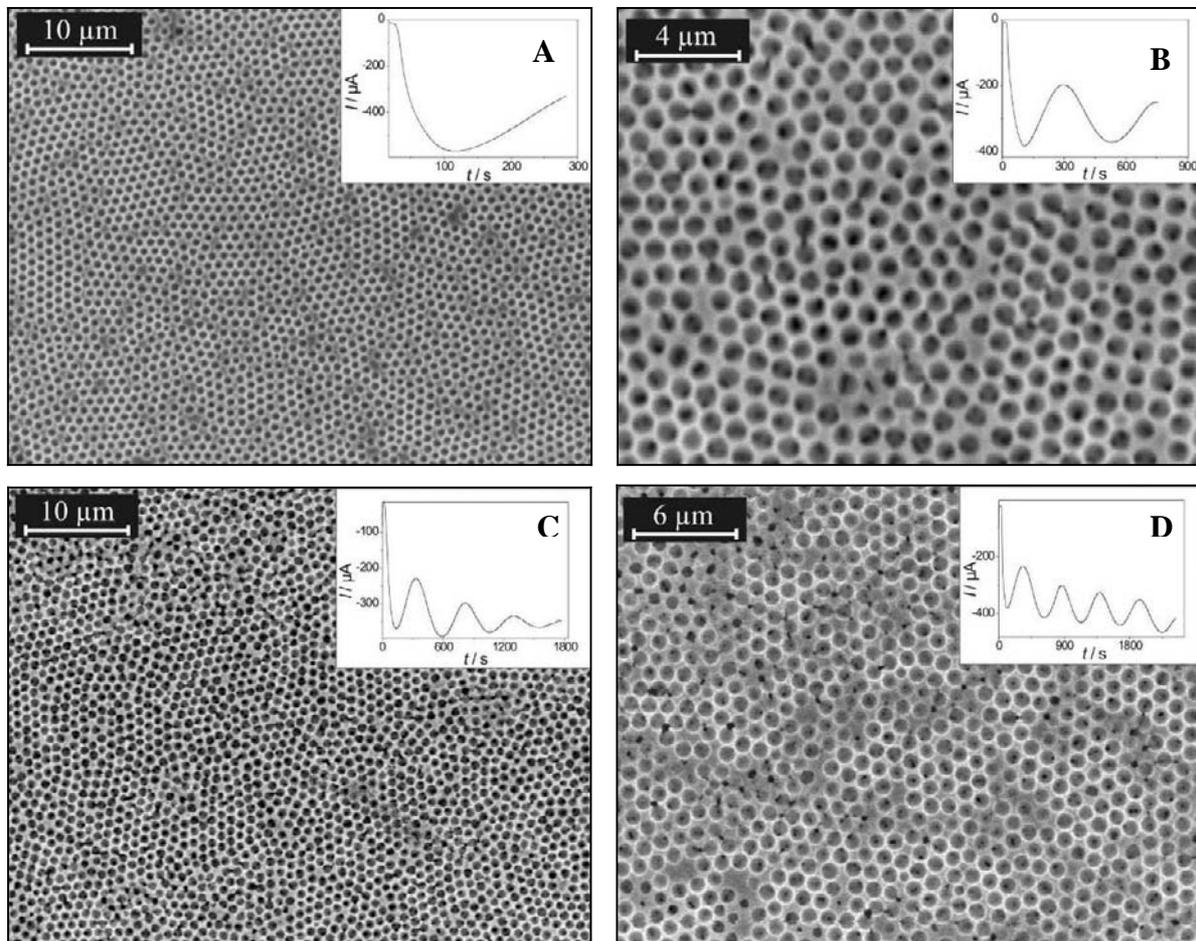


Abbildung 3-10: REM-Aufnahmen makroporöser Goldelektroden mit einem Porendurchmesser von  $d = 1100 \text{ nm}$  mit den dazugehörigen Abscheidungskurven. Dicke der porösen Schichten:  $\frac{1}{2}$  (A),  $1\frac{1}{2}$  (B),  $3\frac{1}{2}$  (C) und  $4\frac{1}{2}$  (D) Kugelschichten.

Die Abscheidungen wurden bei der Herstellung der Elektroden A-C jeweils im ersten, zweiten bzw. vierten Stromminimum gestoppt, so dass geöffnete Poren resultierten. Die Abscheidung von Elektrode D wurde kurz vor dem fünften Minimum angehalten, wodurch die äußerste Porenschicht eine Dicke von weniger als einem Kugelradius aufweist. Die Ordnung in den Proben ist sehr hoch und die Oberfläche ist sehr einheitlich. Die hohe Ordnung der Poren zeigt sich, vor allem bei relativ dünnen Schichten wie  $\frac{1}{2}$  oder  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten, schon mit dem bloßen Auge durch die deutliche Opaleszenz (Abbildung 3-11). Bei dickeren Substraten lässt sich diese nicht erkennen, da die Absorption

des eingestrahlten Lichtes bei dicken Schichten im Vergleich zur Bragg-Reflexion eine dominantere Stellung einnimmt.

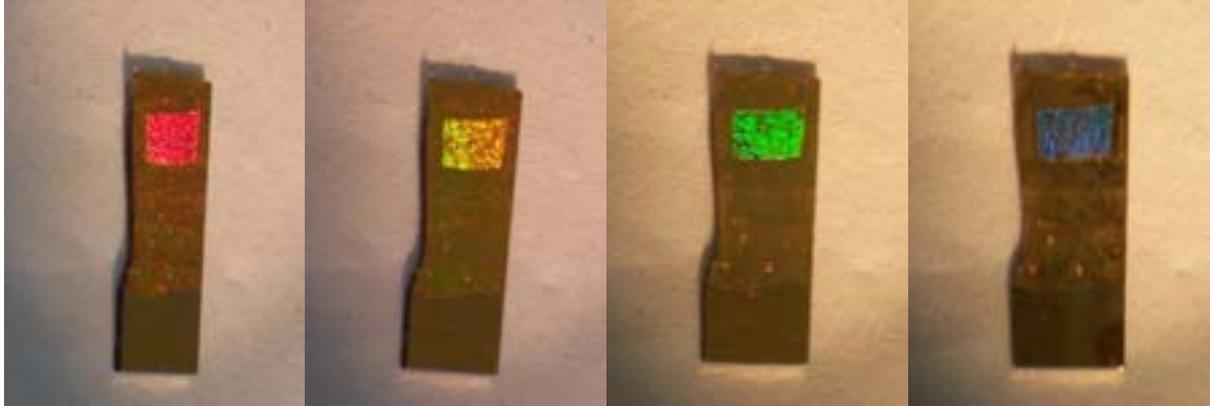


Abbildung 3-11: Photographien einer makroporösen Goldelektrode mit einem Porendurchmesser von  $d = 680 \text{ nm}$  und einer Dicke von  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht. Aufgenommen in Sonnenlicht unter verschiedenen Winkeln.

Der Durchmesser der Poren entspricht exakt dem der verwendeten Kolloide und alle Poren scheinen untereinander durch kleine Kanäle, welche aus den Berührungspunkten der Kolloide im Templat resultieren, verbunden zu sein, was sich in Abbildung 3-10 B durch jeweils drei dunkle Punkte in den Poren erkennen lässt. Es handelt sich also um echte poröse Proben, was vor allem für die noch später in dieser Arbeit behandelten katalytischen Eigenschaften von großer Wichtigkeit ist.

Um die Genauigkeit der Kontrolle über die Dicke der abgeschieden Schichten zu illustrieren wurden Schnittbilder der Proben aufgenommen. Hierzu wurden die Elektroden direkt in einem Rasterelektronenmikroskop mit FIB-Einsatz mittels eines fokussierten Ga-Ionenstrahls geschnitten und direkt danach eine REM-Aufnahme in einem Winkel von  $52^\circ$  zu diesem Schnitt aufgenommen (Abbildung 3-12). Hierzu musste die Probe zunächst lokal mit einer Pt-Schutzschicht bedampft werden, damit die während des Schneidens entstehende Wärme leichter abtransportiert und die Probe somit nicht aufgeschmolzen wird.

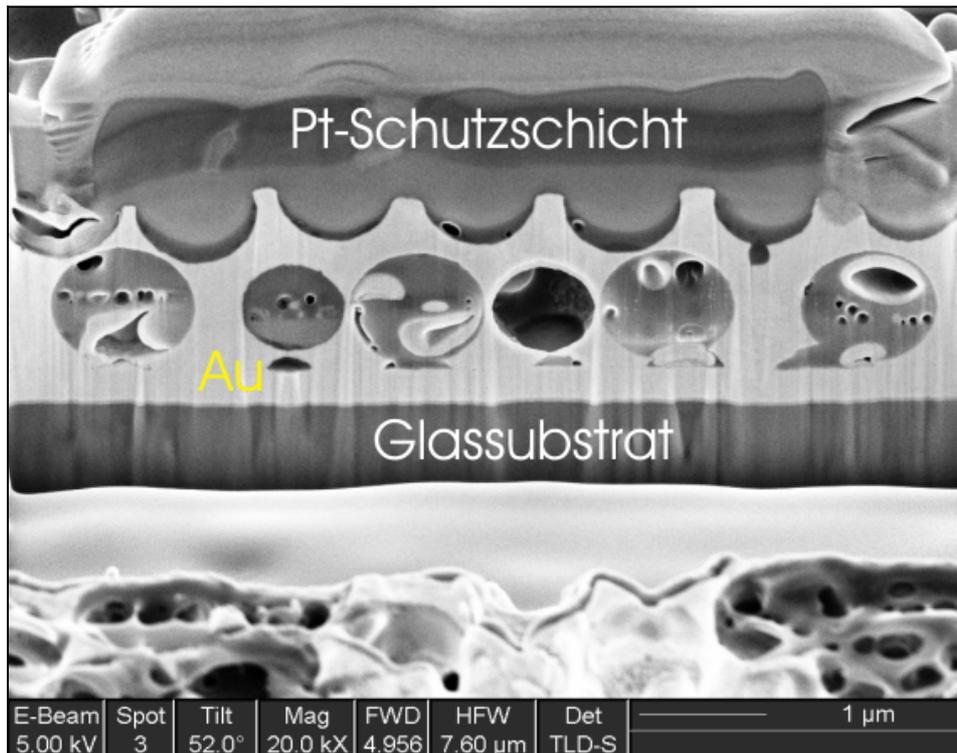
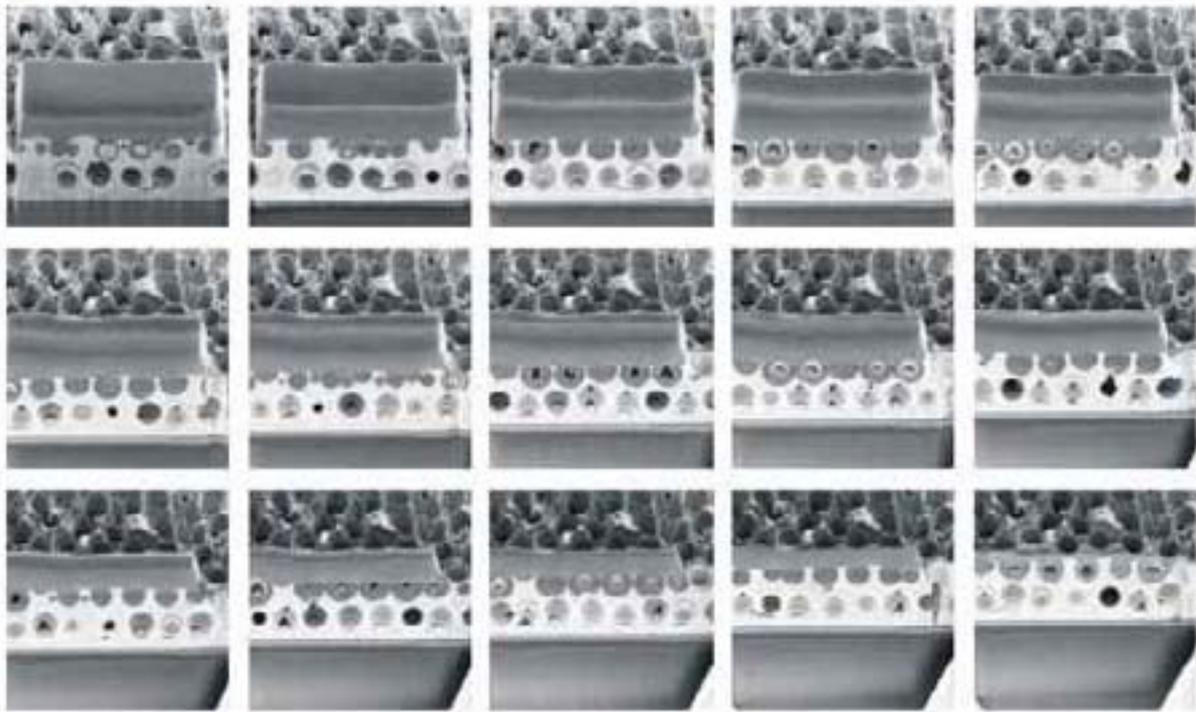


Abbildung 3-12: Schnittbild einer makroporösen Elektrode mit dem Porendurchmesser von 1100 nm und einer Schichtdicke von  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Wie in der Abbildung zu sehen ist gelang es tatsächlich die Elektroabscheidung in der Mitte der zweiten Kugelschicht anzuhalten und somit eine poröse Schicht der Dicke von  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten herzustellen. Die uneinheitliche Größe der sphärischen Poren kommt dadurch zustande, dass der Schnitt nicht vollkommen parallel zur Kugelkette erfolgte bzw. dass die Kugeln teilweise etwas versetzt angeordnet waren. Da während des Schneidens mit dem Gationenstrahl das Material verdampft wurde, fand teilweise Wiederabscheidung des verdampften Materials statt, wodurch die Poren so wirken als seien sie gefüllt.

Mithilfe dieser Schnittbilder konnte die genaue dreidimensionale Struktur des mesoporösen Goldes rekonstruiert werden. Hierzu wurden mittels FIB Serien von 75 Schnitten angefertigt, wobei der Abstand zwischen den Schnitten 50 nm betrug (Abbildung 3-13). Geschnitten wurde 4 µm tief in das Material hinein, die Breite der geschnittenen Zone betrug 10 µm.



*Abbildung 3-13: Serie von Schnitten in poröses Au, Porendurchmesser  $d = 1100 \text{ nm}$ , Dicke der porösen Schicht:  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten; die REM-Aufnahmen zeigen jeweils den 5., 10., 15. usw. Schnitt.*

Die Aufnahmen der einzelnen Schnitte wurden mittels der Software Amira (Mercury Computer Systems) zu einer dreidimensionalen Struktur zusammengefügt, so dass sowohl verschiedene planare Projektionen durch das Material (Abbildung 3-14), als auch die dreidimensionale Struktur aus verschiedenen Perspektiven abgebildet werden konnte (Abbildung 3-15).

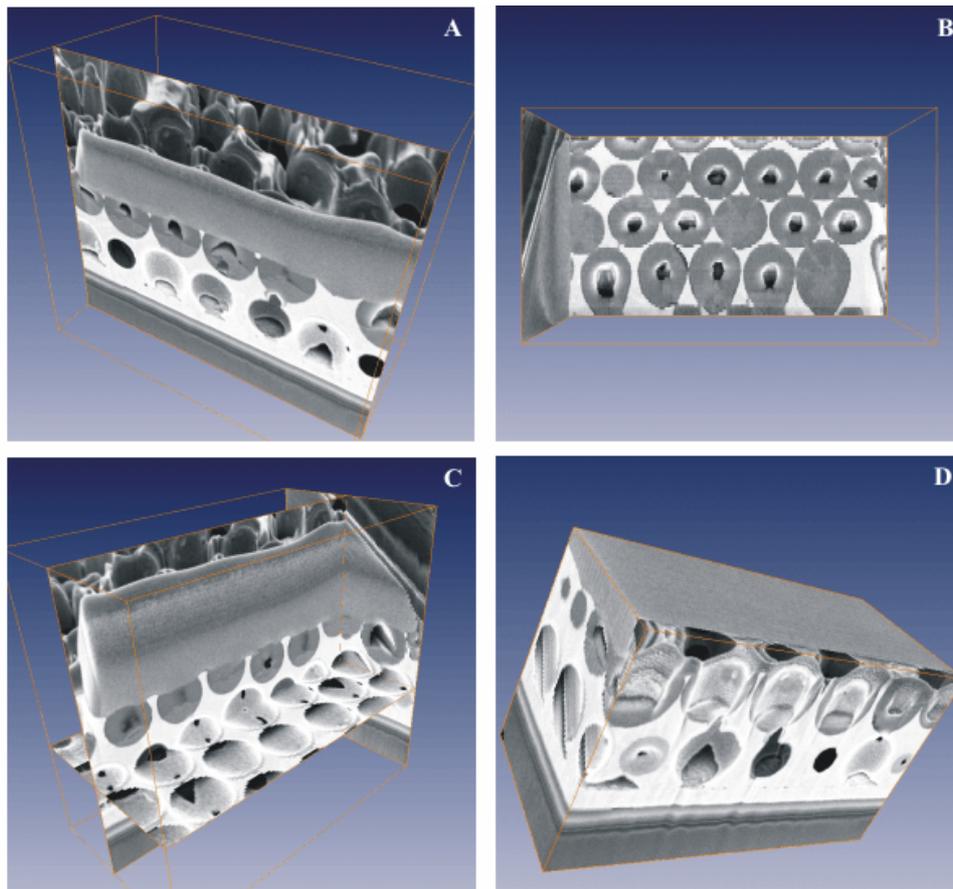


Abbildung 3-14: Projektionen von Flächen innerhalb der dreidimensionalen Struktur; (A): originales Schnittbild, (B): Projektion der  $xy$ -Ebene in der Höhe von  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten, (C): und (D): Kombination aus drei Projektionen ( $xy$ -,  $xz$ - und  $yz$ -Ebene).

Auf den Projektionen lässt sich gut erkennen, dass die Struktur in alle drei Raumrichtungen sehr hoch geordnet ist. Leichte Verzerrungen der sphärischen Poren resultieren durch elektronisches Aufladen der Probe während der REM-Aufnahme, wodurch sich der Fokuspunkt des Elektronenstrahls leicht verschiebt und die Poren somit als nicht ganz kugelförmig wirken.

Die Auflösung der Rekonstruktionen ist sowohl durch die laterale Auflösung des REM, als auch durch den Abstand zweier Schnitte bestimmt. Die Voxel-Größe (dreidimensionale Pixel) der Aufnahmen beträgt  $7 \times 9 \times 50$  nm. Mithilfe dieser Rekonstruktionen der dreidimensionalen Struktur kann man sehen, dass alle Poren über Kanäle miteinander verbunden sind.

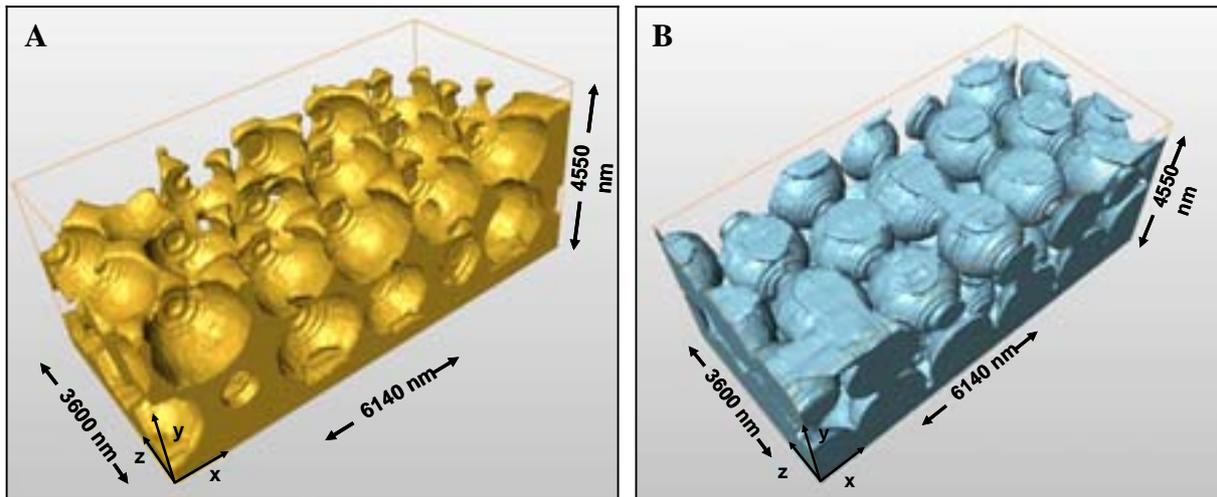


Abbildung 3-15: Rekonstruktion der dreidimensionalen Struktur einer makroporösen Goldprobe mit einem Porendurchmesser von 1100 nm aus verschiedenen Perspektiven. (A): Rekonstruktion des Goldvolumens, (B): Rekonstruktion des Porenvolumens.

Die Durchmesser der Verbindungskanäle, als auch die Dicke der Stege zwischen den Poren lassen sich ebenfalls anhand dieser Rekonstruktionen ermitteln. Die Verteilungen der Durchmesser der Verbindungskanäle sind in Abbildung 3-16 dargestellt. Der mittlere Durchmesser der Verbindungskanäle beträgt ca. 300 nm, was etwa 25 % des Porendurchmessers entspricht und 250 nm für die Dicke der Stege.

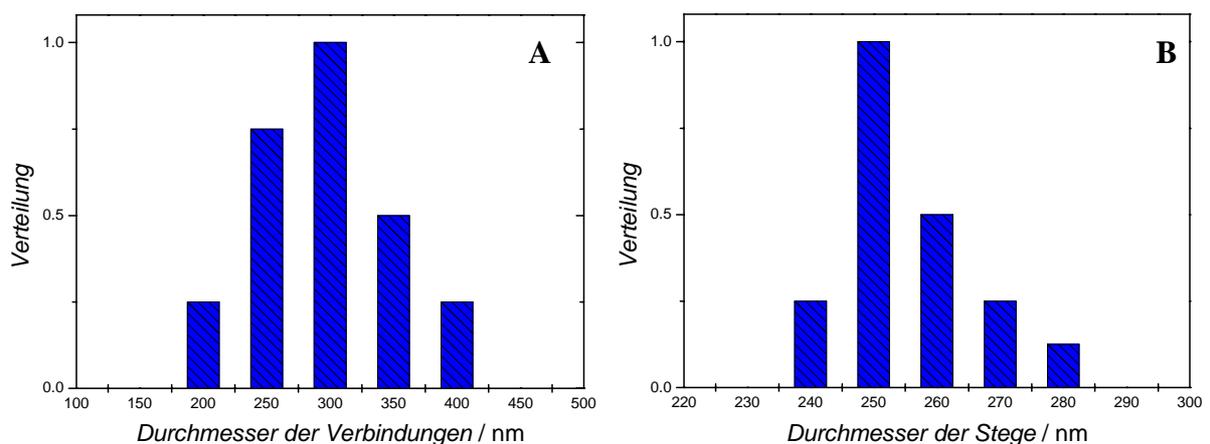


Abbildung 3-16: Verteilungen der Durchmesser der Verbindungskanäle (A) und der Stege zwischen den sphärischen Poren (B).

Eine weitere Methode, um die Präzision der Schichtdickenkontrolle zu zeigen, ist die Rasterkraftmikroskopie (AFM). Diese wurde im Tapping-Mode an einer Probe mit  $\frac{1}{2}$  Kugelschichten porösen Goldes durchgeführt. Mithilfe dieser Methode ist es zum einen möglich die Topographie der Probe, ähnlich der REM, darzustellen (Abbildung 3-17) als auch Rauigkeiten und Tiefen von auf der Probe befindlichen Vertiefungen bzw. Poren zu bestimmen. Aus der AFM-Aufnahme wurde ein Höhenprofil erstellt und aus diesem die Porentiefe ermittelt, wobei ein Wert von 585 nm gemessen wurde. Die theoretische Tiefe sollte für  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht die Hälfte des Durchmessers betragen, also 550 nm. Der gemessene Wert unterscheidet sich also um weniger als 10 % von diesem und es lässt sich somit mit einem Fehler von weniger als 10 % die Dicke der porösen Schicht einstellen.

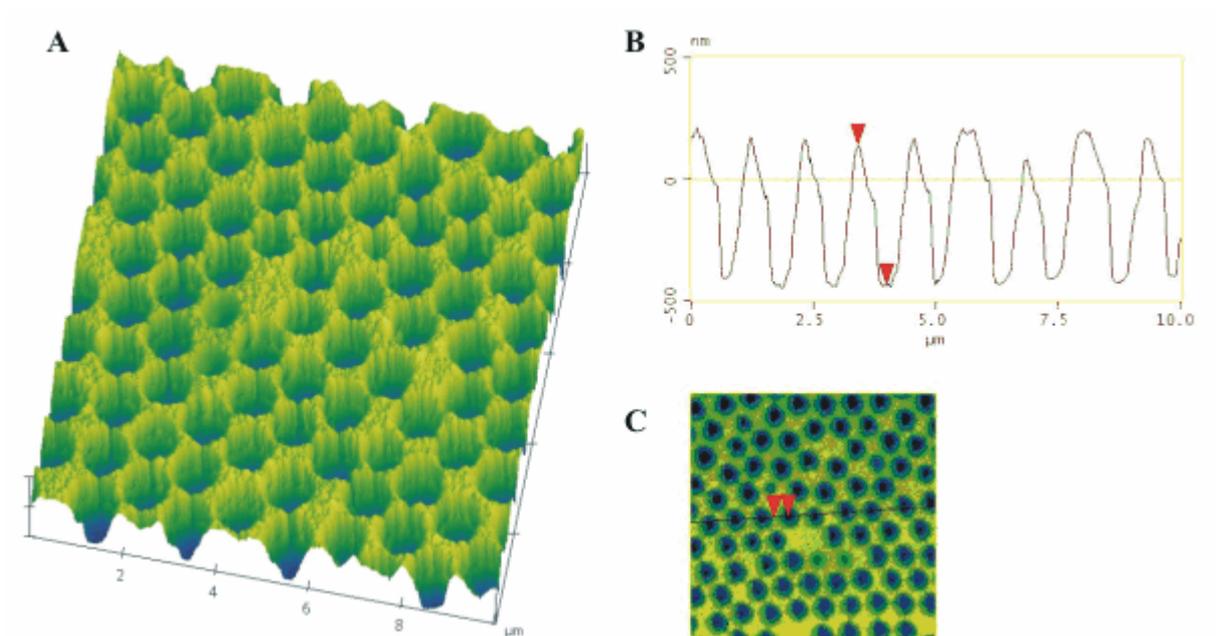


Abbildung 3-17: AFM-Aufnahme zur Verdeutlichung der Topographie und der Porentiefe einer makroporösen Goldelektrode mit dem Porendurchmesser von 1100 nm und einer Schichtdicke von  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten. (A): 3- dimensionale Darstellung der Topographie, (B): Höhenprofil auf der in der Topographieabbildung (C) gelegten Linie.

Neben der Dicke der porösen Schichten lässt sich der Durchmesser der Poren durch Wahl der Kolloide einstellen. Der Durchmesser der Poren entspricht dabei genau dem Durchmesser der Templatkugeln. Somit konnten im Rahmen dieser Arbeit geordnet makroporöse Elektroden

mit Porendurchmessern von 460 nm, 680 nm, 1100 nm, und 1400 nm hergestellt werden (Abbildung 3-18).

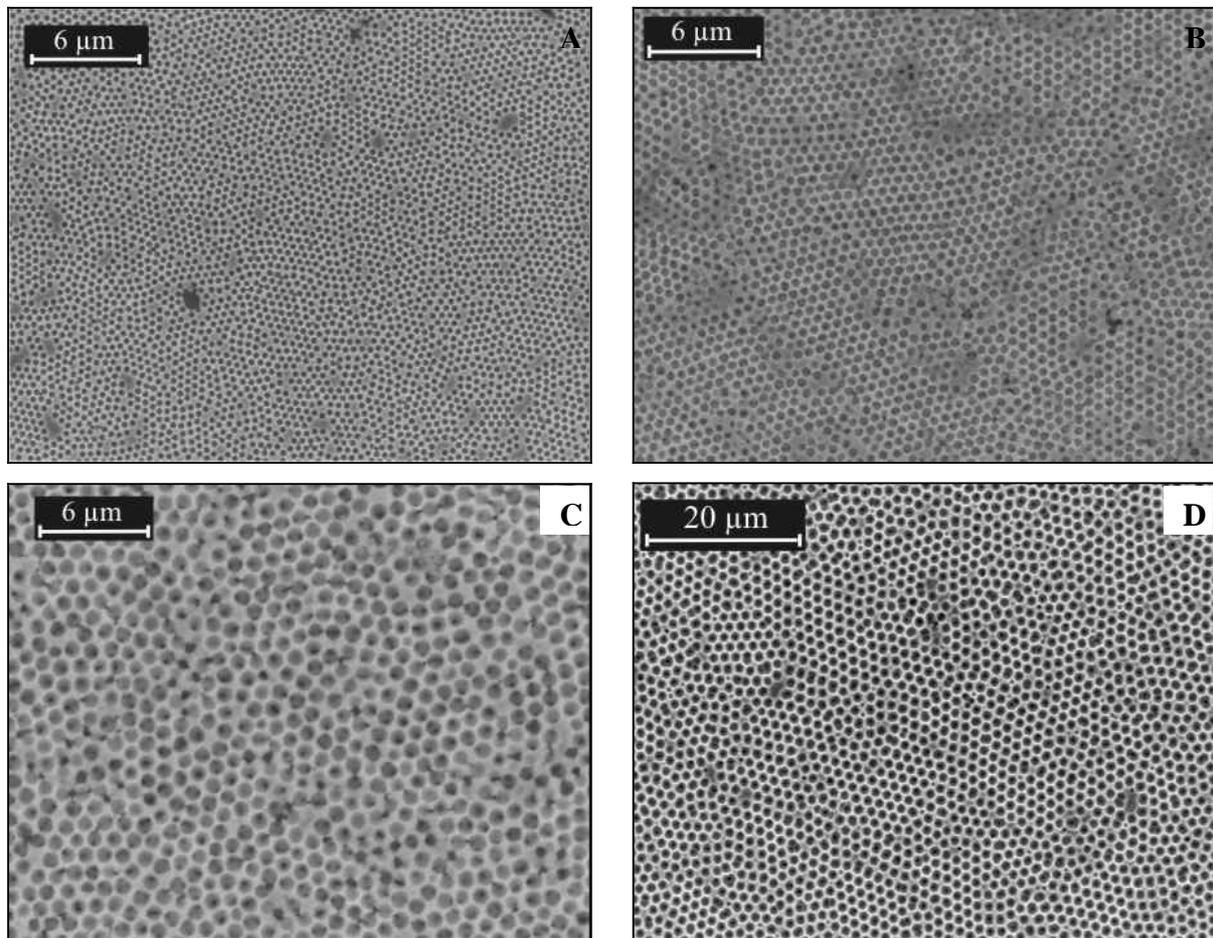


Abbildung 3-18: REM-Aufnahmen makroporöser Goldelektroden mit unterschiedlichen Porendurchmessern. (A):  $d = 460 \text{ nm}$ , (B):  $d = 680 \text{ nm}$ , (C):  $d = 1100 \text{ nm}$ , (D):  $d = 1400 \text{ nm}$ .

Sowohl für kleine als auch für große Poren können Elektroden mit einem hohen Grad an Ordnung hergestellt werden. Während der Synthesen dieser Elektroden konnten wiederum oszillierende Reduktionsströme beobachtet werden, wobei die Periode direkt vom Durchmesser der verwendeten Templatkugeln abhängt (Abbildung 3-19). Dies ist leicht verständlich, da bei einem größeren Teilchendurchmesser eine größere Menge Gold abgeschieden werden muss, damit die Wachstumsgrenze die Mitte der ersten Halbkugelschicht erreicht. Dies benötigt mehr Zeit als für eine Abscheidung in einem Templat mit kleinen Kugeln und somit ist die Periode für große Kugeln länger als für kleine.

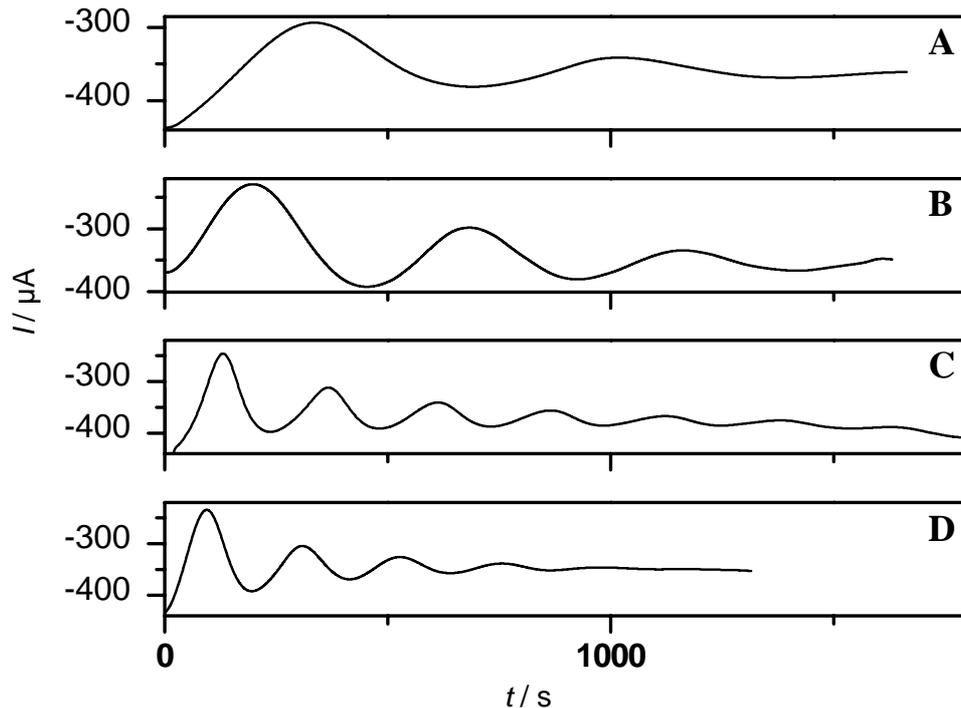


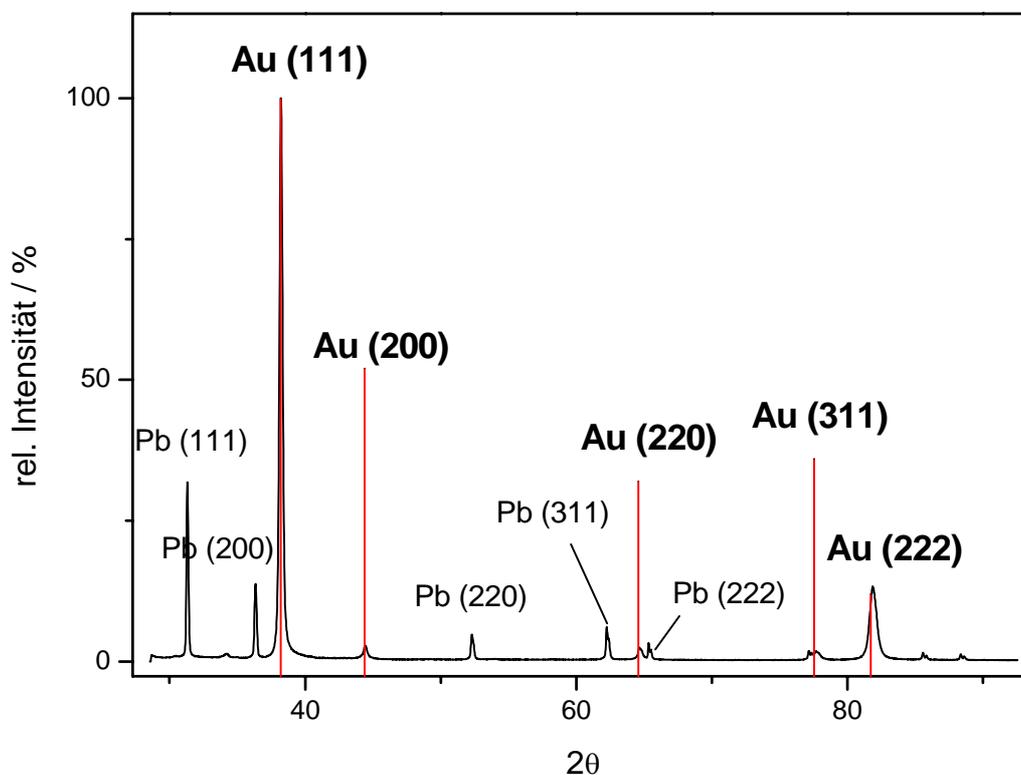
Abbildung 3-19: Strom-Zeit-Kurven der Metallabscheidungen in Templaten mit unterschiedlichen Kugeldurchmessern. (A): 1400 nm, (B): 1100 nm, (C): 680 nm, (D): 460 nm.

Wie im Falle der durch LB hergestellten kolloidalen Kristalle sollten NIR-Spektren der makroporösen Elektroden aufgenommen werden. Da Gold, im Gegensatz zu  $\text{SiO}_2$  und Glas, nicht transparent ist konnten, die Spektren nicht in Transmission gemessen werden und so mussten die Messungen in gerichteter Reflexion aufgenommen werden. Jedoch war stets durch die hohe Absorption des Goldes die gemessenen Reflexionsintensitäten sehr gering, so dass der optische Strahl vermutlich nur sehr wenig in die Proben eindrang. Aus diesem Grund konnten keine spezifischen Bragg-Peaks beobachtet werden, da diese im Untergrundrauschen verschwanden.

Des Weiteren wurde untersucht, ob die Verwendung eines Templats Einfluss auf die Kristallitgröße des abgeschiedenen Goldes besitzt. Hierzu wurden Röntgendiffraktogramme sowohl von makroporösen Proben, als auch von glattem Gold, aufgenommen und diese mittels der Scherrer-Formel ausgewertet. Diese Formel gibt einen Zusammenhang zwischen der Peakverbreiterung im Diffraktogramm und der mittleren Säulenlänge in den Kristalliten wieder. Somit lässt sich mit ihr die Kristallitgröße abschätzen.

$$FWHM = \frac{K \cdot \lambda}{L \cdot \cos \theta} \quad (3-1)$$

Hierbei ist  $FWHM$  die Halbwertsbreite des ausgewerteten Peaks bei halber Maximumsintensität,  $L$  die mittlere Säulenlänge, was dem mittleren Teilchendurchmesser entspricht,  $\lambda$  die Wellenlänge der verwendeten Röntgenstrahlung und  $\theta$  der Streuwinkel.  $K$  ist ein dimensionsloser, strukturabhängiger Faktor. Er nimmt in kubischen Systemen den Wert  $K = 0.94$  an. Da nur die poröse Zone der Proben, nicht aber das sie umgebende Elektrodenmaterial vermessen werden sollte, war es nötig die Proben mit einer dünnen Bleimaske zu versehen, wobei nur die porösen Bereiche mit dem Röntgenstrahl bestrahlt wurden. Aus diesem Grund lassen sich in den Diffraktogrammen neben den Reflexen des Au ( $38.19^\circ$ : 111,  $44.19^\circ$ : 200,  $64.58^\circ$ : 220,  $77.55^\circ$ : 311,  $81.72^\circ$ : 222) ebenfalls Pb-Reflexe erkennen. Die Intensität dieser Au-Reflexe stimmte dabei nicht mit der Theorie überein, sowohl der (111)- als auch der (222)- Reflex wiesen eine zu hohe relative Intensität auf. Dies hängt offensichtlich mit einer Textur zu Gunsten dieser Kristallebenen zusammen, was bei elektrochemisch abgeschiedenen Metallen häufig vorkommt.



**Abbildung 3-20:** Röntgendiffraktogramm einer makroporösen Goldprobe mit einem Porendurchmesser von  $d = 460$  nm und einer Dicke von  $1\frac{1}{2}$  Porenschichten.

Zur Auswertung der Kristallitgröße wurde ausschließlich der (111)-Reflex verwendet, da dieser die größte Intensität aufwies. Durch Ausmessen der Halbwertsbreite und Mithilfe des Streuwinkels von  $\theta = 19.1^\circ$  konnten die mittleren Kristallitgrößen berechnet werden. Hierbei ergab sich sowohl für die porösen, als auch für die glatten Proben eine Säulenlänge von etwa 30 nm. Die Porosität und auch das Templat hat somit keinen signifikanten Einfluss auf diese Größe.

Das Templatverfahren in Verbindung mit der Langmuir-Blodgett-Technik und der elektrochemischen Metallabscheidung stellen somit ein hervorragendes Verfahren da, um hoch geordnete Elektroden unter genauer Kontrolle des Porendurchmessers und der Schichtdicke herzustellen. Der einzige Nachteil dieser Prozedur war es, dass mit der äußerst gesundheitsgefährlichen und korrosiven Fluorwasserstoffsäure gearbeitet werden musste. Dies stellt besonders ein Problem für die in Kapitel 7 behandelten Arbeiten dar, bei denen poröses Gold auf Zn-Schichten abgeschieden wurde. Da Fluorwasserstoffsäure auch in geringen Konzentrationen Zn innerhalb weniger Sekunden aufzulösen vermag, mussten für dieses Projekt Latexkolloide anstelle der nur von dieser Säure zersetzbaren  $\text{SiO}_2$ -Kolloide verwendet werden. Da es nicht gelang durch das LB-Verfahren Latex-Kristalle bzw. durch das CE-Verfahren solche mit kontrollierbarer Dicke herzustellen, wurden für diesen Teil VD-Kristalle verwendet um poröses Gold zu erhalten.

### **3.2.3 Goldabscheidung in VD-Kristallen**

Die VD-Substrate, welche für die Goldabscheidung verwendet wurden, hatten eine Dicke von 5 Kugelschichten, wurden ebenfalls mit einer Maske aus Nagellack isoliert und dann in das Abscheidungsbad eingetaucht. Wie schon im Falle der sehr dicken CE-Templates aus Polystyrolkugeln waren diese Kristalle sehr hydrophob, so dass trotz der geringen Dicke das Templat erst nach einigen Stunden vollständig mit der Goldlösung vollgesogen war. Aus diesem Grund wurden die Substrate vor der Goldabscheidung 12h in dem Elektrolyten belassen. Im Falle kürzerer Eintauchzeiten waren die erhaltenen Abscheidungen sehr lokal und uneinheitlich.

Während der Goldabscheidung in den Kristallen konnten wie im Falle der LB-Templates Oszillationen im zeitlichen Stromverlauf festgestellt werden. Diese besaßen jedoch eine weitaus kleinere Amplitude (ca. 25 % des Gesamtstromes), was vermutlich auf eine höhere Defektdichte zurückzuführen ist (siehe Abbildung 3-21).

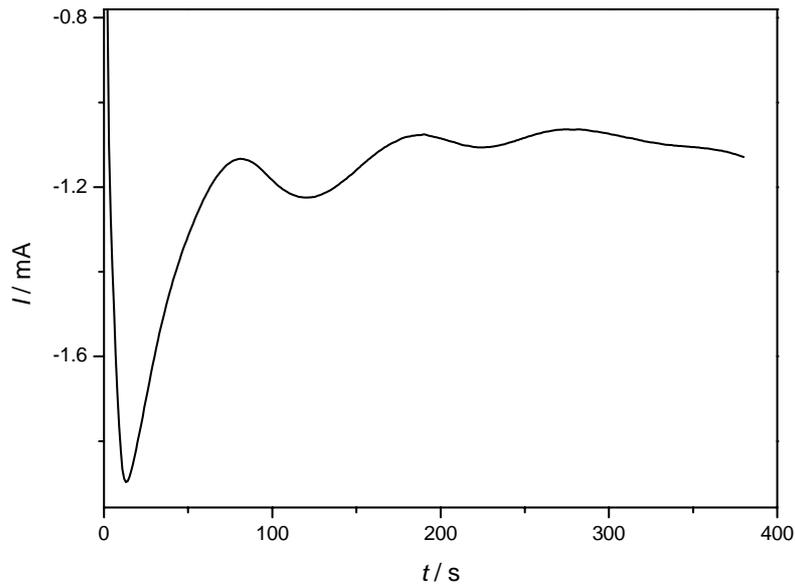


Abbildung 3-21: Strom-Zeit-Kurve während der potentiostatischen Goldabscheidung in kolloidalen Kristallen (VD) mit einem Kugeldurchmesser von 320 nm. Dicke der Abscheidung:  $3\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Nach fünfzehnminütigem Behandeln der Proben mit THF wurde poröses Gold erhalten. Diese Proben besaßen eine hohe Dichte an Defekten, welche durch Risse im Templat zustande kommen. Die defektfreien Bereiche der Proben jedoch sind nahezu perfekt geordnet (Abbildung 3-22)

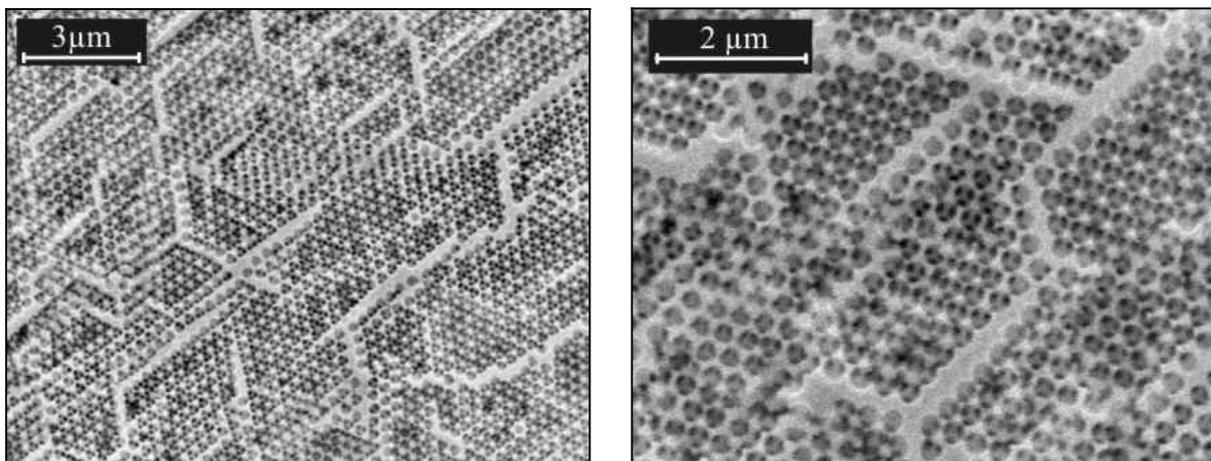
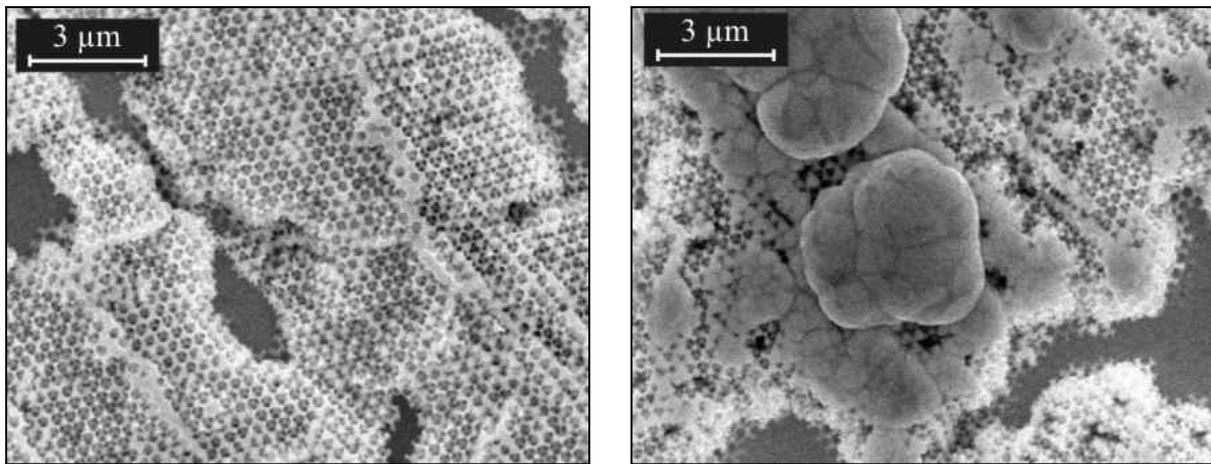


Abbildung 3-22: REM-Aufnahmen einer makroporösen Goldelektrode mit einem Porendurchmesser von  $d = 320$  nm.

Jedoch gelang es nicht, vollkommen einheitliche poröse Elektroden herzustellen. Auf den Proben ließen sich stets kleine Bereiche finden, auf denen sich gar kein Gold abgeschieden hatte bzw. Bereiche, auf denen sich das Gold durch das Vorhandensein von Defekten schneller abschied und somit aus dem Kristall heraus wuchs (siehe Abbildung 3-23). Diese Unregelmäßigkeiten in der Abscheidung traten jedoch hauptsächlich bei Elektroden auf, die vor der Goldabscheidung zu kurze Zeit in den Goldelektrolyten getaucht wurden. Bei einer Eintauchzeit von 12 h traten diese zwar immer noch auf, jedoch in einer sehr geringen Dichte.



*Abbildung 3-23: Unregelmäßige Abscheidung bei zu kurzen Eintauchzeiten der templatmodifizierten Elektroden in den Goldelektrolyten.*

Da die Kontrolle der Schichtdicke bei dieser Methode schwieriger ist als bei der Verwendung von LB-Substraten und das abgeschiedene poröse Gold im Vergleich relativ uneinheitlich war, wurden diese Methode nur angewandt, wenn ein Arbeiten mit Silikatemplaten, wie im Falle der in Kapitel 7 beschriebenen Abscheidung auf Zn, nicht möglich war. Somit wurden für die Charakterisierung der katalytischen Eigenschaften vornehmlich mittels LB-Templaten hergestellte poröse Elektroden verwendet.

### 3.2.4 Abscheidung von porösem Platin und Palladium

Für verschiedene Anwendungen, vor allem für katalytische, sind Elektroden aus Platin und Palladium sehr interessant. Aus diesem Grund wurden poröse Elektroden aus diesen Metallen hergestellt und auf ihre Eigenschaften in Bezug auf die Wasserstoffreduktion charakterisiert. Die Synthese erfolgte analog zur Abscheidung des porösen Goldes. Als Abscheidungsbad wurden einfache Metallsalzlösungen von  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  bzw.  $(\text{NH}_4)_2\text{PdCl}_4$  verwendet und, wie von Bartlett et al. [79] beschrieben, die Metalle bei Potentialen von +142 mV bzw. +292 mV in Bezug auf Ag/AgCl, abgeschieden. Trotz Fehlen jeglicher oberflächenaktiver Substanzen, welche eine glatte Abscheidung ermöglichen, konnten in den Strom-Zeit-Kurven während der Abscheidung Stromoszillationen beobachtet werden (Abbildung 3-24).

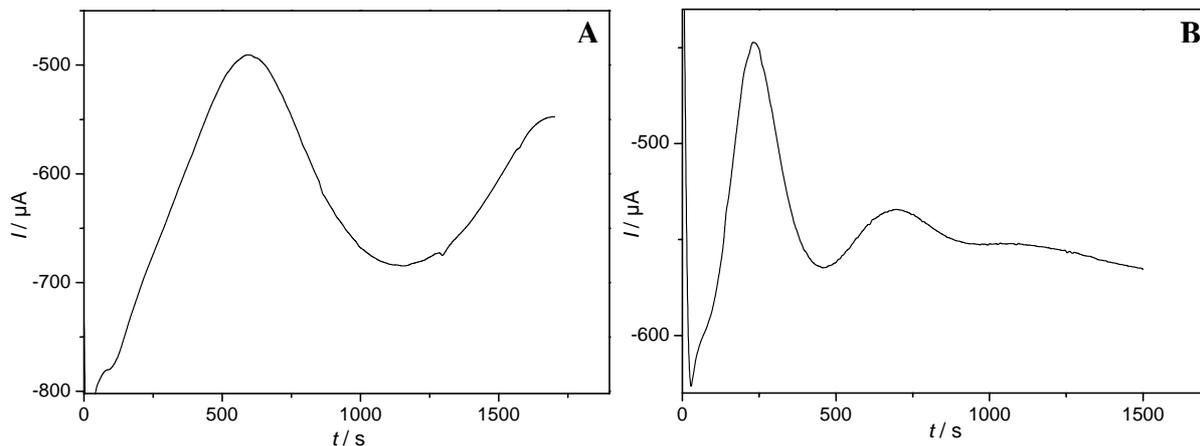


Abbildung 3-24: Oszillationen in den Strom-Zeit-Kurven bei der Abscheidung von Pt (A) und Pd (B) in Templaten.  $\text{SiO}_2$ ,  $d = 460 \text{ nm}$ .

Die Amplitude der Oszillationen betrug nur etwa 15- 25 % des Maximalstromes, was mit einer weniger glatten Abscheidung im Vergleich zu Gold zu erklären ist. Da im Goldabscheidungsbad verschiedene oberflächenaktive Substanzen und Glanzbildner wie z.B.  $\text{As}_2\text{O}_3$  vorhanden waren, besaßen die erhaltenen Elektroden stets eine sehr glatte und einheitliche Oberfläche. Im Falle von Pt und insbesondere von Pd, für die nur einfache Salzlösungen verwendet wurden, waren diese sehr rau und grobkörnig (Abbildung 3-25).

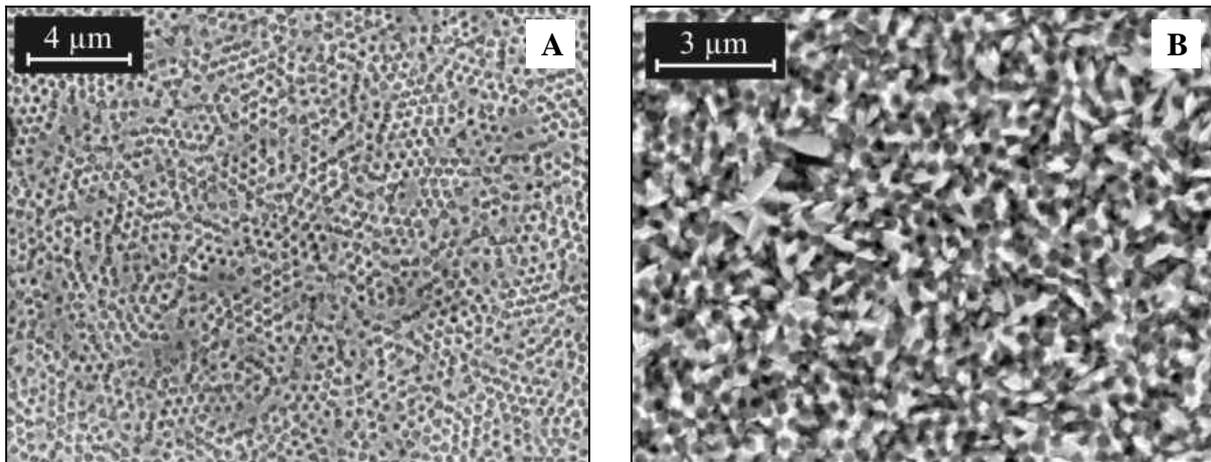


Abbildung 3-25: REM-Aufnahmen von porösem Pt (A) und porösem Pd (B).  $d = 460 \text{ nm}$ , Dicke:  $1\frac{1}{2}$  bzw.  $3\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Da es möglich war verschiedene makroporöse Metalle durch die Templatsynthese herzustellen, konnten auch unterschiedliche Materialien nacheinander in ein und demselben Material abgeschieden werden. So wurden Elektroden hergestellt, die in den unteren porösen Schichten aus Au, in den oberen aus Pt bzw. Pd bestanden (Schema siehe Abbildung 3-26).

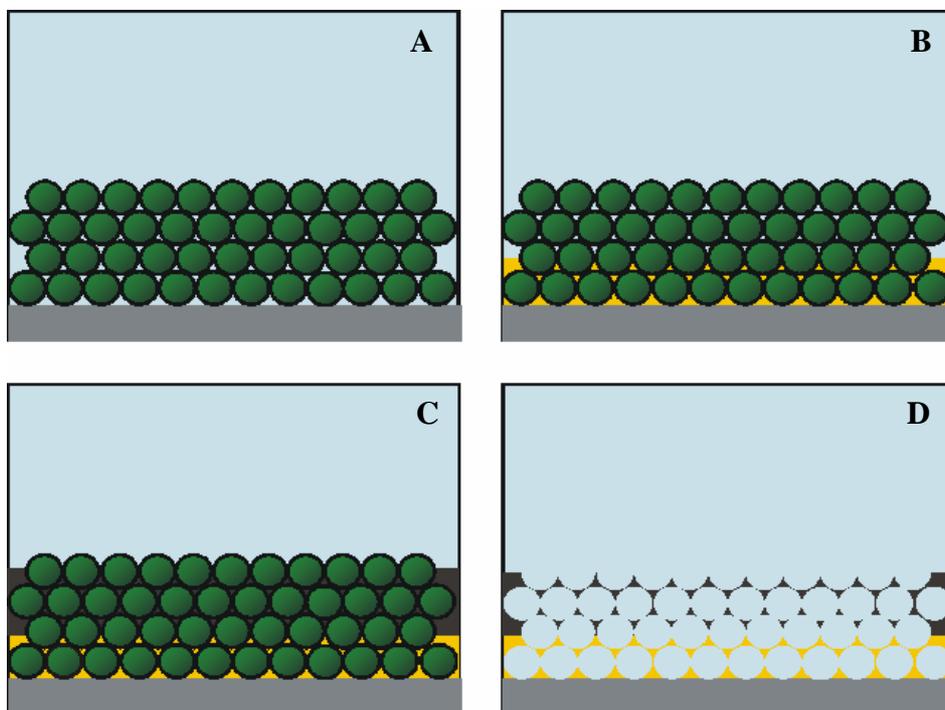


Abbildung 3-26: Schematische Darstellung der Abscheidung von porösem Platin auf porösem Gold. Grau: Substrat, grün: Templatkolloide, orange: Gold, schwarz: Platin/Palladium.

Während der Abscheidung konnten allerdings nur für das untere Material Oszillationen beobachtet werden, für das darauf abgeschiedene Pt bzw. Pd musste somit die Dicke über die geflossene Ladung kontrolliert werden (Abbildung 3-27).

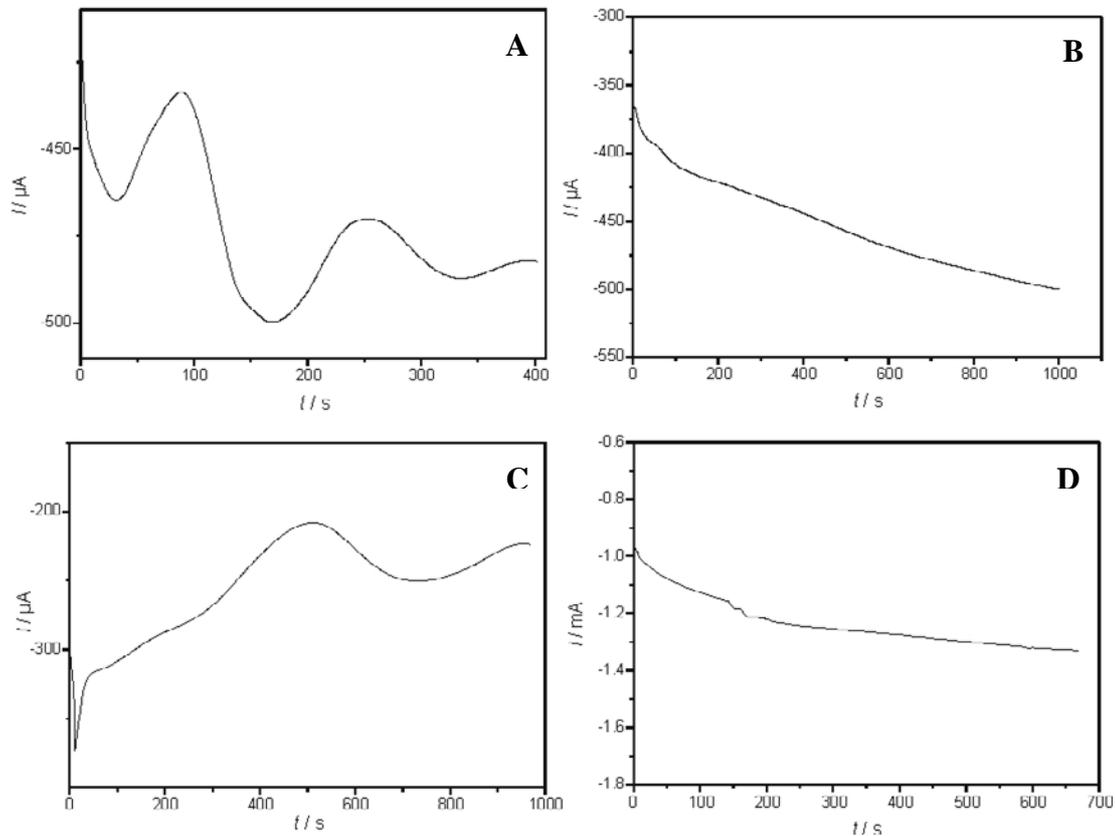
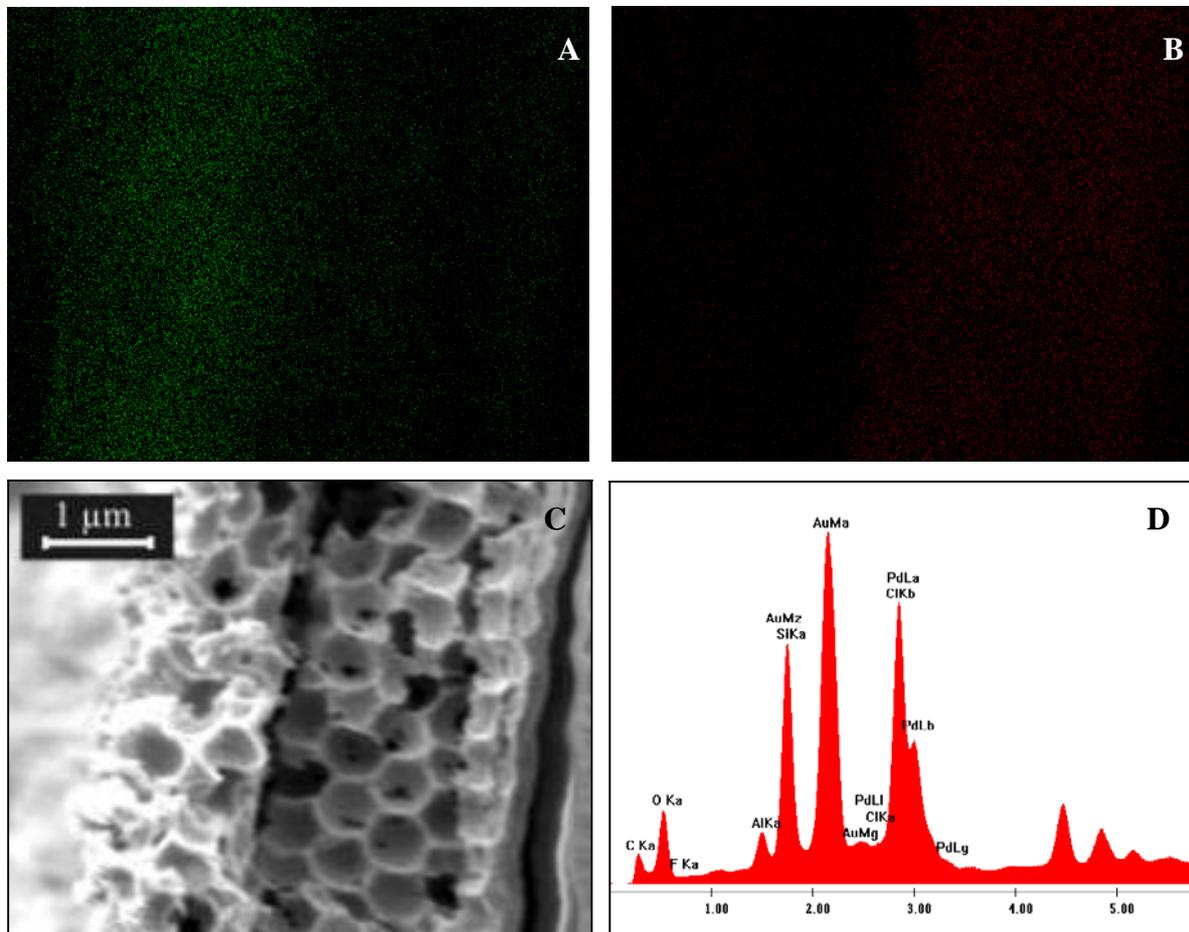


Abbildung 3-27: Strom-Zeit-Kurven bei der Abscheidung von Platin (B) auf Gold (A) und Palladium (D) auf Gold (C) in einem Templat aus Silikakugeln,  $d = 460 \text{ nm}$ .

Die somit erhaltenen Proben wurden mittels einer Kombination aus REM und energiedispersiver Röntgenfluoreszenzanalyse (EDX) charakterisiert. Über EDX wurden somit kartographisch die Elementverteilungen auf den REM-Aufnahmen ermittelt (element mapping). Im Falle der Au/Pt-Elektroden konnte jedoch kein Kontrast zwischen den Elementen gemessen werden, da die Ordnungszahlen dieser Elemente sehr ähnlich sind und somit die beiden Fluoreszenzpeaks (Au  $M_{\alpha}$ : 2.122 eV, Pt  $M_{\alpha}$ : 2.050 eV) überlappen. Im Falle von makroporösem Au/Pd tritt jedoch ein deutlicher Kontrast zwischen den beiden Elementen auf, wodurch man Bereiche aus Au von Bereichen aus Pd unterscheiden kann. Wie im EDX-Spektrum (Abbildung 3-28 D) zu sehen ist, sind die Au  $M_{\alpha}$ -Linie und die Pd  $L_{\alpha}$ -Linie (2.838 eV) voneinander getrennt, eine Differenz von 0.716 eV ist bei dieser Methode groß

genug um einen ausreichenden Kontrast zu erhalten. In Abbildung 3-28 sind in Aufnahme A die palladiumreichen Partien grün, in Aufnahme B die goldreichen rot hervorgehoben. Zur besseren Veranschaulichung ist in C die REM-Aufnahme desselben Ausschnitts im Sekundärelektronenmodus gezeigt. Die 4 Porenschichten auf der rechten Seite bestehen aus Au, die 2½ auf der linken aus Pd. Zwischen beiden Bereichen lässt sich deutlich eine Grenzschicht erkennen. Diese Experimente beweisen also, dass es möglich ist, verschiedene Metalle nacheinander schichtweise in einem Kolloidtemplat abzuscheiden und somit schichtartig aufgebaute poröse Elektroden zu erhalten. Solche Substrate würden es ermöglichen Elektroden in horizontaler Richtung mit unterschiedlichen Katalysatoren zu modifizieren, was vor allem für enzymatische Kaskadenreaktionen von Interesse wäre.



**Abbildung 3-28:** Elementmapping einer Probe aus 2½ Kugelschichten makroporösem Pd auf 4 Kugelschichten makroporösem Au,  $d = 460$  nm. (A) Detektion der PdL-Linie, (B) AuM-Linie, (C) REM-Aufnahme im Sekundärelektronenmodus, (D) EDX-Spektrum dieses Ausschnittes.

## Kapitel 4: Verbesserung der Ordnung durch Vorstrukturierung

Vor allem für die Anwendung als Photonische Kristalle ist es wichtig, die Defektdichte in inversen Opalen reproduzierbar kontrollieren zu können. Idealerweise müssen dabei defektfreie Einkristalle erzeugt werden, die hervorragende photonische Eigenschaften aufweisen sollten. Dazu ist es nötig eine definierte Vorzugsorientierung in die Template einzubringen. Dies kann man z.B. durch eine Vorstrukturierung der Substratoberfläche verwirklichen. Dieses Ziel konnte für kolloidale Kristalle schon durch Kumacheva et al. und Xia et al. durch Aufbringen linienförmiger [99, 100] Strukturen mit geeigneter Periodizität auf ein Substrat und anschließender Kristallisation von Kolloiden erreicht werden. Die so erzeugten kolloidalen Kristalle wiesen eine weitaus höhere Fernordnung auf als solche, die auf glatten Substraten gebildet wurden. Dabei setzten sich die Kolloidpartikel vorzugsweise in die durch Laserinterferenz-Strukturierung erzeugten Gräben (Abbildung 4-1).



Abbildung 4-1: Prinzip der Verbesserung der Ordnung durch Vorstrukturierung der Substrate.

Dies ist ebenso mit hexagonal angeordneten Vertiefungen möglich, wie von Bartlett et al. gezeigt werden konnte [101]. In diesem Kapitel soll nun eine Methode beschrieben werden um in ähnlicher Art und Weise kolloidale Kristalle durch das LB-Verfahren auf vorstrukturierten Substraten zu erzeugen und aus diesen inverse Opale mit einer verbesserten Fernordnung zu erhalten. Hierzu wurden zunächst parallele Linien mittels direkter Laserinterferenz-Strukturierung in Polymersubstrate (PPP = Mischung aus Polyester, PET und PETP; 5 mm; Goodfellow) eingebrannt. Dieses Verfahren beruht auf einer von Mücklich et al. entwickelten Methode [102, 103].

Die Kontrolle des Linienabstandes erfolgte hierbei über Weißlichtinterferometrie, wobei zum genauen Einstellen des gewünschten Linienabstands der Winkel zwischen den Strahlen gegebenenfalls vorsichtig geändert wurde. Der optimale Abstand beträgt hierbei  $(3/4)^{1/2} \cdot d$ . Für

Teilchengrößen von  $d = 1100$  nm bzw.  $1400$  nm ergab dies Werte von  $950$  nm bzw.  $1200$  nm, wobei dies etwa den kleinsten durch dieses Verfahren erzeugbaren Linienabständen entspricht. Zur Erzeugung solcher Muster war pro Substrat durch die hohe Laserleistung jeweils nur ein einziger Puls nötig. Die Strahlungsleistung wurde von  $190$ -  $350$  mW variiert, wobei die besten Ergebnisse für  $250$ -  $350$  mW erzielt werden konnten. Um die Oberflächen der vorstrukturierten Proben zu verdeutlichen, ist in Abbildung 4-2 ein Weißlichtinterferogramm eines Substrates mit einem Linienabstand von  $2200$  nm gezeigt, was dem doppelten Linienabstand der kleineren Teilchen entspricht. Die so erzeugten Strukturen besaßen eine Tiefe von  $230$  nm.

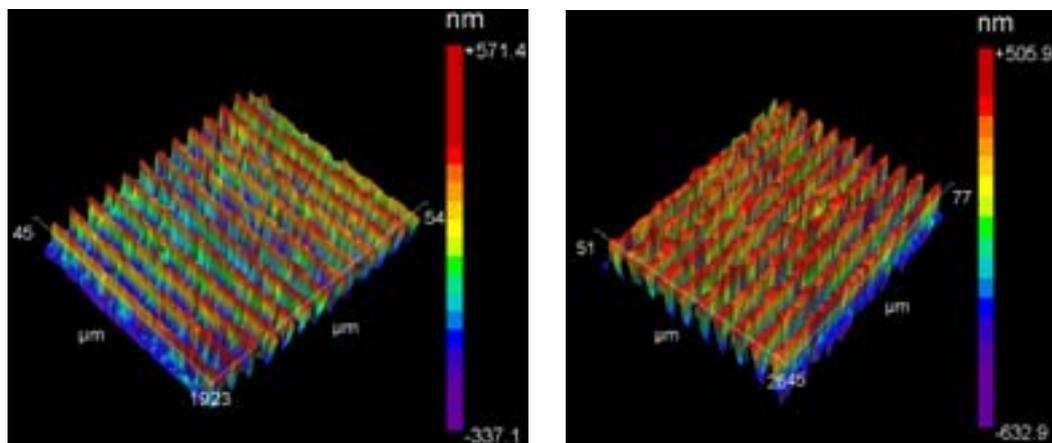
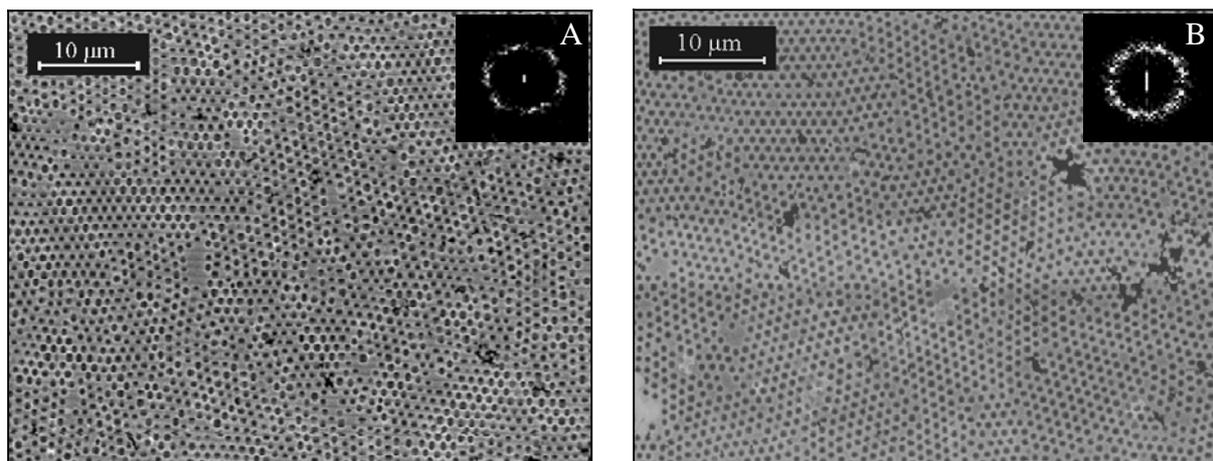


Abbildung 4-2: Weisslichtinterferogramme einer vorstrukturierten PPP-Probe mit einem Linienabstand  $2200$  nm.

Die so strukturierten Polymersubstrate wurden daraufhin  $10$  min mit Gold besputtert ( $43$  mA bei  $8 \cdot 10^{-2}$  mbar) um eine leitfähige Oberfläche zu erhalten. Die Dicke der abgeschiedenen Goldschichten sollte laut Hersteller der Sputteranlage (Balzers Union) unter diesen Bedingungen etwa  $100$  nm betragen. Wie im Falle der glatten Goldelektroden erfolgte eine Hydrophilisierung dieser Substrate durch Modifizierung mit Cysteamin. Danach wurden kolloidale Kristalle mit der Dicke von einer bzw. zwei Kugelschichten auf diesen Elektroden über das LB-Verfahren abgeschieden. Nach Begrenzen der geometrischen Elektrodenfläche mit einem Lackfilm erfolgte das Füllen der Kristallzwischenräume analog zu den nicht-strukturierten Proben durch elektrochemische Abscheidung mit Gold und nachfolgendem Auflösen der Kugeln mittels  $5$  Gew. % HF. Während des Aufstreichens des Lackes wurde hierbei darauf geachtet, dass sowohl strukturierte als auch nicht-strukturierte Zonen der

Proben mit dem Elektrolyten in Kontakt standen. Hierdurch wurde ermöglicht, dass unterschiedliche Bereiche auf ein und derselben Probe vorhanden waren, was einen Vergleich wesentlich erleichterte. Während der Elektroabscheidung konnte die Dicke anhand auftretender Stromoszillationen kontrolliert werden. In Abbildung 4-3 ist eine Probe mit einem Porendurchmesser von 1100 nm gezeigt, wobei die Dicke der porösen Schicht  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht betrug. Auf der Aufnahme A ist die strukturierte Zone abgebildet, Aufnahme B zeigt eine nicht-strukturierte Zone. Die beiden Insets zeigen jeweils die Fourier-Transformationen der Abbildungen, die einerseits die zu erwartenden Streubilder widerspiegeln, zum anderen als Maß für die Ordnung zwischen den Poren verwendet werden können. Durch die vielen Defekte und den relativ geringen Ausschnitt der Abbildungen zeigen die Fourier-Transformationen relativ unscharfe und verschwommene Muster. Was jedoch deutlich zu sehen ist, ist dass in Aufnahme A die hexagonale Struktur wesentlich deutlicher ausgeprägt ist, das Muster also viel schärfere Reflexe zeigt. Im Gegensatz dazu besitzt das Streubild in Aufnahme B eine fast kreisförmige Form, was damit zusammenhängt, dass es keine Vorzugsorientierung wie auf den strukturierten Zonen gibt und somit die einzelnen Kristalldomänen gegeneinander verdreht sind. Dies lässt sich auch mit bloßem Auge erkennen, so sieht man in Aufnahme A vom Betrachter aus horizontal angeordnete Ketten von Halbporenschichten, die Orientierung der gesamten Probe vorgeben. Im Falle B sind hingegen unterschiedliche Orientierungen der einzelnen Kristallite zu erkennen.



*Abbildung 4-3: REM-Aufnahmen einer vorstrukturierten Goldelektrode mit makroporösem Gold,  $d = 1100$  nm,  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht. (A): strukturierte Zone, (B): nicht-strukturierte Zone. Die Insets zeigen jeweils die Fourier-transformierten Aufnahmen.*

Diese Vorzugsorientierung lässt sich dadurch erklären, dass sich die Kolloidkugeln vornehmlich in die „Gräben“ der Vorstrukturierung setzen, die Position auf einem „Grat“ ist im Vergleich dazu wesentlich ungünstiger. Dieses Verhalten wurde durch FIB-Tomographie näher betrachtet. Hierzu wurde eine Serie von FIB-Schnitten anhand einer vorstrukturierten Probe durchgeführt. Der Abstand zwischen den einzelnen Schnitten betrug hierbei 50 nm. Die Rekonstruktion der 3D-Struktur aus den REM-Aufnahmen dieser Schnitte ist in Abbildung 4-4 dargestellt.

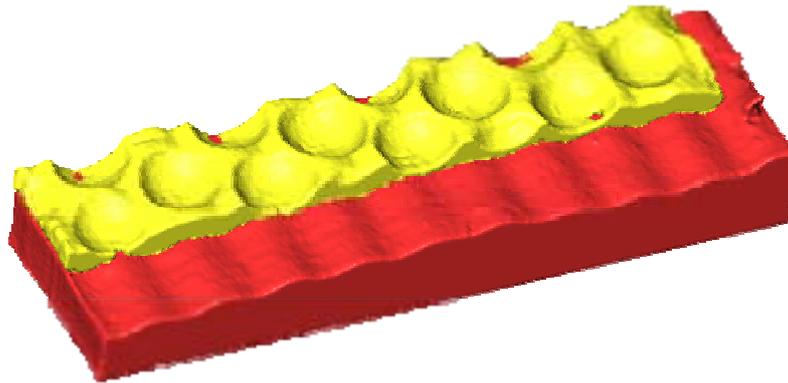


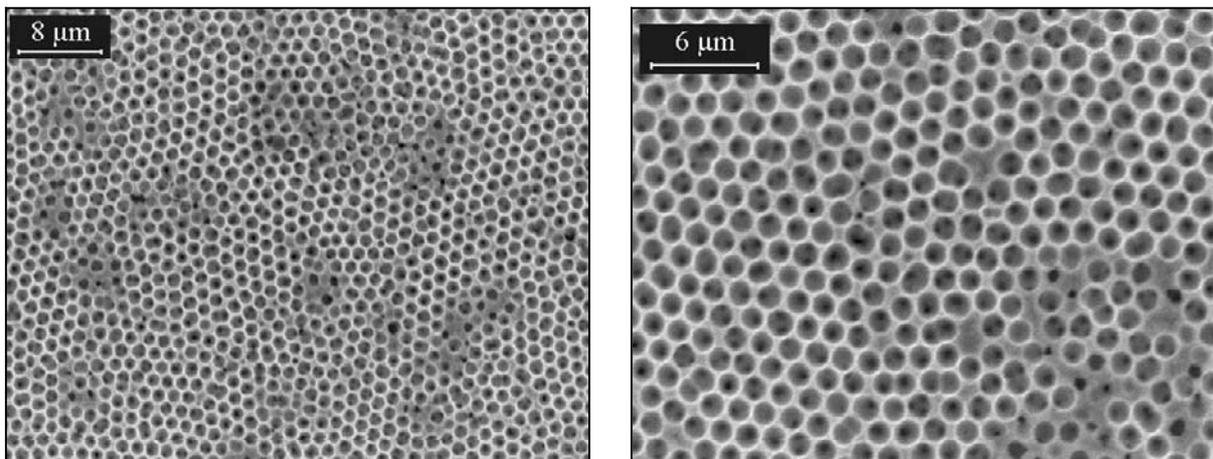
Abbildung 4-4: 3D- Rekonstruktion einer makroporösen Goldschicht (gelb) auf einem vorstrukturierten Substrat (rot). Porendurchmesser: 1100 nm, Linienabstand: 950 nm.

Wie man sieht, legen sich die Kugeln in die Furchen der Vorstrukturierung. Jedoch treten auch vereinzelt Defekte auf, bei denen die Kugeln leicht verschoben sind. Dies ist z.B. an der vorderen Pore am linken Bildrand zu sehen. Diese Pore liegt genau auf dem „Berg“ der Struktur. Jedoch beeinflussen solche Defekte offensichtlich die Vorzugsorientierung nicht, da eine solche deutlich festgestellt werden kann.

Da eine Vorzugsorientierung auftritt, besitzen vorstrukturierte Proben also eine erhöhte Fernordnung. Dies hatte jedoch keinen Einfluss auf die Defektdichte. Sowohl in Aufnahme A, als auch in Aufnahme B sind Defekte in Form von Löchern, auf denen sich kein Gold abgeschieden hatte und nicht-porösen Bereichen zu erkennen. Diese Defekte hängen selbst nicht von der Vorstrukturierung sondern vielmehr von der Natur des Substrates ab. Während des Besputterns erhitzen sich die Proben, wodurch das Polymer teilweise schmolz und evt. auch Dämpfe freigesetzt wurden. Hierdurch kam es vermutlich zu Unregelmäßigkeiten und teilweisen Passivierungen der Oberflächen. Somit traten immer wieder kleine Zonen auf, auf denen die Kolloide entweder nicht hafteten bzw. kein Gold abgeschieden werden konnte.

Bringt man auf eine erste Templatschicht eine zweite so ist zu erwarten, dass auch für die zweite eine deutliche Verbesserung der Fernordnung auftritt, da sich die Kugeln der zweiten Schicht in die Lücken der ersten Kugelschicht legen sollten, also auch eine Art

Vorstrukturierung vorhanden ist. In Abbildung 4-5 sieht man solch eine Probe von  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten porösen Goldes ( $d = 1100 \text{ nm}$ ) auf einem vorstrukturierten Substrat. In diesem Fall ist der Effekt der Vorzugsorientierung wesentlich weniger ausgeprägt, als für eine Halbkugelschicht. Es lassen sich zwar Ketten von Kugeln erkennen (in der Abbildung von rechts oben nach links unten), jedoch finden sich auch andere Orientierungen, wenn auch weniger häufig. Für dieses Phänomen konnte jedoch keine schlüssige Erklärung gefunden werden.



*Abbildung 4-5: REM-Aufnahme einer vorstrukturierten Goldelektrode mit makroporösem Gold,  $d = 1100 \text{ nm}$ ,  $1\frac{1}{2}$  Kugelschicht.*

Da ein Linienabstand von  $950 \text{ nm}$  etwa die kleinste erzeugbare Struktur darstellte wurde versucht, ob auch der doppelte Linienabstand zu einer Vorzugsorientierung führt, da somit auch Strukturen mit kleineren Poren aufgebaut werden können. Hierzu wurden Substrate mit Linienabständen von  $1900 \text{ nm}$  bzw.  $2400 \text{ nm}$  hergestellt. Dabei zeigte sich wie erwartet eine Vorzugsorientierung, die jedoch nicht so stark ausgeprägt war, wie im Falle des einfachen Linienabstandes. Wie in Abbildung 4-6 zu sehen ist, ordnen sich die Kugeln in den Gräben zu Zickzacklinien an.

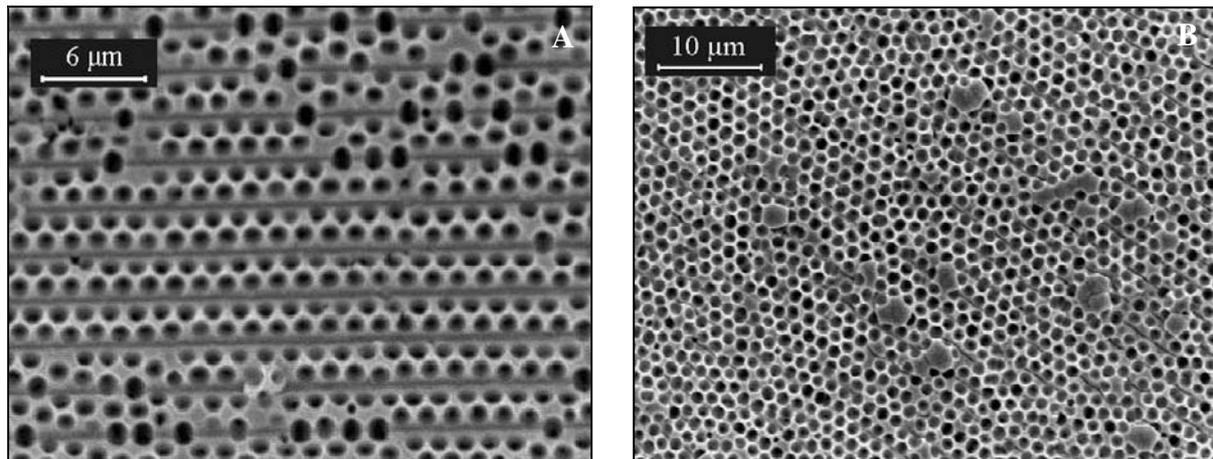


Abbildung 4-6: REM-Aufnahmen vorstrukturierter Goldelektroden mit makroporösem Gold, (A):  $d = 1100$  nm,  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht, (B):  $d = 1100$  nm,  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht.

## Kapitel 5: Elektrochemische Charakterisierung und Anwendungen

### 5.1 Charakterisierung der aktiven Oberfläche

Die für katalytische Anwendungen wohl wichtigste Eigenschaft makroporöser Materialien ist die Erhöhung der aktiven Oberfläche im Vergleich zum glatten Material. Diese Erhöhung wurde schon in Kapitel 5.1.1 auf rein physikalischem Wege über die Rekonstruktion der dreidimensionalen Struktur ermittelt. Um jedoch die tatsächliche katalytisch bzw. elektrokatalytisch aktive Oberfläche zu bestimmen muss die Charakterisierung über eine chemische Methode erfolgen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde hierzu die zyklische Voltammetrie gewählt, welche einfach durchzuführen ist und sehr reproduzierbare Ergebnisse liefert. Hierzu wurden zyklische Voltammogramme der makroporösen Elektroden in 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aufgenommen.

#### 5.1.1 Makroporöses Gold

Im Falle von Gold wählt man als oberes Umkehrpotential 1.5 V bei einer Vorschubgeschwindigkeit von  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ . Die erhaltenen Deckschichtdiagramme besitzen die in Abbildung 5-1 gezeigte Form. Erhöht man das Potential linear, so tritt zunächst nur eine leichte Erhöhung des fließenden Stromes auf, welche durch ein Aufladen der elektrolytischen Doppelschicht erklärt werden kann (Doppelschichtbereich). Ab einem Potential von ca. +1 V beginnt die Oxidation des Goldes zu einer oxidischen Oberflächenschicht (=Stromanstieg). Ist die Oberfläche vollständig oxidiert, so tritt eine Passivierung auf und eine weitere Oxidation ist nicht möglich (=Stromabfall). Beim Zurückfahren des Potentials wird diese Oxidschicht bei einem Potential von +0.9 V wieder reduziert, wobei ein Peak durchlaufen wird. Das Integral unter diesem Reduktionspeak, auch Stripping-Peak genannt, ist direkt proportional zur geflossenen Ladung und somit zur aktiven Oberfläche [104]. Nach Woods et al. [105] beträgt die theoretische Ladungsdichte zur vollständigen Reduktion einer Oxidmonoschicht  $386 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ . Bei Kenntnis der Ladungsdichte kann also die aktive Elektrodenoberfläche berechnet werden. Dieser Prozess kann auch zur Reinigung von Goldoberflächen verwendet

werden, da nach Oxidation und Rückreduktion zum metallischen Gold adsorbierte Spezies, die die Elektrode deaktivieren können von der Oberfläche entfernt werden.

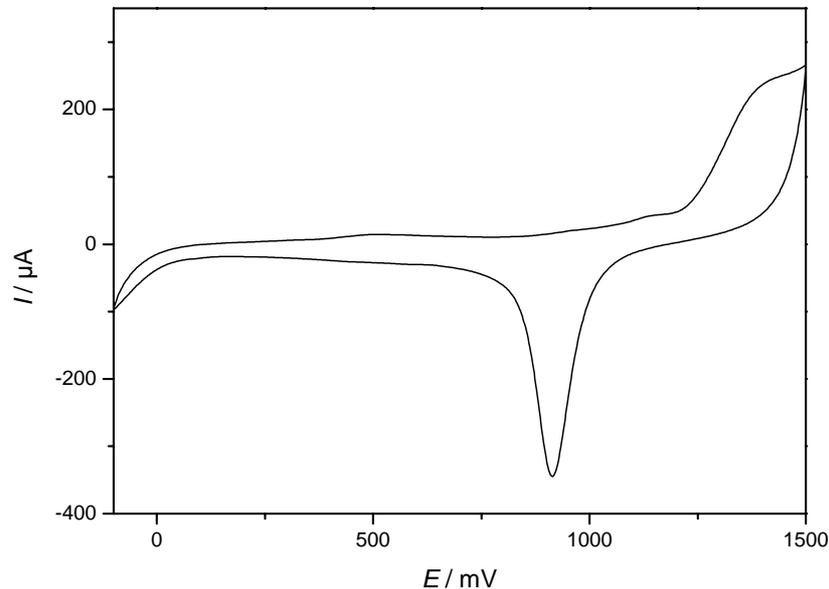


Abbildung 5-1: Zyklovoltammogramm einer glatten Goldelektrode in  $0.5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $v = 100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Mit dieser Methode wurden nun die makroporösen Elektroden charakterisiert und die aktive Oberfläche von Proben mit unterschiedlicher Anzahl an Porenschichten miteinander verglichen. Wie in den zyklischen Voltammogrammen in Abbildung 5-2 zu sehen ist nehmen die Peakintensität und die Fläche mit steigender Anzahl an Kugelschichten zu. Trägt man die aus den Peakintegralen berechneten Ladungsdichten gegen die Anzahl an Kugelschichten auf, so erhält man einen linearen Verlauf, die aktive Oberfläche steigt also linear mit der Anzahl an Kugelschichten (siehe Abbildung 5-3).

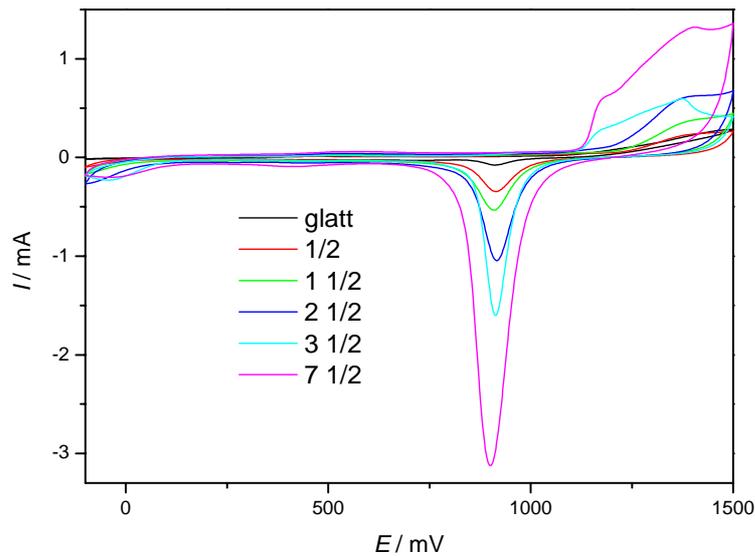


Abbildung 5-2: Zyklovoltammogramme makroporöser Goldelektroden mit unterschiedlich dicken porösen Schichten ( $d = 680 \text{ nm}$ ) in  $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Die Elektrodenflächen wurden auf  $1 \text{ cm}^2$  normiert.

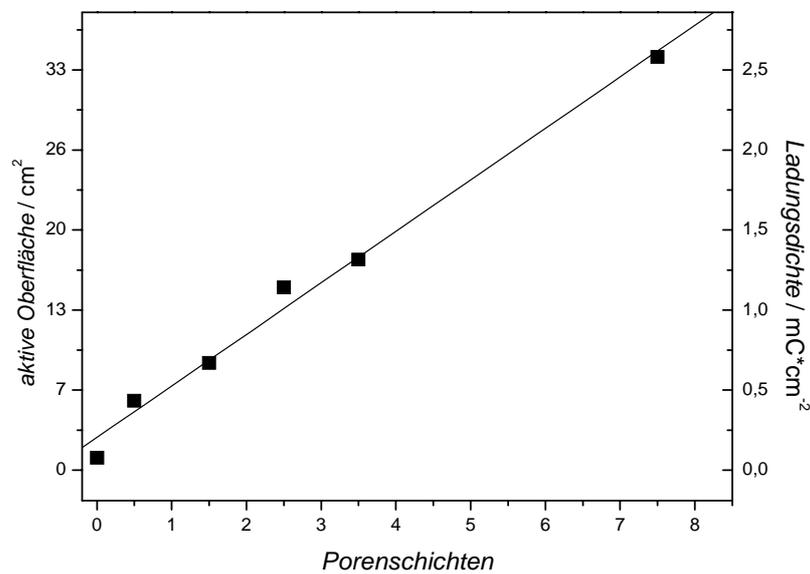


Abbildung 5-3: Auftragung des Peakintegrals und der aktiven Oberfläche gegen die Anzahl an Porenschichten.

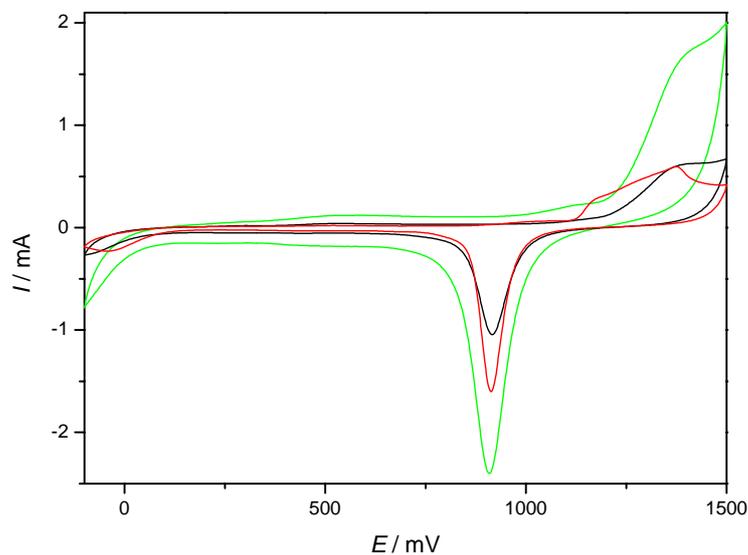
Die aktive Oberfläche einer Elektrode mit  $7\frac{1}{2}$  Porenschichten ist um den Faktor 33 im Vergleich zu einer glatten Elektrode erhöht, d.h. eine Elektrode mit einer geometrischen

Oberfläche von  $1 \text{ cm}^2$  besitzt eine aktive Oberfläche von  $33 \text{ cm}^2$ . Durch geometrische Betrachtungen kann man diesen Faktor  $f$  theoretisch berechnen. Der Wert hängt alleine von der Schichtzahl, nicht aber vom Teilchendurchmesser ab:

$$f = \sqrt{\frac{4}{3}} \cdot \pi \cdot n \quad (5-1)$$

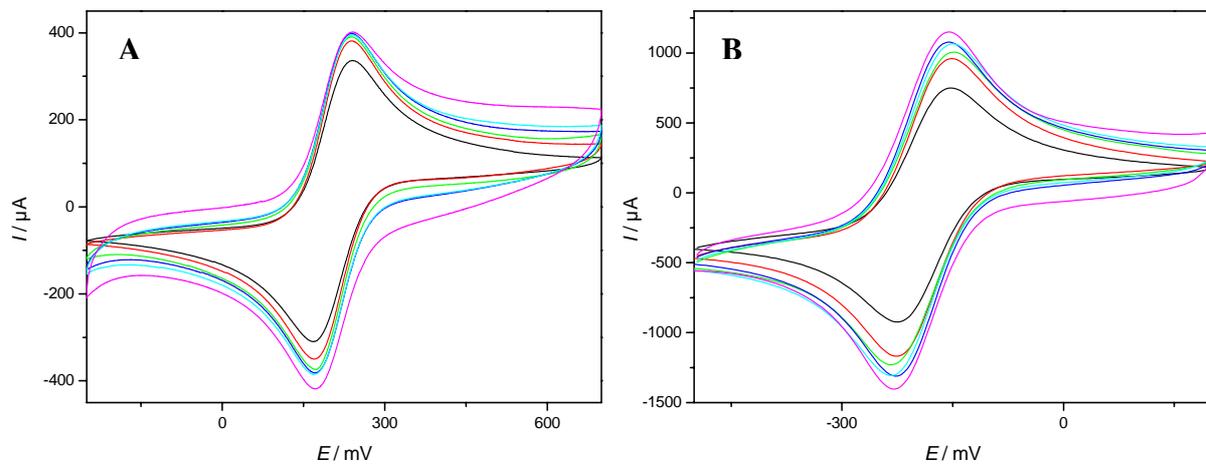
Der berechnete Faktor für diese Elektrode mit  $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten makroporösen Goldes beträgt 27, der gemessene Faktor von 33 korreliert folglich gut mit der Theorie. Es lässt sich also sagen, dass nahezu das gesamte Poreninnere zur aktiven Oberfläche beiträgt.

Da die Oberflächenerhöhung alleine von der Schichtzahl abhängt, nicht aber vom Durchmesser der Poren, besitzen Elektroden mit gleichen Schichtzahlen, aber unterschiedlichem Porendurchmesser die gleiche aktive Oberfläche. Vergleicht man also makroporöse Elektroden mit sehr kleinen Poren mit Elektroden, die einen sehr großen Porendurchmesser besitzen, so erhält man für die kleinen Poren eine wesentlich größere Erhöhung bei gleicher absoluter Dicke der makroporösen Schichten (siehe Abbildung 5-4).



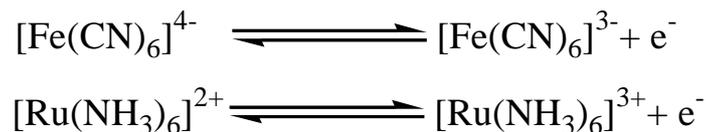
**Abbildung 5-4:** Zyklovoltammogramme makroporöser Goldelektroden mit gleichen Dicken der porösen Schichten ( $2.2 \mu\text{m}$ ) aber unterschiedlichen Porendurchmessern in  $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz:  $2\frac{1}{2}$ ,  $d = 1100 \text{ nm}$ , rot:  $3\frac{1}{2}$ ,  $d = 680 \text{ nm}$ , grün:  $5\frac{1}{2}$ ,  $d = 460 \text{ nm}$ .

Durch die Porosität der Elektroden konnte die aktive Oberfläche um mehr als eine Größenordnung erhöht werden. Betrachtet man nun elektrochemische Reaktionen in Lösung, so sollte der Oxidations- bzw. Reduktionsstrom der Reaktion proportional zur aktiven Elektrodenoberfläche sein, im Falle makroporöser Elektroden also ein linearer Anstieg in den Reaktionsströmen als Funktion der Porenzahl zu erkennen sein. Dies wurde zunächst mit zwei einfachen Redoxpaaren ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  und  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ ) überprüft (siehe Abbildung 5-5).



**Abbildung 5-5:** (A) Zyklovoltammogramme von makroporösem Gold in 5 mM  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]/1\text{M KNO}_3$ ,  $\nu = 100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . (B) in 5 mM  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3/1\text{M KNO}_3$ , Porendurchmesser  $d = 680\text{ nm}$ . Schwarz: glatt, rot:  $1/2$  Kugelschicht, grün:  $1\frac{1}{2}$ , blau:  $2\frac{1}{2}$ , zyan:  $3\frac{1}{2}$ , magenta:  $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

In beiden Fällen treten reversible Redoxpeaks in den Voltammogrammen auf, welche auf folgende Reaktionen zurückzuführen sind:



In den zyklischen Voltammogrammen ist erstaunlicherweise keine deutlicher Anstieg dieses Reaktionsstromes durch Erhöhung der Porenschichtzahl erkennbar. Überhaupt lässt sich nur eine Reaktionsstromerhöhung zwischen glatten und allen anderen porösen Elektroden

beobachten. Die leichte Stromerhöhung die bei porösen Elektroden mit steigender Dicke der Porenschicht auftritt, ist alleine durch eine Vergrößerung des kapazitiven Stromes zu erklären. Diese Erhöhung der Kapazität lässt sich durch den Abstand zwischen den Basislinien für Vorwärts- und Rückscan in den Voltammogrammen erkennen. Da es sich bei den beiden gezeigten Redoxreaktionen um sehr schnelle Reaktionen handelt, werden alle Ionen vollständig an der äußersten Porenhalbschicht umgesetzt, bevor sie in das poröse System hineindiffundieren können. Aus diesem Grund wird nur ein kleiner Teil der gesamten aktiven Oberfläche genutzt und ein signifikanter Aktivitätsanstieg ist nur zwischen glatten Elektroden und Elektroden mit  $\frac{1}{2}$  Porenschicht erkennbar. Nur bei diesen Elektroden kann die gesamte Oberfläche genutzt werden.

Ein ganz anderes Verhalten zeigt sich, wenn man makroporöse Elektroden zur Umsetzung langsamer Redoxpaare verwendet. Um dieses Verhalten zu zeigen, wurde als Reaktion die kathodische Wasserstoffperoxidreduktion zu Wasser gewählt, welche häufig als Modellsystem für langsame elektrochemische Reaktionen verwendet wird. Startet man das Voltammetrieexperiment bei einem positiven Potential und fährt es ins negative, so beginnt ab etwa +400 mV die Reduktion und der Strom steigt durch den immer größer werdenden Umsatz an (Abbildung 5-6).

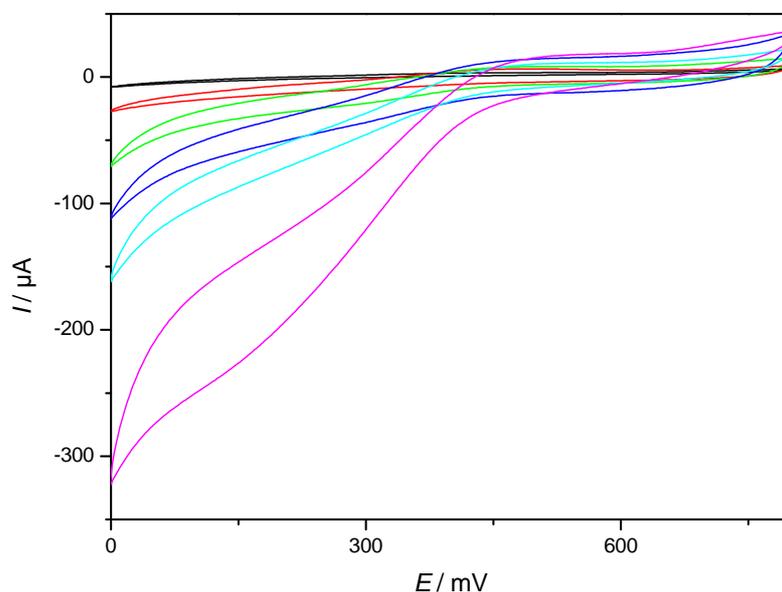


Abbildung 5-6: Vergleich der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Reduktionsströme (10 mM in 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) auf makroporösen Goldelektroden mit unterschiedlichen Porenzahlen. Schwarz: glatt, rot:  $\frac{1}{2}$  Schicht, grün:  $1\frac{1}{2}$ , blau:  $2\frac{1}{2}$ , zyan:  $3\frac{1}{2}$ , magenta:  $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Die gemessenen Reduktionsströme hängen im Gegensatz zu den schnellen elektrochemischen Reaktionen direkt linear von der aktiven Oberfläche ab. Erhöht man also die Anzahl an Hohlkugelschichten, so erhöht man auch den Umsatz an  $\text{H}_2\text{O}_2$  und somit den Reduktionsstrom, wobei hier ein linearer Zusammenhang zwischen Reduktionsstrom und Schichtzahl der Poren besteht (Abbildung 5-7). Offensichtlich können bei langsamen Reaktionen, die elektrochemisch aktiven Teilchen in das poröse System hineindiffundieren bevor sie vollständig umgesetzt worden sind. Das bedeutet, dass die gesamte aktive Elektrodenoberfläche für die Reaktion genutzt wird.

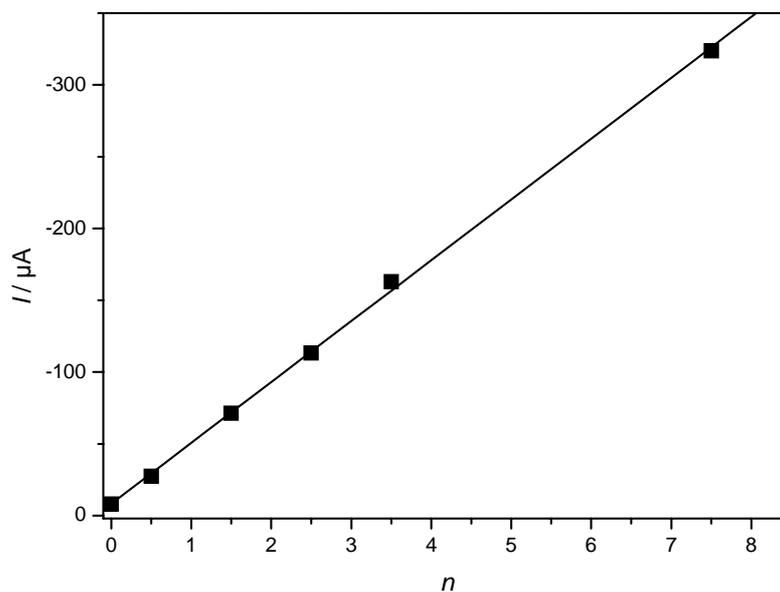


Abbildung 5-7: Reduktionsströme während der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Reduktion auf makroporösem Gold bei 0 V (10 mM in 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) in Abhängigkeit von der Schichtzahl  $n$  des makroporösen Goldes.

Der Faktor für die Erhöhung des Reduktionsstromes steht in gutem Übereinklang mit dem durch zyklische Voltammetrie in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gemessenen Erhöhungsfaktor der aktiven Oberfläche. Der Strom bei 0 V wird von  $-12\mu\text{A}$  (glatte Elektrode) auf  $-324\mu\text{A}$  verstärkt ( $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten), was einer Vergrößerung um einen Faktor von 28 entspricht (Faktor für die aktive Oberfläche: 24, siehe Abbildung 5-3).

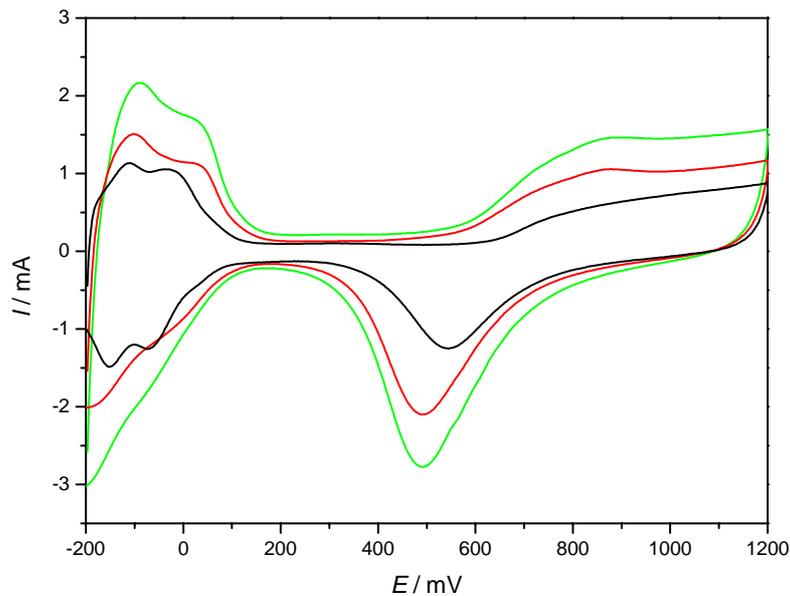
Makroporöse Elektroden ergeben also einen signifikanten Aktivitätsgewinn, wenn sie zum Umsatz langsamer elektrochemischer Reaktionen eingesetzt werden. Für schnelle Redoxpaare ergibt sich nur eine geringe Erhöhung der Aktivität, wobei jedoch die Kapazität der porösen Elektroden mit der Dicke der porösen Schichten steigt. Somit kann für diese Reaktionsgruppe

keine Verbesserung der Elektrodeneigenschaften durch Einführung einer Porosität erreicht werden.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, makroporöses Gold mit Enzymen zu modifizieren und die so behandelten Systeme als hochselektive Biosensoren zu verwenden. Da es sich bei elektrochemischen Enzymreaktionen typischerweise um Vorgänge mit langsamer Kinetik handelt, sind makroporöse Elektroden hervorragend geeignet, um den Umsatz solcher Reaktionen zu erhöhen und somit das Signal eines enzymatischen Biosensors zu verstärken. In Kapitel 5.2 sollen Versuche zur Biomodifizierung und elektroenzymatischen Umsetzungen von Substraten an diesen makroporösen Elektroden diskutiert werden.

### **5.1.2 Makroporöses Pt und Pd**

Die makroporösen Platin- und Palladiumelektroden wurden ebenso wie das poröse Gold mittels zyklischer Voltammetrie charakterisiert. Die Voltammetrieexperimente wurden im Falle des Pt zwischen -0.2 und +1.2 V bzw. -0.1 und +1.1 V für Pd gefahren. In beiden Fällen ist die Form der Voltammogramme deutlich unterschiedlich zu den Deckschichtdiagrammen von Gold. Im Falle des Platin lassen sich zum Beispiel am Ende des zurücklaufenden Scans zwei Peaks zwischen -0.2 und 0 V erkennen, welche auf die Abscheidung von zwei Wasserstoffadsorptionsschichten während der kathodischen Wasserstoffreduktion zurückzuführen sind (Abbildung 5-8). Beim erneuten Ansteigen des Potentials werden diese wieder oxidiert, wobei wiederum zwei Peaks auftreten. Analog zu Gold findet auch im Falle des Pt bei Potentialen ab +600 mV eine Oxidation der Oberfläche statt, wodurch beim Zurückfahren des Potentials ein Stripping-Peak bei +500 mV auftaucht. Sowohl dieser Stripping-Peak als auch die Wasserstoffadsorption bzw. -desorption kann hier durch Integration zur Charakterisierung der aktiven Elektrodenoberfläche genutzt werden [104].



**Abbildung 5-8:** Zyklische Voltammogramme von makroporösem Pt in 0.5 M  $H_2SO_4$ ,  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , Porendurchmesser  $d = 680 \text{ nm}$ . Schwarz: glattes Pt, rot:  $1/2$  Kugelschicht, grün:  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Die Erhöhung der aktiven Oberfläche wurde über die Integration der Wasserstoffdesorption berechnet und entsprach für eine Elektrode mit  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten im Vergleich zu einer glatten einer Erhöhung um einen Faktor von 4.8, welcher nur leicht unterhalb des berechneten Faktors von 5.4 liegt.

Ebenso konnte im Falle des makroporösen Palladiums eine Erhöhung der aktiven Oberfläche gemessen werden, die fast genau dem theoretisch berechneten Wert entsprach (Abbildung 5-9). Die durch Integration des Pd-Oxid-Stripping-Peaks erhaltene Oberfläche einer makroporösen Pd-Elektrode mit einer Porenschichtzahl von  $2\frac{1}{2}$  ist um einen Faktor von 8.9 größer, als die einer glatten. Theoretisch berechnet sollte eine Erhöhung um einen Faktor von 9.1 erhalten werden.

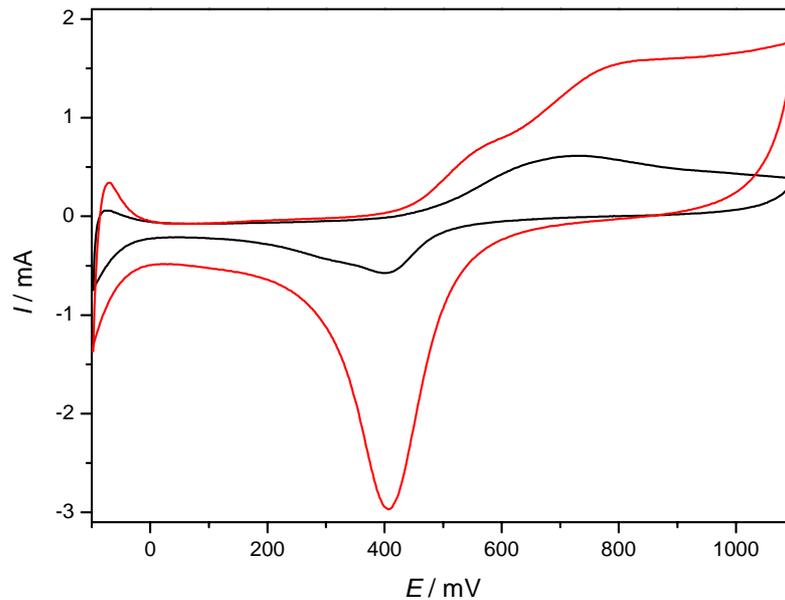


Abbildung 5-9: Zyklische Voltammogramme von makroporösem Pd in 0.5 M  $H_2SO_4$ .  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , Porendurchmesser  $d = 680 \text{ nm}$ . Schwarz: glattes Pd, rot:  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Führt man das Experiment analog mit den Proben durch, die sowohl aus makroporösem Gold und Platin bzw. Gold und Palladium bestehen, so lassen sich die Signale aller Komponenten beobachten, das heißt die Deckschichtdiagramme der einzelnen Komponenten sind überlagert (Abbildung 5-10 und Abbildung 5-11). Man beobachtet also sowohl die Stripping-Peaks des Goldes als auch des Platin bzw. des Palladium in einem Diagramm. In Abbildung 5-10 tritt dabei eine Verschiebung des Pt-Stripping-Peaks von +500 mV nach +250 mV auf. Eine Erklärung für dieses Phänomen konnte jedoch nicht gefunden werden. Diese Experimente können neben der EDX-Analyse somit als Beweis dafür erbracht werden, dass sowohl aktives Au, als auch aktives Pt bzw. Pd vorliegt.

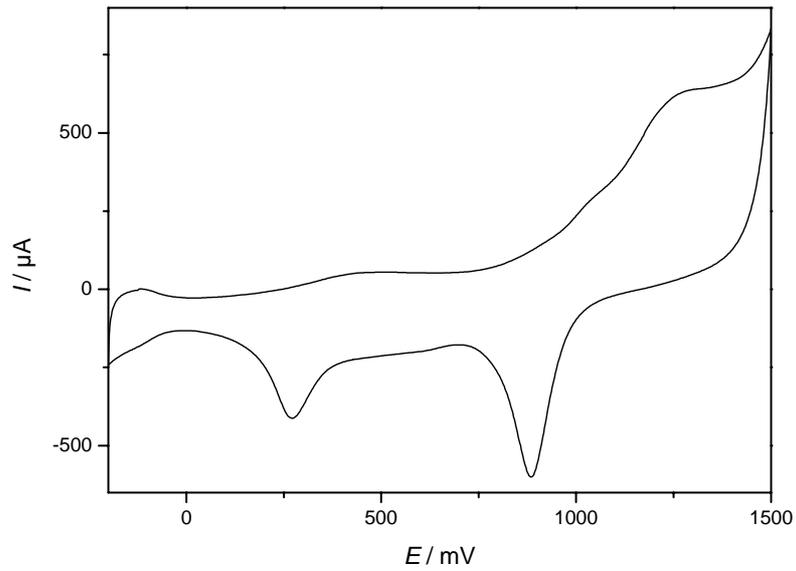


Abbildung 5-10: Zyklische Voltammogramm von makroporösem Pt auf makroporösem Au in  $0.5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $\nu = 100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , Porendurchmesser  $d = 460\text{ nm}$ .

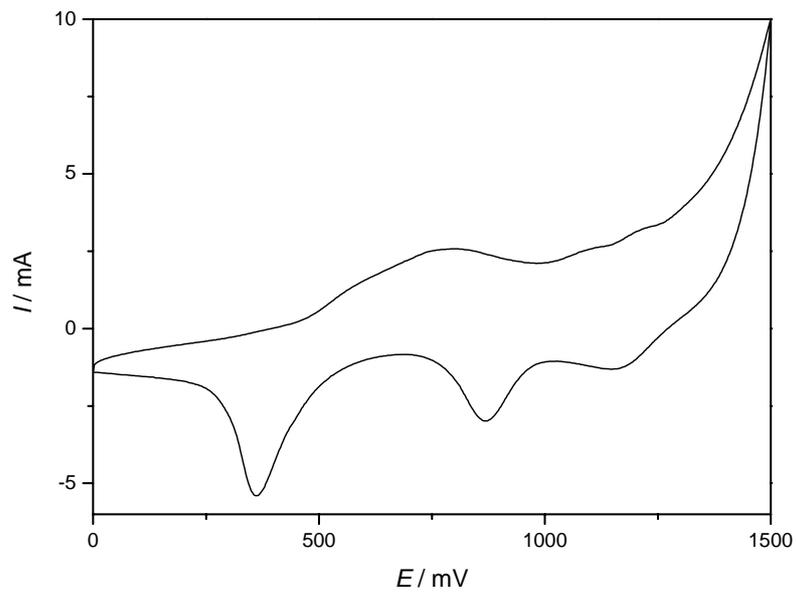


Abbildung 5-11: Zyklische Voltammogramm von makroporösem Pd auf makroporösem Au in  $0.5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $\nu = 100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , Porendurchmesser  $d = 460\text{ nm}$ .

## 5.2 Biosensorik

### 5.2.1 Prinzip eines amperometrischen Biosensors

Ein chemischer Sensor wird nach IUPAC [106, 107] definiert als eine Meßeinrichtung, die einen chemischen Parameter erfasst und in ein analytisch verwertbares Signal umwandelt. Die zu erfassenden Parameter können z.B. pH Wert, Leitfähigkeit oder auch das Vorhandensein bzw. die Konzentration bestimmter Atome oder Moleküle sein. Der erste chemische Sensor überhaupt wurde bereits Ende des 19. Jahrhunderts von Kohlrausch und Ostwald konstruiert. Dabei handelte es sich um eine Messzelle mit zwei Platinelektroden, an die eine Wechselspannung angelegt wurde, welche zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit von Elektrolytlösungen diente.

Chemische Sensoren bestehen im Allgemeinen aus zwei Grundkomponenten, die seriell verknüpft sind: ein Erkennungssystem (Rezeptor), das ein chemisches Signal aufnimmt und einen Transduktor, der dieses in ein elektrisches Signal umwandelt (Abbildung 5-12).



Abbildung 5-12: Funktionsweise eines chemischen Sensorsystems [108].

Handelt es sich bei dem Erkennungssystem um eine Einheit mit einer biochemischen Funktion, so spricht man von einem Biosensor. Als Erkennungssysteme eignen sich z.B. Enzyme, Antikörper, Oligonukleotide, lebende Zellen und Co-Enzyme. Im Vergleich zu physikalischen Sensoren, die physikalische Messgrößen, wie Druck, Temperatur etc. erfassen stellen chemische Sensoren meist besonders hohe Anforderungen in Bezug auf Selektivität und Empfindlichkeit bezüglich ihrer Nachweisgrenze. Sensoren mit diesen biochemischen Einheiten weisen insbesondere diese Eigenschaften auf, da diese Systeme in der Regel sehr selektive Prozesse unterstützen und außerdem schon bei geringen Analytkonzentrationen

anspringen. So lässt sich z.B. über das Enzym Glukoseoxidase ausschließlich Glukose umwandeln, nicht aber andere Zucker, da diese nicht auf Grund ihres chemischen Aufbaus in den enzyspezifischen Akzeptor hineinpassen (Schlüssel-Schloss-Prinzip).

Da Biosensoren vor allem für medizinische Analysen von Interesse sind, kommen weitere Anforderungen, wie Biokompatibilität und Stabilität im biologischen Milieu hinzu. Hierbei ist erstere meist sehr gut einzuhalten, da oft körpereigene Biomoleküle verwendet werden können. Die letztere Anforderung stellt jedoch oft Probleme dar, da in biologischen Systemen stets ein schneller Kreislauf zwischen Auf- und Abbau von chemischen Stoffen, somit auch von Biomolekülen, abläuft. Die Stabilität von Biosensoren beträgt meist nur wenige Tagen, maximal wenige Wochen. Diese hängt empfindlich von der Methode ab, wie die jeweiligen Einheiten auf dem Transduktor fixiert sind.

Ein großer Teil der Biosensoren beruht auf elektrochemischen Methoden. Hier sind vor allem die Konduktometrie, die Amperometrie, die Coulometrie und die Voltammetrie zu nennen. Die Transduktoren für solche Meßsysteme sind stets Elektroden, welche mit einem Rezeptor modifiziert sind. Die wohl am weitesten verbreiteten Biosensoren sind amperometrische Sensoren, die auf der Messung eines aus der elektrochemischen Oxidation bzw. Reduktion einer Spezies resultierenden Stromes beruhen. Normalerweise wird das Signal durch Anlegen eines konstanten Potentials an eine Arbeitselektrode relativ zu einer Bezugselektrode (Gold-, Platin-, Glaskohlenstoffelektrode oder Elektrodenarrays) erzeugt, wobei die Stromstärke direkt mit der Analytkonzentration korreliert. Im Allgemeinen sind amperometrische Messsysteme in der Drei-Elektroden-Konfiguration aufgebaut, bestehend aus einer Arbeitselektrode, an der der primäre Redox-Prozess abläuft, der Bezugselektrode, die das Potential an der Arbeitselektrode kontrolliert und einer Gegenelektrode, durch die der größte Teil des Stroms in der Zelle fließt. Das drei-Elektroden-System wird über einen Potentiostaten kontrolliert. Ist das angelegte Potential hoch genug, damit die Geschwindigkeit des heterogenen Ladungsübertragungsprozesses so groß ist, dass der Stofftransport die Geschwindigkeit des Gesamtprozesses limitiert, so ist der sich einstellende Diffusionsgrenzstrom  $I_d$  der Konzentration der zu bestimmenden Substanz  $C_0$  direkt proportional:

$$I_d = n \cdot A \cdot F \cdot D_0 \cdot \left( \frac{C_0}{L} \right) \quad (5-2)$$

wobei  $L$  die Diffusionsschichtdicke,  $D_0$  der Diffusionskoeffizient,  $A$  die Elektrodenfläche und  $n$  die Anzahl der ausgetauschten Ladungen ist.

### 5.2.2 Enzymkatalyse

Unter Enzymen versteht man Biokatalysatoren, die aus einer oder mehreren Ketten von Aminosäuren aufgebaut sind. Diese Aminosäureketten (Primärstruktur) bilden durch intra- und intermolekulare Wechselwirkungen eine dreidimensionale Struktur aus (Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur), durch die die Funktion des Enzyms festgelegt wird. In dieser dreidimensionalen Struktur der meisten Enzyme finden sich Taschen, in denen die Substrate spezifisch nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip unter Ausbildung von Enzym-Substrat-Komplexen umgesetzt werden. Einige Enzyme benötigen zum Umsatz von Substraten Hilfsmoleküle in ihren Strukturen, so genannte Coenzyme oder prosthetische Gruppen. Wird das Coenzym nach der Reaktion wieder freigesetzt, bezeichnet man es als Cosubstrat (z.B. ATP, NAD<sup>+</sup>). Prosthetische Gruppen sind Cofaktoren, die fest an das Apoenzym gebunden sind (z.B. Biotin, FAD, Liponsäure, Häm).

Nach der Wirkungsweise der Enzyme im Laufe der chemischen Reaktionen und der Natur der katalysierten Reaktionen unterteilt die internationale Vereinigung der Biochemiker (International Union of Biochemists IUB) die Enzyme in sechs große Klassen [109].

1. **Oxidoreduktasen** katalysieren Redoxreaktionen durch Transfer von Elektronen, Wasserstoff- oder Sauerstoff-Atomen von einem auf ein anderes Molekül. Hierbei gibt es Oxidasen (Elektronentransfer), Oxygenasen (Sauerstofftransfer), Peroxidasen (Elektronentransfer auf Peroxide) und Dehydrogenasen (Wasserstofftransfer).
2. **Transferasen** katalysieren den Transfer von Atomgruppen wie z.B. Alkyl-, Acyl- oder Glykosyl-Gruppen.
3. **Hydrolasen** katalysieren die hydrolytische Spaltung von Estern, Glykosiden, Peptiden usw. Hierzu gehören Esterasen, Glykosidasen, Lipasen und Proteasen.
4. **Lyasen** katalysieren die Eliminierung von Wasser, Ammoniak oder CO<sub>2</sub> um Doppelbindungen auszubilden bzw. die Addition dieser Moleküle an Doppelbindungen. Beispiele sind Aldolasen, Decarboxylasen und Dehydratasen.
5. **Isomerasen** lagern funktionelle Gruppen durch Isomerisierungsreaktionen intramolekular um.

6. **Ligasen** bilden kovalente Bindungen zwischen zwei Molekülen aus, wobei ATP gespalten wird.

Von diesen Enzymen sind vor allem die Oxidoreduktasen für elektrochemische Anwendungen interessant, da hierbei ein Elektronentransport stattfindet.

Durch das Vorhandensein eines Enzyms wird die Reaktionsgeschwindigkeit der jeweiligen Reaktion um einen Faktor von  $10^8$ -  $10^{20}$  im Vergleich zur nicht-katalysierten Reaktion erhöht. Diese steht im Falle enzymatischer Reaktionen nicht wie bei klassischen Reaktionen in einem linearen Zusammenhang mit der Substratkonzentration. Bei konstant gehaltener Enzymmenge und stufenweiser Erhöhung der Substratkonzentration erhält man bei kleinen Konzentrationen zwar einen solchen linearen Zusammenhang (Linearbereich), nach Überschreiten einer bestimmten Konzentration flacht die Kurve jedoch ab und die Reaktionsgeschwindigkeit  $V$  bleibt trotz Erhöhung der Substratkonzentration konstant (Abbildung 5-13). Es tritt eine Sättigung ein.

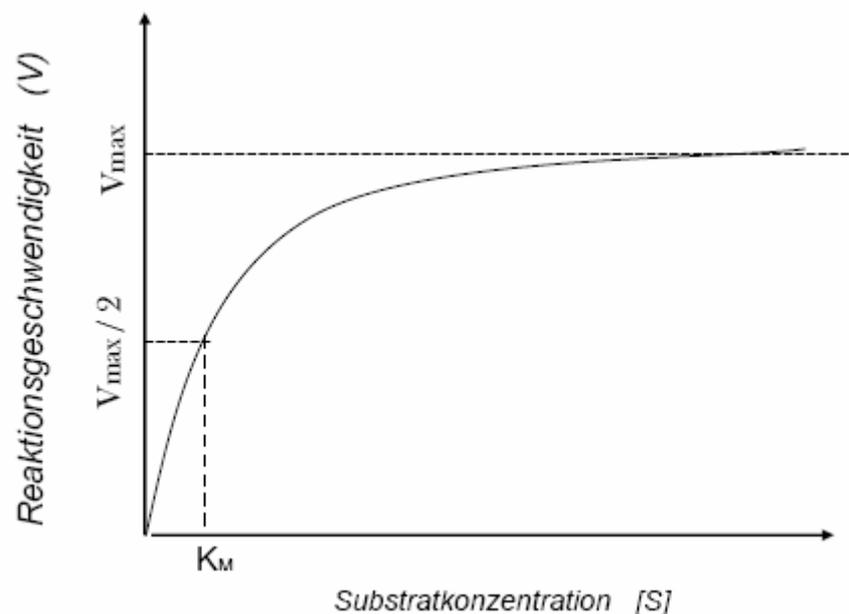


Abbildung 5-13: Michaelis-Menten-Sättigungskurve für eine enzymatische Reaktion [110].

Dieses besondere kinetische Verhalten kann mittels der Michaelis-Menten-Theorie erklärt werden und kommt durch die intermediäre Bildung von Enzym-Substrat-Komplexen zustande. Dieser Komplex zerfällt daraufhin wieder in die Ausgangskomponenten bzw. zu

Enzym und Produkt. Diese Reaktion mit ihren Geschwindigkeitskonstanten kann wie folgt dargestellt werden:



Die Michelis-Menten-Konstante  $K_M$  wird als die Substratkonzentration bei halber Maximalgeschwindigkeit  $V_{max}$  definiert und lässt sich aus kinetischen Überlegungen zu

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} \quad (5-3)$$

berechnen, wobei  $k_{+1}$ ,  $k_{-1}$  und  $k_{+2}$  die Geschwindigkeitskonstanten der oben genannten Reaktion darstellen. Daraus ergibt sich die Netto-Reaktionsgeschwindigkeit  $V$  zu:

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]} \quad (5-4)$$

Hierbei  $[S]$  die Substratkonzentration. Im Allgemeinen ist es schwierig  $V_{max}$  und  $K_M$  direkt aus der aufgetragenen Kurve herauszulesen, da sich die Geschwindigkeit asymptotisch an  $V_{max}$  annähert. Um zuverlässige numerische Werte für  $V_{max}$  und  $K_M$  aus einer kinetischen Messung zu erhalten, kann die Kurve entweder mittels einer hyperbolischen Formel angefitet werden oder durch eine Auftragung von  $1/V$  gegen  $1/[S]$  aus dem Achsenabschnitt bzw. der Steigung erhalten werden:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max} \cdot [S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (5-5)$$

Im Falle einer amperometrischen Messung können alle Reaktionsgeschwindigkeiten durch den gemessenen Strom  $I$  ersetzt werden, da dieser proportional zu  $V$  ist.

Die Werte  $K_M$  und  $V_{max}$  geben uns einige sehr interessante Informationen über eine enzymkatalysierte Reaktion und deren Anwendung in der Analytischen Chemie. So deutet ein kleiner  $K_M$ -Wert auf eine hohe Affinität des Enzyms zu seinem Substrat und somit auf einen

sehr stabilen Enzym-Substrat-Komplex hin. In diesem Falle wird die maximale Reaktionsgeschwindigkeit schon bei niedrigen Substratkonzentrationen erreicht, so dass der Linearbereich sehr klein ist. Bei einem großen  $K_M$  ist der Linearbereich im Gegensatz dazu groß, was für analytische Messungen oft sehr wichtig ist, da durchaus auch größere Substratkonzentrationen gemessen werden sollen.  $K_M$  gibt hierbei anschaulich die Konzentration an, bei der die aktiven Zentren der Hälfte der Enzymmoleküle mit dem Substrat besetzt sind. Dieser Wert hängt außer von der Art des Enzyms zusätzlich vom Substrat, der Temperatur und dem pH-Wert ab.

Die Kalibrierkurven eines enzymatischen Biosensors zeigen im Allgemeinen diese Form der Sättigungskurve. Hierbei ist es wichtig, dass sowohl  $V_{max}$ , als auch  $K_M$  möglichst große Werte besitzen, da diese beiden Werte die Bestimmungsgrenzen des Analyten festlegen. Ein großer  $V_{max}$ -Wert bedeutet hierbei global gesehen ein höheres Signal bei einer bestimmten Konzentration, als bei einem kleinen  $V_{max}$ . Somit wird hierdurch die untere Bestimmungsgrenze, also die kleinste gerade noch messbare Konzentration bestimmt.  $K_M$  hingegen gibt an, ob Sättigung der Enzyme bei einer hohen oder niedrigen Konzentration eintritt, gibt also die obere Bestimmungsgrenze und somit die höchste gerade noch messbare Konzentration an. Diese ist umso höher, je größer  $K_M$  ist. Um ein möglichst großes Detektionsfenster zu erhalten, ist es anzustreben, Systeme mit großen  $V_{max}$  und  $K_M$  einzusetzen.

### 5.2.3 Elektronentransfer in enzymatischen Biosensoren

Damit ein enzymatischer Biosensor ein elektrisches Signal erzeugen kann, muss ein Elektronentransfer zwischen Enzym und Elektrode stattfinden. Hierfür gibt es drei Grundmechanismen, nach denen Biosensoren eingeteilt werden können:

- **Biosensoren der ersten Generation:** hierbei handelte es sich um Sensoren, bei denen ein Produkt aus der enzymatischen Umwandlung des Substrates direkt an der Elektrode umgesetzt wird (Abbildung 5-14). Ein Beispiel ist die enzymatische Glukoseoxidation mittels Glukoseoxidase, wobei aus gelöstem Sauerstoff  $H_2O_2$  entsteht, was an der Elektrode durch elektrochemische Oxidation detektiert wird [111-114].

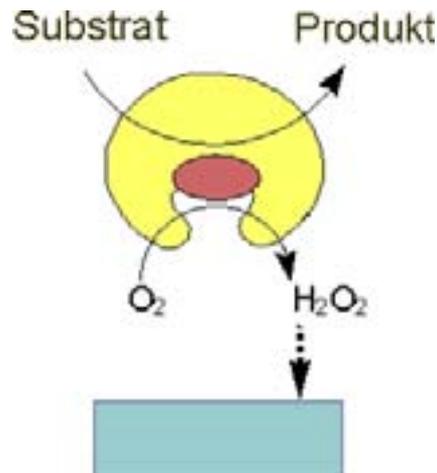


Abbildung 5-14: Schematische Darstellung eines Biosensors der ersten Generation. Gelb: Enzym, rot: Cofaktor [115].

Jedoch muss dazu in der Regel ein relativ hohes Potential angelegt werden, so dass Nebenreaktionen ablaufen können und diese Klasse von Sensoren eine relativ geringe Selektivität aufweisen. Ein Vorteil dieser Sensoren ist aber, dass kein zusätzliches Reagenz der Analytlösung zugegeben werden muss, da die Enzyme auf der Elektrode immobilisiert werden und das aus  $O_2$  gebildete  $H_2O_2$  detektiert wird. Es handelt sich hierbei also um so genannte „Reagenzlose Biosensoren“.

- **Biosensoren der zweiten Generation:** der Elektronentransfer läuft bei diesem Sensortyp über eine redoxaktive Spezies ab, die der Analytlösung zugegeben bzw. auf der Elektrode immobilisiert wurde. Bei einer enzymatischen Oxidation diffundieren diese Moleküle ins aktive Zentrum des Enzyms, werden dort während der Substratoxidation reduziert und diffundieren zur Elektrode. Dort werden sie durch eine elektrochemische Oxidation wieder in ihren Ausgangszustand gebracht und stehen für einen weiteren Zyklus zur Verfügung (=„shuttle Mechanismus“ oder „mediated electron transfer“ MET, s. Abbildung 5-15). Solche Moleküle, die für die elektrochemische Kommunikation zwischen Elektrode und Enzym verantwortlich sind, werden als Redox-Mediatoren bezeichnet. Allgemein sind Mediatoren Elektrokatalysatoren, die die Überspannung der jeweiligen Reaktion herabsetzen.

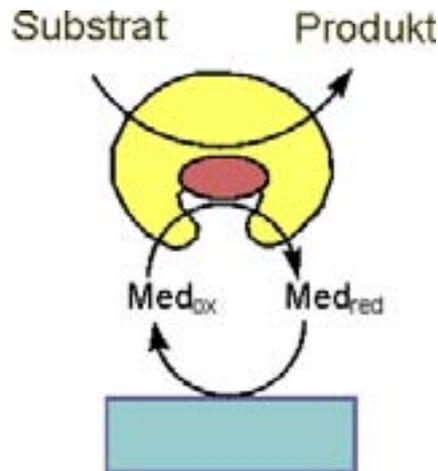


Abbildung 5-15: Schematische Darstellung eines Biosensors der zweiten Generation.  $Med_{ox}$  und  $Med_{red}$  bezeichnen die oxidierte bzw. reduzierte Form des Redox-Mediators [115].

Als Mediatoren eignen sich Moleküle, die folgende Eigenschaften aufweisen:

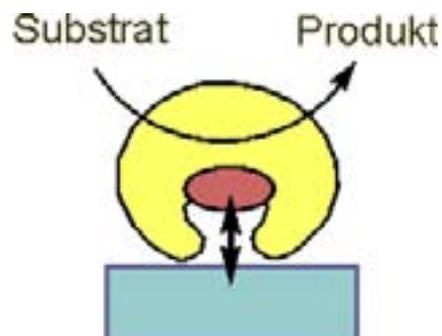
- das Redoxpotential des Mediators muss im Bereich dem des Biomoleküls liegen
- der Elektronentransfer muss schnell sein
- das Redoxpotential darf nicht vom Milieu abhängen (keine pH-Abhängigkeit)
- die Stabilität des Mediators muss in reduzierter und oxidiert Form gewährleistet sein
- es darf keine Nebenreaktionen mit andern im biologischen Medium anwesenden Spezies eingehen
- Ungiftigkeit für *in vivo* Messungen

Für die Verwendung als Mediatoren eignen sich somit eine Vielzahl unterschiedlicher Moleküle, wie z.B. Ferrocene [116-118], Hexacyanoferrat [119, 120], Chinone [121, 122], Metallophthalocyanine [123] oder Farbstoffe [124-127]. Diese können sowohl als frei bewegliche oder immobilisierte Mediatoren eingesetzt werden. Immobilisierung kann sowohl durch Adsorption [128, 129], direkte kovalente Bindung an die Elektrode [4, 130, 131] bzw. Einschluss in eine Polymerschicht [132, 133] oder eine Kohlenstoffpaste [134] erfolgen. Eine besondere Art dieser immobilisierten Mediatoren sind die so genannten Redoxpolymere. Dabei handelt es sich um flexible Polymere, die Mediator-Funktionalitäten, wie z.B. gebundene Ferrocene [135] oder Osmium-Komplexen [2] beinhalten. Die Elektronen werden über einen „hopping-Mechanismus“ durch Stöße von

Redoxzentrum zu Redoxzentrum übertragen, wobei das aktive Zentrum des Enzyms über die Polymerkette direkt mit der Elektrode verkabelt werden kann („wired enzymes“).

Mediatoren dienen als Elektrokatalysatoren für die Oxidationen der Cofaktoren Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid (NADH), Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADPH), Flavin-Adenin-Dinucleotid (FADH<sub>2</sub>) und Pyrrolochinolin (PQQ). Durch diese Mediatoren wird das effektive Redoxpotential des Biosensors erniedrigt, wodurch eventuelle Interferenzen mit konkurrierenden Reaktionen unterdrückt werden und somit die Selektivität erhöht wird.

- **Biosensoren der dritten Generation:** die Elektronen werden bei dieser Sensorklasse über direkten Elektronentransfer vom Cofaktor zur Elektrode oder umgekehrt übertragen (Abbildung 5-16). Der Strom ist in diesem Falle ein Tunnelstrom, d.h. er ist sehr stark Abhängig von der Distanz zwischen Cofaktor und Elektrode sowie der Struktur des Enzyms.



*Abbildung 5-16: Schematische Darstellung des direkten Elektronentransfers bei einem Biosensors der dritten Generation [115].*

Dieser direkte Elektronentransfer (DET) zeigt von allen Transfermechanismen die beste Effizienz, ist jedoch bei den meisten Enzymen nicht oder nur sehr schwer zu realisieren. So ist es bisher nur bei 50 von etwa 1000 Redoxenzymen gelungen, einen DET herbeizuführen. Hierbei handelt es sich meist um Multicofaktorenzyme, die z.B. Häm und FAD als Cofaktoren beinhalten. Beispiele für solche Enzyme sind Meerrettich-Peroxidase [136], Cytochrom-C Peroxidase [137], Schimmelpilz-Peroxidase [138, 139], Lactoperoxidase [140], Microperoxidase [141-143]. Nach Aufnahme von Elektronen vom Cofaktor 1

findet zunächst ein interner Elektronentransfer zwischen den Cofaktoren statt, bevor die Elektronen vom Cofaktor 2 auf die Elektrode übertragen werden. Auch die Orientierung ist beim DET von sehr großer Bedeutung. So können Enzymmoleküle, deren aktive Zentren nicht direkt auf die Elektrode zeigen, nicht für einen DET genutzt werden, wodurch Verluste der Stromausbeute und somit der Signalhöhe einhergehen. Dieses Problem kann jedoch durch gezieltes Ausrichten des Enzyms mittels Anbindung an eine selbstorganisierende Monoschicht (SAM) aus Thiolen gelöst werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die ersten beiden Typen von Sensorsystemen an makroporösen Elektroden getestet, da diese relativ einfach zu realisieren sind. Hierzu wurden die Enzyme auf den Elektroden immobilisiert.

#### **5.2.4 Enzymimmobilisierung**

Für Anwendungen im Bereich der Biosensoren oder Biobrennstoffzellen ist es wichtig, dass alle Komponenten eines elektrochemischen Systems auf der Elektrode immobilisiert sind. Zum einen ist dies sehr wichtig, damit der Analysen- bzw. Brennstofflösung keine zusätzlichen Reagenzien zugesetzt werden müssen und der Sensor bzw. die Brennstoffzelle universell einsetzbar sind. Im Falle eines Biosensors wird solch ein System als „reagentless biosensor“ bezeichnet. Zum anderen ist die Stabilität freier Enzyme, vor allem im physiologischen Milieu, sehr gering. Diese wird oft durch die Immobilisierung gesteigert. Hierzu existiert eine große Zahl unterschiedlicher Strategien, die an dieser Stelle kurz zusammengefasst werden sollen.

Die Immobilisierungstechniken können allgemein in fünf Klassen eingeteilt werden, wie in der folgenden Abbildung 5-17 dargestellt ist. Diese können wiederum in physikalische und chemische Immobilisierungsmethoden eingeteilt werden.

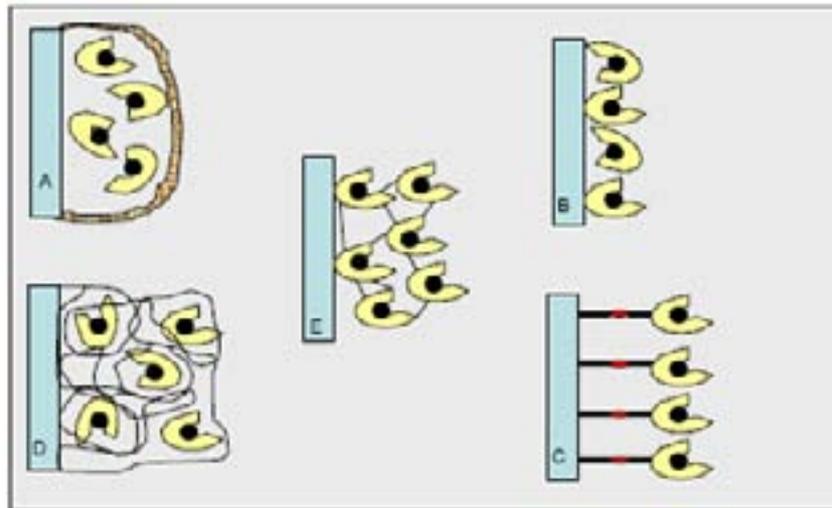


Abbildung 5-17: Schematische Darstellung der Immobilisierungsmethoden für Enzyme. (A) Einschluss hinter einer Membran, (B) direkte Adsorption auf der Elektrodenoberfläche, (C) kovalente Bindung an der Elektrodenoberfläche mit Crosslinkern, (D) Einschluss in einem Polymernetzwerk, (E) Quervernetzung durch funktionelle Gruppen [110].

Die einfachste Methode zur physikalischen Immobilisierung ist die direkte Adsorption von Biomolekülen auf der Elektrodenoberfläche (B). Da es sich jedoch um einen reversiblen Prozess handelt und die Wechselwirkungen zwischen Biomolekül und Elektrode meist schwacher Natur sind (Van-der-Waals-Kräfte, elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen), sind die so modifizierten Elektroden nicht sehr stabil und sehr empfindlich gegenüber Veränderungen der Milieuparameter. Ein Vorteil dieser Methode ist jedoch, dass die Aktivität von Enzymen nicht oder nur geringfügig beeinträchtigt wird, da am Enzym selbst keine kovalenten Bindungen angegriffen. Um die Stabilität zu erhöhen, kann über die adsorbierte Enzymschicht z.B. eine dünne Membran (A) aus Nafion oder Celluloseacetat aufgebracht werden, um die Enzyme auf der Elektrode einzuschließen [144-148].

Des Weiteren können Enzyme auch in einem Gel oder einem Polymernetzwerk (D) eingeschlossen werden. Hierzu wird das Enzym oft in einer Polymersuspension gelöst und auf die Elektrode aufgetragen. Durch Eintrocknen entsteht ein poröser Film, der sowohl das Enzym enthält als auch für das Substrat durchlässig ist. Eine weitere, sehr gut kontrollierbare Möglichkeit ist die Verwendung von Elektrodepositionslacken (electrodeposition paint, EDP) [149], bei denen ein Polymer dadurch abgeschieden wird, dass durch elektrochemische Oxidation bzw. Reduktion von Wasser sich an der Elektrode der pH-Wert lokal ändert. Hierdurch ändert sich auch die Löslichkeit des Polymers durch Protonierung bzw.

Deprotonierung, es fällt aus und umschließt das Enzym. Dies soll kurz anhand eines Polyacrylsäurelackes erläutert werden. Diese sind durch das Vorhandensein von Carbonsäuregruppen im neutralen bzw. basischen Medium löslich, da in diesem Milieu die Säuregruppen deprotoniert sind. Durch Anlegen eines positiven Potentials an eine in solch eine Lösung tauchende Elektrode wird Wasser zu Sauerstoff oxidiert, wobei saure Protonen frei werden. Diese protonieren die Säuregruppen des Polymers, welches dadurch ausfällt und einen dünnen Film auf der Elektrode bildet. Weit verbreitet ist auch die Technik der Elektropolymerisation. Hierbei verwendet man meist Pyrrolderivate, die elektrochemisch oxidiert werden und so eine Matrix aus leitfähigem Polypyrrol entsteht [150-152]. Enthält die Lösung des Monomers außerdem ein Enzym, so wird dieses in die Matrix eingebaut.

Als chemische Immobilisierungsmethoden sind vor allem die kovalente Anbindung (C) und die Quervernetzung, auch „cross-linking“ genant, (E) zu nennen. Hierbei dürfen die kovalenten Bindungen jedoch nur an Stellen im Enzym angreifen, die nicht für ihre Aktivität verantwortlich sind. So können z.B. Bindungen mit  $-NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-OH$  oder  $-SH$  eingegangen werden. Beim kovalenten Binden von Enzymen an Elektrodenoberflächen wird ein Kupplungsreagenz zum einen an eine funktionelle Gruppe des Enzyms gebunden, zum anderen direkt an die Elektrodenfläche (oft über Thiole an Gold) bzw. an auf der Elektrodenoberfläche immobilisierte Moleküle. Ein weit verbreitetes Kupplungsreagenz hierfür ist das Carbodiimid. Um eine mögliche Denaturierung oder Deformation der aktiven Zentren der Biomoleküle während des Immobilisierungsprozesses zu vermeiden, wird die Reaktion häufig in Gegenwart von gesättigten Substratkonzentrationen oder konkurrierenden Interferenzstoffen durchgeführt. Dieses stellt sicher, dass die aktiven Zentren der Enzyme während der kovalenten Bindung besetzt sind und somit nicht beschädigt werden.

Zum Quervernetzen benötigt man ebenfalls bifunktionelle Kupplungsreagenzien, die die Enzymmoleküle untereinander verknüpfen. Die Kopplung der Aminogruppen des Lysins durch Glutaraldehyd findet hier ein weites Einsatzgebiet [153]. Diese Methode wird meist unter Anwesenheit des inaktiven Proteins BSA (Rinderserum Albumin) durchgeführt, welches in das Netzwerk mit eingebaut wird und dadurch die Filmeigenschaften verbessert [154]. Bei beiden chemischen Verfahren ist jedoch stets ein teilweiser Verlust der Enzymaktivität festzustellen, da oftmals auch das aktive Zentrum angegriffen wird.

### 5.2.5 Entwicklung eines Biosensors auf der Grundlage makroporöser Elektroden

Im Rahmen dieser Arbeit wurden makroporöse Elektroden mit unterschiedlichen biokatalytischen Systemen modifiziert. Das Ziel dieser Modifizierungen war es einen selektiven Glukosesensor mit einem erhöhten Signal und somit mit erhöhter Sensitivität und einem verbesserten Signal/Rausch-Verhältnis zu entwickeln. Hierzu wurden makroporöse Elektroden mit verschiedenen Mediatoren und den Enzymen Glukosedehydrogenase (GDH) bzw. Glukoseoxidase (GOD) belegt. Im Folgenden sollen diese Immobilisierungsexperimente beschrieben und diskutiert werden.

#### a) Modifizierung glatter Goldelektroden mit dem System TNF/NAD<sup>+</sup>/GDH

Als sehr effiziente Katalysatoren zur Oxidation von NADH wurden von Mano et al. die Trinitrofluorenone (TNF) entwickelt und sehr umfassend untersucht [155, 156]. Die katalytische Aktivität dieser Moleküle rührt daher, dass die Nitrogruppen selektiv zu Hydroxylamingruppen reduziert (Aktivierung des Mediators) und diese reversibel auf elektrochemischem Wege zu Nitrosgruppen umgesetzt werden können. Diese Nitrosgruppen sind in der Lage durch Aufnahme von zwei Protonen und zwei Elektronen NADH zu NAD<sup>+</sup> zu oxidieren, wobei sie selbst wieder zu Hydroxylamin reduziert werden. Die direkte elektrochemische Oxidation von NADH an einer Elektrode ist stark gehemmt, wodurch man hierzu ein sehr positives elektrochemisches Potential (ca. 1 V vs. Ag/AgCl) an die Elektrode anlegen müsste [157, 158]. Im Falle TNF-modifizierter Elektroden genügt es zur Oxidation von NADH das Oxidationspotential von TNF anzulegen, welches mit -100 mV vs. Ag/AgCl sehr weit im Negativen liegt. In Kombination mit einem Redox-Enzym, z.B. wie der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten GDH, kann somit ein Substrat, in diesem Fall Glukose, selektiv oxidiert werden. Im Vergleich zur direkten Glukoseoxidation, welche auf Goldelektroden durch ein hohes Überpotential erst oberhalb von etwa 1 V vs. Ag/AgCl abläuft, kann die elektroenzymatische Oxidation schon bei -100 mV durchgeführt werden und somit als Modellsystem für einen selektiven Glukose Biosensor verwendet werden. Die bei diesem Prozess ablaufenden Reaktionen sind in Abbildung 5-18 dargestellt.

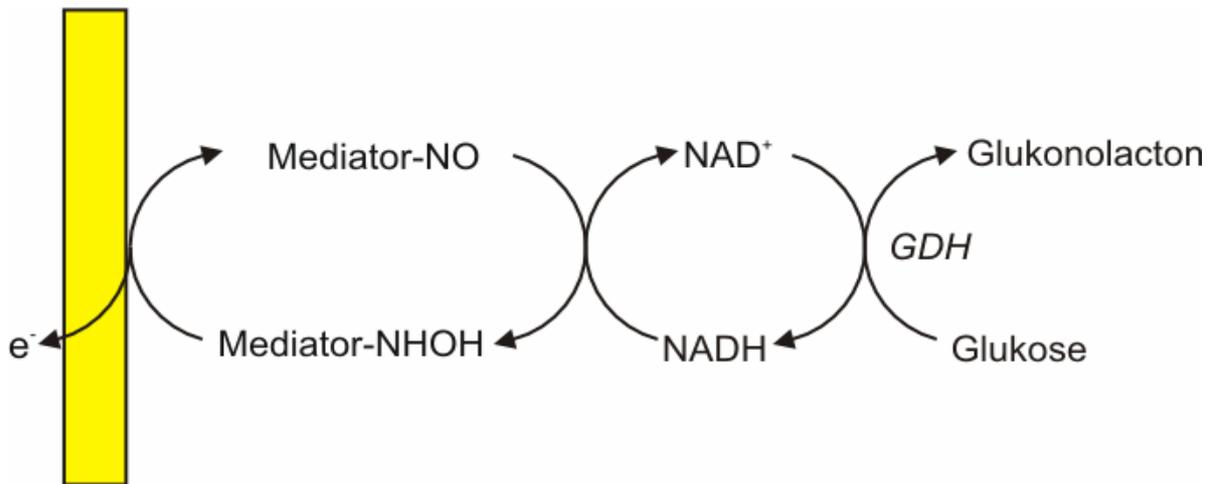


Abbildung 5-18: Schematische Darstellung der elektroenzymatischen Oxidation von Glukose mittels Glukosedehydrogenase.

Während der enzymatischen Oxidation von Glukose zu Glukonolacton werden zwei Elektronen und ein Proton auf NAD<sup>+</sup> übertragen, welches in seine reduzierte Form (NADH) übergeht. Dieses wird über einen Transfer zweier Elektronen auf den Mediator (-NO) rezykliert, und NAD<sup>+</sup> steht zu einer neuerlichen Glukoseoxidation zur Verfügung. Durch den Übertrag von Elektronen vom reduzierten Mediator (-NHOH) auf die Elektrode, welcher als Sensorstrom detektiert werden, wird dieser wiederum in seine Ausgangsform gebracht. Das gesamte System kann somit theoretisch beliebig viele Oxidationszyklen durchlaufen.

Die Strategie, um alle Komponenten auf der Elektrodenoberfläche zu immobilisieren, bestand darin zunächst eine molekulare Monoschicht des Mediators aufzubringen. Hierzu müssen die Moleküle funktionelle Gruppen besitzen, die leicht auf Gold adsorbieren, wie -SH oder -CN. Auf diese Monoschicht sollte der Co-Faktor NADH/NAD<sup>+</sup> über eine elektrostatische Brücke, bestehend aus einem Ca<sup>2+</sup>-Ion, gebunden werden. Dazu wurde ein Mediator verwendet, welcher eine -COOH - Gruppe besaß, durch den die Ca<sup>2+</sup>-Ionen komplexiert werden. Auf der anderen Seite wird dieses Ion von den Phosphatgruppen des NADH/NAD<sup>+</sup> komplexiert, wodurch eine relativ starke Bindung zwischen Mediator und Co-Faktor entsteht. Dabei wird außerdem durch die starke Bindung das Signal der NADH Oxidation bei Anlegen eines Potentials verstärkt [159-161]. Da GDH eine natürliche Affinität zu seinem Co-Faktor NAD<sup>+</sup> besitzt, kann es leicht auf dieser Schicht adsorbieren, womit alle Komponenten auf der Elektrode immobilisiert wären [162] (siehe Abbildung 5-19).

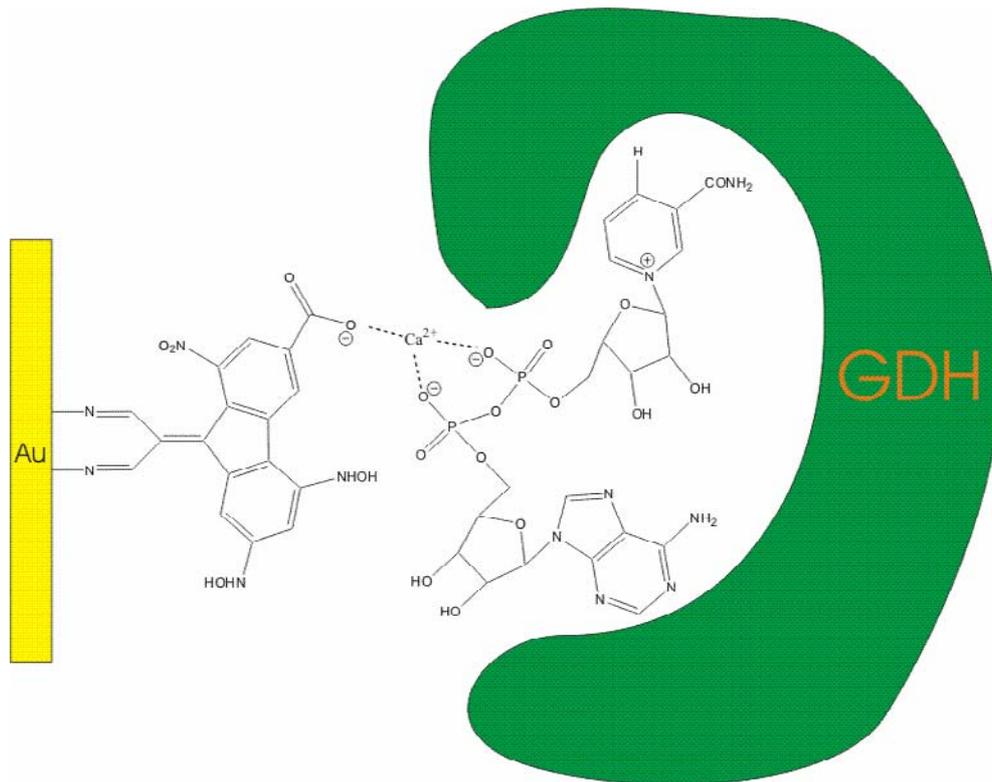
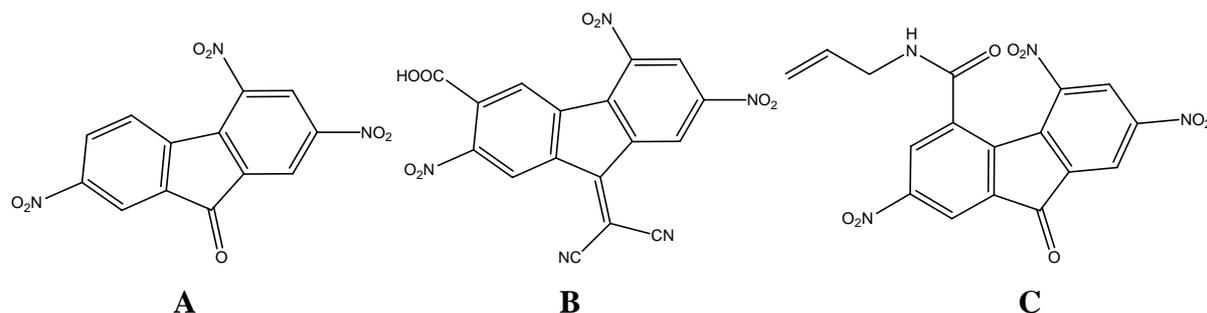


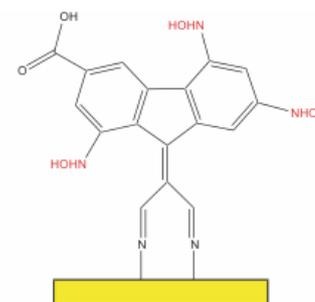
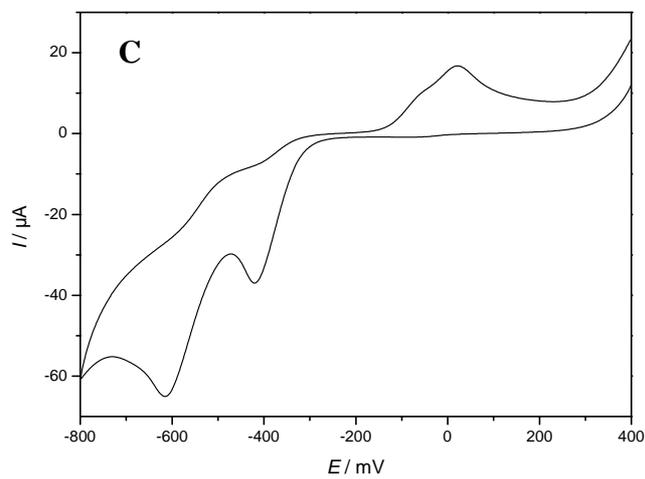
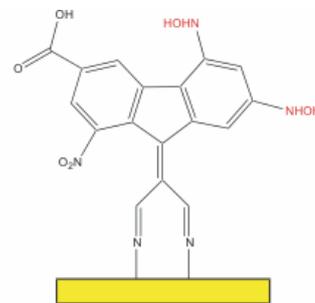
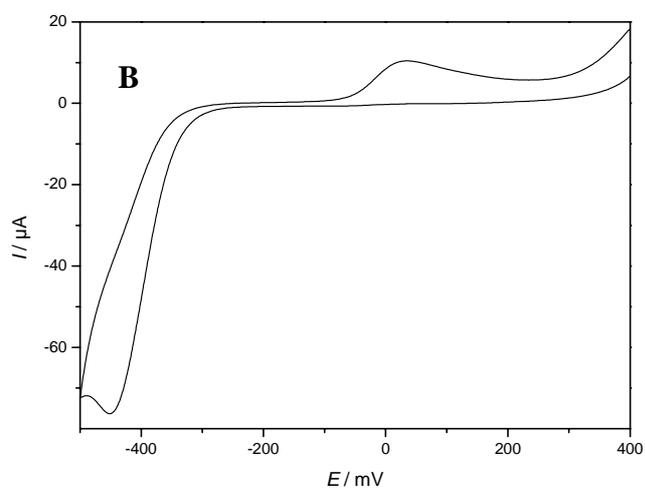
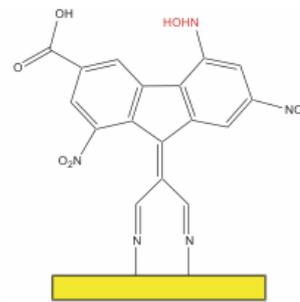
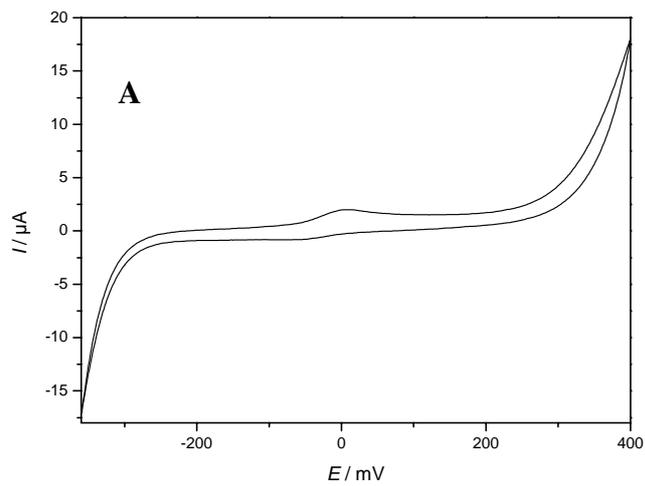
Abbildung 5-19: Darstellung des molekularen Aufbaus des biokatalytischen Systems bestehend aus (2,4,7-Trinitro-9-fluorenylidene)-malonnitril,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NAD}^+$  und GDH auf einer Goldelektrode.

Trinitrofluorenone gibt es mit verschiedenen Modifizierungen zur Immobilisierung auf unterschiedlichen Elektrodenoberflächen (siehe Abbildung 5-20). So können die Moleküle über  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen des aromatischen Systems mit dem  $\pi$ -System von Glaskohlenstoff Bindungen ausbilden oder über Modifizierung mit Nitril- bzw. Allyl-Gruppen auf Gold bzw. Platin adsorbieren. Hierbei werden molekulare Monoschichten ausgebildet, wobei die elektroaktiven Nitrogruppen über konjugierte  $\pi$ -Doppelbindungssysteme leitend mit der Elektrodenoberfläche verbunden sind.



**Abbildung 5-20:** Trinitrofluorenon-Derivate zur Adsorption auf unterschiedlichen Oberflächen. (A): auf Glaskohlenstoff und Graphit, (B) auf Gold, (C) auf Platin [163].

Zunächst wurden glatte Goldelektroden mit (2,4,7-Trinitro-9-fluorenylidene)-malonnitril (Derivat B = TNF) modifiziert, um die katalytischen Eigenschaften zu testen. Hierzu reinigten wurden die Goldelektroden wie in Kapitel 5.1.1 über zyklische Voltammetrie gereinigt und über Nacht in eine 5 mM Lösung des TNF in 0.1 M Tris-Puffer (pH 8) getaucht. Nach Abspülen der modifizierten Elektroden wurde die Mediatorschicht mittels zyklischer Voltammetrie in Tris-Puffer aktiviert. Hierbei konnte durch Wahl des Umkehrpotentials die Anzahl aktivierter Nitro-Gruppen selektiv eingestellt werden (Abbildung 5-21). So wird beim Zyklisieren mit  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  von +300 mV bis -360 mV vs. Ag/AgCl nur eine einzige Nitro-Gruppe aktiviert, bis -500 mV zwei und bis -800 mV alle drei Nitro-Gruppen, was anhand der Anzahl an Reduktionswellen zu erkennen ist. Nach der Reduktion der Nitrogruppen im ersten Zyklus können die entstandenen Nitroso-Gruppen reversibel reduziert und wieder zurück oxidiert werden. Dies ist im zweiten Scan durch Auftreten des -NHOH Oxidationspeaks bei -20 mV vs. Ag/AgCl und des -NO Reduktionspeaks bei -100 mV zu erkennen (Abbildung 5-22).



**Abbildung 5-21:** Zyklische Voltammogramme zur Aktivierung von einer (A), zwei (B) bzw. drei Nitrogruppen (C) in Tris-Puffer,  $\nu = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  [164].

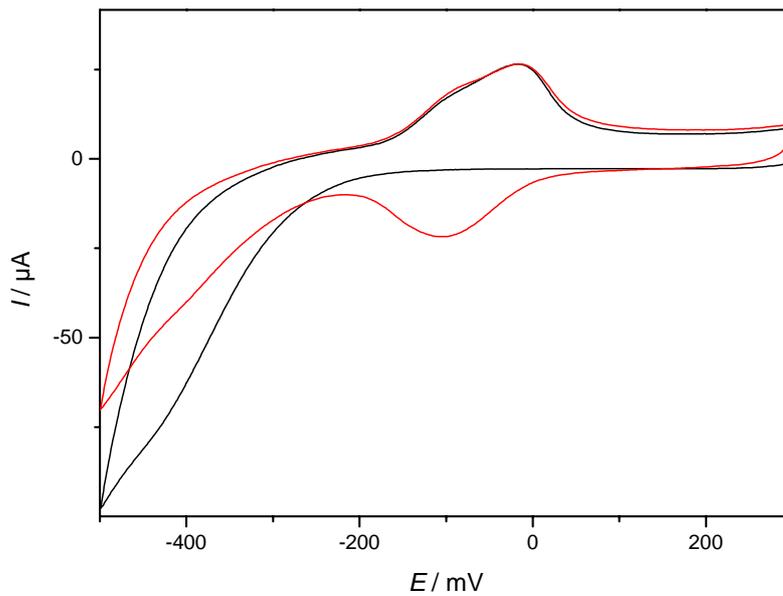


Abbildung 5-22: Zyklische Voltammogramme von TNF auf Gold in Tris-Puffer. schwarz: 1. Scan, rot: 2. Scan,  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Diese aktivierten Mediator Monoschichten wurden als Katalysator für die elektrochemische NADH-Oxidation verwendet. Die katalytische Aktivität wurde zunächst mit in Lösung befindlichem NADH getestet. Hierzu wurden zyklische Voltammogramme der modifizierten Elektroden in einer Lösung aus 3.2 mM NADH und 0.2 M  $\text{CaCl}_2$  in 0.1 M Tris-Puffer aufgenommen. Da es sich hierbei um eine sehr langsame elektrochemische Reaktion handelt wurde eine Scangeschwindigkeit von  $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  gewählt. Deutlich zu sehen ist ein Stromanstieg ab -150 mV, hervorgerufen durch die katalytische Oxidation des NADH (Abbildung 5-23).

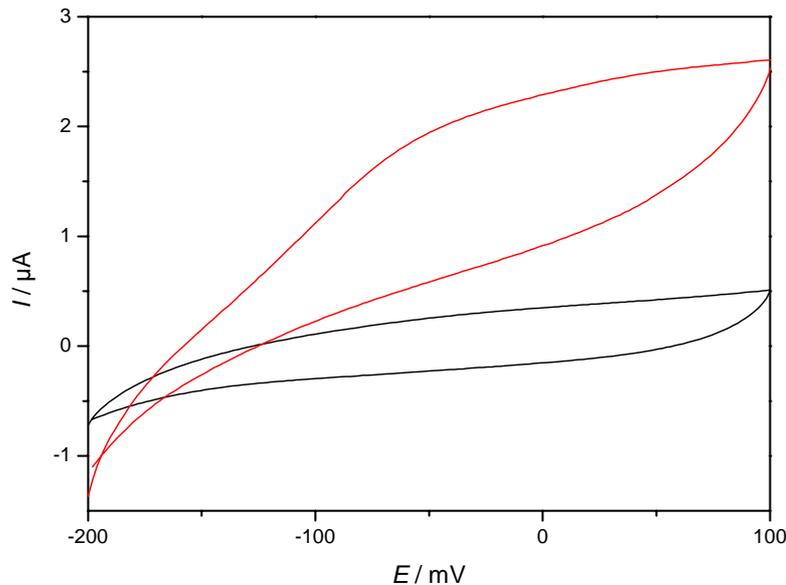


Abbildung 5-23: Zyklische Voltammogramme von TNF-modifizierten Au-Elektroden in reinem Puffer (schwarz) und einer Lösung aus 3.2 mM NADH, 0.2 M CaCl<sub>2</sub> in 0.1 M Tris-Puffer (rot),  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Über die oben beschriebene elektrostatische Ca<sup>2+</sup>-Brücke gelang es auch das NADH auf den TNF-modifizierten Elektroden zu immobilisieren. Hierzu wurden die mit dem Mediator belegten Elektroden in eine Lösung aus 3.2 mM NADH und 0.2 M CaCl<sub>2</sub> in Tris-Puffer getaucht und 1 h in dieser Lösung belassen. Daraufhin wurden die Elektroden mit ultra-reinem Wasser abgespült und die Oxidation des immobilisierten NADH über zyklische Voltammetrie gemessen. Wie im Falle des NADH in Lösung kann hier ein deutlicher Stromanstieg ab -100 mV festgestellt werden, der der NADH-Oxidation zuzuordnen ist (siehe Abbildung 5-24). Allerdings ist der gemessene Oxidationsstrom für das adsorbierte NADH wesentlich kleiner (ca. 400 nA) als für die Oxidation in Lösung (ca. 3 µA), da die Stoffmenge adsorbierter Moleküle im Vergleich zur verwendeten Lösungskonzentration relativ gering ist. Dieser Oxidationsstrom ist nur im ersten Zyklus zu sehen, da das NADH irreversibel oxidiert wird und somit im zweiten Zyklus nicht mehr für eine Oxidation zur Verfügung steht. Das Aussehen des Voltammogramms des zweiten Zyklus ähnelt somit dem einer Elektrode ohne NADH-Modifizierung.

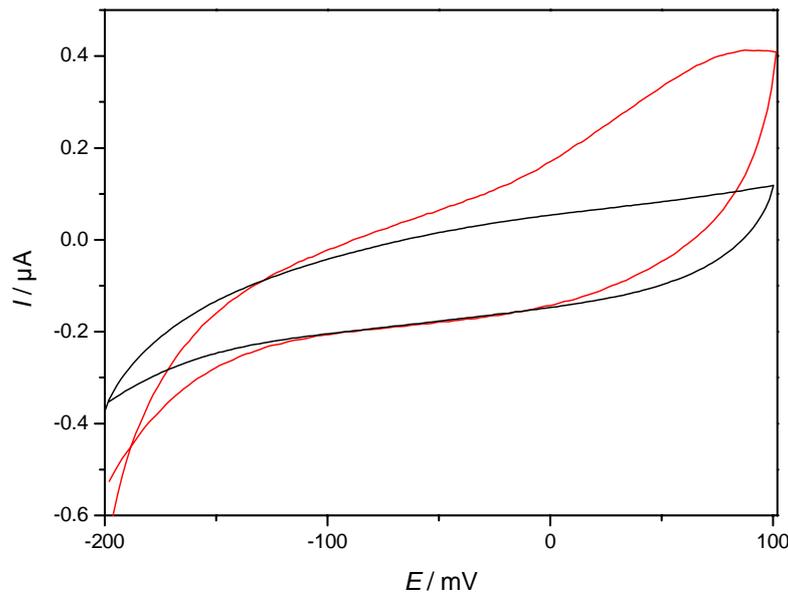
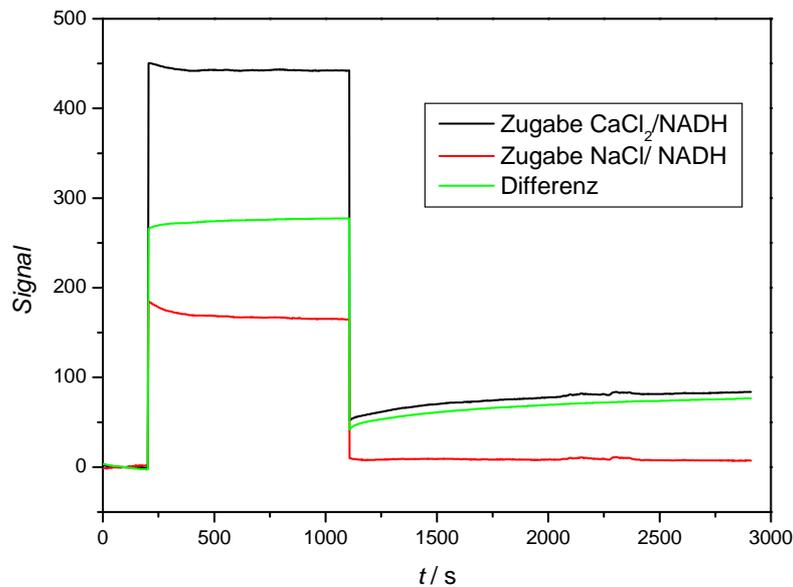


Abbildung 5-24: Zyklische Voltammogramme von mit TNF-modifizierten Goldelektroden in Tris-Puffer,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ; schwarz: ohne Co-Faktor, rot: mit  $\text{Ca}^{2+}/\text{NADH}$  modifiziert.

Dieses Experiment zeigt also, dass es möglich ist, das System TNF/  $\text{Ca}^{2+}/\text{NADH}$  auf einer Elektrode zu immobilisieren.

Die Adsorption des NADH wurde ebenfalls über SPR (Surface Plasmon Resonance) verfolgt. Die verwendeten Proben bestanden aus mit Gold bedampften Glaschips, die mit TNF modifiziert und elektrochemisch aktiviert wurden. Diese wurden in das Flusssystem der SPR-Apparatur eingesetzt und nacheinander Lösungen von 0.2 M  $\text{CaCl}_2$  bzw. 3.2 mM NADH in 0.1 M Tris (pH 8) in Kanal 1 der Apparatur injiziert. Gleichzeitig wurde ein Kontrollexperiment in Kanal 2 durch Zugabe von 0.2 M NaCl und 3.2 mM NADH in Tris durchgeführt. Das Messsignal, die Änderung des Totalreflexionswinkels, ist dabei direkt proportional zum Brechungsindex in der direkten Umgebung der Goldoberfläche, welcher wiederum direkt proportional zur Belegung mit einer bestimmten Spezies ist. Somit konnte der Belegungsgrad in Echtzeit verfolgt werden, was es auch ermöglicht Adsorptionskinetiken zu bestimmen (Abbildung 5-25).

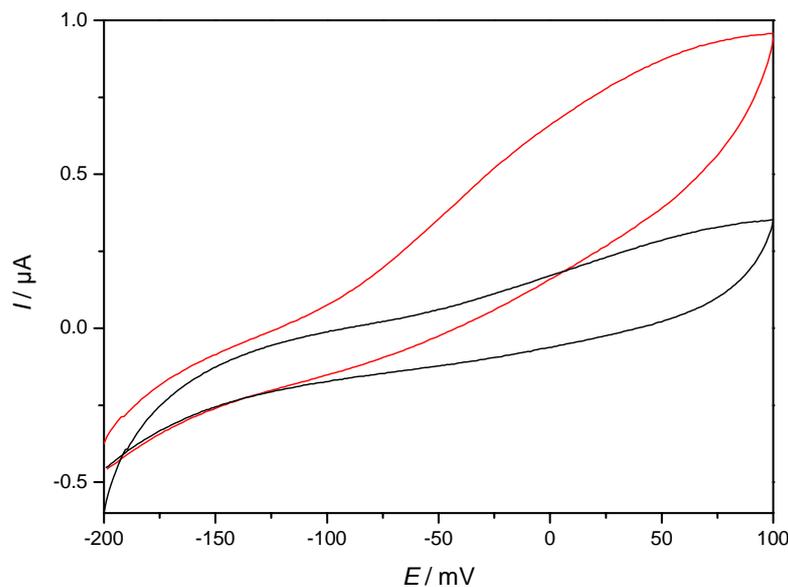


**Abbildung 5-25:** SPR-Signale während der Adsorption von  $\text{Ca}^{2+}$  und NADH auf TNF modifiziertem Gold. Schwarz: Zugaben von 0.2 M  $\text{CaCl}_2$  und 3.2 mM NADH nacheinander, rot: Kontrollexperiment mit 0.2 M NaCl und 3.2 mM NADH, grün: Differenz der beiden Messkurven.

Im Falle des Kontrollexperimentes erkennt man beim Injizieren des NaCl zunächst einen Anstieg des Signals, was auf Wechselwirkungen zwischen den Natriumionen und den Carboxylgruppen des TNF hindeutet. Dieses Signal wird auch im Falle der  $\text{CaCl}_2$ -Injektion beobachtet, wobei dieses durch die größere Ladung der Ionen höher ist. In beiden Fällen stellt sich dieser Wert jedoch nicht schlagartig ein, sondern das Adsorptionsgleichgewicht wird erst nach etwa 180 s erreicht. Wird nun die NADH-Lösung injiziert, so fällt das Signal im Kontrollexperiment wieder auf seinen ursprünglichen Wert, da das NADH selbst nicht mit den Carboxylgruppen wechselwirken kann und kein NaCl mehr in der Lösung vorhanden ist. Im Gegensatz hierzu lässt sich für den Kanal 1 ein langsamer Anstieg des Signals feststellen, was auf eine Adsorption von NADH auf einer adsorbierten Lage aus  $\text{Ca}^{2+}$  hinweist. Zur vollständigen Bedeckung der Goldelektroden ist etwa eine Wartezeit von 1500 s notwendig. Diese elektrostatische Bindung zwischen TNF,  $\text{Ca}^{2+}$  und NADH ist also relativ stabil, was sich daran sehen lässt, dass das NADH trotz Abwesenheit von gelöstem  $\text{Ca}^{2+}$  immobilisiert werden kann.

Der nächste Schritt war es, die mit dem System TNF/  $\text{Ca}^{2+}$ / NADH modifizierten Elektroden für die enzymatische Oxidation von Glukose zu verwenden. Hierzu sollte das Enzym Glukosedehydrogenase auf diese Elektroden aufgebracht werden. Zunächst wurden

Elektroden mit einer TNF Monoschicht in einer Lösung aus 3.2 mM  $\text{NAD}^+$  und 0.1 M  $\text{CaCl}_2$  in Tris-Puffer zykl voltammetrisch vermessen, wobei die Lösung 3 U GDH (aus *Pseudomonas spec.*, Fluka) enthielt. Danach wurde der Lösung 10 mM Glukose zugegeben und die Messung wiederholt. In den zyklischen Voltammogrammen in Anwesenheit von Glucose lässt sich deutlich ein Stromanstieg erkennen (siehe Abbildung 5-26). Dieses Signal entspricht der Oxidation von NADH, welches durch die enzymatische Oxidation von Glukose gebildet wird.



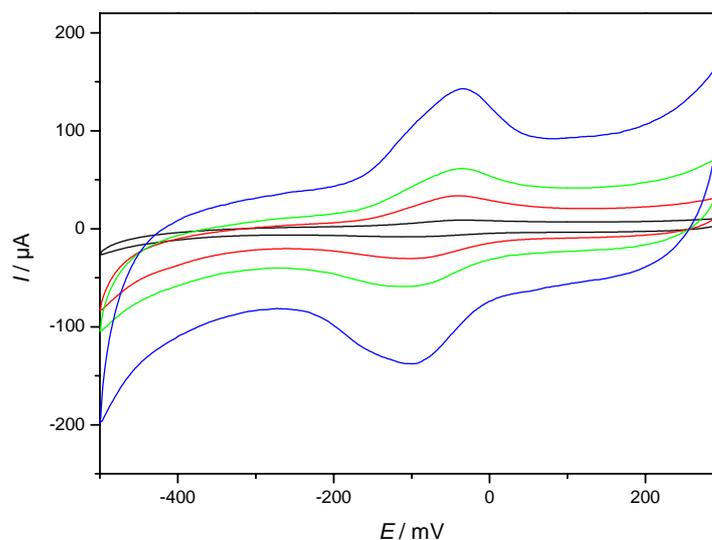
**Abbildung 5-26:** Zyklische Voltammogramme einer TNF- modifizierten Goldelektrode in einer Lösung aus 3.2 mM  $\text{NAD}^+$ , 0.2 M  $\text{CaCl}_2$  und 3 U/mL GDH in 0.1 M Tris-Puffer,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: in Abwesenheit von Glukose, rot: in Anwesenheit von 10 mM Glukose.

Das System TNF/ $\text{NAD}^+$ /GDH ist also sehr gut dazu geeignet, Glukose zu detektieren und die Konzentration in ein elektrisches Signal umzuwandeln. Allerdings gelang es nicht, dieses System durch die oben genannten Wechselwirkungen auf der Elektrode zu immobilisieren. Dies liegt offenbar daran, dass das Enzym nicht stark genug auf der  $\text{NAD}^+$ - Schicht adsorbiert und somit beim Eintauchen in die Glukoselösung wieder von der Elektrode wegdiffundieren kann. Um einen reagenzienfreien Biosensor zu konstruieren ist es deshalb notwendig, das Enzym unter Zuhilfenahme eines Quervernetzlers zu binden, was in Kapitel 5.2.6 weiter diskutiert wird.

## b) Makroporöse Elektroden für die elektroenzymatische Glukoseoxidation

Um die Signalintensität des Biosensorsystems TNF/ NAD<sup>+</sup>/ GDH zu erhöhen und somit die Sensitivität und das Signal/ Rausch-Verhältnis zu verbessern, wurden die Experimente des vorherigen Kapitels mit makroporösen Elektroden durchgeführt und der Einfluss der Dicke der porösen Schichten untersucht. Bereits Ben-Ali [144, 165, 166] et al. untersuchten die Modifizierung makroporöser Elektroden mit diesem System. Allerdings wurden diese Untersuchungen nur mit sehr dünnen porösen Schichten (maximal 2½ Kugelschichten) durchgeführt.

Zunächst wurden die makroporösen Elektroden wie beschrieben mit TNF modifiziert und zyklische Voltammogramme in Tris-Puffer aufgenommen. In Abbildung 5-27 ist deutlich der Anstieg des TNF- Signals mit zunehmender Dicke der porösen Schichten zu erkennen, wobei ein linearer Zusammenhang zwischen Peakintegral, somit der Menge an adsorbiertem Mediator, und der Schichtzahl der porösen Elektroden besteht.

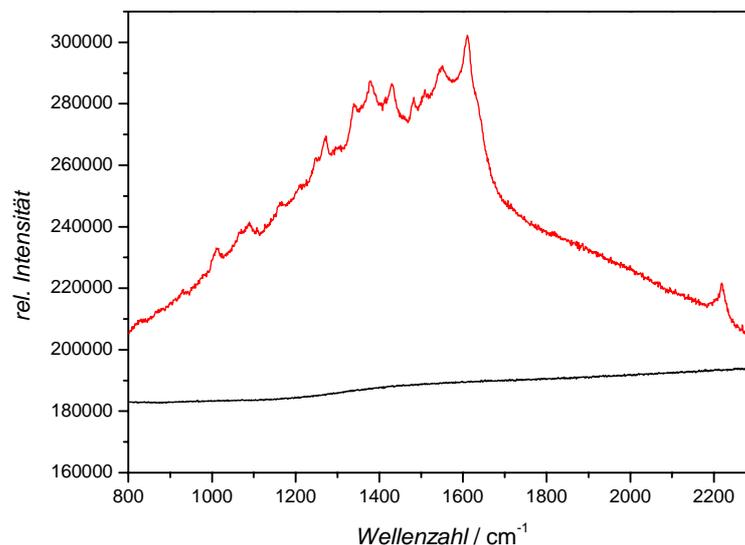


**Abbildung 5-27:** Zyklische Voltammogramme mit TNF modifizierter makroporöser Elektroden in Tris-Puffer,  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: ½ Kugelschicht, rot: 1½, grün: 3½, blau: 7½ Kugelschichten,  $d = 680 \text{ nm}$ .

Für eine Elektrode mit 7½ Kugelschichten erhält man durch Peakintegration eine Ladungsdichte von  $8,33 \cdot 10^{-5} \text{ C}\cdot\text{cm}^{-2}$ , was einer Molekülbedeckung mit TNF von  $2,158 \cdot 10^{10} \text{ mol}\cdot\text{cm}^{-2}$  entspricht. Dieser Wert liegt genau in der Größenordnung der Bedeckung der gesamten inneren Oberfläche mit einer molekularen Monolage. Im Vergleich zu einer glatten

TNF modifizierten Elektrode, mit einer Ladungsdichte von  $2.87 \cdot 10^{-6} \text{ C} \cdot \text{cm}^{-2}$  ( $7.44 \cdot 10^{-12} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) entspricht dies einer Erhöhung der Belegung um einen Faktor von 29. Dies ist in sehr guter Übereinstimmung mit dem in Kapitel 5.1.1 berechneten Faktor 27 für die Erhöhung der aktiven Oberfläche. Der Mediator kann also in das poröse System hineindiffundieren und die gesamte aktive Oberfläche mit einer Monoschicht bedecken.

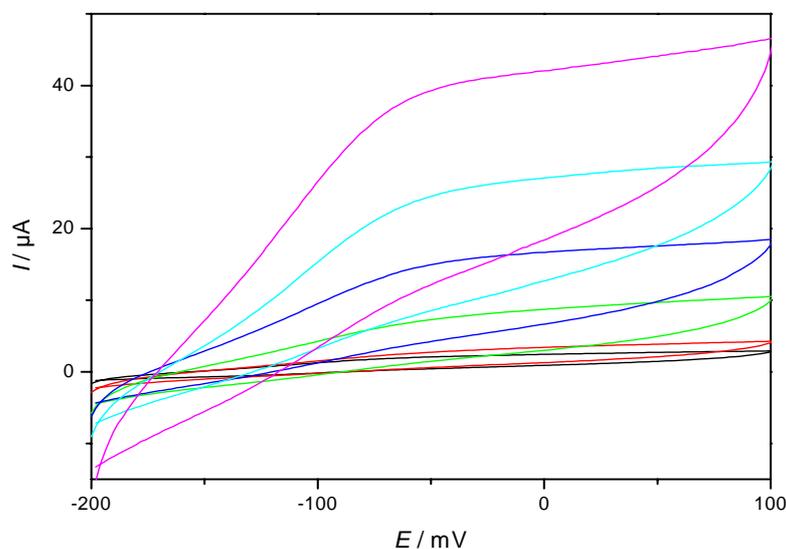
Auch durch Oberflächen-verstärkte-Raman-Spektroskopie (SERS) kann man die Adsorption des TNF auf porösen Goldsubstraten nachweisen. Diese Experimente wurden sowohl auf glatten als auch auf porösen Elektroden durchgeführt. Die charakteristischen Raman-Linien lassen sich jedoch nur auf porösem Gold beobachten, da auf solchen Substraten das Raman-Signal durch Oberflächenplasmonresonanz verstärkt wird. Bei Bestrahlung solcher nanoskaliger Strukturen mit elektromagnetischer Strahlung wird das Elektronengas zu Schwingungen angeregt, es treten so genannte Plasmonresonanzen auf. Durch diese wird das Raman-Signal um mehrere Größenordnungen erhöht, so dass noch bei sehr geringen Oberflächenbelegungen Signale auftreten. Im Gegensatz dazu tritt auf glatten Substraten kein Verstärkungseffekt auf, wodurch das Raman-Signal des TNF vollständig im Untergrundrauschen verschwindet (Abbildung 5-28). Da es sich bei der Plasmon-Resonanz-Verstärkung um einen sehr starken Effekt handelt ist es nicht verwunderlich, dass die Signale schon für  $\frac{1}{2}$  Porenschicht um mehrere Größenordnungen erhöht werden.



**Abbildung 5-28:** SERS-Spektren von adsorbiertem TNF auf einer glatten Goldelektrode (schwarz) und einer makroporösen mit einer Schichtdicke von  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht und einem Porendurchmesser von 1100 nm (rot).

Auf porösen Elektroden mit einer Porenschichtdicke von  $\frac{1}{2}$  Kugelschichten und einem Porendurchmesser von 1100 nm lassen sich jedoch deutlich die charakteristischen Linien erkennen. So sieht man bei  $2200\text{ cm}^{-1}$  die Linie für die  $\text{C}\equiv\text{N}$  bzw. bei  $1610\text{ cm}^{-1}$  für die aromatische  $\text{C}=\text{C}$  Streckschwingung. Für die  $\text{NO}_2$ -Gruppen treten zwei Banden bei  $1550\text{ cm}^{-1}$  und  $1380\text{ cm}^{-1}$  auf, die der antisymmetrischen und der symmetrischen Streckschwingung entsprechen. Makroporöse Elektroden eignen sich also neben der Verwendung als Elektroden mit erhöhter Oberfläche auch als Substrate zur spektroskopischen Charakterisierung adsorbierter Spezies mittels SERS.

Als nächstes wurde untersucht, ob die Poren groß genug sind, um es der relativ großen GDH zu erlauben in die makroporöse Schicht hinein zu diffundieren und somit die enzymatische Oxidation von Glukose an solchen Schichten möglich ist. Hierzu wurde zunächst die katalytische Aktivität TNF-modifizierter makroporöser Elektroden für die NADH- Oxidation in Lösung getestet. Analog zur aktiven Oberfläche skaliert der katalytische Strom des NADH mit der Anzahl an Hohlkugelschichten und ergibt einen linearen Verlauf. Somit kann die gesamte innere Oberfläche für diese Reaktion genutzt werden (Abbildung 5-29).



**Abbildung 5-29:** Zyklische Voltammogramme von TNF-modifizierten makroporösen Gold-Elektroden in einer Lösung aus  $3.2\text{ mM NADH}$  und  $0.2\text{ M CaCl}_2$  in  $0.1\text{ M Tris-Puffer}$ ,  $v = 10\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: glatte, rot:  $\frac{1}{2}$  Kugelschicht, grün:  $1\frac{1}{2}$ , blau:  $2\frac{1}{2}$ , zyan:  $3\frac{1}{2}$ , magenta:  $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $d = 680\text{ nm}$ .

Solche Untersuchungen wurden bereits von Ben-Ali et. durchgeführt. Jedoch besaßen die porösen Elektroden maximal eine Dicke von  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten, wodurch das Signal nur um das fünffache erhöht werden konnte [144, 165].

Auch konnte das NADH, wie im Falle der glatten Goldelektroden mit Hilfe einer elektrostatischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Brücke auf der gesamten innere Oberfläche aufgebracht werden und wie erwartet eine lineare Verstärkung des NADH-Signals um einen Faktor 30 für  $7\frac{1}{2}$  Porenschichten erhalten werden (Abbildung 5-30).

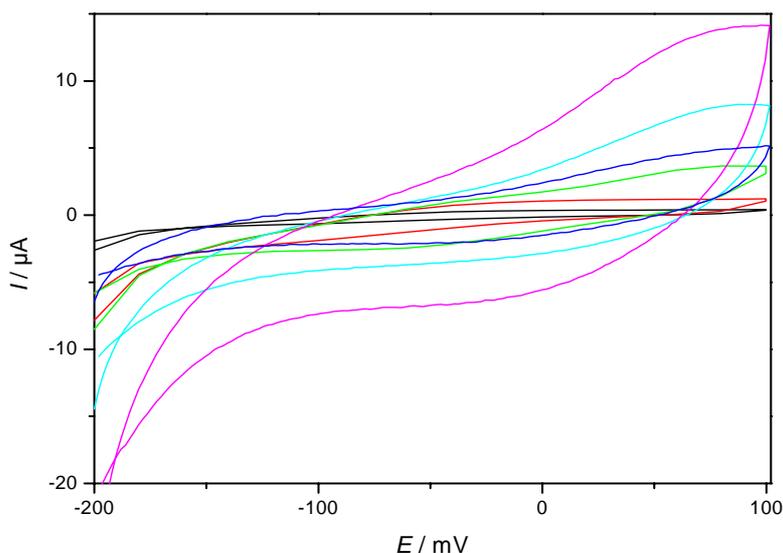


Abbildung 5-30: Zyklische Voltammogramme von TNF/ $\text{Ca}^{2+}$ /NADH-modifizierten makroporösen Gold-Elektroden in 0.1 M Tris-Puffer,  $\nu = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: glatte Elektrode, rot:  $\frac{1}{2}$ , grün:  $1\frac{1}{2}$ , blau:  $2\frac{1}{2}$ , zyan:  $3\frac{1}{2}$ , magenta:  $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $d = 680 \text{ nm}$ .

Wie schon mehrfach veröffentlicht kann man zur Erhöhung der aktiven Oberfläche an Stelle kolloidaler Kristalle als Templat auch hexagonale Flüssigkristalle verwenden und somit mesoporöse Elektroden erhalten [167, 168]. Diese mesoporösen Elektroden besitzen zwar im Vergleich zu makroporösen eine aktive Oberfläche, die um ein bis zwei Größenordnungen höher ist, jedoch können durch den kleinen Porendurchmesser von etwa 5 nm nur kleine Moleküle in die Poren eindringen. Dies wurde schon im Vorfeld dieser Arbeit bei dem Versuch Enzyme in solchen porösen Elektroden zu immobilisieren festgestellt. Hierbei zeigte sich, dass die katalytische Aktivität nicht oder nur geringfügig stieg, also das Innere der Poren nicht mit Enzymen belegt werden konnte, da das Enzym durch seine Größe bedingt nicht in die kleinen Poren eindringen konnte. Auf solchen Systemen konnte noch nicht einmal das

TNF, welches im Vergleich zu Enzymen ein relativ kleines Molekül darstellt, immobilisiert werden [166]. Da die Verbindungskanäle zwischen den einzelnen Poren in makroporösen Elektroden nur etwa 25 % des Porendurchmessers ausmachen, also bei Elektroden mit einem Porendurchmesser von 460 nm etwa 100 nm, ist es auch bei makroporösen Elektroden keineswegs trivial, dass Enzyme in das Innere solcher Systeme hineindiffundieren können. Zu diesem Zweck wurde getestet, ob bei der elektroenzymatische Oxidation von Glukose wie im Falle der vorherigen Experimente eine lineare Erhöhung des Faradayschen Stroms als Funktion der Porenschichtzahl erhalten werden kann. Hierzu wurden zyklische Voltammogramme der makroporösen, mediatorsmodifizierten Elektroden in einer Lösung aufgenommen, die außer  $\text{NAD}^+$  und  $\text{CaCl}_2$  auch GDH und Glukose enthielten (Abbildung 5-31).

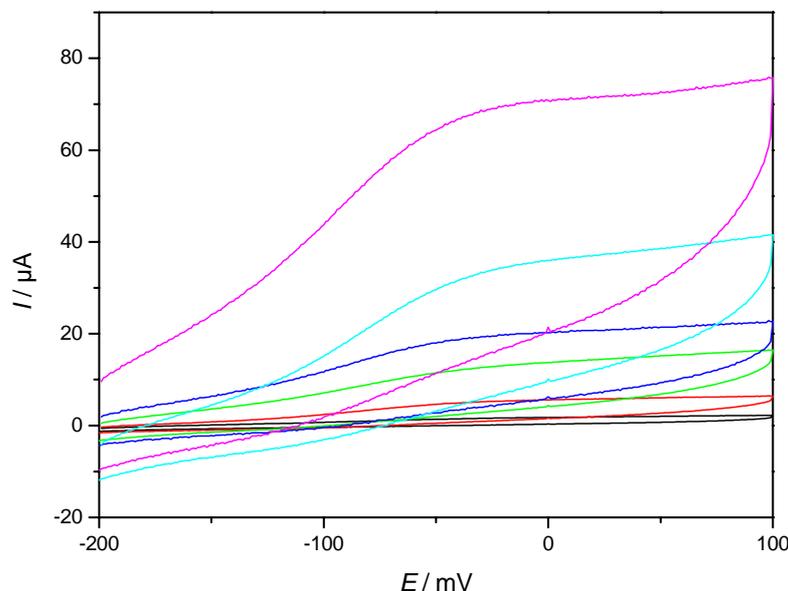


Abbildung 5-31: Zyklische Voltammogramme von TNF-modifizierten makroporösen Goldelektroden in 3.2 mM  $\text{NAD}^+$ , 0.2 M  $\text{CaCl}_2$  und 3 U/mL GDH in 0.1 M Tris-Puffer in Anwesenheit von 10 mM Glukose,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: glatt, rot  $1/2$ , grün:  $1\frac{1}{2}$ , blau:  $2\frac{1}{2}$ , zyan:  $3\frac{1}{2}$ , magenta:  $7\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $d = 680 \text{ nm}$ .

Aus dem Ergebnis, dass der Oxidationsstrom einer Elektrode mit  $7\frac{1}{2}$  Hohlkugelschichten 25 mal höher ist als der einer glatten Elektrode, lässt sich folgern, dass bei einem Porendurchmesser von 680 nm die Verbindungskanäle groß genug sind, damit das Enzym in alle Poren hineindiffundieren kann (Abbildung 5-32). Alle Poren sind somit für enzymatische

Reaktionen aktiv. Zu dem gleichen Ergebnis gelangten auch Ben-Ali et al., wobei hier die erreichten Signalerhöhungen wesentlich niedriger waren [144].

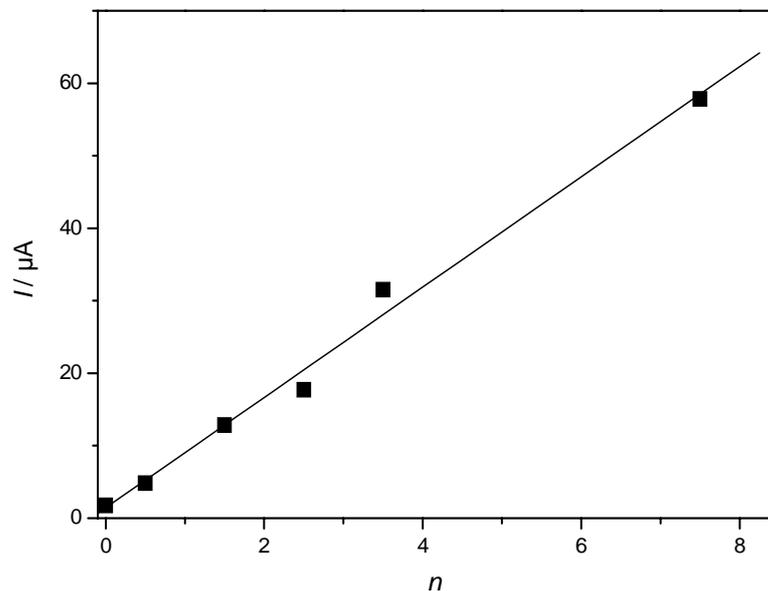


Abbildung 5-32: Oxidationsstrom bei +100 mV als Funktion der Zahl der porösen Schichten  $n$ .

### 5.2.6 Immobilisierung von Enzymen auf makroporösen Elektroden

Wie schon bei den Experimenten zur enzymatischen Oxidation von Glukose auf glatten Elektroden festgestellt wurde, lässt sich die katalytische Kette nicht fest über die beschriebenen Wechselwirkungen an die Elektrode binden. Da die einzelnen Molekülschichten (v. a. die Enzymschicht) sich leicht wieder von der Oberfläche lösen, müssen die Enzyme auf andere Art und Weise befestigt werden. Hierzu wurden die Enzymmoleküle zunächst kovalent über querverknüpfende Moleküle miteinander vernetzt. Zu diesem Zweck wurde Glutaraldehyd verwendet, das sehr häufig zum Vernetzen von Proteinen bzw. Enzymen verwendet wird [153, 169-173]. Durch Kondensation seiner beiden Aldehydgruppen mit Amino-Gruppen in den Enzymen entstehen hierbei kovalente Imin-Bindungen, wobei das Glutaraldehyd zwei Enzymmoleküle miteinander verknüpft (siehe Abbildung 5-33). Ein Problem dieser Methode ist es, dass Enzyme durch die kovalenten Bindungen leicht ihre tertiäre Struktur verändern, dadurch denaturieren und somit ihre Aktivität verlieren [174]. Dies wurde verhindert, indem ein neutrales Protein, das Rinderserum Albumin (BSA), im

Überschuss zugegeben wurde. Dieses BSA wird, da im Überschuss vorhanden, vornehmlich vernetzt und das eigentlich aktive Enzym GDH wird von diesem Netzwerk eingeschlossen und somit immobilisiert, ohne dass eine kovalente Bindung zu diesem nötig ist.

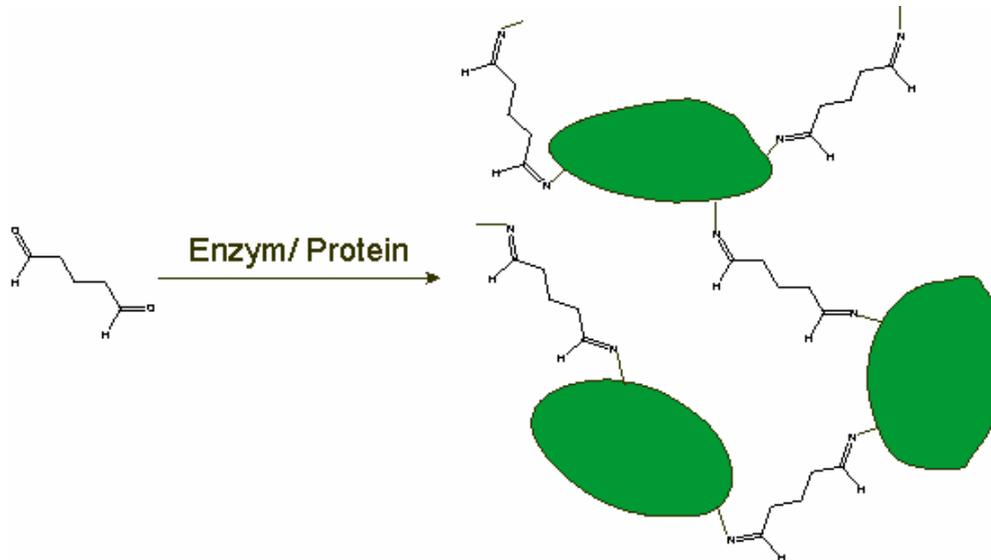
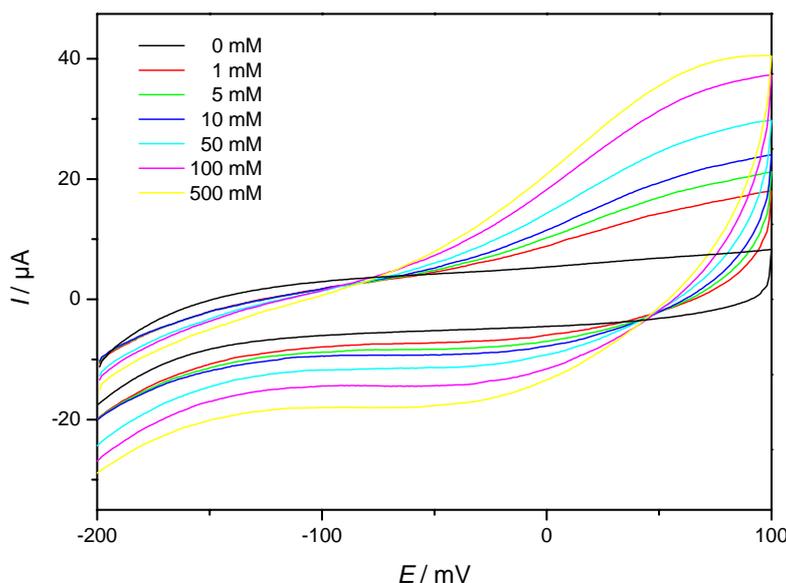


Abbildung 5-33: Schematische Darstellung der Vernetzung von Proteinen (grün) mittels Glutaraldehyd.

Die Immobilisierung des  $\text{NAD}^+$  und des GDH samt Vernetzung mit Glutaraldehyd wurden in zwei Schritten durchgeführt. Zunächst wurden  $10 \mu\text{L}$  einer Lösung aus  $3.2 \text{ mM}$   $\text{NAD}^+$  und  $0.2 \text{ M}$   $\text{CaCl}_2$  in Tris-Puffer auf die gereinigten Elektroden aufgetropft und eintrocknen gelassen. Auf die so behandelten Proben wurde nun  $10 \mu\text{L}$  einer Lösung bestehend aus  $25 \text{ U/mL}$  GDH,  $40 \text{ mg/mL}$  BSA und  $100 \mu\text{L/mL}$  Glutaraldehyd in Tris-Puffer aufgegeben und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt [175]. Die lackartig glänzenden modifizierten Elektroden wurden mit Tris-Puffer gespült und bis zur weiteren Verwendung in Puffer im Kühlschrank aufbewahrt. Mit dieser Methode wurden vier unterschiedliche Elektroden modifiziert: eine glatte und drei makroporöse mit  $2\frac{1}{2}$  ( $d = 1100 \text{ nm}$ ),  $3\frac{1}{2}$  ( $d = 680 \text{ nm}$ ) und  $5\frac{1}{2}$  Kugelschichten ( $d = 460 \text{ nm}$ ). Danach wurden die Elektroden durch zyklische Voltammetrie in Tris-Puffer mit unterschiedlichen Glukosekonzentrationen vermessen. In Abbildung 5-34 sind diese Messungen der Elektrode mit  $3\frac{1}{2}$  Porenschichten und einem Porendurchmesser von  $680 \text{ nm}$  für Glukosekonzentrationen bis  $0.5 \text{ M}$  gezeigt. Wie man sieht steigt der Faradaystrom mit der Glukosekonzentration an.



**Abbildung 5-34:** Zyklische Voltammogramme einer TNF-modifizierten makroporösen Goldelektrode auf welche mittels einer Glutaraldehyd/BSA-Vernetzung  $\text{NAD}^+$  und GDH immobilisiert wurde. Die Voltammogramme wurden in Tris-Puffer mit unterschiedlichen Glukosekonzentrationen aufgenommen. Porendurchmesser  $d = 680 \text{ nm}$ , Schichtdicke:  $3\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Trägt man den Faradaystrom bei +100 mV gegen die Glukosekonzentration auf, so erhält man eine Kalibrierkurve in der typischen Form einer Michaelis-Menten-Sättigungskurve, welche nach der Hyperbel-Gleichung 5-6 gefittet werden konnte (Abbildung 5-35).

$$I = \frac{I_{\max} \cdot c}{K_M + c} \quad (5-7)$$

Hierbei ist  $I$  der reine Faradaystrom, das Signal bei +100 mV, von dem das Signal der Messung ohne Glukose, also der kapazitive Strom, abgezogen wurde.  $K_M$  ist die Michaelis-Menten-Konstante und  $c$  die Glukosekonzentration. Der Strom steigt bei kleinen Konzentrationen zunächst linear an (linearer Bereich), bevor die Kurve abflacht und eine Sättigung erreicht wird. Dieser Sättigungsstrom wird durch den Wert  $I_{\max}$  definiert, welcher eine Aussage über die Intensität der gemessenen globalen Signale gibt. Eine hohe

Signalintensität bedeutet eine höhere Sensitivität und somit die Möglichkeit auch sehr kleine Konzentrationen zu detektieren. Die Michaelis-Menten-Konstante  $K_M$  hingegen gibt an, bei welcher Konzentration Halbsättigung vorliegt. Bei kleinen  $K_M$  tritt Sättigung schon bei kleinen Konzentrationen auf, bei großen erst bei hohen Konzentrationen.  $K_M$  steht also im direkten Zusammenhang zur oberen Bestimmungsgrenze des Analyten. Ein System mit einem großen  $K_M$ -Wert erlaubt es also auch hohe Konzentrationen zu messen.

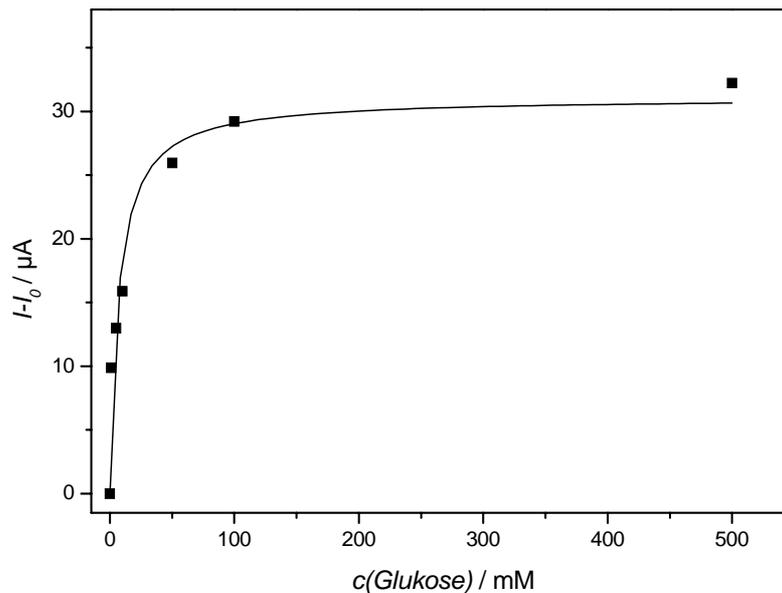
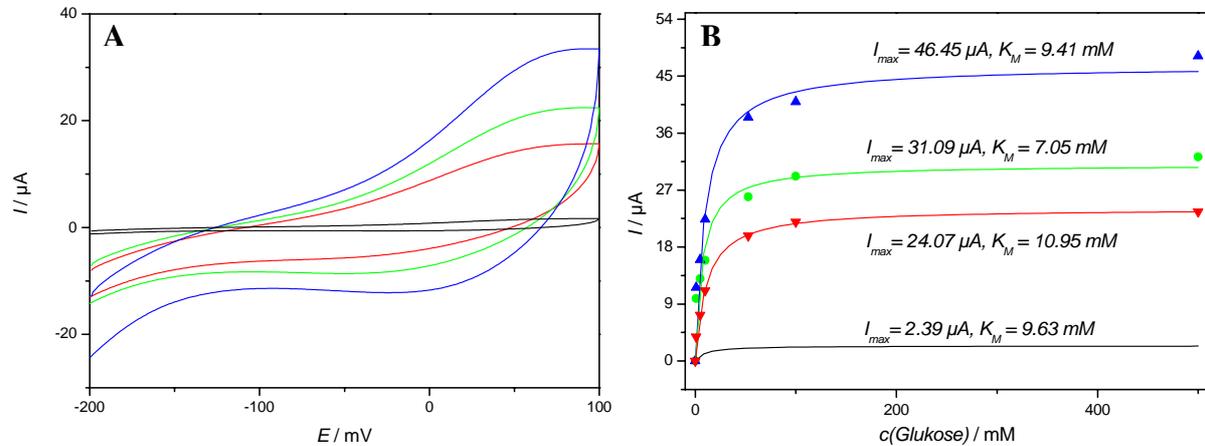


Abbildung 5-35: Michaelis-Menten-Kurve der Ströme bei +100 mV aus Abbildung 5-34.

Vergleicht man die Signale makroporöser Elektroden mit unterschiedlichen Porenzahlen und -durchmessern, so sieht man, dass das globale Signal, also der  $I_{\text{max}}$ -Wert unabhängig vom Porendurchmesser mit der Porenzahl skaliert (siehe Abbildung 5-36). Das bedeutet, dass auch kleine Poren bis wenigstens 460 nm Porendurchmesser vollständig mit Enzym gefüllt werden können und dieses über die Vernetzung in dem porösen System eingeschlossen wird. Folglich kann durch die Porosität und das Vernetzen der Enzyme ein stabiler Biosensor erzeugt werden, der durch die Erhöhung des  $I_{\text{max}}$ -Wertes eine verbesserte Sensitivität besitzt und dadurch eine höhere untere Bestimmungsgrenze. Die obere Bestimmungsgrenze bleibt dabei jedoch unbeeinflusst, was sich im  $K_M$ -Wert äußert (Abbildung 5-36 B). Die erhaltenen  $K_M$ -Werte waren wenig reproduzierbar, wobei keinerlei Tendenz zu einer Erhöhung dieses Wertes mit Vergrößerung der Porosität zu erkennen war. Die Stabilität der so modifizierten Elektroden wurde über 7 Tage hin kontrolliert, wobei sie stets bei 4°C gelagert wurden. Das

Signal verringerte sich innerhalb dieses Zeitraums um nur ca. 30 %. Erst nach etwa 30 Tagen konnte mit den Elektroden kein Glukosesignal mehr gemessen werden.



**Abbildung 5-36:** (A) Zyklische Voltammogramme von mit Glutaraldehyd/BSA behandelten makroporösen Goldelektroden mit unterschiedlicher Porenzahl und Porendurchmessern bei einer Glukosekonzentration von 10 mM,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: glatt; rot: 1100 nm, 2 1/2 Kugelschichten; grün: 680 nm, 3 1/2; blau: 460 nm, 5 1/2. (B) Zugehörige Michaelis-Menten-Kurven.

Da die Vernetzung von Enzymen mittels Glutaraldehyd zu wenig reproduzierbaren Ergebnissen führte, was wohl auf Denaturierungseffekte zurückzuführen ist, wurde versucht Enzyme in ein Netzwerk eines Elektrodepositions-lack einzubauen. Hierzu wurde der kommerziell erhältliche und industriell zur Lackierung von Karosserien verwendete anodische Tauchlack Resydrol AY498w735WA benutzt. Bei diesem Lack handelt es sich um ein Co-Polymer aus Acrylsäure und verschiedenen Acrylaten. In den Lack wurde das Enzym Glukoseoxidase (GOD) eingebaut, welches wesentlich stabiler ist als GDH und außerdem zur Bestimmung von Glukose keinen zusätzlichen Mediator benötigt, da bei der enzymatischen Glukoseoxidation mit GOD  $\text{H}_2\text{O}_2$  entsteht, welches direkt an der Elektrode detektiert werden kann (Abbildung 5-37). Während der Oxidation von  $\beta$ -D-Glukose zu D-Glukono- $\delta$ -lacton wird die GOD von der  $\text{FAD}^+$ -Form zur  $\text{FADH}_2$ -Form reduziert. Dieses gelangt durch Reduktion von gelöstem Sauerstoff zu  $\text{H}_2\text{O}_2$  wieder in seine ursprüngliche oxidierte Form und steht für eine weitere katalytische Oxidation zur Verfügung. Das  $\text{H}_2\text{O}_2$  wird durch elektrochemische Oxidation an der Elektrode detektiert, wobei wieder  $\text{O}_2$  entsteht. Das bei

dieser Reaktionskette gebildete Glukono- $\delta$ -lacton ist im wässrigen Medium instabil und wird zu Glukonsäure hydrolysiert.

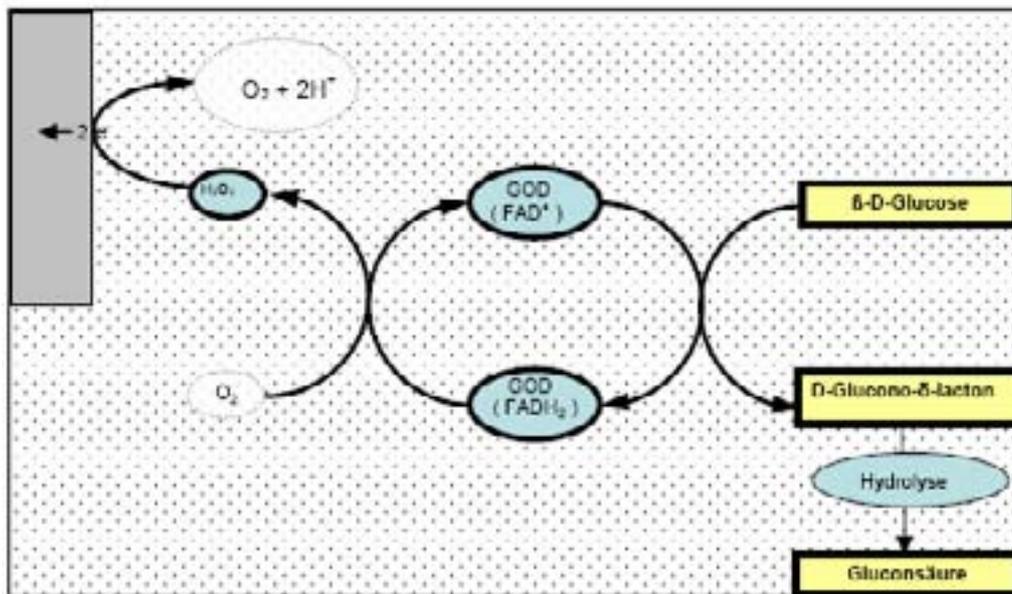


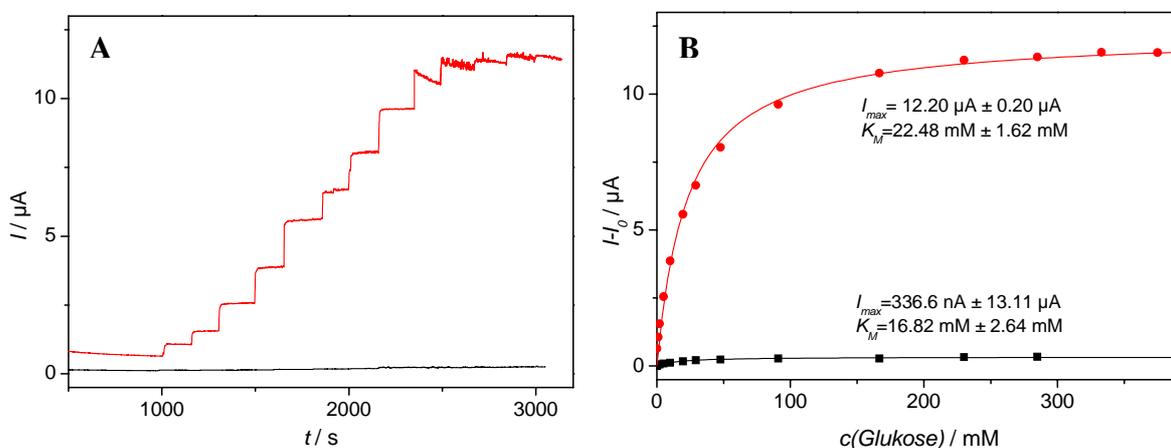
Abbildung 5-37: Schematischer Reaktionsablauf der enzymatischen Glukoseoxidation mittels GOD und der elektrochemischen Detektion von  $H_2O_2$  [110].

Dadurch, dass das Reaktionsprodukt  $H_2O_2$  direkt detektiert werden kann spart man sich einen zusätzlichen Immobilisierungsschritt zur Mediatoradsorption, was den Aufbau des Sensors vereinfacht. Ein Problem hierbei ist jedoch, dass die  $H_2O_2$ -Oxidation auf vielen Elektrodenmaterialien stark gehemmt ist, wodurch eine hohe Überspannung angelegt werden muß. In diesem Fall verliert man erheblich an Selektivität.

Zunächst wurde eine Lösung aus 70 mg Resydrol und 10 mg GOD (aus *Aspergillus niger*, Fluka) in 0.1 M Tris-Puffer (pH 7) hergestellt und die gereinigten Elektroden eingetaucht. Im Gegensatz zu industriellen Anwendungen, die auf den Einsatz eines konstanten Potentials beruhen, wurde eine Abscheidung mittels eines gepulsten Potentialprofils gewählt [149, 176]. Der Vorteil einer gepulsten Abscheidung ist es, das sich durch Modulation der elektrochemischen Parameter, wie Pulszahl, -dauer, -amplitude und Zeit zwischen den Pulsen die Eigenschaften der abgeschiedenen Filme sehr leicht kontrolliert lassen. Die Abscheidung der Lacke samt GOD erfolgte durch Anlegen eines Potentialpulsprofils bestehend aus einem Puls der Amplitude von 2.2 V und einer Dauer von 0,2 s gefolgt von einem 0.8V Puls über 0.8 s und einem 5 s langen bei ein Potential von 0 V. Diese Sequenz wurde zur Abscheidung

30-mal wiederholt. Der erste Puls diente hierbei zur Elektrolyse von  $\text{H}_2\text{O}$ , wobei während des folgenden von 0.8 V durch Diffusion sich die ursprüngliche Konzentration der Polyanionen aus der Elektrolytlösung vor der Oberfläche der Arbeitselektrode wieder einstellte. Das Ruhepotential diente dazu, dass das im Verlauf der Filmbildung entstandene  $\text{O}_2$  langsam und kontrolliert dem Reaktionsgemisch entweichen konnte [149]. In die gebildeten Polymerfilme wird das Enzym eingeschlossen, welches durch die Porosität des Polymers für katalytische Umsetzungen zur Verfügung steht [176, 177].

Die sensorischen Eigenschaften wurden über chronoamperometrische Messungen charakterisiert, wobei jeweils das Signal bei Anlegen eines Potentials von +600 mV gemessen wurde. Die Elektroden wurden hierzu in Phosphat-Puffer pH 7 getaucht, unter Rühren das Potential angelegt und durch sukzessive Zugabe einer 1 M Glukosestammlösung mittels einer Mikropipette die Konzentration bis auf 375 mM erhöht. Für jede Konzentration erfolgte daraufhin nach Einstellung des Gleichgewichtes (etwa 120 s) eine Messung des Stromes (Abbildung 5-38 A). Aus dem erhaltenen stufenförmigen Strom-Zeit-Diagramm konnten die Signale für die verschiedenen Glukosekonzentrationen abgelesen und in einem Michaelis-Menten-Plot als Kalibrierkurve aufgetragen werden (B).



**Abbildung 5-38:** Strom-Zeit-Kurven (A) und Michaelis-Menten-Plots (B) zweier mit Resydrol/GOD-modifizierter Elektroden während der Kalibrierung mit Glukose. Schwarz: glatt, rot:  $7\frac{1}{2}$  Porenschichten,  $d = 680 \text{ nm}$ .

Wie aus Abbildung 5-38 B zu entnehmen ist wird durch Verwendung poröser Elektroden wie erwartet der Sättigungsstrom  $I_{\text{max}}$  in dem Maße erhöht, wie es schon für die aktive Elektrodenoberfläche bestimmt wurde. In der Michaelis Menten-Konstante ist wiederum nur

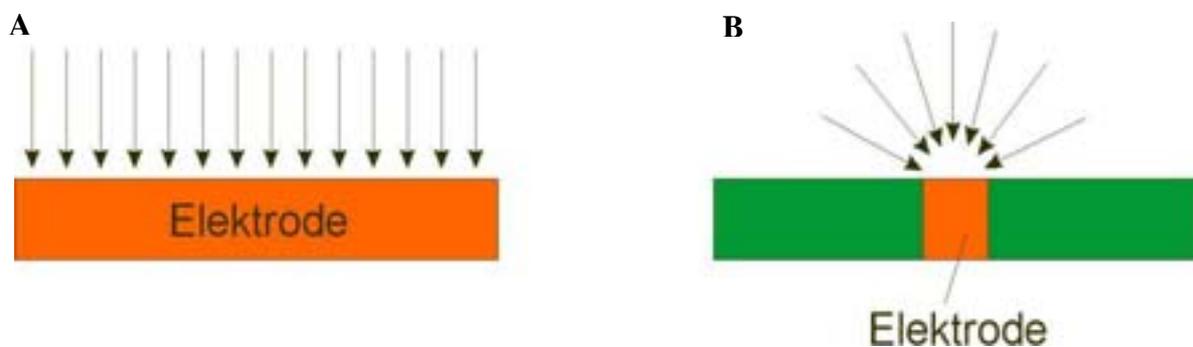
ein sehr geringer Effekt zu erkennen, so wird die Halbsättigung für eine makroporöse Elektrode mit 7½ Porenschichten im Vergleich zu einer glatten Elektrode nur um ca. 25 % erhöht. Die Verwendung makroporöser Elektroden und ihre Modifizierung mittels eines bioelektrochemischen Systems erlaubt es also, die untere Bestimmungsgrenze herunterzusetzen, nicht aber die obere zu erhöhen.

## Kapitel 6: Miniaturisierung

Seit mehreren Jahrzehnten besteht ein großes Interesse an der Miniaturisierung elektrochemischer Systeme. Zum einen werden in der Medizintechnik implantierbare Kontrollmethoden mit einer hohen Sensitivität benötigt, die oft durch elektrochemische Sensoren realisiert werden. Auch die Stromversorgung solcher Sensoren benötigt miniaturisierte Systeme. Da konventionelle Batterien durch ihre Gehäuse meist relativ groß sind, muss auf miniaturisierbare Systeme, wie z.B. Biobrennstoffzellen zurückgegriffen werden [1, 3, 5, 6, 178, 179]. Auch Herzschrittmacher könnten über diese miniaturisierten Brennstoffzellen betrieben werden, wobei die nötige chemische Energie in Form von z.B. Glukose direkt dem Körper entnommen werden. Hierzu werden im allgemeinen Ultra-Mikro-Elektroden (UME) verwendet. Dabei handelt es sich, um in einem isolierenden Material eingeschlossene und an der Spitze polierte Fasern aus Kohlenstoff, Platin, Gold usw., wobei der Faserdurchmesser im Bereich von 1-50  $\mu\text{m}$  liegt.

### 6.1 Eigenschaften von Ultra-Mikro-Elektroden

UMEs besitzen neben ihren kleinen Abmessungen noch weitere außergewöhnliche Eigenschaften. Besitzt eine UME einen Durchmesser von weniger als 30  $\mu\text{m}$ , also kleiner als die Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht, so verläuft der Stofftransport zur Elektrode in einem hemisphärischen Diffusionsprofil (Abbildung 6-1).



*Abbildung 6-1: Schematische Darstellung eines planaren Diffusionsprofils an einer makroskopischen Elektrode(A) und eines hemisphärischen an einer UME.*

Diese hemisphärische Diffusion zeichnet sich aus durch eine höhere Effizienz des Stofftransports im Vergleich zur planaren Diffusion, wie sie für makroskopische Elektroden typisch ist. Hierdurch ergibt sich, dass UMEs im allgemeinen höhere Stromdichten zeigen, als Elektroden mit großer Fläche. Außerdem stellt sich bei hemisphärischer Diffusion schneller der stationäre Zustand ein, d.h. die Diffusionsschicht baut sich innerhalb weniger ms auf.

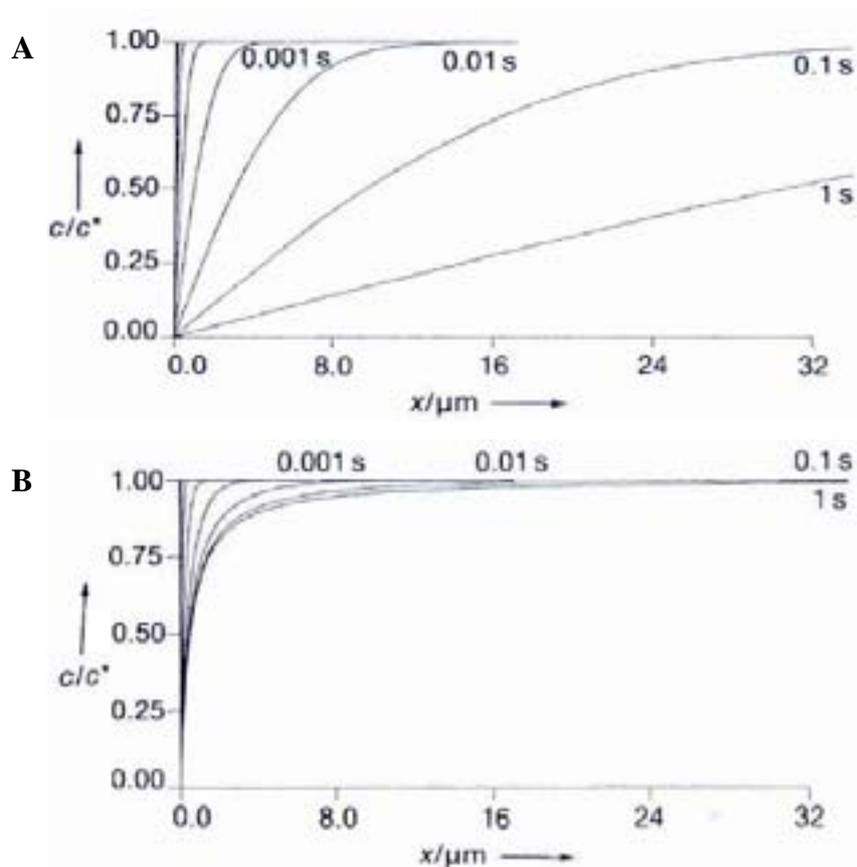
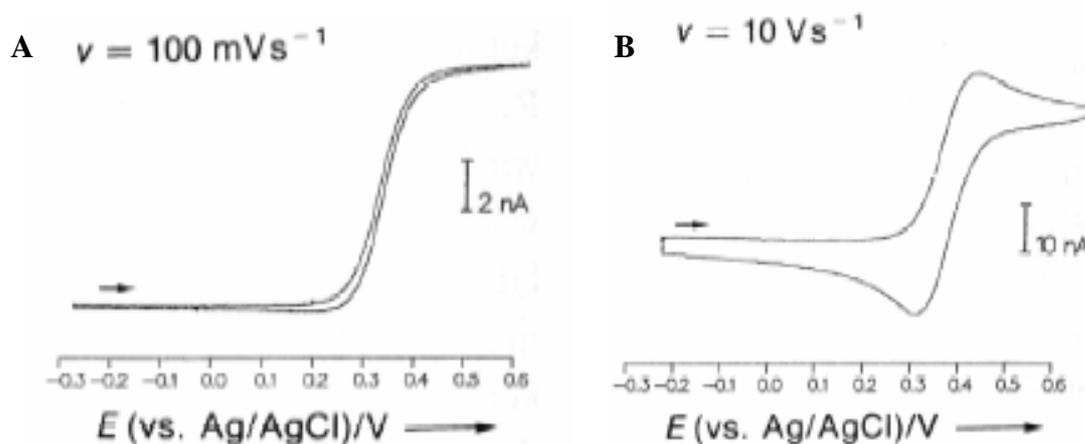


Abbildung 6-2: Zeitlicher Aufbau der Diffusionsschichten an einer Elektrode mit planarer Diffusion (A) und einer UME mit hemisphärischem Diffusionsprofil (B) [180, 181].

Dieser Grenzstrom ist im Gegensatz zu klassischen Elektroden zeitunabhängig und direkt proportional zur Konzentration des Reaktanten. Er kann im Falle einer runden Scheibenelektrode nach Gl. 6-1 berechnet werden, wobei  $r$  der Radius der Elektrode ist,  $n$  die Anzahl übertragener Elektronen,  $D$  der Diffusionskoeffizient des Reaktanten und  $c^0$  die Konzentration in der Lösung.

$$i = 4rnFDc^0 \quad (6-2)$$

Dies hat zur Folge, dass bei einem Zyklovoltammetrieexperiment die erhaltenen Diagramme bei langsamer Vorschubgeschwindigkeit einen vollkommen anderen Verlauf zeigen als im Falle klassischer Elektroden. Anstatt der normalerweise auftretenden Peaks, die durch die Verringerung der Substratkonzentration an der Elektrode während des Aufbaus der Diffusionsschicht zustande kommen, lässt sich bei UMEs ein sigmoidaler Verlauf ohne Peaks erkennen, da sich der zeitunabhängige stationäre Strom einstellt (Abbildung 6-3). Solche Voltammogramme lassen sich in ähnlicher Form bei rotierenden Scheibenelektroden beobachten, bei denen sich eine stationäre Diffusionsschicht durch Konvektion ausbildet. Führt man jedoch die Experimente mit hoher Vorschubgeschwindigkeit durch, so ist der Aufbau der Diffusionsschicht, wie im Falle klassischer Elektroden, langsamer als der Potentialvorschub und es treten Peaks auf.



**Abbildung 6-3:** Experimentelle Zyklovoltammogramme der Oxidation von Ferrocen ( $c = 3.2 \text{ mM}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/0.1 \text{ M [TBA]PF}_6$  (TBA = Tetra-*n*-butylammonium) bei verschiedenen Vorschubgeschwindigkeiten. Die Messungen erfolgten mit einer Pt-Scheibenmikroelektrode ( $r_0 = 6 \mu\text{m}$ ). (A): sigmoidales Diagramm bei  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , (B): klassische Form mit Peaks bei  $v = 10 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$  [180].

Durch die kleine Oberfläche besitzen UMEs nur eine geringe Doppelschichtkapazität. Dies führt zu einem schnellen Auf- und Entladen der Doppelschicht und zu einem besseren Verhältnis von Faradaysignal zu kapazitivem Strom. Auch die Stromdichten sind nicht wie im

Falle von Makroelektroden unabhängig von der Elektrodenfläche. Nach Gleichung 6-3 ergibt sich für die Stromdichte  $j$  für eine Scheibenförmige UME

$$j = \frac{4nFDc^0}{\pi \cdot r} \quad (6-4)$$

Je kleiner der Radius, d.h. die Elektrodenfläche, einer UME ist, desto größer ist also die Stromdichte an der Elektrode. Dies ergibt für kleine Elektroden wiederum eine deutliche Erhöhung des Verhältnisses von faradayschem zu kapazitivem Strom und gleichzeitig ein verbessertes Signal/ Rausch-Verhältnis, wodurch die Empfindlichkeit gesteigert wird.

Ein weiterer Vorteil von UMEs ist, dass bei elektrochemischen Reaktionen durch den schnelleren Stofftransport die Diffusion schneller wird, als der heterogene Ladungstransfer. Dadurch tritt ein Übergang von diffusionskontrollierten zu kinetisch kontrollierten Prozessen auf und UMEs erlauben oft Untersuchungen schneller Reaktionsmechanismen, die mittels Makroelektroden nicht möglich sind.

Wie bereits in der Einleitung dieses Kapitels angesprochen, ist ein entscheidender Vorteil von UMEs ihre geringe Größe, die elektrochemische Messungen sowohl in kleinsten Volumina wie auch zur lokalen Abgrenzung von Ereignissen in mikroskopisch kleinen Bereichen ermöglicht. Wie schon erwähnt wurde, eignen sich diese hervorragend für implantierbare Messinstrumente für medizinische Anwendungen. So berichtete z.B. Heller et al. über die Implantierung von Glukosesensoren auf der Basis von UMEs modifiziert mit in einem Os-Redoxpolymerhydrogel eingebetteter Glukoseoxidase [182]. Dieser Typ von implantierbaren Sensoren wird mittlerweile kommerziell vertrieben und dient zur Vorwarnung eines abnormalen Glukosespiegels im Blut von Diabetes-Patienten (Abott Diabetes Care). Auch in-vivo Messungen von Neurotransmittern im menschlichen Gehirn [183, 184], als auch von Metaboliten in einzelnen Zellen sind durch die kleinen Abmessungen von UMEs möglich [185].

Eine weitere Anwendung ist die Verwendung von UMEs bei der elektrochemischen Rastermikroskopie (SECM) [186, 187]. Hierbei wird eine UME durch einen Mikromanipulator, ähnlich wie bei AFM oder STM, über eine Substratoberfläche gerastert und aus dem erhaltenen Signalen die Topographie bzw. orts aufgelöst die elektrochemische Aktivität ermittelt. Die gemessenen Signale sind hierbei ein Stromfluss, der auf Redoxprozesse an der Elektrodenspitze beruht.

Die Herstellung von UMEs beruht in der Regel auf dem Einschmelzen einer Faser oder eines feinen Drahtes in einer Glas- oder Teflonkapillare, wobei die Elektrodenfaser an einer Seite durch Silber-Leitlack mit einem Ableitungsdraht kontaktiert wird [188, 189]. Die eigentliche Elektrode wird durch Abschleifen mit feinkörnigem Schleifmaterial freigelegt und poliert. Mit dieser Methode können leicht scheibenförmige dicht im isolierenden Material eingefasste UMEs hergestellt werden.

## **6.2 Entwicklung makroporöser Ultra-Mikro-Elektroden**

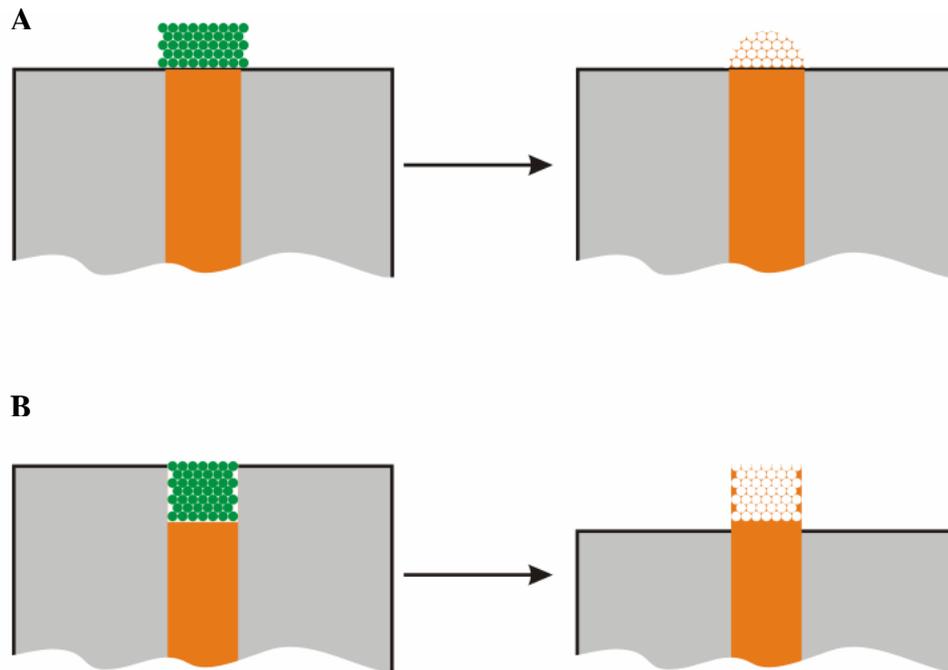
Durch ihre kleine Elektrodenfläche sind die fließenden Ströme bei elektrochemischen Reaktionen an UMEs in der Regel sehr klein (pA bis wenige nA). Deswegen sind Messungen mit UMEs sehr anfällig gegenüber z.B. elektronischen Störungen, wodurch bei analytischen Messungen meist ein sehr ausgeprägtes Rauschen erhalten wird. Durch dieses Rauschen ist es oftmals sehr schwer, die wahre Konzentration eines Analyten zu bestimmen, und es treten leicht Fehler auf.

Auch aufgrund dieser kleinen aktiven Oberfläche erhält man bei der Miniaturisierung von stromerzeugenden elektrochemischen Systemen, wie Biobrennstoffzellen, nur sehr geringe Leistungen. Diese bewegen sich bei Verwendung von UMEs meist in der Größenordnung von nW oder  $\mu$ W, was im Allgemeinen zu gering ist, um damit Sensoren oder Herzschrittmacher zu betreiben.

Aus den genannten Gründen ist es besonders bei diesen UMEs nötig die jeweiligen Stromdichten durch künstliche Erhöhung der aktiven Oberfläche zu vergrößern. Dieses Konzept wurde in der Vergangenheit von Denuault et al. schon vorgeschlagen [167, 168]. Auch in diesen Arbeiten wurde die Porosität mit Hilfe des Templatverfahrens auf UMEs erzeugt. Durch die Verwendung von aus amphiphilen Molekülen aufgebauten hexagonalen Flüssigkristallen als Templat gelang es die aktive Oberfläche und somit das Signal von Wasserstoffperoxid- bzw. pH-Sensoren um mehr als drei Größenordnungen zu erhöhen. Da jedoch hierbei die Porendurchmesser mit maximal 10 nm sehr klein sind, ist es nicht möglich die innere aktive Oberfläche mit großen Biomolekülen, wie z.B. Enzyme oder DNA zu belegen [166]. Aus diesem Grund wurde, wie im Falle der Makroelektroden, das Templatverfahren mit Hilfe kolloidaler Kristalle zur Einführung einer Porosität in diese mikroskopische Systeme benutzt, da hierbei die Porengröße in einem weit größeren Bereich

variiert werden kann und die Poren im Allgemeinen groß genug sind (50- 1500 nm), um auch Biomoleküle im inneren zu immobilisieren.

Die Template wurden in diesem Fall durch CE auf der Spitze von in Kapillaren eingeschmolzenen Golddrähten erzeugt. Das LB bzw. das VD-Verfahren konnte nicht angewandt werden, da es sich bei den UMEs nicht um planare, glatte Flächen handelte. Als Ausgangssubstrat wurden 3 verschiedene Typen von UMEs verwendet. Zum einen 25 µm Golddrähte, die in einen Teflonschlauch eingeschmolzen wurden und somit flexible UMEs ergaben. Die anderen beiden Typen bestanden aus in Borosilikatglas eingeschmolzenen Golddrähten mit demselben Durchmesser, wobei bei einem Typ die Elektrodenflächen glatt poliert wurden, beim anderen der Golddraht mittels Königswasser so angeätzt wurde, dass eine wenige µm tiefe Kavität entstand (Abbildung 6-4). Hierdurch konnten zwei Typen poröser UMEs erzeugt werden, die durch ihre speziellen Formen für unterschiedliche Anwendungen benutzt werden können. Zunächst gelang es somit auf den polierten UMEs eine leicht gewölbte makroporöse Spitze aufzubringen. Diese Form entsteht aufgrund des hemisphärischen Diffusionsprofils, das durch die geringe Abmessung der UMEs zustande kommt. Dieser Typ von Elektroden, von uns Typ A genannt, könnte z.B. für nicht-invasive Messungen an der Oberfläche lebender Zellen angewandt werden. Die zweite UME-Klasse wurde in der Literatur mehrfach von Vivier et al. beschrieben und ist unter dem Namen „Cavity-Ultramicroelectrodes“ bekannt [190, 191]. Dieser Elektrodentyp wird häufig zur elektrochemischen Untersuchung pulverförmiger Proben genutzt, wobei die Probe selbst in diese Kavität eingefüllt wird. Die so modifizierte Elektrode lässt sich wie eine gewöhnliche Mikroelektrode handhaben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Cavity-UMEs jedoch dazu verwendet, um die Kavität mit einem kolloidalen Kristall zu füllen, in dem anschließend Gold abgeschieden wurde. Durch Behandeln mit Fluorwasserstoffsäure gelang es sowohl das Templat als auch einen Teil der Glasummantelung zu entfernen. Das Resultat waren zylindrisch geformte makroporöse UMEs. Diese zylindrischen Typ B Elektroden könnten hervorragend für invasive Messungen in der Zelle eingesetzt werden, da die Elektrodenspitze selbst wie eine Nadel wirkt, die in die Zelle eingeführt werden kann.



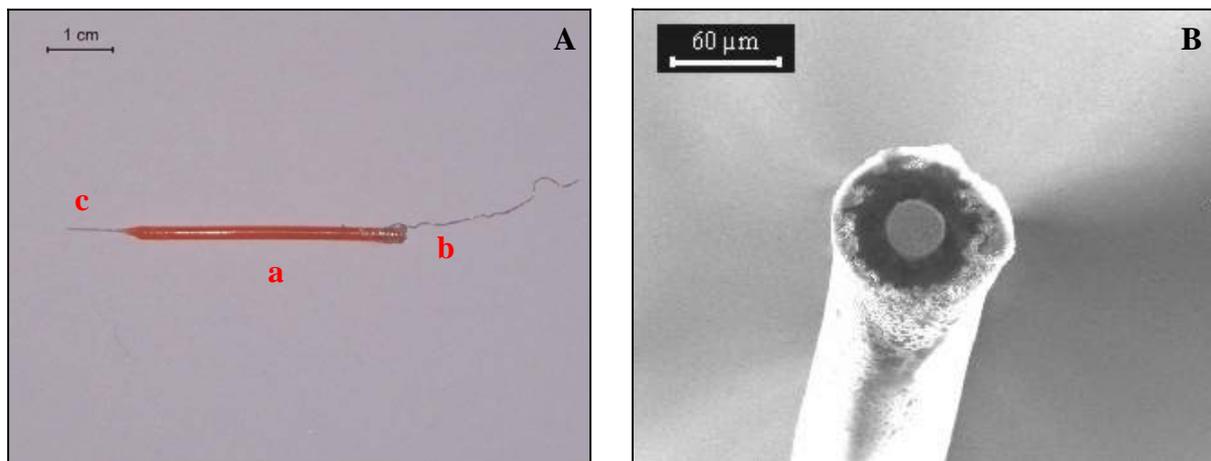
*Abbildung 6-4: Schematische Synthese von zwei Typen makroporöser UMEs. (A): gewölbte Typ A-Elektrode, (B): zylindrische Typ B-Elektrode. Grün: Silika-Kolloide als Templat, orange: Golddraht, grau: Glasumhüllung.*

Zur Erzeugung des Templats auf den UMEs wurde bei allen drei Elektrodentypen gleich vorgegangen. Zunächst wurde die Goldoberfläche durch zyklische Voltammetrie in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  wie in Kapitel 5.1.1 beschrieben gereinigt und mit Cysteamin modifiziert. Danach wurde das spitze Ende einer Eppendorf-Pipettenspitze um ca. 5 mm gekürzt, so dass eine größere Öffnung entstand. Die UMEs wurden mittels klaren Nagellacks so in den gekürzten Teil eingeklebt, dass die Elektrodenfläche in den Innenraum der Pipettenspitze ragte, und die Verklebung zusätzlich zur mechanischen Stabilisierung mit Epoxyd-2-Komponenten-Kleber (UHU) bestrichen und 24 h aushärten gelassen. Das hergestellte Gefäß fungierte sowohl als Kristallisationsraum für die kolloidalen Kristalle, als auch als miniaturisierte elektrochemische Zelle. In die Öffnung dieser Zelle wurden nun 0.25 mL einer 0.5 gew. % Silikasuspension ( $d = 620 \text{ nm}$ ) eingefüllt und durch einen Klebstreifen senkrecht mit der Öffnung nach oben im Inneren eines zu einem zehntel mit Wasser gefüllten 2 L Becherglases fixiert. Das Becherglas wurde daraufhin dicht mit Parafilm verschlossen und die Suspension innerhalb von 7 Tagen eintrocknen gelassen. Die Zelle wurde danach mit dem Goldbad



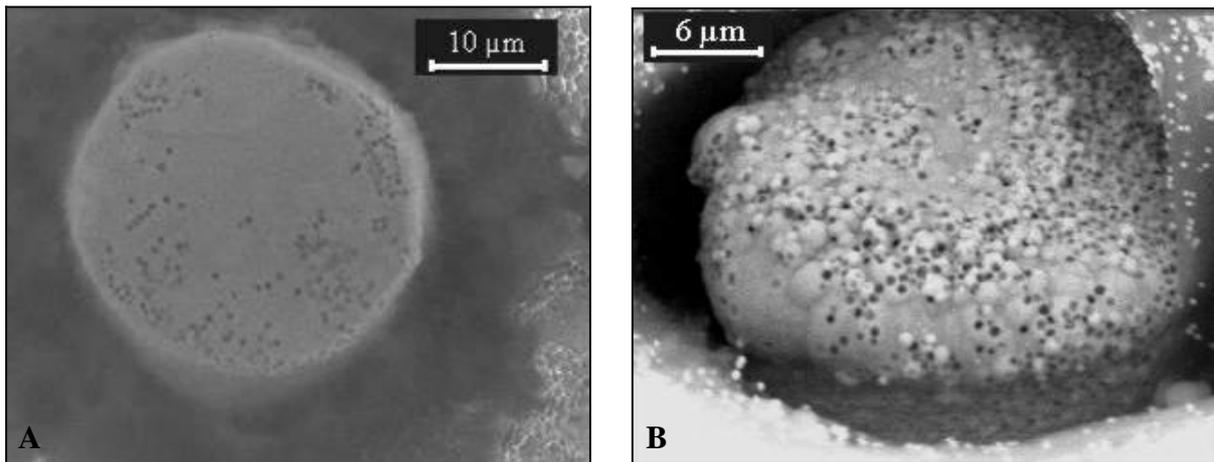
### 6.2.1 Synthese flexibler makroporöser UMEs

Die flexiblen Teflon-UMEs wurden durch Einschmelzen eines Golddrahtes ( $d = 25 \mu\text{m}$ , Goodfellow) in einen Teflonschlauch (Upchurch Scientific) erzeugt. Hierzu wurde der Golddraht zunächst mittels Silberleitlack elektrisch leitend mit einem Silberdraht verbunden und nach Trocknen des Leitlackes durch ein 5 cm langes Teflonschlauchstück gezogen, so dass sich das Verbindungsstück zwischen Silberdraht und Goldfaser gerade noch im Schlauch befand. Das Ende, aus dem der Silberdraht herausragte, wurde mit Epoxid-Harz verschlossen und 24 h aushärten gelassen. Der so behandelte Teflonschlauch wurde daraufhin so in einer Heizspirale fixiert, dass sich der Golddraht im Inneren des Schlauches teilweise in der Spirale befand. Durch vorsichtiges Erhitzen der Spirale, so dass der Teflonschlauch gerade zu schmelzen begann, und Ausziehen des erhitzten Schlauches schmiegte sich dieser dicht an den Golddraht an. Mittels eines scharfen Skalpells wurde nun der angeschmiegte Teflonschlauch samt dem Draht durchtrennt, und somit an der entstandenen Spitze eine Goldscheibe mit dessen Durchmesser freigelegt. Diese Scheibe stellt die eigentliche UME dar. Solch eine Elektrode und die Goldscheibe sind in Abbildung 6-6 gezeigt.



**Abbildung 6-6:** (A): Photographie einer in Teflon eingeschmolzenen UME. Die Abbildung gibt etwa die wirkliche Größe wieder. Man sieht den Teflonschlauch (a), den Ableitdraht (b), sowie die ausgezogene und abgeschnittene Spitze (c). (B) REM-Aufnahme der Elektrodenspitze. Man sieht deutlich die Goldscheibe im Zentrum.

Das Templat wurde wie beschrieben in einer miniaturisierten elektrochemischen Zelle auf die Elektrodenspitze aufgebracht. Die Goldabscheidungszeit wurde von 100 -750 sec variiert, wobei sich in keinem der Fälle Stromoszillationen feststellen ließen, die einen sicheren Beweise für das Abscheiden geordnet makroporösen Goldes dargestellt hätten. Auch die REM-Aufnahmen der so behandelten Elektroden lassen den Schluss zu, dass keine bzw. nur eine wenig ausgeprägte Porosität auf den UMEs vorhanden war (Abbildung 6-7).

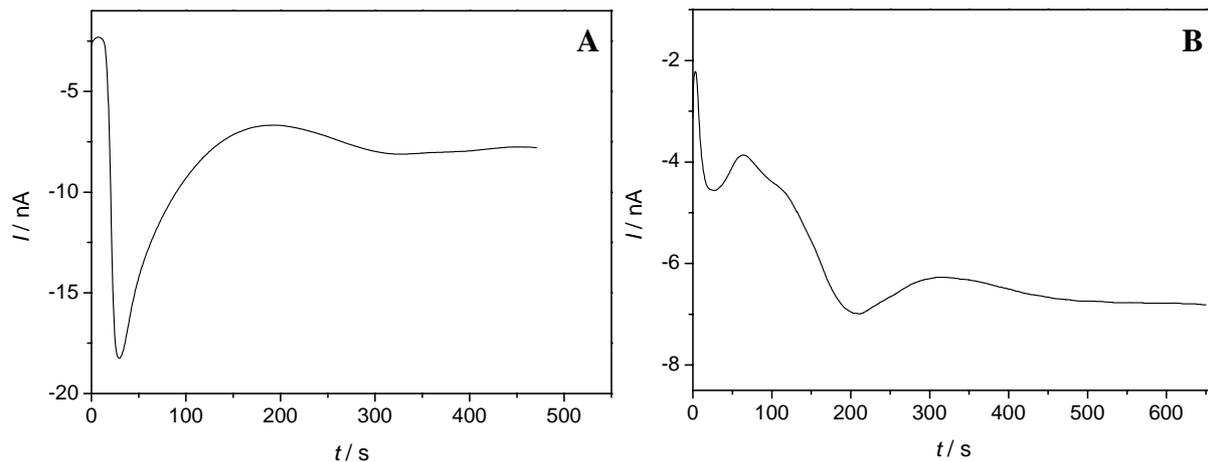


*Abbildung 6-7: REM-Aufnahmen flexibler Gold-UMEs, auf die makroporöses Gold aufgebracht werden sollte. (A) Abscheidungszeit  $t = 250$  s, (B) Abscheidungszeit  $t = 750$  s.*

Dies könnte mit der Flexibilität der verwendeten UMEs zusammenhängen. Diese Elektroden können sich schon durch geringe mechanische Beeinflussung leicht verbiegen. Befindet sich die Elektrode im Templat so kann dadurch der kolloidale Kristall zerstört werden, so dass kein poröses Gold entsteht bzw. nicht die gesamte Elektrode porös ist. Aus diesem Grund wurden in der Folge UMEs verwendet, die in Glas eingeschmolzen waren und somit keine Flexibilität aufwiesen.

### 6.2.2 Herstellung von Typ-A-Ultramikroelektroden

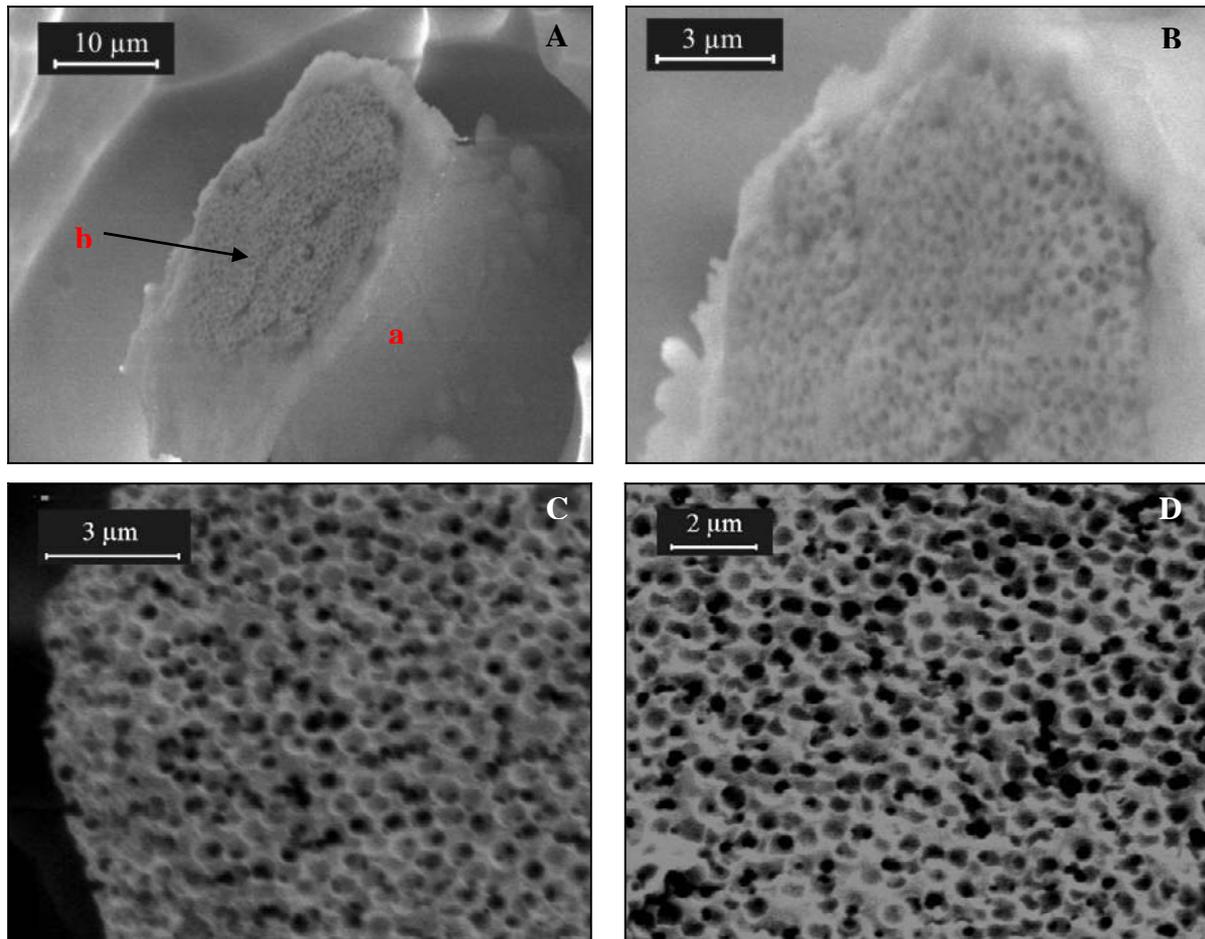
Zur Herstellung der glasummantelten UMEs wurde zunächst der Golddraht in die Glaskapillare eingeführt. Das eine Ende der Glaskapillare wurde durch die Flamme eines Bunsenbrenners auf einer Seite luftdicht zugeschmolzen, in der Heizspirale fixiert und durch eine Wasserstrahlpumpe von der offenen Seite her evakuiert. Durch Erhitzen der Kapillare auf Rotglut und aufgrund des angelegten Vakuums zog sich die Glaskapillare zusammen, wodurch es gelang den Golddraht dicht im Glas einzuschließen. Hierbei wurde nicht die gesamte Kapillare aufgeschmolzen, damit ein Teil des Golddrahtes noch kontaktiert werden konnte. Der nicht eingeschmolzene Teil des Drahtes wurde mittels Silberleitlack mit einem Silberableitdraht verbunden und dieser Teil der Glaskapillare mit Epoxydharz verschlossen. Das Freilegen der Goldelektrode erfolgte durch Schleifen mit Korund-Schleifpapier gefolgt von einem Polierschritt mittels feinkörnigem Poliermittel (25  $\mu\text{m}$ , 3  $\mu\text{m}$ , 1  $\mu\text{m}$ , 0.3  $\mu\text{m}$  Körnung; Thorlabs LFG03P). Danach wurden die Elektroden mittels zyklischer Voltammetrie in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf ihre Funktionstüchtigkeit getestet, wobei gleichzeitig ihre Oberfläche gereinigt wurde. Die Modifizierung mit dem kolloidalen Kristall erfolgte wie im Falle der flexiblen UMEs durch Einkleben in eine Eppendorfpipettenspitze und kontrolliertes Eintrocknen einer 0.5 Gew. % Silikasuspension ( $d = 620 \text{ nm}$ ). Während der Goldabscheidung in diesen Templaten traten im Gegensatz zu den flexiblen UMEs zeitliche Oszillationen im Stromverlauf auf, die jedoch wesentlich weniger ausgeprägt und unregelmäßiger waren als im Falle der durch das LB-Verfahren behandelten Makroelektroden (Abbildung 6-8). Die Amplitude der ersten Oszillation beträgt nur etwa 15 % des Gesamtstromes, im Vergleich zu ca. 50 % im Falle der Makroelektroden.



**Abbildung 6-8:** Strom-Zeit-Kurven bei der Abscheidung von makroporösem Gold auf in Glas eingefasste UMEs. (A) Abscheidung von  $1\frac{1}{2}$  Porenschichten, (B) Abscheidung von  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Die kleinere Amplitude hängt offenbar einerseits damit zusammen, dass die Defektdichte in durch die VD-Methode erzeugten kolloidalen Kristalle höher ist als bei der LB-Methode, andererseits damit, dass das Goldwachstum nicht nur in z-Richtung, sondern durch das besondere Diffusionsprofil hemisphärisch verläuft. Somit wächst das Gold nicht nur in eine einzige kristallographische Richtung, wodurch sich die Oszillationen teilweise herausmitteln. Nach der dritten Periode lassen sich keine Oszillationen im Stromverlauf mehr feststellen, die Dicke der makroporösen UMEs kann also nur bis zur siebten Halbkugelschicht über diese Methode exakt kontrolliert werden. Für dickere poröse Schichten muss eine Kontrolle über die geflossene Ladung erfolgen.

Die so behandelten Elektroden wiesen nach Auflösen des Templats eine geordnet poröse Struktur auf. Die Bedeckung der Elektrodenfläche war vollständig und homogen. Wie erwartet war die Ordnung jedoch geringer, als im Falle der durch LB- oder VD-Technik hergestellten Makroelektroden. Man kann in den REM-Aufnahmen in Abbildung 6-9 jedoch sehen, dass die sphärischen Poren durch Verbindungskanäle miteinander verbunden sind. Dies lässt sich anhand der dunkel abgebildeten Punkte in den Poren erkennen.



*Abbildung 6-9: REM-Aufnahmen makroporöser Typ A UMEs. (A) und (B) Dicke der porösen Schicht 1½ Kugelschichten. a: nicht aufgelöstes Glas, b: poröses Gold. (C) und (D) Schichtdicke 2½ Kugelschichten.*

Durch das Auflösen des Templats mit HF wurde auch ein Teil der Glasummantelung zusammen mit den SiO<sub>2</sub>-Kugeln aufgelöst. Allerdings wurde das Glas, das direkt auf dem Golddraht saß wesentlich weniger angegriffen, als der Rest des Glases. Somit waren die Seiten des Golddrahtes stets durch einen dünnen Glasfilm isoliert. Das auf dem Draht verbliebene Glas lässt sich in Abbildung 6-9 (A) und (B) deutlich erkennen. Also nur die kreisförmige poröse Elektrodenplatte besitzt eine elektrochemische Aktivität, nicht aber der Mantel des Golddrahtes.

### 6.2.3 Herstellung von Typ-B-Ultramikroelektroden

Zur Synthese zylindrischer UMEs wurden Cavity-UMEs hergestellt. Hierzu behandelt man zunächst polierte UMEs 15 min mit Königswasser (3 Teile  $\text{HCl}_{\text{conc.}}$  und 1 Teil  $\text{HNO}_3_{\text{conc.}}$ ). Durch das kontrollierte Herauslösen des Golddrahtes entstanden Kavitäten, deren Tiefe durch Optische Mikroskopie kontrolliert wurde und etwa  $10\ \mu\text{m}$  betrug. Nach Reinigung durch zyklische Voltammetrie und Modifizierung mit Cysteamin wurden die Elektroden wie beschrieben in eine Eppendorfspitze eingeklebt und die Zelle mit der Silikasuspension befüllt. Um zu gewährleisten, dass die Suspension auch ins Innere der Kavität gelangte, wurden die befüllten Zellen für 15 min ins Ultraschallbad gestellt und daraufhin die Suspension langsam eintrocknen gelassen.

Während der Goldabscheidung konnten wie im Falle der polierten UMEs zeitliche Stromoszillationen beobachtet werden (Abbildung 6-10).

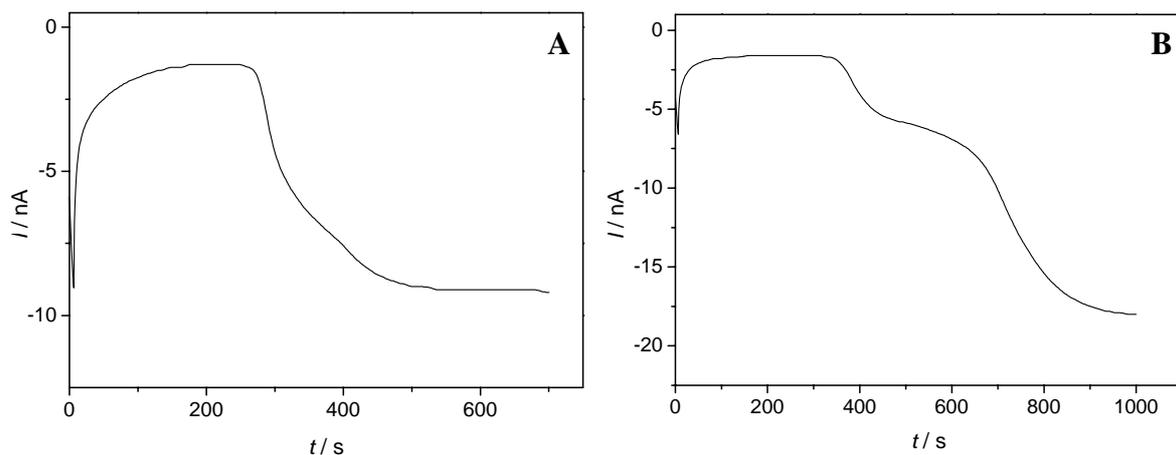


Abbildung 6-10: Strom-Zeit-Kurven bei der Abscheidung von makroporösem Typ B UMEs. (A): Abscheidung von  $1\frac{1}{2}$  Porenschichten, (B): Abscheidung von  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten.

Die Oszillationen waren etwas stärker ausgeprägt, als bei der Synthese der Typ A UMEs, da das Gold in diesem Falle nur in eine Richtung und nicht wie im Falle der hemisphärischen Abscheidung in viele kristallographische Richtungen wachsen kann. Auch steigt der mittlere Strom während der Abscheidung an. Dies kann damit erklärt werden, dass in der engen Kavität die Diffusion der Ionen zur Elektrode gehemmt ist. Während dieses Prozesses verringert sich deren relative Tiefe, so dass die Diffusion weniger und weniger behindert ist und der mittlere Strom ansteigt. Die Anzahl der noch zu erkennenden Oszillationen betrug 3

bis 4, was eine Kontrolle bis zu einer Dicke von vier Kugelschichten erlaubte. Für die Synthese dickerer poröser Elektroden muss diese jedoch über die geflossene Ladung kontrolliert werden.

Die REM-Aufnahmen der so erzeugten UMEs zeigen, dass wie erwartet nur wenige  $\mu\text{m}$  am Ende des aus dem Glas herausstehenden Goldes porös sind. Auch die Ordnung der sphärischen Poren ist relativ gut (Abbildung 6-11). Im Vergleich zu den Typ-A Elektroden sind die Seiten dieser Elektroden wegen der längeren Behandlungszeit mit HF nicht mit Glas isoliert.

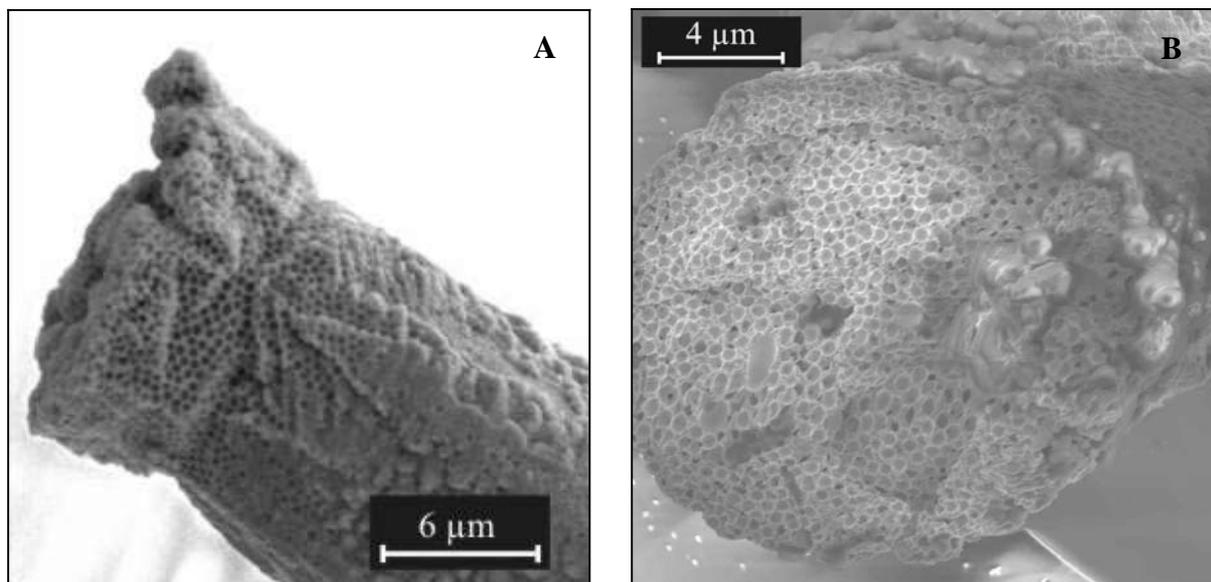
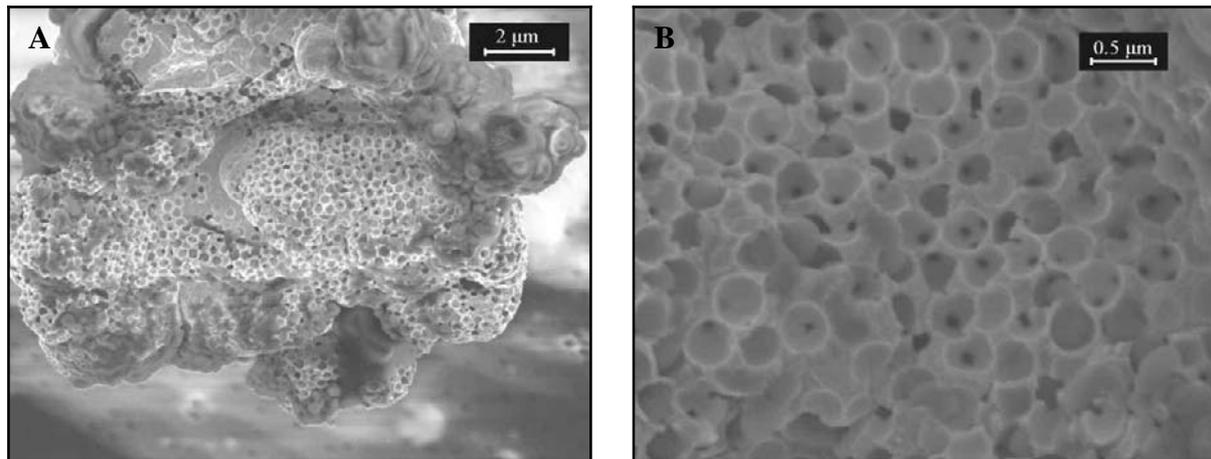


Abbildung 6-11: REM-Aufnahmen einer makroporöser Typ B UMEs. (A) Seitenansicht, (B) Draufsicht.

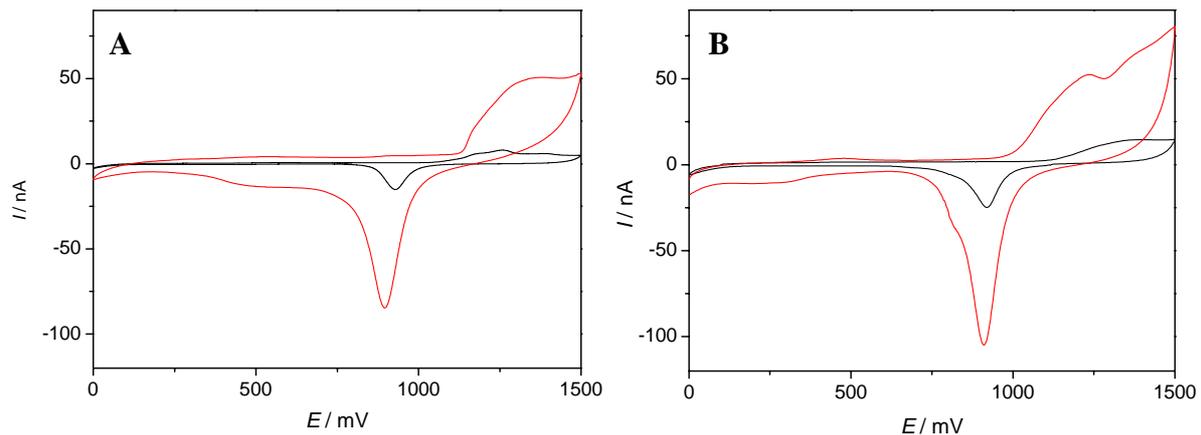
Die Synthese war jedoch nicht 100 % reproduzierbar, häufig traten auf den Elektroden kleine Bereiche auf, die keine Porosität aufwiesen (Abbildung 6-12). Dies könnte damit zusammenhängen, dass beim Erzeugen der kolloidalen Kristalle, trotz Behandeln im Ultraschallbad, noch Luftblasen in der Kavität verblieben und so Defekte im kolloidalen Kristall und damit im porösen Gold hervorriefen. Von den hergestellten Typ B UMEs wiesen etwa die Hälfte solche Defekte auf. Da jedoch stets der Großteil der Elektrodenfläche porös war, konnte in allen Fällen eine Erhöhung der aktiven Oberfläche erreicht werden.



*Abbildung 6-12: REM-Aufnahmen einer makroporöser Typ A UME mit nicht-porösen Zonen. (A) Draufsicht mit porösen und nicht-porösen Zonen, (B) Ausschnitt einergeordnet porösen Zone.*

#### 6.2.4 Elektrochemische Charakterisierung makroporöser UMEs

Die Charakterisierung der aktiven Oberfläche der makroporösen UMEs erfolgte analog zu den Experimenten der porösen Makroelektroden mittels zyklischer Voltammetrie in 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. In diesem Fall wurde als oberes Umkehrpotential +1500 mV gewählt, da im Vergleich zu +1300 mV, welches als obere Potentialgrenze für die Makroelektroden gewählt wurde, das Gold stärker oxidiert wird und somit der Stripping-Peak stärker ausgeprägt ist. Bei einem oberen Umkehrpotential von 1300 mV war es bei den UMEs, die schon alleine durch ihre geringe Oberfläche ein niedriges Signal zeigen, sehr schwierig die aktive Oberfläche zu messen. Aus diesem Grund wurden zusätzlich die Messungen mit einem hochempfindlichen Potentiostaten mit Niederstrommodul aufgenommen.



**Abbildung 6-13:** CVs von makroporösen UMEs ( $2\frac{1}{2}$  Porenschichten, rot) im Vergleich zu nicht-porösen UMEs (schwarz) in  $0.5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ ,  $v = 100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . (A) Typ A Elektrode; (B) Typ B Elektrode.

Wie erwartet wird die aktive Oberfläche für beide Elektrodentypen durch die Porosität vergrößert. Für die hier gezeigten CVs von Elektroden mit jeweils einer Dicke von  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten ergibt sich eine Erhöhung um mehr als eine Größenordnung. Aus dem Integralen der Goldoxidstrippingpeaks lässt sich die aktive Elektroden leicht errechnen. Für die Typ A Elektroden wurde eine Ladung von  $125.9\text{ nC}$ , für die Typ B Elektroden eine von  $164.5\text{ nC}$  ermittelt. Bei einer glatten Scheibenförmigen Elektrode erwartet man einen Wert von  $1.89\text{ nC}$ , somit ist die aktive Oberfläche der porösen Elektroden um einen Faktor von 67 bzw. 87 erhöht. Die Typ B Elektroden zeigten jeweils eine größere Oberfläche im Vergleich zu Typ A Elektroden bei gleicher Dicke porösen Materials, da der freigelegte Zylindermantel ebenfalls einen Teil zur aktiven Oberfläche beitrug. Da diese Schichten noch relativ dünn sind, ist es ein leichtes, die Oberfläche noch weiter um zwei oder drei Größenordnungen zu erhöhen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden jedoch nur UMEs mit einer maximalen Schichtdicke von  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten benutzt, da dies die obere Grenze für die Kontrolle über die Stromoszillationen darstellte. Diese Elektroden zeigten jedoch schon eine sehr deutliche Tendenz für das Anwendungspotential, das in diesen Elektrodentypen steckt.

Ebenso wie bei den Makroelektroden wurde erwartet, dass die Aktivität für Reaktionen mit schnellen Kinetiken auch bei porösen UMEs nur geringfügig erhöht wird. Um dies zu verifizieren wurden CVs von porösen UMEs in einer Lösung von  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  aufgenommen. Ein Ergebnis dieser Experimente ist in Abbildung 6-14 dargestellt. In diesem Falle stellt sich kein echter stationärer Strom ein, da die Geometrie der Elektroden nicht scheibenförmig

sondern zylindrisch ist. Für diesen Fall erhält man als CVs Mischformen aus der klassischen und der sigmoidalen Form. Im gezeigten Fall treten kleine Peaks auf, die sehr schnell abfallen, wobei sich ein konstanter quasi-stationärer Strom einstellt. Dieser quasi-stationäre Strom erhöht sich bei Verwendung einer makroporösen UME im Vergleich zu einer glatten nur wenig, obwohl die aktive Oberfläche um mehr als eine Größenordnung erhöht wurde. Also wird in diesem Fall auch nicht die gesamte innere Oberfläche, sondern nur die äußere Halbporenschicht für die Reaktion genutzt.

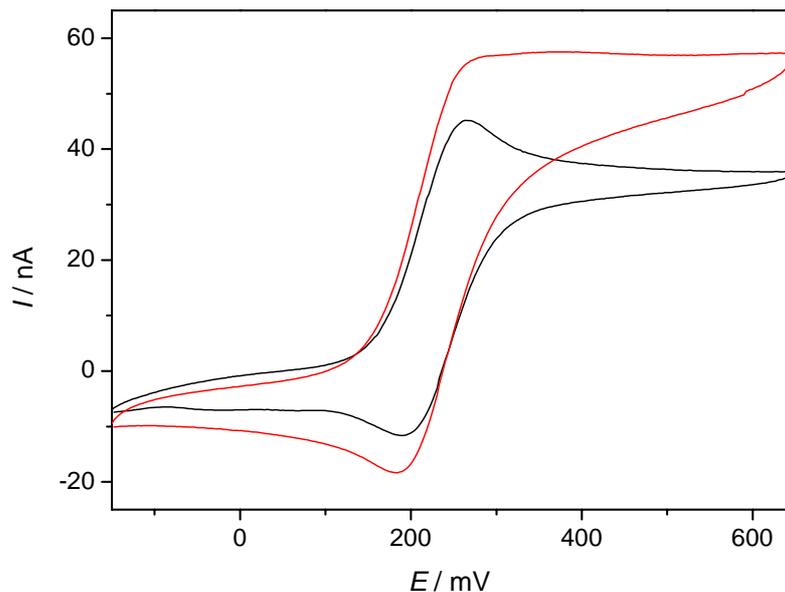


Abbildung 6-14: CVs von Type B UMEs in einer Lösung aus 5 mM  $K_4[Fe(CN)_6]$  in 1 M  $KNO_3$ . Schwarz: glatte UME, rot: poröse UME ( $2\frac{1}{2}$  Porenschichten),  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Jedoch lässt sich die gesamte aktive Oberfläche nutzen, falls makroporöse UMEs für Reaktionen mit langsamen Kinetiken bzw. für Reaktionen von Molekülen, die auf der Oberfläche immobilisiert sind nutzen. Dies wurde sowohl anhand der Oxidation von auf den makroporösen UMEs adsorbiertem 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol, als auch an der biokatalytischen Kette bestehend aus TNF,  $NAD^+$  und GDH überprüft.

### 6.2.5 Modifizierung von Typ B UMEs mit 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol

Das Molekül 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol besitzt zum einen ein Ferrocen, dessen  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Zentralatom leicht reversibel zu  $\text{Fe}^{\text{III}}$  oxidiert werden kann, zum anderen eine Thiolgruppe, die durch kovalente Bindungen unter Bildung so genannter selbstorganisierender-Monoschichten (self-assembled-monolayers = SAM) sehr stark an Gold bindet. Diese beiden Funktionseinheiten sind über eine Butyl-Kette miteinander verbunden, so dass das Molekül sowohl elektrochemisch aktiv ist, als auch die Möglichkeit zur Immobilisierung auf Gold besitzt. Somit eignet es sich hervorragend als Redoxmediator für viele bioelektrokatalytische Reaktionen. Diese Substanz wurde durch Veresterung von Ferrocencarbonsäure mit 4-Brombutanol, Umsetzung des Bromids zu einem Thioacetat und anschließender in situ-Hydrolyse zum Thiol synthetisiert [192]. Die Synthese des Moleküls ist in Abbildung 6-15 schematisch dargestellt und wird in Anhang A 4 beschrieben.

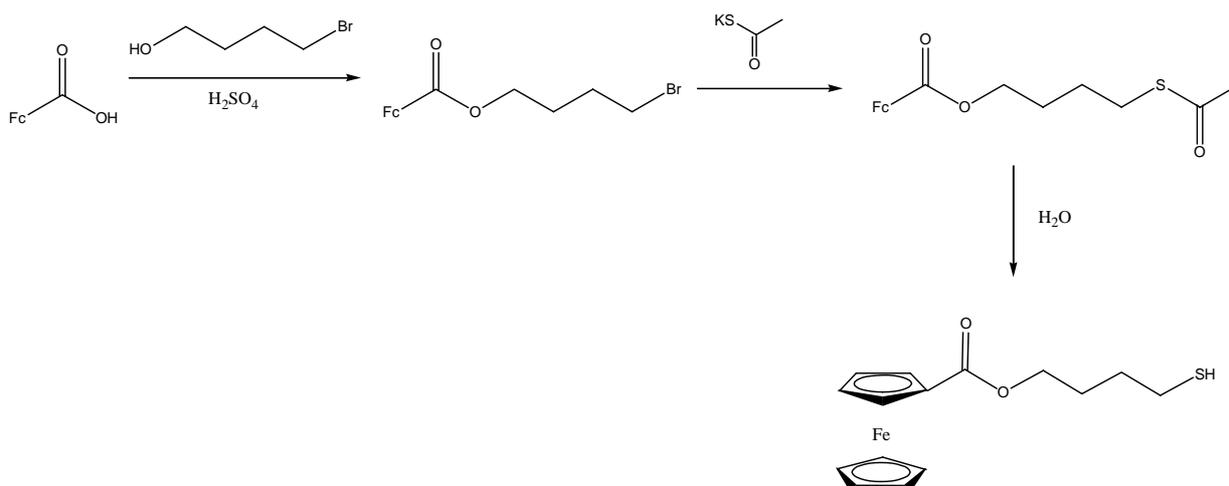
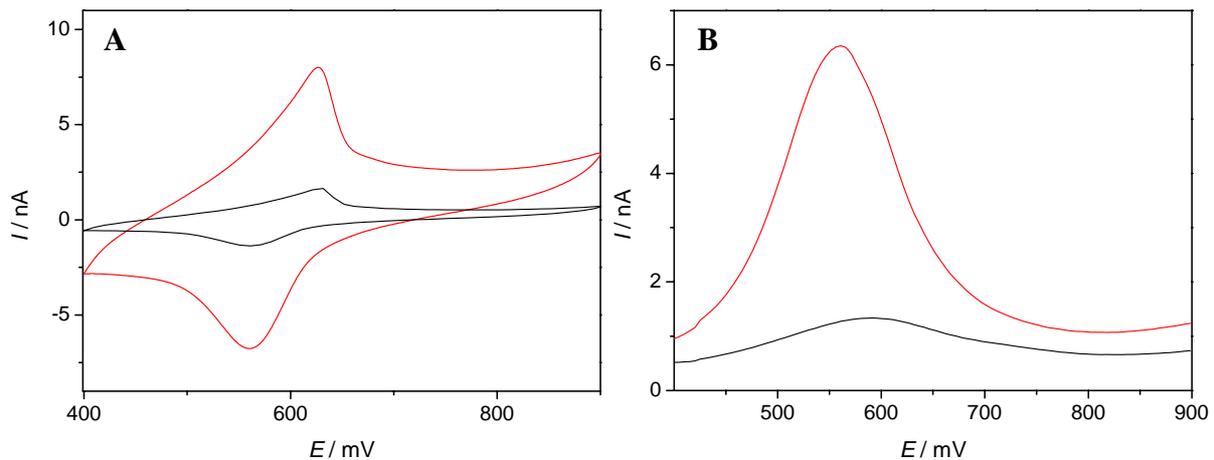


Abbildung 6-15: Syntheschema des 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiols. Fc = Ferrocen.

Die Immobilisierung dieses Moleküls erfolgte durch 24 stündiges Eintauchen der gereinigten Elektroden in eine Lösung aus 10 mM des Thioacetats von 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol in Ethanol. Dabei wird das Thioacetat durch den Wassergehalt im Ethanol in situ zum 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol hydrolysiert und kann somit als Thiol auf Gold molekulare Monoschichten ausbilden. Das elektrochemische Signal des Ferrocens wurde über CV und „Differential Pulse Voltammetry“ (DPV) gemessen. Die zweite Methode wurde gewählt, da bei der Oxidation von Ferrocen in den Voltammogrammen sehr breite Peaks

auftreten, die nur schwer vom kapazitiven Strom getrennt werden können. Da bei der DPV die Kapazität in den Voltammogrammen zu einem konstanten Wert führt, lässt sie sich sehr leicht eliminieren. Deshalb eignet sich die DPV sehr gut, um geflossene Ladungen durch eine Elektrode mittels Integration eines Peaks zu bestimmen. In Abbildung 6-16 sind sowohl CVs, als auch DPVs einer makroporösen UME im Vergleich zu einer glatten gezeigt. Die Messungen wurden jeweils in 0.1 M HClO<sub>4</sub> aufgenommen.



**Abbildung 6-16:** Zyklisches Voltammogramm (A) und Differential Pulse Voltammogramm (B) einer 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol modifizierten Typ B UME in 0.1 M HClO<sub>4</sub> im Vergleich zu einer glatten. Schwarz: glatte UME; rot: makroporöse UME.

In beiden Graphen sieht man einen Oxidationspeak bei ca. +600 mV, welcher der Oxidation von Fe<sup>II</sup> zu Fe<sup>III</sup> in Ferrocen entspricht. Hierbei ist deutlich zu erkennen, dass die geflossene Ladung unter dem Peak und somit der oxidative Umsatz an kovalent gebundenem Ferrocen auf porösen UMEs größer ist als auf glatten. Auf makroporösen UMEs kann also deutlich mehr Ferrocen immobilisiert und umgesetzt werden, wobei das Signal bei den verwendeten Elektroden um mehr als eine Größenordnung erhöht werden konnte.

### 6.2.6 Modifizierung von Typ A Elektroden mit dem System TNF/ NAD<sup>+</sup>/ GDH

Wie in der Einleitung zu Kapitel 4.2 erwähnt wurde, ist das Prinzip mesoporöser UMEs zur Signalerhöhung miniaturisierter Sensoren schon publiziert worden. Allerdings konnten diese Elektroden wegen des zu kleinen Porendurchmesser nicht mit großen Biomolekülen belegt werden. Im Gegensatz hierzu wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass solche Moleküle in das Innere makroporöse Elektroden diffundieren und dort adsorbiert werden können. Im Folgenden soll gezeigt werden, dass dies nicht nur für poröse makroskopische Elektroden, sondern auch für makroporöse UMEs gilt.

Die porösen UMEs wurden hierzu wie die Makroelektroden zunächst mittels zyklischer Voltammetrie in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gereinigt und daraufhin das TNF in einer molekularen Monoschicht auf diesen Elektroden immobilisiert. Wie erwartet zeigte sich, dass die immobilisierte Mediatormenge direkt mit der Dicke der makroporösen Schichten auf den Elektroden skaliert, also mehr Mediator aufgebracht werden konnte, je dicker die poröse Schicht war (Abbildung 6-17).

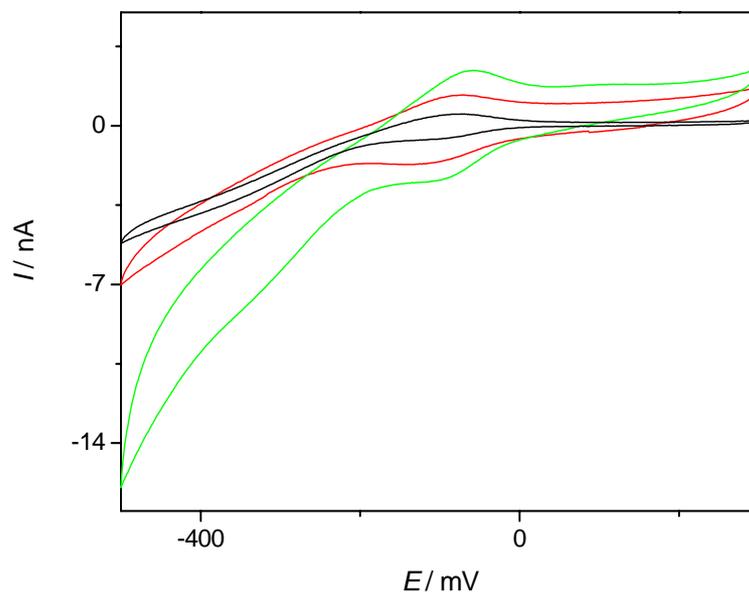
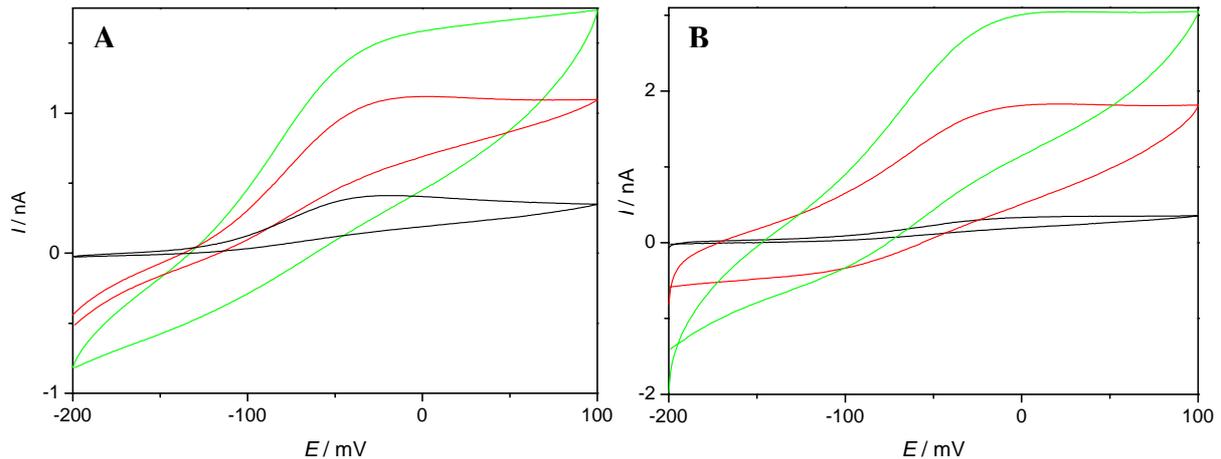


Abbildung 6-17: Zyklische Voltammogramme mit TNF modifizierter makroporöser Typ A UMEs in Tris-Puffer,  $v = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ . Schwarz: glatte UME, rot: 1½, grün: 3½ Kugelschichten.

Wie im Falle der bei den porösen Makroelektroden beschriebenen Experimenten wurde nun die katalytische Aktivität der so modifizierten Elektroden in Lösungen aus NADH/  $\text{Ca}^{2+}$  in Tris-Puffer überprüft. Ganz analog zeigen die zyklischen Voltammogramme einen linearen Anstieg der NADH- Signale in Abhängigkeit von der Anzahl der Porenschichten (Abbildung 6-18 A).



**Abbildung 6-18:** (A) CVs von Typ A UMEs in einer Lösung aus 3.2 mM NADH, 0.2 M  $\text{CaCl}_2$ ,  $v = 10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Schwarz: glatte Elektrode, rot  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten, grün:  $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten. (B) CVs derselben UMEs in einer Lösung aus 3.2 mM  $\text{NAD}^+$ , 0.2 M  $\text{CaCl}_2$  und 3 U/mL GDH in Anwesenheit von 10 mM Glukose.

Ebenso verhält sich das Signal der Glukoseoxidation bei Aufnahme zyklischer Voltammogramme in einer Lösung aus  $\text{NAD}^+$ /  $\text{Ca}^{2+}$ / GDH in Anwesenheit von Glukose (Abbildung 6-18 B). Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Elektroden ergaben eine Erhöhung des Glukoseoxidationsstromes von mehr als einer Größenordnung.

Die Glukoseoxidation mit dieser biokatalytischen Kette gelang ebenso auf den Typ B Elektroden. Wie in den DPV-Messungen in Abbildung 6-19 zu sehen ist konnte auch hier eine Signalerhöhung von mehr als einer Größenordnung erreicht werden.

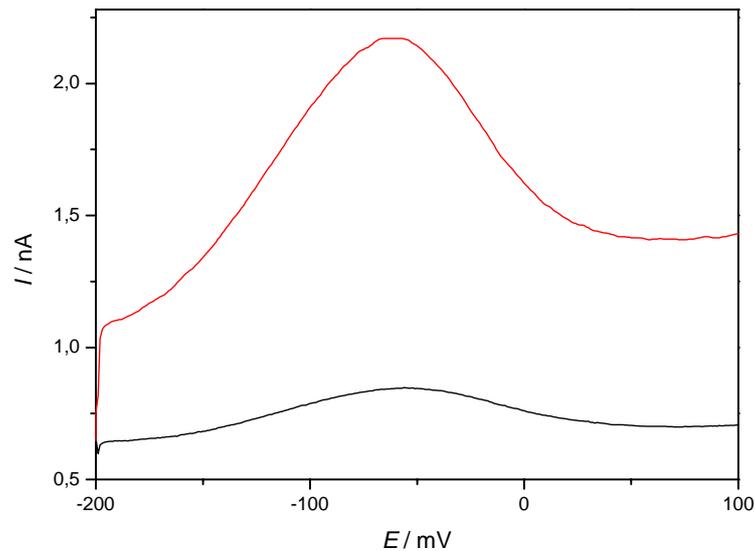


Abbildung 6-19: *Differential Pulse Voltammogramm einer mit TNF modifizierten Typ B UME in einer Lösung aus 3.2 mM NAD<sup>+</sup>, 0.2 M CaCl<sub>2</sub> und 3 U/mL GDH in Anwesenheit von 10 mM Glukose im Vergleich zu einer glatten. Schwarz: glatte UME; rot: makroporöse UME.*

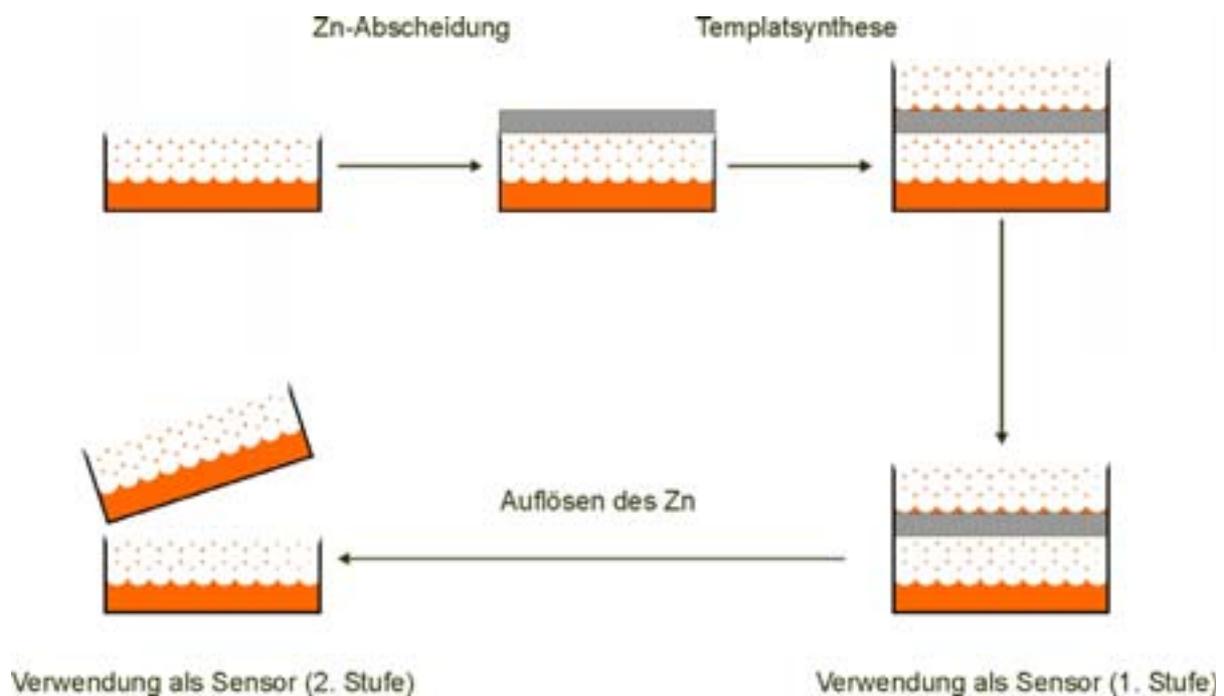
Wie gezeigt werden konnte, ist es möglich makroporöse UMEs mit einer stark vergrößerten aktiven, nicht aber geometrischen Oberfläche, darzustellen. Hierbei kann die Dicke der porösen Schichten leicht durch zeitliche Stromoszillationen kontrolliert werden. Die Erhöhung der aktiven Oberfläche hängt direkt linear mit dieser Größe zusammen. Da die Porendurchmesser groß genug sind, um sehr große Biomoleküle in das poröse System eindringen zu lassen, können somit, im Gegensatz zu mesoporösen UMEs, enzymkatalysierte Reaktionen an der gesamten aktiven Oberfläche ablaufen. Hierdurch ergab sich in diesem Fall eine Erhöhung des Glukosesignals um mehr als eine Größenordnung. Hier wurde jedoch noch nicht die optimale Substratdicke erreicht, so dass zu erwarten ist, dass durch Vergrößerung der Schichtdicke des porösen Materials die Signale um weitere 1-2 Größenordnungen verstärkt werden können.

## Kapitel 7: Rezyklierbare Sensorsysteme

Ein großes Problem von biomodifizierten Elektroden ist es, dass diese Systeme in der Regel wenig stabil sind. Durch z.B. Oxidation, Hydrolyse, Proteinfaltung oder Spaltung von Schwefelbrücken tritt schnell Denaturierung und dadurch Deaktivierung der biologischen Spezies ein. Dies ist vor allem für in vivo Anwendungen der Fall, wobei Enzyme, DNA usw. leicht durch körpereigene Prozesse (Immunabwehr, Proteinspaltung etc.) zerstört werden. Eine Erhöhung der Stabilität kann z.B. durch die Immobilisierungsmethode erfolgen [193], wie etwa das Einbetten der Biospezies in eine Polymermatrix oder durch Fixierung mittels einer Membran. Jedoch ist in jedem Falle die Stabilität der so immobilisierten Moleküle nicht länger als wenige Wochen oder maximal wenige Monate. Dies hängt damit zusammen, dass diese stets, wenn in einigen Fällen auch nur geringfügig, mit dem umgebenden Medium in Kontakt stehen. Für die meisten Anwendungen, wie Biosensoren und Biobrennstoffzellen ist jedoch eine viel längere Stabilität, im Idealfalle von mehreren Jahren, nötig. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit ein neues Konzept vorgeschlagen, um die aktive Oberfläche modifizierter Elektroden schonend und effizient zu erneuern. Dieses Konzept beruht darauf, dass mehrere Schichten makroporösen Goldes übereinander aufgebracht werden, wobei sich zwischen den porösen Schichten eine dünne Schicht eines elektrisch leitfähigen Materials befindet, welches leicht wieder entfernt werden kann. Für diesen Zweck wurde Zink gewählt, da dieses sehr leicht und reproduzierbar über Elektrodeposition abzuscheiden ist und außerdem leicht durch Behandlung mit einer Säure bzw. Anlegen eines positiven Potentials wieder aufgelöst werden kann.

Hierbei wird zunächst eine makroporöse Goldelektrode, wie in den Kapiteln 3.2.2 bzw. 3.2.3 beschrieben hergestellt und auf diese durch elektrochemische Abscheidung eine dünne Schicht Zink aufgebracht, welche das poröse Substrat vollständig vom umgebenden Milieu isoliert. Durch dieses Vorgehen entsteht ein Mikrobehälter aus porösem Gold, der durch die Zn-Schicht räumlich von der Umgebung abgetrennt ist. Auf diese Zn-Schicht wird daraufhin eine weitere Schicht makroporösen Goldes abgeschieden, wodurch eine Sandwich-Struktur der Form  $Au_{por}/Zn/Au_{por}$  entsteht. Diese äußere poröse Schicht kann nun durch Modifizierung z.B. als Biosensor genutzt werden. Sobald die Aktivität dieser ersten Sensorstufe abnimmt kann das Zink zwischen den porösen Schichten aufgelöst werden und die untere, nun freigelegte Schicht als zweite Sensorstufe genutzt werden (Abbildung 7-1). Die einzelnen Elektrodenschichten können also ähnlich wie die Stufen einer Rakete nach

Benutzung abgestoßen werden. Die Zahl der übereinander liegenden porösen Schichten kann beliebig erhöht werden, jedoch ist darauf zu achten, dass diese auch selektiv und nacheinander voneinander abgelöst werden können. Hierzu ist eine geschickte Wahl der Zwischenschichtmaterialien notwendig, z.B. durch Verwendung eines sehr unedlen Metalls unter der ersten Stufe, eines etwas edleren unter der zweiten Stufe usw. Hierdurch sollte es möglich sein, durch Anlegen des entsprechenden Potentials die porösen Schichten Stufe für Stufe zu entfernen.

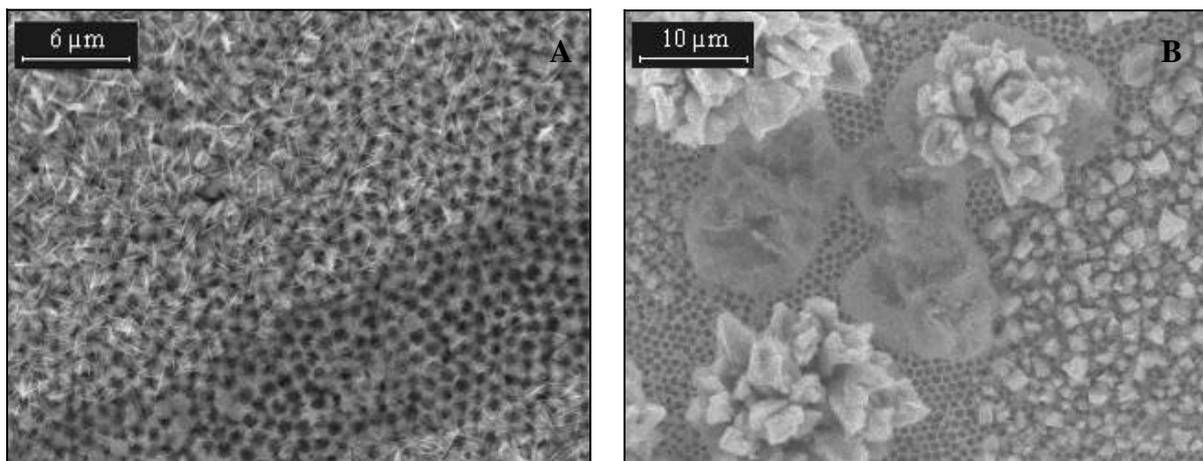


*Abbildung 7-1: Schematische Darstellung der Synthese des Au/Zn/Au-Sandwichs, seiner Verwendung als Sensor und Regenerierung der porösen Oberfläche. Orange: Gold, grau: Zink.*

Das verwendete makroporöse Gold der untersten Schicht wurde wie in Kapitel 3.2.2 und 3.2.3 durch das Templatverfahren mittels LB bzw. VD erzeugter kolloidaler Kristalle hergestellt. Auf diese Substrate musste daraufhin eine dünne, glatte Schicht Zn abgeschieden werden. Hierzu war es nötig zum einen das richtige Bad, zum anderen die richtigen Konditionen für die Abscheidung herauszufinden, um sehr glatte Oberflächen zu erhalten, auf die dann wiederum ein kolloidaler Kristall aufgebracht werden kann.

## 7.1 Abscheidung der Zn-Schicht

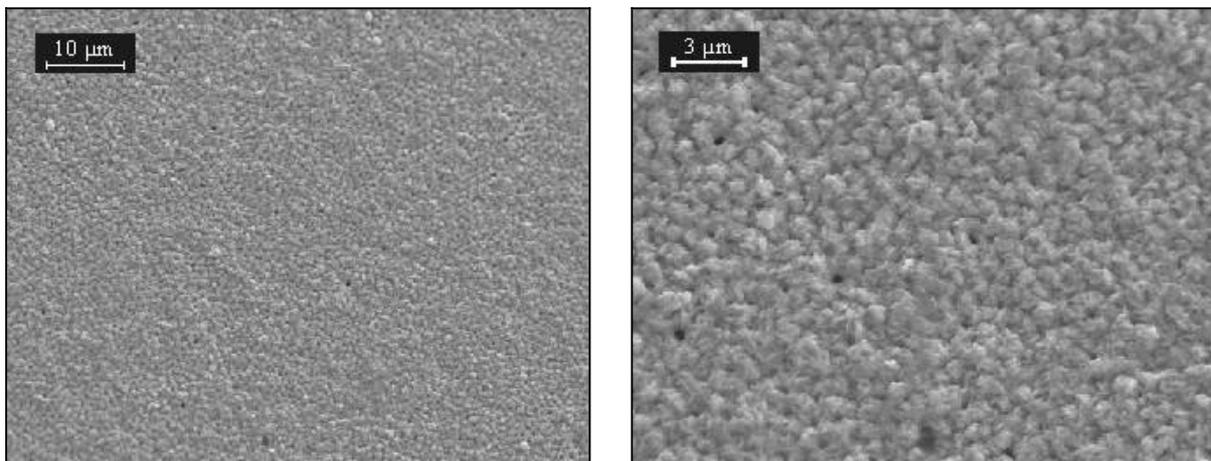
Zur Zn-Abscheidung auf makroporösem Gold wurde zunächst ein selbst hergestelltes Zn-Abscheidungsbad verwendet. Dieses bestand aus einer Lösung aus 0.02 M  $\text{ZnSO}_4$  und 0.2 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  als Leitelektrolyt in destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$ . Die makroporösen Substrate wurden daraufhin samt Gegen- und Referenzelektrode in diese Lösung getaucht und ein Potential von -1000 mV in Bezug auf Ag/AgCl angelegt. Während der gesamten Abscheidungszeit, die von 60 – 180 sec variiert wurde, musste die Elektrolytlösung zum besseren Stofftransport zur Elektrodenoberfläche gerührt werden. Jedoch zeigte sich, dass das Zn bei kurzen Abscheidungszeiten (60 s) die Poren des makroporösen Goldes nicht vollständig schließen konnte, wobei bei längeren Abscheidungszeiten (180 s) eine Tendenz zu starkem Dendritwachstum festzustellen war (Abbildung 7-2). Dadurch trat eine sehr große Rauigkeit der abgeschiedenen Schichten auf, wobei auch in diesem Falle die Poren nicht geschlossen wurden.



*Abbildung 7-2: Auf makroporösem Gold ( $d = 1100 \text{ nm}$ ,  $5/2$  Kugelschichten) abgeschieden Zinkschichten. Abscheidungsbad: 0.02 M  $\text{ZnSO}_4$  und 0.2 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  in  $\text{H}_2\text{O}$ . Abscheidungszeit: (A) 60 s, (B) 180 s.*

Wegen dieser Rauigkeit und mangelnden Einheitlichkeit waren die so hergestellten Zn-Schichten nicht für die Synthese der Sandwich-Strukturen zu gebrauchen, da zum einen auf den rauen Schichten keine geordneten kolloidalen Kristalle abgeschieden werden konnten, zum andern weil das poröse Gold nicht von seiner Umgebung getrennt war. Aus diesem

Grund wurde der Abscheidungselektrolyt gewechselt und in der Folge das kommerzielle zyanidfreie Bad ENVIROZIN 120 (MacDermid Industrial Solutions, Birmingham, UK) verwendet. Wie vom Hersteller empfohlen, erfolgte die Abscheidung auf amperostatischem Wege bei einer Stromdichte von  $20 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Bei dieser Stromdichte beträgt die Abscheidungsrate wie angegeben etwa  $0.3 - 0.37 \mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ . Um besonders glatte Oberflächen zu erhalten wurden die mit Zink beschichteten Substrate 20 s in 0.1 % HCl getaucht. Die Abscheidungszeit betrug 180 s, um Schichten von etwa  $1 \mu\text{m}$  Dicke zu erzeugen. Im Gegensatz zu dem selbst hergestellten Zinkelektrolyten erfolgte die Abscheidung mit dem kommerziellen Bad sehr glatt und ergab geschlossene Schichten (Abbildung 7-3).



*Abbildung 7-3: Zn-Schicht, welche auf makroporösem Gold ( $d = 1100 \text{ nm}$ ,  $3\frac{1}{2}$  Kugelschichten) abgeschieden wurde. Die Dicke der Schicht beträgt etwa  $1 \mu\text{m}$ .*

Betrachtet man die Bruchkante einer so hergestellten Probe, so sieht man, dass sich das Zn nur auf der obersten offenen Halbkugelschicht abgeschieden hatte, nicht aber im inneren der Poren. Dies hängt damit zusammen, dass das Gold an den Verbindungsstegen zwischen zwei Poren spitz zusammenläuft. An diesen Stellen ist das elektrische Feld durch den Spitzeneffekt wesentlich höher, als an weitgehend planaren Goldflächen, wodurch sich das Zink an diesen Verbindungsstellen schneller abscheidet, als an anderen Stellen der Probe. Deshalb werden die Stege relativ schnell untereinander mit dem Metall überbrückt und es scheidet sich kein Zink im Inneren der Poren ab. Dies ist sehr wichtig, damit die Poren in der ersten porösen Schicht von der Umgebung und somit von den folgenden porösen Schichten räumlich abgetrennt sind. Falls Reaktionen an einer weiter außen liegenden makroporösen Oberfläche

ablaufen, so bleiben diese Poren inaktiv und die darin befindlichen Katalysatoren verlieren somit keine Aktivität.

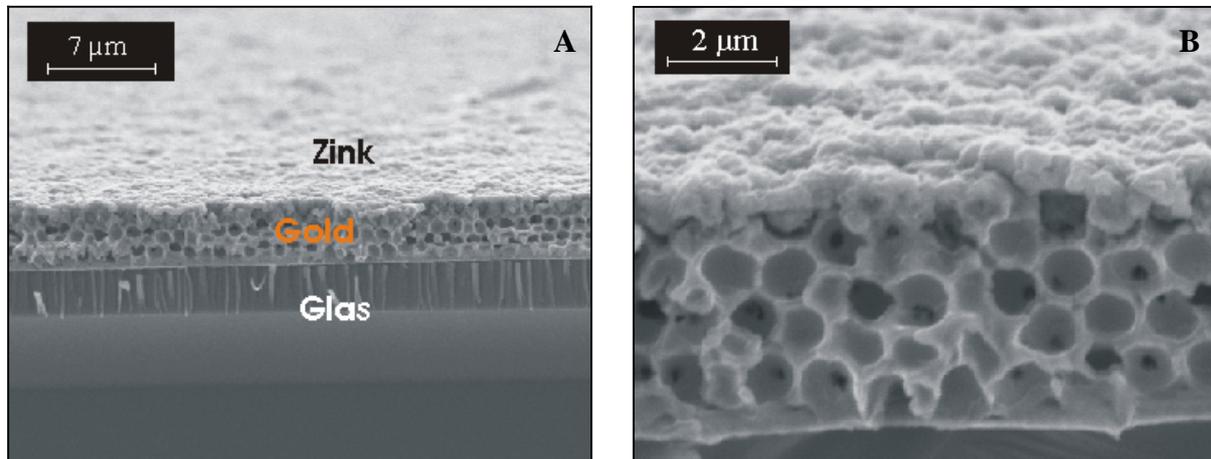


Abbildung 7-4: REM-Aufnahme der Bruchkanten zweier mit Zink beschichteter makroporöser Goldelektroden (über LB hergestellt). (A): 2 $\frac{1}{2}$  Kugelschichten, (B): 3 $\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $d = 680 \text{ nm}$ .

## 7.2 Abscheidung makroporösen Goldes auf der Zn-Zwischenschicht

Da über das LB-Verfahren sehr gut reproduzierbare und kontrollierbare kolloidale Kristalle dargestellt werden können wurde nun dieses Verfahren zur Templatsynthese auf Zn-Schichten angewendet. Ein Problem ist jedoch, dass über dieses Verfahren nur Silikateilchen abgeschieden werden können, nicht aber Kristalle aus Polymerkolloiden. Da diese jedoch nur mittels Fluorwasserstoffsäure aufgelöst werden können, welche auch Zink sehr stark angreift, ist beim Behandeln der Proben mit dieser Säure große Vorsicht geboten. Betrachtet man einen kolloidalen Kristall auf Zn, dessen Zwischenräume mit Gold gefüllt sind, so sieht man, dass das Zn zunächst nicht direkt mit dem äußeren Milieu, also der Säure, in Berührung kommt, da die Poren mit Kolloiden gefüllt sind und somit die Verbindungskanäle verstopfen. Erst nach Auflösen der Kolloide kommt die Säure mit dem Zn in Berührung. Es wurde deshalb versucht, durch möglichst kurze Einwirkzeiten die Kolloide aufzulösen, ohne dass das Zink dabei angegriffen wird.

Auf den glatten Zn-Schichten konnten kolloidale Kristalle mit unterschiedlichen Kugeldurchmessern mit einer Dicke von 3 Kugelschichten hergestellt werden. In diesen Templaten erfolgte daraufhin eine Goldabscheidung wie schon in vorherigen Kapiteln beschrieben. Allerdings konnten keine Stromoszillationen beobachtet werden, da wohl die Goldabscheidung auf Zn nicht sehr einheitlich abläuft. Dies wurde auch in Vorversuchen bei Goldabscheidungen auf glatten Zn-Schichten ohne Templat festgestellt, wobei zunächst nur lokale Abscheidungen erfolgten, bevor sich das Gold auf dem gesamten Substrat ausbreitete. Deshalb wurde die Dicke der makroporösen Schicht auf dem Zink über die Abscheidungszeit kontrolliert. Das Auflösen des Templats erfolgte durch Behandlung mit 0.1 % HF während 10 sec, was ausreichend war, um das Templat vollständig zu entfernen. Wie in Abbildung 7-5 A zu sehen, sind die auf Zn abgeschiedenen porösen Strukturen, wie im Falle der Abscheidung auf glattem Gold, sehr einheitlich und gut geordnet. Jedoch griff die Säure trotz der kurzen Ätzzeit die Zinkschicht zwischen den makroporösen Materialien an und löste dieses vollständig auf, so dass diese nur von einer Luftschicht getrennt sind (Abbildung 7-5 B). Es ist also nicht möglich Silikakolloide aufzulösen, ohne dass das Zink aufgelöst wird. Aus diesem Grund wurden in der Folge die porösen Schichten auf Zink in Templaten aus Polystyrolkolloiden hergestellt.

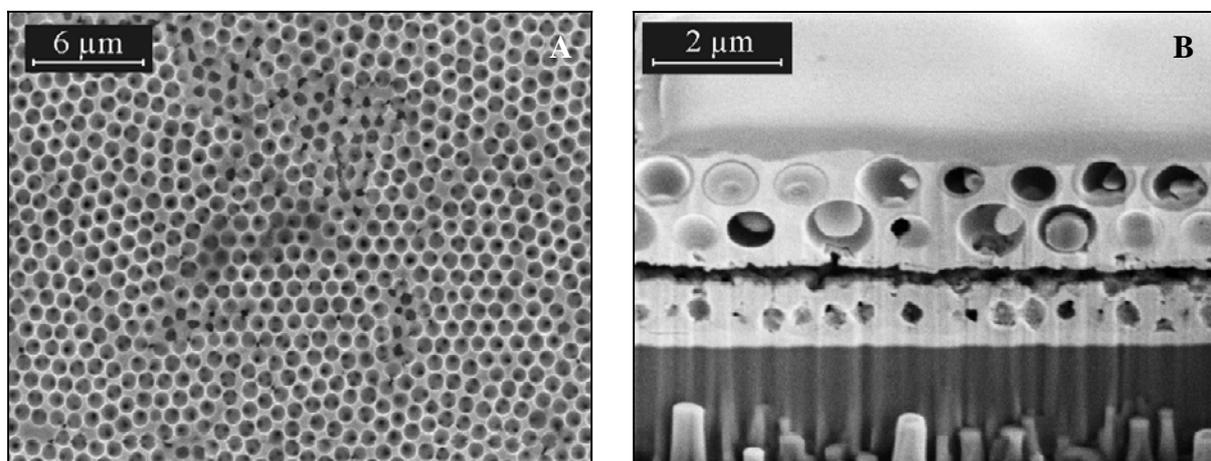
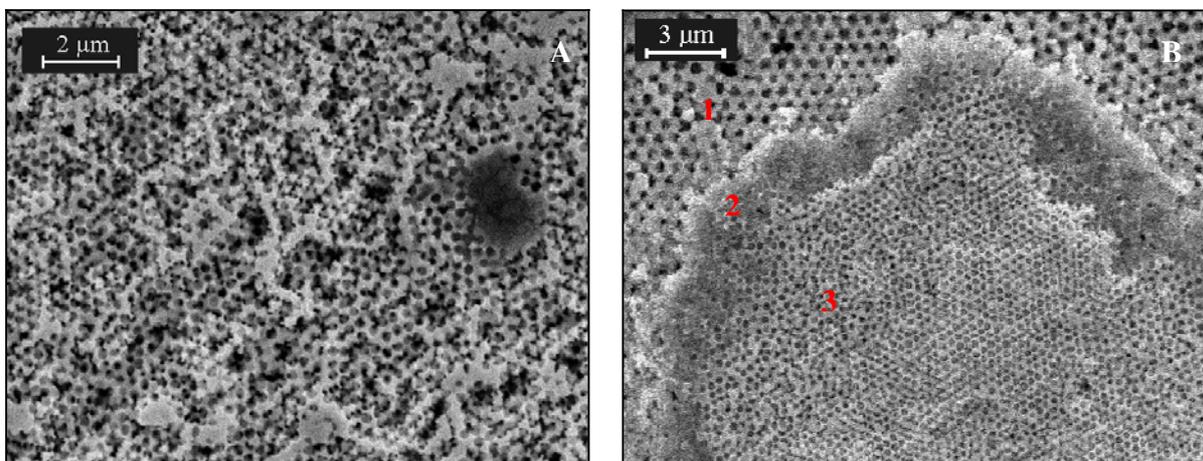


Abbildung 7-5: REM-Aufnahmen einer „Sandwich“-Probe von makroporösem Gold ( $d = 1100 \text{ nm}$ ) auf einer mit  $1 \mu\text{m}$  Zn verschlossenen makroporösen Goldelektrode ( $d = 460 \text{ nm}$ ). Die Zn-Zwischenschicht wurde durch das Behandeln mit HF aufgelöst. (A) Draufsicht, (B) Seitenansicht einer mittels FIB geschnittenen Probe.

Die Abscheidung der Latexkolloide auf die Zn-Schichten erfolgte nach der in Kapitel 2.1.3 beschriebenen VD-Methode. Die Konzentration wurde so gewählt, dass die Dicke der Template fünf Kugelschichten betrug, als Kugeldurchmesser wurden 330 nm gewählt. Ebenso wie bei den LB-Proben konnten bei der folgenden elektrochemischen Abscheidung des Goldes aus denselben Gründen keine Stromoszillationen beobachtet werden. Das Templat wurde daraufhin durch 10 min Behandeln mit Toluol aus dem abgeschiedenen Gold herausgelöst. Auch diese Schichten zeigten eine hohe Ordnung (Abbildung 7-6 A). Im Gegensatz zu den Experimenten mit Silikakolloiden kam es dabei nicht zur Auflösung des Zinks, wie in (Abbildung 7-6 B) zu erkennen ist.



**Abbildung 7-6:** Sandwich-Struktur von makroporösem Gold ( $3\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $d = 330$  nm) auf einer mit  $1\ \mu\text{m}$  Zn verschlossenen makroporösen Goldelektrode ( $2\frac{1}{2}$  Kugelschichten,  $d = 680$  nm). (A) Draufsicht, (B) Draufsicht auf einen lokalen Defekt; (1) makroporöses Au,  $d = 680$  nm, (2) Zink-Schicht (3) makroporöses Au,  $d = 330$  nm.

Führt man ein so genanntes EDX-„Elementmapping“ an einer Schnittkante solch einer Probe durch, so kann man Gold, Zink und Glas leicht voneinander unterscheiden und lokal abbilden. In (Abbildung 7-7 B) sind goldhaltige Bereiche gelb, zinkhaltige violett und siliziumhaltige Zonen rot eingefärbt. Wie man sieht befindet sich das Zink genau zwischen den porösen Goldschichten. Die Aufnahmen sind sehr unscharf, da für das Elementmapping im REM mit sehr kleinen Beschleunigungsspannungen (5 kV) gearbeitet werden muss, wodurch die Auflösung verschlechtert wird. Der dunkle Streifen in der Mitte der Zinkschicht (B) täuscht einen Hohlraum vor, ist jedoch ein apparativ bedingtes Artefakt, auf normalen REM-Aufnahmen ist an dieser Stelle nur kompaktes Zink zu erkennen.

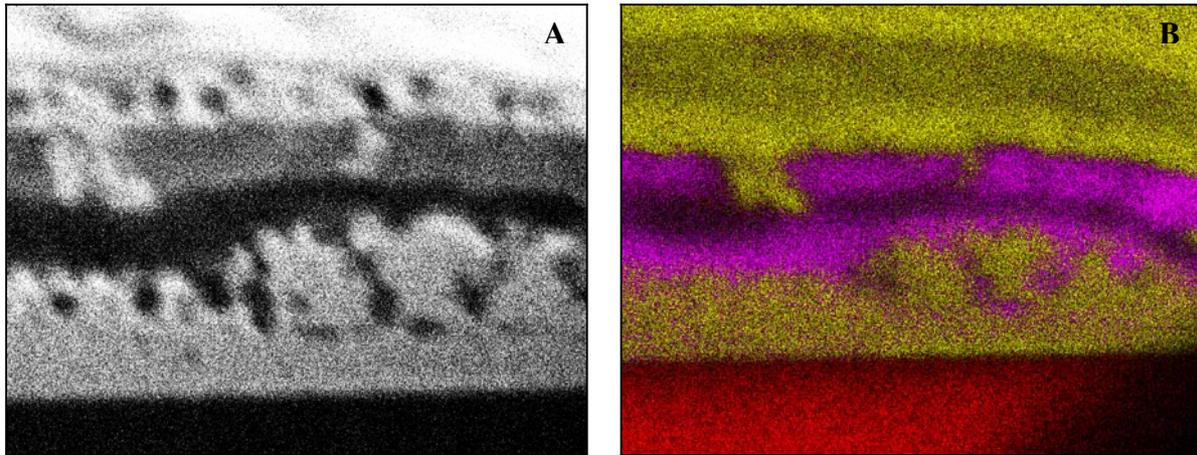


Abbildung 7-7: Elementmapping einer Sandwich-Probe aus zwei Schichten makroporösen Goldes ( $d = 330 \text{ nm}$ ,  $1\frac{1}{2}$  Kugelschichten) durch eine  $1 \mu\text{m}$  Zn-Schicht getrennt. (A) REM-Aufnahme, (B) mit Elementmapping. Gelb: goldhaltige Zonen, violett: zinkhaltig, rot: siliziumhaltig.

Durch 2 min Behandeln mit 1 M HCl im Ultraschallbad gelang es, das Zink komplett aufzulösen und die obere poröse Schicht zu entfernen. Hierbei wurden einheitliche makroporöse Goldschichten ohne Zinkverunreinigung erhalten.

## **Kapitel 8: Zusammenfassung und Ausblick**

In dieser Arbeit gelang es eine neue Methode zur Herstellung makroporöser Elektroden zu entwickeln. Zum ersten Mal wurde das Langmuir-Blodgett-Verfahren mit monodispersen Silikakolloiden eingesetzt um Template für die elektrochemische Synthese solcher Materialien zu synthetisieren. Im Vergleich zu den gängigen Methoden zur Erzeugung kolloidaler Kristalle besitzt diese den Vorteil, dass die Schichtdicken exakt kontrollierbar sind, die Ordnung in z-Richtung nahezu perfekt ist und in den abgeschiedenen Kristallen keine Risse auftreten. Aus diesen Gründen sind solche Template gerade für eine Elektroabscheidung makroporöser Edelmetalle wie Gold, Platin oder Palladium hervorragend geeignet. Wegen der hohen Ordnung in z-Richtung traten während der elektrochemischen Abscheidung im Templat zeitliche Stromoszillationen auf, die mit einer sich während des Prozesses zeitlich ändernden Elektrodenoberfläche zu erklären sind. Mit Hilfe dieser Oszillationen lässt sich exakt verfolgen an welcher Stelle im Templat sich die Oberkante des abgeschiedenen Materials gerade befindet. Somit gelang es uns die Dicke der, nach Auflösen des Templats erhaltenen, porösen Elektroden zu kontrollieren. Eine Kontrolle des Porendurchmessers konnte derweil über den verwendeten Teilchendurchmesser erreicht werden.

Neben dem LB-Verfahren wurden auch das VD- und das CE-Verfahren zur Templatherstellung angewandt, jedoch waren die Ergebnisse, in Bezug auf Ordnung und Kontrolle, nicht so gut wie im Falle der LB-Template.

Die Konnektivität der sphärischen Poren untereinander wurde über FIB-Tomographie charakterisiert. Aus dieser Untersuchung ergab sich, dass alle Poren miteinander verbunden sind und somit die gesamte innere Oberfläche einen Beitrag zur aktiven Oberfläche des Materials gibt. Die Ermittlung dieser aktiven Oberfläche wurde über zyklische Voltammetrie in Schwefelsäure durchgeführt, wobei der Goldoxid-Strippingpeak als Maß für die Oberfläche verwendet wurde. Hierbei wurde festgestellt, dass bei Verwendung von noch relativ dünnen porösen Schichten bereits eine Oberflächenerhöhung um fast zwei Größenordnungen erreicht werden kann. Hier sollten in der Zukunft noch Untersuchungen erfolgen, ob ein Limit für die Erhöhung der aktiven Oberfläche existiert. Es wird vermutet, dass ab einer bestimmten Dicke der porösen Elektroden die untersten Schichten durch eine behinderte Diffusion keine elektrochemische Aktivität mehr aufweisen. Da bei der Synthese von dicken Proben keine

Kontrolle über Stromoszillationen möglich war, wurden diese Untersuchungen während dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Die elektrochemische Aktivität wurde daraufhin anhand verschiedener einfacher Redoxpaare charakterisiert, wobei zwischen Systemen mit schnellen und solchen mit langsamen Kinetiken unterschieden wurde. Hierbei ergab sich, dass schnelle Redoxreaktionen, wie etwa  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ , keine signifikante Signalerhöhung im CV für poröse Elektroden im Vergleich zu glatten aufweisen, da die Ionen bzw. Moleküle in der kurzen Reaktionszeit nicht in das poröse System eindringen können. Im Gegensatz hierzu erhält man eine lineare Erhöhung des Faraday-Stroms langsamer Reaktionen, welche im Einklang mit der gemessenen Oberflächenerhöhung steht.

Da es sich bei elektroenzymatischen Reaktionen typischerweise um langsame Reaktionen handelt können die Signale solcher Umsetzungen durch poröse Elektroden verstärkt werden. Deshalb wurde getestet, ob es möglich ist Enzyme in die Poren der makroporösen Elektroden zu bringen und dort zu immobilisieren. Hierzu wurden die Elektroden mit dem Mediator TNF modifiziert und die Reaktionsströme in Lösungen von NADH bzw.  $\text{NAD}^+$ /GDH und Glukose untersucht. Aus der Tatsache, dass die Faraday-Ströme durch die porösen Elektroden verstärkt wurden, konnte gefolgert werden, dass prinzipiell Enzyme trotz ihrer Größe in makroporöse Systeme hineindiffundieren können. In der Folge wurden sowohl GDH als auch GOx auf diesen Elektroden durch verschiedene Methoden immobilisiert, was Glukose-Biosensoren ergab, die im Vergleich zu einem Sensor auf einer glatten Elektrode eine deutlich erhöhte Sensitivität aufweisen. Diese Immobilisierungsmethoden waren jedoch nicht sehr reproduzierbar, so dass an dieser Stelle in Zukunft weitere Untersuchungen nötig sind. Interessant wären vor allem Untersuchungen zur Immobilisierung von Enzymen in Os-Redoxpolymeren auf makroporösen Oberflächen.

Motiviert durch die Ergebnisse, die für poröse Makroelektroden erhalten wurden, wurde versucht dieses Konzept auf miniaturisierte elektrochemische Systeme zu übertragen. Es gelang uns zwei Typen makroporöser Ultra-Mikro-Elektroden herzustellen. So wurden einerseits Ultra-Mikro-Elektroden mit gewölbter (Typ A), andererseits solche mit einer zylindrisch geformten makroporösen Spitze hergestellt. Beide Typen wiesen wie erwartet eine stark erhöhte Oberfläche auf und zeigten ähnliches Verhalten in Bezug auf die Kinetik der elektrochemischen Reaktionen wie es für die porösen Makroelektroden erhalten wurde. Eine Modifizierung mit einem biokatalytischen System ergab hier einen miniaturisierten Sensor, dessen Signal durch die poröse Struktur um etwa zwei Größenordnungen verstärkt wurde. Des Weiteren wäre es interessant zu überprüfen, inwiefern solche Elektroden angewandt

werden könnten. Hier würde sich vor allem die elektrochemische Rastermikroskopie anbieten, für die solche Systeme als Arbeitselektroden dienen könnten. Eine weitere Herausforderung besteht in der Herstellung von Arrays makroporöser Ultramikroelektroden. Solche Systeme könnten z.B. zur Kontaktierung von Neuronen in der Medizintechnik eingesetzt werden. Hierzu wurden schon einige Versuche gemacht, die Ergebnisse aber noch keine konkreten Schlussfolgerungen zulassen.

Auch wurden Versuche zu erneuerbaren Elektrodenoberflächen durchgeführt. Hier gelang es makroporöse Goldelektroden zunächst mit einer glatten Schicht Zink zu bedecken, wobei das Poreninnere räumlich vollständig von der Umgebung isoliert wurde. Auf diese Zinkschicht konnte eine weitere Schicht porösen Goldes aufgebracht werden, welche nach Modifizierung z.B. als erste Stufe eines Biosensors dienen könnte. Jedoch musste in diesem Fall das Templat aus Polystyrolteilchen bestehen, da die zum  $\text{SiO}_2$ -Auflösen benötigte HF ebenso das Zink auflöste. Es gelang auch die Zwischenschicht durch behandeln mit einer Säure vollständig aufzulösen, so dass die obere poröse Schicht entfernt und die untere elektrochemisch aktiv wurde. Diese zweite Stufe würde dann zum Einsatz kommen, wenn die erste vollkommen ihre Aktivität verloren hat. Hierzu wäre es allerdings notwendig zu untersuchen, ob es möglich ist die untere Schicht mit einem Enzym zu modifizieren und ob diese nach Verschließen mit Zink, Aufbringen der zweiten Schicht porösen Goldes und Auflösen der Zinkschicht immer noch eine ausreichende Aktivität aufweist. Auch ist es schwierig mit der ersten Stufe elektrochemische Messungen durchzuführen, da Zink ein sehr negatives Redoxpotential besitzt und somit schon bei relativ negativen Potentialen oxidiert wird. Hier sollte versucht werden, das Zink durch etwas edlere Metalle, die trotzdem noch auflösbar sein müssen, bzw. durch leitfähige Polymere zu ersetzen. Auch bleibt noch zu versuchen, selektiv abtrennbare Stufen zu kreieren, wobei verschiedenartige Materialien zwischen den einzelnen Schichten eingefügt werden müssten. Jedoch konnte gezeigt werden, dass die Konstruktion solcher Systeme prinzipiell möglich ist, auch wenn noch einige Probleme zu lösen sind.

Der letzte Punkt, der im Rahmen dieser Arbeit behandelt wurde bezieht sich nicht auf die elektrochemischen Eigenschaften makroporöser Materialien. Vielmehr wurde in Bezug auf das Verhalten solcher Systeme als photonische Kristalle versucht die Ordnung zu erhöhen. Dies gelang mittels vorstrukturierter Substrate. Hierdurch wurde die Fernordnung in den Systemen deutlich verbessert, was durch Fourier-Transformation der jeweiligen REM-Aufnahmen gezeigt werden konnte. Es konnte gezeigt werden, dass durch Aufbringen einer gewellten Struktur mit genau definierter Periode sich die Templatkugeln vornehmlich in die Gräben der Struktur legen, weshalb die Ordnung verbessert wird. Jedoch konnte die Ordnung

nur in der ersten Porenschicht deutlich verbessert werden, in der zweiten war diese wesentlich schlechter. Hier wäre zu überprüfen, ob durch eine alternative Synthese von kolloidalen Kristallen bessere Ergebnisse für die zweite und die darauf folgenden Schichten erzielt werden können.

**Anhang:****A. Synthesen****A.1 Polystyrolkolloide**

Ansatz:

1 L dest. Wasser

40 g Styrol

0.6 g Kaliumperoxodisulfat

In einem 2 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden 1 L destilliertes Wasser und 40 g Styrol zusammengegeben und bei 80°C mit Hilfe eines Magnetrührers 1 h emulgiert. Die Polymerisation wird durch Zugabe von 0.6 g  $K_2S_2O_8$  gestartet und das Reaktionsgemisch weitere 24 h bei 80°C gerührt. Danach wird die erhaltene Suspension durch einen Faltenfilter filtriert, das Filtrat am Rotationsverdampfer auf 300 mL eingeeengt und 7 d gegen destilliertes Wasser dialysiert, wobei das Wasser täglich gewechselt wird. Nach der Dialyse wird die Suspension erneut auf 150 mL eingeeengt und zum Entfernen ionischer Verunreinigungen mit Mischbettionenaustauscher geschüttelt. Nach kurzer Zeit tritt eine deutliche Opaleszenz der Suspension auf.

**A.2 Silikakolloide**

Ansatz:

400 mL Ethanol

60 mL Ammoniak (25%)

32 g Tetraethoxyorthosilikat (TEOS)

In einem 1 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden 60 mL Ammoniak in 400 mL Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung tropft man langsam 32 g TEOS und rührt das Gemisch 24 h bei RT. Diese Suspension wird daraufhin durch einen Faltenfilter filtriert, am Rotationsverdampfer auf 150 mL eingeeengt und 7 d gegen destilliertes Wasser dialysiert, wobei das

Wasser täglich gewechselt wird. Danach engt man die Suspension auf 100 mL ein und schüttelt sie zum Entfernen ionischer Verunreinigungen mit Mischbettionenaustauscher.

### A.3 Hydrophobisierte Silikakolloide

Ansatz:

1.2 L Ethanol

180 mL Ammoniak

135 g Tetraethoxyorthosilikat

100  $\mu$ L Allyltrimethoxysilan

In einem 2 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden 90 mL Ammoniak in 500 mL Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung tropft man langsam 50 g TEOS in 100 mL Ethanol und rührt das Gemisch 24 h lang. Die Suspension wird abzentrifugiert und mehrmals mit Ethanol gewaschen. Ein Zehntel dieses Zentrifugats wird in 500 mL Ethanol aufgenommen, 90 mL Ammoniak hinzu gegeben und mittels einer peristaltischen Pumpe langsam ( $0.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) 85 g TEOS in 100 mL Ethanol zugetropft. Man rührt dieses Gemisch 24 h bei RT, gibt 100  $\mu$ L Allyltrimethoxysilan zu und lässt weitere 24 h rühren. Die erhaltene Suspension wird durch einen Faltenfilter filtriert, 7 d gegen destilliertes Wasser dialysiert und am Rotationsverdampfer auf ein Volumen von 500 mL eingeengt.

## A.4 Synthese von 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butanthiol

### 1. Stufe: 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylbromid

#### Ansatz:

1 g (4.35 mmol) Ferrocenylcarbonsäure

1 g (6.52 mmol) 4-Brombutanol

0.2 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

30 mL Toluol

1 g (4.35 mmol) Ferrocenylcarbonsäure und 1 g (6.52 mmol) 4-Brombutanol werden in 30 mL Toluol gelöst und in einen 100 mL Rundkolben mit Wasserabscheider und Rückflusskühler gegeben. Nach Zugabe von 0.2 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird die Lösung für 24 h unter Rühren auf Rückfluss erhitzt. Hierbei entzieht das verdampfende Toluol dem Gemisch das während der Veresterung entstandene Wasser. Das noch heiße Reaktionsgemisch gibt man daraufhin in ein Becherglas mit 500 mL Eiswasser und dekantiert dieses im Scheidetrichter. Die organische Phase wäscht man danach dreimal mit einer gesättigten Lösung aus NaHCO<sub>3</sub> und trocknet diese mit CaCl<sub>2</sub>. Daraufhin wird das Lösemittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Als Produkt erhält man 0.605 g (1.66 mmol) 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylbromid als rotbraunes Öl mit einer Ausbeute von 38 %. Die Charakterisierung des Produkts und die Bestimmung seiner Reinheit erfolgten über <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie.

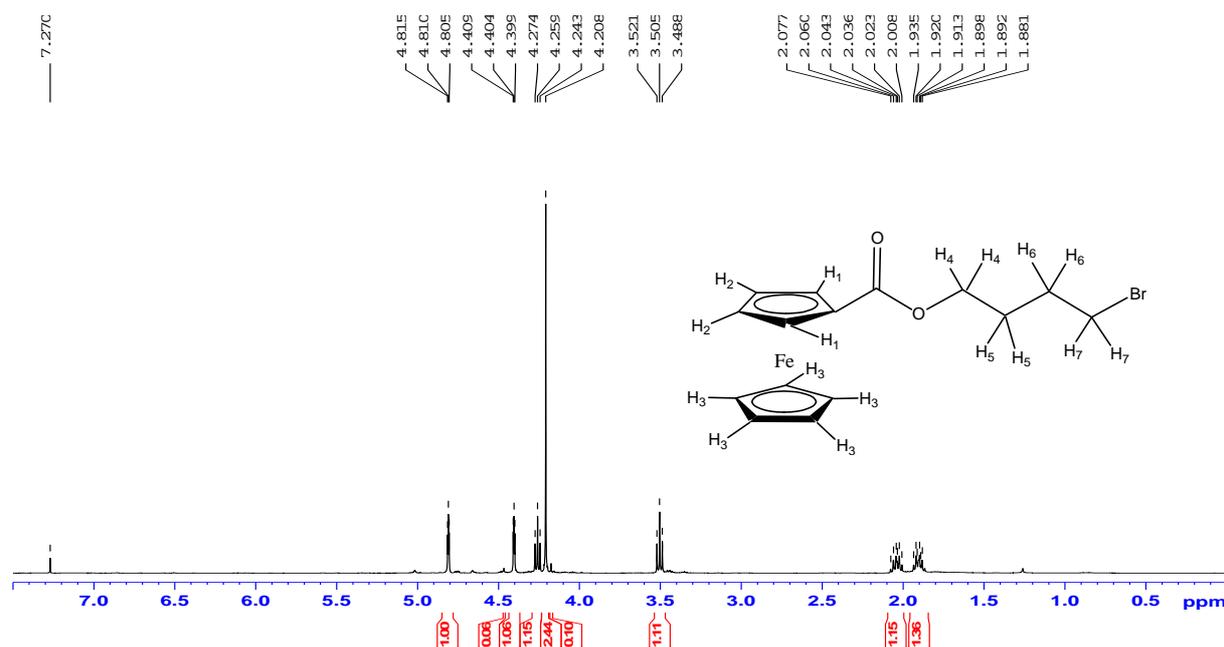


Abbildung A-8-1: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylbromid.

## Peaks:

1.903 ppm (q), Integral: 2  $\equiv$  H<sub>5</sub> oder H<sub>6</sub>

2.043 ppm (q), Integral: 2  $\equiv$  H<sub>5</sub> oder H<sub>6</sub>

3.505 ppm (t), Integral: 2  $\equiv$  H<sub>7</sub>

4.208 ppm (s), Integral: 5  $\equiv$  H<sub>3</sub>

4.259 ppm (t) Integral: 2  $\equiv$  H<sub>4</sub>

4.404 ppm (t) Integral: 2  $\equiv$  H<sub>2</sub>

4.810 ppm (t) Integral: 2  $\equiv$  H<sub>1</sub>

Damit waren alle Peaks zuordbar. Verunreinigungen waren nur in geringen Mengen vorhanden.

2. Stufe: 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylthioacetat

## Ansatz:

0.605 g (1.66 mmol) 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylbromid

0.227 g (1.99 mmol) Kaliumthioacetat

50 mL absolutiertes Aceton

0.605 g (1.66 mmol) 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylbromid werden in 50 mL Aceton gelöst und in einen 100 mL Rundkolben mit Rückflusskühler gegeben. Zu dieser Lösung gibt man daraufhin 0.227 g (1.99 mmol) Kaliumthioacetat und lässt das Gemisch 12 h rühren. Das Reaktionsgemisch wurde abfiltriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Als Produkt erhält man 0.595 g (1.65 mmol) 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylthioacetat in einer Ausbeute von 99 % als rotbraunes Öl. Die Charakterisierung erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie und <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie.

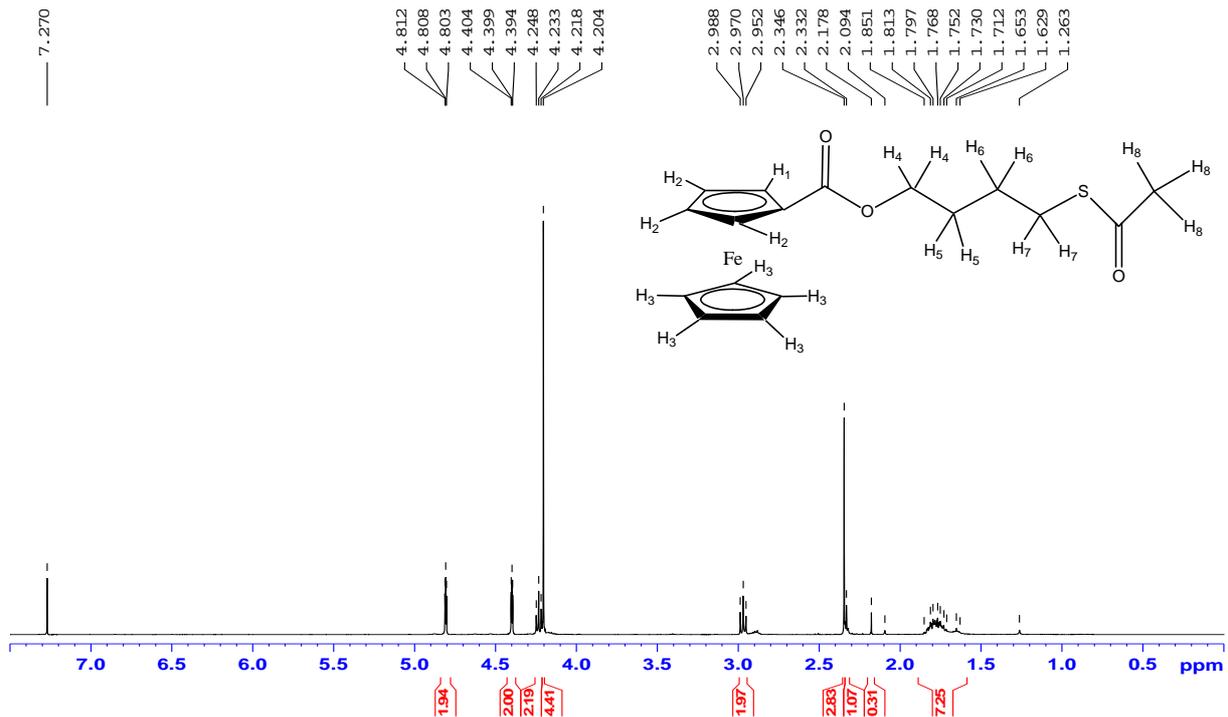


Abbildung A-8-2:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 4-(Ferrocenylcarbonyloxy)butylthioacetat.

Peaks:

1.782 ppm (m) Integral: 7.25  $\equiv$  H<sub>5</sub> und H<sub>6</sub>

2.346 ppm (s) Integral: 3  $\equiv$  H<sub>8</sub>

2,970 ppm (t) Integral: 2  $\equiv$  H<sub>7</sub>

4.204 ppm (s) Integral: 5  $\equiv$  H<sub>3</sub>

4.233 ppm (t) Integral: 2  $\equiv$  H<sub>2</sub>

4.808 ppm (t) Integral: 2  $\equiv$  H<sub>1</sub>

Alle intensiven Peaks zuordbar (Ausnahme: schwacher Peak bei 2.346 ppm, wahrscheinlich nicht verbrauchtes Thioacetat) mit Übereinstimmung der Integrale (Ausnahme: 1.782 ppm, Integral etwas zu hoch). Somit nur geringe Verunreinigungen.

### A.5 Präparation kolloidaler Kristalle durch das LB-Verfahren

Bevor man die Suspensionen für das LB-Verfahren verwenden kann, werden die Kolloide zunächst durch Abzentrifugieren gereinigt und in einer Mischung aus Ethanol und Chloroform (20: 80) redispergiert, so dass die Konzentration an Kolloiden 12 mg/mL beträgt. Um einen zweidimensionalen, geordneten Langmuir-Film zu bilden tropft man 5 mL dieser Suspension daraufhin vorsichtig auf die Wasseroberfläche in einem Langmuir-Blodgett-Trog und lässt das Lösemittel verdampfen. Durch eine bewegliche Barriere erfolgt eine Komprimierung dieses Filmes. Dabei wird stets der Oberflächendruck mittels einer Wilhelmy-Waage kontrolliert und gegen die Distanz zwischen Barriere und Ende des Trogs  $l$  aufgetragen. Während der Komprimierung erhöhte sich der Oberflächendruck zunächst langsam, bis der Film sich zu einem kompakten zweidimensionalen Kristall angeordnet hat. In diesem Moment steigt der Oberflächendruck sprunghaft auf einen Wert von  $10 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  an. Dieser Druck wird nun durch die Barriere konstant gehalten. Zur Abscheidung der Monoschichten bzw. Multischichten taucht der Arm einer Ziehapparatur die Goldelektroden, welche über Klemmen befestigt sind, rasch (Eintauchgeschwindigkeit:  $10 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$ ) in den Film ein und langsam wieder heraus (Ziehgeschwindigkeit:  $0.1 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Dabei wird auf der Elektrodenoberfläche jeweils eine Monoschicht geordneter Kolloide abgeschieden. Durch Wiederholen dieses Vorgangs scheiden sich Multischichten ab, wobei die Dicke durch die Anzahl der Wiederholungsschritte exakt kontrolliert werden kann. Nach Beendigung des Experimentes bzw. zum Wechseln der Kolloide werden der Langmuir-Film und andere mögliche Verunreinigungen durch stetiges Komprimieren und gleichzeitiges Absaugen entfernt.

## B. Techniken und Apparaturen

### B.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Alle dynamischen Streuexperimente wurden an einem ALV-5000E Spektrometer-Goniometer-System durchgeführt. Der Aufbau des Gerätes ist in Abbildung A-8-3 schematisch dargestellt.

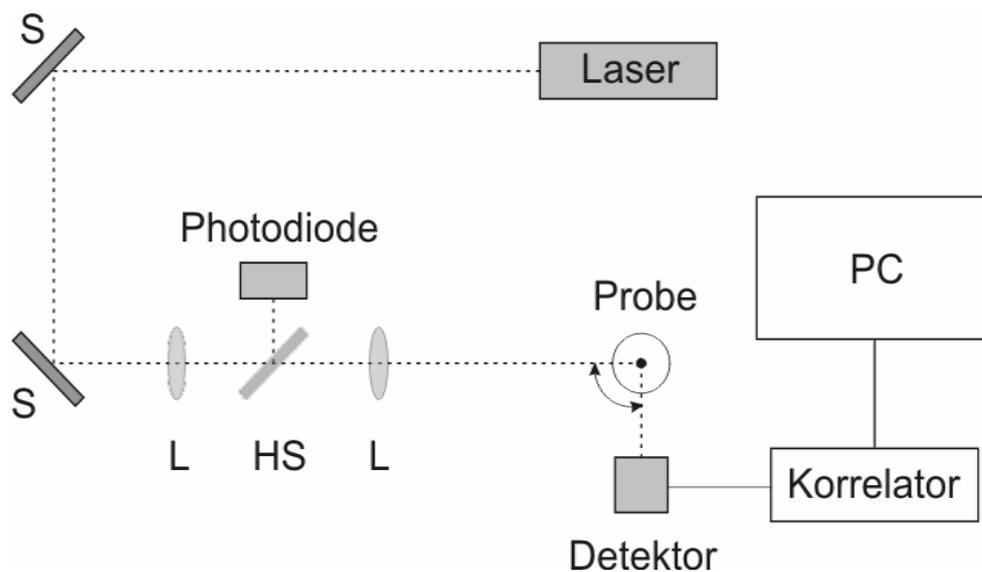


Abbildung A-8-3: Schematischer Aufbau der Lichtstreuapparatur.

Als Lichtquelle dient ein Helium-Neon-Laser (Coherent) der Wellenlänge  $\lambda = 632.8 \text{ nm}$  und einer Leistung von 35 mW. Der nahezu senkrecht polarisierte Strahl wird über ein System aus Spiegeln (S) und Linsen (L) auf die Probe geleitet. Ein Teil des Lichtes gelangt über einen halbdurchlässigen Spiegel (HS) auf eine Photodiode, um mögliche Intensitätsfluktuationen des Primärstrahls zu erfassen. Die Probe selbst befindet sich in einer Quarzglasküvette ( $\varnothing = 10 \text{ mm}$ ), die in ein temperiertes 1:1 Gemisch aus cis-/trans- Dekalin eintaucht um unerwünschte Reflexionen beim Eintritt des Lichtstrahls in die Küvette zu verhindern. Der Winkel zwischen Primärstrahl und detektiertem Streulicht kann über einen Schrittmotor gesteuert werden, wird jedoch bei dynamischen Streuexperimenten in der Regel konstant bei  $90^\circ$  belassen. Die Detektion erfolgt wahlweise über einen Photomultiplier oder eine Avalanche-Diode. Das gemessene Signal wird einem Multitau-Korrelator (ALV-5000E)

zugeführt, der die Streulichtintensitäten zeitlich korreliert und diese Daten zur Auswertung an einen Computer (PC) weiterleitet.

## B.2 Langmuir-Blodgett-Methode

Die Durchführung aller LB-Experimente erfolgte in einem LB-Trog (ATEMETA, CEA) mit einer Oberfläche von  $0.4 \text{ m}^2$  (Abbildung A-8-4).

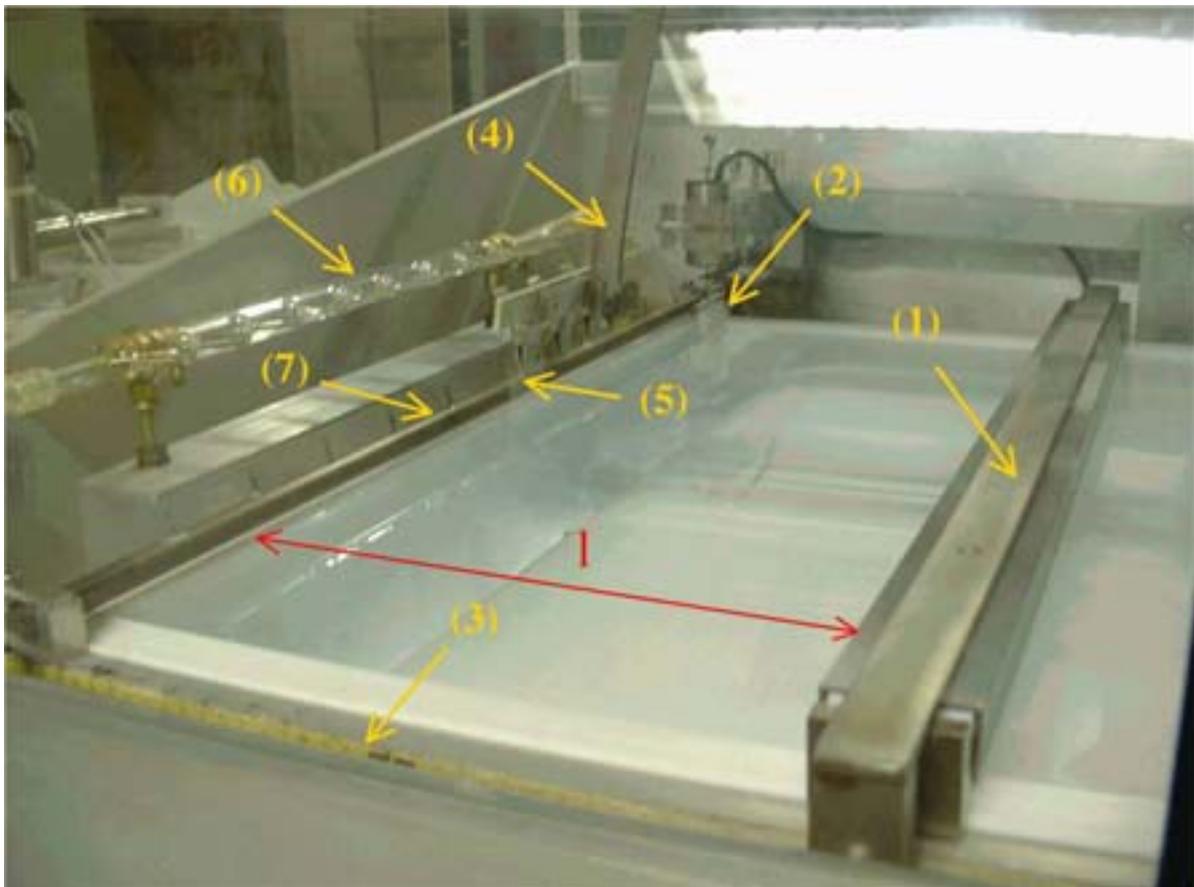
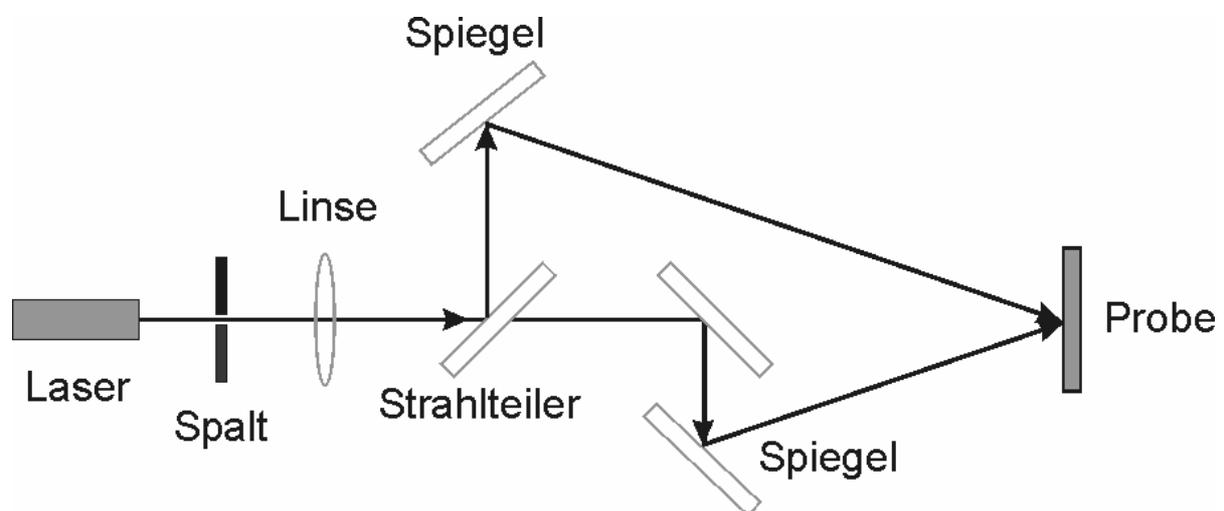


Abbildung A-8-4: Photographie des verwendeten Langmuir-Blodgett-Trogs. (1) mobile Barriere, (2) Wilhelmy-Waage, (3) Metermaß zur Messung des Abstandes zwischen Barriere und Ende des Trogs l, (4) Beweglicher Arm zum Ziehen der Proben, (5) Substratklemmen, (6) Stickstoffzufuhr zum Trocknen der Substrate, (7) Absaugvorrichtung zur Reinigung der Wasseroberfläche.

Dieser Trog besteht neben einer Teflon-Wanne außerdem aus einer beweglichen Barriere (1), mit der die Langmuir-Filme komprimiert werden, wobei der Oberflächendruck über eine Wilhelmy-Waage (2) und der Vorschub über ein auf dem Rand der Wanne aufgeklebtes Metermaß kontrolliert werden. Ein Beweglicher Arm (4) mit Substratklemmen (5) dient zum Ziehen der Proben, die währenddessen durch einen Stickstoffstrom (6) getrocknet werden. Zum einfachen Reinigen des Troges ist eine Absaugvorrichtung (7) vorhanden.

### B.3 Laser-Interferenz-Strukturierung

Bei dem verwendeten Laser handelte es sich um einen hochenergetischen Nd-YAG-Laser (Spectra Physics, Quanta-Ray Pro-290) der Wellenlänge 266 nm und einer Pulsfrequenz von 10 Hz bzw. einer –dauer von 10 ns. Der Primärstrahl des Lasers wurde mittels eines Strahlteilers in zwei Sekundärstrahlen geteilt und mit Hilfe von Spiegeln in einem Punkt auf der Probe fokussiert. Hierbei entstand durch Interferenz ein linienförmiges Muster, wobei die Periode der Linien durch den Winkel zwischen den Sekundärstrahlen eingestellt werden konnte. Der Strahlengang ist in Abbildung A-8-5 dargestellt.



*Abbildung A-8-5: Schematische Darstellung des Strahlenganges bei der direkten Laser-Interferenz-Strukturierung.*

## B.4 Elektrochemische Methoden

Alle elektrochemischen Messungen erfolgten in einer Drei-Elektroden-Schaltung mit einer kommerziellen Ag/AgCl-Elektrode als Referenz (BAS) und einem Platindraht als Gegenelektrode. Diese und die Arbeitselektrode wurden an einen Potentiostaten geschaltet und in die jeweiligen Lösungen getaucht. Als Potentiostaten standen drei verschiedene Geräte zur Verfügung. Für Messungen makroskopischer Arbeitselektroden wurde ein BAS CV 50-W verwendet. Die Niederstrom-Messungen der Ultra-Mikroelektroden erfolgten mittels der hochempfindlichen Geräte Autolab PGSTAT 12 und Princeton Applied Research Model 283. Zur Abschirmung elektrischer Felder wurde hierbei ein Faraday-Käfig verwendet. Mit diesen Geräten und diesem Aufbau wurden sowohl die voltammetrischen Messungen, als auch die Metallabscheidungen durchgeführt. Im Falle der galvanostatischen Zinkabscheidung wurde hierbei Gegen- und Bezugselektrode kurzgeschlossen.

An dieser Stelle soll kurz noch auf eine spezielle elektrochemische Methode eingegangen werden, da sie nicht zu den gängigsten Methoden gehört. Dabei handelt es sich um die Differential-Puls-Voltammetrie (DPV). Hier ändert man, wie bei allen voltammetrischen Methoden, das Potential zeitlich und misst jeweils den dabei fließenden Strom. Bei diesem Meßmodus werden einer stufenweise anwachsenden Gleichspannungsrampe Rechteckpulse mit kleiner, konstanter Amplitude überlagert. Die Messungen des Stroms  $I$  als Funktion der Spannung  $U$  erfolgen dabei unmittelbar vor dem Puls und am Ende des Pulses (siehe Abbildung A-8-6).

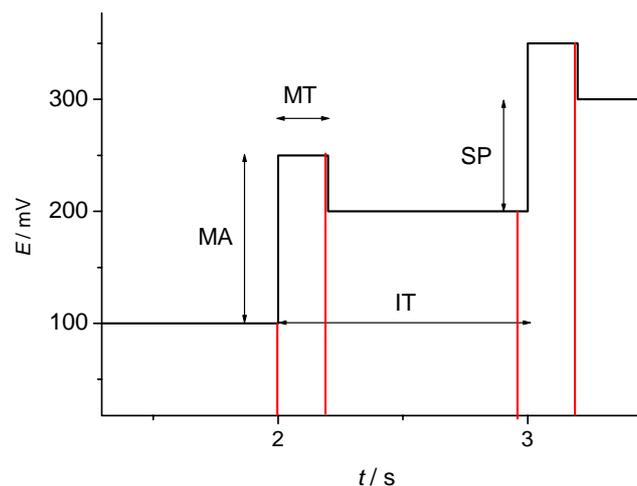


Abbildung A-8-6: Potentialprofil bei der DPV. MA: Modulationsamplitude, MT: Modulationszeit, SP: Schrittspannung, IT: Intervallzeit.

Das Messsignal ist jeweils die Differenz aus diesen Wertepaaren und wird gegen das Stufenpotential aufgetragen. Da die Differenz der Messwertpaare gebildet wird, ergibt sich die 1. Ableitung einer durch klassische Voltammetrie dargestellten Messkurve [194]. Diese ist bei Vorhandensein einer elektrochemisch aktiven Spezies peakförmig wobei der kapazitive Strom auf einen konstanten Wert reduziert wird. Die DPV hat somit den Vorteil, sich leichter auswerten zu lassen und eine wesentlich höhere Empfindlichkeit für analytische Messungen zu besitzen.

### **B.5 Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie**

Einfache REM-Aufnahmen wurden mittels eines JEOL JSM 5200 bzw. JEOL JSM 7000 F Mikroskops aufgenommen. Mit dem zweit genannten konnten ebenfalls die Element-Mapping-Experimente durchgeführt werden. Für die FIB- Tomographie wurde eine Dual Beam Workstation (Strata DB 235, FEI) verwendet. Das Gerät besteht aus einem hochauflösenden Rasterelektronenmikroskop, dem in situ ein fokussierter Ga-Ionenstrahl (FIB) im Winkel von  $56^\circ$  zum Schneiden der Proben zugeschaltet werden kann. TEM-Experimente wurden mit einem JEOL JEM 2010 Mikroskop durchgeführt.

### **B.6 Sonstige Geräte**

Für die spektroskopische Charakterisierung der LB hergestellten kolloidalen Kristalle wurde ein Magna-IR Spectrometer 750 von Nicolet verwendet.

Die SERS-Messungen wurden mit einem Renishaw Ramascope Spektrometer bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 633$  nm durchgeführt. Hierbei wurde der Laser durch ein konfokales Mikroskop auf die Probe fokussiert und die Raman-Streuung in  $180^\circ$  zur Anregung detektiert. SPR-Messungen erfolgten mittels eines Autolab ESPRIT 2-Kanal-Instruments mit automatischer Probeninjektion. Die Messungen wurden auf Gold/Glas-Chips durchgeführt, die vom Hersteller des Gerätes vertrieben wurden.

Röntgendiffraktogramme wurden mit einem Siemens D500 Diffraktometer in  $\theta$ - $2\theta$ -Geometrie aufgenommen. Als Strahlungsquelle diente eine Röntgenröhre mit Kupferanode, an die eine Beschleunigungsspannung von 35 kV angelegt wurde. Für die Messungen wurde die  $\text{CuK}\alpha$ -

Strahlung verwendet, welche durch einen Graphit-Monochromator monochromatisiert wurde. Die Detektion der gestreuten Strahlung erfolgte hierbei durch einen Szintillationszähler.

## C. Abkürzungen

AE	Arbeitselektrode
AFM	Rasterkraftmikroskopie
BE	Bezugselektrode
BSA	Rinderserum Albumin
CE	kontrolliertes Eintrocknen
CV	Zyklische Voltammetrie
DET	Direkter Elektronentransfer
DPV	Differential-Puls-Voltammetrie
EDX	Energiedispersiver Röntgenfluoreszenzanalyse
EDP	Elektrodepositionsack
FCC	kubisch flächenzentriert
FIB	Fokussierter Ionenstrahl
GDH	Glukosedehydrogenase
GE	Gegenelektrode
GOD	Glukoseoxidase
LB	Langmuir-Blodgett
MET	Mediatorinduzierter Elektronentransfer
PE	Polyethylen
PED	gepulsten Elektroabscheidung
REM	Raster-Elektronenmikroskop
SAM	selbst-organisierende-Monoschichten
SECM	elektrochemischen Rastermikroskopie
SERS	Oberflächen verstärkte Raman Spektroskopie
SPR	Oberflächen Plasmonresonanz
TEM	Transmissions-Elektronenmikroskop
TEOS	Tetraethoxyorthosilikat
TNF	(2,4,7-Trinitro-9-fluorenyliden)-malonnitril
UME	Ultra-Mikro-Elektroden
VBS	Natrium-4-vinylbenzolsulfonat
VD	Vertikale Abscheidung

## D. Publikationen und Konferenzbeiträge

### D.1 Publikationen

R. Szamocki, S. Reculosa, S. Ravaine, P. N. Bartlett, A. Kuhn, R. Hempelmann, „Tailored mesostructuring and biofunctionalization of gold to give increased electroactivity.“ *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 1317-1321.

R. Szamocki, S. Reculosa, S. Ravaine, P. N. Bartlett, A. Kuhn, R. Hempelmann, „Kontrollierte Mesostrukturierung und Biofunktionalisierung von Gold zur Erhöhung der Elektroaktivität.“ *Angew. Chem.* 2006, 118, 1340-1344.

J. Gajdzik, R. Szamocki, H. Natter, G. W. Kohring, F. Giffhorn, R. Hempelmann, „Electroenzymatic reactions with sorbitol dehydrogenase on gold electrodes.“ *J. Solid State Electrochem.* 2006, in press.

R. Szamocki, A. Velichko, C. Holzapfel, F. Mücklich, S. Ravaine, Patrick Garrigues, N. Sojic, R. Hempelmann, A. Kuhn, „Macroporous ultramicroelectrodes for improved electroanalytical measurements.“ 2006, eingereicht.

### D.2 Konferenzbeiträge

R. Szamocki, B. Agricole, S. Reculosa, S. Ravaine, S. Ben-Ali, A. Kuhn, R. Hempelmann, „*Elektrochemische Synthese Mesoporösen Goldes für Katalytische Anwendungen.*“ Vortrag, DECHEMA Tagung Surfaces and Interfaces - Engineering at the Nanoscale, Frankfurt, 2005.

R. Szamocki, J. Gajdzik, S. Reculosa, S. Ravaine, D. Cook, P. N. Bartlett, S. Ben-Ali, A. Kuhn, R. Hempelmann, „*Mediator-Enzyme-modified electrodes for catalytic applications.*“ Poster, XVIIIth International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, Coimbra, Portugal, 2005.

R. Szamocki, S. Ben-Ali, S. Ravaine, P. N. Bartlett, R. Hempelmann, A. Kuhn, „*Elaboration d'électrodes macroporeuses et leur application en électrocatalyse.*” Vortrag, Journées d'Électrochimie, St. Malo, Frankreich, 2005.

R. Szamocki, P. N. Bartlett, S. Reculosa, S. Ravaine, R. Hempelmann, A. Kuhn, „*Electrodes macroporeuses modifiées pour des applications en bioélectrocatalyse.*” Vortrag, X<sup>ème</sup> colloque du Groupe Français de Bioélectrochimie, Céret, Frankreich, 2006.

R. Szamocki, R. Hempelmann, S. Reculosa, S. Ravaine, P. N. Bartlett, A. Kuhn, „*Multiscale tailored electrode surfaces in bioelectroanalysis.*” Poster, 11<sup>th</sup> International Conference on Electroanalysis, Bordeaux, Frankreich, 2006.

R. Szamocki, R. Hempelmann, P.N. Bartlett, S. Ravaine, A. Kuhn, „*Miniaturized highly ordered macroporous electrodes as electrochemical Systems with high efficiency.*” Vortrag, 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Edinburgh, UK, 2006.

## E. Danksagung

Ich möchte all jenen danken, die mich während der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben:

- Herrn Prof. Dr. Hempelmann und Herrn Prof. Dr. Kuhn für die Bereitstellung des interessanten und aktuellen Themas. Außerdem wäre die Durchführung dieser Arbeit ohne die exzellente Laborausstattung und breite Auswahl an physikochemischen Messmethoden nicht möglich gewesen. Vor allem möchte ich mich bei beiden dafür bedanken, dass sie es mir ermöglicht haben meine Promotion im cotutelle-Verfahren durchzuführen und somit hervorragende internationale Erfahrungen zu machen.
- Herrn Dr. Natter für die zahlreichen wissenschaftlichen Gespräche die mir viele Bereiche der Elektrochemie näher gebracht haben.
- Herrn D. Münch und Herrn J. M. Wilhelm für die Hilfe bei technischen Problemen.
- Frau Sylvia Kuhn und Herrn Dr. Marx für die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen.
- Herrn Dr. Lellig, der mir, vor allem zu Beginn meiner Promotion, mit praktischen Tricks und Kniffen im Bereich der Kolloidchemie meine Arbeit wesentlich erleichtert hat.
- Frau Dr. Autenrieth, die mir für viele wissenschaftliche und nicht-wissenschaftliche Diskussionen stets zur Verfügung stand.
- Frau Alexandra Velitchko und Herrn Dr. Holzapfel für die Durchführung der FIB-Experimente und der Fourier-Transformationen.
- Herrn Andres Lasagni für die Vorstrukturierung der Polymerproben.
- Herrn Armin Nagel für die Anfertigung der rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen.
- Frau Babette Hinkeldey für die zahlreichen gemeinsamen Zigaretten-Pausen auf und fernab der Uni sowie den Besuch in Bordeaux zusammen mit Frau Autenrieth und Herrn Plachkov.
- Frau Janine Gajdzik mit der ich zusammen an drei Konferenzen teilnehmen und dort jeweils eine sehr angenehme Zeit verbringen konnte.
- Frau Oleksandra Yevtushenko für einen sehr schönen Aufenthalt in Schottland.
- Frau Petra Theobald für die Bewältigung bürokratischer Probleme.

- Herr Joachim Wagner für die Hilfe bei grammatikalischen Fragen beim Zusammenschreiben.
- Herrn Prof. Dr. Schuhmann und Herrn Sebastian Neugebauer für die Einladung als wissenschaftlicher Gast an die Universität Bochum und die dortige hervorragende Betreuung.
- Herrn Prof. Dr. Bartlett für die Einladung an die University of Southampton und die dortigen zahlreichen Diskussionen. Dieser Aufenthalt stellte den wissenschaftlichen Durchbruch in meiner Arbeit dar.
- Allen Mitgliedern unseres Arbeitskreises, die zu der freundlichen und herzlichen Atmosphäre beigetragen haben.

Je remercie chaleureusement à tous les membres du Laboratoire d'Analyse chimique par Réconnaissance Moléculaire qui m'ont souhaité la bienvenue dans une façon très aimable. En particulier je remercie à

- Patrick Garrigue et Nešo Sojic pour la préparation des ultra-micro-électrodes.
- Marie-Laurence Dumartin et Isabelle Gosse pour le support dans les questions en chimie organique.
- Manuela De Leo pour les pic-nics dans le jardin du V1, les excursions et les fêtes à Bordeaux.
- Mme. Béatrice Agricole, M. Stéphane Réculusa, M. Pascal Massé et M. Serge Ravaine pour les préparations des cristaux colloïdaux.
- Isabelle Boukourt qui m'a facilité l'organisation de mes séjours à Bordeaux.

Außerdem möchte ich den Sponsoren danken, die in einer großen Masse dazu beigetragen haben, dass dieses Projekt in die Wirklichkeit umgesetzt werden konnte. Im Einzelnen:

- dem DAAD und dem französischen Forschungsministerium für die Finanzierung der cotutelle-Promotion.
- der DFG im Rahmen des SFB 277.
- dem Programme Alliance (EGIDE), das es mir ermöglichte einen Aufenthalt an der Universität Southampton zu realisieren.

Zuletzt möchte ich mich ganz besonderst bei meinen Freunden und meiner Familie bedanken, durch deren Unterstützung mir meine Arbeit viel leichter gefallen ist. Besonderst herausheben möchte ich hierbei

- meine Freundin Natalija, mit der ich demnächst ein Kind erwarte.
- meine Eltern Günter und Irène.
- meinen Bruder Leonard und seine Angebetete Ines.
- Nils, Sybille, Marc, Sitten, Ubiwahn, Schwitzmarc, Sarah, Michel, Costin, Francesco, Petra, Katja, Bernd, Lucie, Martin, Pierre, André und alle die ich an dieser Stelle vergessen habe.

## F. Literaturverzeichnis

1. A. Heller, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6, 209-216.
2. A. Heller, *J. Phys. Chem.* **1992**, 96, 3579-3587.
3. N. Mano, F. Mao, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12962-12963.
4. I. Willner, A. Riklin, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1535-1539.
5. E. Katz, B. Filanovsky, I. Willner, *New J. Chem.* **1999**, 481-487.
6. I. Willner, E. Katz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, 39, 1180-1218.
7. K. Bush, S. Lölkes, R. B. Wehrspahn, H. Föll, *Photonic Crystals*. 1 ed.; Wiley-VCH: 2004.
8. W. Stöber, A. Fink, E. J. Bohn, *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, 26, 62-69.
9. C. J. d. Ouden, R. W. Thompson, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, 143, 77-84.
10. J. Ugelstad, M. S. El-Aaser, J. W. Vanderhoff, *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* **1973**, 11, 503-513.
11. M. Antonietti, R. Basten, S. Lohmann, *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, 196, 441-466.
12. M. P. Pileni, *Langmuir* **1997**, 13, 3266-3276.
13. C. Petit, M. P. Pileni, *J. Phys. Chem.* **1988**, 92, 2282-2286.
14. M. Egen, R. Zentel, *Chem. Mater.* **2002**, 14, 2176-2183.
15. J. W. Goodwin, J. Heosu, C. C. Ho, R. H. Ottewill, *Colloid Polymer Sci.* **1974**, 252, 464-471.
16. J. W. Goodwin, R. H. Ottewill, R. Pelton, G. Vianello, D. E. Yates, *Br. Polymer J.* **1978**, 10, 173-178.
17. H. Ni, Y. Du, G. Ma, M. Nagai, S. Omi, *Macromolecules* **2001**, 34, 6577-6585.
18. W. Luck, M. Klier, H. Wesslau, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1962**, 67, 75-79.
19. K. P. Lok, C. K. Ober, *Can. J. Chem.* **1987**, 63, 209-211.
20. C. K. Ober, K. P. Lok, *Macromolecules* **1987**, 20, 268-273.
21. C. Lellig, Private Mitteilung.
22. M. A. Correa-Duarte, M. Giersig, L. M. Liz-Marzán, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 286, 497-501.
23. M. Giersig, *Mater. Sci. Forum* **1999**, 312, 623-628.
24. Y. Yin, Y. Lu, Y. Sun, Y. Xia, *Nano Lett.* **2002**, 2, 427-430.
25. Y. Lu, Y. Yin, Y. Xia, *Nano Lett.* **2002**, 2, 183-186.
26. Y. Lu, Y. Yin, Y. Xia, *Nano Lett.* **2002**, 2, 785-788.
27. J. Wagner, T. Autenrieth, R. Hempelmann, *J. Magnetism and Magnetic Materials* **2002**, 252, 4-6.

28. F. Caruso, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 11-22.
29. M. O. Robbins, K. Kremer, G. S. Krest, *J. Chem. Phys.* **1988**, 88, 3286-3312.
30. C. Lellig, W. Härtl, J. Wagner, R. Hempelmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, 41, 102-104.
31. G. Pan, A. S. Tse, R. Kesavamoorthy, S. A. Asher, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 6518-6524.
32. A. v. Blaadren, R. Ruel, P. Wiltzius, *Nature* **1997**, 385, 321-323.
33. C. López, L. V. Vlászquez, F. Meseguer, R. Mayoral, M. Oscana, H. Miguez, *Superlattices Microstruct* **1997**, 22, 399-404.
34. Y. A. Vlasov, V. N. Astratov, O. Z. Kaplianski, A. A. Karimov, V. N. Bogomolov, A. V. Prokofiev, *Phys. Rev. B* **1997**, 55, R13357-R13360.
35. F. Garcia-Santamaria, V. Salgueirino-Maceira, C. López, L. M. Liz-Marzan, *Langmuir* **2002**, 18, 4519-4522.
36. B. T. Holland, C. F. Blanford, T. Do, A. Stein, *Chem. Mater.* **1999**, 11, 795-805.
37. P. Jiang, J. F. Bertone, K. S. Hwang, V. L. Colvin, *Chem. Mater.* **1999**, 11, 2132-2140.
38. A. Yethiraj, A. v. Blaaderen, *Nature* **2003**, 421, 513.
39. M. Holgado, F. Garcia-Santamaria, A. Blanco, M. Ibisate, A. Cintas, H. Miguez, J. C. Serna, C. Molpeceres, J. Requena, A. Mifsud, F. Meseguer, C. Lopez, *Langmuir* **1999**, 15, 4701-4704.
40. A. L. Rogach, N. A. Kotov, D. S. Koktysh, J. W. Ostrader, G. A. Rogoisha, *Chem. Mater.* **2000**, 12, 2721-2726.
41. Z. Z. Gu, S. Kubo, W. Qian, Y. Einaga, D. A. Tryk, A. Fujishima, O. Sato, *Langmuir* **2001**, 17, 6751-6753.
42. Z. Z. Gu, A. Fujishima, O. Sato, *Chem. Mater.* **2002**, 14, 760-765.
43. S.-L. Kuai, X.-F. Hu, A. Hache, V.-V. Truong, *J. Cryst. Growth* **2004**, 267, 317-324.
44. P. Jiang, J. Cizeron, J. F. Berthone, V. L. Colvin, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7957-7958.
45. Y. H. Ye, F. LeBlanc, V.-V. Truong, *Appl. Phys. Lett.* **2000**, 78, 52-54.
46. Michaela Steng. Synthese, Charakterisierung und Eigenschaften von fluorhaltigen amphipolaren Polymeren als Additive für Polyurethanhartschäume. Dissertation, Universität Stuttgart, Stuttgart, 2002.
47. S. Reculosa, P. Massé, S. Ravaine, *J. Colloidal Interface Sci.* **2004**, 279, 471-478.
48. B. van Duffel, R. H. A. Ras, F. C. De Schryver, *J. Mater. Chem.* **2001**, 11, 3333-3336.
49. S. Reculosa, S. Ravaine, *Chem. Mater.* **2003**, 15, 598-605.

50. C. Lellig. Dissertation: Suspensionen hochgeladener Polymerkolloide: Struktur, Dynamik und Immobilisierung. Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 2004.
51. J. D. Joannopoluos, R. D. Meade, J. N. Winn, *Photonic Crystals, Molding the Flow of Light*. Princeton University Press: 1995.
52. E. Yablonovitch, *Phys. Rev. Lett.* **1987**, 58, 2059-2062.
53. S. John, *Phys. Rev. Lett.* **1987**, 58, 2486-2489.
54. K. S. W. Sing, D. H. Everett, R. A. W. Haul, L. Moscou, R. A. Pierotti, J. Rouquérol, T. Siemieniewska, *Pure Appl. Chem.* **1985**, 57, 603-619.
55. C. R. Martin, *Science* **1994**, 266, 1961-1966.
56. C. R. Martin, *Accounts Chem. Res.* **1995**, 28, (2), 61-67.
57. H. Masuda, K. Fukuda, *Science* **1995**, 268, 1466-1468.
58. A.-P. Li, F. Müller, A. Birner, K. Nielsch, U. Gösele, *Adv. Mater.* **1999**, 11, (6), 483-487.
59. C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* **1992**, 359, 701.
60. Z. R. Tian, W. Tong, J. Y. Yang, N. G. Duan, V. V. Krishnan, S. L. Suib, *Science* **1997**, 276, 926.
61. P. N. Bartlett, B. Gollas, S. Guerin, J. Marwan, *Phys. Chem. Chem. Phys* **2002**, 4, 3835-3842.
62. G. S. Attard, P. N. Bartlett, N. R. B. Coleman, J. M. Elliot, J. R. Owen, J. H. Wang, *Science* **1997**, 278, 838-840.
63. J. S. Yin, Z. L. Wang, *Adv. Mater.* **1999**, 11, (6), 469-472.
64. C. F. Blanford, R. C. Schroden, M. Aldaous, A. Stein, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 26-29.
65. M. E. Turner, T. J. Tandler, V. L. Colvin, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 180-183.
66. O. D. Velev, T. A. Jede, R. F. Lobo, A. M. Lenhoff, *Nature* **1997**, 389, 447-448.
67. O. D. Velev, T. A. Jede, R. F. Lobo, A. M. Lenhoff, *Chem. Mater.* **1998**, 10, 3597-3602.
68. H. Miguez, N. Tétreault, B. Hatton, S. M. Yang, D. Perovic, G. A. Ozin, *Chem. Comm.* **2002**, 22, 2736-2737.
69. E. Chomski, Ö. Dag, A. Kuperman, G. A. Ozin, *Chem. Vap. Dep.* **1996**, 2, 8-13.
70. Ö. Dag, G. A. Ozin, H. Yang, C. Reber, G. Bussière, *Adv. Mater.* **1999**, 11, 474-480.
71. N. Tétreault, H. Miguez, S. M. Yang, V. Kitaev, G. A. Ozin, *Adv. Mater.* **2003**, 15, (14), 1167-1172.
72. H. Miguez, E. Chomski, F. Garcia-Santamaria, M. Ibisate, S. John, C. Lopez, F. Meseguer, J. P. Mondia, G. A. Ozin, O. Toader, H. M. van Driel, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 1634-1637.

73. H. Kajii, Y. Kawagishi, H. Take, K. Yoshino, A. A. Zakhidov, R. H. Baughman, *J. Appl. Phys.* **2000**, 88, 758-763.
74. H. Miguez, F. Meseguer, C. Lopez, M. Holgado, G. Andreasen, A. Mifsud, V. Fornés, *Langmuir* **2000**, 16, 4405-4408.
75. H. Yan, C. F. Blanford, B.T. Holland, M. Parent, W. H. Smyrl, A. Stein, *Adv. Mater.* **1999**, 11, 1003-1006.
76. J. E. G. J. Wijnhoven, S. J. M. Zevenhuizen, M. A. Hendriks, D. Vanmaekelbergh, *Adv. Mater.* **2000**, 12, 888-890.
77. M. C. Netti, S. Coyle, J. J. Baumberg, P. R. Birkin, P. N. Bartlett, B. M. Whittaker, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 1368-1370.
78. P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, P. R. Birkin, M. A. Ghanem, M. C. Netti, *Chem. Mater.* **2002**, 14, 2199-2208.
79. P. N. Bartlett, P. R. Birkin, M. A. Ghanem, *Chem. Commun.* **2000**, 17, 1671-1672.
80. T. Sumida, Y. Wada, T. Kitamura, S. Yanagida, *Langmuir* **2002**, 18, 3886-3894.
81. P. V. Braun, P. Wiltzius, *Nature* **1999**, 402, 603-604.
82. T. Sumida, Y. Wada, T. Kitamura, S. Yanagida, *Chem. Lett.* **2001**, 38-39.
83. T. Sumida, Y. Wada, T. Kitamura, S. Yanagida, *Chem. Comm.* **2000**, 1613-1614.
84. P. N. Bartlett, P. R. Birkin, M. A. Ghanem, C. Toh, *J. Mater. Chem.* **2001**, 11, 849-853.
85. O. D. Velev, P. M. Tessier, A. M. Lenhoff, E. W. Kaler, *Nature* **1999**, 401, 548.
86. P. M. Tessier, O. D. Velev, A. T. Kalambur, J. F. Rabolt, A. M. Lenhoff, E. W. Kaler, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9554-9555.
87. P. M. Tessier, O. D. Velev, A. T. Kalambur, A. M. Lenhoff, J. F. Rabolt, E. W. Kaler, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 396-400.
88. Q.-B. Meng, C.-H. Fu, Y. Einaga, Z.-Z. Gu, A. Fujishima, O. Sato, *Chem. Mater.* **2002**, 14, 83-88.
89. B. Gates, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 1605-1608.
90. Y. A Vlaslov, N. Yao, D. J. Norris, *Adv. Mater.* **1999**, 11, 165-169.
91. L. Huang, Z. Wang, J. Sun, L. Miao, Q. Li, Y. Yan, D. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 3530-3531.
92. S. H. Park, Y. Xia, *Adv. Mater.* **1998**, 10, 1045-1048.
93. B. Gates, Y. Yin, Y. Xia, *Chem. Mater.* **1999**, 11, 2827-2836.
94. P. Jiang, K. S. Hwang, D. M. Mittleman, J. F. Bertone, V. L. Colvin, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11630-11637.

95. P. Jiang, G. N. Ostojic, R. Narat, D. M. Mittleman, V. L. Colvin, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 389-393.
96. H. Miguez, F. Meseguer, C. Lopez, F. Lopez-Tejeira, J. Sanchez-Dehesa, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 293-396.
97. P. V. Braun, R. W. Zehner, C. A. White, M. K. Weldon, C. Kloc, S. S. Patel, P. Wiltzius, *Adv. Mater.* **2001**, 13, (10), 721-724.
98. N. Eradat, J. D. Huang, Z. V. Vardeny, A. A. Zakhidov, I. Khayrullin, I. Udod, R. H. Baughman, *Synth. Metals* **2001**, 116, 501-504.
99. M. Allard, E. H. Sargent, P. C. Lewis, E. Kumacheva, *Adv. Mater.* **2004**, 16, 1630-1634.
100. Y. Xia, Y. Yin, Y. Lu, J. McLellan, *Adv. Funct. Mater.* **2003**, 13, 907-918.
101. M. E. Abdelsalam, P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, S. Coyle, *Adv. Mater.* **2004**, 16, 90-93.
102. A. Lasagni, C. Holzapfel, F. Mücklich, *Adv. Eng. Mater.* **2005**, 7, 487-492.
103. A. Lasagni, D. Acevedo, C. Barbero, F. Mücklich, *Adv. Eng. Mater.* **2006**, 8, accepted.
104. A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*. 2 ed.; Wiley: New York, 2001.
105. R. Woods, *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*. Marcel Dekker: New York, 1980; Vol. 9.
106. F. Oehme, *Chemische Sensoren*. Vieweg Verlag: Braunschweig, 2001.
107. D. R. Thévenot, K. Toth, R. A. Durst, G. S. Wilson, *Pure Appl. Chem.* **1999**, 71, 2333-2348.
108. K. Raiber. Herstellung von Mikrosensoren durch Softlithographie unter Verwendung organischer Monoschichten. Dissertation, Universität Hamburg, 2005.
109. *Enzyme nomenclature: recommendations of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes, together with their units and the symbols of enzyme kinetics*. Elsevier: Amsterdam, 1965.
110. B. Ngounou. Optimierung von Elektrodepositionslacken als Basis für die nicht-manuelle Herstellung amperometrischer Biosensoren. Dissertation, Ruhr Universität Bochum, Bochum, 2005.
111. M. Santuci, M. Portaccio, S. Rossi, U. Bencivenga, F. S. Gaeta, D. G. Mita, *Biosens. Bioelectron.* **1999**, 14, 737-747.
112. L. C. Clark, C. Lyons, *Ann. NY Acad. Sci.* **1962**, 102, 29-45.
113. S. Cosnier, S. Szunerits, R. S. Marks, A. Novoa, L. Puech, E. Perez, I. R. Lattes, *Electrochem. Comm.* **2000**, 2, 851-855.
114. P. R. Coulet, *Adv. Biosens.* **1992**, 2, 151-180.

115. L. Gorton, L. Stoica, T. Ruzgas, R. Ludwig, D. Haltrich In *Biosensors based on different CDHs for catecholamines and lactose*, 11th International Conference on Electroanalysis, Bordeaux, 2006.
116. A. E. Cass, G. Davis, G. D. Francis, H. A. O. Hill, W. J. Aston, I. J. Higgins, E. V. Plotkin, L. D. L. Scott, A. P. F. Turner, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 667-671.
117. P. Yeh, T. Kuwana, *Chem. Lett.* **1977**, 1145-1148.
118. P. C. Pandey, S. Upadhyay, B. C. Upadhyay, *Anal. Biochem.* **1998**, 260, 195-203.
119. B. F. Yon Hin, C. R. Lowe, *Anal. Chem.* **1987**, 59, 2111-2115.
120. C.-X. Cai, K.-H. Xue, Y.-M. Zhou, *Talanta* **1997**, 44, 339-347.
121. T. Ikeda, I. Katasho, M. Kamei, M. Senda, *Agric. Biol. Chem.* **1984**, 48, 1969-1976.
122. J. F. Evans, T. Kuwana, M. T. Henne, *J. Electroanal. Chem.* **1977**, 80, 409-416.
123. F. Xu, S. J. Cross, T. F. Guarr, *J. Electroanal. Chem.* **1994**, 368, 221-225.
124. D. D. Schlereth, E. Katz, H. L. Schmidt, *Electroanalysis* **1995**, 7, 46-54.
125. J. Wang, P. V. A. Pamidi, M. Jiang, *Anal. Chim. Acta* **1998**, 360, 171-178.
126. J. Kulys, G. Gleixner, W. Schuhmann, *Electroanalysis* **1993**, 5, 201-207.
127. L. T. Kubota, L. Gorton, *Electroanalysis* **1999**, 11, 719-728.
128. H. Jaegfeldt, T. Kuwana, G. Johansson, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 1805-1814.
129. L. Gorton, A. Torstensson, H. Jaegfeldt, *J. Electroanal. Chem.* **1984**, 161, 103-111.
130. L. L. Miller, J. R. Valentine, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 3982-3989.
131. E. Katz, T. Lötzbeyer, D. D. Schlereth, W. Schuhmann, H.-L. Schmidt, *J. Electroanal. Chem.* **1994**, 373, 189-200.
132. C. Degrand, L. L. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 5728-5732.
133. M. Fukui, A. Kitani, C. Degrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 28-33.
134. M. Slilam, L. Charpentier, N El Murr, *Analisis* **1991**, 19, 49-52.
135. C. Iwakura, Y. Kajiya, H. Yoneyama, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1988**, 1019-1020.
136. A. I. Yoropolov, V. Malovik, S. D. Varfolomeev, I. V. Berezin, *AN. USSR.* **1980**, 249, 1399-1401.
137. F. A. Armstrong, M. Lannon, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7211-7212.
138. J. Kulys, R. D. Schmid, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1990**, 24, 305-311.
139. U. Wollenberg, J. Wang, M. Ozsoz, E. Gonzales-Romero, F. Scheller, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1991**, 26, 287-296.
140. E. Csöregi, G. Jönsson-Petterson, L. Gorton, *J. Biotechnol.* **1993**, 30, 315-317.
141. V. Razumas, J. Kazlauskaitė, T. Ruzgas, L. J. Kulys, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1992**, 28, 159-176.

142. T. Lötzbeyer, W. Schuhmann, *J. Electroanal. Chem.* **1994**, 377, 291-294.
143. T. Lötzbeyer, W. Schuhmann, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1997**, 28, 1-6.
144. S. Ben-Ali, D. A. Cook, P. N. Bartlett, A. Kuhn, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, 579, 181-187.
145. R. Vaidya, E. Wilkins, *Electroanalysis* **1994**, 6, 677-682.
146. F. Mizutani, S. Yabuki, T. Katsura, *Anal. Chim. Acta.* **1993**, 274, 201-207.
147. R. S. Brown, J. H. T. Luong, *Anal. Chim. Acta.* **1995**, 310, 419-427.
148. R. Vaidya, T. Atanasov, E. Wilkins, *Med. Eng. Phys.* **1995**, 17, 416-424.
149. C. Kurzawa, A. Hengstenberg, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 355-361.
150. E. M. Genies, G. Bidan, A. F. Diaz, *J. Electroanal. Chem.* **1983**, 149, 101-103.
151. P. N. Bartlett, R. G. Whitaker, *Electroanal. Chem.* **1987**, 224, 37-48.
152. S. B. Adeloju, A. N. Moline, *Biosens. Bioelectron.* **2001**, 16, 133-139.
153. T. Yamazaki, W. Tsugawa, K. Sode, *Biotech. Lett.* **1999**, 21, 199-201.
154. D. J. Strike, N. F. de Rooijn, M. Koudelka-Hep, *Sensors and Actuators B* **1993**, 13, 61-64.
155. N. Mano, A. Kuhn, *J. Electroanal. Chem.* **1999**, 477, 79-88.
156. N. Mano, A. Kuhn, *Bioelectrochemistry* **2002**, 56, 123-126.
157. W. J. Blaedel, R. A. Jenkins, *1975* **1975**, 47, 1337-1343.
158. Z. Samec, P. J. Elving, *J. Electroanal. Chem.* **1983**, 144, 217-234.
159. F. D. Munteanu, N. Mano, A. Kuhn, L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 564, 167-178.
160. N. Mano, A. Kuhn, *Electrochem. Comm.* **1999**, 1, 497-501.
161. N. Mano, A. Kuhn, *J. Electroanal. Chem.* **2001**, 498, 58-66.
162. N. Mano, A. Kuhn, *Biosensors & Bioelectronics* **2001**, 16, 653-660.
163. N. Mano, A. Thienpont, A. Kuhn, *Electrochem. Commun.* **2001**, 3, 585-589.
164. J. Gajdzik, R. Szamocki, H. Natter, G. W. Kohring, F. Giffhorn, R. Hempelmann, *J. Solid State Electrochem.* **2006**, in press.
165. S. Ben-Ali, D. A. Cook, S. A. G. Evans, A. Thienpont, P. N. Bartlett, A. Kuhn, *Electrochem. Commun.* **2003**, 5, 747-751.
166. S. Ben-Ali. PhD Thesis: "*Bioélectroanalytique à l'aide d'électrodes macroporeuses modifiées par des enzymes*". Université de Bordeaux 1, 2004.
167. S. A. G. Evans, J. M. Elliott, L. M. Andrews, P. N. Bartlett, P. J. Doyle, G. Denuault, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 1322-1326.
168. T. Imokawa, K.-J. Williams, G. Denuault, *Anal. Chem.* **2006**, 78, 265-271.

169. R. S. Freire, N. Durán, L. T. Kubota, *Talanta* **2001**, 54, 681-686.
170. R. E. Gyurcsányi, Z. Vágföldi, K. Tóth, G. Nagy, *Electroanalysis* **1999**, 11, (10), 712-718.
171. A. S. Santos, R. S. Freire, L. T. Kubota, *J. Electroanal. Chem.* **2003**, 547, 135-142.
172. E. V. Gogol, G. A. Evugyn, J.-L. Marty, H. C. Budnikov, V. G. Winter, *Talanta* **2000**, 53, 379-389.
173. M. Delvaux, S. Demoustier-Champagne, A. Walcarius, *Electroanalysis* **2004**, 16, (3), 190-198.
174. T. D. Gibson, *Analisis* **1999**, 27, (7), 630-638.
175. R. Kurita, K. Hayashi, X. Fan, K. Yamamoto, T. Kato, O. Niwa, *Sensors and Actuators B* **2002**, 87, 296-303.
176. S. Neugebauer, S. Isik, A. Schulte, W. Schuhmann, *Anal. Lett.* **2003**, 36, 2005-2020.
177. A. Vilkanauskyte, T. Erichsen, L. Marcinkeviciene, V. Laurinavicius, W. Schuhmann, *Biosens. Bioelectron.* **2002**, 7, 1025-1031.
178. F. Mao, N. Mano, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 4951-4957.
179. K. Kano, T. Ikeda, *Anal. Sci.* **2000**, 16, 1013-1021.
180. J. Heinze, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1327-1359.
181. K. Jüttner. Vorlesung Elektrochemie. DECHEMA e.V. Karl-Winnacker-Institut, Frankfurt am Main, 2005.
182. E. Csöregi, C. P. Quinn, D. W. Schmidtke, S.-E. Lindquist, M. V. Pishko, L. Ye, I. Katakis, J. A. Hubbell, A. Heller, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3131-3138.
183. R. N. Adams, *Anal. Chem.* **1976**, 48, 1126A.
184. R. M. Wightman, E. Strobe, P. M. Plotsky, R. N. Adams, *Nature* **1976**, 262, 145.
185. C. A. Amatore, M. R. Deakin, R. M. Wightman, *J. Electroanal. Chem.* **1986**, 206, 23-36.
186. A. J. Bard, F.-R. F. Fan, J. Kwak, O. Lev, *Anal. Chem.* **1989**, 61, 132-138.
187. A. J. Bard, F.-R. F. Fan, D. T. Pierce, P. R. Unwin, D. O. Wipf, F. Zhou, *Science* **1991**, 254, 68-74.
188. M. A. Dayton, J. C. Brown, K. J. Stutts, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **1980**, 52, 950-959.
189. J. O. Howell, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 524-529.
190. V. Vivier, C. Cachet-Vivier, B. L. Wu, C. S. Cha, J.-Y. Nedelec, L. T. Yu, *Electrochem. Solid-State Lett.* **1999**, 2, (8), 385-387.
191. V. Vivier, C. Cachet-Vivier, S. Mezaille, B. L. Wu, C. S. Cha, J.-Y. Nedelec, M. Fedoroff, D. Michel, L. T. Yu, *J. Electrochem. Soc.* **2000**, 147, (11), 4252-4262.

192. C. E. D. Chidsey, C. R. Bertozzi, T. M. Putvinski, A. M. Mujce, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4301-4306.
193. T. D. Gibbson, *Analisis* **1999**, 27, (7), 630-638.
194. Firma Eco Chemie B. V. (Utrecht, Niederlande), Manual: Software General Purpose Elektrochemical Systems (GPES) Version 4.8 für Windows.