



Steuerung lokaler Reaktionszonen mit Ultramikroelektroden

Der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften
der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
zur Erlangung des Grades und Titels eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

angenommene Dissertation

von Frau

Dipl.-Chem. Britta Vaske

geboren am 04. Oktober 1984 in Quakenbrück

Oldenburg, den 01.04.2014

Diese Arbeit wurde vom Juli 2009 bis März 2014 an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften, Center of Interface Science (CIS), Institut für Reine und Angewandte Chemie unter der Anleitung von Prof. Dr. Gunther Wittstock angefertigt.

Gutachter: Prof. Dr. Gunther Wittstock

Zweitgutachter: Prof. Dr. Rüdiger Beckhaus

Tag der Disputation: 04.06.2014

Für meine Eltern

Zusammenfassung

In dieser Arbeit lag der Fokus auf der Erzeugung lokaler Oberflächenmodifikationen von Oligo(ethylenglykol)-terminierten SAM (OEG-SAM) mit Hilfe von temporären Reaktionsräumen in flüssigen Medien sowie deren qualitative und quantitative Charakterisierung. Lokal gesteuerte mikroelektrochemisch erzeugte Reaktionszonen in flüssigen Medien sind geeignet, um metallische und halbmimetische Oberflächen oder weiche organische Schichten aus Polymeren oder selbstorganisierten Monoschichten (SAM) zu mikrostrukturieren und zu charakterisieren. Die qualitative und quantitative Untersuchung der Konzentrationsprofile in diesen temporärer Reaktionsräumen bietet wertvolle Informationen über den Massentransport und die Reaktivität der elektrochemisch erzeugten Reaktanten, die für die gezielte Steuerung der Oberflächenmodifikation wichtig sind.

Zur Charakterisierung kamen vor allem mikroelektrochemische Methoden, z. B. die elektrochemische Rastermikroskopie (SECM) im Feedback-Modus (FB-Mode), zum Einsatz. Unter Zuhilfenahme der Konfokalmikroskopie (CLSM) wurde die Möglichkeit geschaffen, Reaktionszonen von mikroelektrochemisch erzeugtem Brom und pH-Veränderungen in der Lösung zu beobachten sowie zu quantifizieren. Durch das Aufgreifen des literaturbekannten Konzepts der „chemischen Linse“ bzw. der *confined etchant layer technique* (CELT) gelang die Verbesserung der lateralen Auflösung der Mikrostrukturierung von OEG-SAM durch die elektrochemische Erzeugung von Brom im SECM-FB-Mode. Hierbei kamen die Fängermoleküle (engl. *scavenger*) L-Cystin und Cystamin zum Einsatz, welche schnell mit dem lokal erzeugten Ätzmittel in eine schnelle homogene Reaktion eintreten. Dadurch erreicht man eine Limitierung der Diffusionsschicht, die durch CLSM-Experimente quantitativ untersucht wurde. Hierbei erfolgte auch die Untersuchung der Auswirkungen von Puffern auf die mikroelektrochemische Verschiebung des pH-Wertes in der Nähe von Mikroelektroden. Aussagen über die Effektivität der Fängermoleküle L-Cystin und Cystamin wurden durch quantitative elektrochemische Charakterisierungen mittels Cyclovoltammetrie (CV) an Pt-UMEs und Linear-Sweep-Voltammetrie an einer rotierenden Pt-Scheibenelektrode getroffen.

Abstract

In this work, the focus was laid on the generation of local surface modifications of oligo(ethylene glycol)-terminated SAM (OEG-SAM) by using temporary reaction zones in liquid media and their qualitative and quantitative characterizations. Local controlled microelectrochemical reaction zones produced in liquid media are suitable for the targeted microstructuring and –characterization of metallic and semi-metallic surfaces or soft organic layers of polymers and self-assembled monolayers (SAM). The qualitative and quantitative analysis of concentration profiles of temporary reaction zones provide valuable information about the mass transport and the reactivity of the electrochemically generated reactants. This is important for the targeted control of surface modification.

Microelectrochemical methods, such as scanning electrochemical microscopy (SECM) in feedback mode (FB-Mode), were used for the characterization. Confocal laser scanning microscopy (CLSM) was used in addition to observe and quantify reaction zones of shifted pH and electrochemically generated bromine. By picking up the literature-known concept of the „chemical lens“ or the confined etchant layer technique (CELT), the lateral resolution of the microstructuring of OEG-SAM was improved by electrochemical generation of bromine in SECM-FB-Mode. For this purpose, the scavenger molecules L-cystine and cystamine were used, which can quickly react with the locally generated etchant in a fast homogeneous reaction. Thereby, a limitation of the diffusion layer was reached, which was quantitatively by CLSM experiments. In this connection the study of the effects of buffers on the microelectrochemical shift of pH in the vicinity of microelectrodes took place. Conclusions about the effectiveness of the scavengers L-cystine and cystamine are made by quantitative electrochemical characterizations using cyclic voltammetry (CV) at Pt-microelectrodes and linear sweep voltammetry at a rotating Pt-disk electrode.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich den Menschen danken, die mich während meiner Promotion begleitet und unterstützt haben.

Zuerst danke ich meinen Betreuer, Herrn Prof. Dr. Gunther Wittstock, für die interessante Themenstellung sowie die Möglichkeit diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen. Er stand mir immer mit kompetentem Rat zur Seite und hat mir viele Anregungen und Denkanstöße gegeben. Herrn Prof. Dr. Rüdiger Beckhaus danke ich für die freundliche Übernahme des zweiten Gutachtens und Herrn Prof. Dr. Niklas Nilius für das Mitwirken in der Prüfungskommission.

Darüber hinaus danke ich Jan Henning Ross, der in der Arbeitsgruppe Christoffers des Instituts der Chemie die erforderlichen Thiole synthetisiert hat. Für die anregende und erfolgreiche Zusammenarbeit innerhalb des Arbeitskreis Wittstock danke ich besonders Frank Meiners für die Anfertigung der SFM-Aufnahmen, Dr. Andreas Lesch für die angenehme Zusammenarbeit und Dr. Carsten Dosche bei Fragestellungen um CLSM-Messungen. Auch bedanke ich mich für die angenehme Zusammenarbeit mit Jens Tepe, ehemals Arbeitsgruppe Numerische Mathematik des Instituts für Mathematik. Weiterhin möchte ich mich bei den jetzigen und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Physikalische Chemie II der Carl von Ossietzky Universität, deren Anzahl doch deutlich groß ist, sodass ich sie nicht alle hier erwähnen kann, für die freundliche, anregende Atmosphäre bedanken. Für das Lesen der Arbeit und konstruktive Kritik danke ich Inka Plettenberg, Frank Meiners, Ina Schmidt, Wiebke Schulte, Patrick Schwager und Dr. Carsten Dosche.

Ich danke auch der Universitätsgesellschaft der Carl-von-Ossietzky-Universität Oldenburg, der Gesellschaft für Chemiker e. V. und der Arbeitsgemeinschaft Elektrochemischer Forschungsinstitutionen e. V. für Finanzierung von Tagungsstipendien.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meinen Freunden für Motivation, offene Ohren und die gelegentliche willkommenen Abwechslungen vom Doktorandenalltag. Mit Ihnen habe ich die besten Zeiten in meinen Leben erlebt.

Mein Dank geht darüber hinaus an Heike Schönrock M. A. und Stephan Schönrock für ihre immerwährende Unterstützung in meinem Leben. Ersterer danke ich vor allem auch für das Durchlesen meiner Doktorarbeit. Auch danke ich im Besonderen Michael Flerlage für seine Liebe, Geduld und wundervollen Beistand. Er ist der Grund für die schönsten Momente im meinen Leben.

Zum Schluss gilt ein besonderer Dank meinen Eltern, denen ich diese Arbeit widmen möchte. Für ihr Vertrauen, ihre liebevollen Ermutigungen und grenzenlosen Zuspruch danke ich Ihnen sehr. Ohne sie hätte ich die dunkelsten Zeiten meiner Promotion nicht überstanden. Ich danke Ihnen für alles, was sie getan haben um mir mein Studium und diese Arbeit zu ermöglichen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Konzentrationsprofile in der Nähe von Elektroden	5
2.1	Untersuchung von Konzentrationsprofilen in der Nähe von Elektrodenoberflächen	5
2.2	Die Konfokalmikroskopie.....	8
2.3	Untersuchung von Konzentrationsprofilen mit Hilfe der Konfokalmikroskopie	16
3	Lokale Mikrostrukturierung von Oberflächen.....	21
3.1	Lokale Oberflächenstrukturierung von weichen organischen Schichten	21
3.2	Elektrochemische Rastermikroskopie.....	25
3.2.1	Feedback-Modus.....	29
3.3	Elektrochemische Rastermikroskopie als Werkzeug für Mikrostrukturierung.....	33
3.4	Kopplung heterogener und homogener Reaktionen zur Verbesserung der elektrochemischen Mikrostrukturierung.....	38
4	Experimentelles	43
4.1	Allgemeine Materialien, Chemikalien und Geräte	43
4.2	Detektion von lokalen Reaktionszonen in der Umgebung von UMEs durch CLSM	44
4.2.1	Untersuchung von lokalen pH-Reaktionszonen in der Nähe von UMEs	45
4.2.2	Untersuchung von lokalen Br ₂ /HOBr-Reaktionszonen in der Nähe von UMEs.....	46
4.3	Herstellung von Au-OEG-SAM-Substraten	47
4.4	Modifizierung und Charakterisierung von Au-OEG-SAM	49
4.4.1	Charakterisierung von elektrochemisch modifizierten Au- OEG-SAMs mit dem Pulsed Force-Modus des Rasterkraftmikroskops	51
4.4.2	Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten zwischen Fängermolekül und Brom durch Cyclovoltammetrie und mit Hilfe rotierender Scheibenelektroden	51

5	Untersuchung von Reaktionszonen in der Nähe von Ultramikroelektroden durch die Konfokalmikroskopie	53
5.1	Untersuchung von mikroelektrochemisch erzeugten pH-Profilen	54
5.1.1	Bestimmung des lokalen pH-Wertes aus CLSM-Daten.....	55
5.1.2	Elektrochemische Reduktion von 1,4-Benzochinon und Oxidation von 1,4-Hydrochinon	64
5.1.3	Elektrochemische Reduktion von Wasser.....	77
5.2	Untersuchung von mikroelektrochemisch erzeugten Br ₂ /HOBr-Reaktionszonen	88
6	Verbesserung lokaler mikroelektrochemischer Oberflächenmodifikationen von Oligo(ethylenglykol)-terminierten selbstorganisierten Monoschichten.....	98
6.1	Lokale Oberflächenstrukturierung von OEG-SAM durch das SECM und anschließende Untersuchung durch PFM des SFM	98
6.2	Verwendung heterogener Reaktionen zur Verbesserung der lokalen mikroelektrochemischen Oberflächenmodifikation von OEG-SAMs	105
6.3	Erzeugung von Mikrostrukturen mit pH-schaltbaren Elektronentransferraten	122
6.4	Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten zwischen Fängermolekül und Brom.....	128
6.4.1	Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten durch Cyclovoltammetrie	128
6.4.2	Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten mit Hilfe der rotierenden Scheibenelektrode	136
7	Zusammenfassung und Ausblick	140
8	Literatur	145
9	Anhang	156
9.1	Abkürzungen	156
9.2	Symbole.....	158
9.3	Weitere Primärdaten zu Kapitel 6.2	161
9.4	Eigene Publikationen.....	163
9.5	Konferenzen und Workshops	164

1 Einleitung

Schon in der Vergangenheit wurden Substratoberflächen mit Hilfe des elektrochemischen Rastermikroskops (SECM) lokal mikrostrukturiert.^[1-7] Die Steuerung von lokalen Reaktionszonen in der Nähe von Ultramikroelektroden (UME) ist hierbei von entscheidendem Interesse für die gezielte Mikrostrukturierung und –charakterisierung. Diese Reaktionszonen entstehen durch die elektrochemische Erzeugung von reaktiven Stoffen und deren Weiterreaktion mit einer Substratoberfläche oder weiteren Lösungsmittelbestandteilen. So könnten mit temporären Reaktionsräumen in flüssigen Medien bereits Metalle,^[7-12] Halbmetalle,^[13-16] Polymere^[17-20] sowie selbstorganisierte Monoschichten (SAM)^[21-26] abgeschieden und geätzt werden. Innerhalb einer Reaktionszone kommt es zur Ausbildung lokaler Konzentrationsprofile. Die qualitative und quantitative Untersuchung solcher Systeme liefert wertvolle Informationen über den Massentransport und die Reaktivität von elektrochemisch erzeugten Reaktanten, die für die gezielte Steuerung von Oberflächenmodifikationen wichtig sind. Dies würde den Zugang zu Materialien mit einstellbaren Eigenschaften für diverse Anwendungen öffnen und verbessern. Ein wichtiges Beispiel wäre die Derivatisierung von Substraten mit reaktiven Endgruppen und zur Steuerung der Zelladhäsion.

Als interessant für die gezielte Steuerung der Zelladhäsion durch das SECM erweisen sich hierbei weiche organische Substrate wie Oligo(ethylenglykol)-terminierte selbstorganisierte Monoschichten (OEG-SAM).^[21-23, 27] Solche Substrate spielen eine wichtige Rolle bei der biotechnologischen und medizinischen Erforschung von z. B. Implantaten (z. B. Prothesen und Katheter),^[28] in-vitro Biosensoren,^[29] Biofilmen^[30] und Biochips.^[31] Zur Verbesserung der lateralen Auflösung der elektrochemischen Mikrostrukturierung dient einerseits die stetige Miniaturisierung von Messsonden^[32] und andererseits die Entwicklung der sogenannten „chemischen Linse“^[33] oder *confined etchant layer technique* (CELT).^[34] Letzteres wird durch die direkte Einflussnahme auf die Diffusionsschicht realisiert, indem dem System Fängermoleküle (oder Opferagenz, engl. *scavenger*) zugegeben werden, die mit der an der UME erzeugten Verbindung reagieren. Hieraus resultiert eine Limitierung der Diffusionsschicht in der Nähe der UME. Solche Systeme kamen schon für die Verbesserung der Auflösung für das lokale Ätzen von Metallen^[24] und Halbmetallen^[35, 36] sowie für Polymer-^[7, 37] und Metallabscheidung^[17, 33, 38-40] zum Einsatz. Zur Strukturierung von OEG-SAM wird

elektrochemisch erzeugtes Br_2 eingesetzt. Bekannte Fängermolekül-Systeme für dieses Ätzmittel wie H_3AsO_3 und L-Cystin wurden von der Arbeitsgruppe um Tian und Sun für beispielsweise das Ätzen von Metallen,^[36, 41] Si ^[42-44] und GaAs ^[45, 46] vorgestellt.

Konzentrationsprofile an oder in der Nähe der Elektrodenoberfläche liefern wichtige Informationen über Massentransport und Reaktivität. Aus diesem Grund wurden sogenannte *in situ* Techniken entwickelt, um eine Art Kartographie der Konzentrationsprofile an der Elektrodenoberfläche oder anderen Oberflächen vorzunehmen. Ein besonders Beispiel ist die Darstellung von Protonen-Konzentrationen in flüssigen Medien in der Nähe von UMEs durch die Verwendung der Konfokalmikroskopie (CLSM), wie sie zum ersten Mal von Cannan et al.^[47] und später von Boldt et al.^[48] sowie Rudd et al.^[49] angewandt wurde. Diese Technik übertrifft die Möglichkeiten der konventionellen optischen Mikroskopie beim Messen und Quantifizieren von Oberflächenmorphologien, da durch den Einsatz zweier Lochblenden (*pinhole*) Licht, das oberhalb oder unterhalb der Fokusebene entsteht und unscharfe Untergrundsignale erzeugt, ausgeblendet wird. Folglich erlaubt die CLSM die direkte, serielle optische Aufnahme von Objekten, die Erstellung von Profilen mehrlagiger Strukturen und so auch die Darstellung dreidimensionaler Konzentrationsprofile.

In dieser Arbeit liegt der Fokus auf der Verbesserung lokaler mikroelektrochemischer Oberflächenmodifizierungen von weichen organischen Schichten durch Einsatz von temporären Reaktionsräumen in flüssigen Medien. Diese werden mit Hilfe des CLSM, des SECM, der Cyclovoltammetrie an Pt-UMEs und schließlich der Linear-Sweep-Voltammetrie an einer rotierenden Scheibenelektrode qualitativ und quantitativ charakterisiert.

Kapitel 5 erläutert zunächst die Untersuchung von elektrochemisch erzeugten Reaktionszonen in der Nähe von Pt-UMEs durch die Unterstützung des CLSM. Dabei steht im ersten Schritt die mikroelektrochemische Verschiebung des pH-Wertes (Kap. 5.1) durch die Reduktion von 1,4-Benzochinon (Q) bzw. die Oxidation von 1,4-Hydrochinon (H_2Q) (Kap. 5.1.2) sowie durch die Reduktion von Wasser (Kap. 5.1.3) im Vordergrund. Bei Letzterem kommt zum ersten Mal eine Kombination zweier pH-empfindlicher Fluoreszenzindikatoren zum Einsatz, um einen möglichst breiten pH-Bereich zu erfassen. Durch die Variation der Pufferkonzentration bei unterschiedlichem

Ausgangs-pH-Wert in der Messlösung erfolgt die erste Darstellung des Effekts der „chemischen Linse“ über ein breites pH-Spektrum. Zusätzlich werden die Mediatorkonzentrationen von Q/H₂Q (Kap. 5.1.2) und das Elektrodenpotential variiert (Kap. 5.1.3). Es zeigt sich eine große Abhängigkeit der pH-Verschiebung ΔpH und des Radius des Reaktionsraums r_s von der pH-abhängigen Pufferkapazität β und dem Formalpotential. Im folgenden Kap. 5.2 erfolgt zum ersten Mal eine Untersuchung von Br₂/HOBr-Reaktionsräumen durch das CLSM unter Verwendung des Fluoreszenzfarbstoffes Resorufin. Nach erfolgter quantitativer Auswertung bei unterschiedlichen Konzentrationen von Kaliumbromid und wachsendem Arbeitsabstand d ohne Fängermoleküle, wird L-Cystin in die Messlösung gegeben, um die Auswirkungen beim Entstehen der CEL zu untersuchen. Bei einer Kaliumbromid-Konzentration von 5 mM werden Konzentrationsprofile bei variablem d aufgenommen und quantifiziert. Mit zunehmender L-Cystin-Konzentration zeigt sich eine zunehmende Fokussierung der CEL.

Die Verbesserung der mikroelektrochemischen Oberflächenmodifizierung von OEG-SAM durch das SECM steht im Fokus von Kap. 6. Zunächst erfolgen Oberflächenmikrostrukturierungen von zwei unterschiedlichen OEG-SAM (Hydroxy- und Methoxy-Terminierung) durch das SECM mit anschließender Charakterisierung durch den Pulsed-Force-Modus des Rasterkraftmikroskops (PFM-SFM, Aufnahmen durch Frank Meiners). Es kommt ein sinnvolles Konzept zum Einsatz, um die modifizierte OEG-SAM mit Hilfe des Feedback-Modus des SECM und der Software MIRA auszuwerten. Hierbei zeigen die zwei verschiedenen OEG-SAM ein identisches Verhalten beim Ätzen mit Br₂/HOBr (Kap. 6.1). Anschließend erfolgt die elektrochemische Oberflächenmodifikation von OEG-OH-SAM bei systematischer Variation der Arbeitsabstände d , der Pulszeiten t , der KBr-Ausgangskonzentration und der Fängermolekülkonzentration von L-Cystin sowie des Cystamin (Kap. 6.2). Durch den Einsatz von L-Cystin und Cystamin verbessert sich das Auflösungsvermögen der Oberflächenmodifikation signifikant. Diese ist nicht mehr abhängig von der verwendeten Pulszeit sondern von dem Arbeitsabstand während der Modifikation. Auch durch den Einsatz der Cyclovoltammetrie (Kap. 6.4.1) und der Linear-Sweep-Voltammetrie an der rotierenden Pt-Scheibenelektrode (Kap. 6.4.2) wird bewiesen, dass Cystamin ein effektiveres Fängermolekül ist als L-Cystin. Der Vergleich der mit CLSM erhaltenen Radien der Br₂/HOBr-Reaktionsräume $r_{s,\text{CLSM}}$ zeigt eine gute

Übereinstimmung mit denen der elektrochemischen Oberflächenmodifikation $r_{S,SECM}$. Als weiteres Ergebnis kann gezeigt werden, dass sich beim Einsatz von L-Cystin als Fängermolekül während des mikroelektrochemischen Ätzens mit Br_2 pH-schaltbare OEG-SAM-Oberflächen bilden.

Die Arbeit schließt mit einer Zusammenfassung der Ergebnisse und einem Ausblick auf mögliche weitere Untersuchungen (Kap. 7). Der Anhang beinhaltet neben einer Liste der verwendeten Abkürzungen und Symbolen zusätzliche Primärdaten zu Kapitel 6.2.

2 Konzentrationsprofile in der Nähe von Elektroden

2.1 Untersuchung von Konzentrationsprofilen in der Nähe von Elektrodenoberflächen

In vielen Grenzflächenprozessen, wie z. B. bei der Auflösung von Kristallen in Lösungen, bei Korrosion und beim Ätzen von Metallen sowie Halbmetallen werden Konzentrationsprofile und -gradienten ausgebildet. Allgemein treten diese überall dort auf, wo eine aktive Grenzschicht Stoffe oder Energie mit ihrer Umgebung, z. B. mit einer umgebenden Lösung oder Luft, austauscht. Die Untersuchung solcher Prozesse bietet wichtige qualitative und quantitative Einblicke in die innere chemische Natur dieser Systeme. So kann das Konzentrationsprofil in der Nähe von Elektrodenoberflächen in elektrochemischen Systemen, wie z. B. Flüssig-Flüssig-Grenzflächen, wertvolle Informationen über den Massentransport und die Reaktivität von Ionen enthalten. Folglich wurden zahlreiche *in situ* Techniken entwickelt um Konzentrationsprofile und -gradienten in der Nähe von Elektroden zu kartieren.

Für die direkte Beobachtung von Konzentrationsgradienten entwickelten Amatore et al.,^[50, 51] Zhang et al.^[52] und Engstrom et al.^[53, 54] zunächst elektrochemische Methoden. Bei diesen Messungen wurde das Lösungsvolumen in der Nähe einer größeren Elektrode, deren Radius der aktiven Elektrodenoberfläche $r_T \geq 25 \mu\text{m}$ betrug, mit Hilfe einer kleineren Elektrode ($r_T \leq 5 \mu\text{m}$) abgerastet. Die Elektroden wurden sowohl im potentiometrischen^[50, 55] als auch amperometrischen Modus^[51, 52, 54, 56] bewegt, um im ersten Fall Konzentrationsänderungen räumlich bzw. im zweiten Fall temporal aufzulösen. Hierbei konnten Konzentrationsprofile mit zeitlicher Auflösung im Millisekundenbereich bei mikromolaren Konzentrationen der aktiven Spezies sowohl an beiden Elektrodenoberflächen^[53, 54] als auch an Flüssig-Flüssig-Grenzflächen^[52] erfasst werden. Durch die Einführung ionenselektiver Mikroelektroden war es darüber hinaus möglich, lokale Konzentrationsprofile von z. B. H^+ ,^[57] K^+ ,^[58, 59] Mg^{2+} ^[60] oder Zn^{2+} ^[61] an aktiven Substratoberflächen zu vermessen.

In den meisten Publikationen wurden die optischen Eigenschaften der elektrochemisch erzeugten Verbindungen genutzt. So wurden die lokalen Änderungen in der Streuung oder der Absorption von Licht vermessen während die Reaktion stattfindet.^[47] Zu den älteren in der Literatur erwähnten Methoden zur Erstellung von

Konzentrationsprofilen gehören z. B. spektroskopische Methoden wie Raman-Spektroskopie,^[62] konfokale Resonanz-Raman-Mikroskopie^[63, 64] und Interferometrie.^[65]

In der Interferometrie erfolgt die Vermessung des Brechungsindex, welcher durch den Konzentrationsgradienten beeinflusst wird. Hierdurch ist es möglich, diese Technik nicht nur analytisch zu nutzen, sondern auch für die Untersuchung von Diffusion und Massentransport an Grenzflächen. Da jeder gelöste Stoff lokale Änderungen des Brechungsindex herbeiführen könnte, ist diese Methode aber nicht sehr selektiv. Darüber hinaus besteht die Notwendigkeit, relativ hohe Konzentrationen (etwa 0.1 M^[66]) des Analyten in der Messlösung vorzulegen, obwohl theoretische Einschätzungen vorliegen, dass auch Konzentrationen im Bereich unter einen μM vermessen werden könnten.^[67] Ein weiterführendes Verfahren basierend auf Strahlablenkung (*probe beam deflection method*)^[68-70] bietet hingegen bei der Vermessung von Brechungsindizes und folglich Konzentrationsgradienten und -profilen eine höhere Selektivität. Vor allem ist es ein hilfreiches Werkzeug für die Erforschung von Redoxprozessen, die mit einem Ionenaustausch gekoppelt sind.^[71] Deshalb wurde es für die Untersuchung der Reduktion sowie der Oxidation^[72] und des Massentransports^[71] von Kupfer verwendet.^[47] Beim Einsatz der Interferometrie muss jedoch eine schlechtere räumliche Auflösung in der z -Achse hingenommen werden.

Optische Untersuchungsmethoden, die auf der Absorption von Licht basieren, besitzen den Vorteil einer höheren Empfindlichkeit und gesteigerten Selektivität. So nutzten Jan et al.^[66, 73-75] einen He-Ne-Laserstrahl um orts aufgelöst die Lichtabsorption des elektrochemisch erzeugten Trianisylamin-Radikalkation abzubilden. Dabei wählte man die Messanordnung so, dass diese seitlich zur Flüssig-Fest-Grenzfläche stand. So wurde die komplette Diffusionsschicht in einem Experiment abgebildet, wobei das Auflösungsvermögen unter 5 μm lag. Mittels ähnlich erzeugter Konzentrationsprofile von Promazin-Derivaten konnten genaue Informationen über Reaktionskinetiken sowie -mechanismen und die Stöchiometrie verschiedener Promazin-Redoxsysteme erhalten werden.^[76-78] Durch eine andere Variante dieser Methode, die auf der räumlich abbildenden Photometrie basiert, wurden Profile der Konzentrationsänderungen innerhalb von ionenselektiven Elektroden mit einer räumlichen Auflösung von 1.25 μm erzeugt.^[79] Amatore et al.^[80] realisierten die Kartierung von dynamisch veränderten Konzentrationsprofilen (in μm -Auflösung) mit Hilfe eines Bündels von 6000

individuellen optischen Fasern (individueller Durchmesser: 3 - 4 μm). Diese wurden senkrecht auf die Flüssig-Fest-Grenzfläche gelegt, also in direkter Nähe zur Elektrode. Die Auswertung der Bündel erfolgte durch ein Epifluoreszenzmikroskop.

Bei der Vermessung von pH-Gradienten fand vor allem die optische Abbildung durch elektrogenerierte Chemilumineszenz (ECL) und Fluoreszenz Anwendung. So wurden kathodisch und anodisch geschaltete bandförmige Mikroelektroden, die in einer Array-Formation angeordnet waren, verwendet, um diffusionsgesteuerte Elektrotitration sichtbar zu machen.^[81] Weiterhin kamen Systeme von ECL auch zum Einsatz, um Stromdichteverteilungen zu untersuchen, wobei die räumliche Heterogenität einiger Elektrodenoberflächenreaktionen hervorgehoben wurde.^[82-84] Beide Methoden bieten eine hohe räumliche und zeitliche Auflösung. Allerdings ist ECL auf eine begrenzte Anzahl von Systemen limitiert, die ausreichende Intensität besitzen, ein Bild zu erzeugen.^[47, 85]

Durch den Gebrauch der Fluoreszenzmikroskopie eröffnet sich ein größeres Spektrum an untersuchbaren Systemen mit verbesserten Empfindlichkeiten. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, fluoreszierende Reagenzien auszuwählen, die selektiv für die zu untersuchenden Spezies sind. In den ersten Anwendungen kann diese Methode zum Einsatz, um qualitativ elektrochemisch aktive Regionen auf Substrat- und Elektrodenoberflächen zu identifizieren.^[86-89] Jedoch bietet die konventionelle Fluoreszenzmikroskopie aufgrund der geringen Tiefenschärfe keine befriedigende Möglichkeit, genaue Konzentrationsprofile und -gradienten in der Nähe von Elektroden aufzunehmen. Aus diesem Grund ist es notwendig, eine weiterentwickelte Variante dieser Technik auszunutzen. Infolgedessen wuchs das Interesse am Einsatz der Konfokalmikroskopie für diesen Zweck, da die Tiefenschärfe, neben dem Auflösungsvermögen der numerischen Aperatur des Objektivs und der Wellenlänge des verwendeten Lichts, durch den Radius einer Lochblende positiv beeinflusst wird (Kap. 2.2 und 2.3).

2.2 Die Konfokalmikroskopie

Das ursprüngliche Hauptaugenmerk in der Entwicklung des Konfokalmikroskops (*confocal laser scanning microscopy/microscope*, CLSM) lag in dem Interesse, biologische Prozesse in 3D abzubilden. Dabei war das Ziel eine Mikroskopiertechnik zu entwerfen, die es möglich machte, biologische Materialien schichtweise aufzulösen. Aus diesem Grund baute erstmals 1957 Minsky et al.^[90] ein Mikroskop, welches das Ziel verfolgte, neuronale Netzwerke lebender Gehirne in unmarkierten Präparaten abzubilden. Durch den Einsatz von Lochblenden gelang es, den unscharfen Hintergrund außerhalb der Fokusebene des Objektivs auszublenden und damit die Tiefenschärfe gegenüber konventioneller Fluoreszenzmikroskopie zu verbessern. Die Auflösung eines CLSM ist aus diesem Grund ein wenig höher als bei einem konventionellen Fluoreszenzmikroskop (ca. 0.2 μm).^[91]

Auch nach jahrzehntelanger Weiterentwicklung dieser Methode hat sich das Grundprinzip bis heute nicht verändert. Diese Technik wurde jedoch erst durch technische Weiterentwicklungen, die unabhängig voneinander erfolgten, interessant: Stabilere Multiwellenlängenlaser für hellere punktförmige Lichtquellen, effektivere Reflektionsspiegel, empfindlichere rauschärmere Photodetektoren, schnellere Mikrocomputer mit Möglichkeiten zur Bildverarbeitung, elegantere Software, hochauflösende Video-Displays und digitalen Druckern und hellere, stabilere Farbstoffe.^[91-93] Abbildung 1 zeigt eine schematische Zeichnung eines CLSM. Das CLSM ist für gewöhnlich um ein konventionelles Lichtmikroskop gebaut. Es verwendet jedoch als Lichtquelle einen Laser, statt einer konventionellen Lampe für Lichtmikroskopie. Die vom Experiment erhaltenen Lichtsignale werden durch empfindliche Photomultiplier (PTM) detektiert.

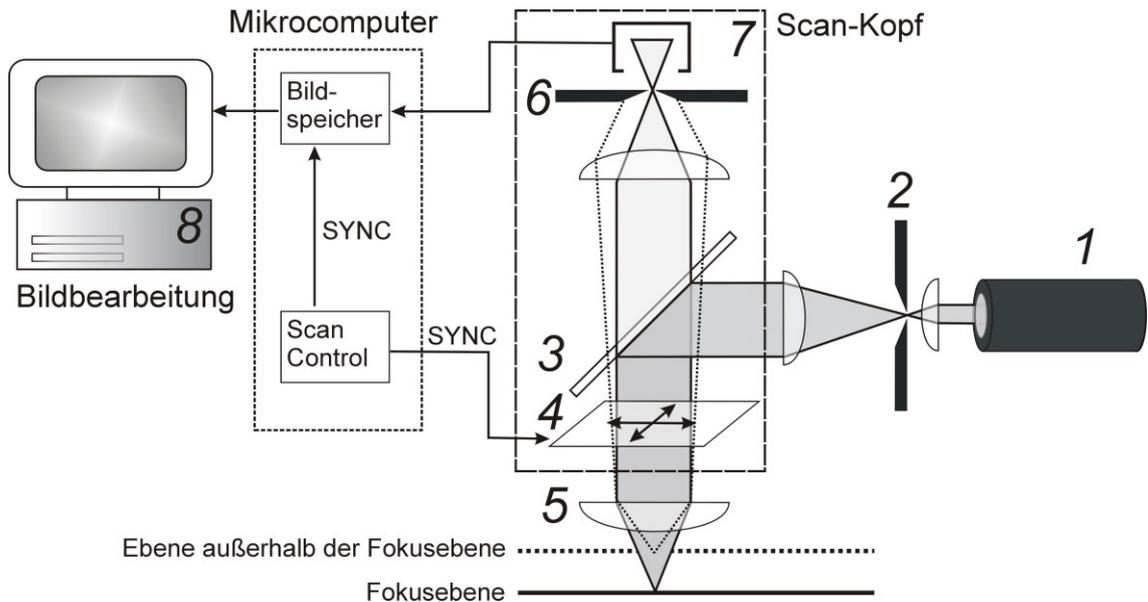


Abb. 1. Schematische Darstellung eines konventionellen CLSM. 1) Laserlicht-Quelle, 2) Beleuchtungsblende, 3) Strahlteiler, 4) Rasterspiegel, 5) Objektiv, 6) Lochblende (Pinhole), 7) Detektor (Photomultiplier), 8) Computer.

Ein Lichtstrahl, erzeugt durch die Laser-Lichtquelle, wird auf die Lochblende (*pinhole*) in der Nähe der Lichtquelle fokussiert und dann von einem dichroitischen Spiegel (Strahlteiler, *beam splitter*) reflektiert. Dann wird das Licht durch eine Objektivlinse punktförmig auf eine Probe fokussiert. Hierbei kann das Licht in diesem Punkt der Probe gestreut werden (Reflektionsmikroskopie) oder einen Fluoreszenzprozess auslösen (Fluoreszenzmikroskopie). Das reflektierte Licht oder das Fluoreszenzlicht wird von der Probe auf das Objektiv zurückgeworfen und passiert eine zweite Lochblende bevor es den Detektor erreicht. Die Lochblende der Lichtquelle und die des Detektors haben den exakt gleichen Fokus, d. h. sie sind konfokal zueinander. Hierbei verhindert die zweite Lochblende, dass Licht, welches oberhalb und unterhalb der Fokusebene emittiert wurde, den Detektor erreicht. Auf diese Weise erreicht man eine punktförmige Lichtquelle sowie punktförmige Detektion. Durch einen Computer wird die Punktlichtquelle durch bewegliche Spiegel (*scanning mirrors*) in x,y -Richtung bewegt, womit es möglich ist, die Probe in der zweiten Dimension Punkt für Punkt abzurastern. Durch Verschiebung der Fokusebene durch senkrechte Bewegung der Probe, ist es möglich, auch jede beliebige z -Ebene zu vermessen. Aus den gemessenen Lichtintensitäten aus Reflektions- oder Fluoreszenz-Experiment und der kontrollierten

Position (x,y,z) der Punktlichtquelle wird anschließend mit Hilfe eines Computers sowie der zugehörigen Software eine dreidimensionale Abbildung rekonstruiert.^[91-95]

Da in der Fluoreszenzmikroskopie (und so auch beim CLSM) die Beleuchtung der Probe sowie die Detektion des resultierenden Lichts oft auf der gleichen Seite stattfinden, muss ein Strahlteiler eingesetzt werden. So soll z. B. bei einer mit Fluorescein markierten Zellkultur blaues Licht vom Laser die Probe erreichen und emittiertes grünes Licht auf den Detektor fallen. Viele klassische Mikroskope setzten dichroitische Spiegel ein (Abb. 2A). Abhängig von der Beschichtung dieser Spiegel ist es möglich, Anregungslicht kurzer Wellenlänge zu reflektieren und das längerwellige Emissionslichts durchzulassen. Jedoch muss je nach Fluorophor und dem entsprechenden Anregungslicht des Lasers ein Fundus verschiedener dichroitischer Spiegel vorhanden sein, wenn das CLSM-System mehrere Wellenlängen vermessen soll. Zudem muss das koorespondierende Emissionslicht zwischen den Anregungswellenlängen detektierbar sein. Das größte Problem dieser Spiegel stellt die geringe Transmission dar, weil ein breites Spektrum des sichtbaren Lichts von Spiegel reflektiert wird und damit für die Detektion nicht mehr zur Verfügung steht (Abb. 2C). Darüber hinaus braucht man zum Wechseln der Spiegel einen Revolver oder Schieberegler. Dies ist eine Lösung, die sehr langsam und anfällig für Fehlausrichtungen ist. Dennoch war dies lange die vorherrschende Technik in der Fluoreszenzmikroskopie.^[96]

In dieser Arbeit wurden die CLSM-Experimente an einem CLSM Leica TCS SP2 Mikroskop AOBS durchgeführt. Die Abkürzung AOBS steht für den akustisch-optischen Strahlteiler (*acousto-optical beam splitter*). Eine schematische Darstellung ist in Abb. 2B zu finden. In diesem Fall ist der Strahlteiler eine akustisch-optische Einheit (Kristall), welche durch eine mechanische Welle (Schallwellen) angeregt werden kann. Durch das Anlegen einer mechanischen Welle kann ein sehr enger Spektralbereichs des Lichts (1 - 3 nm) in eine andere Richtung (1. Ordnung) im Vergleich zu dem ungebrochenen Strahl (0. Ordnung) abgelenkt werden. In den Mikroskopen kommt der AOBS im „reverse Modus“ zum Einsatz. Der Lichtstrahl mit der gewünschten Anregungswellenlänge (z. B. die Ar-Linie 488 nm) wird durch den AOBS in das Objektiv und damit in die Probe gelenkt. Hier kommt es zur Interaktion mit dem Farbstoff und das Emissionslicht wird durch das Objektiv auf den AOBS zurückgeworfen. Da dieses Licht durch die Stokes-Verschiebung eine unterschiedliche Wellenlänge gegenüber der verwendeten Laserline besitzt, gelangt es ohne Verluste

entlang der Hauptrichtung zum Detektor (typischerweise ein spektraler Multikanal-Detektor). Diese neue Technologie schaltet die Nachteile der dichroitischen Spiegel aus. Bei der Verwendung des AOBS sind beim Wechsel der Wellenlängen keine mechanischen Bewegungen notwendig. Folglich sind die Schaltzeit und damit die Messzeiten deutlich kürzer als bei einem Schieberegler mit mehreren Spiegeln. In Abbildungsteil 2C) zeigt die schematischen Transmissionskurven eines Satzes (blau, grün und rot) dichroitischer Spiegel (schwarze Linie) und eines AOBS (rote Linie), welches für 488, 543 und 633 nm geschaltet wurde. Man erkennt, dass dichroitischen Spiegel ein breites Spektrum des sichtbaren Lichtes absorbieren, so dass dieses für die Detektion nicht zur Verfügung steht. Durch den Einsatz von AOBS entstehen scharfe Banden in der Transmission, was zu geringern Signalverlusten in den Emissionssignalen führt. Die Transmission erreicht dabei beinahe das Maximum (durchschnittlich: 96%). Dies erhöht die Empfindlichkeit des CLSM, so dass sensible Farbstoffe oder biologische Proben mit geringer Laserintensität beleuchtet werden. Darüber hinaus ist es möglich mit bis zu acht Anregungs-Laserlinien zu arbeiten.^[96]

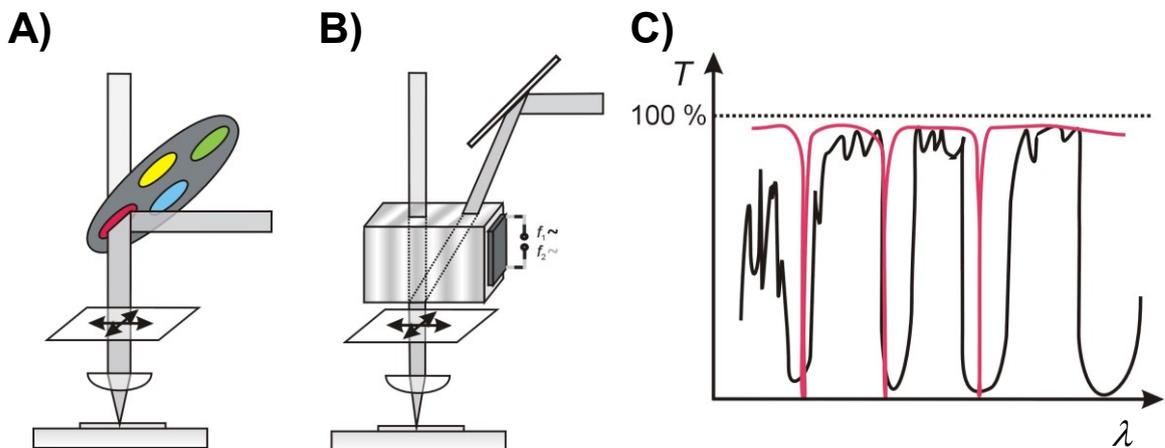


Abb. 2. Schematische Darstellung und Eigenschaften verschiedener Strahlteiler in der CLSM-Mikroskopie: A) Konventionelle dichroitische Spiegel, B) akustisch-optischer Strahlteiler, C) Schematische Transmissionskurven im Wellenlängenbereich von etwa 450 nm bis 750 nm (schwarz: mit blauen, grünen und roten dichroitischen Spiegeln, rot: AOBS geschaltet für 488, 543 und 633 nm).^[96]

Die laterale und axiale Auflösung ist beim CLSM wie bei allen Lichtmikroskopen durch die Beugung begrenzt. Eine punktförmige Lichtquelle ist quantitativ über eine dreidimensionale Punktspreizfunktion (*point spread function*) beschreibbar, welche die zugehörige Intensitätsverteilung im Bildraum widerspiegelt. In Abbildung 3 wurde eine schematische Darstellung dieser Funktion bei idealen Bedingungen dargestellt. Hierbei zeigt Abbildungsteil A) eine 3D-Seitensicht in x,z -Richtung und B) einen x,y -Schnitt durch die mittlere Ebene. Die helle Scheibe in der Mitte wird auch als Beugungsscheibchen (*airy disk*) bezeichnet (Abb. 3B).

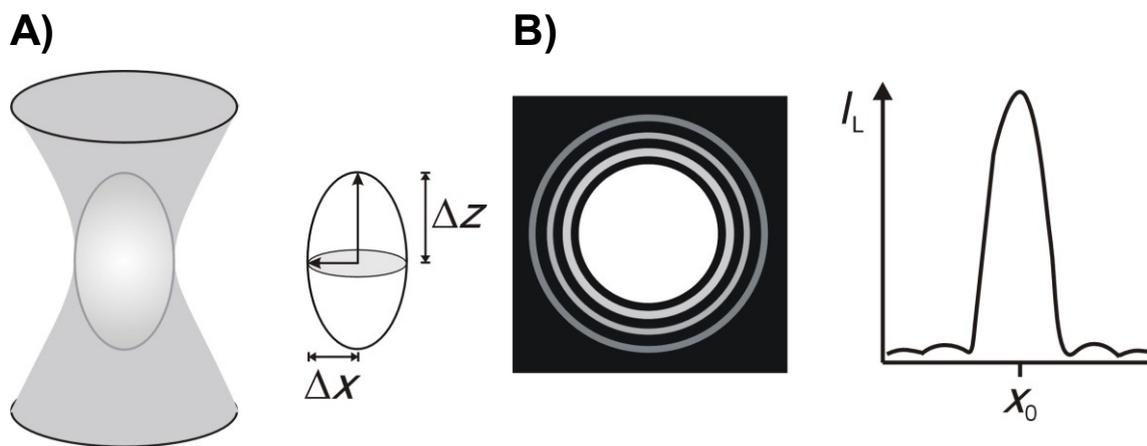


Abb. 3. Schematische Darstellung der dreidimensionalen Punktspreizfunktion punktförmiger Lichtquellen (s. a. Abb. 5). A) 3D-Seitenansicht in x,z -Richtung und das konfokale Volumen (Ellipsoid). B) x,y -Schnitt durch die mittlere Ebene von A mit Lichtintensitätsdiagramm ausgehend von der Mitte bis zum zweiten Maxima (Beugungsscheibchen ist die innere helle Scheibe, Schemata nicht maßstäblich).

Aus dem rotationssymmetrischen Ellipsoid im Kern von Abb. 3A konzentrieren sich 86.5% der gesamten Lichtintensität, die auf den Detektor fällt. Dies wird als konfokales Volumen bezeichnet. Zusätzlich wurden die laterale (Δx) und die axiale (Δz) Halbwertsbreite der Punktspreizfunktion, welche die Halbachsen des Ellipsoids darstellen, eingetragen. Diese können mit folgendermaßen berechnet werden:^[97]

$$\Delta x = \frac{0.51\lambda}{NA} \quad (1)$$

$$\Delta z = \frac{0.88\lambda}{n_B - \sqrt{n_B^2 - NA^2}} \quad (2)$$

Hierbei steht λ für die Wellenlänge des Lichts, NA für die numerische Aperatur des Objektivs und n_B für den Brechungsindex des Immersionsmediums. Mit Hilfe dieser Formel lassen sich nun die laterale (Δx) und die axiale (Δz) Halbwertsbreite der Punktspreizfunktion bei einem Durchmesser der Detektionslochblende $D_{LB} > 1$ AU und damit das Auflösungsvermögen des CLSM berechnen (Tab. 1). Die Einheit AU stellt hier eine Airy-Einheit (*airy unit*) dar. Diese wird vorrangig zur Normierung des Durchmessers der konfokalen Blende verwendet und ist in vielen kommerziellen CLSMs voreingestellt:

$$1 \text{ AU} = \frac{1,22\bar{\lambda}}{NA} \quad (3)$$

In diesem Fall steht $\bar{\lambda}$ für die mittlere Wellenlänge des Lichts. Liegt der Lochblendendurchmesser bei $D_{LB} = 1$ AU, so ist dieser im Minimum des Beugungs-scheibchens (Abb. 3B, innerhalb des innersten schwarzen Ringes). Hier erreicht die Signalstärke des detektierten Lichts ihr Maximum, jedoch auf Kosten der axialen Auflösung in der Fokusebene, die dann nicht mehr besser als im nicht-konfokalen Fall ist. Die theoretisch beste Auflösung in z -Richtung wird erhalten, wenn die Lochblende nahezu vollständig geschlossen ist. Aber in diesem Fall kann kein Licht mehr durch die Blende durchtreten, was eine Bildaufnahme unmöglich macht. Aus diesem Grund muss immer eine Abwägung zwischen der Signalstärke und geforderter Auflösung in axialer Richtung bei der Wahl des Lochblendendurchmessers erfolgen.^[98]

Tab. 1. Δx und Δy Halbwertsbreite der Punktspreizfunktion ($D_{LB} > 1$ AU).

Leica Objektiv		$\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$		$\lambda_{ex} = 514 \text{ nm}$	
HC PL Fluortar	NA	$\Delta x /$	$\Delta z / \mu\text{m}$	$\Delta x / \mu\text{m}$	$\Delta z / \mu\text{m}$
Art.-Nr. / Vergrößerung	$n_{B, \text{Luft}} = 1$	μm			
11506504 / 5x	0.15	1.66	37.96	1.75	39.98
11506505/ 10x	0.30	0.83	9.32	0.87	9.82
11566500/ 20x	0.50	0.50	3.21	0.52	3.38
11506208/ 40x	0.60	0.41	2.15	0.44	2.26
11566501/ 50x	0.80	0.31	1.07	0.33	1.13

Eine weitere Herausforderung in der CLSM ist die Darstellung von Mehrkanal-Fluoreszenzbildern von mehreren Farbstoffen. Einerseits soll so viel Emissionslicht wie möglich detektiert werden. Andererseits besteht die Gefahr der Signalüberlagerung (auch „Durchbluten“, *crosstalk*) der verschiedenen Absorptions- und Fluoreszenzsignale mehrerer Fluorophore. Um dies zu vermeiden muss eine sorgfältige Vorauswahl der verwendeten Farbstoffe getroffen werden. In der Abb. 4 sind zwei Beispiele von jeweils zwei verwendeten Fluoreszenzfarbstoffen aufgezeigt. Hierbei wurden zunächst schematisch die Absorptionskurve (λ_{ab}) der Farbstoffes F1 und F2 sowie das Fluoreszenzkurve (λ_{fl}) von F1 eingezeichnet. Die Symbole λ_{ex} und λ_{em} stehen für die im CLSM-Experiment festgelegten Parameter, wobei λ_{ex} für die Anregungswellenlänge des Lasers und λ_{em} für den spektralen Bereich der Detektion steht.

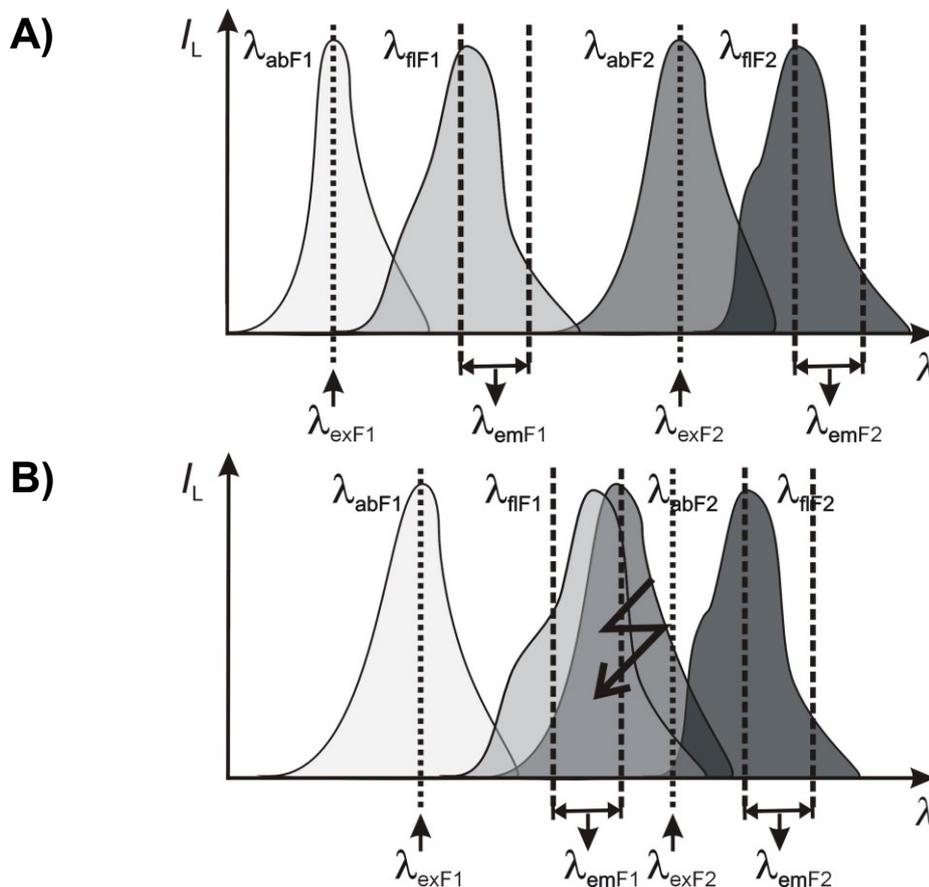


Abb. 4. Schematische Darstellung zur Detektion von Mehrkanal-Fluoreszenzbildern mit Hilfe des CLSM (Beispiel: zwei Farbstoffe F1, F2). Absorptionskurven λ_{ab} , Fluoreszenzkurve λ_{fl} . A) Idealer Fall, B) Nicht idealer Fall.

Abbildungsteil 4 A) zeigt einen idealen Fall, in dem zwei Fluoreszenzfarbstoffe ausgewählt wurden, deren Signale sich nur geringfügig überlappen. Das Fluorophor F1 kann idealerweise im Maximum der Absorptionsbande λ_{exF1} angeregt und das Licht der Emission in einem spektralen Bereich λ_{emF1} detektiert werden, der nicht mit der Absorptionsbande des zweiten Fluorophors überlappt. Hierdurch ist es möglich, F2 (falls passende Anregungswellenlänge eines Lasers verfügbar) ohne Störung bei λ_{exF2} anzuregen und das resultierende Fluoreszenzlicht im spektralen Bereich λ_{emF2} zu detektieren. Die Abbildung 4B) gibt einen nicht idealen Fall wieder, in der sich die Fluoreszenzbande von F1 und die Absorptionsbande von F2 stark überlappen. In diesem Fall gelingt es, mit konventionellen Methoden nicht ohne große Signalverluste eine saubere Aufspaltung der Signale und damit ein aussagekräftiges Mehrkanal-Fluoreszenzbild zu erhalten. Durch den Einsatz eines geeigneten Emissionsbandpassfilters, ist es dennoch möglich die Signale zu trennen, wenn keine wesentliche Überlappung der beiden Emissionsspektren vorliegt.^[98] Darüber hinaus könnte unter Umständen auf eine andere Anregungswellenlänge des Fluorophors F2 ausgewichen werden.

2.3 Untersuchung von Konzentrationsprofilen mit Hilfe der Konfokalmikroskopie

Die Untersuchung von Konzentrationsprofilen, insbesondere von inter- und intrazellulären Protonenkonzentrationen, mit Hilfe des CLSM war schon früh in der biologischen Zellforschung geläufig. So sind viele fluoreszierende Indikatoren bekannt, die je nach pH-Bereich, Gewebe, Zellorganell oder zu untersuchendem Ion eingesetzt werden können.^[99-101] Seit längerem wurde die Konfokalmikroskopie auch in den Materialwissenschaften^[102] eingesetzt, um z. B. die Korrosion an Stahl-^[103] und Aluminium^[89]-Oberflächen zu beobachten, die Auswirkung von Thioharnstoff auf die Kupferabscheidung^[104] zu untersuchen oder den Aufbau von Multilayer-Filmen zu beurteilen.^[105] In der Elektrochemie kam CLSM nicht mehr nur für die quantitative und qualitative Bestimmung von Grenzflächenkonzentrationen an Elektroden, sondern darüber hinaus auch für die Kartierung von aktiven Probenoberflächen zum Einsatz. So wurden durch Oyamatsu et al.^[106] und Burchardt et al.^[107, 108] Oberflächen mit immobilisierten Enzymen durch diese Methode nach ihrer Aktivität oder den topographischen Eigenschaften untersucht.

Die Hauptarbeiten zur Nutzung des CLSM-Prinzips zur Kartierung von Konzentrationsgradienten und -profilen in der Nähe von Elektroden wurde in der Elektrochemie vor dem Hintergrund entwickelt, das CLSM und das SECM zu kombinieren. Das Ziel hierbei war simultan elektrochemische und optische Eigenschaften einer Reaktionszone zu vermessen. Bisher kam diese Technik hauptsächlich zum Einsatz, um mikroelektrochemisch erzeugte pH-Gradienten zu untersuchen.^[109]

In Abbildung 5 ist beispielhaft der in dieser Arbeit verwendete Versuchsaufbau abgebildet. Es ist anzumerken, dass in der Literatur^[109] sowohl Auflicht- als auch Durchlicht-Aufbauten gebraucht werden. Der Abbildungsteil 5A) zeigt das Reaktionsschema der in dieser Arbeit verwendeten Reduktion von 1,4-Benzoquinon, welches Anwendung bei der Erzeugung von pH-Profilen findet. Eine elektrochemische Reaktion verbraucht Protonen in der Lösung. Dies stört das Gleichgewicht der Säure-Base-Reaktion des fluoreszierenden Indikators. Die Veränderung der Lichtintensität wird über den Detektor wahrgenommen. Im Abbildungsteil 5B) ist der Aufbau der elektrochemischen Messzelle in Seitenansicht dargestellt. An dieser Stelle soll das

Detektionsvolumen, das konfokale Volumen, für ratiometrische Messungen in der Nähe der Elektrode herausgehoben werden. Die optische Auflösung bestimmt die Größe des konfokalen Volumens (s. Kap. 2.2).

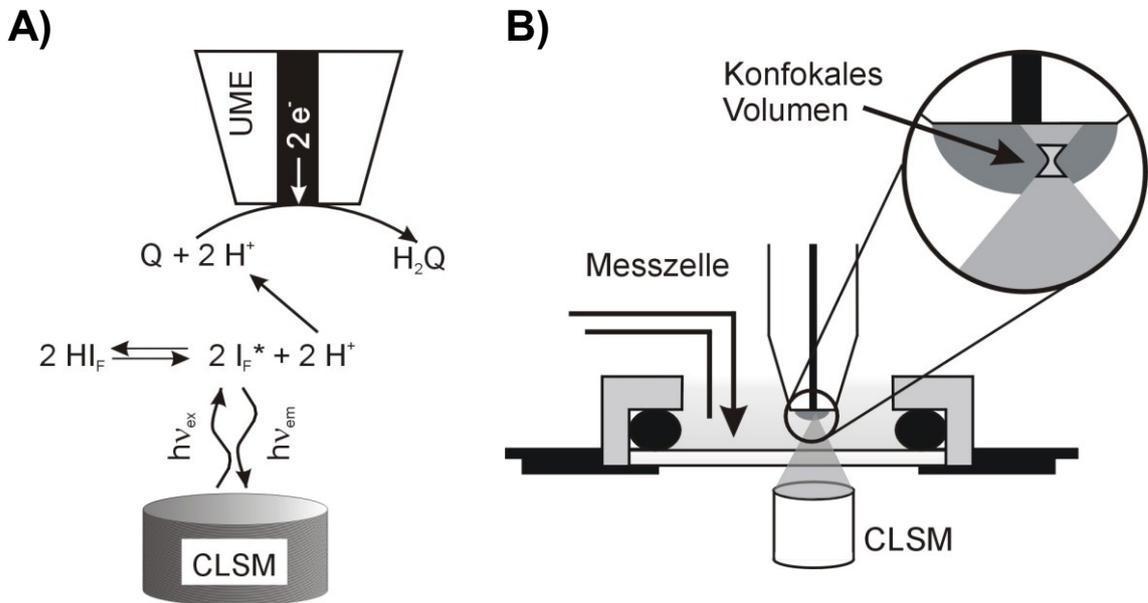


Abb. 5. Schematische Darstellung der Detektion von Reaktionszonen unter UMEs mit Hilfe des CLSM (Seitenansicht). A) Reaktionsschemas (Beispiel der pH-Bestimmung, HI_F schwach fluoreszierend, I_F^* stark fluoreszierend), B) Experimenteller Aufbau mit Darstellung des konfokalen Volumens.

Von der ersten Vermessung von Konzentrationsgradienten in 3D in der Nähe einer Mikroelektrode (UME) berichteten Unwin et al.^[47, 49] Hierbei wurden die Reduktion von 1,4-Benzochinon (Q) zu 1,4-Hydroquinon (H_2Q) und die Sauerstoffreduktion an Pt-UMEs in ungepufferten Lösungssystemen mit Hilfe des Fluoreszenzindikators Fluorescein-dinatrium untersucht. In beiden elektrochemischen Prozessen wurden OH^- -Ionen gebildet, woraus eine lokale Erhöhung des pH-Wertes und folglich eine Verstärkung der Fluoreszenzeigenschaften des deprotonierten pH-Farbstoffes (I_F^*) resultierte (Abb. 5). Unter Verwendung der z-Abrasterung gelang es, quantitative 3D-Profile der Protonenkonzentration abzubilden, welche in guter Übereinstimmung mit den theoretischen Modellen stehen. Diese wurden unter Verwendung der Methode der Finiten Elemente (FEM) berechnet. Da die Diffusionsschicht wesentlich größer als die aktive Elektrodenfläche ist, gelang es, Diffusionsschichten von Elektroden zu vermessen, die selber nicht mehr mit optischen Mikroskopen aufzulösen sind, wie z. B.

eine Elektrode mit einem Durchmesser von 80 nm.^[49] Außerdem eröffnete sich die Möglichkeit, submikroskopisch elektrochemisch aktive Stellen an einer Oberfläche mit einer Anordnung von 16 Pt-UMEs (jeweils $r_T = 5 \mu\text{m}$) zu identifizieren und die Größe der Diffusionsschicht durch Variation des gewählten Potentials zu steuern.^[49]

Bezogen auf die Reduktion von Sauerstoff an einer Pt-UME zeigte das errechnete FEM-Model, das die Größe der resultierenden pH-abhängigen Reaktionszone mit der Zahl der verbrauchten Elektronen korreliert, die in diesem Prozess übertragen werden. Dadurch war es möglich, n für die Sauerstoffreduktion an Pt-UMEs zu bestimmen: Die effektive Anzahl der übertragenen Elektronen war für eine scheibenförmige Pt-UME mit $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ 2.5 und mit $r_T = 5 \mu\text{m}$ 2.4.^[49] Hiermit wurde durch die Verwendung des CLSM bewiesen, dass die Sauerstoff-Reduktion an Pt-UMEs in ungepufferten Lösungen kein 4-Elektronen-Prozess ist. Da Pletcher et al.^[110] unter Gebrauch der rotierenden Scheibenelektrode dies ebenfalls darlegten, zeigt dies die quantitative Richtigkeit der experimentellen Ergebnisse.

Grime et al.^[111] gelang es durch die Kombination von CLSM und SECM, quantitativ die Permeation schwacher Säuren durch eine Biomembran zu beobachten und damit den Permeationskoeffizient (Maß für die Durchdringbarkeit einer Membran) zu ermitteln. Hierbei wurde eine UME in der Nähe einer Biomembran positioniert, um durch galvanostatische Oxidation von Wasser Protonen in gut definierten Portionen zu liefern.



Dies stört das Gleichgewicht der in der Lösung befindlichen schwachen Säure (X^- steht hier für das konjugierte Anion der untersuchten schwachen Säure).



Durch die Anwesenheit von Fluorescein-dinatrium konnte die resultierende pH-Verteilung in der Umgebung der UME (im stationären Zustand) und auf der anderen Seite der Biomembran mit Hilfe des CLSM visualisiert werden. Dabei zeigten sich (gestützt durch FEM-Simulationen) hohe Abhängigkeiten der Verteilung der schwachen Säure und des Permeationskoeffizients. Anschließend war es möglich, letztere für eine Reihe von aliphatischen schwachen Säuren zu bestimmen. Fa et al.^[112] gelang es darüber hinaus, die Leitung durch nanokapillare Array-Membranen sowohl unter statischen als auch mikrofluidischen Strömungsverhältnissen durch Kartierung von pH-Profilen zu untersuchen.

Eine weitere Anwendung fanden Heinze et al.,^[48, 113] indem sie den Aufbau eines SECM mit einem Einzelmolekülspektrometer (*single molecule fluorescence microscope*) verbanden. Mit dem SECM konnten pH-Gradienten (in μm -Auflösung) räumlich und zeitlich kontrolliert in Lösung generiert werden. Der Verlauf der elektrochemischen Reaktion konnte anhand der Protonen-Gradienten in Echtzeit mit dem Einzelmolekülspektrometer beobachtet werden. Das Fluorophor in diesem System war SNARF-1-dextran. Für die in Lösung durchgeführten Experimente wurde das konfokale Volumen in einer Diffusionsschicht einer OH^- produzierenden Elektrode positioniert. Um den pH-Wert auch in der Nähe von Oberflächen mit Hilfe von immobilisierten Fluorophoren zu messen, wurde die Apparatur erweitert. Zur Anregung kam die Totalreflektion (*total internal reflection excitation*) zum Einsatz und die Detektion erfolgte durch eine hochauflösende CDD-Kamera.

Während der Erzeugung von pH-Gradienten in der Nähe von UMEs (r_T : 2 nm – 5 μm), konnten Boldt et al.^[48] die resultierenden Fluoreszenzintensitäten entweder in der Lösung oder auf einer mit einem Fluoreszenzmarker beschichteten Oberfläche registrieren. Für Letzteres bewirkte die mikroelektrochemische Oxidationen von Nitrit zu Nitrat (generiert Protonen) oder die Reduktion von Q (verbraucht Protonen) eine lokale pH-Verschiebung (UME in unmittelbarer Nähe der Oberfläche). Um die biologische Anwendbarkeit zu demonstrieren, kam das Enzym ATP-Synthase (Adenosintriphosphat), das in Liposomen eingebettet wurde, zum Einsatz. ATP-Synthase ist essentiell für die Atmungskette, da es für die Herstellung von ATP verantwortlich ist. Durch die lokale mikroelektrochemische Erzeugung einer pH-Verschiebung wurde ATP-Synthase stimuliert, ATP herzustellen. Während dieses Prozesses rotierte die Kopfgruppe des Enzyms in einer Richtung. Wurde hingegen ATP hydrolysiert, änderte sich die Rotation in die gegensätzliche Richtung. Um die Rotation der zwei Einheiten relativ zueinander während der ATP-Synthese und -Hydrolyse mit Hilfe des Einzelmolekül Fluoreszenzenergietransfer (*single molecule resonance energy transfer*, FRET) zu untersuchen, wurden anschließend Fluorophore an die zwei ATP-Synthase-Untereinheiten gebunden. Wenn Liposomen, die ein Enzym tragen, durch den Gradienten diffundieren, antwortet das Enzym entsprechend des geänderten pH-Wertes. Obwohl kein direkter Beweis für die Synthese von ATP vorliegt, zeigen die resultierenden FRET-Diagramme, dass das System wahrscheinlich in die Richtung rotiert, die für die ATP-Synthese charakteristisch ist.^[48, 113]

Schließlich konnten Rutkowska et al.^[114] elektrochemische Prozesse bei der Anregung des elektrolumineszenten Systems Tris(2,2'-bipyridin)-ruthenium(II) an optisch transparenten Kohlenstoffnanoröhrchen-UMEs (Carbon-Nanotube-UMEs) qualitativ visualisieren, indem sie mit einem CLSM die Lichtemission aufzeichneten.

3 Lokale Mikrostrukturierung von Oberflächen

3.1 Lokale Oberflächenstrukturierung von weichen organischen Schichten

Das Erzeugen von modifizierten weichen organischen Oberflächen ist ein schnell wachsender Zweig der Forschung in den Materialwissenschaften. Dessen Hauptziel ist der Zugang zu Materialien mit einstellbaren Eigenschaften für diverse Anwendungen wie z. B.: Derivatisierung von Substraten mit reaktiven Endgruppen zur weiteren Modifikation, Nutzung von Passivschichten, analytische sowie biologische Sensoren, und Steuerung der Zelladhäsion. Tabelle 2 listet gängige Techniken der modernen Nanolithographie und deren Auflösungsgrenzen auf.

Tab. 2. Techniken und Auflösungsgrenzen der modernen Mikro-/Nanolithographie^[115]

Methode	Auflösung	Ref.
Inkjet Printing	ca. 30 μm	[116, 117]
Mikrokontaktdrucken (μCP)	ca. 100 nm	[118, 119]
Lithographie mit Elektronen, Ionen und Protonen: Electron Beam Lithographie Focused Ion Beam	ca. 10 nm	[120-122]
Optische Lithographie (UV, EUV, X-ray)		
Nanoprägelithographie	ca. 5 nm	[123]
Rasterkraft-/Rastertunnelmikroskopie (SFM/STM) Dip-Pen Nanolithographie, Nanografting	ca. 1 nm	[124, 125]

Die höchste Auflösung kann mit seriellen Techniken wie Dip-Pen-Nanolithographie, Nanografting oder STM erreicht werden. Allerdings sind diese Techniken generell auf kleine Flächen begrenzt und in der Regel langsam aufgrund des seriellen Schreibmodus.

Photolithographie ist die effektivste Technik zur Strukturierung von harten anorganischen Oberflächen und ist eng mit dem Aufstieg der Mikroelektronik-Industrie verbunden. Hierbei wird im Allgemeinen ein Substrat mit einer lichtsensiblen Substanz, z. B. einem Fotolack, beschichtet und durch eine Maske bestrahlt. Durch den Einfluss

der Bestrahlung werden lokale Regionen des Substrates, bei Zusatz eines geeigneten Lösungsmittels, entweder löslich oder unlöslich. Lösliche Teile der Beschichtung werden im Nachbearbeitungsschritt selektiv entfernt, wodurch eine Mikrostruktur auf dem Substrat entsteht. Prominente Beispiele für die Verwendung der Photolithographie bei der Modifizierung von weichen organischen Schichten sind unter anderem die Vernetzung von Hydrogelen auf Silizium- oder Glassoberflächen^[126] sowie die selektive Desorption von selbstorganisierten Monoschichten (SAM).^[127, 128] Jedoch verhindern die rauen Prozessbedingungen, wie z. B. UV-Licht sowie meist ätzende Reaktanden zum Entwickeln und Reinraumbedingungen, die Anwendung dieser Technologie zur Mikrostrukturierung von empfindlichen Schichten z. B. aus lebenden Zellen oder aus Proteinen.

Aus diesem Grund wurden mildere Verfahren wie die Softlithographie durch Whitesides et al.^[118, 129, 130] entwickelt. Eine besonders bekannte Technik stellt hierbei das Mikrokontaktdrucken (μ CP) dar, bei der ein weicher Polymer-Stempel, meist aus Polydimethylsiloxan (PDMS), zum Transfer von Reaktanten auf eine Substratoberfläche dient.^[118] Oft wurde für diese Schichtbildung die spontane Chemisorption und die Selbstorganisation von langkettigen, funktionalisierten, organischen Molekülen auf den Oberflächen geeigneter Substrate ausgenutzt. Hierbei wurden Bildung und Beschaffenheit von SAM-Systemen mit funktionalisierten Alkanthiolaten $XCH_2(CH_2)_nS^-$ auf Gold umfangreich untersucht.^[131-134] Suh et al.^[135, 136] demonstrierten die Anwendung dieses Systems auf die Strukturierung von Polymeren. Darüber hinaus konnten, nach geeigneter Vorbehandlung, auch Proteine mit Hilfe dieser Technik auf ein Substrat übertragen werden.^[137, 138] Für die Herstellung des Stempels ist jedes Mal ein durch Photolithographie erzeugte Urform (Master) nötig, der speziell für jedes gewünschte Ziel-Mikromuster angefertigt werden muss. Darüber hinaus lässt sich die Musterung des Substrates im Nachhinein nicht mit der gleichen Methode verändern.

Durch Rastersondenmethoden ist es möglich, eine Post-Modifikation, der Oberfläche zu erreichen. Dieses Konzept wurde von Yousaf und Mrksich eingeführt,^[139] und kann durch Einstrahlen von Licht,^[140] Änderung der Temperatur^[141] und elektrochemisch erzeugte Reaktanden^[142] realisiert werden. Hierbei setzt man die Messspitze der verwendeten Methode sozusagen als „Schreibfeder“ ein, die auf der Substratoberfläche „schreibt“ und bei kontrollierter lateraler Bewegung hochaufgelöste Strukturen hinterlässt. Zu diesen Methoden zählen unter anderem das SFM,^[125, 143] die

DNP^[124] und die elektrochemische Rastermikroskopie.^[2] Sie können z. B. auch verwendet werden, um durch lokale Änderung von SAM- oder Polymer-Substratoberflächen die Umgebung einer Zelle in *in vitro* Zellwachstums-Versuchen zu beeinflussen.

Die kommerziell meist verbreiteten Systeme zur Herstellung von organischen dünnen Schichten zur Kontrolle von Proteinadsorption und Zelladhäsion basieren auf Polymerfilmen. Diese werden durch Schleuderbeschichtung (*spin coating*), Plasma-Abscheidung oder Polymerisation ausgehend von oberflächengebundenen Startermoleküle^[144] auf ein Substrat aufgetragen. Ein genereller Vorteil von Polymer-Beschichtungen ist ihre Kompatibilität mit verschiedenen Substraten, während SAM-Bildung spezifisch für Molekül-Substrat-Kombinationen ist.^[118] Es ist eine Vielzahl von hydrophil, hydrophob, geladenen und ungeladenen Homo- und Copolymeren bekannt, die stabil gegenüber Austauschreaktionen sind und, in speziellen Fällen, ein reversibles Schalten von Oberflächeneigenschaften ermöglichen.^[141, 145, 146]

Dem stehen die auf ihrer spontanen Bildung basierenden SAM gegenüber. Obwohl die Stabilität der polymeren Systeme tendenziell mit ihrer Haltbarkeit von mehreren Tagen bis zu Wochen für längerfristige Experimente und kommerzielle Zwecke sehr interessant sind, besitzen SAM-Systeme besonders in der Grundlagenforschung große Vorteile. Zum einen werden sie leicht unter thermodynamischer Kontrolle gebildet und zum anderen wird die Monoschichten-Struktur durch die Eigenschaften der organischen Adsorbat-Moleküle und der Substratoberfläche bestimmt. Die Grenzschicht einer SAM definiert sich durch die funktionale Endgruppe des Thiols. Wegen der monomolekularen Natur der SAM stehen strukturelle Informationen von einem kleinen Ausschnitt repräsentativ für die gesamte Monoschicht.

Die Struktur von Polymerfilmen hingegen ist kinetisch kontrolliert, d. h. Verarbeitungsbedingungen müssen akribisch überwacht werden, um die statistische Verteilung der Polymerkettenlängen und andere strukturelle Details zu gewährleisten. Im Gegensatz zur monomolekularen Natur der SAM, können Polymerschichten lokal signifikante Unterschiede in der Oberflächenkonzentration der spezifischen funktionellen Gruppen aufweisen. Post-Funktionalisierung und Modifikation ist bei beiden Systemen möglich, jedoch können die SAMs auch mit ihren reaktiven Endgruppen definierter genutzt werden. Die Reaktionen können lokal z. B. durch

elektrochemische Reaktionen einer Mikroelektrode ausgelöst werden. Darüber hinaus sind SAM-Systeme im Gegensatz zu Polymerfilmen leichter strukturell zu charakterisieren z. B. durch Verfahren wie der polarisations-modulierten Infrarot-Reflektions-Absorptions-Spektroskopie (PM-IRRAS).^[147] Schließlich wurden vor kurzem zunehmend neue Konzepte für die Langzeitstabilität von SAM-Systemen für die Zellkultivierung vorgeschlagen, um damit ihren größten Nachteil gegenüber den Polymerfilmen auszugleichen.^[148] Hierfür synthetisierte man neue Amid-Glykol-Monomere, welche zellresistente dünne Schichten bilden. Diese chemisobierten auf den freien Stellen von Au-Substratoberflächen, welche zuvor mit Hilfe des μ CP mit Hexadecanithiol (für Zelladhäsion) strukturiert wurde. In Zellkultur blieben die resultierenden gemusterten Zellsubstrate bis zu 35 Tage erhalten.

3.2 Elektrochemische Rastermikroskopie

Der Begriff Rastersondenmikroskopie (SPM, *scanning probe microscopy*) fasst alle Arten von Mikroskopiemethoden zusammen, bei denen die Wechselwirkung einer Probe und einer lokalen Messsonde in Abhängigkeit des Ortes sequentiell gemessen wird. Damit unterscheiden sie sich von den konventionellen Mikroskopie-Methoden (wie Lichtmikroskopie) bei denen ein Bild simultan aufgezeichnet wird. Darüber hinaus lassen sich mit diesen Techniken dynamische Oberflächenmodifizierungen herstellen und charakterisieren. Besonders populäre Repräsentanten der Rastersondenmethoden sind das Rastertunnelmikroskop (STM, *scanning tunneling microscope*),^[149-151] das Rasterkraftmikroskop (SFM, *scanning force microscope*),^[125, 143] das optische Rasternahfeldmikroskop (SNOM, *near-field scanning optical microscope*)^[152] und das elektrochemische Rastermikroskop (SECM, *scanning electrochemical microscope*).^[2, 12, 86]

Die elektrochemische Rastermikroskopie stellt ein mächtiges Werkzeug zur Untersuchung und Erzeugung von Strukturen und Prozessen in der Größenordnung von Mikrometern und kleiner dar. Es wurde in den 80er Jahren durch die Gruppe von Allen J. Bard^[153] in die Elektrochemie eingeführt und bis heute hat die Anzahl der SECM-beinhaltenden wissenschaftlichen Publikationen stetig zugenommen (Abb. 7). Die Vielseitigkeit dieser Methode gestattet die Untersuchung eines breiten Spektrums an Prozessen, angefangen von Metallkorrosion^[154, 155] bis zum Stoffwechsel einzelner lebender Zellen.^[156] Eine Reihe von allgemeinen Reviews und Büchern über diese Technik sind publiziert.^[5, 6, 86, 157, 158]

Bei dieser speziellen Form der Rastersondenmikroskopie wird der an einer Ultramikroelektrode (UME) generierte Faradaysche Strom in Elektrolytlösung gemessen, während die UME über einer Substratoberfläche gehalten oder bewegt wird („abrastern“). Diese UMEs können in verschiedenen Formen der aktiven Elektrodenoberfläche wie Ringe, Tropfen, Drähte, Scheiben oder Arrays hergestellt werden. Notwendig für ihre elektrochemischen Eigenschaften ist, dass eine Dimension der aktiven Fläche kleiner als 25 μm ist.^[159] Jedoch werden in der Literatur SECM-Experimente überwiegend mit scheibenförmigen UMEs mit einem aktiven Elektrodenradius in der Größenordnung von mehreren Nanometern bis zu 25 μm durchgeführt, weil sie die beste Empfindlichkeit aufweisen. Diese UMEs sind kleiner als der von gelösten Molekülen innerhalb der Zeitskala des Experiments. So bildet sich

innerhalb des Bruchteils einer Sekunde ein hemisphärisches, stationäres Diffusionsprofil aus. Der hieraus resultierende Diffusionsgrenzstrom $i_{T,\infty}$ in der Volumenphase der Lösung bei quasi unendlichem Abstand zum Substrat ergibt sich aus:^[160]

$$i_{T,\infty} = g n F D c^* r_T \quad (4)$$

Hierbei steht n für die Anzahl der pro Formelumsatz übertragenen Elektronen, F für die Faraday-Konstante, D für den Diffusionskoeffizienten, c^* für die Konzentration des Reaktanden in der Volumenphase der Lösung und r_T für den Radius der scheibenförmigen aktiven Elektrodenoberfläche. Der Geometriefaktor g nimmt für eine scheibenförmige Elektrode in einer unbegrenzt ausgedehnten Isolatorschicht den Wert 4 an.^[161] $i_{T,\infty}$ ist relativ unabhängig von dem Radius der isolierenden Ummantelung, r_{glas} . Ferner ist der gemessene Sondenstrom relativ immun gegen Konvektion, da der Transport der Reaktanden an die kleine Scheibe durch Diffusion recht groß ist (ca. $D c / r_T$).

Abbildung 5 zeigt verschiedene Darstellungen solcher UMEs, wobei Abbildungsteil A) r_T und r_{glas} in der schematischen Seitenansicht darstellt. In der Literatur wird häufig das Verhältnis $RG = r_{\text{glas}} / r_T$ verwendet. Je nach Parameterwahl bei der Herstellung und nach Verwendungszweck können UMEs unterschiedliche Glasisolierungen (Abb. 5B) aufweisen. Schließlich kann eine CLSM-Aufnahme der Stirnseite eine Pt-UME als hellen Punkt in der Mitte der Abbildung darstellen. Die UME wird eingefasst von einer Glasisolierung (Abb. 5C).

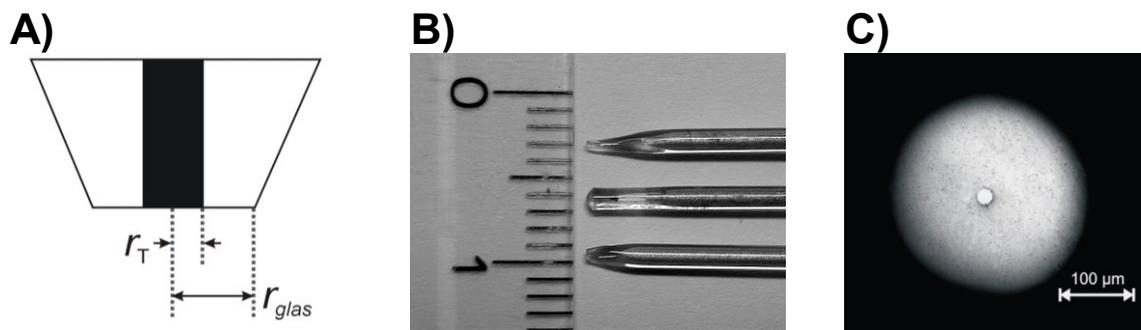


Abb. 6. Ultramikroelektroden. A) Schematische Seitenansicht, B) Foto von drei Pt-UMEs (jeweils $r_T = 12.5 \mu\text{m}$) von der Seite, C) CLSM-Reflektionsbild einer Pt-UME von unten.

Die oben genannten wichtigen physikalischen Eigenschaften bedeuten, dass eine UME, die als bewegte Messsonde zum Einsatz kommt, als stationäres System (*steady-state*) behandelt werden kann. Deswegen ist es nicht verwunderlich, dass mit der Einführung der UME in der Elektrochemie der Weg für die Entwicklung des SECM bereitet wurde. Dies verdeutlicht auch Abb. 7, in der die Anzahl der wissenschaftlichen Publikationen aufgelistet sind, welche die Schlagworte „Scanning electrochemical microscopy“ oder „Ultramicroelectrode“ beinhalten.

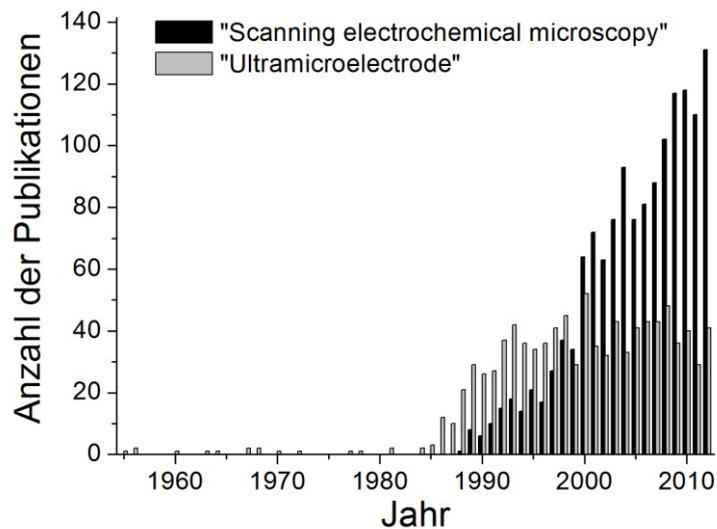


Abb. 7. Wissenschaftliche Publikationen beinhaltend „Scanning electrochemical microscopy“ oder „Ultramicroelectrode“. (Quelle: SciFinder® Stand 05.03.2013)

Für gewöhnlich wird die UME als Arbeitselektrode (WE1) in einem Drei-Elektroden-Aufbau (mit Referenzelektrode (RE) und Gegenelektrode (CE)) verwendet. Abb. 8 zeigt schematisch den generellen Aufbau eines SECM. Das zu untersuchende Substrat kann auch polarisiert und als zweite Arbeitselektrode (WE2) genutzt werden. Es kann sich dabei um einen Festkörper (Glass, Metal, Polymer, katalytische Oberflächen, biologisches Material) oder eine Flüssigkeit handeln wie z. B. Quecksilber oder ein nicht mischbares Öl. Mittels Elektrolyse an der UME erzeugt die Sonde aus dem in der Lösung enthaltenen Mediator eine reduzierte oder oxidierte Form der redox aktiven Spezies. Der resultierende Faradaysche Strom wird als Funktion des Ortes erfasst.

Die Eigenschaften der Oberfläche (z. B. kinetisch inert oder elektrisch leitend) können das Messsignal der UME stören. Diese Störungen lassen sich quantitativ beschreiben und bieten detaillierte lokale Informationen über die Natur oder die Eigenschaften der Oberfläche. AD/DA-Karten steuern den Potentiostat sowie das Positioniersystem und verarbeiten die experimentellen Daten.

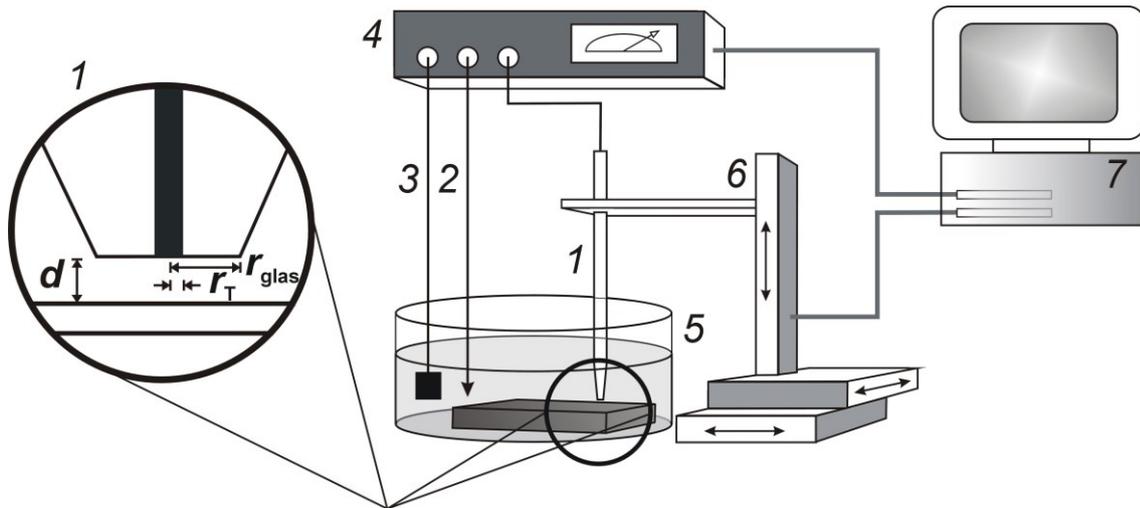


Abb. 8. Schema des generellen Aufbaus eines SECM. 1) Scheibenförmige amperometrische UME, 2) Referenzelektrode 3) Gegenelektrode, 4) Potentiostat, 5) elektrochemische Messzelle mit Substrat, 6) Positioniersystem, 7) Steuerung und Datenerfassung über PC und AD/DA-Karte.

Abbildungs- und Modifikationsexperimente am SECM können z. B. im Feedback-Modus, Direktmodus oder auch im Generator-Kollektor-Modus durchgeführt werden. Da in dieser Arbeit ausschließlich der Feedback-Modus verwendet wurde, soll dieser im nächsten Kapitel beschrieben werden.

3.2.1 Feedback-Modus

In dieser Arbeit wurde für die Modifizierungen und anschließenden Charakterisierungen der Oberflächen vor allem der Feedback-Modus (FB-Mode) verwendet. Hierbei enthält die Leitelektrolytlösung eine Redoxform eines quasi-reversiblen Redoxpaares, dem Mediator. Diese Spezies dient als Elektronenüberträger. Im Folgenden wird die reduzierte Form des Mediators als R und die oxidierte Form als O bezeichnet. Das generelle Prinzip des FB-Mode ist in Abb. 9 schematisch dargestellt. Es wird zwischen drei Fällen unterschieden: Die UME ist weit von der Substrat-Oberfläche entfernt (Abb. 9A), die UME befindet sich in der Nähe einer leitenden (Abb. 9B) oder isolierenden (Abb. 9C) Probenoberfläche. Wenn ein ausreichend positives Potential (größer als das Formalpotential des Mediators) zwischen UME und Referenzelektrode anliegt, erfolgt an der UME die Oxidation von R:



Die hemisphärische Diffusion von R zur Oberfläche der UME begrenzt die resultierende Stromstärke (Abb. 9A). Befindet sich die UME mehrere Elektrodendurchmesser von der Substratoberfläche entfernt, beträgt $i_T = i_{T,\infty}$. Wird die UME nun im Abstand von einigen Elektrodennradien zu einer leitenden Oberfläche wie Gold positioniert, so kann die mikroelektrochemisch oxidierte Spezies O an der Substratoberfläche reduziert werden.



Durch diesen Vorgang wird ein zusätzlicher Fluss von R zur UME erzeugt, was eine Erhöhung des Sondenstroms verursacht. Diesen Effekt bezeichnet man als „positiver Feedback“ (Abb. 9B). Je geringer nun der Arbeitsabstand d , desto größer wird i_T (Abb. 10). Sollte jedoch das Substrat ein elektrischer Isolator wie Glas oder eine inerte Oberfläche sein, entfällt die Regeneration des Mediators (Abb. 9C). Das Substrat behindert dann die Diffusion von R aus der Volumenphase der Lösung wodurch i_T mit abnehmenden d abnimmt (Abb. 10). Dieser Vorgang wird folglich „negativer Feedback“ genannt.

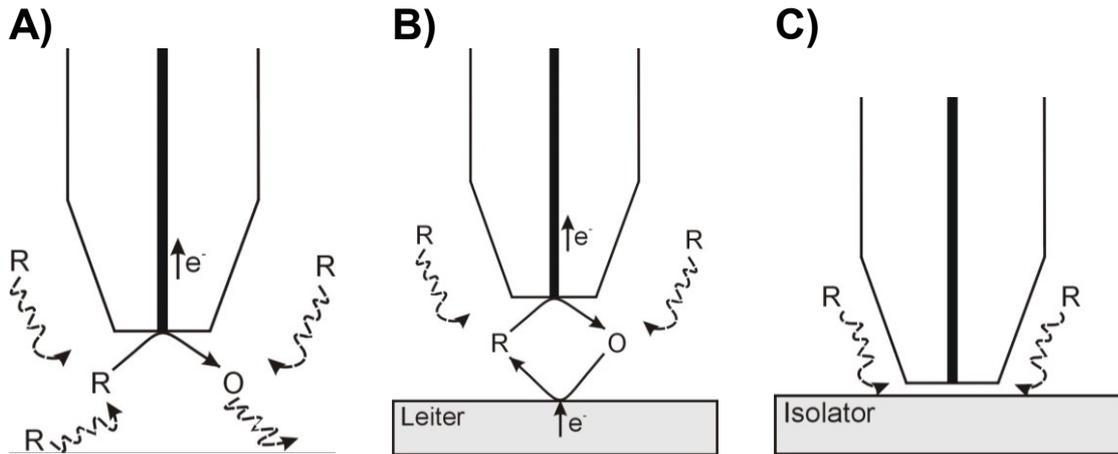


Abb. 9. Generelles Prinzip des Feedback-Modus. A) Die UME ist weit von der Oberfläche entfernt. B) Positiver Feedback: Spezies R wird auf Oberfläche regeneriert. C) Negativer Feedback: Diffusion von R wird durch die Probenoberfläche behindert.

Insgesamt bestimmen die Geschwindigkeit der Regeneration des Mediators und der Arbeitsabstand d die Größe von i_T . Umgekehrt liefert die i_T - d -Kurve (Annäherungskurve) Informationen über die Kinetik der Reaktion am Substrat. Bei Annäherungskurven wird der normierte Sondenstrom I_T ($I_T = i_T / i_{T,\infty}$) als Funktion des normierten Abstandes L ($L = d / r_T$) aufgetragen. Diese Kurven können auch durch numerische Simulationen erhalten werden (Abb. 10).

Durch die Lösung des Diffusionsproblems mit Hilfe von verschiedenen numerischen Methoden wurden bei konstantem r_T und gegebenen d der Wert von i_T für die beiden Grenzfälle (1. unbegrenzt ausgedehntes, inertes und isolierendes Substrat und 2. diffusionskontrollierte Mediatorregeneration) erhalten.^[86, 158, 162-164] Die Simulationen für verschiedene d lassen sich für die beiden Grenzfälle durch analytische Näherung beschreiben. Nähert sich eine UME mit $RG = 10.2$ einer inerten, isolierenden Probenoberfläche an, wird der resultierende Strom durch Gl. 5 beschrieben.^[164]

$$I_{T,\text{ins}}(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = \frac{1}{\left[k_1 + \frac{k_2}{L} + k_3 \exp\left(\frac{k_4}{L}\right) \right]} \quad (5)$$

k_1 , k_2 , k_3 und k_4 stehen für Konstanten, die abhängig von RG sind. Für einen RG von 10.2 gilt:

$$I_{T,ins}(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = \frac{1}{\left[0.40472 + \frac{1.60185}{L} + 0.58819 \exp\left(\frac{-2.37294}{L}\right) \right]} \quad (6)$$

(Fehler von 1 %, Gültigkeitsbereich L : 0.4-20)

Im Fall der diffusionskontrollierten Mediatorregeneration wird an einer UME mit $RG = 10.2$ der gemessene Sondenstrom, also das maximal mögliche Signal, bei einem gegebenen d durch Gl. 7 gut erfasst.^[164]

$$I_{T,cond}(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = k_1 + \frac{k_2}{L} + k_3 \exp\left(\frac{k_4}{L}\right) \quad (7)$$

Nach Einsetzen der Konstanten k_1 bis k_4 ergibt sich dann:

$$I_{T,cond}(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = 0.72627 + \frac{0.76651}{L} + 0.26015 \exp\left(\frac{-1.41332}{L}\right) \quad (8)$$

(Fehler von < 0.3 %, Gültigkeitsbereich L : 0.1-200)

Abbildung 10 zeigt für $RG = 10.2$ die simulierten Strom-Abstandskurven für die beiden Grenzfälle. Das Symbol \square steht hier für den ersten Fall des inerten und isolierenden Substrates, z. B. eine Glasoberfläche (negativer Feedback) und Δ für den zweiten Fall der diffusionskontrollierten Mediatorregeneration an der Substratoberfläche (z. B. Gold). Hierbei ist zu beachten, dass die resultierenden Kurven für ebene, unendlich ausgedehnte Proben einheitlicher Reaktivität abgeleitet wurden. Wenn für den Radius der untersuchten Substratregion

$$r_{S,E} \geq r_T + 1.5d \quad (9)$$

gilt, dann stimmen die experimentelle Daten gut mit den simulierten Messpunkten übereinander. Ist die untersuchte Region kleiner, liegt i_T zwischen den gezeigten Grenzfällen (Kurven \square und Δ) in Abb. 10.^[165-167] Dies ist auch der Fall, wenn die Regeneration des Mediators an einer Substratoberfläche mit einer endlichen Reaktionsgeschwindigkeit (*finite kinetic*) stattfindet. In Abbildung 9 ist eine Strom-Abstandskurve (\circ) an einer Substratoberfläche mit einer solchen endlichen Reaktionsgeschwindigkeit eingezeichnet ($RG = 10.2$, $r_T = 12.5 \mu\text{m}$). Nähert sich eine UME bis auf wenige L dieser Oberfläche an, ist die Mediatorregeneration schnell genug, um dem Diffusionstransport von R und O zu erfassen. Daher steigt I_T mit abnehmenden L zunächst an. Nimmt der Arbeitsabstand dagegen immer weiter ab, ist auch der Diffusionsweg von O und R innerhalb der dünnen Elektrolytschicht zwischen UME und Substrat immer kürzer. Die daraus resultierende beschleunigte Transportgeschwindigkeit

von O und R ist jedoch nicht auf die Regenerationsreaktion zur Substratoberfläche mit endlicher Kinetik angepasst, weshalb I_T bei weiterer Verringerung von L wieder abnimmt.

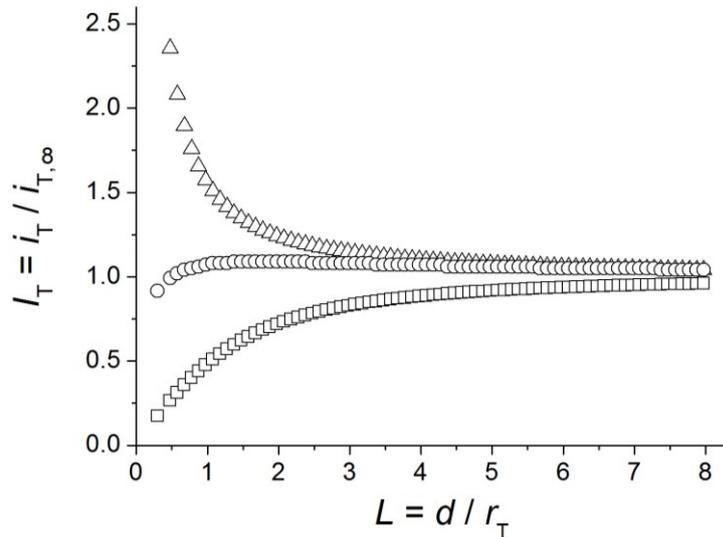


Abb. 10. Simulierte Strom-Abstandskurven mit einer UME ($RG = 10.2$) für den positiven (Δ) und den negativen Feedback (\square). Der Berechnung liegen Näherungsformeln zugrunde, die sich aus digitalen Simulationen ergeben.^[164, 167] Die dritte Strom-Abstandskurve (\circ) wurde an einer Substratoberfläche mit endlicher Reaktionsgeschwindigkeit eingezeichnet ($RG = 10.2$, $r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $\kappa = 0.5$).

3.3 Elektrochemische Rastermikroskopie als Werkzeug für Mikrostrukturierung

In der frühen Entwicklungsphase des SECM wurde erkannt, dass durch den Einsatz einer UME der Elektronentransfer in der Nähe leitender Oberflächen auf einen schmalen Bereich beschränkt werden kann.^[3, 168, 169] Aus dieser Beobachtung wuchs die Idee, die Messsonde des SECM auch für chemisch vielfältige und definierte Oberflächenmodifikationen einzusetzen. Das Spektrum von Reaktionen, die angewendet wurden, reicht von der Abscheidung und Ätzung von Metallen^[8, 9] sowie Halbmetallen^[13, 14] bis zur Mikrostrukturierung von Filmen aus Polymeren,^[17] Enzymen^[170] und Biomolekülen.^[171] Dabei kann das SECM sowohl zur Erzeugung als auch zur funktionalen Charakterisierung verwendet werden. So ist es nicht verwunderlich, dass eine signifikante Anzahl publizierter Arbeiten sich mit diesem Thema auseinandersetzen und zusätzlich viele spezielle Übersichtsartikel vorliegen.^[1-7]

Mögliche Techniken zur lokalen mikroelektrochemischen Oberflächenmodifikation sind in Abb. 11 schematisch dargestellt: Zum einen besteht die Möglichkeit, Auflösungsprozesse an einer Oberfläche durch lokale elektrochemische Erzeugung eines Ätzmittels auszulösen (Abb. 11A). Auf diese Weise wurden beispielsweise Kupfer-^[172] und Polymer-Oberflächen^[18] selektiv geätzt. Zum anderen kann man bei dieser Vorgehensweise im FB-Mode auch Reaktanten elektrochemisch erzeugen, welche eine chemische Abscheidung bzw. Umwandlung von dünnen Oberflächenfilmen einleiten (Abb. 11A). So gelang es der Gruppe um Mandler, Sol-Gel-Filme auf leitende sowie nicht leitende Oberflächen und Metalle lokal abzuscheiden.^[11, 173]

Eine weitere Herangehensweise besteht in der Störung eines eingestellten heterogenen Gleichgewichts (Abb. 11B). Dies kommt z. B. zur Erforschung der kinetischen Prozesse von Desorptions- und Auflösungsreaktionen zum Einsatz. Dabei wird das Gleichgewicht zwischen einem Ionenkristall und der umgebenen gesättigten Lösung durch elektrochemischen Verbrauch eines gelösten Gleichgewichtspartners so gestört, dass der Kristall sich auflöst.^[167, 174-176]

Bei der Nutzung der UME als mikroskopische Gegenelektrode (Direktmodus, *direkt mode*) beruht die Modifikation der Oberfläche nicht auf der Diffusionsschicht sondern auf dem lokal erzeugten elektrischen Feld (Abb. 11C). Durch die Ausnutzung dieser Technik gelang es Mandler et al.,^[177] erstmals Graphen-Mikrostrukturen auf

leitenden Oberflächen durch lokale elektrochemischer Reduktion von Graphen-Oxid herzustellen. Der Direktmodus eignet sich auch, um lokal Biopolymere wie Chitosan als Matrix für Enzymimmobilisierung abzuscheiden.^[178]

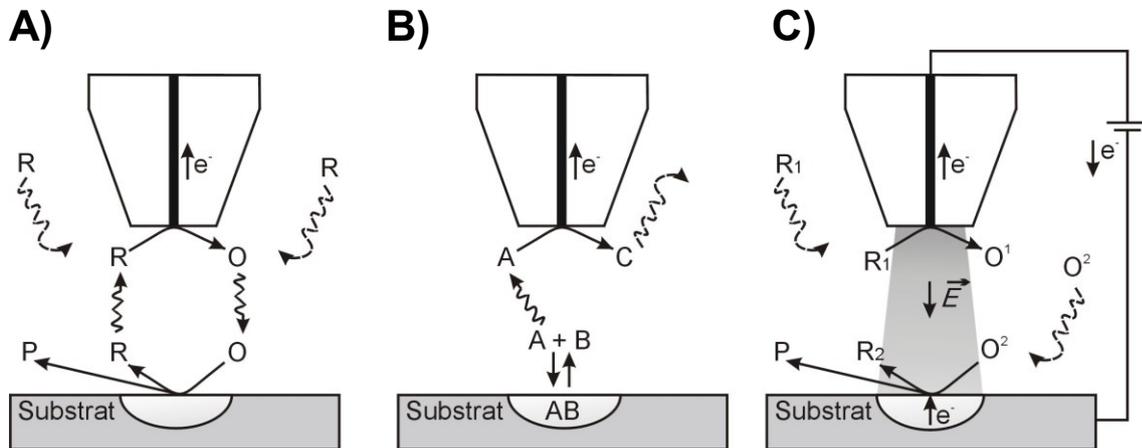


Abb. 11. Mögliche Techniken zur lokalen mikroelektrochemischen Oberflächenmodifikation. A) Lokale Erzeugung eines Ätzmittels oder eines Reaktanten zur chemischen Abscheidung, B) lokale Störung eines eingestellten heterogenen Gleichgewichts, C) Nutzung der UME als mikroskopische Gegenelektrode.

In dieser Arbeit steht vor allem die lokale Modifikation von Au-OEG-Substraten durch mikroelektrochemische Erzeugung von Br_2 im Vordergrund. Als erstes nutzten Mandler et al.^[13, 179] die mikroelektrochemische Oxidation von Br^- , um mit dem lokal erzeugten Br_2 Silizium und GaAs-Oberflächen gezielt zu ätzen.



In alkalischen und neutralen Lösungen folgt die Disproportionierung des Br_2 .^[180] (Die elektrochemischen Modifikationen in dieser Arbeit fanden überwiegend in sauren 0.5 M H_2SO_4 -Lösungen statt.)



Durch Veränderung des Arbeitsabstandes d , der Pulsdauer t oder des mikroelektrochemischen Sondenstroms i_T wurde die Größe des modifizierten Bereichs r_s gesteuert.^[8, 181] Dies wurde z. B. für die Polymer-Abscheidung^[17] oder Deaktivierung von immobilisierten Enzymen^[180] genutzt. Kaji et al.^[26, 182, 183] verwendeten die mikroelektrochemische Erzeugung von Br_2/HOBr für die Denaturierung des zellabweisenden Proteins Albumin. Hierfür wurde eine Schicht Albumin durch

physikalische Adsorption auf ein Glassubstrat gebunden. Danach erfolgte die elektrochemische Erzeugung von Br_2/HOBr mit Hilfe einer UME, wodurch das Protein im Einflussbereich des Ätzmittels denaturierte und so seine zellabweisenden Eigenschaften verlor. Nach der Zelladhäsion an den modifizierten Regionen konnte eine erneute Modifizierung vorgenommen werden, um eine zweite Zellkultur^[26] anzusiedeln oder Zellmigration^[182] zu induzieren. Neben Br_2/HOBr kamen auch stark reaktive Systeme wie $\text{Ag(I)}/\text{Ag(II)}$ und $\text{NO}_3^\bullet/\text{NO}_3^-$ oder kurzlebige Hydroxyl-Radikale zum Einsatz, um organische Filme zu oxidieren.^[2, 184-186]

Auch Zhao et al.^[21-23] nutzten die mikroelektrochemische Oxidation von Br^- , um eine Oligo(ethylenglykol)-terminierte SAM (OEG-SAM) für die Zelladhäsion zu aktivieren. In Abbildung 12 ist diese Technik schematisch erläutert. Das reaktive Br_2/HOBr diffundiert von der UME durch das Lösungsvolumen zur Au-OEG-SAM-Oberfläche und verursacht dort eine chemisch gut definierte Transformation des organischen Filmes. Eine anschließende Charakterisierung durch FB-Mode-Messungen ergaben eine höhere Permeabilität der SAM für Redoxmediatoren wie $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$. Sie wurden an der unterliegenden Au-Substratoberfläche regeneriert. Lichtmikroskopische Bilder dieser Regionen nach einem Tag in Zellkultur zeigten die selektive Adhäsion von Zellen (Abb. 12A). Abbildungsteil 12B) stellt eine SECM-FB-Mode-Aufnahme eines durch elektrochemisch erzeugtes Br_2/HOBr (verschiedene d und t) veränderten Au-OEG-Substrates dar. Durch die gesteigerte Durchlässigkeit der modifizierten Regionen war der Sondenstrom gegenüber der nicht modifizierten Fläche deutlich erhöht. Auf den modifizierten Stellen siedelten nach 24 h Kultur Zellen wie z. B. OLN-93-Zellen^[187] an und füllten diese Bereiche vollständig aus (Abb. 12C).^[2, 188] Es wurde angenommen, dass während der elektrochemischen Transformation der Schicht der OEG-terminierte Rest mit dem Br_2/HOBr in Stufen abreagiert (Abb. 12D). Diese Annahme wurde durch Messung an großflächig modifizierten, deuterierten OEG-SAM-Substraten mit Hilfe der PM-IRRAS gestützt.^[22, 147] Mit Hilfe des SECM war es darüber hinaus möglich, *in vivo* Post-Modifikationen von Zellsubstraten wie Ansiedlung von zwei Co-Zellkulturen^[21, 22] und die Untersuchung von Zellmigration^[188] zu realisieren.

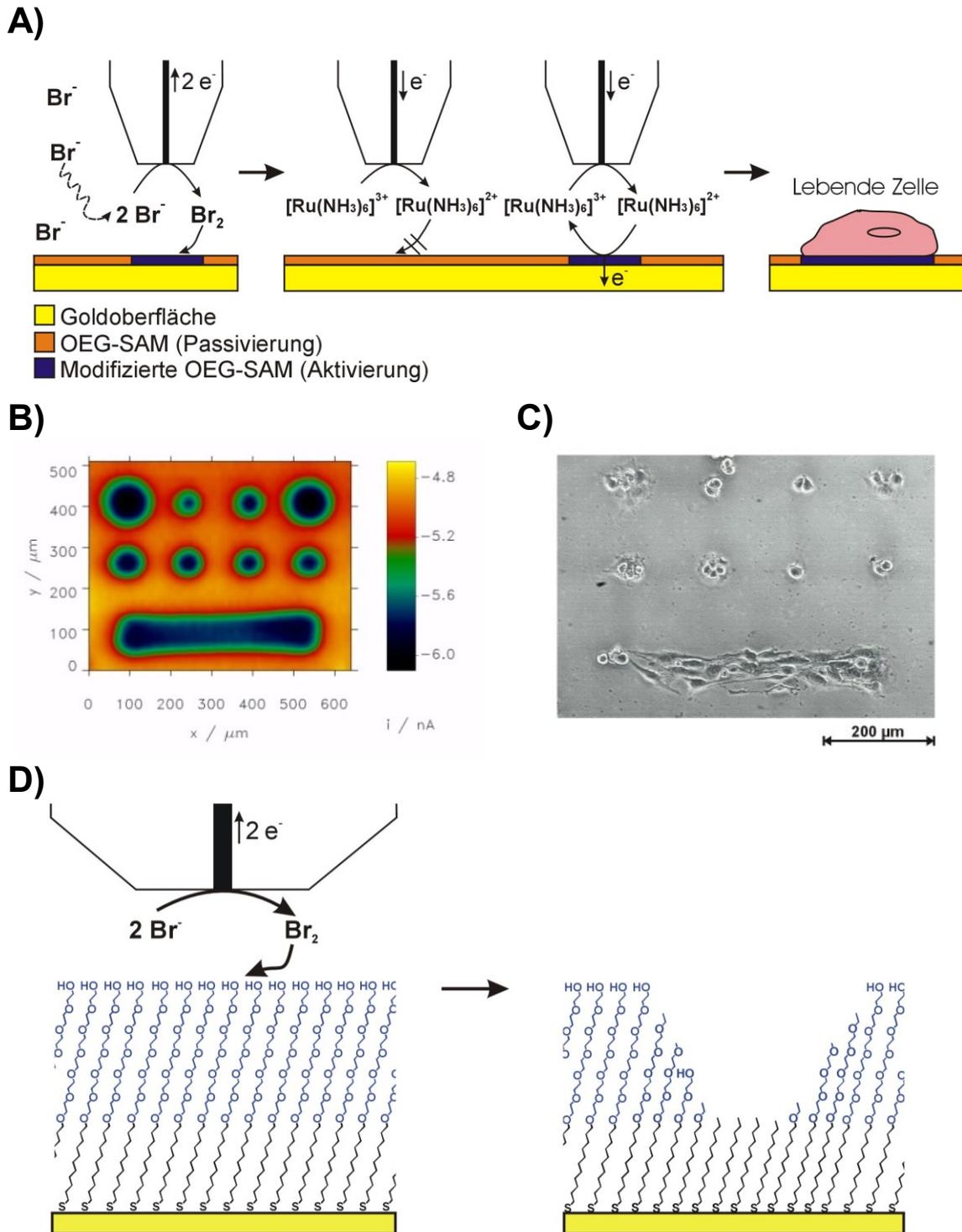


Abb. 12. Schematische Darstellung der lokalen Oberflächenmodifikation von Au-OEG durch die mikroelektrochemische Erzeugung von Br_2 . A) Schema der mikroelektrochemischen Modifikation, Charakterisierung im FB-Mode und Zelladhäsion B) SECM-FB-Mode-Aufnahme der mikroelektrochemisch strukturierten OEG SAM auf Au-Substrat, C) Lichtmikroskopische Aufnahme (von B)) nach 24 h Zelladhäsion von OLN-93-Zellen^[A3], D) Schema des Modifikationsvorgangs auf molekularer Ebene.

Durch die Variation der Pulslänge t und des Arbeitsabstandes d kann die Größe der modifizierten Region eingestellt werden. Dies zeigt Abb. 13, die eine SECM-FB-Mode Aufnahme nach lokaler Transformation von Au-OEG-SAM durch mikroelektrochemisch erzeugtes Br_2/HOBr darstellt. Der Radius der UME betrug $r_T = 12.5 \mu\text{m}$. Zur Modifizierung wurden folgende Parameter verwendet: $t/s = (5, 10, 20, 30)$ und $d/\mu\text{m} = (5, 10, 15)$ (s. a. Parameter: Abb. 13B). Es ist klar erkennbar, dass geringe Mengen von Br_2/HOBr (z. B. durch 5 s Puls) ausreichen, um dauerhafte Defekte in der OEG-Monoschicht zu erzeugen. Bei gleichbleibenden t wächst der Radius der modifizierten Fläche r_S mit steigendem d (Abb. 13A, 1. - 3. Reihe von unten, senkrecht nach oben und Abb. 13A 4. Reihe von unten, von links nach rechts). Wird d konstant gehalten, steigt r_S mit der Länge von t (Abb. 13A, 1. - 3. Reihe von unten, horizontal von links nach rechts).

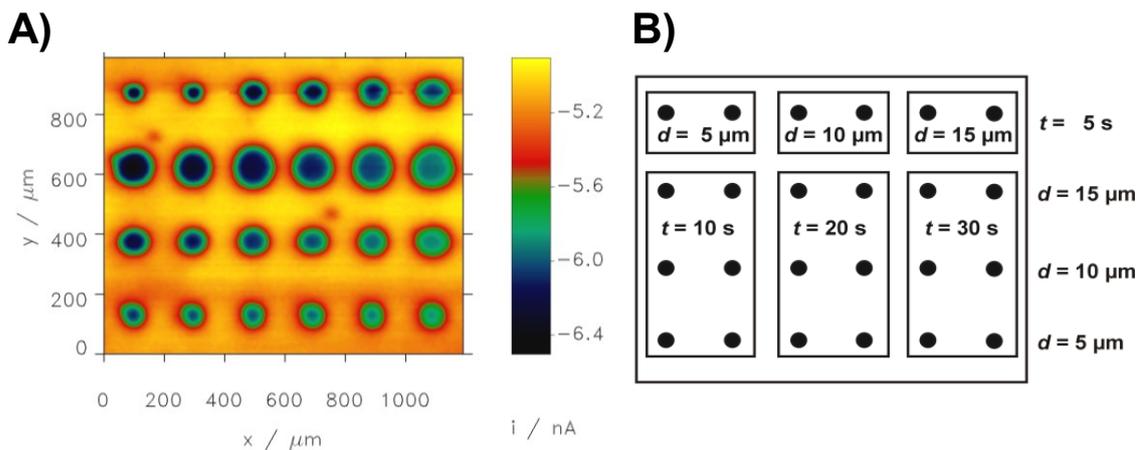


Abb. 13. Abhängigkeit der Strukturbreite von den Modifikationsbedingungen. A) SECM-FB-Mode-Aufnahme einer mikroelektrochemisch strukturierten Au-OEG-OH-SAM auf Au-Substrat, B) Modifikations-Parameter von d und t .^[A3]

Ein Ziel dieser Arbeit war es, die Mikrostrukturen dieser SECM-FB-Mode-Modifizierung zu verkleinern. Dies ist z. B. für die Zellbesiedelung von einzelnen kleinen Zellen wie Bakterien [$r/\mu\text{m} (2 - 10)$] sehr interessant. Da aber schon beim kleinsten Puls und beim niedrigsten Abstand eine Fläche mit $r_S > 25 \mu\text{m}$ verändert wird, musste eine Möglichkeit gefunden werden, die elektrochemische Reaktionszone von Br_2/HOBr signifikant zu verkleinern.

3.4 Kopplung heterogener und homogener Reaktionen zur Verbesserung der elektrochemischen Mikrostrukturierung

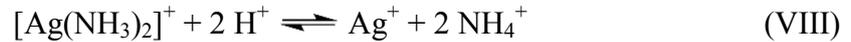
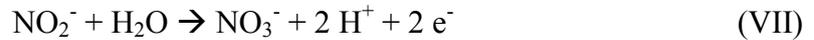
Wie im vorherigen Kapitel beschrieben, soll in dieser Arbeit die laterale Auflösung der Oberflächenmodifikation von OEG-SAM durch das SECM verbessert werden. Dabei ist zu bedenken, dass diese sowohl bei der Modifizierung (wie auch bei der anschließenden Charakterisierung) durch die Ausdehnung von Diffusionsschichten begrenzt wird. Folglich existieren grundsätzlich zwei Wege, die Auflösung zu verbessern, d.h. die Verkleinerung der mikroelektrochemisch entstehenden Muster zu erreichen.^[39]

1. Miniaturisierung der Messsonden
2. Einsatz eines Fängermoleküls (auch Opferagenz, engl. *scavenger*), um die ungerichtete Diffusion der mikroelektrochemisch erzeugten Spezies einzugrenzen („chemische Linse“,^[33] CELT^[34])

Bei Verwendung der ersten Methode werden UMEs mit kleinerem aktivem Elektrodenradius hergestellt. Es kommen UMEs mit r_T in der Größenordnung von nm zum Einsatz, deren Herstellung aufwendiger als die größerer UMEs sind.^[189] Durch die kleinere Fläche ist die elektrochemisch erzeugte Reaktionsschicht deutlich kleiner als bei größeren UMEs (r_T : 5 – 50 μm). Gleichzeitig gestaltet sich aber die Positionierung einer solchen miniaturisierten UME schwieriger, da diese auf Grund der kleineren Diffusionsschicht näher an die Substratoberfläche gebracht werden muss, um einen Effekt bei der Modifikation zu erzielen. Dies könnte mit Hilfe einer feineren Positionierung unter Ausnutzung von Scherkräften (*shear force*) erfolgen.^[189] Unabhängig von der Größe der UME können auch Reste des an der UME erzeugten Ätzmittels nach dem Modifikationsprozess in der Lösung verbleiben und so weitere Flächen unbeabsichtigt verändern.^[39]

Alternativ zur Miniaturisierung lassen sich Fängermoleküle einsetzen, die selber nicht an der Substratoberfläche oder an der UME reagieren, aber in eine schnelle homogene Reaktion mit den mikroelektrochemisch erzeugten Reagenzien eintreten. Hierdurch wird eine Einschnürung der Reaktionszone in der Nähe der UME erreicht, welche die Expansion des Reaktanten begrenzt und den Übergang zwischen modifizierter und unmodifizierter Oberfläche verkleinert.^[17, 24, 190] Dieser fokussierende Effekt der Diffusionsschicht wurde als erstes von Heinze et al.^[39] als „chemische Linse“ bezeichnet. In Abbildung 14 ist schematisch die Verwendung der „chemischen Linse“

für die lokale elektrochemische Abscheidung von Ag im SECM-FB-Mode skizziert. Durch die mikroelektrochemische Oxidation von NO_2^- wird in der Nähe der UME ein pH-Gradient erzeugt, in dem der Komplex $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ zu Ag^+ reagiert. Letztere Reaktion steht in einem Gleichgewicht.



Ag^+ diffundiert durch das Lösungsvolumen und wird dann an einer Au-Oberfläche reduziert und als Silber abgeschieden.

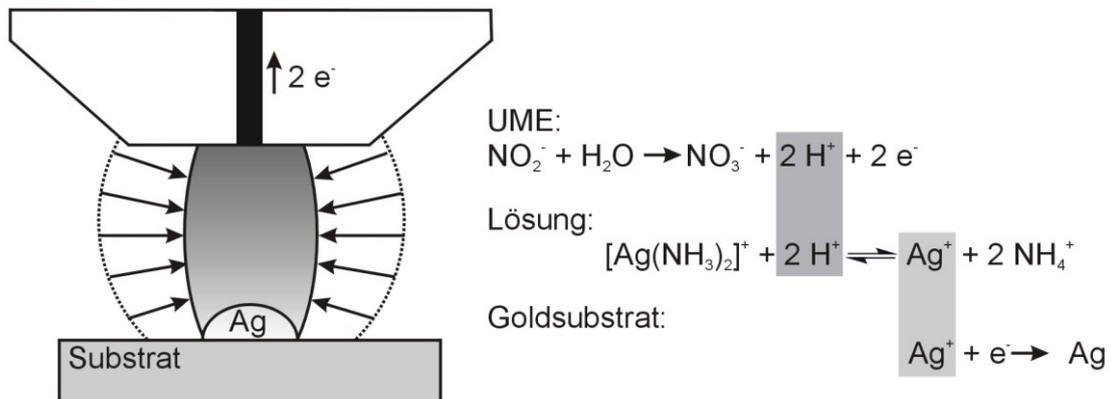


Abb. 14. Verwendung der „chemischen Linse“ für die lokale elektrochemische Abscheidung von Ag im SECM-FB-Mode (schematische Darstellung nach Borgwarth et al.^[39]).

Die maximale Konzentration von H^+ und Ag^+ ist in der unmittelbaren Nähe der Elektrode zu erwarten. In größerer Entfernung der UME wird die Ag^+ -Konzentration durch die Abnahme des pH-Wertes und Anwesenheit von NH_3 , welches im Überschuss in der Messlösung vorliegt, durch die Komplexbildung zu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ verringert. Demzufolge nehmen die Lebensdauer und damit die Konzentration von Ag^+ durch die schnelle homogene Reaktion mit zunehmender Entfernung von der UME stark ab, wodurch schmalere, scharf abgegrenzte Ag-Strukturen entstehen. In diesem Fall wird NH_3 als Fängermolekül bezeichnet.^[33, 38, 39] Da die homogene Fängermolekül-Reaktion schnell genug ist, ist die Reaktionszone, in der sich die entgegengesetzt diffundierenden Spezies H^+ und NH_3 treffen, räumlich auf eine sehr dünne Schicht begrenzt. Die Position der Grenze der Reaktionszone, entsteht genau dort, wo der von der UME

ausgehende Diffusionsfluss J von H^+ betragsmäßig gleich dem des NH_3 aus der Volumenphase zur UME ist:^[39]

$$J(H^+) = -2J([Ag(NH_3)_2]^+) \quad (10)$$

Innerhalb dieser Zone liegt überwiegend H^+ vor und die Konzentration des Fängermoleküls ist klein. Außerhalb ist dieses Verhältnis umgekehrt. Mit zunehmendem Abstand zur UME nimmt die Konzentration des Fängermoleküls zu, während die von H^+ sich verringert. Hierdurch bildet sich eine scharfe Grenzschicht aus, mit deren Hilfe es möglich ist, scharfe Ag-Linien auf Au-Substraten abzuscheiden.^[39] Für die Verwendung einer „chemischen Linse“ mit einer besonders scharfen Grenzschicht müssen folgende Parameter berücksichtigt werden: d , r_T , Konzentrations-Verhältnis von Mediator und Fängermolekül und die Kinetik der homogenen Reaktion. Letzter Parameter spielt für die Erzeugung scharfer Abgrenzungen eine besonders wichtige Rolle. Denn nur schnelle homogene Fängermolekül-Reaktionen können verhindern, dass sich die Diffusionsschichten der elektrochemisch erzeugten Spezies und des Fängermoleküls überlappen.^[39]

Durch die Verwendung von Säure-Base-Reaktionen (eine der schnellsten bekannten chemischen Reaktion) wurde das Spektrum der einsetzbaren „chemischen Linsen“ um das lokale Ätzen von Metallen^[24] und Halbmetallen^[35, 36] sowie Polymer-^[7, 37] und Metallabscheidung^[17, 33, 38-40] erweitert. Ein Beispiel zur Verbesserung der Auflösung in der Oberflächencharakterisierung durch das SECM und damit der Abbildungsqualität ist ebenfalls bekannt. So verwendeten Wittstock et al.^[191] das Enzym Catalase, um durch katalytische Disproportionierung die Lebensdauer von H_2O_2 , welches vom untersuchten Substrat durch immobilisierte Glucosidase gebildet wurde, zu begrenzen.

Für das starke Ätzmittel Br_2 entwickelten Tian et al.^[34] die so genannte *confined etchant layer technique* (CELT). Im Unterschied zur „chemischen Linse“ können bei CELT die Fängermoleküle auch an der Elektrode verbraucht werden, wodurch die fokussierende Wirkung limitiert ist. In den ersten Versuchen verwendeten Tian et al.^[34, 41, 43] H_3AsO_3 , um die Reaktionsschicht zum Ätzen von Halbleitern (Si, GaAs)^[34, 43] sowie Metallen (Cu, Ni)^[41] einzuschnüren. Wegen der Toxizität dieses Fängermoleküls wurde es in späteren Arbeiten jedoch durch L-Cystin ersetzt.^[192, 193] Dabei werden 5 Br_2 pro Formeleinsatz verbraucht:^[194]

Fängermolekül-Reaktion:



Die Diffusionsschichtdicke μ_D der beschränkten Reaktionszone kann mit Hilfe der homogenen Reaktionsgeschwindigkeitskonstante pseudo-erster Ordnung bestimmt werden (Gl. 11).^[34] Hierbei steht k' für die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante pseudo-erster Ordnung und D_{Br_2} für den Diffusionskoeffizienten von Br_2 .

$$\mu_D = \sqrt{\frac{D_{\text{Br}_2}}{k'}} \quad (11)$$

Tabelle 3 zeigt eine Zusammenfassung der bekanntesten Systeme für die Oberflächenmodifizierung mit Hilfe der CELT und der „chemischen Linse“.

Tab. 3. Bekannte Systeme von CELT und „chemischer Linse“

Reaktion an der UME/ Werkzeugelektroden	Substrat Ätzen/Abscheiden	Fängermolekül	Ref.
$\text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$	Ag	NH_3	[17, 33, 38, 39]
$\text{NO}_3^- + 2 \text{ H}^+ + 2 \text{ e}^-$	Ni	KOH	[24]
	Cu	$\text{Na}_2\text{CH}_2(\text{COO})_2$	[40]
	Polythiophene	NaHCO_3	[37]
	ZnO/ITO	Tris(hydroxymethyl)- aminomethan	[35]
	Ti6Al4V	NaOH	[36]
$\text{ClO}_3^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$	Ti6Al4V	NaOH	[36]
$\text{ClO}_4^- + 2 \text{ H}^+ + \text{ e}^-$			
$2 \text{ Br}^- \rightarrow \text{Br}_2 + \text{ e}^-$	GaAs, Si,	H_3AsO_3	[34, 43]
	Cu, Ni	H_3AsO_3	[41]
	GaAs, Si	L-Cystin	[192, 193]
$\text{ArNO}_2 + 4 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ e}^- \rightarrow$	Amino-Aryle	$\text{NaNO}_2 + \text{HCl}$	[190]
$\text{ArNH}_2 + 6 \text{ OH}^-$			

In vorangegangenen Arbeiten war die Verbesserung der Mikrostrukturierung von SAMs von sekundärem Interesse. So setzten Ufheil et al.^[24] die „chemische Linse“ nur für die Abscheidung von Ni auf Au-Oberflächen ein, auf denen im Anschluss SAMs selektiv adsorbierten. In dieser Arbeit soll L-Cystin und das noch für diesen Zweck unbekanntes Cystamin als Fängermolekül eingesetzt werden, um die Oberflächenmodifikation von OEG-SAMs zu verbessern.

4 Experimentelles

4.1 Allgemeine Materialien, Chemikalien und Geräte

Alle Chemikalien wiesen die Reinheitsstufe „zur Analyse“ auf und wurden ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Alle in dieser Arbeit verwendeten Lösungen, mit Ausnahme der ethanolischen OEG-SAM-Lösungen, wurden mit deionisiertem Wasser aus der hauseigenen Reinstwasseranlage ELGA PureLab Classic UV (Celle, Germany) angesetzt. Allgemein verwendete Chemikalien und Materialien sind in Tab. 4 aufgelistet. Die pH-Werte von Pufferlösungen und Messlösungen wurden mit Hilfe eines pH-Meters (605 pH-Meter, Metrohm AG Herisau, Schweiz) überprüft und gegebenenfalls durch Zugabe einer 1 M Natronlauge bzw. 1 M Schwefelsäure korrigiert.

Tab. 4. Allgemein verwendete Chemikalien und Materialien

Chemikalie/ Material (Reinheit)	Chemische Formel	Hersteller
Natriumacetat (99 %)	$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$	Fluka, Deutschland
Ethanol ($\geq 99.8\%$)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	VWR International, Fontenay-sous-Bois, Frankreich
Isopropanol ($\geq 99.8\%$)	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Natriumhydroxid (99 %)	NaOH	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Natriumdihydrogenphosphat (99 %)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	Fluka, Deutschland
Dinatriumhydrogenphosphat (99 %)	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	Fluka, Deutschland
Platin (Draht) ($\geq 99\%$)	Pt	Goodfellow GmbH, Bad Nauheim
Schwefelsäure ($\geq 96\%$)	H_2SO_4	Merck, Darmstadt
Silber (Draht) ($\geq 99\%$)	Ag	Goodfellow GmbH, Bad Nauheim

4.2 Detektion von lokalen Reaktionszonen in der Umgebung von UMEs durch CLSM

Die Tabellen 5 und 6 beinhalten alle Chemikalien, Materialien und Geräte, welche für die Detektion von lokalen Reaktionszonen unter UMEs durch CLSM notwendig sind.

Tab. 5. Verwendete Chemikalien und Materialien zur Untersuchung von lokalen Konzentrationszonen in der Umgebung von UMEs

Chemikalie/ Material (Reinheit)	Chemische Formel	Hersteller
1,4-Benzochinon (> 99.0 %)	C ₆ H ₄ O ₂	Fluka, Deutschland
1,4-Hydrochinon (> 99.0 %)	C ₆ H ₆ O ₂	Fluka, Deutschland
Kaliumchlorid (≥ 99.5 %)	KCl	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Kaliumnitrat (≥ 99.0 %)	KNO ₃	Merck, Darmstadt
Deckgläser 24 × 42 mm (Dicke: 0.13 – 0.16 mm)	-	Menzel-Gläser GmbH & Co. KG, Braunschweig

Tab. 6. Verwendete Geräte und Software zur Detektion von lokalen Konzentrationszonen in der Umgebung von UMEs

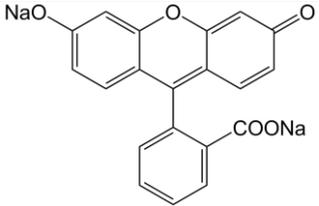
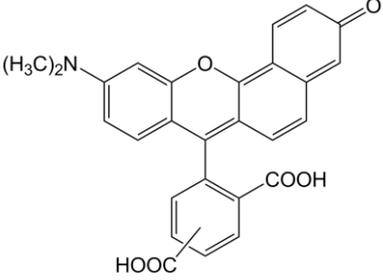
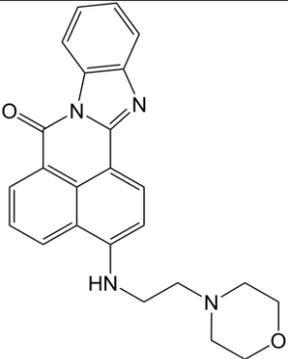
Gerät/ Software	Hersteller
CLSM Leica TCS SP2 AOBS (Leica Confocal Software 2.62)	Leica Microsystems GmbH, Heidelberg
IDL 6.0	ITT VIS (ehemals RSI Resarch System Inc.)

Die CLSM-Messungen zur Kartierung von lokalen Reaktionszonen fanden grundsätzlich in einer elektrochemischen Messzelle nach Abb. 5 statt. Eine für den Mikroskop-Aufbau angepasste elektrochemische Messzelle wurde für den inversen CLSM-Aufbau konstruiert, in dem eine angepasste Deckglasscheibe als Boden diente. Die verwendete Arbeitselektrode war eine Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$). Als Quasireferenzelektrode (QRE) diente ein Ag-Draht und als Gegenelektrode ein aufgewickelter Pt-Draht.

4.2.1 Untersuchung von lokalen pH-Reaktionszonen in der Nähe von UMEs

Tabelle 7 listet die verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe auf, die zur Detektion von lokalen pH-Werten am CLSM zum Einsatz kamen. Darüber hinaus sind Arbeitskonzentrationen, der verwendete pH-Bereich (für die Kalibrierung und die Detektion) und die verwendeten Wellenlängen für die Anregung (durch Ar-Laser) und Fluoreszenzemissionen des jeweiligen Farbstoffes angegeben. Für den Indikator 5/6-Carboxy SNARF[®]-1 wurden zwei Detektionsbereiche festgelegt.

Tab. 7. Verwendete Indikatoren für Fluoreszenzdetektion von lokalen pH-Werten

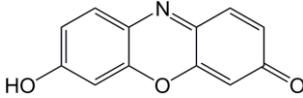
Farbstoff (nutzbarer pH-Bereich)	Hersteller	pK _s	c / μM	λ _{ex} / nm	λ _{em} / nm
 Fluorescein-dinatrium (4.5-8.5)	Sigma- Aldrich Chemie GmbH, Deutschland	6.4	10	488	500-535
 5/6-Carboxy SNARF [®] -1 (5.5-9.0)	Invitrogen- Molecular Probes™, Eugene, Oregon, USA	7.5	10	488/514	1. 560- 600 2. 620- 660
 LysoSensor™ Green DND 189 (3.0-6.0)	Invitrogen- Molecular Probes™, Eugene, Oregon, USA	5.2	4	458/476	510-550

Zwei Systeme kamen für die lokale mikroelektrochemische Änderung des pH-Wertes zum Einsatz: Die Reduktion von Wasser sowie die Reduktion von 1,4-Benzochinon bzw. die Oxidation von 1,4-Hydrochinon. Ersteres wurde in einer 0.1 M KNO₃-Lösung, letzteres in einer 1 – 10 mM 1,4-Benzochinon/ 1,4-Hydrochinon-Lösung mit 0.1 M KCl als Leitelektrolyt durchgeführt. Als „chemische Linse“ diente ein kombiniertes Puffersystem aus gleich konzentriertem Phosphat- und Acetatpuffer (jeweils 1 – 10 mM). So kann ein möglichst großer pH-Bereich abgedeckt werden, denn der Essigsäure-Acetatpuffer puffert im pH-Bereich 3.7 - 5.7 und der Phosphatpuffer im pH-Bereich 6.2 - 8.0.

4.2.2 Untersuchung von lokalen Br₂/HOBr-Reaktionszonen in der Nähe von UMEs

In Tabelle 8 sind die verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe mit Arbeitskonzentration, Anregungs- und Emissionswellenlängen aufgelistet, die zur Bestimmung von lokalen Br₂-Konzentrationen am CLSM verwendet wurden. Dabei lag pH 8 in der Messlösung vor.

Tab. 8. Verwendeter Fluoreszenzindikator für die lokale Br₂-Detektion

Farbstoff	Hersteller	<i>c</i> / μM	λ_{ex} / nm	λ_{em} / nm
 Resorufin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deutschland	10	514	570-620

Zur Messung von Br₂-Konzentrationen kam eine Lösung von 5, 10 oder 25 mM KBr-Lösung mit einer 0.5 M K₂SO₄-Lösung als Leitelektrolyt zum Einsatz. Für Experimente mit einer *confined etchant layer* (CEL) wurde L-Cystin in einer Konzentration von 0 bis 5 mM der Messlösung (5 mM KBr in 0.5 M K₂SO₄) zugefügt.

4.3 Herstellung von Au-OEG-SAM-Substraten

Die Tabellen 9 und 10 beinhalten alle Chemikalien, Materialien und Geräte, welche für die Anfertigung von Au-OEG-SAM-Substraten notwendig sind.

Tab. 9. Verwendete Chemikalien und Materialien zur Herstellung von Au-OEG-SAM-Substraten

Chemikalie/ Material (Reinheit)	Chemische Formel	Hersteller
Chrom (99.7%)	Cr	Goodfellow Cambridge Limited, Huntingdon, Großbritannien
Gold (> 99.99%)	Au	Hereaus Precious Metals, Hanau
(1-Mercaptoundec-11-yl)-hexa(ethylenglykol)	$\text{HS}(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)\text{OH}$	Präparat AG Christoffers, Oldenburg ^[195]
(1-Mercaptoundec-11-yl)-hexa(ethylenglykol)-methylether	$\text{HS}(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)\text{OMe}$	Präparat AG Christoffers, Oldenburg ^[195]
Glasobjekträger	-	Menzel-Gläser GmbH & Co. KG, Braunschweig

Tab. 10. Verwendete Geräte zur Herstellung von Au-OEG-SAM-Substraten

Gerät	Hersteller
Tectra MiniCoater mit den Einzelkomponenten: Elektronenstrahlverdampfer, Quarz-mikrowaage Thickness Monitor, Widerstandsheizung	Tectra GmbH Physikalische Instrumente, Frankfurt/M.
Ultraschallbad	Bandelin Electronic, Berlin

Die Glasobjektträger wurden mit einem Glasschneider in $1.3 - 2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ große Stücke zertrennt, mit Reinstwasser und Isopropanol im Ultraschallbad gereinigt und anschließend im Argonstrom getrocknet. Danach wurden sie in einem Tectra MiniCoater mit $0.5 - 1 \text{ nm}$ Chrom und $80 - 100 \text{ nm}$ Gold beschichtet. Zwischen dem Aufdampfen des Chroms und des Goldes durfte das Vakuum nicht unterbrochen werden. Die Kontrolle der jeweiligen Schichtdicken erfolgte durch die Quarzmikrowaage Thickness Monitor. Beim Bedampfen von Chrom wurde ein Elektronenstrahlverdampfer verwendet. Während des Prozesses wurden folgende Parameter eingestellt:

Heizstrom:	ca. 8 mA
Beschleunigungsspannung:	1.5 kV
Emissionsstrom:	60 mA
Abstand Quelle-Objektträger:	19.7 cm
Beschichtungsgeschwindigkeit	ca. 0.1 nm s^{-1}

Vor dem Gebrauch wurden etwa 150 mg Gold mit Isopropanol im Ultraschallbad gereinigt. Für die Aufdampfung von Gold wurde eine Widerstandsheizung mit folgenden Parametern verwendet.

Spannung:	ca. 8 mA
Schiffchenstrom (Leistung):	1.5 kV
Abstand Quelle-Objektträger:	18.2 cm
Beschichtungsgeschwindigkeit	ca. 0.5 nm s^{-1}

Die frisch bedampften Objektträger wurden sofort nach der Entnahme in eine ethanolische 3 mmol^{-1} OEG-Thiol-Lösung gelegt. Zur Ausbildung einer homogenen selbstorganisierten Monoschicht wurden die Objektträger etwa 24 h in der Lösung belassen, danach mit Ethanol gewaschen, im Argonstrom getrocknet und innerhalb von 24 h weiterverwendet. Die Au-OEG-SAM-Substrate waren in der ethanolischen Lösung für etwa eine Woche stabil.

4.4 Modifizierung und Charakterisierung von Au-OEG-SAM

Die Tabellen 11 und 12 beinhalten alle Chemikalien, Materialien und Geräte, welche für die Modifizierung sowie Charakterisierung von Au-OEG-SAM-Substraten notwendig sind.

Tab. 11. Verwendete Chemikalien und Materialien zur Modifizierung und Charakterisierung von Au-OEG-SAM-Substraten

Chemikalie/ Material (Reinheit)	Chemische Formel	Hersteller
Cystamin-dihydrochlorid($\geq 98\%$)	$C_4H_{12}N_2S_2 \times 2 HCl$	Fluka, Deutschland
L-Cystin ($\geq 98.5\%$)	$C_6H_{12}N_2O_4S_2$	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Hexaaminruthenium(III)-chlorid (98 %)	$[Ru(NH_3)_6]Cl_3$	Aldrich, Deutschland
Kaliumbromid ($\geq 99.5\%$)	KBr	Fluka, Deutschland
Kaliumhexacyanoferrat(II) (98 %)	$K_4[Fe(CN)_6]$	Fluka, Deutschland

Tab. 12. Verwendete Geräte und Software zur Modifizierung und Charakterisierung von Au-OEG-SAM-Substraten

Gerät/ Software	Hersteller
Positioniersysteme:	
- Märzhäuser	- Märzhäuser Wetzlar GmbH & Co. KG, Wetzlar
- OWIS	- OWIS GmbH, Staufen
- PI-HERA	- PI GmbH, Karlsruhe
(Bi-/Mono) Potentiostaten	
- CHI 7001B	- CH Instruments, Austin, Texas, USA
- Ivium Compactstat	- Ivium Technologies, Eindhoven, Niederlande
- Schramm μ -BiP2 und μ MP3	- IPCE2-HHU, Düsseldorf

Gerät/ Software	Hersteller
AD/DA-Karte: PCI-DAS 1602/16	Plug-In Electronic GmbH, Eichenau
Kipptisch Motorized Mirror Mount (2 Achsen)	Zaber Technologies Inc., Vancouver, Kanada
Rotierende Scheiben-Elektrode mit Rotator	Jaissle Elektronik GmbH, Wailblingen
SECMx	Haussoftware
MIRA	Haussoftware

Die nach Kap. 4.2 hergestellten Proben wurden zur Modifizierung und anschließender Charakterisierung in eine hauseigene SECM-Apparatur (s. a. Abb. 8) gebracht. Alle Experimente wurden mit einer (nach der Anleitung von Kranz et al.^[196]) angefertigten Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) ausgeführt. Zur Vervollständigung der elektrochemischen Messzelle wurde ein aufgerollter Pt-Draht als Gegenelektrode und ein Ag-Draht als QRE verwendet.

Zur Verbesserung der lateralen Auflösung der lokalen mikroelektrochemischen Oberflächenstrukturierungen wurden unterschiedlich konzentrierte KBr-Messlösungen (5 mM, 10 mM, 25 mM) mit verschiedenen Konzentrationsverhältnissen [Fängermolekül]:[Br⁻] zwischen 0:1 und 10:1 mit L-Cystin und Cystamin als Fängermoleküle in 0.5 M H₂SO₄ eingesetzt. Die lokale Strukturierung entstand durch einen Puls (t : 1 - 30 s, d : 5 – 20 μm) bei $E_T = 1.2 \text{ V}$, bei dem Br⁻ zu Br₂ oxidiert wird. Die anschließende elektrochemische Charakterisierung der Au-OEG-SAM-Modifizierungen erfolgte in einer 1 mM [Ru(NH₃)₆]³⁺-Lösung in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7). Die laterale Geschwindigkeit der UME lag hierbei zwischen 10 und 30 $\mu\text{m s}^{-1}$, der Arbeitsabstand betrug 15 μm und an der Elektrode lag eine Spannung von $E_T = -0.4 \text{ V}$ an. Sowohl die Potentiostaten als auch die Positioniersysteme wurden mit der Software SECMx gesteuert. Zur Auswertung der Daten kam die hauseigene Software MIRA zum Einsatz.

4.4.1 Charakterisierung von elektrochemisch modifizierten Au-OEG-SAMs mit dem Pulsed Force-Modus des Rasterkraftmikroskops

Die Charakterisierungen der modifizierten Au-OEG-SAMs durch den Pulsed Force Modus (PFM) des Rasterkraftmikroskops (SFM) wurden in enger Zusammenarbeit mit Frank Meiners (AG Wittstock, Oldenburg) durchgeführt. Für die Messungen wurde ein Nanoscope IIIA-Controller, ein Dimension 3100 Probenstisch und ein Dimension „G“ SPM Scannkopf (Veevo Instruments Inc., Santa Barbara, USA) im PFM (WITec, Ulm, Deutschland)^[197, 198] verwendet. Vor der Messung wurde eine goldbeschichtete SFM-Spitze (Olympus OMCL-RC800PB, 0.82 N/m) in eine ethanolische Lösung aus 1 mM 11-Mercaptoundecansäure eingetaucht, um eine selbstorganisierte Monoschicht auf dem Cantilever auszubilden.^[23] Es wurden Aufnahmen mit 256×256 Pixel von $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ Ausschnitten erstellt. Dabei wurde eine Rastergeschwindigkeit zwischen 0.1 Hz und 0.5 Hz verwendet. Die Auswertung erfolgte durch die Nanoscope Software V5.30r3sr3 (Veeco Instruments Inc., Plainview, New York, USA).

4.4.2 Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten zwischen Fängermolekül und Brom durch Cyclovoltammetrie und mit Hilfe rotierender Scheibenelektroden

Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten pseudo-erster und zweiter Ordnung wurden die im oberen Abschnitt verwendeten Lösungen mit unterschiedlichen [Fängermolekül]:[Br⁻]-Konzentrationsverhältnissen in Messzellen für die Cyclovoltammetrie (CV) bzw. rotierende Scheibenelektrode (RDE) gegeben.

Die CV-Messungen erfolgten wie in den SECM-Experimenten mit einem Pt-Draht als Gegenelektrode und einen Ag-Draht als Quasireferenzelektrode. Es kamen vier UMEs zum Einsatz, die einen r_T zwischen 5 und 25 μm besaßen ($RG = 10$). Die Oxidation von Br⁻ erfolgte in einem Potentialbereich von 0.6 bis 1.3 V bei einer Empfindlichkeit von $1 \mu\text{A V}^{-1}$. Das Potential änderte sich in 1 mV-Schritten bei einer Vorschubgeschwindigkeit von 0.01 V s^{-1} .

In den RDE-Messungen wurden eine Pt-Gegenelektrode und eine Hg|Hg₂SO₄|K₂SO₄(sat.)-Referenzelektrode verwendet. Für die Oxidation von Br⁻-Ionen kam eine Pt-Scheibenelektrode mit einem Durchmesser von 8 mm zum Einsatz. Der

Potentialbereich erstreckte sich von 0.1 V bis 0.8 V. Die Empfindlichkeit betrug 10 mA V^{-1} und die Vorschubgeschwindigkeit 0.01 V s^{-1} (bei Potentialschritten von 1 mV).

5 Untersuchung von Reaktionszonen in der Nähe von Ultramikroelektroden durch die Konfokalmikroskopie

Die Untersuchung von lokalen Reaktionszonen unter Ultramikroelektroden mit Hilfe der Konfokalmikroskopie ist der Schwerpunkt dieses Kapitels. Diese Methodik wurde zuerst von Cannan et al.^[47] vorgeschlagen. Seither berichteten weltweit lediglich drei Arbeitsgruppen vom Einsatz dieses Herangehens.^[48, 49, 112] Hierbei ist es mittels geeigneter Fluoreszenzindikatoren möglich, Konzentrationsprofile in der Nähe von UMEs aufzuzeichnen und zu quantifizieren. Die Verwendung des CLSM stellt hierbei einen besonderen Vorteil gegenüber konventionellen optischen Mikroskopen dar. Durch den Einsatz zweier konfokal angeordneter Lochblenden (*pinhole*) gelangt Licht aus Raumbereichen ober- sowie unterhalb der Fokusebene nicht auf den Detektor. Folglich erlaubt das CLSM direkte, nichtinvasive sowie serielle optische Untersuchung von Reaktionsräumen unter UMEs (s. a. Kap. 2.3).

Das Hauptaugenmerk beim Einsatz der CLSM an Ultramikroelektroden lag bisher in der Bestimmung von Protonen-Konzentrationsprofilen. Hierfür wurde ein pH-empfindlicher Indikator wie z.B. Fluorescein-dinatrium oder SNARF-1-dextran in wässriger Lösung verwendet.^[47-49, 113] Bei lokaler Erhöhung des pH-Wertes durch eine mikroelektrochemische Reaktion, wie die Reduktion von 1,4-Benzochinon bzw. die Oxidation 1,4-Hydrochinon, wurden als Folge das Protonierungsgleichgewicht des Farbstoffes und damit die Fluoreszenzintensität lokal erhöht bzw. erniedrigt. Die Erfassung dieser Intensitätsunterschiede erfolgte dann mit Hilfe der CLSM. Unter Verwendung bekannter Reaktionen (Reduktion von 1,4-Benzochinon, Oxidation von 1,4-Hydrochinon und Reduktion von Wasser) zur elektrochemischen pH-Verschiebung findet auch in diesem Kapitel zunächst die Untersuchung von Protonen-Konzentrationsprofile statt. Darüber hinaus werden den Messlösungen Puffer in variablen Konzentrationen hinzugefügt, um die Diffusionsschicht der erzeugten Protonen bzw. Hydroxid-Ionen einzuschränken. Diese Fokussierung der Reaktionszone wird nach Heinze et al.^[33] „chemische Linse“ genannt. In dieser Arbeit finden die Untersuchung der Ausdehnung und die pH-Differenz systematischer als in der Literatur bekannt und über einen breiteren pH-Bereich statt. Um eine Erweiterung des messbaren pH-Bereichs zu erreichen, erfolgt bei der Beobachtung der mikroelektrochemischen Reduktion von Wasser erstmals die Verwendung von zwei Fluoreszenzfarbstoffen.

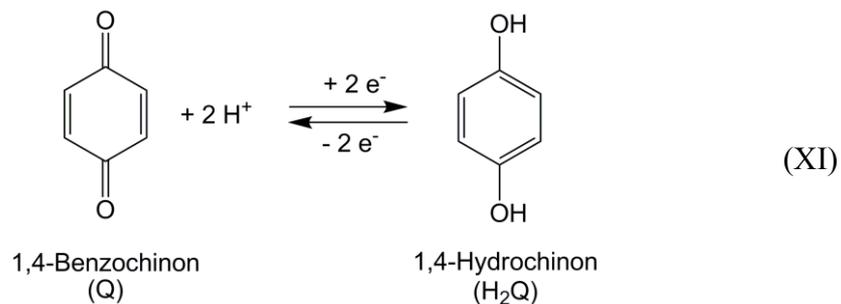
Nach Einsatz literaturbekannter elektrochemischer Systeme für die lokale pH-Veränderungen wird in diesem Kapitel anschließend ein neuer Versuch beschrieben, mikroelektrochemisch erzeugte Br_2/HOBr -Konzentrationsprofile zu kartieren. Zunächst soll hierbei eine qualitative Untersuchung der Ausdehnung der Diffusionsschicht von Br_2/HOBr erfolgen. Durch Zugabe des Opferagens L-Cystin wird die Diffusion des Ätzmittels Br_2/HOBr beschränkt. Tian et al.^[34] nannten diesen Effekt *confined etchant layer* und setzten diesen zum großflächigen Mikrostrukturieren von Halbleitern und Metallen ein (s. a. Kap. 3.4).

5.1 Untersuchung von mikroelektrochemisch erzeugten pH-Profilen

Lokale pH-Änderungen spielen besonders für Korrosionsvorgänge, Metallabscheidung, Enzymreaktionen oder Stoffwechselprozesse von Mikroorganismen eine entscheidende Rolle. Die Verteilung und Anpassung des lokalen pH-Wertes ist aus diesem Grund von wissenschaftlicher und technischer Bedeutung.

Im Laufe der Methodenentwicklung kamen zwei literaturbekannte Lösungssysteme für die mikroelektrochemische Verschiebung des pH-Wertes zum Einsatz:

1. Elektrochemische Reduktion von 1,4-Benzochinon (Q) bzw. Oxidation von 1,4-Hydrochinon (H_2Q):



2. Elektrochemische Reduktion von Wasser:



Zur Untersuchung der „chemischen Linse“ wurden pH-Verschiebungskurven und Ausdehnungskurven erstellt, die eine Abhängigkeit von der Pufferkonzentration aufweisen. Des Weiteren sollten im System erstmalig unterschiedliche Mediatorkonzentrationen verwendet werden. Im zweiten Fall wurde das Verhalten bei unterschiedlichen Potentialen beobachtet.

5.1.1 Bestimmung des lokalen pH-Wertes aus CLSM-Daten

Die Bestimmung des lokalen pH-Wertes in der Messlösung wurde durch die Erfassung der Lichtintensität eines fluoreszierenden pH-Indikators wie Fluorescein-dinatrium (in folgenden mit F abgekürzt) realisiert. Die detektierten Lichtintensitäten vom CLSM wurden in korrespondierende pH-Werte umgerechnet. Hierdurch können nach der Messung pH-Profile aus CLSM-Daten rekonstruiert werden. pH-Indikatoren verhalten sich in wässrigen Lösungen wie schwache Säuren oder Basen. Hierbei gilt für die pH-abhängige Dissoziation des Farbstoffs:



wobei FH die protonierte Form und F⁻ die deprotonierte Form des Farbstoffes darstellt. Gemäß der Henderson-Hasselbalch-Gleichung ergibt sich der pH-Wert der Lösung aus:

$$\text{pH} = \text{pK}_s + \log \frac{c(\text{F}^-)}{c(\text{FH})} \quad (12)$$

Durch Umformungen dieser Formel unter Berücksichtigung der Massenerhaltung

$$c_0 = c(\text{FH}) + c(\text{F}^-) \quad (13)$$

erhält man die Konzentration der deprotonierten Form

$$c(\text{F}^-) = \frac{c_0}{10^{(\text{pK}_s - \text{pH})} + 1} \quad (14)$$

Beide Protonierungsformen (F⁻/HF) des Farbstoffs können zur Intensität beitragen. Unter Berücksichtigung des chemischen Gleichgewichts lässt sich folgender Zusammenhang erwarten:

$$I_F = I_{F,0} + ac(\text{F}^-) + bc(\text{FH}) \quad (15)$$

wobei $I_{F,0}$ den Wert für die geringste Intensität darstellt. Die Konstanten a und b ($a \gg b$) sind von Lösung, Laserintensität, Temperatur sowie Farbstoff abhängig. Sie werden mit einer Kalibrierung bestimmt.

Mit Einbeziehung von Gl. 14 lässt sich dieser Term wie folgt umstellen:

$$I_F = I_{F,0} + a \frac{c_0}{10^{(\text{pK}_s - \text{pH})} + 1} + bc_0 \left(1 - \frac{1}{10^{(\text{pK}_s - \text{pH})} + 1} \right) \quad (16)$$

$$I_F = I_{F,0} + bc_0 + (a - b) \frac{c_0}{10^{(\text{pK}_s - \text{pH})} + 1} \quad (17)$$

Abb. 15 zeigt die berechnete Abhängigkeit der Intensität des fluoreszierenden Farbstoffs vom pH-Wert einer Messlösung nach Gl. 17.

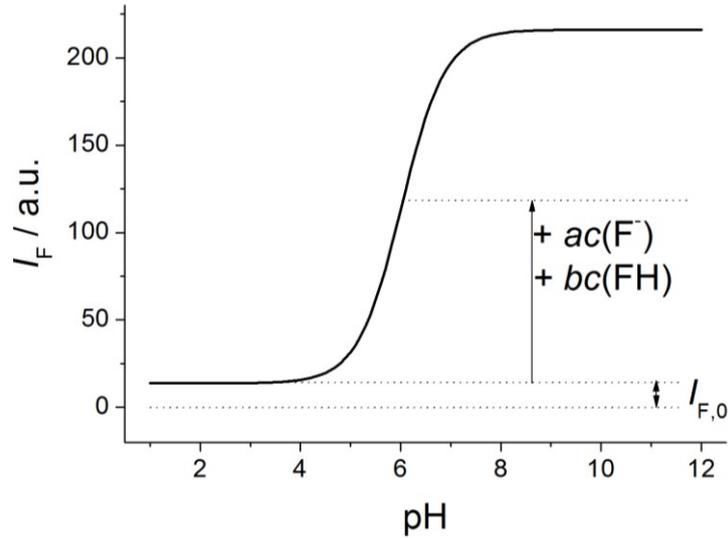


Abb. 15. Kurvenverlauf einer pH-Intensität eines Fluoreszenzfarbstoffs (hier: Fluorescein-dinatrium). ($pK_s = 6.4$, $a = 2.09 \times 10^8 \text{ mM}^{-1}$, $b = 6.69 \times 10^6 \text{ mM}^{-1}$, $I_{F,0} = 7.04$, $c_0 = 1 \text{ mM}$)

Für die Berechnung des pH-Wertes aus der Intensität der Fluoreszenz bedeutet dies:

$$\frac{1}{(10^{pK_s - pH} + 1)} = \frac{I_F - I_{F,0} - bc_0}{(a - b)c_0} \quad (18)$$

$$pK_s - pH = \log \left(\frac{(a - b)c_0}{I_F - I_{F,0} - bc_0} - 1 \right) \quad (19)$$

$$pH = pK_s - \log \frac{(a - b)c_0 - I_F + I_{F,0} + bc_0}{I_F - I_{F,0} - bc_0} \quad (20)$$

$$pH = pK_s + \log \frac{I_F - I_{F,0} - bc_0}{I_{F,0} - I_F - ac_0} \quad (21)$$

Für die Auswertung der experimentellen Daten kam vornehmlich die Gl. 17 und 21 zum Einsatz. Hierdurch war es möglich, detektierten Lichtintensitäten pH-Werte zuzuordnen und umgekehrt. Während der CLSM-Experimente erfolgte die Vermessung der pH-Wert-abhängigen Fluoreszenzintensität. Die Datenpunkte erfuhren hierbei eine Mittelung. Für ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis wurde ein „Line Average“ von 16

gewählt. Dies bedeutet, dass jede Linie in CLSM-Bild 16mal abgerastert und dann ein Mittelwert aus den Messwerten gebildet wurde. In Abbildung 16 sind CLSM-Aufnahmen einer 10 μM Fluorescein-dinatrium-Lösung (pH 6.9) an der Nähe einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) abgebildet. Hierbei zeigt Abb. 16A das Messergebnis mit „Line Average“ 1 und Abb. 16B „Line Average“ 16.

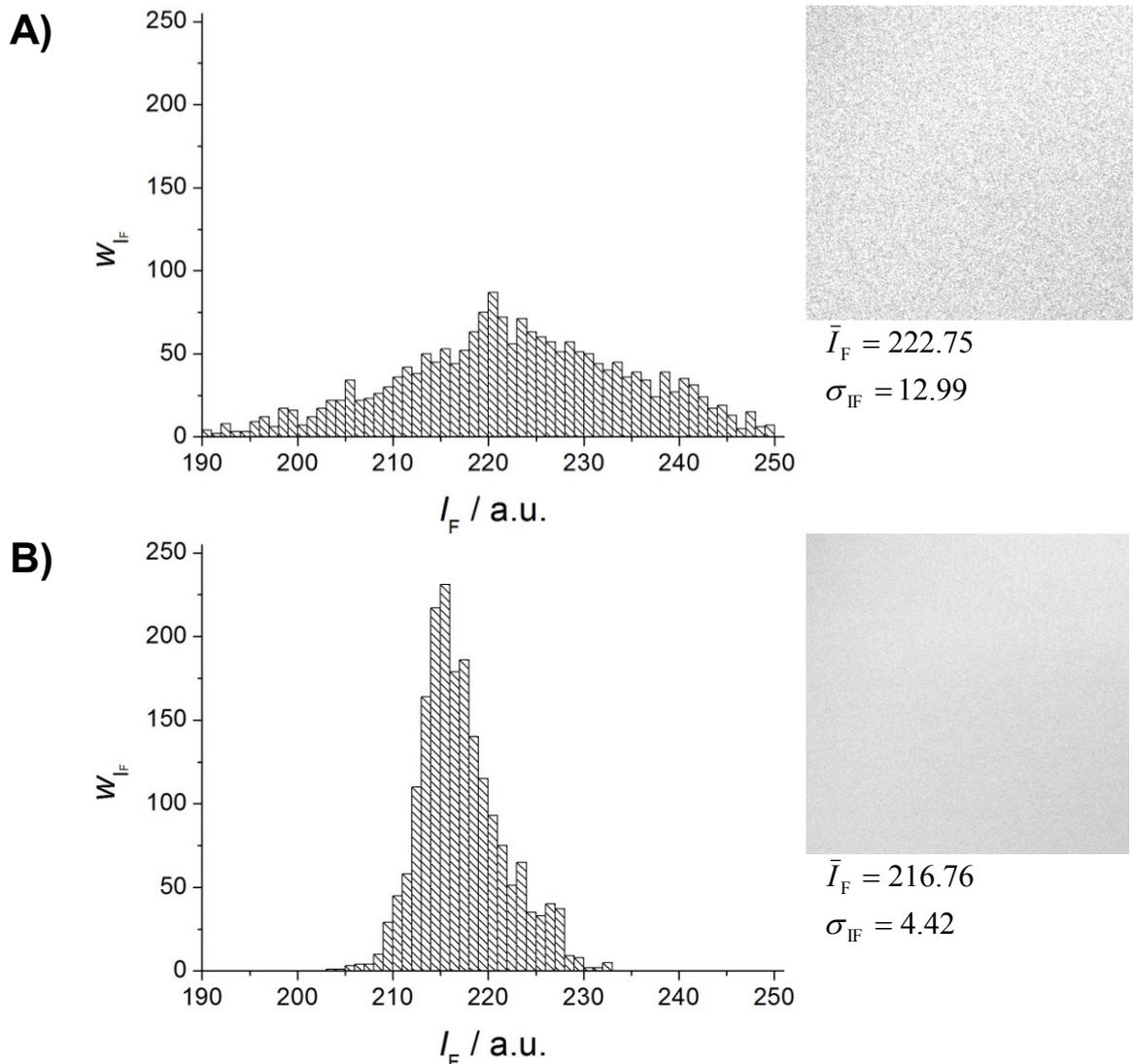


Abb. 16. Histogramme zum Vergleich der Intensitäts-Messwerte einer 10 μM Fluorescein-dinatrium-Lösung (pH 6.9) bei Verwendung von unterschiedlichen Average-Routinen des CLSM (200 Hz, Gesamtbild: 512×512 Pixel, (Ausschnitt: $150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$). A) „Line Average“ 1. B) „Line Average“ 16.

Der linke Teil der Abb. 16 zeigt die Histogramme der Lichtintensitäten I_F (Häufigkeit der jeweiligen Lichtintensität w_{I_F}). Darüber hinaus werden die Mittelwerte

der Lichtintensitäten \bar{I}_F und Standardabweichungen σ_{IF} gegenübergestellt. Es zeigt sich, dass durch die höhere Anzahl der Scans mit anschließender Mittelung im „Line Average“ 16 die statistische Verteilung der experimentellen Messwerte schmäler als mit nur einem Scan ist. Dadurch ergibt sich ein mittleres Intensitätsergebnis mit einer deutlich geringeren Standardabweichung. Aus diesem Grund werden alle folgenden CLSM-Messungen mit 16 Linien-Messwiederholungen durchgeführt, um das Signal-Rausch-Verhältnis der Messergebnisse zu verbessern.

Die Kalibrierung der pH-Werte geschieht in einem Bereich von $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ des Indikatorlösung-Volumens an der Fest-Flüssig-Grenzfläche bei verschiedenen pH-Werten (Abb. 17A). Abbildung 17B zeigt die resultierende Kalibrierkurve, wobei die schwarzen Quadrate die erhaltenen gemittelten Messwerte repräsentieren. Unterhalb eines pH-Wertes von 4.5 und oberhalb von 8 findet keine signifikante Änderung der Intensität der Fluoreszenz statt. Die wesentlichen Verschiebungen in der Lichtintensität sind zwischen 4.5 und 8 zu finden. Dies ist in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Fiedler et al.^[81] und Cannan et al.^[47, 81] Ebenso entspricht der ermittelte pK_s -Wert von Fluorescein-dinatrium mit 6.4 dem Literaturwert.^[99]

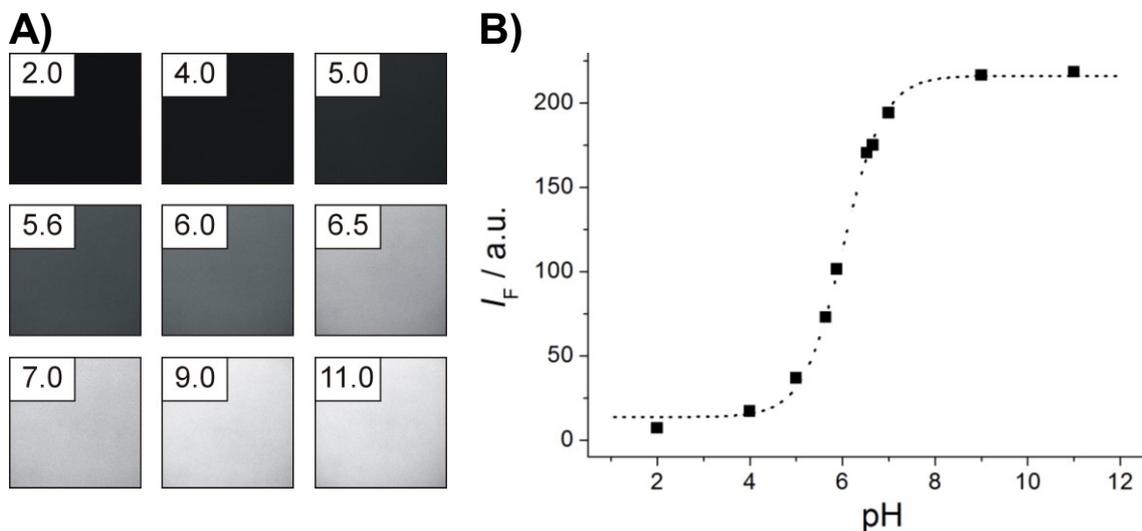


Abb. 17. Kalibrierung des Fluoreszenzindikators Fluorescein-dinatrium mit Hilfe von 9 pH-Standardlösungen und dem CLSM (20 μM Fluorescein-dinatrium, 0.1 M KNO_3). A) CLSM-Fluoreszenz-Bilder. B) Ausgewertete Kalibrierkurve (Punkte sind gemessene Intensitäten, gemittelt über den Bildausschnitt von $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$, gestrichelte Linie zeigt den erwarteten Verlauf nach Gl. 17).

Die detektierten Intensitäten vom CLSM konnten so durch Tabellenkalkulationsprogramme oder eine selbst programmierte Routine in IDL*¹ in korrespondierende pH-Werte umgerechnet werden. Abb. 18 zeigt das Schema eines Programmablaufs.

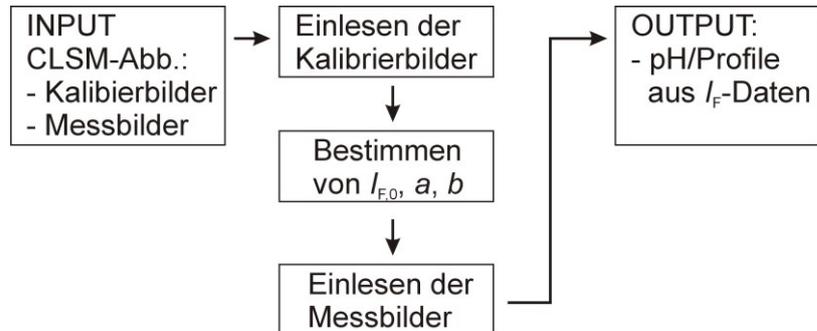


Abb. 18. Schematische Darstellung des Programmverlaufs für die Berechnung von CLSM-Intensitätsbildern in pH-Bilder.

Mit den durch die Kalibrierung ermittelten Parametern $I_{F,0}$, a und b ist es nun möglich, die detektierte Lichtintensitäten nach Gl. 21 in korrespondierende pH-Werte umzurechnen und daraus pH-Kartierungen zu erstellen. Abbildung 19 zeigt dafür zwei ausgewählte Beispiele. Hierbei handelt es sich um eine 0.1 M KNO_3 -Lösung mit 10 μM Fluorescein-dinatrium-Lösung. In der Mitte der Abbildungen befindet sich die scheibenförmige Pt-UME. Es ist ein Potential $E_T = -1.1$ V (vs. Ag-QRE) geschaltet, sodass Wasserreduktion stattfindet und der pH-Wert in alkalischer Richtung verschoben wurde, weswegen die Lichtintensität des pH-Fluoreszenzfarbstoffes zunahm (Abb. 19A). Aus der Fluoreszenzintensität kann dann in einen korrespondierenden pH-Wert umgerechnet werden. Abb. 19B zeigt das Resultat einer solchen Umrechnung. In der unmittelbaren Nähe zur UME ist der pH korrespondierend zur Fluoreszenzintensität des Farbstoffes maximal (pH 8). In der unmittelbaren Umgebung sinkt der pH wieder ab, bis dieser sich an den Rändern dem ursprünglichen pH in der Messlösung, pH_{bulk} 5 angleicht.

*¹ IDL (*Interactive Data Language*): Software von ITT VIS (ehemals RSI Research System Inc.) zur Analyse und Visualisierung von Daten.

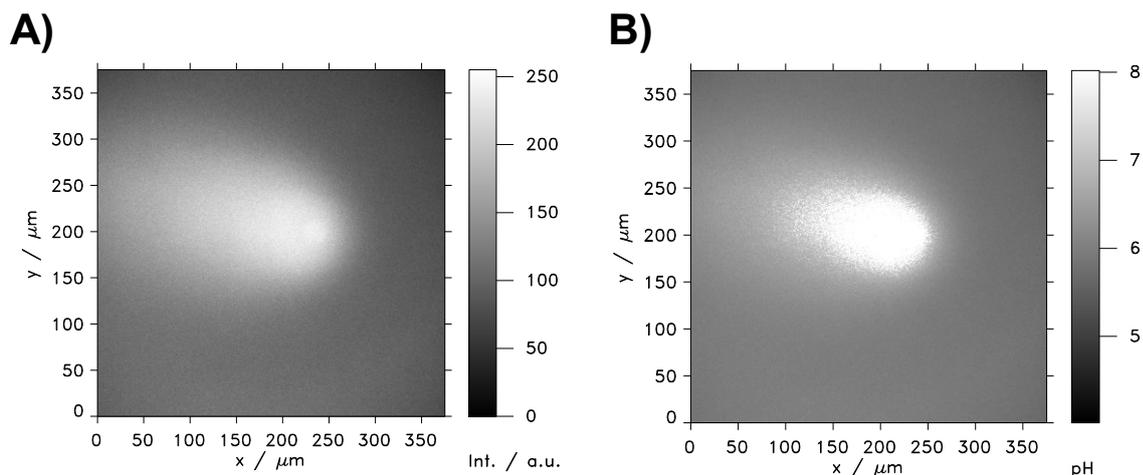


Abb. 19. Umwandlung von Intensitätsbildern durch Programmroutine in IDL. UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$, $E_T = -1.1 \text{ V}$ vs. Ag-QRE) in einer 0.1 M KNO_3 -Lösung mit $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium. A) Lichtintensitätsbild aus CLSM-Daten. B) pH-Bild aus CLSM-Daten berechnet.

Abbildung 19 zeigt auch den Einfluss der Konvektion, der bei allen CLSM-Bild-Aufnahmen zu berücksichtigen ist. In der bisherigen Literatur wurde dieser wichtige Faktor kaum erwähnt oder als vernachlässigbar bezeichnet.^[49] Doch unleugbar führt das lokale temporäre Aufheizen des Lösungsvolumens durch den Laser zu einem Wärmestrom, der den ideal kreisförmigen temporären Reaktionsraum in einen ellipsenförmigen verzerrt. Mit einer schiefen oder gekippten Messspitze kann dieser Effekt noch verstärkt werden.^[199]

Durch die Zugabe von Glycerin wird die Viskosität der Messlösung heraufgesetzt. Dadurch sollte der Effekt der Konvektion gemindert werden. Abbildung 20 zeigt die CLSM-Aufnahmen in einer 0.1 M KNO_3 -Lösung mit $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium. Dieser Lösung wurde Glycerin in der Menge zugefügt, so dass die Gesamtkonzentration 1 M betrug. Beim Anlegen eines reduzierenden Potentials wird der pH-Wert aufgrund der Wasserreduktion in alkalischer Richtung verschoben. Hierdurch nimmt die Fluoreszenzintensität in der Nähe der UME zu. Die CLSM-Aufnahmen in Abb. 20A ($E_T = -1.0 \text{ V}$) und Abb. 20B ($E_T = -1.1 \text{ V}$) wurden bei unterschiedlich Potentialen aufgezeichnet. Man erkennt, dass bei einem größeren reduzierenden Potential die deutlich hellere Reaktionszone weiter ausgedehnt ist.^[47] Durch den Einsatz von Glycerin wurde die Diffusionsschicht aufgrund der höheren Viskosität eingeschränkt. Der fluoreszierende Bereich war nun annähernd kreisförmig

um die UME angeordnet (stationärer Zustand). In Abbildung 20C (1. bis 3. Aufnahme) wurde der Gleichgewichtszustand gestört, indem durch eine Pasteur-Pipette eine erzwungene Konvektion ausgelöst wurde. Doch selbst nach erzwungener Konvektion stellt sich der stationäre Zustand nach kurzer Zeit (etwa 10 s) wieder ein. Die Zugabe von Glycerin wäre eine sehr gute Maßnahme annähernd konvektionsfrei auch bei geringfügig schiefer UME zu messen. Jedoch könnte die Zugabe von Glycerin auch beim Einsatz kleinerer Konzentrationen die späteren Untersuchungen von eingeschränkten Reaktionszonen („chemische Linse“, CEL), aufgrund eingeschränkter Diffusion der Reaktanden in der Messlösung, verfälschen. Aus diesem Grund wurde von der weiteren Verwendung von Glycerin abgesehen.

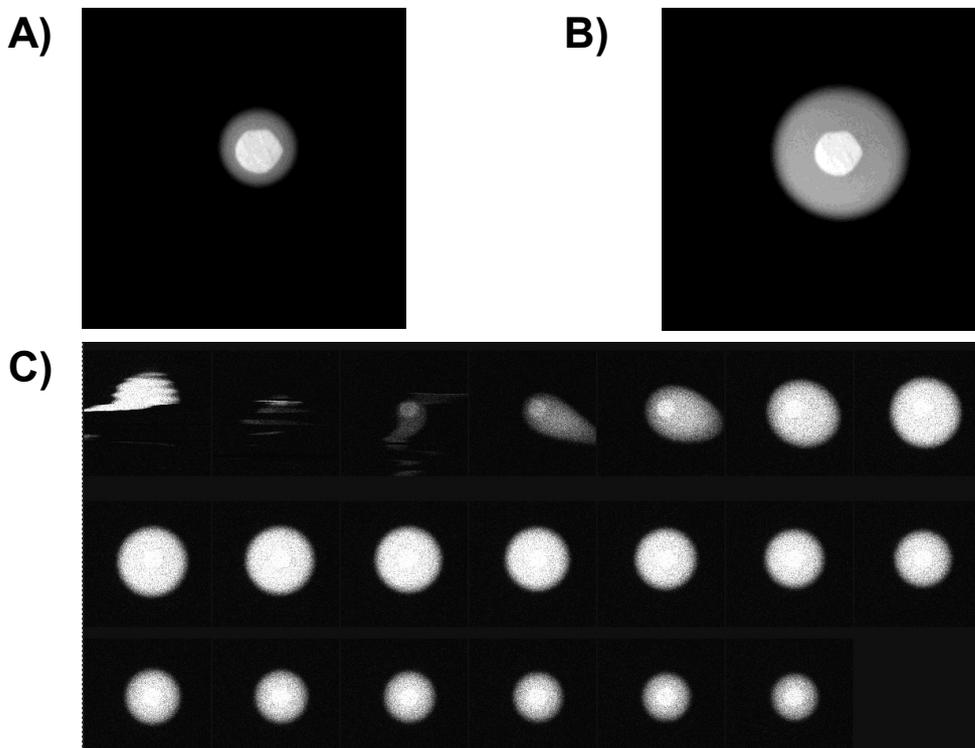


Abb. 20. Einsatz von Glycerin gegen Konvektion in der Nähe einer Pt-UME mit $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ (Messlösung: 0.1 M KNO_3 , 10 μM Fluorescein-dinatrium-Lösung, 1 M Glycerin). A) $E_T = -1$ V, B) $E_T = -1.1$ V, C) Serie: $t(\text{pro Bild}) = 2$ s, bis 3. Bild gestört mit Pasteur-Pipette) $E_T = -1.1$ V. E_T vs. Ag-QRE, Pt-Gegenelektrode.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die richtige Wahl der Rastergeschwindigkeit. Bei geringerer Geschwindigkeit erhöht sich die Konvektion innerhalb des Probenvolumens, da lokale Bereiche länger durch den Laser erwärmt werden.

Andererseits wird durch eine zu hohe Geschwindigkeit das Signal-Rausch-Verhältnis viel zu hoch und somit die CLSM-Messungen unbrauchbar. Folglich muss bei jeder Messung eine Balance zwischen Signal-Rausch-Verhältnis und der Minimierung der Konvektion gefunden werden. In den folgenden Experimenten wurde daher eine Rastergeschwindigkeit von 200 – 400 Hz gewählt.

Auch musste dafür Sorge getragen werden, dass der gesamte zur Verfügung stehende Intensitätsbereich des Detektors ausgenutzt wurde. Hierfür kamen Referenzproben mit maximalem und minimalem Intensitätsbereich zu Einsatz. Zu beachten ist, dass die Laser-Intensität bei jedem Beginn einer Messreihe variiert. Aus diesem Grund erfolgte vor jedem Beginn einer Messreihe eine individuelle neue Anpassung. Hierbei wurde zu Beginn einer jeden Messreihe ein Signal-Schwellenwert (*offset*) und Signal-Verstärkung (*gain*) am Detektor eingestellt. Dabei war zu beachten, dass der *gain* aufgrund der Empfindlichkeit der Photomultiplier (PMT, *photomultiplier tunnel*) maximal 700 V betragen darf. Jedoch sollte nie ein *gain* unter 300 V gewählt werden, da hier noch kein linearer Bereich der Detektion der Lichtintensität vorliegt, welcher bei der späteren Kalibrierung der pH-Werte notwendig ist. Außerdem wurde darauf geachtet die Intensität des Laserlichts möglichst konstant zu halten. Zur Verstärkung des Detektionssignals des Fluoreszenzfarbstoffes wurde nur der *gain* am Anfang der Messreihe variiert, wodurch weiteres Aufheizen der Messlösung verhindert und die Ausbleichung des Indikators minimiert wurde.

Ein weiterer wichtiger Aspekt war die Wahl geeigneter Fluoreszenzfarbstoffe. In Tabelle 13 sind bewährte kommerziell erhältlicher Farbstoff-Gruppen aufgelistet, die für die Bestimmung des lokalen pH-Wertes mit Hilfe des CLSM verwendet werden.^[200] Für die Auswahl eines geeigneten Farbstoffes sind folgende Parameter zu beachten: pH-Arbeitsbereich des Indikators sowie Anregungswellenlängen λ_{ex} und Detektionswellenlängen λ_{em} (s. a. Kap. 2.3). Unter Berücksichtigung der verfügbaren λ_{ex} des in dieser Arbeit verwendeten CLSM, der untersuchten pH-Bereiche und der Kosten, kamen Fluorescein-dinatrium, LysorSensor™ Green DND-189 und 5/6-Carboxy SNARF®-1 zum Einsatz.

Tab. 13. pH-Indikatoren für Fluoreszenzdetektion von lokalen pH-Werten.^[200]

Fluoreszenzfarbstoff-Gruppe	Nutzbarer pH-Bereich	λ_{ex} / nm	λ_{em} / nm
SNAFL-Indikatoren	7.2 – 8.2	490/540	540/630
SNARF-Indikatoren	6.0 – 8.0	514/640	580/640
HPTS (Pyranin)	7.0 – 8.0	450/405	514
BCECF	6.5 – 7.5	490/440	530
Fluorescein und Carboxyfluorescein	6.0 – 7.2	490/450	520
LysorSensor™ Green DND-189	4.5 – 6.0	443	520
Oregon Green Farbstoffe	4.2 – 5.7	510/450 490/440	530
LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160	3.5 – 6.0	365	450/510

5.1.2 Elektrochemische Reduktion von 1,4-Benzochinon und Oxidation von 1,4-Hydrochinon

Im ersten Beispiel wird die Reduktion von 1,4-Benzochinon bzw. Oxidation von 1,4-Hydrochinon (Gl. XI) untersucht. Dieses System kommt vor allem für das Ätzen von Mikrostrukturen, z. B. in Silizium zum Einsatz.^[201] Hier steht die Änderung des pH-Wertes in der Nähe der UME in Abhängigkeit von unterschiedlichen Q/H₂Q-Konzentrationen und unterschiedlichen Pufferkonzentrationen im Vordergrund.

Abbildung 21 zeigt zwei typische Cyclovoltamogramme (CV) an einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in Messlösungen mit 1 mM Q/H₂Q und 5 mM Q/H₂Q an einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$). Im Potentialbereich von -0.2 V bis -0.5 V vs. Ag-QRE findet die Reduktion von Benzochinon und zwischen 0.4 V bis 0.7 V die Oxidation von Hydrochinon statt.

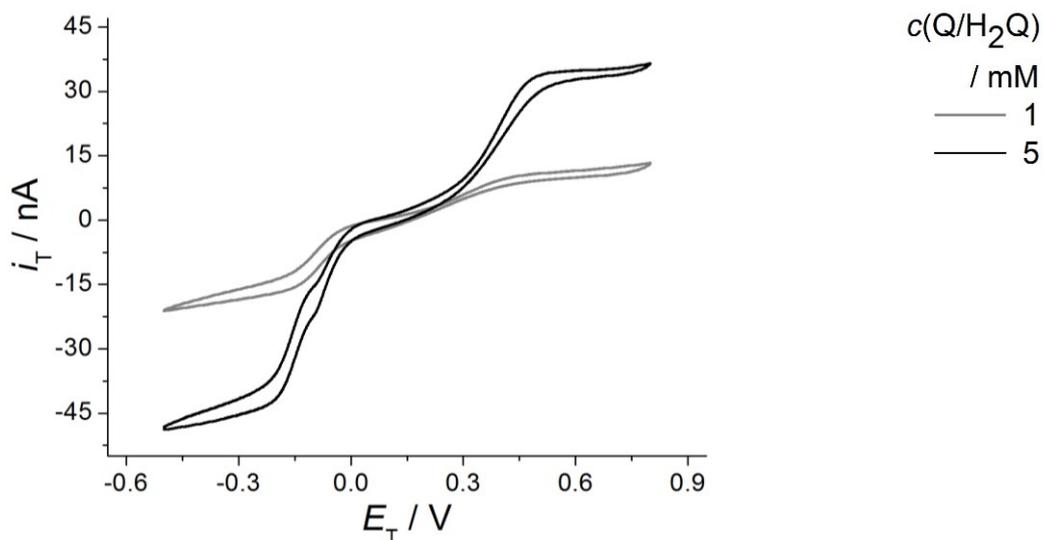


Abb. 21. CVs an einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) unterschiedlicher Konzentrationen Q/H₂Q in einer 0.1 M KCl (5 mM Phosphatpuffer, pH 6, $\nu_T = 50 \text{ mV s}^{-1}$).

Durch die Erhöhung der Q/H₂Q-Konzentration steigt das Reduktions- bzw. Oxidationssignal. Der durch die hemisphärische Diffusion limitierte Sondenstrom i_T (Gl. 4) nimmt proportional mit der Konzentration des Mediators zu. Dementsprechend sind auch die mikroelektrochemische Erzeugung sowie der Verbrauch von Protonen an die Mediatorkonzentration gekoppelt. Aus diesem Grund werden mit Erhöhung der Mediatorkonzentration z. B. bei der Reduktion von Q lokal entsprechend mehr Protonen

im Lösungsvolumen in der Nähe der UME verbraucht (für die Oxidation von H_2Q gilt dementsprechend der entgegengesetzte Fall). Dadurch sollte es folglich sowohl zu einer deutlichen Erhöhung des lokalen pH-Wertes kommen. Für die folgenden Experimente fiel die Wahl auf den pH-empfindlicher Fluoreszenzfarbstoff Fluorescein-dinatrium, damit die Ergebnisse vergleichbar mit den Experimenten von Cannan et al.^[47] und Rudd et al.^[49] sind. Darüber hinaus sind die wesentlichen Verschiebungen in der Lichtintensität dieses Indikators im gewünschten pH-Arbeitsbereich zwischen 4.5 und 8 zu finden (Abb. 17).

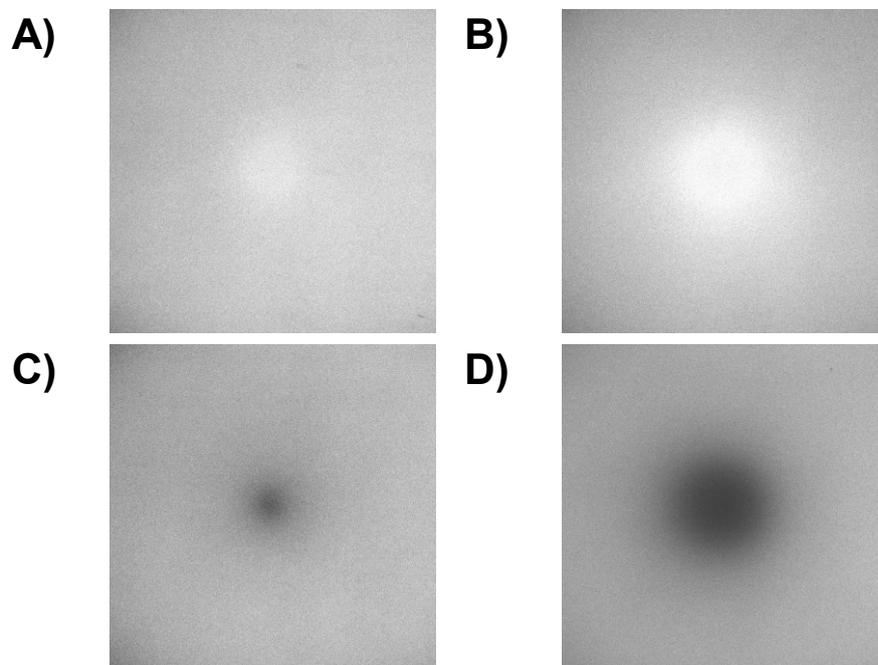


Abb. 22. CLSM-Aufnahmen ($375 \mu\text{m} \times 375 \mu\text{m}$) bei der Reduktion von Q bzw. Oxidation von H_2Q bei variabler Mediatorkonzentrationen in der Nähe ($d = 0 \mu\text{m}$) einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in 0.1 M KCl (in 1 mM Phosphat-Acetatpufferlösung, $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.6$, $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium).

Reduktion von Q bei $E_T = -0.5 \text{ V vs. Ag-QRE}$: A) 1 mM und B) 5 mM Q.

Oxidation von H_2Q bei $E_T = 0.8 \text{ V vs. Ag-QRE}$: C) 1 mM und D) 5 mM H_2Q .

In Abbildung 22 stellt den Einfluss der Mediatorkonzentration auf die Diffusionsschicht dar. Hierbei repräsentieren Abbildungsteile A und B die Reduktion von Q. Der Ausgangs-pH-Wert der Messlösung pH_{bulk} betrug 6.6 und befand sich damit in der Größenordnung des $\text{p}K_S$ des Farbstoffes Fluorescein-dinatrium ($\text{p}K_S = 6.4$).

Abbildung 22C und 22D zeigt das Lösungsvolumen während der Oxidation von H₂Q an der Pt-UME. Die linken Abbildungsteile 22A sowie 22C Seite stehen für 1 mM Q/H₂Q-Konzentration in der Messlösung. In den CLSM-Aufnahmen 22B und 22D wurde in der Messlösung 5 mM Q/H₂Q eingesetzt.

Durch Oxidation von H₂Q wird, aufgrund des Abbaus der Protonen und des damit resultierenden pH-Anstiegs, die Lichtintensität des Farbstoffes Fluoresceindinatrium im Lösungsvolumen in der Nähe der UME größer. Umgekehrt werden bei der Reduktion von H₂Q Protonen erzeugt, wodurch eine schwächere Lichtintensität des fluoreszierenden Farbstoffs in der unmittelbaren Umgebung resultiert. Es ist also quantitativ festzustellen, dass mit zunehmender Mediatorkonzentration die Möglichkeit kleine relative Änderungen der H⁺-Konzentration zu detektieren und damit die Ausdehnung der lokal erzeugten H⁺-Reaktionszone zunimmt.

Durch die Zugabe eines Puffers sollte diese Diffusionsschicht aufgrund von Neutralisation deutlich eingeschnürt werden. In dieser Arbeit wurde ein Phosphat-Acetatpuffer in jeweils gleicher Konzentration verwendet. Jede Angabe der Pufferkonzentration im weiteren Text bezieht sich jeweils auf einen der beiden Puffer. Mit Hilfe der Kombination des Phosphat- und des Acettpuffers sollte die Pufferung der Lösung über einen breiten pH-Bereich der Messlösung gewährleistet werden. In der Abb. 23 sind die errechneten Puffer-Kapazitätskurven des Phosphat-Acetatpuffers in Abhängigkeit von pH_{bulk} für variable Konzentrationen [c(Phosphat-Acetatpuffer)/mM = (1, 5, 10)] dargestellt. Die Berechnung der Gesamtpufferkapazität β erfolgt nach Gl. 22. Sie ergibt sich aus der Summe der Pufferkapazität des Phosphatpuffers β_{Phosphat} und des Acetatpuffers β_{Acetat} . Um die pH-abhängige Pufferkapazität eines Puffers zu ermitteln, werden die pH-abhängigen Konzentrationen der Base und der korrespondierenden Säure berechnet. In den Gleichungen 23 - 25 wird dies exemplarisch für den Phosphatpuffer aufgezeigt.

$$\beta = \beta_{\text{Phosphat}} + \beta_{\text{Acetat}} \quad (22)$$



$$\beta_{\text{Phosphat}} = \frac{c(\text{H}_2\text{PO}_4^-) \cdot c(\text{HPO}_4^{2-})}{c(\text{H}_2\text{PO}_4^-) + c(\text{HPO}_4^{2-})} \quad (23)$$

$$c(\text{HPO}_4^{2-}) = \frac{10^{\text{pH}-\text{p}K_s} \cdot c_{\text{gesamt}}}{1 + 10^{\text{pH}-\text{p}K_s}} \quad (24)$$

$$c(\text{H}_2\text{PO}_4^-) = c_{\text{gesamt}} - c(\text{HPO}_4^{2-}) \quad (25)$$

Hierbei ist $c_{\text{gesamt}} = c(\text{H}_2\text{PO}_4^-) + c(\text{HPO}_4^{2-})$ und somit die Gesamtkonzentration des Puffers. Die Berechnungen für den Acetatpuffer erfolgen analog. Der Acetatpuffer hat einen Pufferschwerpunkt bei 4.76 und der Phosphatpuffer bei 7.2. Zwischen dieser beiden Maximas liegt bei $\text{pH}_{\text{bulk}} = 6$ ein Bereich mit minimaler Pufferkapazität β (Gl. 22). Dieser Zusammenhang ist wichtig für die spätere Auswertung der Ergebnisse.

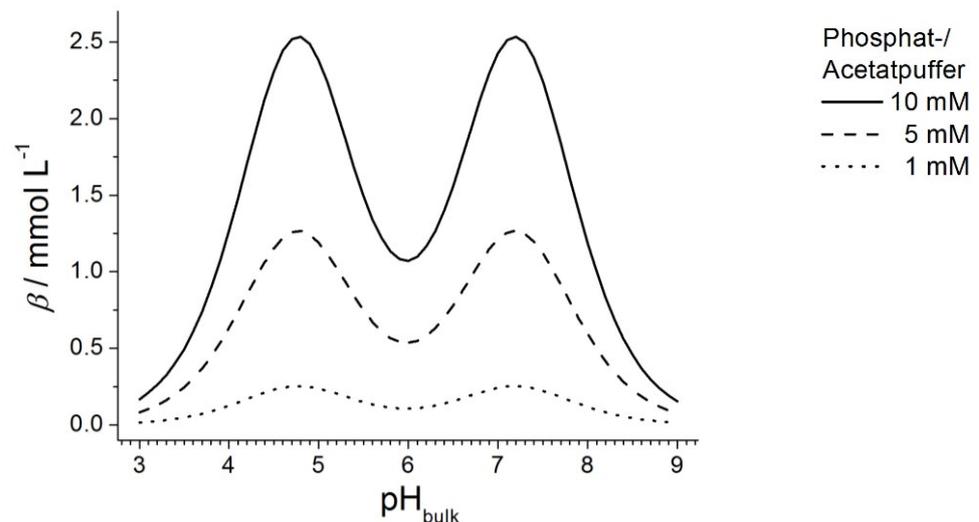


Abb. 23. Errechnete Pufferkapazität des verwendeten Phosphat-Acetatpuffers in Abhängigkeit von pH_{bulk} [$c(\text{Phosphat-Acetatpuffer})/\text{mM} = (1, 5, 10)$].

Abbildung 24 zeigt erneut die Reduktion bzw. Oxidation von Q/H₂Q bei einer 5 mM Mediatorkonzentration. Pufferkonzentrationen von Phosphat und Acetat sind jeweils von links nach rechts: 1 mM, 5 mM und 10 mM. Durch Erhöhung der Pufferkonzentration wird die Diffusionsschicht deutlich sichtbar eingeschnürt.

Für eine systematische Untersuchung der maximal möglichen pH-Verschiebungen und die Auswirkungen der „chemischen Linse“ wurden zunächst fünf Messlösungen 1 mM Q/H₂Q mit 1 mM Phosphat-Acetatpuffer in 0.1 M KCl angesetzt. Die Lösungen wiesen einen pH-Wert zwischen 5.5 und 7.5 auf. Im Anschluss wurde durch Anlegen eines reduzierenden Potentials ($E_T = -0.5$ V) an der UME die Reduktion von Q herbeigeführt und der pH-Wert lokal durch H⁺-Verbrauch erhöht. Nach der CLSM-Bildaufnahme wurde die mikroelektrochemische Oxidation ($E_T = 0.8$ V) von H₂Q durchgeführt und ein Bild aufgenommen. Danach wurde die Messlösungen durch 5 mM Q/H₂Q ausgetauscht und erneut im gleichen Verfahren

vermessen. Diese gesamte Prozedur wurde noch einmal mit einer Phosphat-Acetatpufferkonzentration von 5 mM und 10 mM wiederholt. Abbildung 25 zeigt die durch die CLSM-Daten gewonnenen Ergebnisse der elektrochemisch erzeugten pH-Verschiebungen bei variablen pH_{bulk} -Werten zwischen 5.5 und 7.5 sowie Phosphat-Acetatpufferkonzentrationen [$c/\text{mM} = (1 \text{ mM}, 5 \text{ mM}, 10 \text{ mM})$]. Zusätzlich wurde eine Gleichheitslinie ($\text{pH}_{\text{ex}} = \text{pH}_{\text{bulk}}$) in jede Graphik hinzugefügt, um einen besseren Vergleich zwischen dem erzeugten pH-Wert und pH_{bulk} zu gewährleisten. Oberhalb dieser Linie befinden sich die Daten für die Reduktion von Q und unterhalb für die Oxidation von H_2Q .

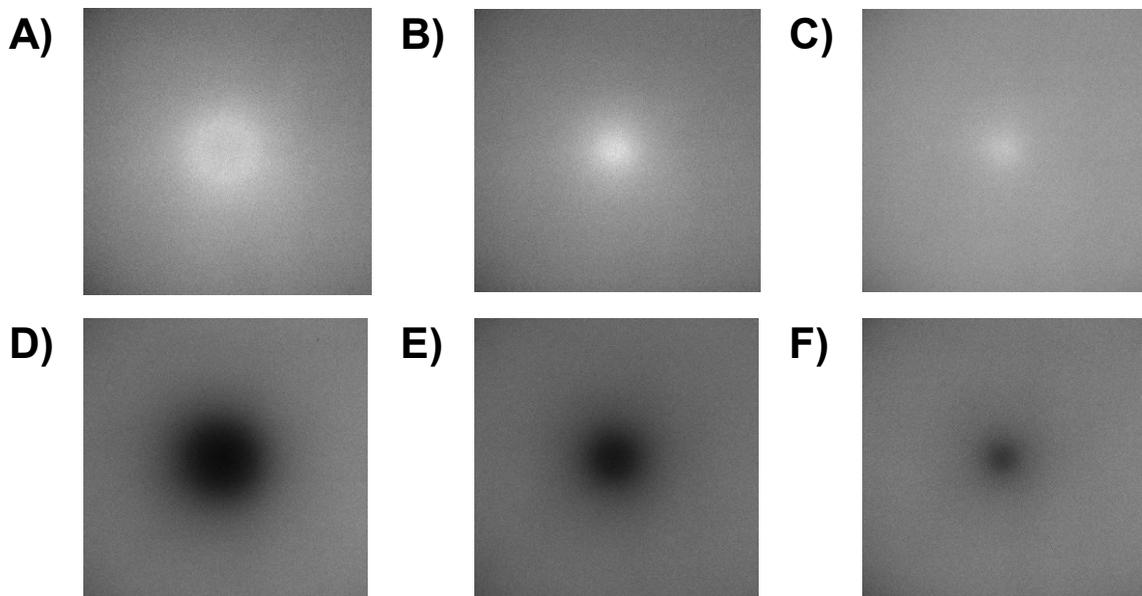


Abb. 24. CLSM-Aufnahmen ($375 \mu\text{m} \times 375 \mu\text{m}$) bei der Reduktion von Q bzw. Oxidation von H_2Q in der Nähe ($d = 0 \mu\text{m}$) einer Pt-UME ($r_{\text{T}} = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in 0.1 M KCl bei variablen Phosphat-Acetatpufferkonzentrationen ($\text{pH}_{\text{bulk}} 6.6$, $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium). Reduktion von Q bei $E_{\text{T}} = -0.5 \text{ V}$ vs. Ag-QRE: A) 1 mM, B) 5 mM und C) 10 mM Phosphat-Acetatpuffer. Oxidation von H_2Q bei $E_{\text{T}} = 0.8 \text{ V}$ vs. Ag-QRE: D) 1 mM und E) 5 mM C) 10 mM Phosphat-Acetatpuffer.

Wird Q mikroelektrochemisch reduziert, erfolgt trotz Erhöhungen der Q-Konzentration, keine signifikante Erhöhung der maximal erreichbaren pH-Änderung. Also kann daraus geschlossen werden, dass die Steigerung des pH durch die UME unabhängig von der Mediatorkonzentration ist. Die Verschiebung beträgt maximal eine pH-Einheit. Mit abnehmenden pH_{bulk} nimmt der betragsmäßige pH-Sprung zu, bleibt

aber immer bei einem pH_{ex} zwischen 6.5 - 6.6. Oberhalb eines $\text{pH}_{\text{bulk}} = 6.6$ findet kein signifikanter pH-Sprung mehr statt. Also ist ein Maximum für eine elektrochemische Erhöhung des pH-Wertes erreicht. Wenn die Pufferkonzentration in der Lösung auf $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer})/\text{mM} = (5, 10)$ erhöht wird, sind der maximal geänderte pH_{ex} auf 6.3 für $\text{pH}_{\text{bulk}} 6$ und 6 für $\text{pH}_{\text{bulk}} 5.5$. Für eine Phosphat-Acetatpufferkonzentration von 5 mM und 10 mM ist $\text{pH}_{\text{max}} 6.6$ (für $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.6$, Abb. 25B, C). Mit geringerem pH_{bulk} -Wert nimmt der pH-Sprung zu. Jedoch nimmt der betragsmäßige Ausschlag ab. Cannan et al.^[47] hatte die Änderung des pH-Wertes für dieses System nur für pH 5.5 untersucht mit einem theoretisch bestimmten pH-Änderung auf 3.5 ($\text{pH}_{\text{ex}} 8$). Diese Ergebnisse wurden jedoch in ungepufferten Lösungssystemen gemessen. In dieser Arbeit führt die Erhöhung der Mediatorkonzentration tendenziell zur geringen Erhöhung der lokal erzeugten pH-Verschiebung. Jedoch ist diese ungeachtet der Pufferkonzentration und pH_{bulk} nie höher als $\Delta\text{pH} = 0.3$. Auffällig ist, dass im Bereich von $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.7$ die Steigerung der pH-Verschiebung aufgrund höherer Q/H₂Q-Konzentrationen am minimalsten war, dann jedoch in mit Abnahme des pH_{bulk} zunimmt.

Durch elektrochemische Oxidation von H₂Q wird der pH lokal erniedrigt. Mit der anschließenden Erniedrigung von pH_{bulk} sinkt auch der minimal erreichbare pH-Wert pH_{min} . So wird der pH-Wert durch die Oxidation von H₂Q bei einer Pufferkonzentration von 1 mM und einer Mediatorkonzentration von 1 mM um $\Delta\text{pH} = (1 - 1.5)$ erniedrigt (Abb. 25A). Mit der Steigerung der Phosphat-Acetatpufferkonzentration auf 5 mM und 10 mM nimmt die pH-Verschiebung ab. Im ersten Fall erreicht man nur noch $\Delta\text{pH} = 0.9$ und im zweiten $\Delta\text{pH} = 0.7$. Wird die H₂Q-Konzentration in der Lösung von 1 mM auf 5 mM erhöht, verstärkt sich die pH-Senkung bei allen Pufferkonzentrationen um durchschnittlich $\Delta\text{pH} = 0.3$. Auffallend ist, dass die durchschnittliche Zunahme durch Steigerung der Mediatorkonzentration von ΔpH von $\text{pH}_{\text{bulk}} 7.5$ nach $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.0$ zunimmt.

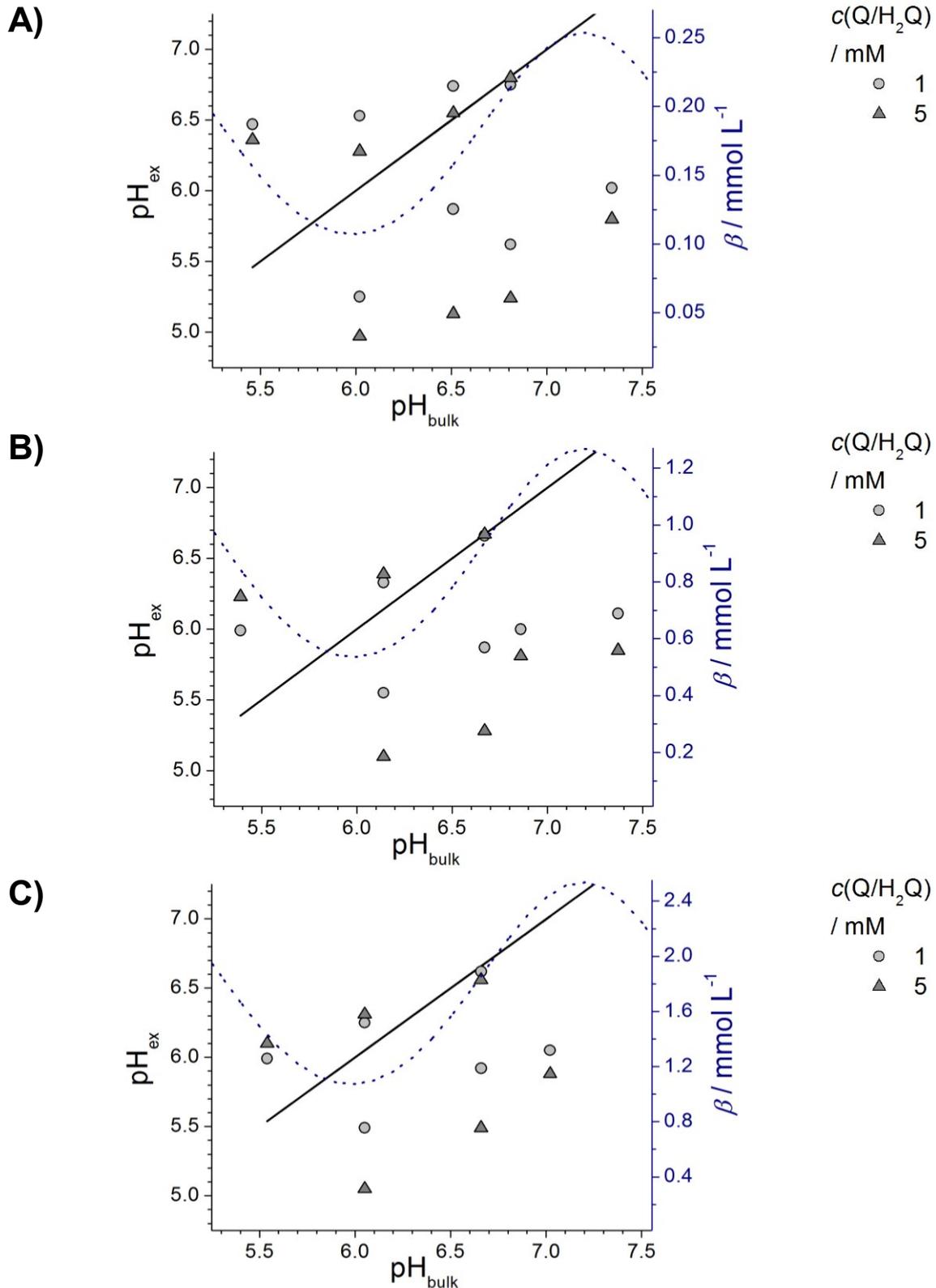


Abb. 25. Gemessene pH-Verschiebungen pH_{ex} aus CLSM-Daten und Pufferkapazität β in Abhängigkeit von pH_{bulk} . A) 1 mM, B) 5 mM und C) 10 mM Phosphat-Acetatpuffer. Parameter wie Abb. 24, Gleichheitslinie ($\text{pH}_{\text{ex}} = \text{pH}_{\text{bulk}}$): Punkte oberhalb Reduktion Q ($E_T = -0.5 \text{ V vs. Ag-QRE}$), Punkte unterhalb: Oxidation H_2Q ($E_T = 0.8 \text{ V vs. Ag-QRE}$).

Zur Erklärung der oben genannten Beobachtungen kommen die berechneten Pufferkapazitätskurven für die verwendeten Puffersysteme, die in jeder Teilabbildung von Abb. 25 eingefügt wurden, zum Einsatz. Generell gilt: Je höher β ist, desto mehr OH^- bzw. H^+ muss lokal mikroelektrochemisch erzeugt werden, um den pH zu verschieben. Von $\text{pH}_{\text{bulk}} 7.2$ nach $\text{pH}_{\text{bulk}} 6$ nimmt die Pufferkapazität β der Messlösung ab, durchläuft ein Minimum und nimmt bei weiterer Erniedrigung des pH_{bulk} wieder zu. Aus diesem Grund war es leichter, im Bereich von $\text{pH}_{\text{bulk}} 6$ den pH zu erniedrigen bzw. zu erhöhen. Geht man von diesem Punkt an zu höheren bzw. niedrigeren pH_{bulk} wird ΔpH aufgrund des höheren β geringer. Bei Steigerung der Q/H₂Q-Konzentration nimmt pH_{ex} aufgrund erhöhter OH^- - bzw. H^+ -Produktion an der UME zu. Jedoch ist dieser Effekt bei $\text{pH}_{\text{bulk}} 6$ ausgeprägter.

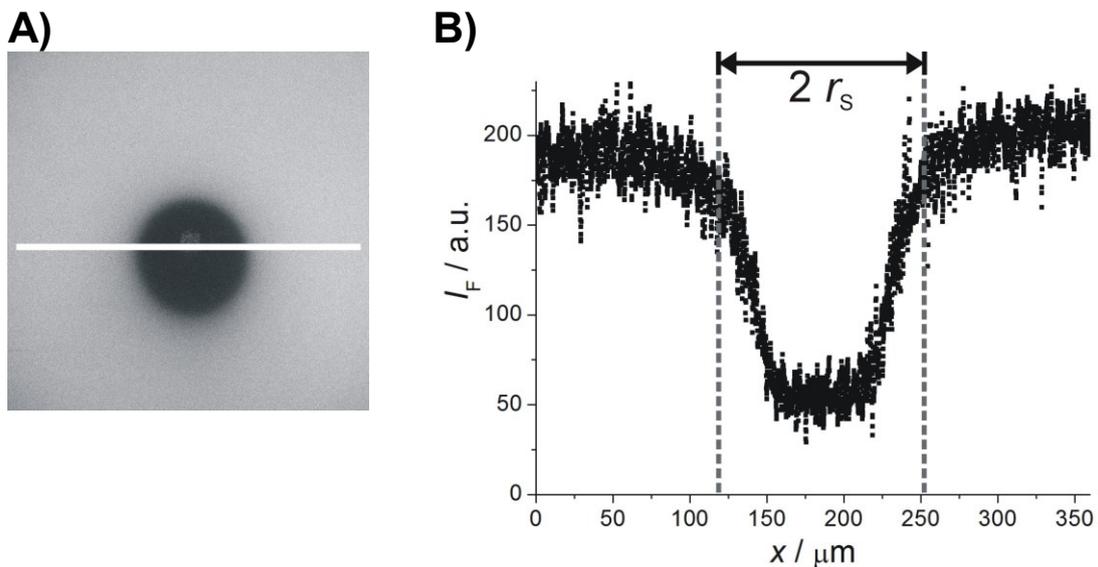


Abb. 26. Beispiel einer quantitativen Ausmessung der sichtbaren Ausdehnung der Diffusionsschicht elektrochemisch erzeugten pH-Differenzen aus CLSM-Daten für die Reduktion von Q/H₂Q (10 μM Fluorescein-dinatrium). A) CLSM-Aufnahme des untersuchten Bereichs (weißer Balken: 367 μm), B) Intensitätsprofil des fluoreszierenden Farbstoffes (Darstellung durch Leica Confocal Software 6.2 (ausgemessener Bereich: 96 μm $\rightarrow r_{s,0} = 48.0$ μm))

An dieser Stelle findet die Untersuchung der quantitativen Ausdehnung des H^+ -Konzentrationsgradienten statt, der die durch den Farbstoff sichtbare gemachte veränderte Lösungszusammensetzung beschreibt. Eine wichtige Bemerkung an dieser

Stelle ist, dass hier wirklich nur von der Region mit verändertem pH-Wert in der unmittelbaren Nähe der Pt-UME gesprochen wird, nicht vom Konzentrationsgefälle von Q/H₂Q. In Abbildung 26 ist die Vorgehensweise bei der Auswertung der CLSM-Messung verdeutlicht: Eine CLSM-Aufnahme wird von der untersuchten Region unter der UME aufgezeichnet (Abb. 26A). Mit Hilfe der Steuersoftware (Leica Confocal Software 6.2) erstellt man mit dem „Profil-Tool“ an einer geeigneten Position (weißer Balken in Abb. 26A) eine Profilsicht der Fluoreszenzintensitäten (Abb. 26B). Der Radius $r_{S,0}$ der Expansion der Diffusionsschicht in der Nähe der UME wird ermittelt als halbe Peakbreite im Schnittpunkt der mittleren Intensität des Hintergrunds (nicht beeinflusstes Lösungsvolumen).

Die quantitativen Messergebnisse der Ausdehnung der Diffusionsschicht bei der Reduktion von Q (Abb. 27) sowie bei der Oxidation von H₂Q (Abb. 28) bei variablen pH_{bulk}-Werten zwischen 5.5 und 7.5 sowie Phosphat-Acetatpufferkonzentrationen (1 mM, 5 mM, 10 mM) sind in den folgenden Abbildungen dargestellt. Beginnend von den Abbildungsteilen A) nimmt die Konzentration von Phosphat-Acetatpuffer zu den Abbildungsteilen C) jeweils zu [$c(\text{Phosphat-Acetatpuffer})/\text{mM} = (1, 5, 10)$]. Dabei vergleicht man immer den Einsatz von 1 mM Q/H₂Q und 5 mM Q/H₂Q.

Generell verursacht die steigende Zugabe von Puffer in die Messlösung eine zunehmende Fokussierung der Reaktionszone. Dieser Effekt ist deutlicher bei der Oxidation von H₂Q zu beobachten. Bei Wechsel von 1 mM zu 5 mM Phosphat-Acetatpufferkonzentration nimmt $r_{S,0}$ um 15 – 20 μm (für 1 mM Q/H₂Q) und um 15 μm (für 5 mM Q/H₂Q) ab (Abb. 28A). Eine weitere Steigerung der Pufferkonzentration hat eine Änderung von -10 μm bis 14 μm (für 1 mM Q/H₂Q) und 18 μm (für 5 mM Q/H₂Q) zur Folge (Abb. 28B und Abb. 28C). Geringere Änderungen werden bei der Reduktion von Q und Steigerung der Pufferkonzentration beobachtet. Bei einer 5 mM Pufferkonzentration verringert sich $r_{S,0}$ gegenüber $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 1 \text{ mM}$ (auch bei Steigerung der Q/H₂Q-Konzentration) um etwa 8 μm (Abb. 27B). Eine weitere Steigerung der Pufferkonzentration hat eine Verkleinerung von 12 μm bis 18 μm zur Folge (Abb. 27C). Dies gilt auch bei Steigerung der Q/H₂Q-Konzentration.

Die experimentellen Ergebnisse zeigen, dass mit zunehmender Konzentration des Mediators Q/H₂Q, sowohl bei der elektrochemischen Reduktion von Q als auch der Oxidation von H₂Q der Radius der optisch sichtbaren Diffusionsschicht zunimmt. Im ersten Fall nimmt (auch bei Variation der Pufferkonzentration) $r_{S,0}$ oberhalb eines pH-

Wertes von 6.8 nur um 5 μm bis 7 μm zu (Abb. 27A-B). War pH_{bulk} jedoch kleiner erfolgt die Vergrößerung $r_{\text{S},0}$, im Vergleich zu 1 mM Q/H₂Q, sprunghaft. Dies geschieht aber abnehmend mit Zunahme der Pufferkonzentration, um 30 μm (für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 1 \text{ mM}$, Abb. 27A), 20 μm (für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 5 \text{ mM}$, Abb. 27B) und 15 μm (für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 10 \text{ mM}$, Abb. 27C). Wird H₂Q an der UME oxidiert, zeigt sich ein r_{S} -Minimum im Bereich um $\text{pH}_{\text{bulk}} 6$ nach Zugabe von H₂Q in die Messlösung. Dieses Minimum ist auch bei Erhöhung der Pufferkonzentration zu finden. Oberhalb und unterhalb von $\text{pH}_{\text{bulk}} 6$ erfolgt für jede Pufferkonzentration eine annähernd gleiche Steigerung von $\Delta r_{\text{S}} = 20 \mu\text{m}$ für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 1 \text{ mM}$ (Abb. 28A), $\Delta r_{\text{S}} = 18 \mu\text{m}$ für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 5 \text{ mM}$ (Abb. 28B) und $\Delta r_{\text{S}} = 15 \mu\text{m}$ für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 10 \text{ mM}$ (Abb. 28C).

Wie bei der Interpretation der pH-Verschiebungen, kommen auch hier die Pufferkapazitätskurven zur Erklärung der experimentellen Beobachtungen zum Einsatz. Durch Erhöhung der Pufferkonzentrationen erfolgt die schnellere Neutralisation von elektrochemisch erzeugtem OH⁻ bzw. H⁺, wodurch die r_{S} sowohl für die Reduktion von Q als auch für die Oxidation von H₂Q abnimmt. Ist β hoch nimmt der Phosphat-Acetatpuffer noch effektiver die Fängerolekülfunktion wahr, wodurch in der Nähe eines Maximums von β in der Regel die minimalsten r_{S} -Werte auftreten. Im β -Minimum ($\text{pH}_{\text{bulk}} 6$) jedoch sind die r_{S} -Werte maximal. Eine Ausnahme bilden die Ergebnisse in Abb. 28C.

Cannan et al.^[47] stellten für eine 1 mM Q bei einem $\text{pH}_{\text{bulk}} 5.5$ (UME: $r_{\text{T}} = 12.5 \mu\text{m}$) eine $r_{\text{S},0}$ von etwa 200 μm fest. In diesen Experimenten befand sich kein Puffer in der Messlösung. Aus diesem Grund wird in den vorliegenden Ergebnissen dieser Radius schon bei einer sehr geringen Menge von 1 mM Phosphat-Acetatpuffer stark unterschritten. Beim Arbeiten mit dieser Pufferkonzentration werden hier maximale $r_{\text{S},0}$ von 70 μm bei einer 5 mM Q/H₂Q, während der Reduktion von Q, erreicht ($c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 1 \text{ mM}$).

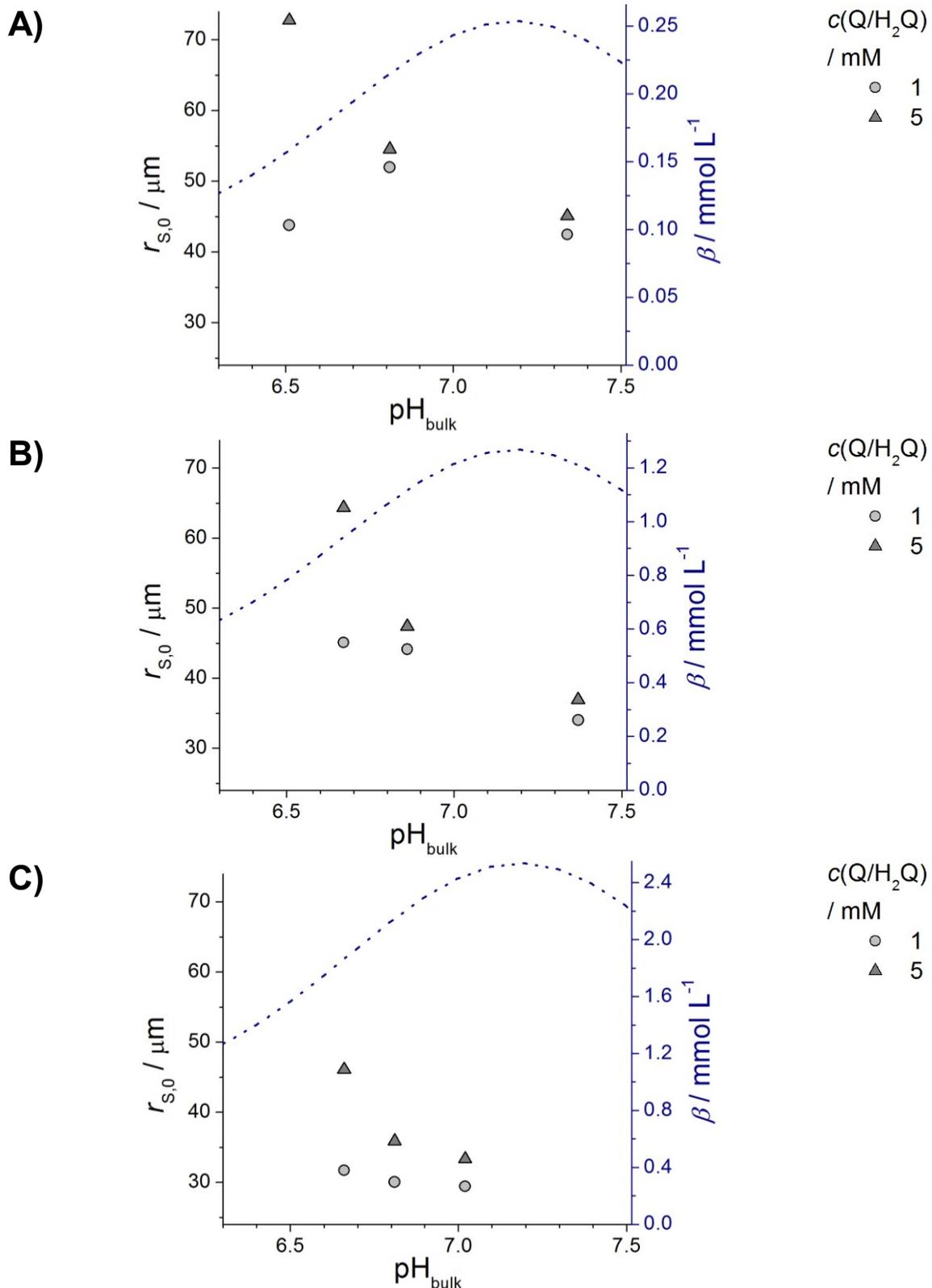


Abb. 27. Ausdehnung der Diffusionsschicht der elektrochemisch erzeugten pH-Änderungen aus CLSM-Daten für die Reduktion von Q ($E_T = -0.5 \text{ V}$ vs. Ag-QRE, $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium) und Pufferkapazität β vs. pH_{bulk} . A) 1 mM , B) 5 mM und C) 10 mM Phosphat-Acetatpufferlösung. (Parameter wie Abb. 24).

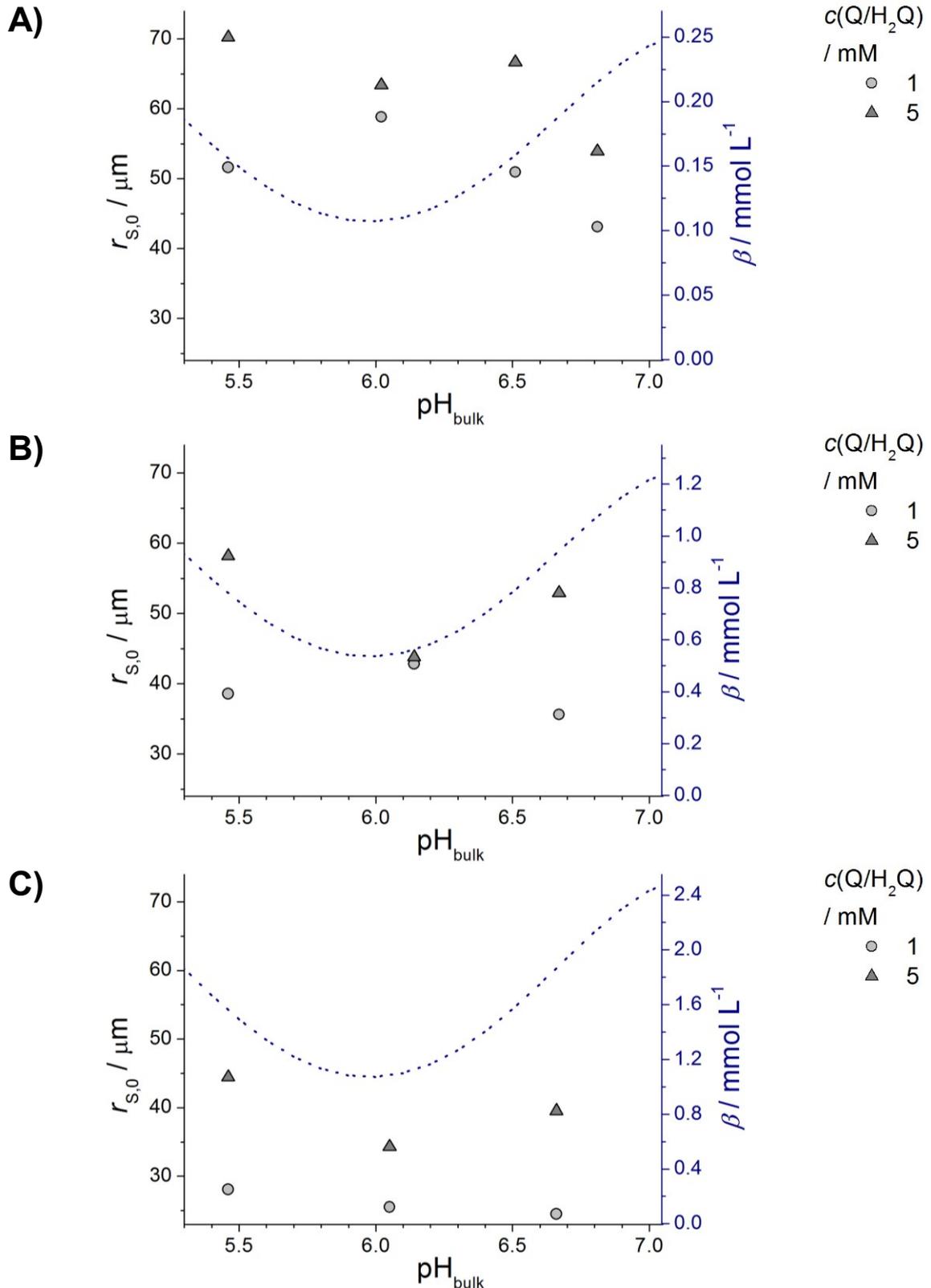


Abb. 28. Ausdehnung der Diffusionsschicht der elektrochemisch erzeugten pH-Änderungen aus CLSM-Daten für die Oxidation von H_2Q ($E_T = 0.8 \text{ V}$ vs. Ag-QRE, $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium) und Pufferkapazität β vs. pH_{bulk} . A) 1 mM, B) 5 mM und C) 10 mM Phosphat-Acetatpufferlösung. (Parameter wie Abb. 24).

In diesem Teilkapitel wurden erstmals durch elektrochemische Erzeugung oder Verbrauch von Protonen entstanden Reaktionszonen für ein breiteres pH-Spektrum [pH (5.5 – 7.4)] durch das CLSM beprobt. Diese Begrenzung ergibt sich aus der pH-Empfindlichkeit des Fluoreszenzfarbstoffes Fluorescein-dinatrium. Durch die Einführung von Fängermolekülen, wie Puffer, resultiert die Einschnürung der Reaktionszonen. Mittels Erhöhung bzw. Erniedrigung der Fängermolekül-Konzentration kann die Größe der Reaktionszonen verringert bzw. gesteigert werden. Die Steigerung der Mediatorkonzentration von Q/H₂Q bewirkt bei verwendeten Phosphat-Acetatpuffersystem bei der elektrochemischen Reduktion von Q keine signifikante Steigerung des pH, wenn pH_{bulk} 7 - 7.5. Dies liegt vor allem an den pH_{bulk}-abhängigen Verlauf der Pufferkapazität. Nur bei der Oxidation von H₂Q an der UME sind deutliche pH-Wert-Erniedrigungen sichtbar. Die Verschiebungen ändern sich durch die Zugabe von Phosphat-Acetatpuffer sowohl beim ersten als auch beim zweiten System geringfügig.

5.1.3 Elektrochemische Reduktion von Wasser

In vielen Mikrostrukturierungsprozessen, wie z. B. bei der Oberflächenmodifikation durch Aryl-Radikale,^[202] dient die UME als OH⁻-Lieferant, in dem elektrochemisch Wasser in der Nähe der UME reduziert wurde (Gl. XII). In diesem Kapitel soll die Änderung des pH-Wertes und die Ausdehnung der Reaktionszone in der Nähe der UME in Abhängigkeit von variablen Elektrodenpotentialen E_T und veränderbaren Phosphat-Acetatpufferkonzentrationen (s. a. Kap. 5.1.1) untersucht werden. Der pH-empfindliche Fluoreszenzfarbstoff Fluorescein-dinatrium hat einen kleinen Arbeitsbereich zwischen 5 und 8. Für die Vermessung eines breiteren pH-Spektrums werden zwei Fluoreszenzfarbstoffe kombiniert.

Abbildung 29 zeigt die Linear-Sweep-Voltammogramm der elektrochemischen Reduktion von Wasser an einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) und die in der Nähe ($d = 0 \mu\text{m}$) der UME aufgenommenen CLSM-Bilder bei ausgeschalteter Messzelle sowie bei einem eingeschaltetem Potential von $E_T = -1.3 \text{ V}$. Hierbei wurde eine Lösung von $\text{pH}_{\text{bulk}} 4.9$ verwendet, in der die Lichtintensität des Farbstoffes minimal ist (Abb. 29C). Im Linear-Sweep-Voltammogramm wird, aufgrund der Reduktion des Wassers bei $E_T < -1.2 \text{ V}$ einen starken Anstieg des Reduktionsstromes verzeichnet. Bei $E_T = -1.7 \text{ V}$ verläuft der Graph diskontinuierlich, da sich wegen der Bildung von Gasblasen in der Nähe der Elektrode der Massentransport plötzlich ändert (Abb. 29A). Wird $E_T = -1.3 \text{ V}$ gewählt, erfolgt die Wasserreduktion und bewirkt eine pH-Erhöhung in der Nähe der UME, was zur lokalen Erhöhung der Lichtintensität des pH-sensiblen Fluoreszenzfarbstoffes Fluorescein-dinatrium führt. Diese lokal erhöhte Lichtintensität zeigt sich als helle Region im CLSM-Bild (Abb. 29C). Wie in Kapitel 5.1.2 wurde die pH-Verschiebung in Abhängigkeit vom Ausgangs-pH-Wertes in der Messlösung pH_{bulk} gemessen. Die Kalibrierung für die quantitative Analyse erfolgte analog zu den Untersuchungen in Kap. 5.1.1. Es wurden die zwei Potentiale $E_T = -1.3 \text{ V}$ sowie $E_T = -1.4 \text{ V}$ (vs. Ag-QRE) ausgewählt, da hier noch keine Bläschenbildung an der UME auftritt. Die resultierenden pH-Verschiebungen sind in Abb. 30 zu sehen.

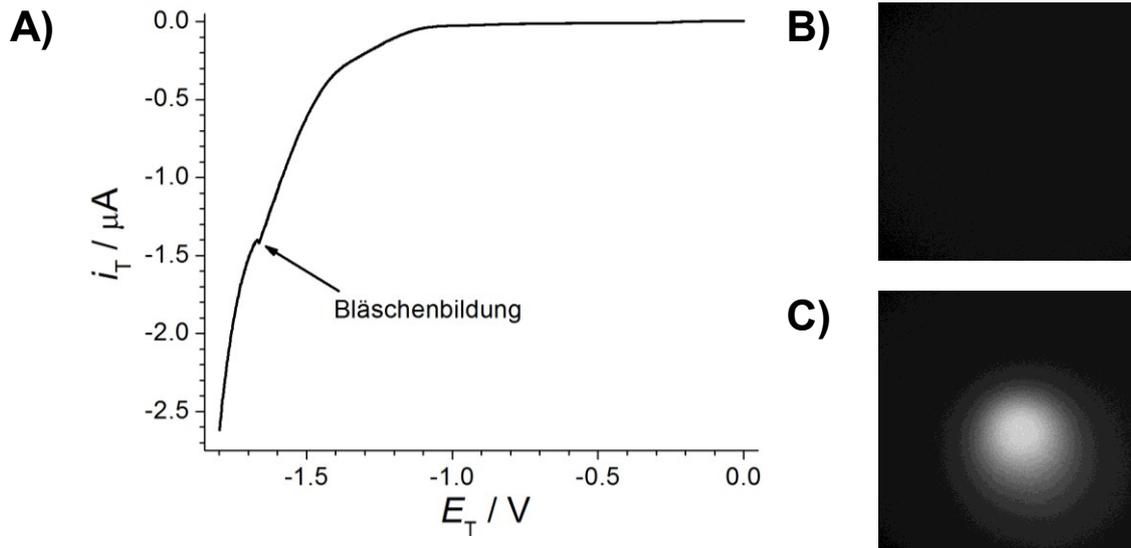


Abb. 29. Elektrochemische Wasserreduktion an einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in 0.1 M KNO_3 (1 mM Phosphat-Acetatpuffer, $\text{pH}_{\text{bulk}} 4.9$, $10 \mu\text{M}$ Fluorescein-dinatrium) und Untersuchung im CLSM A) Linear-Sweep-Voltammogramm der Wasserreduktion (E_T vs. Ag-QRE). CLSM-Aufnahmen bei B) ausgeschalteter Messzelle, C) $E_T = -1.3 \text{ V}$ vs. Ag-QRE ($375 \mu\text{m} \times 375 \mu\text{m}$).

Wie bei der Reduktion von Q in Kap. 5.1.2 wird eine maximale elektrochemische pH-Erhöhung auf $\text{pH } 6.6$ – 6.75 erreicht, je nachdem ob $E_T = -1.3 \text{ V}$ oder $E_T = -1.4 \text{ V}$ ($\text{pH}_{\text{bulk}} 6.6$) ist. Mit abnehmenden pH_{bulk} nimmt die Differenz von veränderten pH zu pH_{bulk} zu und erreicht sein Maximum $\Delta\text{pH} = 1.5$ ($\text{pH}_{\text{bulk}} 4.9$). Oberhalb von $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.6$ beobachtet man keine pH-Veränderung mehr. Wird das Elektrodenpotential, bei festem pH_{bulk} , von $E_T = -1.3 \text{ V}$ auf $E_T = -1.4 \text{ V}$ verschoben ändert sich die absolute elektrochemisch initiierte Verschiebung des pH-Wertes (Ausnahme: $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.6$) nicht. Die weitere Interpretation der Ergebnisse wird später erfolgen.

Der pH-empfindliche Fluoreszenzfarbstoff Fluorescein-dinatrium hat einen Arbeitsbereich zwischen 5 und 8. Interessant wäre es nun, eine Möglichkeit zu finden, um ein breiteres pH-Spektrum zu untersuchen. Dies könnte mit der Kombination von zwei Farbstoffen gelingen, wobei einer den niedrigeren sauren pH-Bereich und einer den mittleren bis alkalischen, bedient. Aus diesem Grund wurden die Fluoreszenzfarbstoffe LysoGreen™ ($\text{pH } 3.0$ – 6.0) und SNARF-1® ($\text{pH } 5.5$ – 9.0) verwendet, die nicht mit der gleichen Laser-Wellenlänge angeregt werden und in unterschiedlichen Wellenlängen (abhängig von pH_{bulk}) fluoreszieren. Ein großer Vorteil

bei der Verwendung eines Farbstoffes wie SNARF-1[®] mit zwei Emissionsmaximas ($I_{\lambda 1}$ und $I_{\lambda 2}$) ist, dass auch bei geringen Konzentrationsunterschieden $I_{\lambda 1}/I_{\lambda 2}$ von SNARF-1[®] annähernd konstant bleibt.^[203] Dadurch ist gewährleistet, dass auch bei kleinen Wäge- oder Pipetierfehlern, keine großen Messfehler bei der Untersuchung von kleinen H^+ -Konzentrationen in der Kalibrierung resultieren.

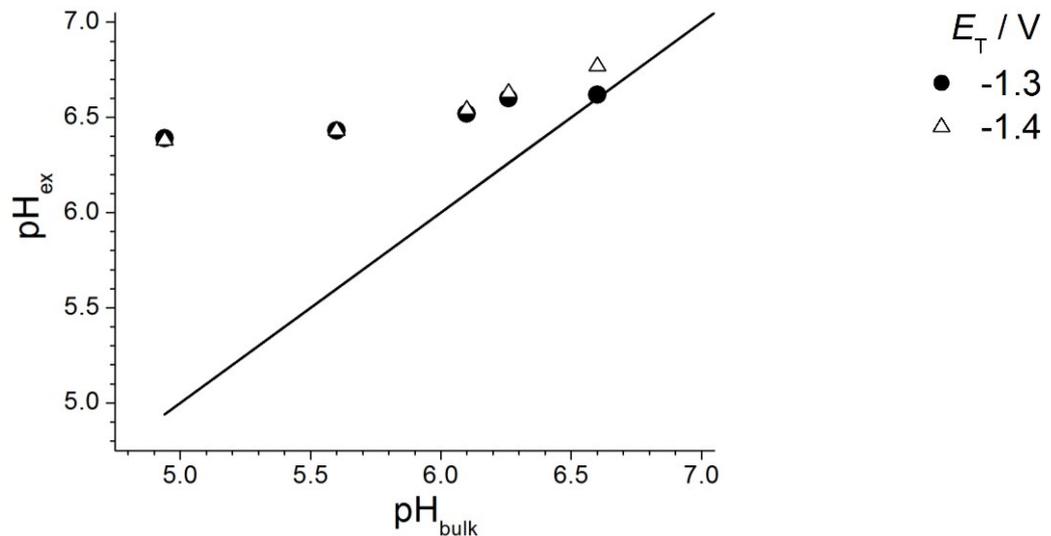


Abb. 30. Lokale pH-Verschiebung in Abhängigkeit von pH_{bulk} für Wasserreduktion in 0.1 M KNO_3 als Leitelektrolyt und mit 10 μM Fluorescein-dinatrium-Lösung bei variablen Potentialen E_T vs. Ag-QRE mit Gleichheitslinie $pH_{ex} = pH_{bulk}$ (Pt-UME: $r_T = 12.5 \mu m$, $RG = 10$; Pt-Gegenelektrode).

In Abbildung 31 sind Beispiele gezeigt, wie sich die Lichtintensitäten der verwendeten Farbstoffe beim Ein- (Abb. 31A, B, C) und Ausschalten (Abb. 31D, E, F) der elektrochemischen Messzelle verändern, wobei pH_{bulk} 6.0 war. Beim SNARF-1[®] verhalten sich der erste ($I_{\lambda 1}$) und der zweite ($I_{\lambda 2}$) Fluoreszenzbereich genau gegensätzlich. Bei geringen pH-Wert ist nur eine geringe Lichtintensität bei $I_{\lambda 1}$ und bei $I_{\lambda 2}$ eine hohe Intensität festzustellen. Wird ein reduzierendes Potential von $E_T = -1.4 V$ vs. Ag-QRE angelegt, werden OH^- -Ionen an der UME produziert und der pH nimmt lokal zu. Dadurch ändern sich die Fluoreszenzeigenschaften von SNARF-1[®]: In $I_{\lambda 1}$ nimmt die Fluoreszenz zu, in $I_{\lambda 2}$ ab. Die Fluoreszenzeigenschaften von LysoGreen[™] hingegen ändern sich kaum, da der pH-Analysebereich zwischen 3 – 6 liegt.

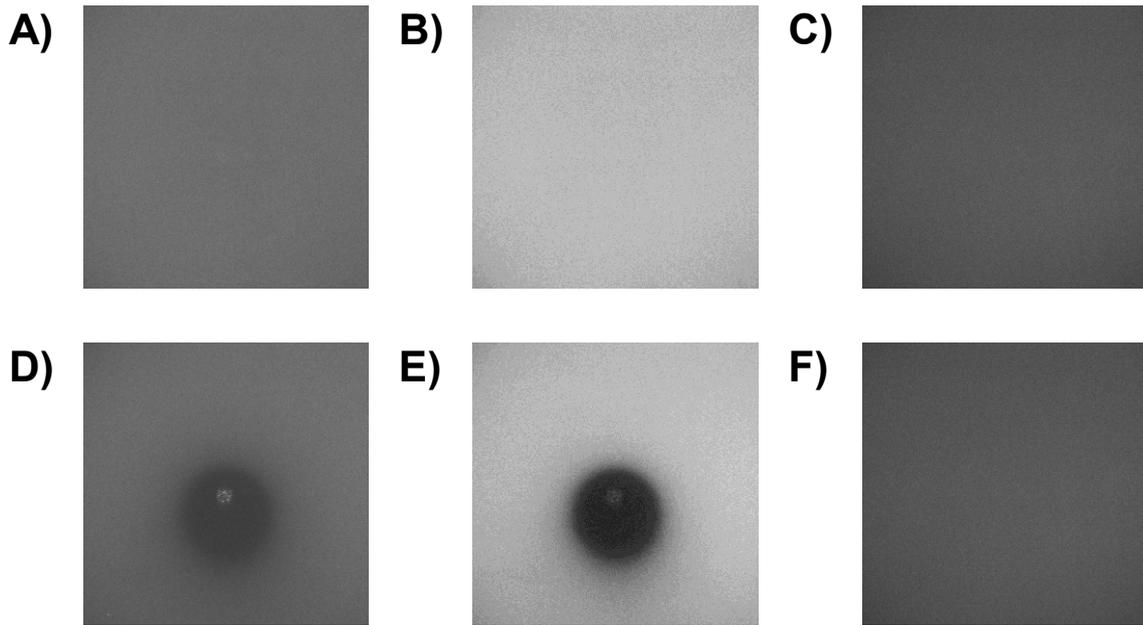


Abb. 31. CLSM-Aufnahmen ($375 \mu\text{m} \times 375 \mu\text{m}$) bei der Reduktion von Wasser in der Nähe einer Pt-UME ($d = 0 \mu\text{m}$, $r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in 0.1 M KNO_3 -Leitelektrolytlösung und $3 \text{ mM Phosphat-Acetatpufferkonzentration}$ ($\text{pH}_{\text{bulk}} 6.0$, $8 \mu\text{M SNARF-1}^{\text{®}}$ und $2 \mu\text{M LysoGreen}^{\text{TM}}$, Messparameter: s. Kap. 4.2.1). Obere Reihe mit A), B) und C): ausgeschaltete Messzelle, untere Reihe mit D), E), F): $E_T = -1.4 \text{ V}$ (vs. Ag-QRE). A) + D) $\text{SNARF-1}^{\text{®}}$ mit I_{λ_1} : $560 - 600 \text{ nm}$, B) + E) $\text{SNARF-1}^{\text{®}}$ mit I_{λ_2} : $620 - 660 \text{ nm}$, C) + F) $\text{LysoGreen}^{\text{TM}}$ mit I_F : $510 - 550 \text{ nm}$.

Für die quantitative Untersuchung wurden Messreihen mit variablen pH angefertigt, um eine Kalibrierung durchzuführen. Die Ergebnisse sind in Abb. 32 aufgetragen, wobei die schwarzen Quadrate die erhaltenen gemittelten Fluoreszenzintensitäten und die gestrichelten Linien den theoretischen Verlauf repräsentieren. Dabei zeigt Abb. 32C eine zusätzlich eingefügte Graphik für $\text{SNARF-1}^{\text{®}}$, in der das Intensitätsverhältnis für Emissionen bei λ_1 und λ_2 aufgetragen wurden (Abb. 32C). Die aus den experimentellen Daten berechneten $\text{p}K_S$ -Werte sind für $\text{SNARF-1}^{\text{®}}$ 7.39 (Lit.: $7.5^{[99]}$) und $\text{LysoGreen}^{\text{TM}}$ 5.17 (Lit.: $5.2^{[99]}$).

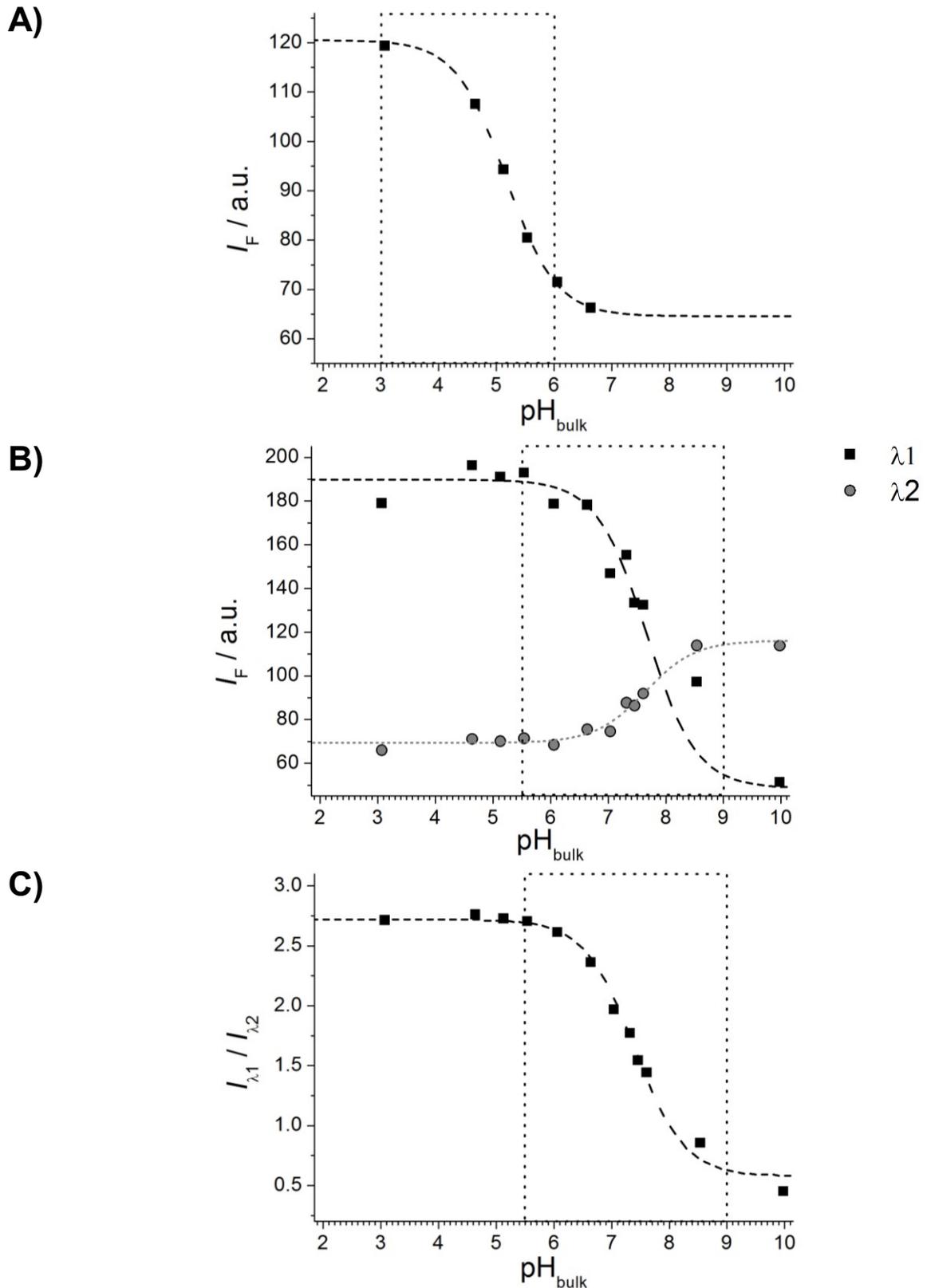


Abb. 32. Kalibrierung der Fluoreszenzfarbstoffe mit Hilfe des CLSM und pH-Arbeitsbereiche. A) 4 μ M LysoGreen™, B) 8 μ M SNARF-1®, C) Verhältnis von erster und zweiter Detektionsbereich der Wellenlängen $I_{\lambda_1}/I_{\lambda_2}$ von SNARF-1®.

Die Ergebnisse der durchgeführten Kalibrierung werden nun für die quantitative Analyse der pH-Wert herangezogen. In den Messungen werden sowohl E_T als auch die Phosphat-Acetatpufferkonzentration variiert. Abbildung 33 zeigt hierbei die pH-Wert-Verschiebungen, die aus den gemessenen Intensitätsdaten ermittelt werden. Wie schon bei der Verwendung von Fluorescein-dinatrium erkannt wurde, änderte sich die elektrochemisch erzeugte End-pH-Wert pH_{ex} nicht signifikant mit der Erhöhung des Elektrodenpotentials von $E_T = -1.3 \text{ V}$ nach $E_T = -1.4 \text{ V}$. Besonders eindrucksvoll ist dies in Abb. 33C zu beobachten. Der maximal erreichte Wert für pH_{ex} war 9 bei $\text{pH}_{\text{bulk}} 7$ und 2 mM Phosphat-Acetatpufferkonzentration (Abb. 33A). Wird $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer})$ auf 3 mM und 4 mM erhöht, sinkt der maximale pH_{ex} auf 8.8 und 8.5 ($\text{pH}_{\text{bulk}} 7$). Generell verringert sich im Mittel mit der ersten Zugabe von Puffer der pH um maximal 0.1 [$c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 3 \text{ mM}$, Abb. 33B]. Die erneute Zugabe von Puffer zeigte keine deutliche Abnahme des pH_{ex} mehr [$c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 4 \text{ mM}$, Abb. 33C].

Auffällig ist, dass auch hier ΔpH für alle Pufferkonzentrationen mit der Abnahme von pH_{bulk} zunimmt. Beim Arbeiten mit einer Phosphat-Acetatpufferkonzentration von 2 mM ist der maximale $\Delta\text{pH} = 2.9$ ($\text{pH}_{\text{bulk}} 4.1$) und sinkt auf bei ansteigendem Ausgangs-pH in der Messlösung ($\text{pH}_{\text{bulk}} 7.0$) $\Delta\text{pH} = 2.0$ (Abb. 33A). In Abbildung 33B kann ein maximaler $\Delta\text{pH} = 3.4$ ($\text{pH}_{\text{bulk}} 5.0$) und minimal $\Delta\text{pH} = 1.8$ ($\text{pH}_{\text{bulk}} 7.0$) realisiert werden. Die ΔpH bei der größten Pufferkonzentration ($c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 4 \text{ mM}$, Abb. 33C) sind maximal 3.4 für $\text{pH}_{\text{bulk}} 5.1$ und minimal 1.8 für $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.7$. Es ist keine Tendenz zu beobachten.

Wie auch im Kap. 5.1.2 wurden in Abb. 33 Pufferkapazitätskurven der jeweiligen Puffer eingezeichnet. Jedoch zeigt sich, dass dieser Lösungsparameter keinen Einfluss auf die Messergebnisse hat. Aus diesem Grund wird noch einmal der reduzierende Sondenstrom i_T bei $E_T = -1.4 \text{ V}$ und $E_T = -1.5 \text{ V}$ (vs. Ag-QRE) betrachtet (Abb. 34). Dieser steigt aufgrund des abnehmenden pH-Wertes in der Messlösung, da sich das Formalpotential der Wasserreduktion mit den pH-Wert verschiebt (Nernst-Gleichung). Mit steigendem i_T nimmt auch der Umsatz an der UME zu, wodurch ΔpH sich mit abnehmenden pH erhöht.

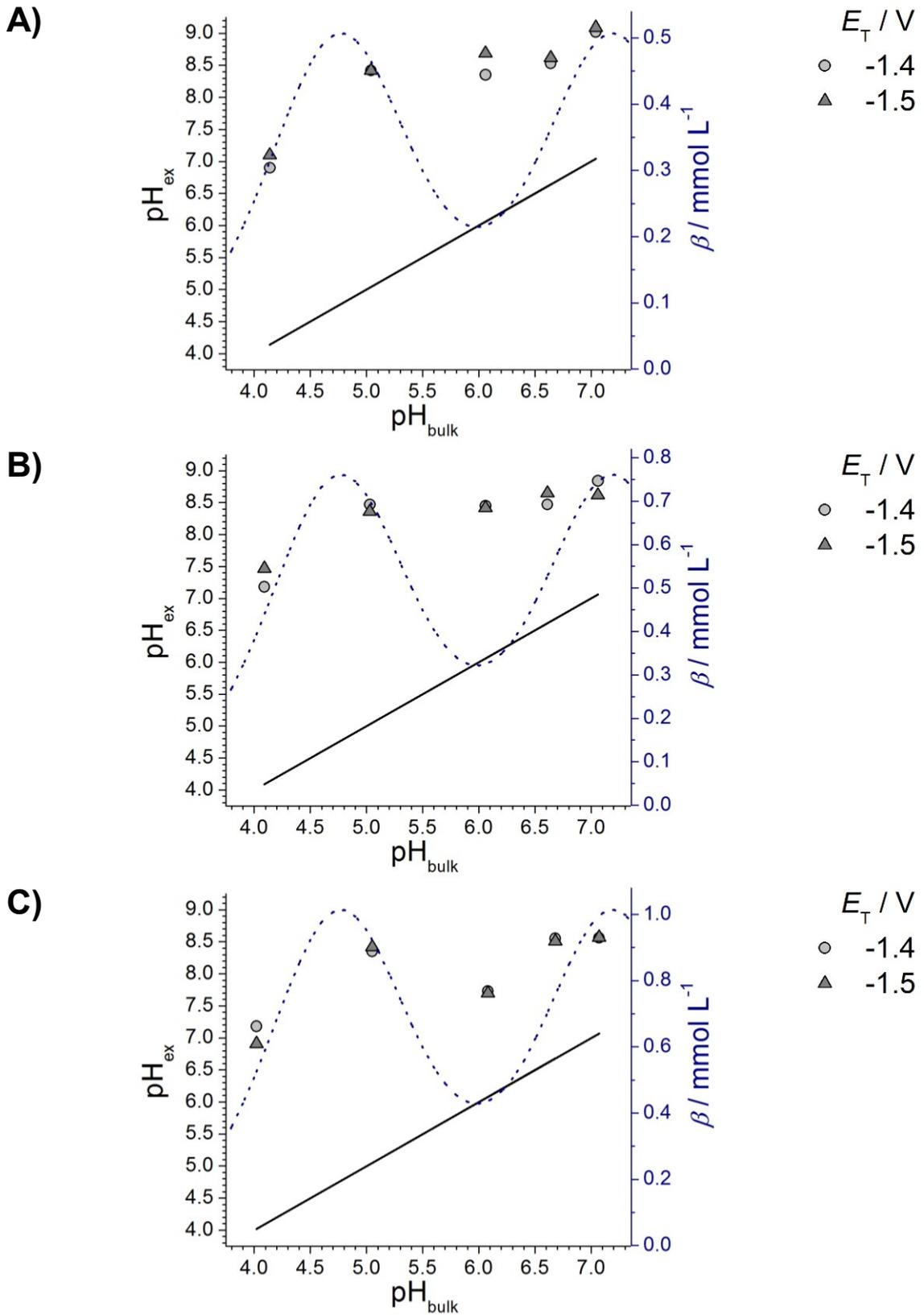


Abb. 33. Gemessene pH-Verschiebung und Pufferkapazität β in Abhängigkeit von pH_{bulk} und E_T (vs. Ag-QRE) aus CLSM-Daten (Wasserreduktion in 0.1 M KNO_3 -Lösung). A) 2 mM, B) 3 mM und C) 4 mM Phosphat-Acetatpufferlösung.

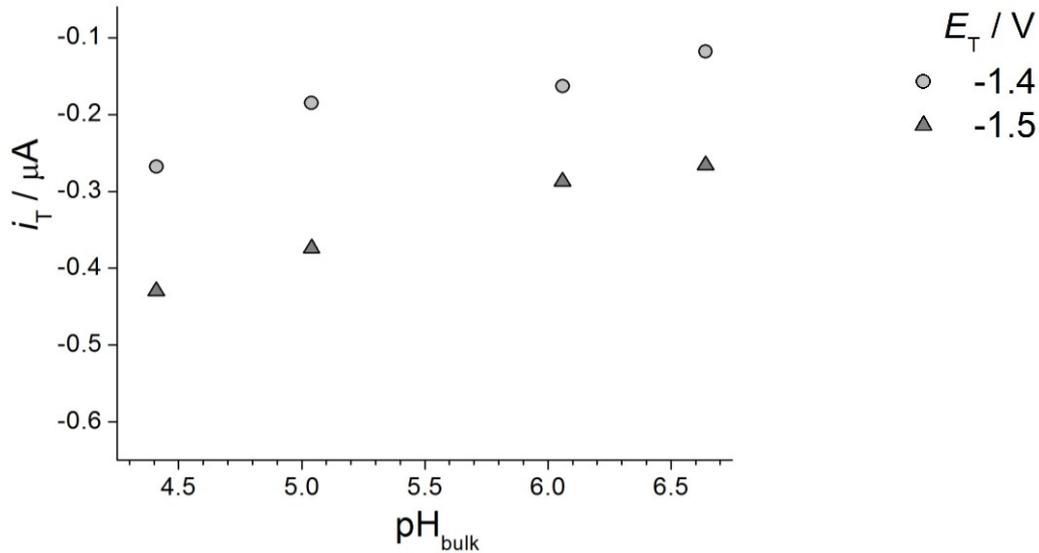


Abb. 34. Sondenstrom i_T in Abhängigkeit von pH_{bulk} für Wasserreduktion in 0.1 M KNO_3 als Leitelektrolyt und mit 10 μM Fluorescein-dinatrium-Lösung bei Potentialen $E_T = -1.4 \text{ V}$ und $E_T = -1.5 \text{ V}$ vs. Ag-QRE mit Gleichheitslinie (Pt-UME: $r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$; Pt-Gegenelektrode).

Abbildung 35 zeigt als Beispiel drei CLSM-Aufnahmen mit steigender Phosphat-Acetatpufferkonzentration [$c/\text{mM} = (2, 3, 4)$]. Hierbei werden nur die Bilder von SNARF-1[®] bei $\lambda_{\text{em}}/\text{nm} = (620 - 660)$ wiedergegeben. Es zeigt sich, dass der Bereich mit geändertem pH durch die Erhöhung der Pufferkonzentration (Fängermolekül) sich verkleinerte, also die elektrochemisch erzeugte Reaktionszone unter der Pt-UME erheblich eingeschnürt wurde.

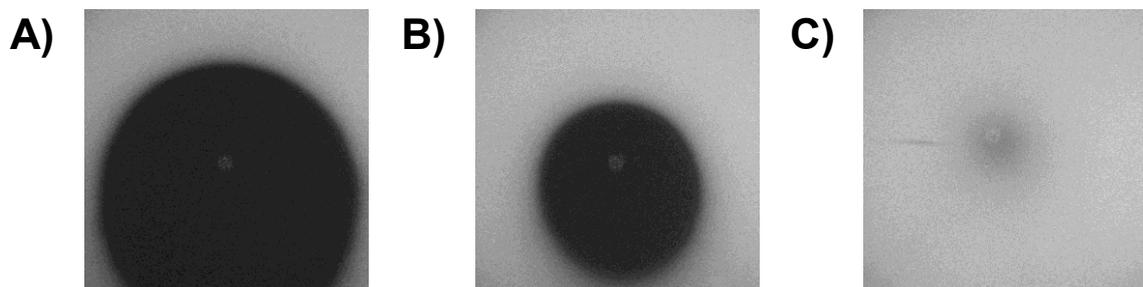


Abb. 35. CLSM-Aufnahmen ($375 \mu\text{m} \times 375 \mu\text{m}$) bei der elektrochemischen Wasserreduktion in der Nähe einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in 0.1 M KNO_3 bei den Phosphat-Acetatpufferkonzentration: A) 2 mM, B) 3 mM, C) 4 mM ($E_T = -1.5 \text{ V}$, $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.0$, 8 μM SNARF-1[®] ($I_{\lambda 1}$: 560 - 600 nm, $I_{\lambda 2}$: 620 - 660 nm) und 2 μM LysoGreen[™] (I_F : 510 - 550 nm), CLSM-Einstellungen s. Kap. 4.2.1).

Um den Effekt der „chemischen Linse“ durch die Zugabe von Puffer zu quantifizieren, fand mit der gleichen Technik wie in Kap. 5.1.2 die Bestimmung der Radien der Reaktionszonen $r_{S,0}$ in der Nähe der Pt-UME statt. Die Resultate sind in Abhängigkeit von E_T , pH_{bulk} und Phosphat-Acetatpufferkonzentration in Abb. 36 zu sehen.

Der Radius der Reaktionszone r_S nimmt tendenziell für alle Pufferkonzentrationen mit der Steigerung von pH_{bulk} zu. Aus Abbildung 36 kann man sehen, dass pro pH-Einheit bei $E_T = -1.4 \text{ V}$ für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 2 \text{ mM}$, $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 3 \text{ mM}$ und $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 4 \text{ mM}$ $r_{S,0}$ um durchschnittlich $37 \mu\text{m}$, $25 \mu\text{m}$ und $23 \mu\text{m}$ zunimmt. Für $E_T = -1.5 \text{ V}$ und für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 2 \text{ mM}$, $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 3 \text{ mM}$ und $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer}) = 4 \text{ mM}$ ist $r_{S,0}/\mu\text{M} = (36, 38, 26)$.

Das maximale $r_{S,0}$ ist für 2 mM Phosphat-Acetatpuffer (Abb. 36A) $183 \mu\text{m}$ und reicht über die Ränder der isolierenden Einfassung der UME hinaus. Entgegen dem Trend war die minimalste Vergrößerung der Diffusionsschicht bei $\text{pH}_{\text{bulk}} 6.1$ mit $41 \mu\text{m}$. Eine Erhöhung der Phosphat-Acetatpufferkonzentration führt zur deutlichen Verkleinerung der Reaktionszonen deutlich: Unter Verwendung von 3 mM Phosphat-Acetatpuffer ist $r_{S,0} = 147 \mu\text{m}$ der maximalste und der minimalste Wert $40 \mu\text{m}$. Wird die höchste Pufferkonzentration angewendet liegen die Ausmaße von $r_{S,0}$ zwischen $137 \mu\text{m}$ und $31 \mu\text{m}$.

Die Erhöhung des Potentials von $E_T = -1.4 \text{ V}$ nach $E_T = -1.5 \text{ V}$ ergibt in der Regel auch eine Verbreiterung der Reaktionszone für $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer})/\text{mM} = (2, 3)$ (Abb. 36A, B). Beim Arbeiten mit $c(\text{Phosphat-Acetatpuffer})/\text{mM} = 4 \text{ mM}$ bleibt die Vergrößerung von $r_{S,0}$ aus. Die Ausnahmen sind hier bei $\text{pH}_{\text{bulk}} 5.1$ und 7.1 (Abb. 36C). In Abbildung 36 sind auch die Pufferkapazitätskurven eingetragen. Wie auch schon bei der Interpretation der pH-Verschiebungen aufgrund der elektrochemischen Wasserreduktion, ist ersichtlich, dass dies nicht der entscheidende Parameter ist. Jedoch kann auch nicht der pH-abhängige Sondenstrom die vorliegenden Ergebnisse erklären.

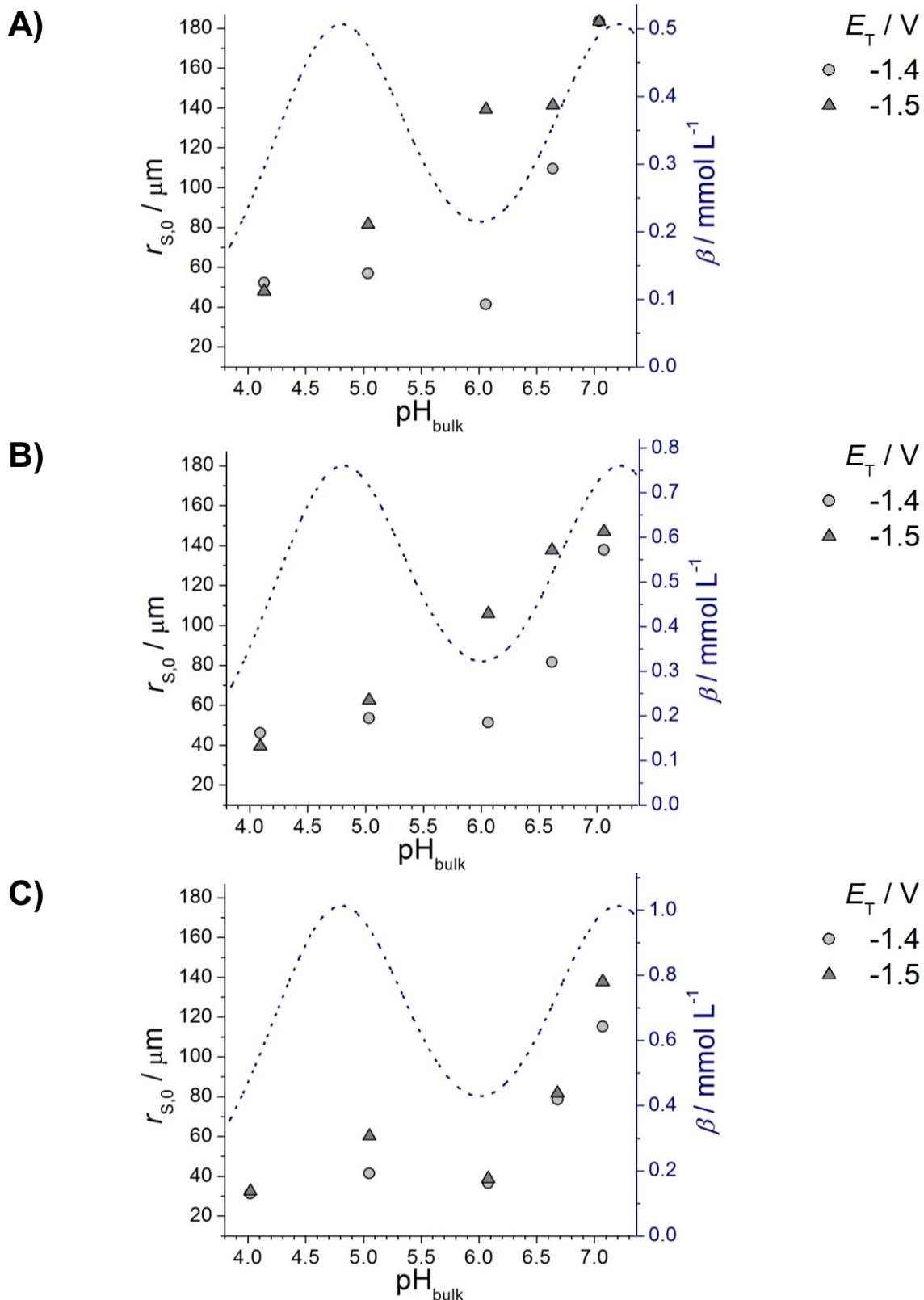


Abb. 36. Ausdehnung der Diffusionschicht der elektrochemisch erzeugten pH-Änderungen aus CLSM-Daten für die Wasserreduktion und Pufferkapazität β in Abhängigkeit von pH_{bulk} und E_T (vs. Ag-QRE). A) 2 mM, B) 3 mM und C) 4 mM Phosphat-Acetatpufferlösung.

In ihrem experimentellen Aufbau fanden Rudd et al.^[49] einen $r_{S,0} = 24 \mu\text{m}$ (Simulationen: $r_{S,0} = 26 \mu\text{m}$) für eine UME mit $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ für $i_T = 5 \text{ nA}$. Bei Steigerung des Sondenstroms auf 10 nA wurden $r_{S,0} = 49 \mu\text{m}$ (Simulationen: $r_{S,0} = 52 \mu\text{m}$) gemessen.^[49] Die Experimente dieser Arbeit erfolgten in einer ungepufferten Lösung mit 0.1 M KNO_3 als Leitelektrolyt [pH_{bulk} (4.5 - 5)]. Es ist ersichtlich, dass $r_{S,0}$ beim Einsatz ähnlicher Lösungen mit $57 \mu\text{m}$ etwas größer ist. Diese Abweichung kann erklärt werden, weil in den vorliegenden Versuchen ein Sondenstrom von mindestens 100 nA floss. Trotzdem ist eine Abweichung von $8 \mu\text{m}$ (der Vergleich mit dem Simulationen ergibt nur eine Differenz von $5 \mu\text{m}$) für diese Methode eine gute Übereinstimmung.

Kapitel 5.1.3 zeigt, dass es möglich ist, ein breites pH-Fenster (pH 4 - 9) mit Hilfe der CLSM zu untersuchen. Generell kann zusammengefasst werden, dass der Einsatz einer „chemischen Linse“ die lokal elektrochemisch verschobene H^+ -/ OH^- -Reaktionszone effektiv eingeschnürt werden kann. Dass die Konzentrationen des Puffers keinen signifikanten Effekt auf pH_{ex} haben, beobachteten schon Torbensen et al.,^[202] bei der elektrochemischen Mikrostrukturierung durch Aryl-Radikale. Deutlicher hingegen war auch die Wirkung des Puffers als Fängermolekül auf die Größe pH-basierender Reaktionszonen.

Versuche, dieses Farbstoffsystem als Indikator bei der mikroelektrochemisch induzierten pH-Änderung durch Reduktion/Oxidation von Q/ H_2Q einzusetzen, scheiterten bisher.

5.2 Untersuchung von mikroelektrochemisch erzeugten Br₂/HOBr-Reaktionszonen

Nach der Untersuchung von pH-Reaktionszonen soll nun eine Möglichkeit gefunden werden, auch andere Ionen- oder Substanzverteilungen optisch zu vermessen. Da die Verwendung von Br₂/HOBr im Kap. 3.4 ausschlaggebend für das Modifizieren von Au-OEG-SAM-Oberflächen ist, sollen die möglichen Auswirkungen von Fängermolekülen (engl. *scavenger*) auf die Ausbildung der Diffusionsschichten untersucht werden.

In dieser Arbeit erfolgt die Detektion von Br₂/HOBr durch das CLSM mit Hilfe des Fluoreszenzfarbstoffes Resorufin. Dieser Farbstoff ist bekannt für den Nachweis von Cl₂ und Br₂ in Luft, Gasmischen und Lösungen.^[204] In neutraler bis alkalischer Lösung fluoresziert die rote Resorufin-Lösung intensiv gelbrot. In der Anwesenheit von Br₂ reagiert Resorufin unter Bildung von Resorcinblau, welches in neutraler bis alkalischer Lösung nicht fluoresziert. Zur Bromierung eines Moleküls Resorufin werden vier Br₂-Moleküle benötigt.^[204]

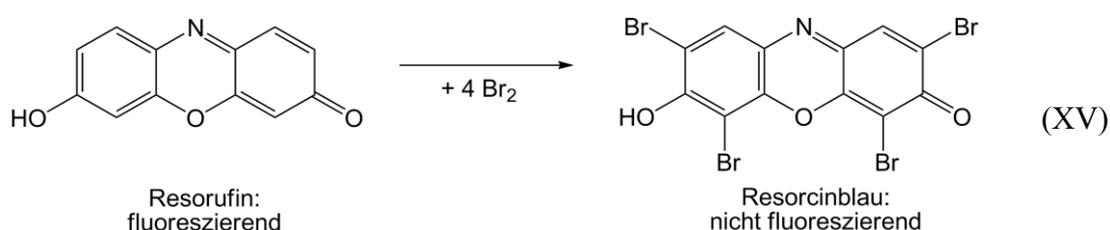


Abbildung 37A zeigt ein Cyclovoltammogramm für die Br⁻-Oxidation in einer CLSM-Messlösung von 10 μM Resorufin und 0.5 M K₂SO₄ (pH 7). In diesem Beispiel ist das Signal für die Br⁻-Oxidation bei einem Potential $E_T = 1.05$ V zu finden. Dabei ist wichtig, dass bei den folgenden Messreihen zur Vermessung des Br₂/HOBr-Profiles das eingeschaltete Potential an der Messspitze den Wert von $E_T = 1.2$ V nicht übersteigt. Andernfalls würde an der UME das Lösungsmittel Wasser elektrolysiert. Als Folge daraus könnte der pH-Wert der Lösung lokal verändert und damit der Fluoreszenzfarbstoff gelöscht werden. Deswegen wurde für alle weiteren Messungen ein Potential von 1.1 V gewählt. Darüber hinaus zeigen Abb. 37B und 37C ein Beispiel für die „On/Off-Situation“ in der Messzelle (UME in der Mitte der Bilder), wobei Abb. 37B eine CLSM-Aufnahme bei abgeschalteter Messzelle darstellt. Abbildung 37C zeigt die Situation bei $E_T = 1.05$ V. Hier wurde elektrochemisch Br₂/HOBr erzeugt, das in der

Nähe (Arbeitsabstand $d = 5 \mu\text{m}$) der UME den Farbstoff verbraucht und damit die Lichtintensität von Resorufin herabsetzt.

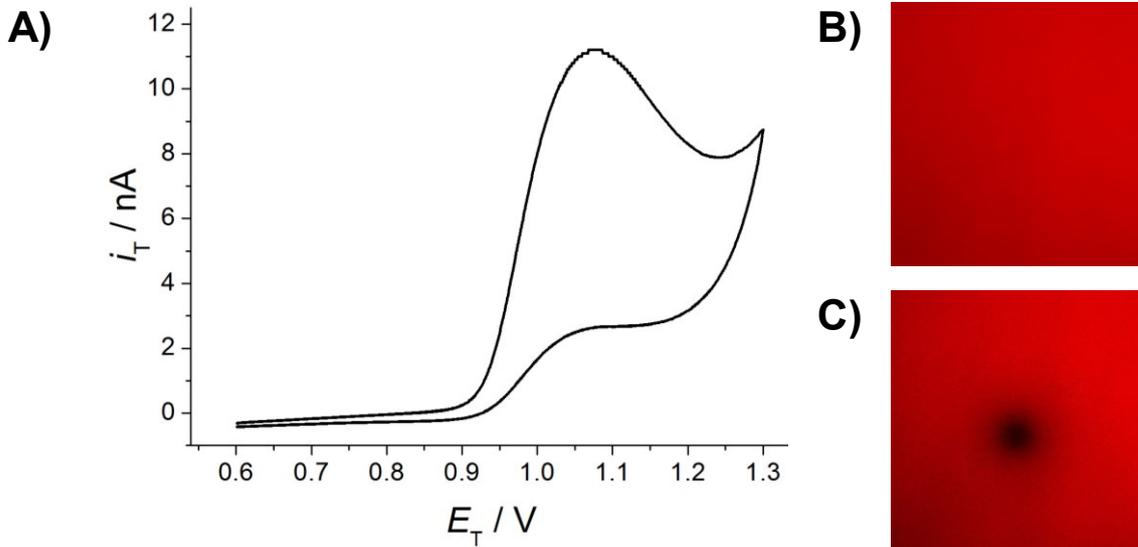


Abb. 37. A) CV der Oxidation von Br^- an einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) in Messlösung mit 5 mM KBr in 0.5 M K_2SO_4 ($\text{pH}_{\text{bulk}} = 7$, $10 \mu\text{M}$ Resorufin, E_T vs. Ag-QRE, $d = 5 \mu\text{m}$). Zugehörige CLSM-Aufnahmen bei B) ausgeschalteter Messzelle, C) $E_T = 1.1 \text{ V}$ vs. Ag-QRE ($375 \mu\text{m} \times 375 \mu\text{m}$).

Abbildung 38 zeigt die quantitative Ausdehnung des Konzentrationsgradienten von Br_2/HOBr aufgrund der signifikanten Löschung des Farbstoffes in der Messlösung bei unterschiedlichen Br^- -Ausgangskonzentrationen [$c/\text{mM} = (5, 10, 25)$]. Darüber hinaus fand eine Bewegung der z -Achse in $5 \mu\text{m}$ Schritten statt, um so die Veränderung der Diffusionsschicht senkrecht zur Flüssig-Fest-Grenzfläche zu untersuchen. Die Skalen wurden aufeinander abgestimmt, um einen direkten Vergleich zwischen Elektrodenoberfläche ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) und Arbeitsabstand d ($d = z$) herzustellen. Das Ende des Experiments wurde zu dem Zeitpunkt gewählt, an dem zwischen der geminderten Lichtintensität der Farblösung durch die elektrochemische Reaktion und der Umgebung nicht mehr zu unterscheiden war. Die Ermittlung der jeweiligen Breite der Reaktionszone $r_{\text{s,CLSM}}$ bei jedem beliebigem d erfolgte wie in Kap. 5.1 (Abb. 26).

Aufgrund der hemisphärischen Diffusion der Reaktionsedukte und -produkte zur bzw. von der UME ist eine Halbkugelform der Reaktionszone zu erwarten. Dies wird annäherungsweise in den Ergebnissen, die in Abb. 38 dargestellt sind, beobachtet.

Wie erwartet nimmt die Expansion der Diffusionsschicht mit zunehmender Ausgangskonzentration von Br^- in der Lösung zu. Die deutlichste Vergrößerung der Br_2/HOBr -Reaktionzone geschieht im Wechsel von 10 mM KBr zu 25 mM KBr-Ausgangskonzentration.

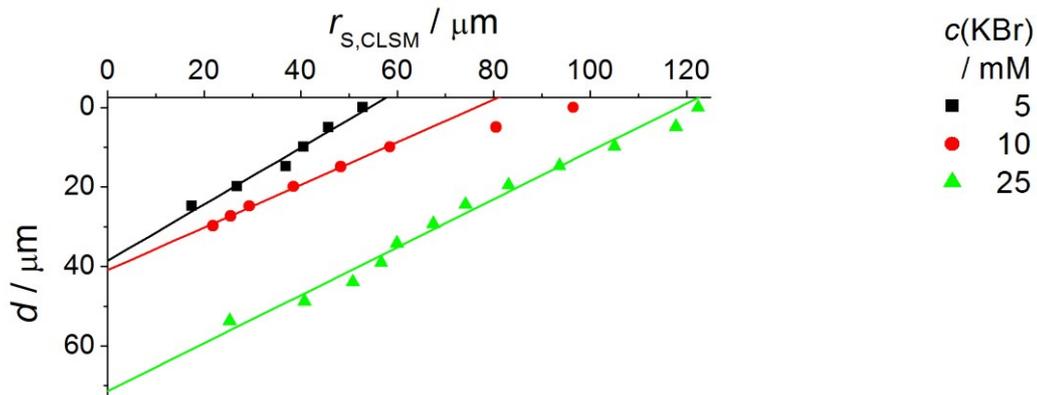


Abb. 38. Ausdehnung der Diffusionsschicht von mikroelektrochemisch erzeugtem Br_2/HOBr in 0.5 M K_2SO_4 -Lösung mit variablen KBr-Konzentrationen (Pt-UME: $r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$, 10 μM Resorufin, Quantitative Auswertung mit Hilfe der Leica Confocal Software 6.2 des CLSM, s. a. Kap. 5.1, Abb. 26).

In bestimmten Bereichen der verwendeten Arbeitsabstände ist eine annähernd lineare Abhängigkeit zwischen $r_{s,CLSM}$ und d zu beobachten. Mit Hilfe der linearen Regression werden diese Teilergebnisse in Näherungsformeln beschrieben.

$$c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM:} \quad d = 38.54 \mu\text{m} - 0.71 r_{s,CLSM} ; 0 \leq d/\mu\text{m} \leq 25$$

$$r_{s,CLSM} = 54.28 \mu\text{m} - 1.41 d ; 0 \leq d/\mu\text{m} \leq 25$$

$$c(\text{KBr}) = 10 \text{ mM:} \quad d = 40.91 \mu\text{m} - 0.54 r_{s,CLSM} ; 10 \leq d/\mu\text{m} \leq 35$$

$$r_{s,CLSM} = 75.76 \mu\text{m} - 1.85 d ; 10 \leq d/\mu\text{m} \leq 35$$

$$c(\text{KBr}) = 25 \text{ mM:} \quad d = 71.35 \mu\text{m} - 0.60 r_{s,CLSM} ; 10 \leq d/\mu\text{m} \leq 60$$

$$r_{s,CLSM} = 118.92 \mu\text{m} - 1.67 d ; 10 \leq d/\mu\text{m} \leq 60$$

An der Ausdehnung der Reaktionszone in der Lösung bei 5 mM Br^- -Ausgangskonzentrationen, erkennt man den Einschürungseffekt der Reaktionszone bei steigenden Fängermolekül-Konzentrationen (Abb. 39). Aufgrund der geringen Löslichkeit von L-Cystin im neutralen Lösungsmedium erfolgten die Messungen in 5 mM-KBr-Lösungen. Für den späteren Vergleich (s. Kap. 6.2) mit ausgewerteten

experimentellen Daten aus SECM-FB-Mode-Modifikationen von Au-OEG-Oberflächen wurde die normierte Fängermolekül-Konzentration $y_{\text{Sc/Br}^-}$ verwendet. Diese ergibt sich nach

$$y_{\text{Sc/Br}^-} = \frac{c(\text{Fängermolekül})}{c(\text{Br}^-)} \quad (26)$$

Mit der Steigerung der L-Cystin-Konzentration in der Messlösung nehmen die Werte für $r_{\text{S,CLSM}}$ signifikant ab. Dies gilt besonders bei der Steigerung von $c(\text{L-Cystin}) = 0 \text{ mM}$ auf $c(\text{L-Cystin}) = 2.5 \text{ mM}$, wo die Ausbreitung der Br_2/HOBr -Diffusionsschicht etwa auf die Hälfte ($\Delta r_{\text{S,CLSM}} = 31 \mu\text{m}$) gesenkt wird.

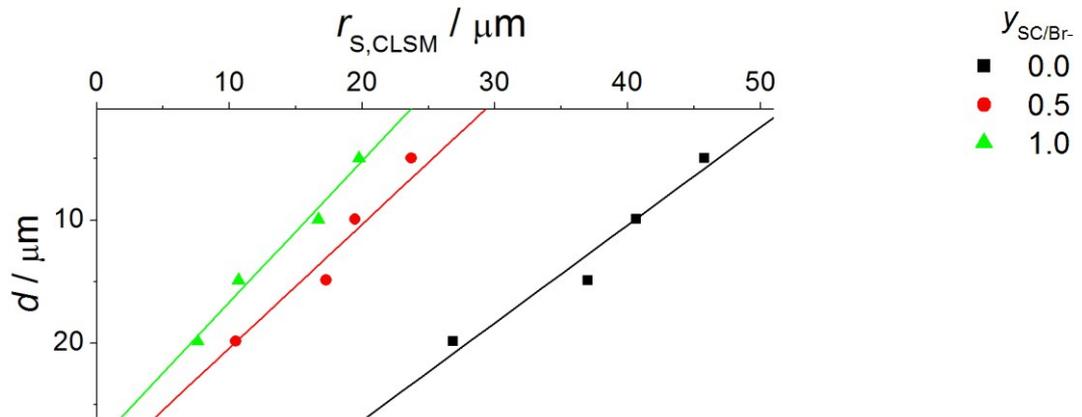


Abb. 39. Ausdehnung der Diffusionsschicht von mikroelektrochemisch erzeugtem Br_2/HOBr in 5 mM KBr-Lösung und 0.5 M K_2SO_4 Leitelektrolyt mit unterschiedlichen Konzentrationen von L-Cystin als Fängermolekül (Pt-UME: $r_{\text{T}} = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$, 10 μM Resorufin, Quantitative Auswertung mit Hilfe der Leica Confocal Software 6.2 des CLSM, s. a. Kap. 5.1, Abb. 26).

Auch in diesem Fall nimmt $r_{\text{S,CLSM}}$ mit zunehmendem Abstand d ($5 \leq d/\mu\text{m} \leq 20$) annähernd linear ab. Durch den Einsatz der linearen Regression werden auch diese Teilergebnisse in Näherungsformeln beschrieben.

$$\begin{aligned}
 y_{\text{Sc/Br}^-} = 0: & \quad d = 42.19 \mu\text{m} - 0.79 r_{\text{S,CLSM}} \\
 & \quad r_{\text{S,CLSM}} = 53.41 \mu\text{m} - 1.27 d \\
 y_{\text{Sc/Br}^-} = 0.5: & \quad d = 30.44 \mu\text{m} - 1.01 r_{\text{S,CLSM}} \\
 & \quad r_{\text{S,CLSM}} = 30.14 \mu\text{m} - 1.00 d \\
 y_{\text{Sc/Br}^-} = 1.0: & \quad d = 28.12 \mu\text{m} - 1.45 r_{\text{S,CLSM}} \\
 & \quad r_{\text{S,CLSM}} = 19.39 \mu\text{m} - 0.69 d
 \end{aligned}$$

Tabelle 16 (s. Kap. 6.2) fasst die Ergebnisse für den späteren Vergleich mit den SECM-Daten bei den häufigsten verwendeten Arbeitsabstände d zusammen.

Um die Daten des CLSM-Versuches auch quantitativ auszuwerten, wurde zunächst eine Kalibrierung vorgenommen. Hierbei kamen verschiedene Messlösungen mit wachsender Resorufin-Konzentration zum Einsatz. Die Kalibrierung erfolgte ähnlich wie bei der Untersuchung der pH-Profile: Bei verschiedenen Farbstoffkonzentration von Resorufin [$c/\mu\text{M}$: (0 – 15)] wurde in der Nähe der Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) eine CLSM-Aufnahme angefertigt und die durchschnittliche Fluoreszenzintensität I_F bestimmt. Die resultierenden Ergebnisse von I_F wurden gegen $c(\text{Resorufin})$ aufgetragen und so der lineare Zusammenhang festgestellt (Abb. 40A).

Gleichung XV besagt, dass ein Molekül Resorufin pro Formelumsatz mit vier Moleküle Br_2 zu einer nicht fluoreszierenden Verbindung umgesetzt wird. Unter Berücksichtigung dieses Sachverhalts wurde die Kalibrierung in Abb. 40B erstellt. In den anschließend verwendeten Messlösungen kam eine Farbstoff-Ausgangskonzentration von $10 \mu\text{M}$ zum Einsatz. Bei dieser Konzentration war die Fluoreszenz im Lösungsvolumen am maximalsten I_F (Schnitt mit Ordinatenachse) und folglich $c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = 0 \mu\text{M}$. Mit steigender Konzentration von elektrochemisch erzeugtem Br_2/HOBr wurde Resorufin verbraucht und die Fluoreszenzintensität I_F nahm ab. Wenn lokal $c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = 40 \mu\text{M}$ waren alle Farbstoff-Moleküle (Gl. XV) im Lösungsvolumen verbraucht und so $I_F = 0$ (Schnitt mit Abszissenachse). Für die Umrechnung der Abszissenachse gilt also:

$$c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = 4 c(\text{Resorufin}) + 40 \quad (27)$$

Für die Kalibrierung in Abb. 40B ergibt sich:

$$I_F = I_{F,0} + m_{\text{Kali}} \cdot c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) \quad (28)$$

$$I_F = 169.9 \pm 10.4 - (3.9 \pm 0.4) \mu\text{M}^{-1} \cdot c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) \quad (29)$$

Hierdurch konnten gemessene Fluoreszenzintensitäten Br_2/HOBr -Konzentrationen zugeordnet werden:

$$c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = \frac{I_F - I_{F,0}}{m_{\text{Kali}}} \quad (30)$$

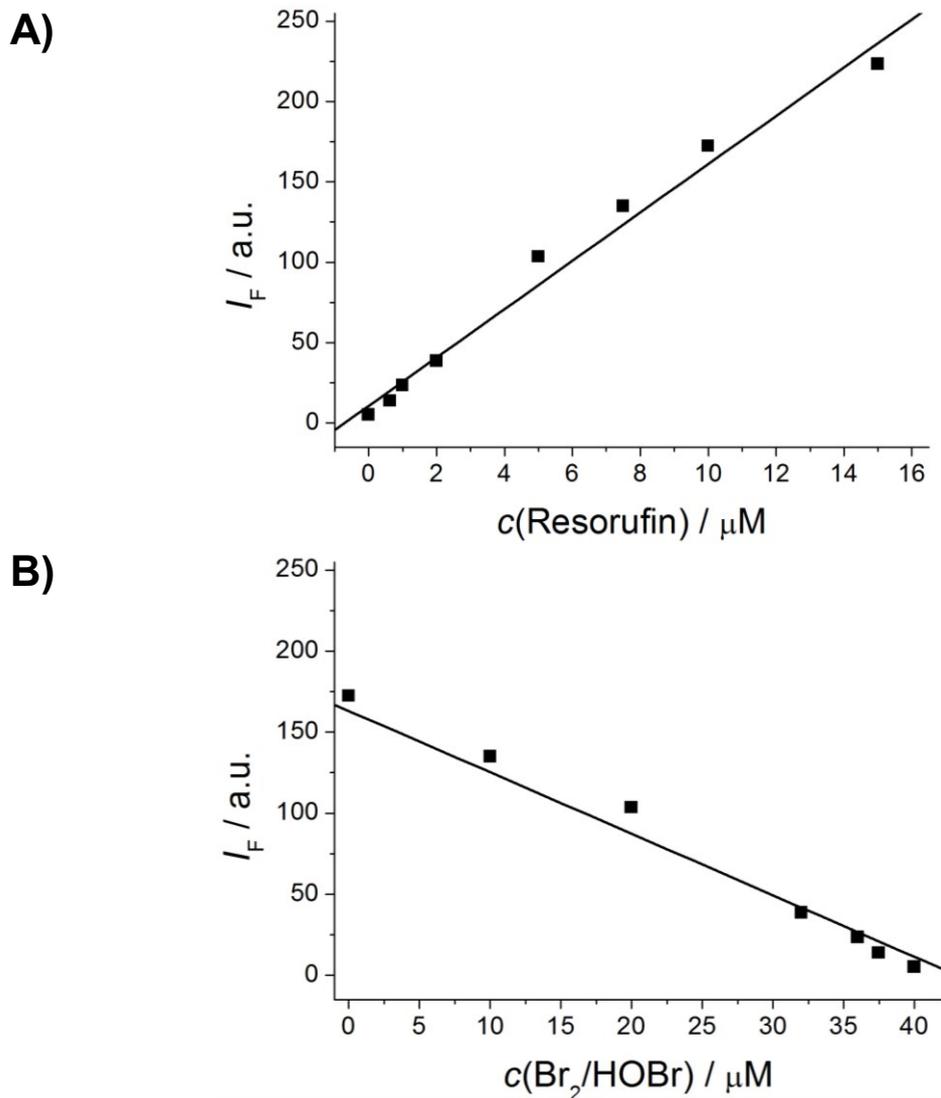


Abb. 40. Kalibrierung des Br_2/HOBr Fluoreszenzindikators Resorufin zur quantitativen Analyse der CLSM-Daten. A) Auftragung der Lichtintensität des Farbstoffes gegen die Farbstoffkonzentration, B) Auftragung der erwarteten Lichtintensität in einer $10 \mu\text{M}$ Resorufin-Lösung, wenn elektrochemisch erzeugtes Br_2/HOBr einen Teil des Farbstoffs zu einer nicht fluoreszierenden Verbindung umsetzt.

Mit dieser Kalibrierfunktion wurden nun ausgewählte Br_2/HOBr -Profile untersucht. Zunächst erfolgte die Aufnahme von Konzentrationsprofilen bei variablen KBr -Ausgangskonzentrationen [$c(\text{KBr})/\text{mM} = (5, 10, 25)$] in der Messlösung. Hierbei wurden die CLSM-Aufnahmen bei einem Arbeitsabstand von $5 \mu\text{m}$ und $10 \mu\text{m}$ angefertigt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Abb. 41 dargestellt.

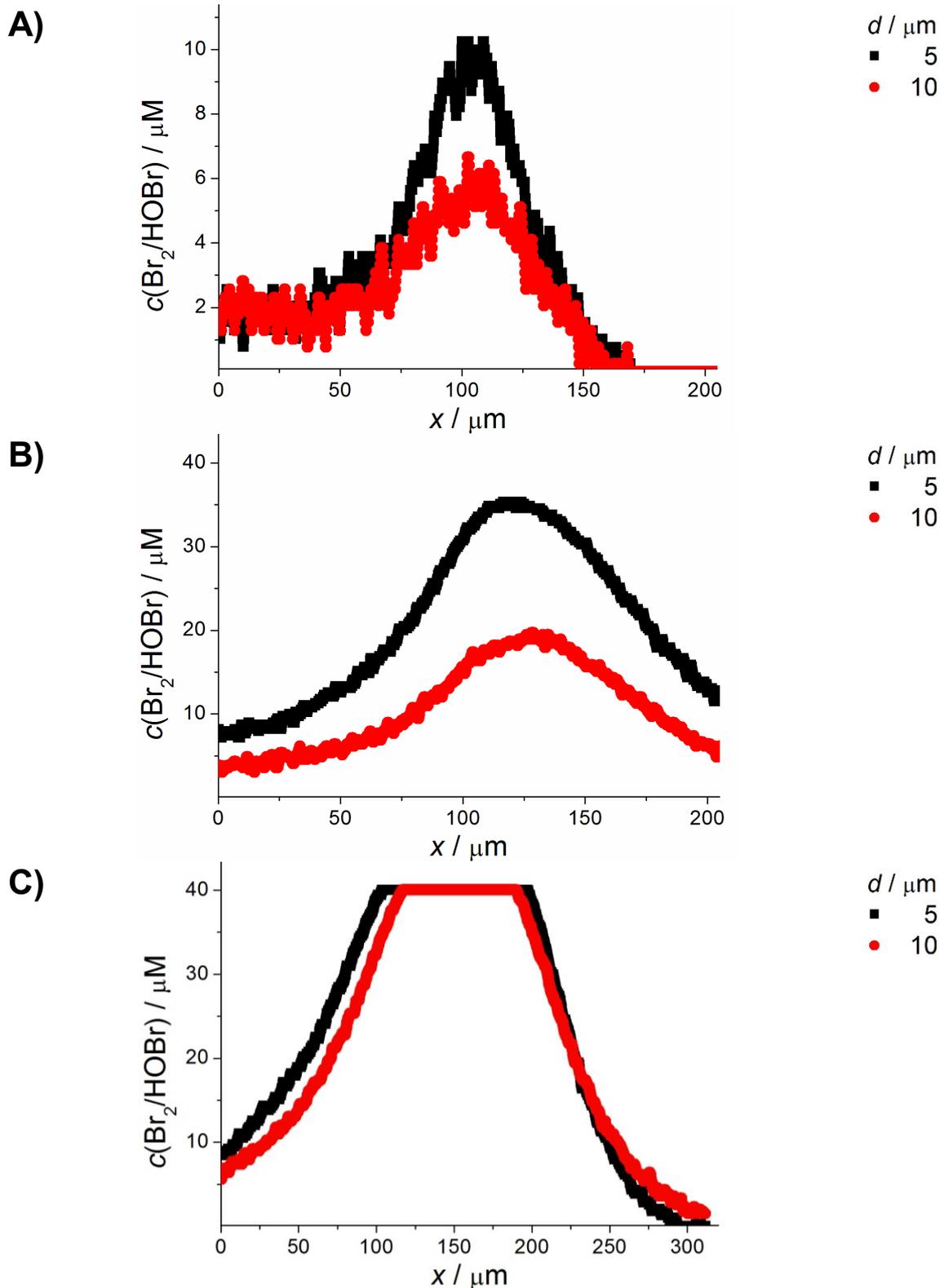


Abb. 41. Konzentrationsprofile Br_2/HOBr in der Nähe einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) bei variablen KBr-Konzentrationen in $0.5 \text{ M K}_2\text{SO}_4$ -Leitelektrolyt-Lösung (pH 7, $10 \mu\text{M}$ Resorufin, $E_T = 1.1 \text{ V vs. Ag-QRE}$). A) 5 mM , B) 10 mM , C) 25 mM KBr.

Unter Verwendung einer 5 mM sowie 10 mM KBr-Messlösung wurde die obere Grenze der Kalibrierung, d. h. die maximale Br_2/HOBr -Konzentration, die noch quantitativ auswertbar ist, nicht überschritten. Jedoch bei einer KBr-Ausgangskonzentration von 25 mM KBr wird in der Nähe der UME so viel Br_2/HOBr elektrochemisch erzeugt, dass die obere Grenze von 40 μM überschritten wird (Abb. 41C). Mit zunehmender Entfernung zur UME (Arbeitsabstand d) nimmt die lokale Konzentration von Br_2/HOBr ab, genau wie der Radius der Br_2/HOBr -Reaktionszone. Beim Arbeiten mit $c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM}$ ist bei $d = 5 \mu\text{m}$ die maximale $c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = 10 \mu\text{M}$ und bei $d = 10 \mu\text{m}$ $c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = 6 \mu\text{M}$ (Abb. 41A). Wird 10 mM KBr in der Messlösung eingesetzt, stellte man nach der Umrechnung von $c(\text{Br}_2/\text{HOBr})$ bei einem Arbeitsabstand von 5 μm 35 μM und bei $d = 5 \mu\text{m}$ in etwa 20 μM Br_2/HOBr fest (Abb. 41B). Dies gilt aber nur unter der Annahme, wenn die Reaktion nach Gl. XV sehr schnell verläuft.

Anschließend werden Konzentrationsprofile ohne (Abb. 41A) und mit L-Cystin [$y_{\text{Sc}/\text{Br}^-} = (0.5, 1)$] in einer 5 mM KBr-Lösung verglichen (Abb. 42). Es zeigt sich, dass das Signal-Rausch-Verhältnis bei kleinen $c(\text{KBr})$ nicht optimal ist und so die Auswertung mit Fehlern behaftet sein könnte. Die Ausreißer in der Messung bei Einsatz des Fängermoleküls rühren von der partiellen Belegung der Elektrodenoberfläche her. Aus diesem Grund konnten Konzentrationsprofile auch nicht bei höheren KBr-Ausgangskonzentrationen, untersucht werden. In Abbildung 42 wird die Einschnürung der Reaktionszone beim Einsatz des Fängermoleküls L-Cystin deutlich, da sich die Ausdehnung der Br_2/HOBr -Diffusionsschicht (vgl. Abb. 39) signifikant verringert. Die lokale Br_2/HOBr -Konzentrationen in der Nähe der UME ($d = 5 \mu\text{m}$) nimmt durchschnittlich (unter fehlender Berücksichtigung der Ausreißer) ab. Mit und ohne L-Cystin beträgt die maximale lokale Konzentration des elektrochemisch erzeugten Br_2/HOBr 8 - 11 μM . Bei Vergrößerung des Arbeitsabstandes ($d = 10 \mu\text{m}$) erkennt man zwischen den beiden Messlösungen einen geringfügigen Unterschied: In der Lösung ohne Fängermolekül wird $c(\text{Br}_2/\text{HOBr}) = 6 \mu\text{M}$ erreicht und mit 4 μM bis 5.5 μM Br_2/HOBr .

Besser wäre der Einsatz eines Farbstoffes, der bei saurem pH eingesetzt werden kann, um die UME durch Lösen der Produkte (z. B. Sulfonsäure, s. Gl. 17) beim Abfangen von Br_2/HOBr sauber zu halten. Ideal wäre der Einsatz eines Farbstoffes, der nicht permanent sondern nur temporär bei Anwesenheit von Br_2/HOBr gelöscht würde.

Durch reversible Fluoreszenzlöschungen (engl. *quenching*) wie bei der pH-Wert-Bestimmung, sollte der Farbstoff regeneriert und wieder in das System zurückgeführt werden. Der alternative Einsatz des Br_2 -Fluoreszenzindikator Luciginin führte aber bisher aufgrund der zu geringen Signalstärke zu keinem Ergebnis.

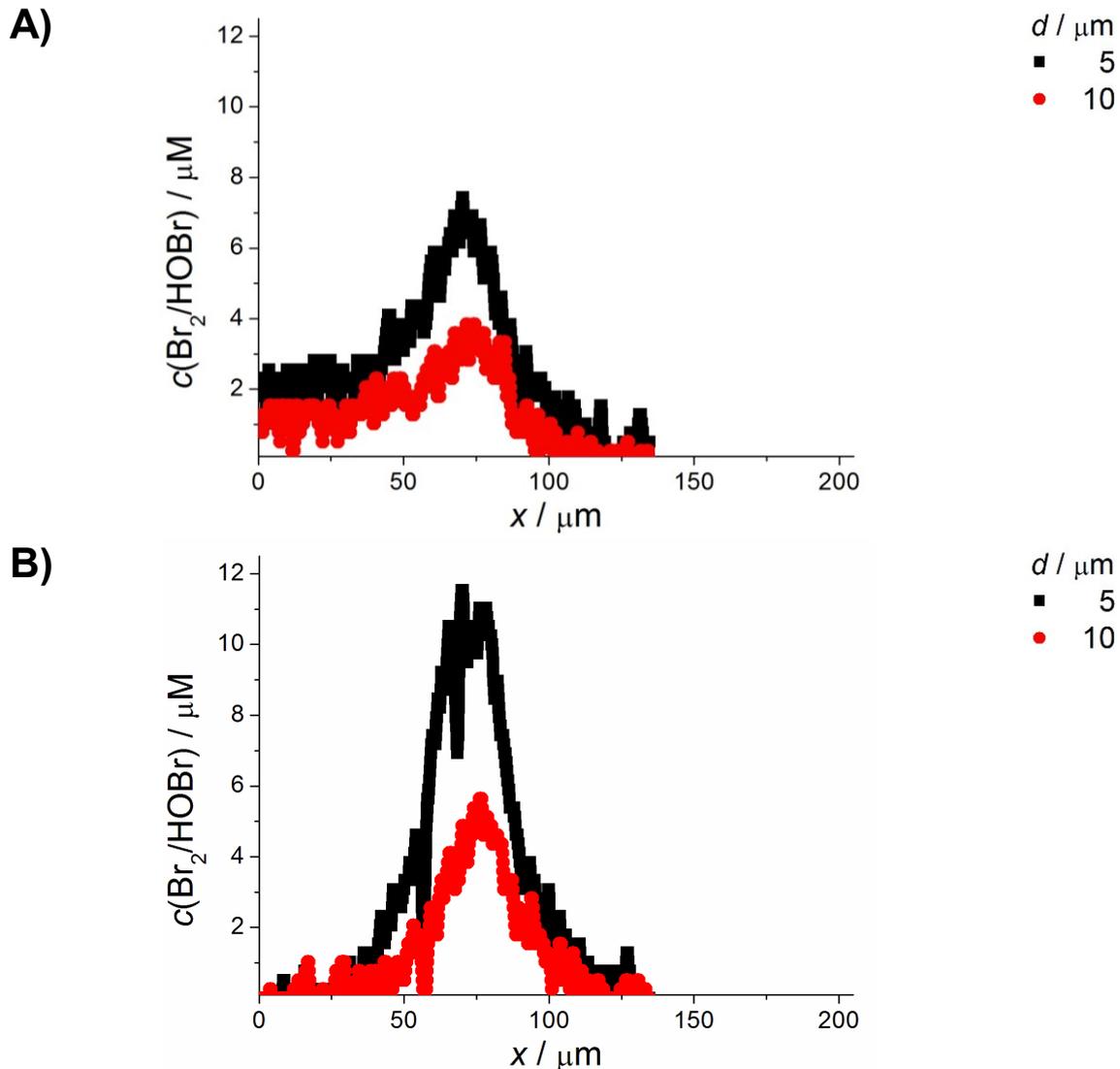


Abb. 42. Konzentrationsprofile von Br_2/HOBr in der Nähe einer Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $RG = 10$) bei 5 mM KBr in 0.5 M K_2SO_4 -Leitelektrolyt-Lösung (pH 7, 10 μM Resorufin, $E_T = 1.1 \text{ V}$ vs. Ag-QRE) mit variablen L-Cystin-Konzentrationen: A) $y_{\text{Sc}/\text{Br}^-} = 0.5$, B) $y_{\text{Sc}/\text{Br}^-} = 1$.

Die Auswertung der experimentellen Ergebnisse der Untersuchungen von Br_2/HOBr mit Hilfe des CLSM zeigen gute Resultate. Trotz der vergleichsweise schlechten Signal-Rausch-Verhältnisses (besonders bei kleineren KBr -Konzentrationen) bei der Bestimmung von Konzentrations-Profilen ist dies ein vielversprechender Anfang zur direkten Untersuchung und von Konzentrationsprofilen von Br_2/HOBr . Die Ergebnisse könnten in Simulationen unter Verwendung der Methode der Finiten Elemente verifiziert werden.

Unter Berücksichtigung dieser gewonnenen Erkenntnisse wird nun die Oberflächenmodifikation von Oligo(ethylenglykol)-terminierten selbstorganisierten Oberflächen mit Hilfe des elektrochemischen Rastermikroskops untersucht. Das Ziel ist hierbei die Verbesserung der Auflösung der elektrochemischen Mikrostrukturierung.

6 Verbesserung lokaler mikroelektrochemischer Oberflächenmodifikationen von Oligo(ethylenglykol)-terminierten selbstorganisierten Monoschichten

Um das laterale Auflösungsvermögen der mikroelektrochemischen Oberflächenstrukturierung des SECM zu steigern, ist es dringend notwendig die Ausdehnung der Br_2/HOBr -Diffusionsschicht zu begrenzen. Für diesen Zweck werden Fängermoleküle eingesetzt, die eine schnelle homogene Reaktion mit dem Ätzmittel im Lösungsvolumen eingehen (Kap. 3.4), jedoch selbst nicht an der Elektrodenoberfläche reagieren. Hierdurch soll die Lebensdauer von Br_2/HOBr durch Abreaktion begrenzt werden. Die Ausdehnung der Br_2/HOBr -Diffusionsschicht wird so eingegrenzt und die Modifikation der Probenoberfläche auf einen kleineren Bereich als im Falle der ungehinderten Diffusion begrenzt.

In diesem Kapitel werden zum ersten Mal die Br_2 -Fängermoleküle L-Cystin und Cystamin eingesetzt, um die lokale mikroelektrochemische Modifikation von OEG-SAM zu verbessern.

6.1 Lokale Oberflächenstrukturierung von OEG-SAM durch das SECM und anschließende Untersuchung durch PFM des SFM

In diesem Kapitel wird zunächst das Verfahren beschrieben, mit dem mikroelektrochemisch modifizierte Oberflächen für die nachfolgenden Interpretationen ausgewertet wurden. Abbildung 43 zeigt beispielhaft eine SECM-Aufnahme im FB-Mode einer mit Br_2/HOBr mikroelektrochemisch modifizierten Au-OEG-SAM-Oberfläche. Zur Auswertung des SECM-Bildes erfolgt durch das Profiltool der hauseigenen Software MIRA. Die Größe der modifizierten Bereiche wird dort abgelesen, wo der lokale Strom i_T gleich $i_{T,\infty}$ ist. Die Wahl dieses Kriteriums sollte reproduzierbares Ablesen erlauben. Jedoch können möglicherweise die so erhaltenen Daten mit einer systematischen Abweichung behaftet sein. Der Vergleich mit komplementären Rastermethoden mit höherer lateraler Auflösung soll das Vorgehen verifizieren.

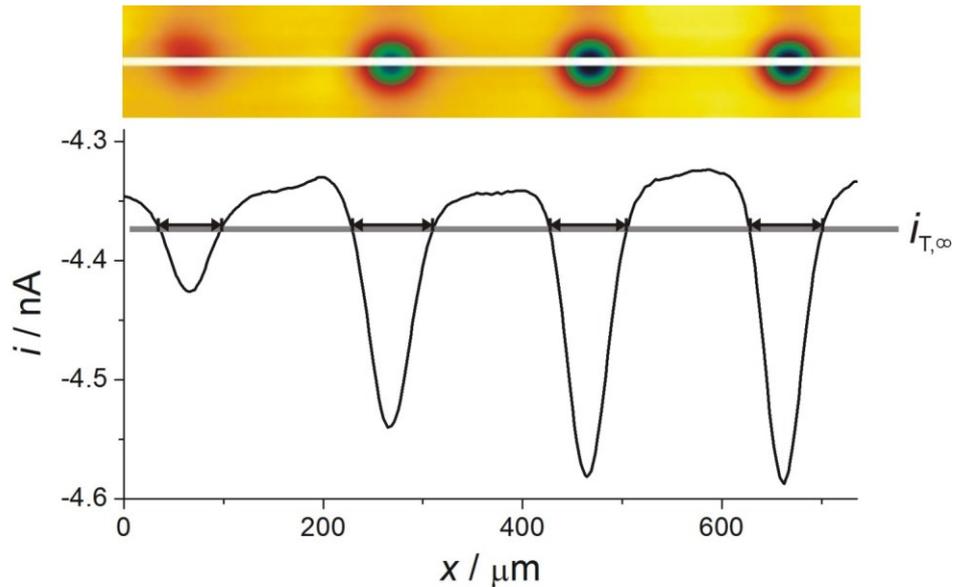


Abb. 43. Vorgehen zur Vermessung der mikroelektrochemisch strukturierten Bereiche einer Au-OEG-Oberfläche: Der Linienscan wurde durch das Profilttool der Software MIRA erzeugt. Als Breite wird die Peakbreite bei $i_T = i_{T,\infty}$ angegeben.^[188]

Aus älteren Publikationen ist die Verwendung des Lateral-Force-SFM für die Charakterisierung von SAMs bekannt.^[205] Jedoch waren die hiermit gewonnenen experimentellen Ergebnisse durch die hohe optische Interferenz sowie die langsame Abtastrate mit Fehlern behaftet. Zhao et al^[23] nutzten den Pulsed-Force-Modus des Rasterkraftmikroskops (PFM-SFM), um die Monolagen nach Mikrokontaktdrucken (μCP) zu charakterisieren. Mittels dieser Technik werden die Nachteile des Lateral-Force-SFM vermieden. Von zentraler Bedeutung für derartige Proben ist die Verwendung eines goldbeschichteten Cantilevers, welcher zuvor mit einer selbstorganisierten Monoschicht aus 11-Mercaptoundecansäure chemisch funktionalisiert wird. Die hydrophil modifizierte Messspitze kann die hydrophilen und hydrophoben Teile der modifizierten OEG-SAMs detektieren, da die Adhäsionskräfte direkt abhängig von der Wechselwirkung zwischen den chemisch funktionalisierten Endgruppen der SAM an der Probe und der Messspitze sind (Abb. 44). Tastet der hydrophile Cantilever beispielsweise den modifizierten hydrophoben Teil des Au-OEG-SAM-Substrates ab, erfolgt eine abstoßende Wechselwirkung zwischen SFM-Spitze und Substrat. Über der unmodifizierten OEG-SAM-Oberfläche bewirken die Anziehungskräfte eine stärkere Adhäsion des Cantilevers an die Oberfläche.

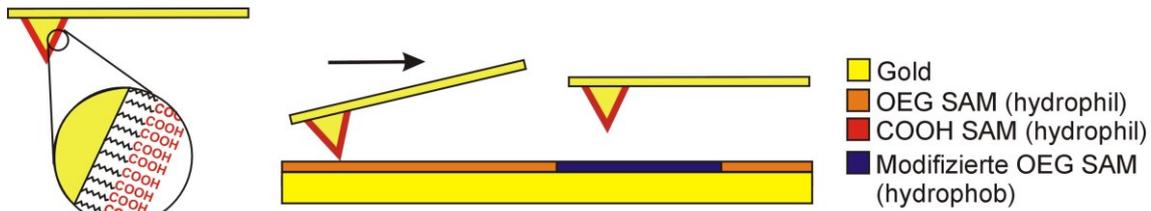
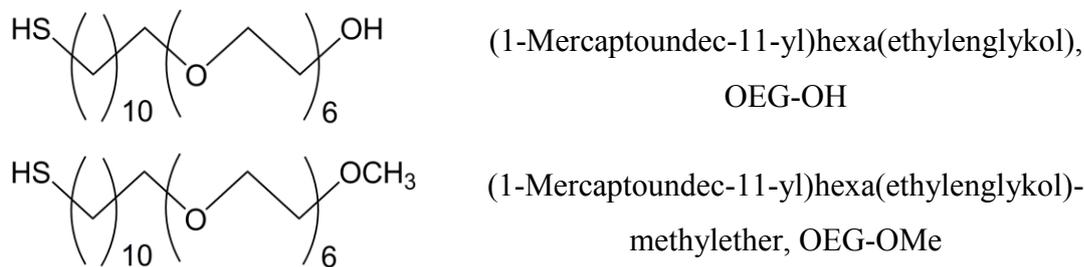


Abb. 44. Schematische Darstellung der Abbildung von Adhäsion durch PFM-SFM mit chemisch funktionalisierten Spitzen.

Für die nun folgenden Modifizierungsexperimente wurden zwei Sorten von Thiolen verwendet:



Zum späteren Auffinden der behandelten Stellen durch das Videomikroskop des SFM wurden die hergestellten Au-OEG-SAM-Substrate vor dem Einbau ins SECM mit einem mit bloßem Auge sichtbaren kreuzförmigen Kratzer versehen. Hierdurch wurde die ursprüngliche Au-Oberfläche wieder freigelegt, wodurch an diesen Stellen im SECM ein positiver Feedback-Strom detektiert wird. Danach wurden mit Hilfe einer UME mit $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ UME in einer 25 mM KBr-Lösung jeweils fünf lokale Oberflächenmodifizierungen ($E_T = 1.2 \text{ V}$, $d = 15 \mu\text{m}$) mit steigender Pulszeit (1 - 5 s) erstellt. Die anschließende Charakterisierung erfolgte durch den FB-Mode des SECM mit dem Redoxmediator $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ (Abb. 45A, 46A).

Durch die anschließende Untersuchung der markierten Bereiche mit dem PFM-SFM (Abbildungen aufgenommen von Frank Meiners) wird deutlich, dass durch den Einsatz der feineren Messspitze eine deutlich höhere laterale Auflösung als beim SECM erreicht wird. Die Form der modifizierten Bereiche kann eindeutiger identifiziert werden (Abb. 45B-D, 46B-D).

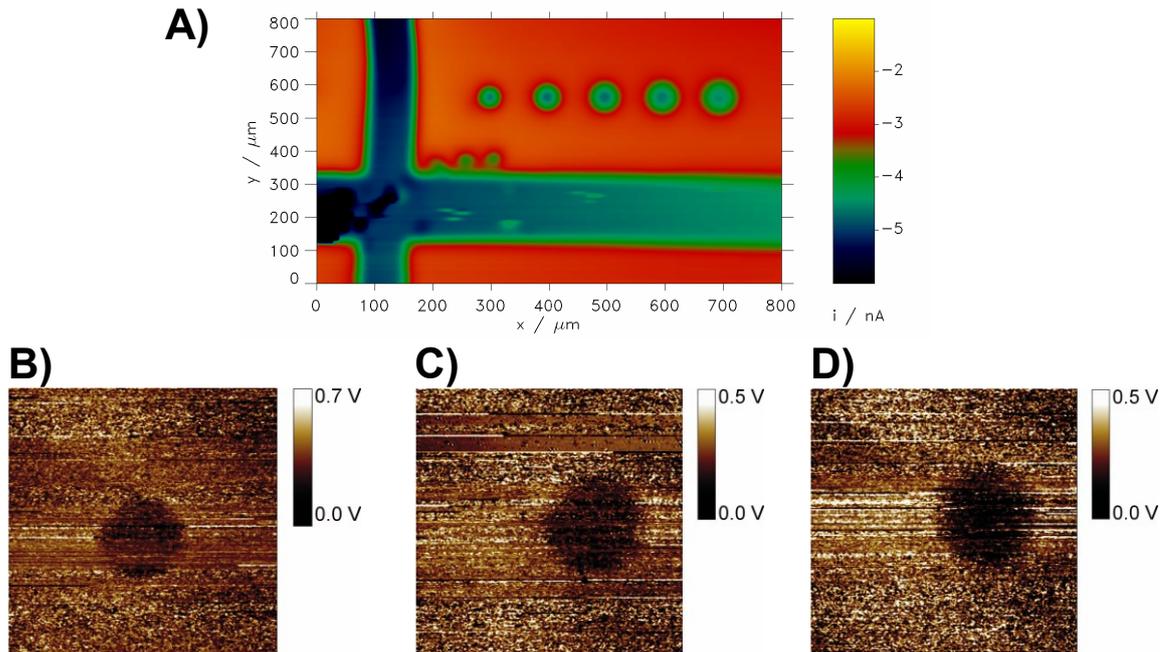


Abb. 45. OEG-OH-SAM-Substrate nach Oberflächenmodifikation (25 mM KBr in 0.1 M Phosphatpuffer, pH 7, $d = 5 \mu\text{m}$, t (in s, v. l. n. r.): 1, 2, 3, 4, 5). A) SECM-Abbildung im FB-Mode ($v_T = 25 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V}$ vs. Ag-QRE) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7). B) – D): Beispiele für PFM-SFM-Aufnahmen (Adhäsionssignal) mit COOH-modifiziertem Au-Cantilever (v. l. n. r.: 2., 4. und 5. Punkt), Kantenlänge der Abbildungsausschnitte 100 μm .

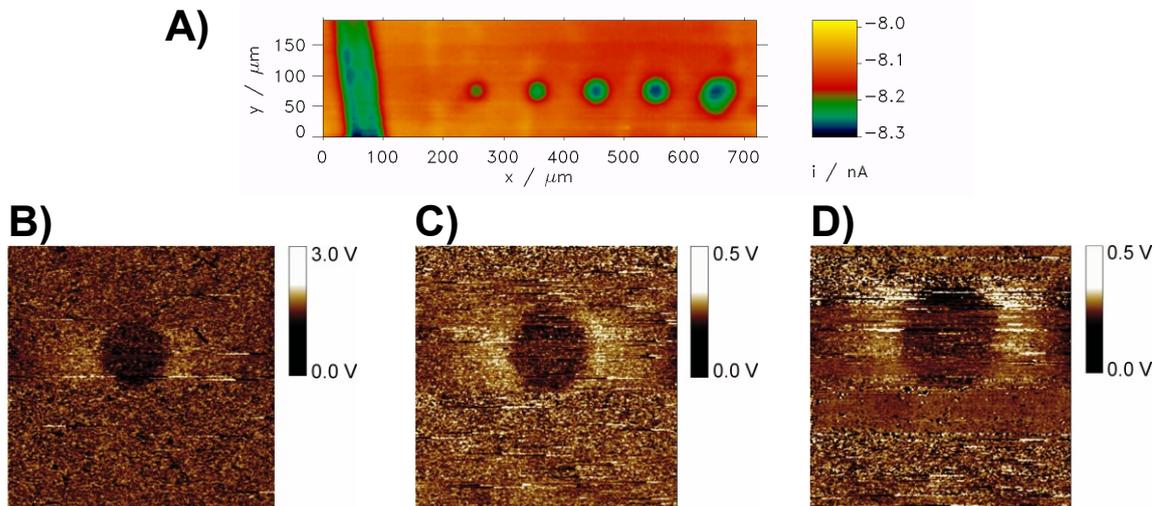


Abb. 46. OEG-OMe-SAM-Substrate nach Oberflächenmodifikation (25 mM KBr in 0.1 M Phosphatpuffer, pH 7, $d = 5 \mu\text{m}$, t (in s, v. l. n. r.): 1, 2, 3, 4, 5)). A) SECM-Abbildung im FB-Mode ($v_T = 25 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V}$ vs. Ag-QRE) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7). B) – D): Beispiele für PFM-SFM-Aufnahmen (Adhäsionssignal) mit COOH-modifiziertem Au-Cantilever (v. l. n. r.: 1., 2. und 5. Punkt), Kantenlänge der Abbildungsausschnitte 100 μm .

Aufgrund der Abstoßung zwischen der hydrophilen SFM-Messspitze und der hydrophoben OEG-SAM sind die Haftkräfte kleiner als für die hydrophil modifizierten OEG-SAM. Dieses erlaubt eine bessere Unterscheidung zwischen elektrochemisch modifizierten und unmodifizierten OEG-SAM. Hierdurch ist es möglich, genauere Abgrenzungen wahrzunehmen, wodurch eine genauere Bewertung der Spotgröße und -form erreicht wird. Dies konnten auch Lesch et al.^[A2] bewiesen. Es ist klar zu erkennen, dass nur die OEG-SAMs angegriffen werden, nicht aber das Goldsubstrat.

Die Radien der mikrostrukturierten Bereiche werden mit Hilfe des Profil-Tools von MIRA ($r_{S,SECM}$) und des SFM-Analyse-Tools ($r_{S,SFM}$) ausgewertet und in den Abb. 47 und 48 zusammen mit der Gleichheitslinie ($r_{S,SFM} = r_{S,SECM}$) gegeneinander aufgetragen.

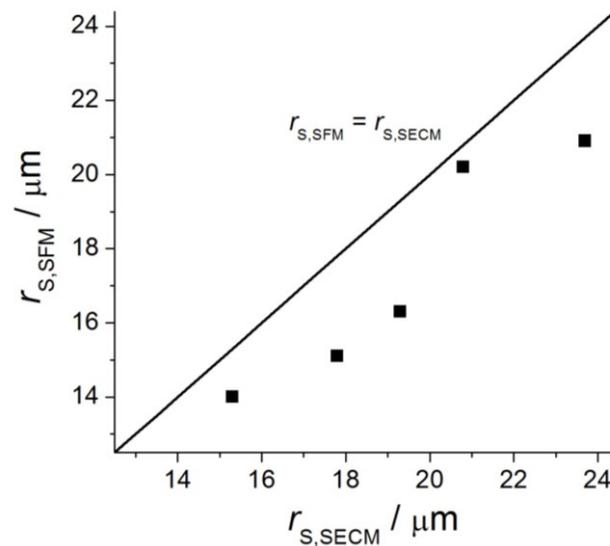


Abb. 47. Vergleich der ermittelten Radien der elektrochemisch modifizierten Flächen r_S von Abb. 45 (Au-OEG-OH) vermessen mit dem SFM ($r_{S,SFM}$) und dem SECM ($r_{S,SECM}$). Gleichheitslinie: $r_{S,SFM} = r_{S,SECM}$.

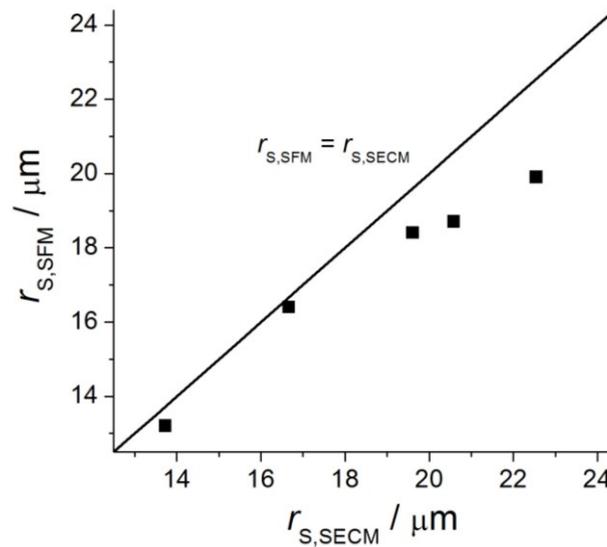


Abb. 48. Vergleich der ermittelten Radien der elektrochemisch modifizierten Flächen r_S von Abb. 46 (Au-OEG-OMe) vermessen mit dem SFM ($r_{S,SFM}$) und dem SECM ($r_{S,SECM}$). Gleichheitslinie: $r_{S,SFM} = r_{S,SECM}$.

Aufgrund der Diffusion des Redoxmediators und der größeren Sonde ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$) im SECM-FB-Mode ist $r_{S,SECM}$ generell größer als $r_{S,SFM}$. Diese Faktoren und der relativ große Arbeitsabstand von $15 \mu\text{m}$ zur Substratoberfläche verursachen eine viel geringere Auflösungsmöglichkeit als das PFM-SFM, welche mit kleinen Arbeitsabständen und einer kürzere Reichweite der ausgenutzten Wechselwirkung arbeitet. Diese Gegebenheiten bewirken eine scheinbare Vergrößerung der modifizierten OEG-SAM-Flächen in anschließenden FB-Mode-Experimenten des SECM. Eine höhere Auflösungsmöglichkeit für den SECM-FB-Mode wäre durch den Einsatz von Nanoelektroden (r_T einige nm) mit einer Shear-Force-Abstandsregelung möglich.^[206]

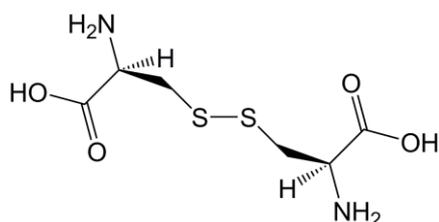
Die Verwendung des Profil-Werkzeugs von MIRA ist hinreichend genau, um elektrochemisch mikrostrukturierte OEG-SAM-Oberflächen auszuwerten. Das Wiederfinden der modifizierten Bereiche im SFM ist zeitaufwendig und erfordert eine Entnahme der Probe aus der elektrochemischen Messzelle. Durch eine näherungsweise Bestimmung der Breite der modifizierten Bereiche steht mit dem SECM eine schnelle Methode zur Verfügung, die auch in Lösung, z. B. zwischen weiterführenden Modifizierungsschritten, anwendbar ist.

Beim Vergleich der unterschiedlichen Monolagen von OEG-OH und OEG-OMe wird deutlich, dass diese Oberflächen ein nahezu identisches Verhalten beim Ätzen mit Br_2/HOBr aufweisen. Dies wussten bereits Zhao et al.,^[22] die in ihren Arbeiten zeigten, dass modifizierte Hydroxy- und Methoxy-terminierte-OEG-SAM ähnliche Permeabilitäten aufweisen. Da keine wesentlichen Unterschiede in der Größe der modifizierten Regionen vorliegen, wird im folgendenen Teilen der Arbeit ausschließlich mit der Hydroxy-terminierten-OEG-SAM weitergearbeitet.

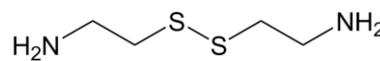
6.2 Verwendung heterogener Reaktionen zur Verbesserung der lokalen mikroelektrochemischen Oberflächenmodifikation von OEG-SAMs

Nach den in Abschnitt 6.1 beschriebenen Vorversuchen werden Wege gesucht, die Auflösung der Mikrostrukturierung der OEG-SAM signifikant zu verbessern. Wie im Kapitel 3.4 erläutert, beobachteten Zhang et al.^[45, 46, 192] beim Mikroätzen von Halbleitern wie GaAs oder Si, dass L-Cystin mit elektrochemisch erzeugtem Br₂/HOBr eine rasche homogene Reaktion eingehen kann. Daher führt die Zugabe dieses Fängermoleküls zu einer signifikanten Verbesserung des Auflösungsvermögens der Mikrostrukturierung.

In dieser Arbeit wurden die Fängermoleküle L-Cystin und Cystamin verwendet, um die Diffusionsschicht des mikroelektrochemisch erzeugten Br₂ einzuschränken.



L-Cystin

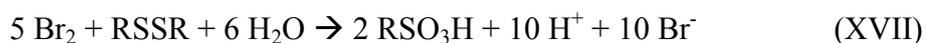


Cystamin

An der UME entsteht durch Elektrolyse von Br⁻ Br₂, das in das Lösungsvolumen diffundiert (heterogene UME-Reaktion):



In alkalischer und neutraler Messlösung findet eine Disproportionierung von Br₂ in HOBr und Br⁻ statt (Gl. VI).^[180] Da die elektrochemische Oberflächenmodifikation in dieser Arbeit ausschließlich in saurem Medium (0.5 M H₂SO₄) stattfinden, wird im Folgenden nur noch Br₂ gebraucht, welches in der Lösung mit dem Disulfid L-Cystin in einer homogenen Reaktion zu Sulfonsäure und Br⁻ reagiert (homogene Fängermolekül-Reaktion, Reaktion von Cystamin analog):



Um den Effekt der Zugabe von Fängermolekülen in der Messlösung zu verdeutlichen, wurden CVs angefertigt (Abb. 49A). Diese CVs wurden mit Hilfe einer

12.5 μm UME in 25 mM KBr-Lösung mit 0.5 M H_2SO_4 als Leitelektrolyt sowie L-Cystin-Konzentration zwischen 0 mM und 75 mM aufgenommen. Hierbei entsprachen die Signale bei 1.1 V (E_T vs. Ag-QRE) der reversiblen Br^- -Oxidation. Die steigende Zugabe von L-Cystin zeigte einen immer deutlicheren Anstieg des Signals gegenüber der Br^- -Oxidation ohne Fänger-moleküle in der Lösung (Abb. 49A, blaue Kurve). So wurde bei 12.5 mM L-Cystin (Abb. 49A, grüne Kurve) eine Verdopplung des CV-Signals im Vergleich zur L-Cystin-freien Lösung festgestellt. Bei steigender Fänger-molekül-Konzentration von 25 mM (Abb. 49A, rote Kurve) auf 75 mM (Abb. 49A, schwarze Kurve) wurde mehr als eine Verdreifachung des Signals erreicht. Es ist hiermit offensichtlich, dass das elektrochemische Verhalten einer Pt-UME in einer Messlösung mit KBr und L-Cystin dem Verhalten einer homogenen elektrokatalytischen Reaktion folgt.^[192] Br_2 wird schnell durch L-Cystin verbraucht und Br^- homogen in der Nähe der Pt-UME regeneriert (Gl. XVII). Die zurückgebildeten Br^- -Ionen diffundieren zur Pt-UME und führen zu einem Anstieg des Oxidationssignals. Dieses steigt mit der Konzentration des Fänger-moleküls an, da sich damit die Reaktionszone für Reaktion XVII dichter an der UME befindet und sich dadurch ein größerer Br^- -Konzentrationsgradient ausbildet. Abbildung 49B veranschaulicht schematisch die Auswirkung der Fänger-moleküle auf die Größe der Reaktionszone von Br_2 in der Nähe der UME. Durch die steigende Fänger-molekül-Konzentration in der Lösung zieht sich die Br_2 -Reaktionszone immer dichter um die UME (Abb. 49B).

In Abbildung 49C wurde eine scheibenförmige UME mit einem Radius von 12.5 μm in einem Arbeitsabstand von 5 μm in die Nähe einer OEG-OH-SAM-Oberfläche gebracht. Nach erfolgter mikroelektrochemischer Oberflächenmodifikation mit Hilfe variabler L-Cystin-Konzentrationen [$c/\text{mM} = (0, 12.5, 25, 75)$] in 25 mM KBr-Messlösung erfolgte eine Charakterisierung im FB-Mode des SECM. Es zeigte sich eine deutliche Auflösungsverbesserung der Modifizierung von OEG-OH-SAMs, d. h. eine Verringerung der Radien r_S der modifizierten Strukturen mit der Steigerung der Fänger-molekül-Konzentration. Folglich bestätigt dies, dass L-Cystin ein effektives Fänger-molekül für Br_2 darstellt. Nach Zugabe von L-Cystin als Fänger-molekül in den Elektrolyten wird die Diffusionsschicht von Br_2 eingeschränkt und es bildet sich eine sogenannte CEL aus.

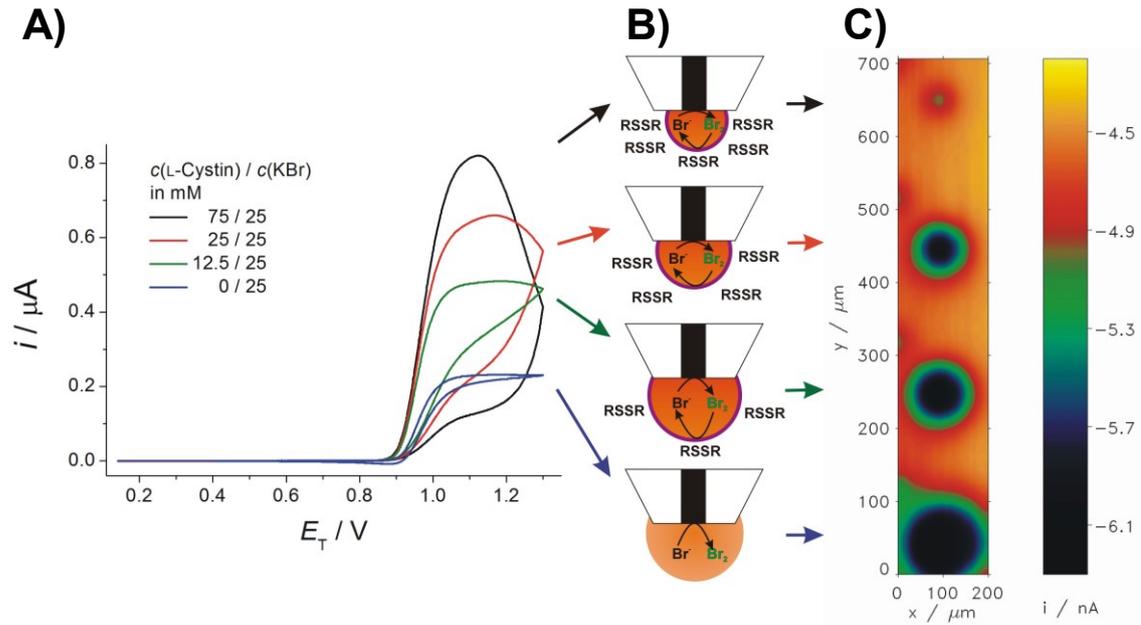


Abb. 49. Effekt der Einschnürung der Diffusionsschicht von Br_2 durch Einsatz des Fängermoleküls L-Cystin. A) CVs mit Pt-UME ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $v = 0.05 \text{ V s}^{-1}$) bei unterschiedlichen $c(\text{L-Cystin})$, B) Schematische Darstellung der zunehmenden Einschnürung der Br_2 -Diffusionsschicht, C) SECM-FB-Mode-Abbildung im FB-Mode nach Modifizierung mit variablen $c(\text{L-Cystin})$ in 25 mM KBr + 0.5 M H_2SO_4 bei $E_T = 1.2 \text{ V}$, $t = 30 \text{ s}$, $d = 5 \mu\text{m}$ (c s. A), Bildaufnahme mit $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, bei $E_T = -0.4 \text{ V}$, $d = 10 \mu\text{m}$.

Da SECM-Abbildungen im FB-Mode eine schnelle Abschätzung der Größe der modifizierten Regionen in Lösung erlauben, kam diese Methode zum Einsatz, um die Radien r_S nach einem Modifizierungspuls der Dauer t bei einem Arbeitsabstand d in Gegenwart des Fängermoleküls L-Cystin (Abb. 50) oder Cystamin (Abb. 51) zu bestimmen. L-Cystin besitzt einen $\text{p}K_{\text{S,COOH}} = 1.19^{[207]}$ und ist im deprotonierten Zustand in Wasser schlecht löslich. Die maximale Konzentration beträgt 10 mM bei neutralen pH. Daher wurden die Modifizierungs-Experimente in dieser Arbeit in einer 0.5 M H_2SO_4 -Leitelektrolyt-Lösung (pH 1) ausgeführt, um L-Cystin in die zweifach protonierte, lösliche Form zu überführen. Um die Ergebnisse mit anderen Experimenten, bei denen Cystamin als Fängermolekül zum Einsatz kam, vergleichen zu können, wurde bei der Oberflächenmodifizierung immer in 0.5 M H_2SO_4 -Lösung gearbeitet, um für beide Fängermoleküle (bei höheren Br^- -Konzentrationen) vergleichbare Ergebnisse zu erhalten.

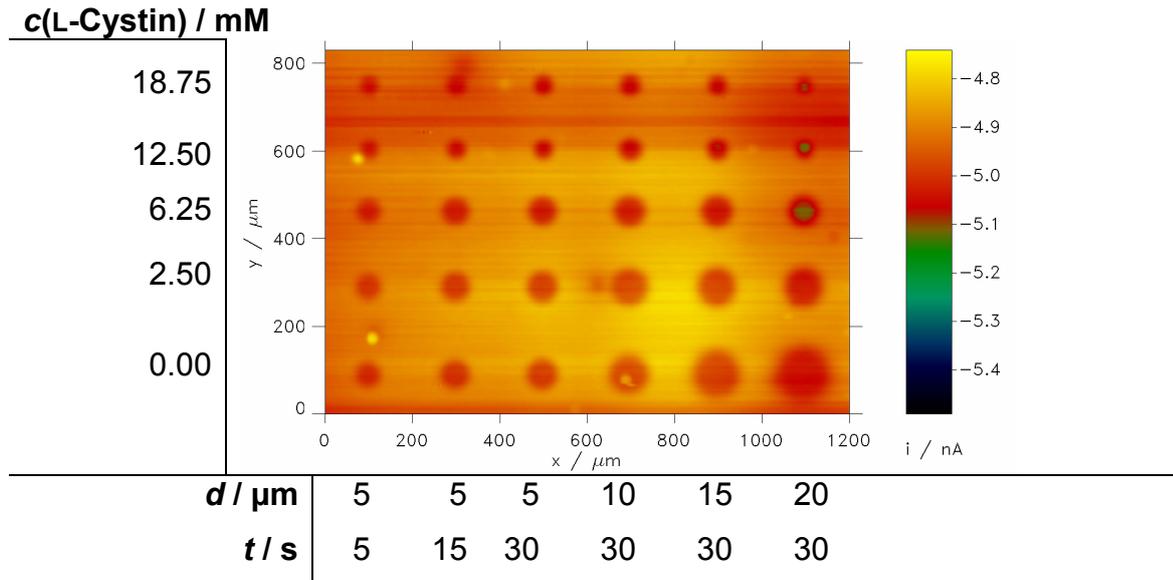


Abb. 50. OEG-OH-SAM nach Oberflächenmodifikation (25 mM KBr in 0.5 M H_2SO_4) mit unterschiedlichen Arbeitsabständen d , Pulszeiten t und $c(\text{L-Cystin})$. SECM-Aufnahme im FB-Mode ($v_T = 25 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V vs. Ag-QRE}$) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7).

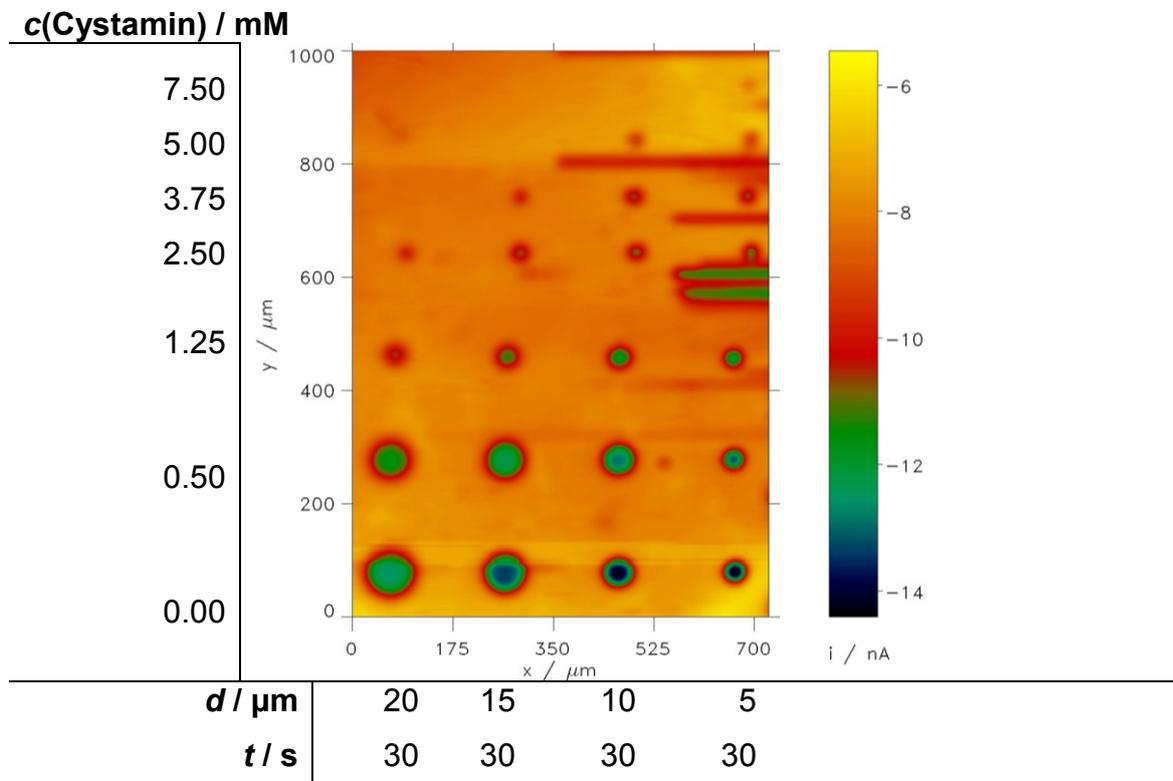


Abb. 51. OEG-OH-SAM nach Oberflächenmodifikation (5 mM KBr in 0.5 M H_2SO_4) mit unterschiedlichen Arbeitsabständen d , und $c(\text{Cystamin})$. SECM-Aufnahme im FB-Mode ($v_T = 20 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V vs. Ag-QRE}$) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7).

Zwischen der Oberflächenmodifizierung und der anschließenden Abbildung im FB-Mode des SECM erfolgte ein Lösungsmittelwechsel ohne Veränderung der Relativposition von Ultramikroelektrode und Substratoberfläche. Die Abb. 50 und 51 belegen, dass die Radien r_s der modifizierten Bereiche in systematischer Weise von den Modifizierungsparametern abhängen. Hierbei erfolgte die FB-Mode-Abbildungen zur Charakterisierung mit einer 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ -Lösung in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7) als Mediator. Die Mediatorwahl wird durch die pH-sensiblen Eigenschaften der Oberflächen nach der Modifikation bestimmt, die in Kap. 6.3 behandelt wird.

Anschließend erfolgte die systematische Modifizierung von OEG-SAM-Oberflächen mit variablen KBr- und Fängermolekül-Konzentrationen [$c(\text{KBr})/\text{mM} = (5, 10, 25)$, $c(\text{L-Cystin})/\text{mM} = (0 - 75)$, $c(\text{Cystamin})/\text{mM} = (0 - 30)$] sowie variablem Modifizierungspuls der Dauer t bei einem Arbeitsabstand d . Die anschließend angefertigten SECM-FB-Mode-Aufnahmen sind in Abb. 50 und 51 sowie im Anhang Abb. 70 - 73 zu sehen. Die Radien r_s wurden, wie in Abb. 43 (Kap. 6.1) erläutert, mit dem Profil-Werkzeug von MIRA ermittelt und gegen die normierte Fängermolekül-Konzentration $y_{\text{Sc/Br}^-}$ aufgetragen (Gl. 26). Die Ergebnisse sind in den einheitlich strukturierten Abb. 52 bis 56 dargestellt. Hierbei zeigen die Abbildungsteile A und B eine Auftragung von r_s als Funktion von $y_{\text{Sc/Br}^-}$.

Die Abbildungsteile A vergleichen dabei die Ergebnisse für unterschiedliche Pulszeiten zwischen 5 s und 30 s bei einem konstanten Arbeitsabstand von 5 μm . Beim Arbeiten ohne Fängermolekül [Abb. 50 unterste Zeile links, Abb. 52A - 54A, $c(\text{L-Cystin}) = 0$, $d/\mu\text{m} = (5, 10, 15, 20)$, $t = 30$ s] nimmt r_s mit steigenden t zu. Hierbei gilt: Je höher die KBr-Konzentration in der Messlösung, je länger die Pulszeit und je größer der Arbeitsabstand, desto größer wird r_s . Dieser Trend ist auch in Abb. 55A und 56A für die Parameter $c(\text{Cystamin}) = 0$, $d/\mu\text{m} = (5, 10, 15, 20)$ und $t = 30$ s deutlich zu erkennen. Werden nun Fängermoleküle in die Messlösung gegeben, folgt zunächst mit steigender Fängermolekül-Konzentration eine deutliche Verringerung von r_s . Die r_s -Werte für eine Fängermolekül-Konzentration rücken dabei für wachsende Ausgangskonzentration der Fängermoleküle zusammen, bis bei $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 0.75$ für L-Cystin und bei $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 0.5$ für Cystamin r_s nahezu unabhängig von der Pulslänge wird. Dies entspricht für $c(\text{L-Cystin})/\text{mM} = (3.75, 7.5, 12.5)$ für $c(\text{KBr})/\text{mM} = (5, 10, 25)$ und für $c(\text{Cystamin})/\text{mM} = (2.5, 5)$ für $c(\text{KBr})/\text{mM} = (5, 10)$.

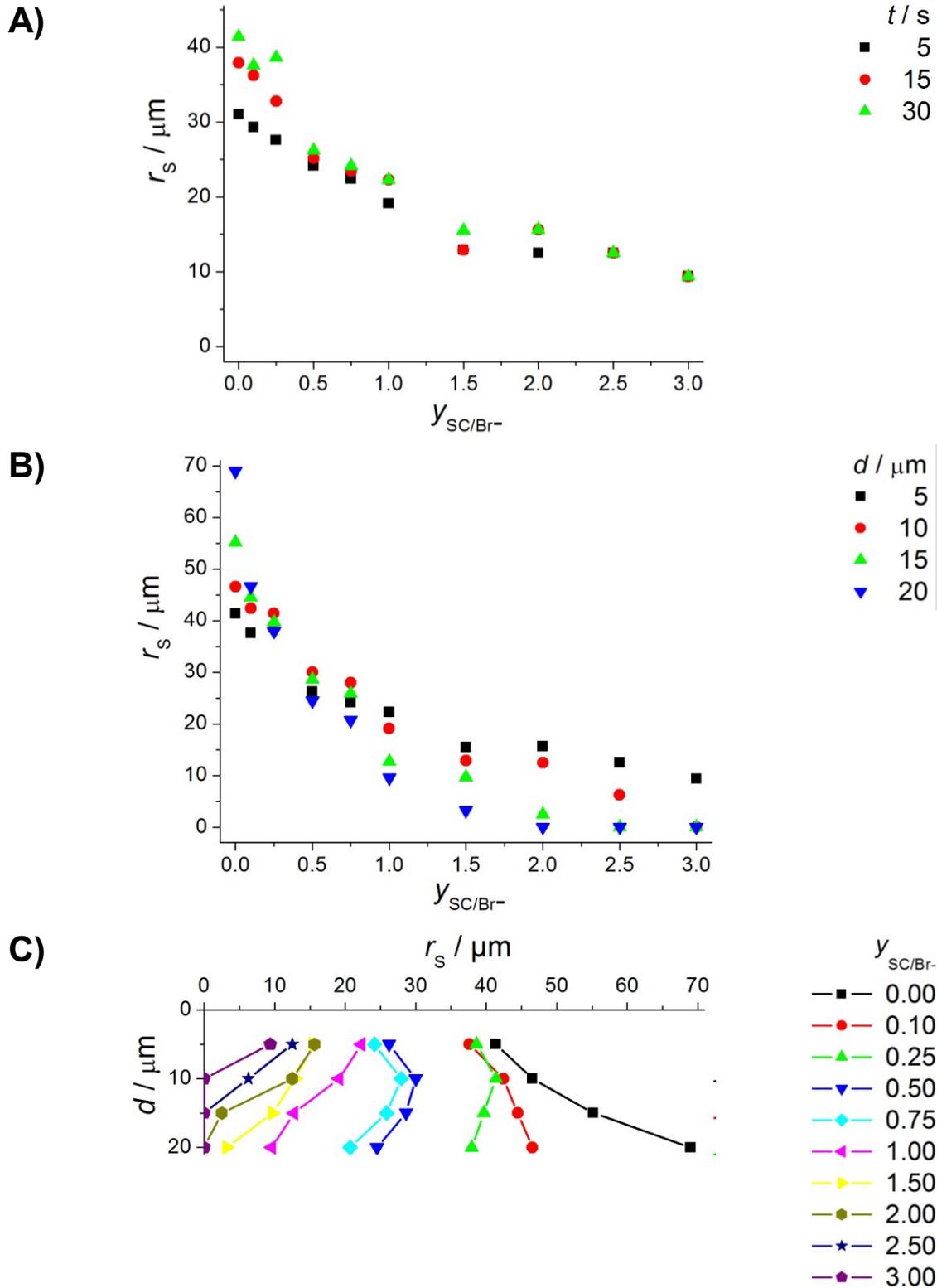


Abb. 52. Untersuchung der Parameterabhängigkeit (t , d , c (Fängermolekül)) der Mikrostrukturierung von OEG-OH-SAMs in 25 mM KBr (in 0.5 M H_2SO_4) mit L-Cystin. A) Zeitabhängigkeit ($d = 5 \mu\text{m}$), B) Arbeitsabstandsabhängigkeit ($t = 30 \text{ s}$), C) Profile bei variablen $y_{\text{SC/Br}^-}$ ($t = 30 \text{ s}$).

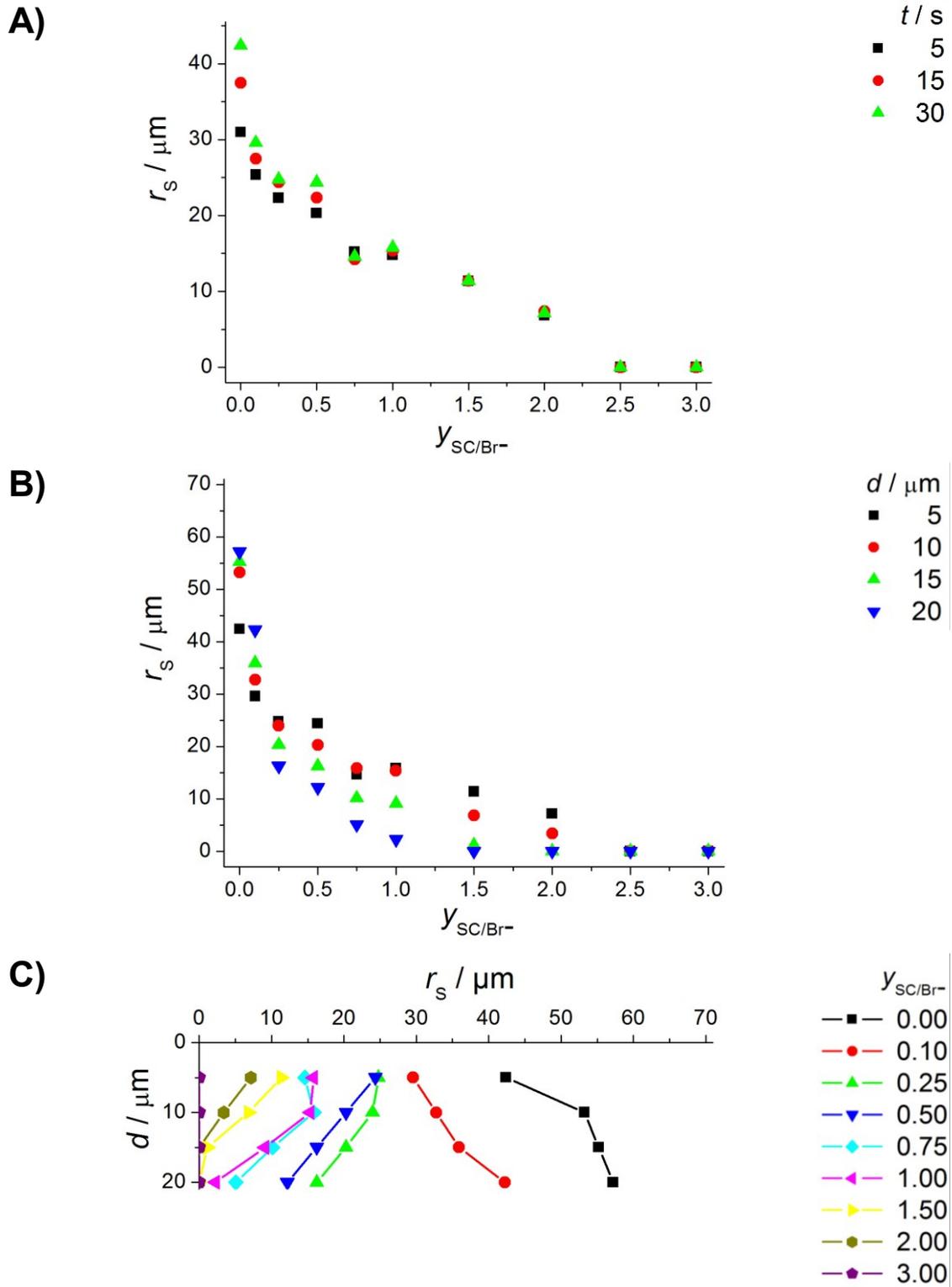


Abb. 53. Untersuchung der Parameterabhängigkeit (t , d , c (Fängermolekül)) der Mikrostrukturierung von OEG-OH-SAMs in 10 mM KBr (in 0.5 M H_2SO_4) mit L-Cystin. A) Zeitabhängigkeit ($d = 5 \mu\text{m}$), B) Arbeitsabstandsabhängigkeit ($t = 30$ s), C) Profile bei variablen $y_{\text{SC/Br}^-}$ ($t = 30$ s).

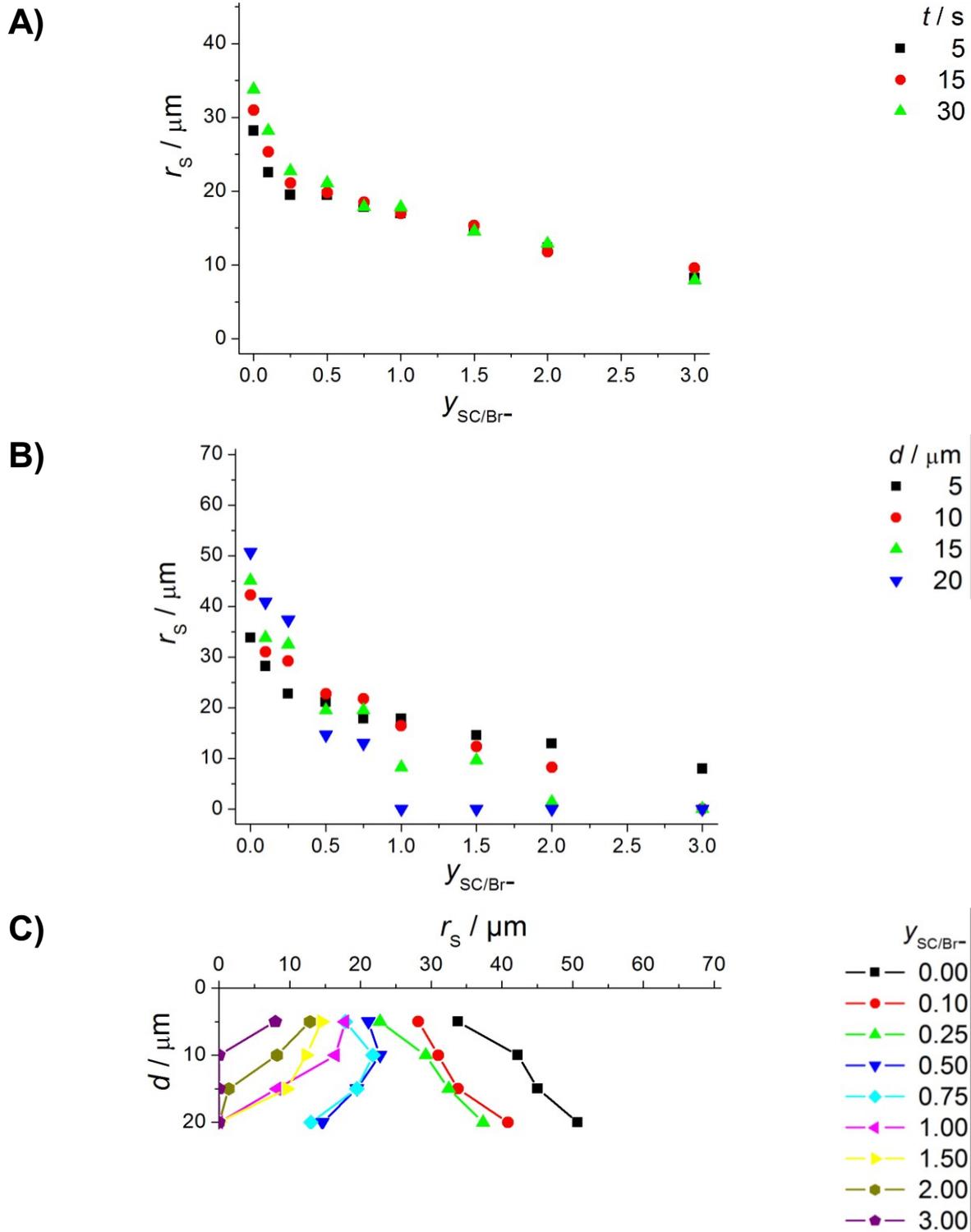


Abb. 54. Untersuchung der Parameterabhängigkeit (t , d , c (Fängermolekül)) der Mikrostrukturierung von OEG-OH-SAMs in 5 mM KBr (in 0.5 M H_2SO_4) mit L-Cystin. A) Zeitabhängigkeit ($d = 5 \mu\text{m}$), B) Arbeitsabstandsabhängigkeit ($t = 30$ s), C) Profile bei variablen $y_{\text{SC/Br}^-}$ ($t = 30$ s).

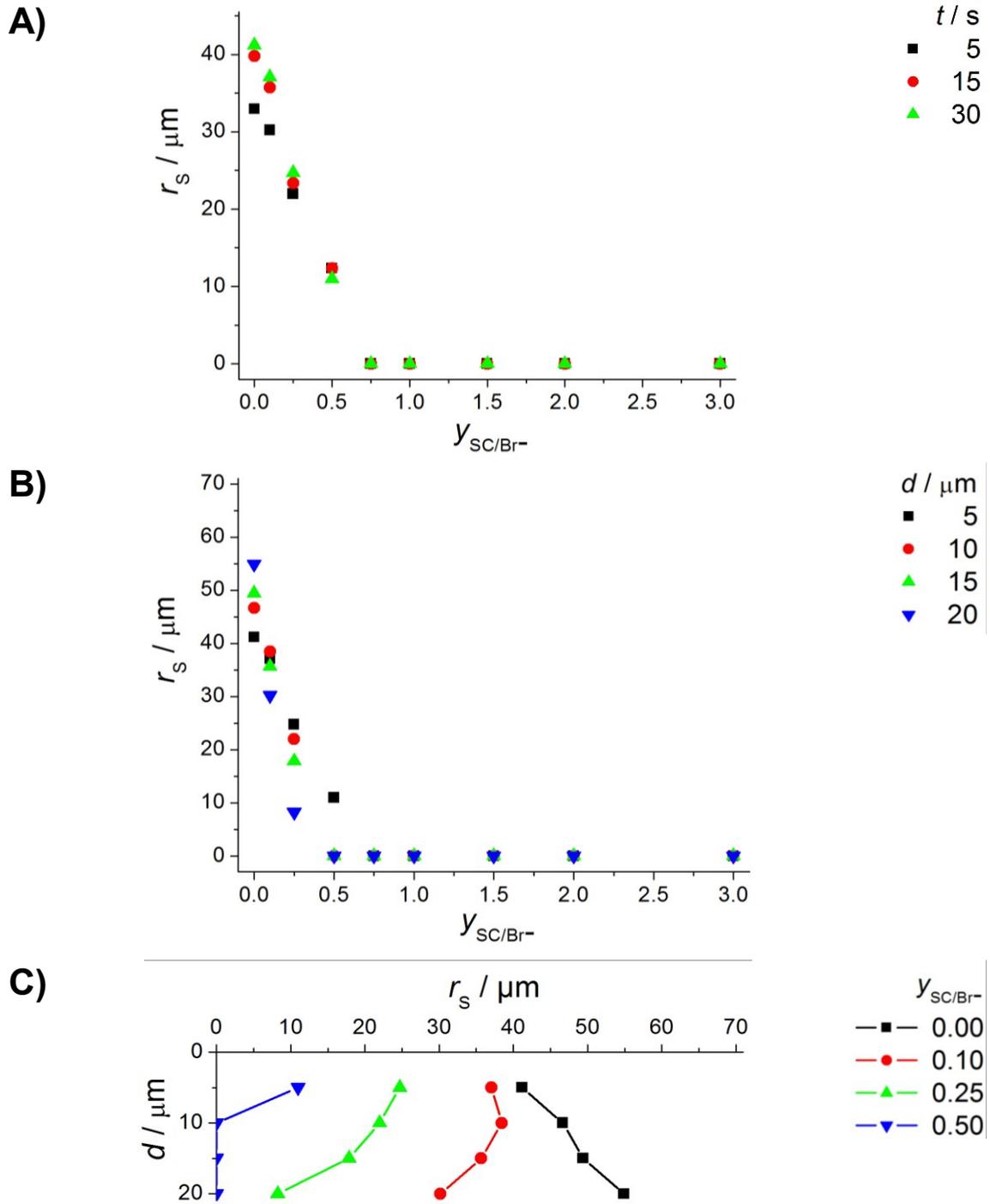


Abb. 55. Untersuchung der Parameterabhängigkeit (t , d , c (Fängermolekül)) der Mikrostrukturierung von OEG-OH-SAMs in 10 mM KBr (in 0.5 M H_2SO_4) mit Cystamin. A) Zeitabhängigkeit ($d = 5 \mu\text{m}$), B) Arbeitsabstandsabhängigkeit ($t = 30$ s), C) Profile bei variablen $y_{\text{SC/Br}^-}$ ($t = 30$ s).

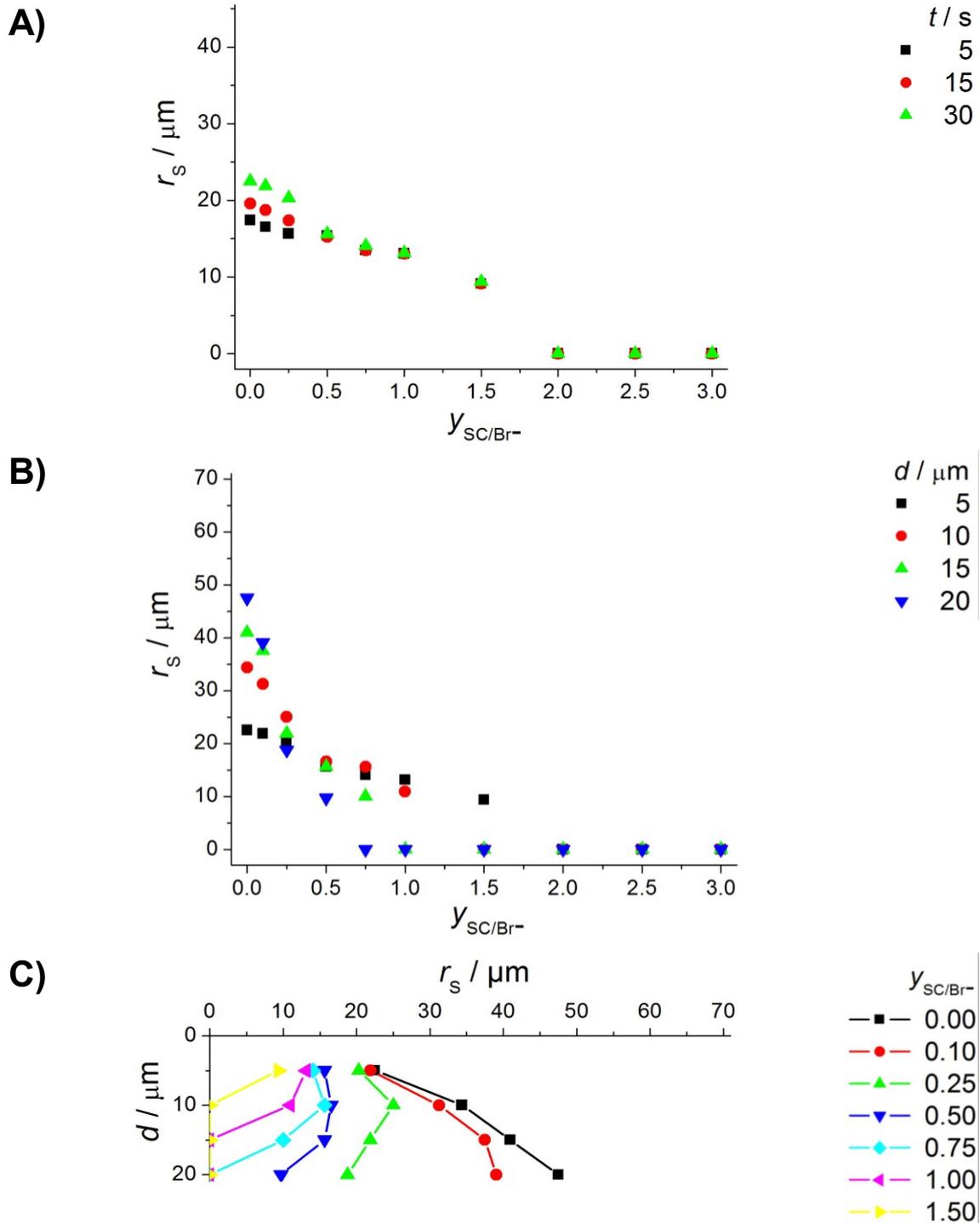


Abb. 56. Untersuchung der Parameterabhängigkeit (t , d , c (Fängermolekül)) der Mikrostrukturierung von OEG-OH-SAMs in 5 mM KBr (in 0.5 M H_2SO_4) mit Cystamin. A) Zeitabhängigkeit ($d = 5 \mu\text{m}$), B) Arbeitsabstandsabhängigkeit ($t = 30 \text{ s}$), C) Profile bei variablen $y_{\text{SC/Br}^-}$ ($t = 30 \text{ s}$).

Eine schematische Darstellung der Abhängigkeit von r_s von der Pulszeit der Br_2 -Reaktionszone zeigt Abb. 57. Hierbei stellt Abb. 57A die Ausbreitung der Reaktionszone ohne Fänger-moleküle in der Lösung und Abb. 57B mit Zugabe von Fänger-molekülen mit zunehmender Pulszeit von links nach rechts dar. Ohne Fänger-moleküle oder bei einer unzureichenden Konzentration an Fänger-molekülen, z. B. bei $y_{\text{Sc/Br}^-}$ (L-Cystin) < 0.75 und $y_{\text{Sc/Br}^-}$ (Cystamin) < 0.5 , weitet sich die Br_2 -Diffusionsschicht stetig in das Lösungsvolumen aus. Die Radien der modifizierten Fläche sind dann proportional zur Pulszeit. Bei höheren Fänger-molekül-Konzentrationen bildet sich nach 5 Sekunden, aufgrund der schnellen homogenen Fänger-molekül-Reaktion, eine konstant große Br_2 -Reaktionszone aus (Abb. 57B). Folglich ändern sich r_s mit Verlängerung der Pulszeit nicht mehr.

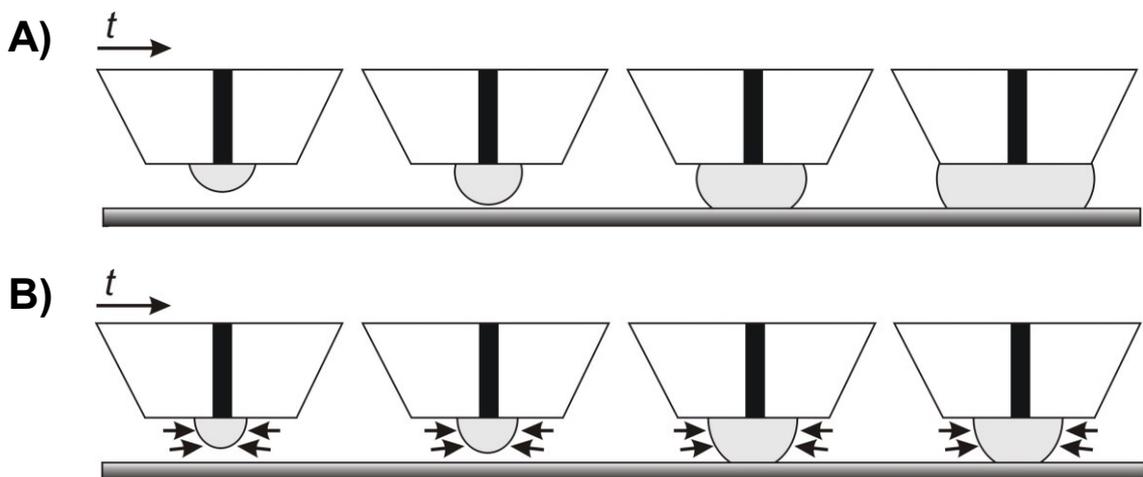


Abb. 57. Schematische Darstellung zur Erläuterung der Pulszeitabhängigkeit der Br_2 -Reaktionszone A) ohne Fänger-moleküle B) bei Anwesenheit von Fänger-molekülen in der Messlösung (von links nach rechts: zunehmende Pulszeit).

In den Abbildungsteilen 52B bis 56B sind die Ergebnisse für variable Arbeitsabstände zwischen $5 \mu\text{m}$ und $20 \mu\text{m}$ bei einer konstanten Pulszeit von 30 s dargestellt. Beim Arbeiten ohne Fänger-moleküle in der Messlösung nimmt r_s mit der Vergrößerung des Arbeitsabstandes d zu. Doch schon bei geringer Zugabe von L-Cystin [$y_{\text{Sc/Br}^-} = (0.25 - 0.5)$] oder Cystamin ($y_{\text{Sc/Br}^-} = (0.1 - 0.25)$] kehrt sich der Trend um und r_s nimmt mit steigenden d ab. Da r_s unabhängig von der Pulszeit ist, ist die maßgebliche Einflussgröße auf r_s oberhalb dieser Fänger-molekül-Konzentrationen

nunmehr allein der Arbeitsabstand und $y_{\text{Sc/Br}^-}$. Abbildung 58 zeigt schematisch die Erklärung für diesen Sachverhalt. Abbildungsteil 58A präsentiert den Fall ohne und 58B mit Fängermolekülen in der Lösung. Befinden sich in der Elektrolytlösung keine Fängermoleküle, so steigt r_s proportional mit dem Modifizierungsparameter d (Abb. 58A). Mit steigender Fängermolekül-Konzentration findet eine zunehmende Einschnürung der Diffusionsschicht der Reaktionszone statt.^[24, 39] Unter idealen Bedingungen stellt sich ein stationärer Zustand ein, sodass sich um die aktive Elektrodenoberfläche innerhalb weniger Sekunden eine Diffusionsschicht konstanter Größe ausbildet, in denen Br_2 noch nicht abreagiert hat. Wird d erhöht, verkleinert sich die Schnittfläche dieser Schicht mit der Substratoberfläche, bis sie irgendwann die Oberfläche nicht mehr berührt (Abb. 58B, rechte Seite). Das bedeutet, dass der beschränkte Reaktionsraum nicht mehr die Au-OEG-OH-SAM-Oberfläche berührt, wodurch diese nicht mehr durch das Br_2 modifiziert wird. Somit findet keine Modifizierung der Au-OEG-Oberfläche statt ($r_s = 0 \mu\text{m}$). Dies geschieht bei Verwendung des Fängermoleküls L-Cystin bei unterschiedlichen Konzentrations-Arbeitsabstands-Kombinationen (Abb. 52B, 53B, 54B). Bei einem Arbeitsabstand von $d = 20 \mu\text{m}$ ist mit Hilfe des SECM keine Oberflächenmodifizierung für $1.0 \leq y_{\text{Sc/Br}^-} \leq 2.0$ nachweisbar. Für $d = 15 \mu\text{m}$ wurde bei $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 2.0$ die Oberfläche nicht mehr geätzt. Für den Arbeitsabstand $d = 10 \mu\text{m}$ erreicht die Reaktionszone ab $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 3.0$ nicht mehr das Substrat. Bei dem kleinsten verwendeten d ($5 \mu\text{m}$) lässt sich nur eine abnehmende Tendenz von r_s wahrnehmen.

Verwendet man Cystamin erreicht die Reaktionszone im Vergleich zum L-Cystin schon bei kleineren $y_{\text{Sc/Br}^-}$ -Werten das Substrat (Abb. 55B, 56B). Bei $d = 20 \mu\text{m}$ berührt der beschränkte Reaktionsraum bei $0.5 \leq y_{\text{Sc/Br}^-} \leq 0.75$ nicht mehr die Au-OEG-OH-SAM-Oberfläche, wodurch diese nicht mehr durch das Br_2 modifiziert wird. Für $d = 15 \mu\text{m}$ findet bei $0.75 \leq y_{\text{Sc/Br}^-} \leq 1.0$ keine Ätzung der Oberfläche mehr statt. Große Abweichungen ergeben sich für die kleinsten Abstände von $5 \mu\text{m}$ und $10 \mu\text{m}$: Für $c(\text{KBr}) = 10 \text{ mM}$ und den Arbeitsabstand $d = 10 \mu\text{m}$ erreicht die Reaktionszone schon ab $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 0.5$ nicht mehr das Substrat. Bei $c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM}$ ist erst bei $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 1.5$ keine Modifikation mehr nachweisbar. Bei dem kleinsten verwendeten Arbeitsabstand ($d = 5 \mu\text{m}$) ist der Unterschied sehr viel größer: Hier wird $r_s = 0 \mu\text{m}$,

wenn bei einer $c(\text{KBr}) = 10 \text{ mM}$ ein $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 0.75$ und $c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM}$ ein $y_{\text{Sc/Br}^-} \geq 2.0$ vorliegt.

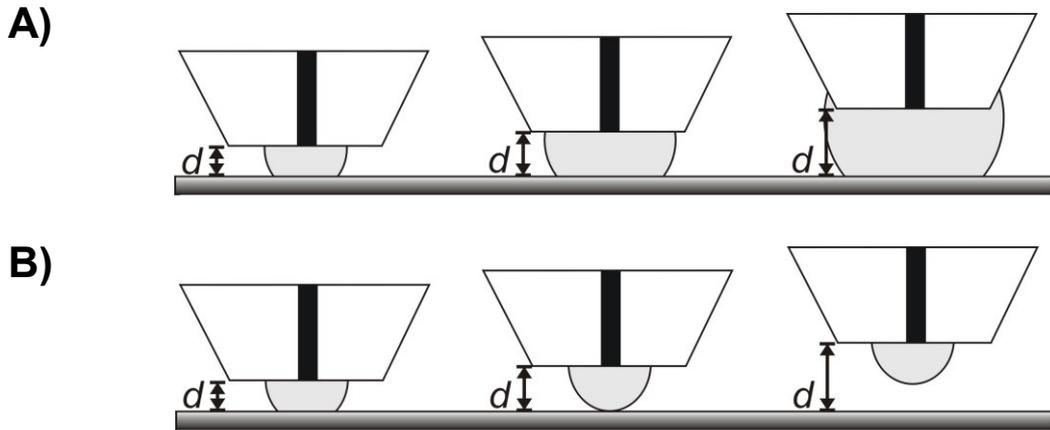


Abb. 58. Schematische Darstellung zur Erläuterung der Abstandsabhängigkeit der Br_2 -Reaktionszone A) ohne B) mit Anwesenheit von Fängermolekülen in der Messlösung.

Die Abbildungsteile C) in Abb. 52 bis 56 zeigen eine angenäherte Rekonstruktion der Diffusionsschicht in einer Ebene vertikal zur Probenoberfläche (Abb. 59). Die Symmetrieachse tritt am Punkt $(d, r_s) = (0,0)$ aus der Oberfläche der UME. Die Größen für r_s bei unterschiedlichen d wurden für gleiche $y_{\text{Sc/Br}^-}$ durch eine Linie verbunden.

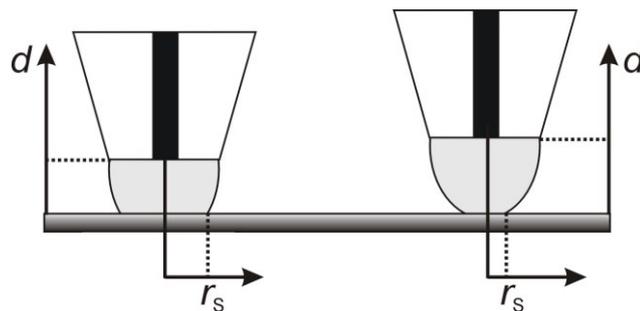


Abb. 59. Schematische Darstellung zur angenäherten Rekonstruktion der Diffusionsschicht in einer Ebene vertikal zur Probenoberfläche.

Nach näherer Betrachtung der Abb. 52 bis 56 erkennt man deutlich, dass sich nach einem ausreichend großem $y_{\text{Sc/Br}^-}$ die Form der Reaktionszone ändert: Bei

geringem $y_{\text{Sc/Br}^-}$ dehnt sie sich mit zunehmenden Arbeitsabstand aus, sodass sie in den Abb. 52 bis 56 den Anschein einer konkaven Form erhält. Mit zunehmendem $y_{\text{Sc/Br}^-}$ kehrt sich der Trend aufgrund der zunehmenden Einschränkung der Diffusionsschicht um, verursacht durch die schnelle homogene Reaktion im Lösungsvolumen. Die Form ähnelt dann einer konvexen Linse. Die Größe r_S ist infolgedessen nicht mehr von der Pulslänge t sondern von dem Arbeitsabstand d abhängig. In Tabelle 14 sind die minimalen $y_{\text{Sc/Br}^-}$ aufgelistet, die nötig sind, um den Trend zu wechseln, d. h. dass der zeitunabhängige Fall von Abb. 58B zutrifft.

Tab. 14. Notwendige $y_{\text{Sc/Br}^-}$ für den Wechsel von konkaver zu konvexer Form der Br_2 -Reaktionszonen.

$c(\text{KBr}) / \text{mM}$	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ (L-Cystin)	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ (Cystamin)
5	0.50	0.25
10	0.25	0.10
25	0.25	

Es ist klar erkennbar, dass bei beim Opferagenz L-Cystin die Trendumkehr sehr viel später stattfindet als bei Cystamin. Bei geringerer $c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM}$ wird hier schon bei einem normierten Konzentrationsverhältnis $y_{\text{Sc/Br}^-} = 0.25$, im Gegensatz zu $y_{\text{Sc/Br}^-} = 0.50$ (Ausnahme: $c(\text{KBr}) = 10 \text{ mM}$) bei L-Cystin, die konvexe Form der Diffusionsschicht erreicht. Beim Arbeiten mit höheren KBr-Konzentrationen kehrt sich der Trend generell schneller um. Aber während dieser Effekt bei Cystamin schon bei 60%iger Verminderung von $y_{\text{Sc/Br}^-}$ stattfindet, wird das Umkehr- $y_{\text{Sc/Br}^-}$ nur halbiert. Dies spricht für die schon vorher postulierte effektivere Wirkung auf die Einschnürung der Br_2/HOBr -Reaktionszone durch Cystamin.

Interessant ist in diesem Fall auch, dass bei Wechsel von $d = 5 \mu\text{m}$ zu $d = 10 \mu\text{m}$ zunächst eine Vergrößerung von r_S erfolgt. Dies ist wahrscheinlich auf die gehinderte hemisphärische Diffusion bei geringeren d zurückzuführen. Durch den geringen Arbeitsabstand kann Br^- , welches an der UME und durch die Fängermolekül-Reaktion verbraucht wird, nicht so schnell aus dem Lösungsvolumen zur UME nachdiffundieren. Mittels Vergrößerung von d wird dieses Problem aufgehoben und mehr Br_2 kann an der

UME elektrochemisch produziert werden. Ab einem genügend großen $y_{\text{Sc/Br}^-}$ (Tab. 15) wird jedoch, aufgrund der schnellen homogenen Reaktion und der ausreichend verfügbaren Fängermoleküle, in der Volumenphase dieses Phänomen nicht mehr beobachtet.

Tab. 15. Minimal notwendige $y_{\text{Sc/Br}^-}$, für die rS mit Vergrößerung von d monoton abnimmt.

$c(\text{KBr}) / \text{mM}$	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ (L-Cystin)	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ (Cystamin)
5	1.0	0.75
10	1.5	0.25
25	1.0	

Abschließend erfolgt ein Vergleich die Ergebnisse der SECM-Modifizierungen mit denen der Untersuchung der Konzentrationsprofile aus Kap. 5.2. Damit soll abgeschätzt werden, wie zuverlässig die quantitative Abmessung von Reaktionszonen durch das CLSM waren. Hierfür wurden die Resultate für vergleichbare $y_{\text{SC/Br}^-}$ von $r_{\text{S,CLSM}}$ und $r_{\text{S,SECM}}$ tabellarisch aufgetragen (Tab. 16).

Tab. 16. Vergleich von $r_{\text{S,CLSM}}$ aus Kap. 5.2 und $r_{\text{S,SECM}}$ aus Kap. 6.2 bei Gebrauch von L-Cystin ($c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM}$).

$d / \mu\text{m}$	$r_{\text{S,CLSM}} / \mu\text{m}$ für $y_{\text{Sc/Br}^-}$			$r_{\text{S,SECM}} / \mu\text{m}$ für $y_{\text{Sc/Br}^-}$		
	0.0	0.5	1.0	0	0.5	1.0
5	45.8	23.7	19.8	33.8	21.1	17.8
10	40.6	19.5	16.7	42.3	22.7	16.4
15	37.0	17.3	10.7	45.1	19.5	8.2
20	26.8	10.5	7.6	50.7	14.6	0.0

Es ist ersichtlich, dass die Untersuchung von Reaktionszonen von Br_2/HOBr (CLSM-Messungen bei pH 8) mit Hilfe des Fluoreszenzindikators Resorufin und des CLSM hinreichend genaue Ergebnisse liefert ($\overline{\Delta(r_{\text{S,CLSM}}, r_{\text{S,SECM}})} = 3.8 \mu\text{m}$). Dies gilt vor allem für die kleineren Arbeitsabstände $d/\mu\text{m} = (5, 10, 15)$. Die Messungen am

CLSM wurden in der Nähe der UME im Lösungsvolumen ohne Gegenwart eines Substrats durchgeführt, wo hingegen die Ausmessungen der Reaktionszonen für die Oberflächenmodifikation in einem limitierten Abstand zur Substratoberfläche stattfanden. Hieraus entstanden zwei verschiedene Ausgangssituationen: Im ersten Fall fand ein ungehinderter hemisphärischer Massentransport zur UME in der Volumenphase der Messlösung und bei Letzterem ein gehinderter Massentransport zu einer UME in der Nähe einer Au-OEG-OH-Oberfläche statt. Beim Arbeiten mit $d/\mu\text{m} = (15, 20)$ zeigte dies besonders deutlich, da hier die größten Abweichungen festgestellt werden.

Über die Betrachtung zur Diffusion von Br^- , Ätzmittel und Fängermolekül muss beachtet werden, dass der Abbau der OEG-OH-SAM auf einer Au-Oberfläche viel komplexer ist als die Ergebnisse aus Kap. 3.3 (Abb. 12) vermuten lassen. Abbildung 60 verdeutlicht schematisch den wahrscheinlichen schrittweisen Abbau der OEG-OH-SAM. Zunächst werden die terminalen OEG-Einheiten sukzessiv durch die Reaktion mit mikroelektrochemisch erzeugtem Br_2 abgebaut (Abb. 60A).^[147] Danach ätzt das Br_2 den verbleibenden Rest der Alkyl-Ketten von der Au-Oberfläche fort, bis nur noch eine blanke Au-Oberfläche vorliegt (Abb. 60B). An diesen freiliegenden Stellen des Au-Substrats findet ungehindert die Br^- -Mediatorregenerierung statt (Abb. 60C). Durch die Abreaktion des Br_2 im ersten und zweiten Schritt verbreitert sich die Diffusionsschicht des Ätzmittels langsamer als in der Volumenphase, da einige Br_2 -Moleküle verbraucht werden, um die OEG-Endgruppe und den Alkylrest zu entfernen.^[147] Dieser Vorgang hat große Ähnlichkeiten mit den Fängerreaktionen im Lösungsvolumen und könnte auch als Fängerfunktion der Oberfläche bezeichnet werden. Da an einer freigelegten Au-Oberfläche Br_2 schnell und ungehindert zu Br^- zurückreagieren kann, wird die Fängerfunktion der Oberfläche zunehmend verstärkt, sodass die Br_2 -Reaktionszone noch weiter eingeschränkt wird. Aus diesem komplexen Zusammenhang folgt, dass Ergebnisse oder Teilergebnisse (Abb. 52 bis 56) nicht in eine triviale Näherungsfunktion der Form $r_s = f(t)$, $r_s = f(t)$ oder $r_s = f(y_{\text{Sc}/\text{Br}^-})$ zusammenfasst werden können.

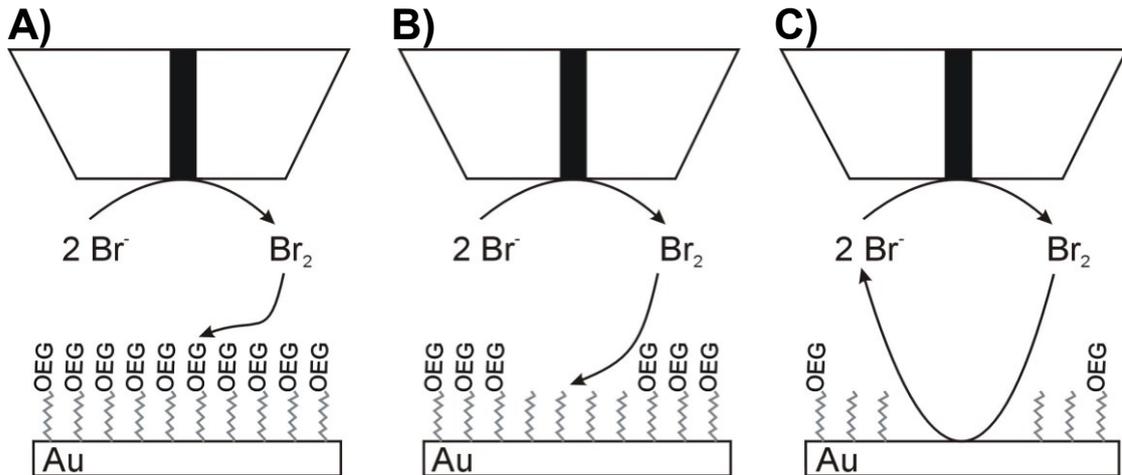


Abb. 60. Schematische Darstellung des schrittweisen Abbaus von Au-OEG-SAMs durch mikroelektrochemisches Ätzen mit Br_2 . A) Abbau der oberflächlichen OEG-Terminierungen der SAM, B) Abbau der Restalkylketten der SAM, C) Mediator-Regenerierung auf blanker Au-Oberfläche.

Der Einsatz von 0.5 M H_2SO_4 -Leitelektrolyt-Lösung war notwendig, um die experimentellen Ergebnisse für beide Fängermoleküle L-Cystin und Cystamin (bei höheren Br^- -Konzentrationen) vergleichbar zu machen. Natürlich wäre die hohe Acidität für *in vivo* Zell-Experimente ungünstig. Es wäre jedoch denkbar, Experimente zur Zellansiedlung nach erfolgter Modifikation und Reinigung durchzuführen. Doch wie schon im Kapitel 5.2 bewiesen, könnte auch ein 0.5 M K_2SO_4 Leitelektrolyt bei neutralem pH-Wert für geringe L-Cystin-Konzentrationen eingesetzt werden.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass L-Cystin und Cystamin sehr effektive Fängermoleküle darstellen, um die Mikrostrukturierung von OEG-SAMs zu verbessern. Es lässt sich darüber hinaus basierend auf den vorliegenden Ergebnissen vermuten, dass das Fängermolekül Cystamin zur mikroelektrochemischen Modifikation von Oberflächen wesentlich effektiver eingesetzt werden kann, als das in der Literatur oft verwendete L-Cystin. Dies könnte an einer schnelleren homogenen Reaktion in der Nähe der UME liegen. Um diese Vermutung definitiv zu bestätigen, muss die Geschwindigkeitskonstante dieser Reaktion bestimmt werden. Dies geschieht in Kap. 6.4.

6.3 Erzeugung von Mikrostrukturen mit pH-schaltbaren Elektronentransferraten

Da es möglich ist, lokale elektrochemische Mikrostrukturierungen mit Hilfe von Disulfiden deutlich zu verbessern, soll eine weitere Nutzbarkeit der auf diese Weise modifizierten Au-OEG-OH-Oberflächen (s. a. Kap. 6.2) Erwähnung finden. Diese Anwendung könnte eine neue, sehr ökonomische Strukturierungsmethode darstellen, um auch andere Thiole, z. B. für die elektrochemische Sensorik, zu verändern. Dies ist insbesondere dann Erfolg versprechend, wenn die Strukturierung in paralleler Weise erfolgt. Über erste Ansätze dazu berichten gemeinsame Publikationen mit Lesch et al.^[2, 25] SAM- oder Polymer-Substrate, deren Eigenschaften sich mit dem pH-Wert der umgebenden Lösung ändern, sind in der Literatur bekannt. Zur Mikrostrukturierung von Schichten aus diesen Funktionsmaterialien kamen z. B. Injekt-printing^[208] oder die Mikrobearbeitung (*micromachining*)^[209] zum Einsatz. De Groot et al.^[210] nutzten Nanoporen mit pH-sensiblen Polymerbürsten (*polymer brushes*) um die Ionen-Permeabilität in nanometergroßen Chips zu steuern. Auch wurden diese pH-schaltbaren Oberflächen von Makrokapseln genutzt, um Stoffe einzuschließen und sie später mit Änderungen des pH-Wertes wieder freizugeben oder sequenziell Partikel mit unterschiedlichen Farbstoffen zu markieren.^[211-213] Auch können an Au-Nanoröhren als Model-Membranen pH-schaltbare Monolagen chemisorbierter Thiole lokal die selektive Diffusion geladener Teilchen steuern.^[214]

Schon Wilhelm et al.^[215, 216] desorbierten Thiole lokal durch Anlegen einer Wechsellspannung zwischen UME und einem SAM-bedeckten Substrat. Die resultierenden Lücken wurden *in situ* durch andere Thiole oder Disulfide in der Messlösung aufgefüllt. Da sich bei der elektrochemischen Behandlung sowohl Thiole als auch Disulfide austauschen können und das als Fängermolekül eingesetzte L-Cystin ein Disulfid mit Amino- und Carboxylat-Funktionen ist, besteht die Möglichkeit, dass bei der lokalen Oberflächenmodifikation einer OEG-SAM diese nicht nur abgebaut, sondern sofort eine pH-schaltbare Monolage aus L-Cystin-Einheiten entsteht.

Die Abbildung 61 zeigt eine mit 25 mM KBr und 12.5 mM L-Cystin mikroelektrochemisch modifizierte Au-OEG-OH Oberfläche. Die Charakterisierung dieser Oberfläche erfolgte nach der elektrochemischen Mikrostrukturierung mit Hilfe verschiedener Mediatorlösungen im SECM-Aufbau. Hierbei kamen $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ - und

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -Lösungen bei pH-Werten kleiner 2 oder größer 10 zum Einsatz. Hierbei zeigt Abb. 61 auf der oberen Zeile (A, B) die Charakterisierung der modifizierten Oberfläche mit Hilfe einer 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ -Lösung. In Abbildungsteil A) wurde die Mediatorlösung auf einen $\text{pH} < 2$ und in B) $\text{pH} > 10$ eingestellt. In der unteren Zeile wurde hingegen eine $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -Lösung verwendet. In Abbildungsteil C) stellte man auf einen $\text{pH} < 2$ und in D) $\text{pH} > 10$ in der verwendeten Mediatorlösung ein.

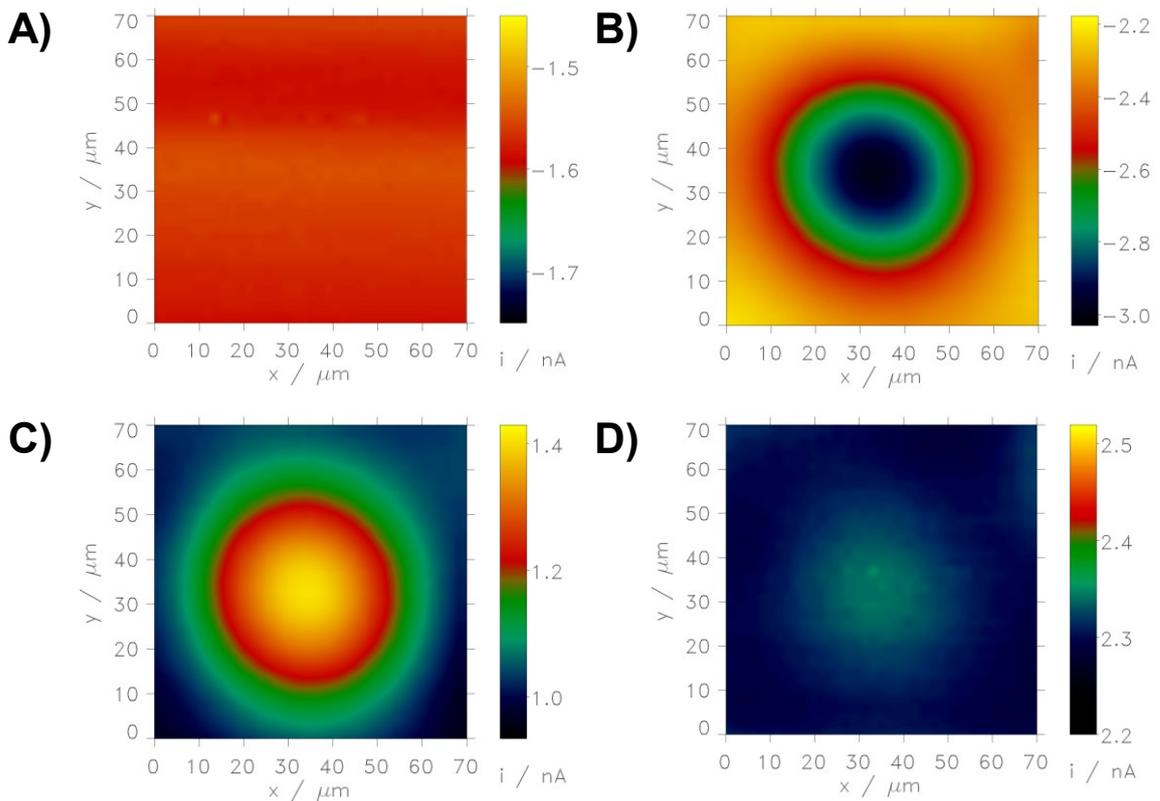


Abb. 61. SECM-Abbildungen im FB-Mode des gleichen Oberflächenabschnitts einer modifizierten Au-OEG-OH bei unterschiedlichem pH und verschiedenen Mediatoren. Modifikation: 25 mM KBr und 12.5 mM L-Cystin in 0.5 M H_2SO_4 ($r_T = 12.5 \mu\text{m}$, $d = 5 \mu\text{m}$, $E_T = 1.2\text{V}$, $t = 10 \text{s}$). Abbildungsparameter ($v_T = 15 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 2 \mu\text{m}$, $d = 10 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{V vs. Ag-QRE}$): A) 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer ($\text{pH} < 2$), B) 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer ($\text{pH} > 10$), C) 1 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ in 0.1 M Phosphatpuffer ($\text{pH} < 2$), D) 1 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ in 0.1 M Phosphatpuffer ($\text{pH} > 10$).

Bei der Verwendung dieser Mediatorlösungen wird ersichtlich, dass der Charakter des Substrates deutliche Unterschiede aufweist. Kommt eine saure Mediatorlösung zum Einsatz, wird beim Gebrauch von $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ an der

modifizierten Stelle kein erhöhter Sondenstrom gemessen. Befindet sich jedoch $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ im Lösungsvolumen, findet an der modifizierten Region durch die erhöhte Permeabilität der OEG-OH-Oberfläche eine Regeneration des Mediators statt (positiver Feedback). Bei Verwendung einer alkalischen Lösung kehrt sich das Verhalten um.

Für einen direkten Vergleich sind in der Abb. 62 Profile aus den SECM-Aufnahmen aus Abb. 61 aufgetragen. Die Profile zeigen die normierten Sondenströme $i_T / \bar{i}_{T,\min}$ einer lateralen Abrasterung der modifizierten Region in x -Richtung. In diesem Zusammenhang steht $\bar{i}_{T,\min}$ für den durchschnittlichen minimalen Sondenstrom des kinetisch gehinderten Au-OEG-Substrates. Dieser Parameter wird verwendet, um die Unterschiede der erhaltenen SECM-Signale noch besser zu verdeutlichen.

Abbildungsteil 62A) präsentiert die Ergebnisse bei Verwendung der 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ -Lösung und B) der 1 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -Lösung bei pH < 2 (\square) sowie pH > 10 (Δ). Man erkennt deutlich den pH-selektiven Effekt auf den Sondenstrom im SECM-FB-Mode-Experiment. Erhöht man den pH auf 10, ändern sich die Eigenschaften der modifizierten OEG-OH Oberfläche, wodurch ein deutlicher Anstieg und Abstieg von $i_T / \bar{i}_{T,\min}$ entlang der x -Richtung festgestellt wird. Bei einer $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ -Lösung von einem pH < 2 hingegen ist ein solches Profil von $i_T / \bar{i}_{T,\min}$ nicht erkennbar. Es liegt nicht einmal ein großer Unterschied zu $i_T / \bar{i}_{T,\min} = 1$ vor. Beim Wechsel des Mediators von $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ auf $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ tritt der entgegengesetzte Fall zu Abb. 62A ein: Unter Verwendung einer sauren Mediatorlösung wird ein klares Profil gemessen und in alkalischer Lösung ist keine große Unterscheidung zum Untergrund wahrnehmbar.

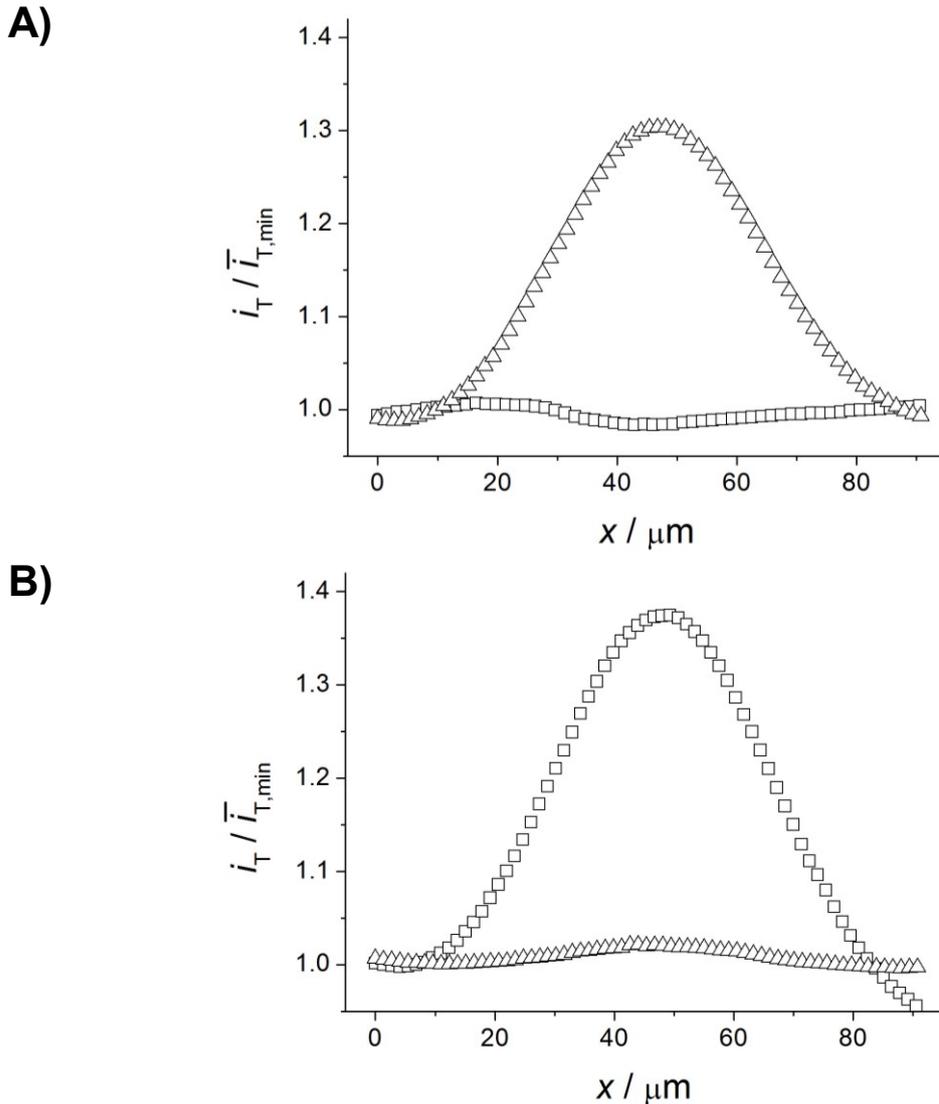


Abb. 62. SECM-Profile der Abb. 61 A - D) bei pH < 2 (\square) und pH > 10 (Δ). A) 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, B) 1 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -Lösung. Versuchsparameter wie in Abb. 61.

Zur Erklärung dieses Sachverhalts bietet sich der so genannte „*Ionen-Gating-Mechanismus*“ (*ion gating mechanism*) an, der auf der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen der protonierten bzw. deprotonierten Endgruppen des Thiols/Disulfids Cystein/L-Cystin der neu gebildeten SAM und der geladenen Redoxmediatoren beruht.^[208, 217, 218] Die pKs-Werte bei 25 °C sind bekannt.^[207]



Folglich sind bei niedrigem pH die NH_2 -Gruppen protoniert und damit positiv geladen ($-\text{NH}_3^+$). Dadurch wird die Schicht permeabler für $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}$ (Abb. 61C), das an der Au-Oberfläche zu $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ regenerieren kann und somit den positiven Feedback bewirkt. Dagegen wird das an der UME elektrochemisch reduzierte $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ elektrostatisch von den geladenen SAMs abgestoßen. Hierdurch wirkt diese Stelle isolierend und es ergibt sich ein negativer Feedback (Abb. 63). Bei einem hohem pH wird die Carbonsäure-Funktion deprotoniert, wodurch die Substratoberfläche faktisch eine negative Ladung trägt ($-\text{COO}^-$). Dadurch erfolgt die Abstoßung des negativ geladenen $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ von der Oberfläche. Das positiv geladene $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ wird durchgelassen und am Gold reoxidiert (Abb. 61C). Das führt zu einer Erhöhung des Sondenstroms und damit zum positiven Feedback.

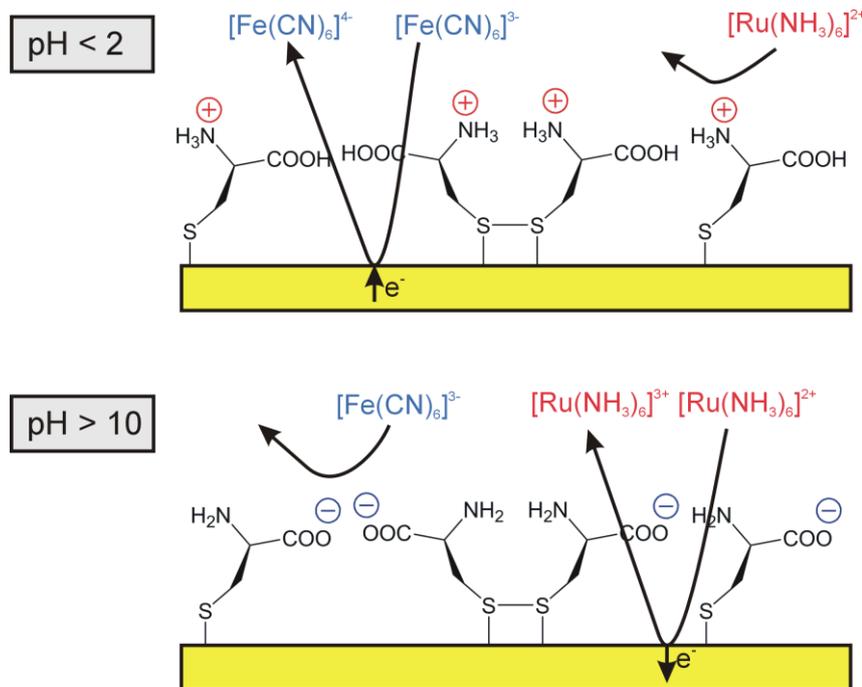


Abb. 63. Schema zur Erklärung der pH-Abhängigkeit der Messungen.

Die vorliegenden Ergebnisse hatten einen bedeutenden Einfluss auf zukünftige SECM-FB-Mode-Experimente für die Charakterisierung von modifizierten OEG-SAM-Oberflächen bei der Verwendung der getesteten Fängermoleküle. Bei Verwendung einer $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ -Mediatorlösung musste ein neutraler bis alkalischer pH eingestellt werden. Alle FB-Mode Charakterisierungs-Experimente mit $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, welche im Anschluss eines Modifikationsexperimentes im sauren Medium durchgeführt wurden,

fanden nach einem Lösungsmittelwechsel in einer 0.1 M Phosphat-Pufferlösung (pH 7) statt. Hiermit wurde eine Verfälschung der Ergebnisse in Abb. 47 – 51, die durch elektrostatische Abstoßung von $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ an der modifizierten OEG-OH-Oberfläche im sauren Medium resultieren würde, verhindert.

6.4 Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten zwischen Fänger- molekül und Brom

Dieser Abschnitt befasst sich mit der elektrochemischen Bestimmung der homogenen Geschwindigkeitskonstanten pseudo-erster und zweiter Ordnung für den EC'-Mechanismus der CEL-Reaktion. Es kommen hierfür zwei Methoden zum Einsatz: Die Cyclovoltammetrie (*Cyclic voltammetry*, CV) und Linear-Sweep-Voltammetrie an der rotierenden Scheibenelektrode (*rotating disk electrode*, RDE).

6.4.1 Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten durch Cyclo- voltammetrie

Bei der elektrochemischen Erzeugung von Br₂ in Gegenwart eines Fängermoleküls liegt ein so genannter EC' („*EC prime*“)-Mechanismus vor. Dieser Reaktionsmechanismus ist vor allem im Hinblick auf homogene katalytische Redox-Reaktionen^[219, 220] und Elektrochemolumineszenz (ECL)^[221] sehr wichtig. Hierbei steht E für die reversible Elektronentransferreaktion an der Elektrode, wobei R (Br⁻) zu O (Br₂) oxidiert (Gl. XX) wird. Der Buchstabe C beschreibt die nachfolgende homogene chemische Reaktion in der Lösung, in der O mit einem Reaktanden A (in diesem Fall der Fängermoleküle L-Cystin oder Cystamin) zu R und Produkt P reagiert (Gl. XXI). Das nachgestellte Hochkomma bedeutet hierbei, dass im zweiten Schritt die ursprüngliche elektroaktive Spezies R regeneriert wird und so der Elektrodenreaktion wieder zur Verfügung steht.



Ist Spezies A im großen Überschuss vorhanden, bleibt die effektive Konzentration von A konstant und der zweite Schritt der Reaktion ist pseudo-erster Ordnung. Sonst gilt ein Zeitgesetz zweiter Ordnung. Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der schnellen chemischen Reaktion hat sich unter den bekannten voltammetrischen Untersuchungsmethoden die Messung von Grenzströmen an UMEs durchgesetzt, da hier hohe intrinsische Stoffübergangsgeschwindigkeiten unter stationären diffusionskontrollierten Bedingungen auftreten.^[222-225] Denuault et al.^[222] entwickelten hierfür einen einfachen Ansatz, in dem die Abhängigkeit des stationären Stroms vom Radius der aktiven UME-Oberfläche gezeigt

wurde. Damit können die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten pseudo-erster Ordnung k' (Gl. 31) und zweiter Ordnung k'' (Gl. 32) direkt aus CV-Experimenten mit variablen r_T berechnet werden.

$$\frac{i_k}{i_d} = 1 + \frac{r_T \pi}{4} \sqrt{\frac{k'}{D}} \quad (31)$$

$$\frac{i_k}{i_d} = 1 - \frac{k'' r_T^2 \pi^2 c_{\infty, R}}{32D} + \frac{1}{2} \sqrt{\left(\frac{k'' r_T^2 \pi^2 c_{\infty, R}}{16D} \right)^2 + \left(\frac{k'' r_T^2 \pi^2 c_{\infty, A}}{4D} \right)} \quad (32)$$

Das Symbol i_k steht hierbei für den Sondenstrom bei Anwesenheit von A, i_d für dem Diffusionsgrenzstrom ohne A, $c_{\infty, R}$ für Konzentration von R im Lösungsvolumen, $c_{\infty, A}$ für Konzentration von A im Lösungsvolumen. Weiterhin steht D für den Diffusionskoeffizienten, wobei zur Vereinfachung angenommen wird, dass $D = D_O = D_R = D_A$ ist. Dies ist eine berechtigte Vorgehensweise, unter Annahme, dass die untere Grenze $\underline{D} = 4 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ und die obere $\overline{D} = 1 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ist. Hieraus entsteht ein maximaler Fehler von $\sqrt{\overline{D}/\underline{D}} = 1.58$, welcher bei den weiteren Betrachtungen vernachlässigbar ist.

Im Folgenden wurden CVs mit 3 – 4 UMEs mit r_T zwischen 5 und 25 μm in einem Dreielektrodenaufbau (Pt-Draht als Gegenelektrode, Ag-Draht als Quasireferenz-elektrode) in einem Potentialbereich von 0.6 V bis 1.3 V mit einer Vorschubgeschwindigkeit von $v = 0.01 \text{ V s}^{-1}$ aufgenommen. Hierbei wurde bei den einzelnen Messreihen mit variablen L-Cystin- und Cystamin-Konzentrationen ($c(\text{L-Cystin})$): 0 – 20 mM, $c(\text{Cystamin})$: 0 – 40 mM konstante KBr-Konzentrationen in 0.5 M H_2SO_4 als Leitelektrolyt verwendet. Abbildung 64A zeigt eine Beispiel-Messreihe für 10 mM KBr mit 10 mM L-Cystin. Man erkennt, dass mit der Größe von r_T der Oxidationspeak von Br^- bei $E = 1.1 \text{ V}$ proportional zunimmt. Trägt man nun den Quotient i_k / i_d gegen r_T auf, so zeigt sich, dass das Stromverhältnis in Abhängigkeit zum Scheibenradius linear zunimmt (Abb. 64B).

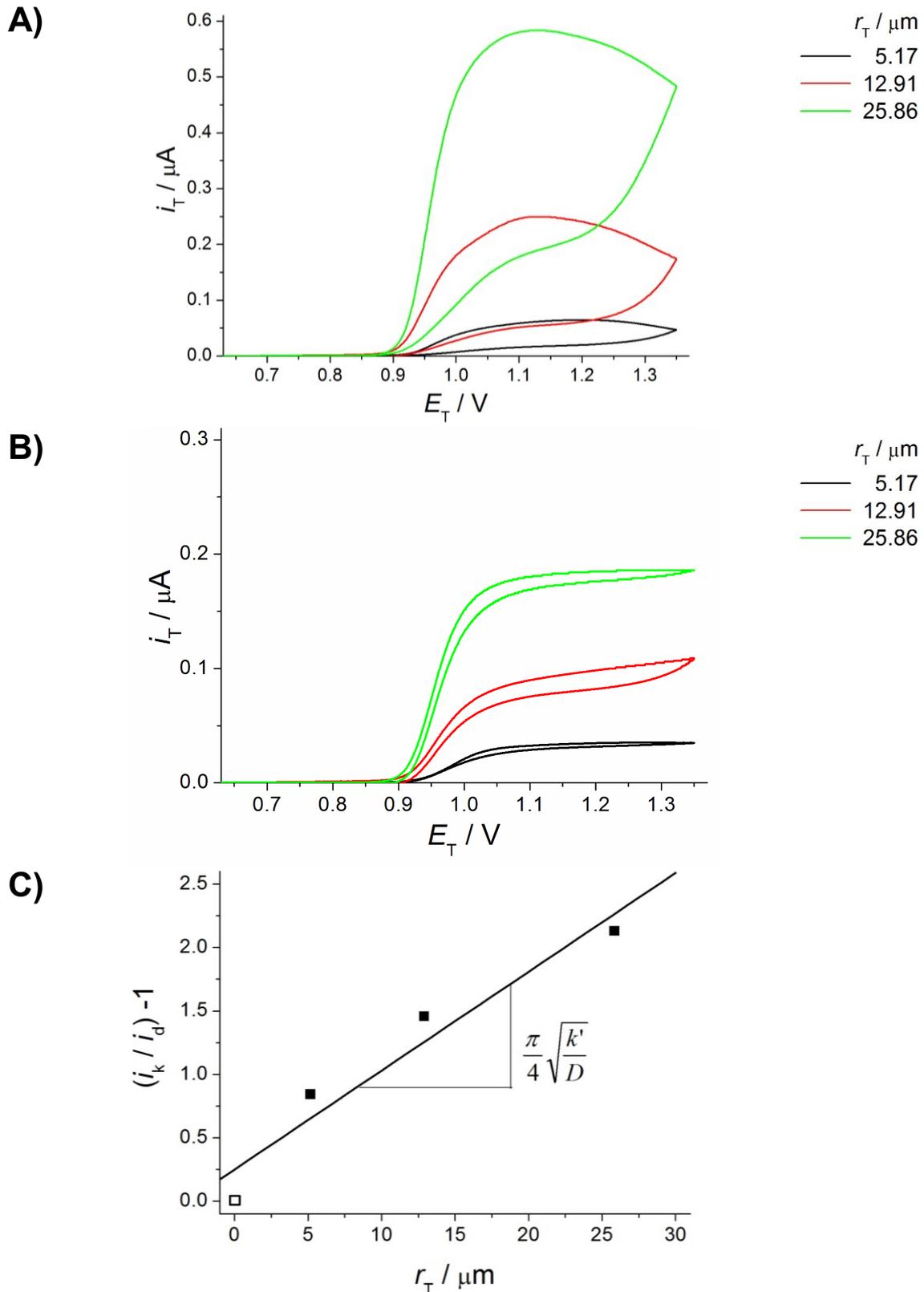


Abb. 64. Beispiel für die Bestimmung von k' . A) CVs für unterschiedliche r_T in 10 mM KBr und 10 mM L-Cystin in 0.5 M H_2SO_4 (E_T vs. Ag-QRE, $\nu = 0.01 \text{ V s}^{-1}$), B) CVs für unterschiedliche r_T in 10 mM KBr und 0 mM L-Cystin in 0.5 M H_2SO_4 (E_T vs. Ag-QRE, $\nu = 0.01 \text{ V s}^{-1}$), C) Auftragung i_k / i_d gegen r_T beim Signalmaximum.

Daher kann von einer Reaktion pseudo-erster Ordnung gesprochen werden und Gl. 31 für die Bestimmung von k' herangezogen werden. Demnach gilt:

$$k' = \left(\frac{4m}{\pi} \right)^2 D \quad (33)$$

wobei m für die Steigung der Geraden steht. Außerdem wurde für die Diffusionskoeffizienten $D = D_{\text{Br}_2} = 1.49 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ verwendet.^[226]

Nun wurden für verschiedene KBr- [$c/\text{mM} = (5, 10, 25)$] und L-Cystin- bzw. Cystamin-Konzentrationen [$c/\text{mM} = (0 - 40)$] CVs aufgenommen. Die maximale Konzentration des Fängermoleküls ist durch die Löslichkeit in 0.5 M H_2SO_4 limitiert. So konnten bei Cystamin eine maximale Endkonzentration von 40 mM und bei L-Cystin nur bis zu 20 mM in Lösung gebracht werden. Nach Aufnahme der CVs wurde k' bestimmt. Die einzelnen Graphen in Abb. 65 (L-Cystin) und 66 (Cystamin) zeigen die Abhängigkeit von k' von der Konzentration des Fängermoleküls. Die Geschwindigkeitskonstante k'' kann aufgrund des Zusammenhangs

$$k' = k'' c_{\infty, A} \quad (34)$$

berechnet werden, d. h. k'' entspricht der Steigung der jeweiligen k' - c (Fängermolekül)-Geraden (Abb. 65).

Hierbei ist zu beachten, dass für L-Cystin (Abb. 65) k'' zunächst mit der Ausgangskonzentration von $c(\text{KBr}) = 5 \text{ mM}$ nach 10 mM zunimmt und bei Verwendung von $c(\text{KBr}) = 25 \text{ mM}$ wieder abnimmt. Dies könnte an der geringen Löslichkeit von L-Cystin liegen oder an einer zunehmenden Verschmutzung der aktiven Elektrodenoberflächen der UMEs durch L-Cystin selbst bzw. dessen Produkte aus der homogenen Reaktion. Trotzdem zeigen die Graphen eine relativ gute lineare Korrelation.

Bei Verwendung von Cystamin (Abb. 66) hingegen ist die Linearität bei höheren Fängermolekül-Konzentrationen in der Lösung nicht mehr gut ausgeprägt. Für $c(\text{KBr}) = 10 \text{ mM}$ wird eine gute Übereinstimmung der einzelnen Messpunkte mit der Ausgleichsgeraden festgestellt bis die Cystamin-Konzentration einen Wert von 25 mM überschreitet. Findet die Messung in einer 5 mM KBr-Lösung statt, ist die Veränderung von k' bis zu $c(\text{Cystamin}) = 20 \text{ mM}$ annähernd linear. Danach wächst k' fast exponential an.

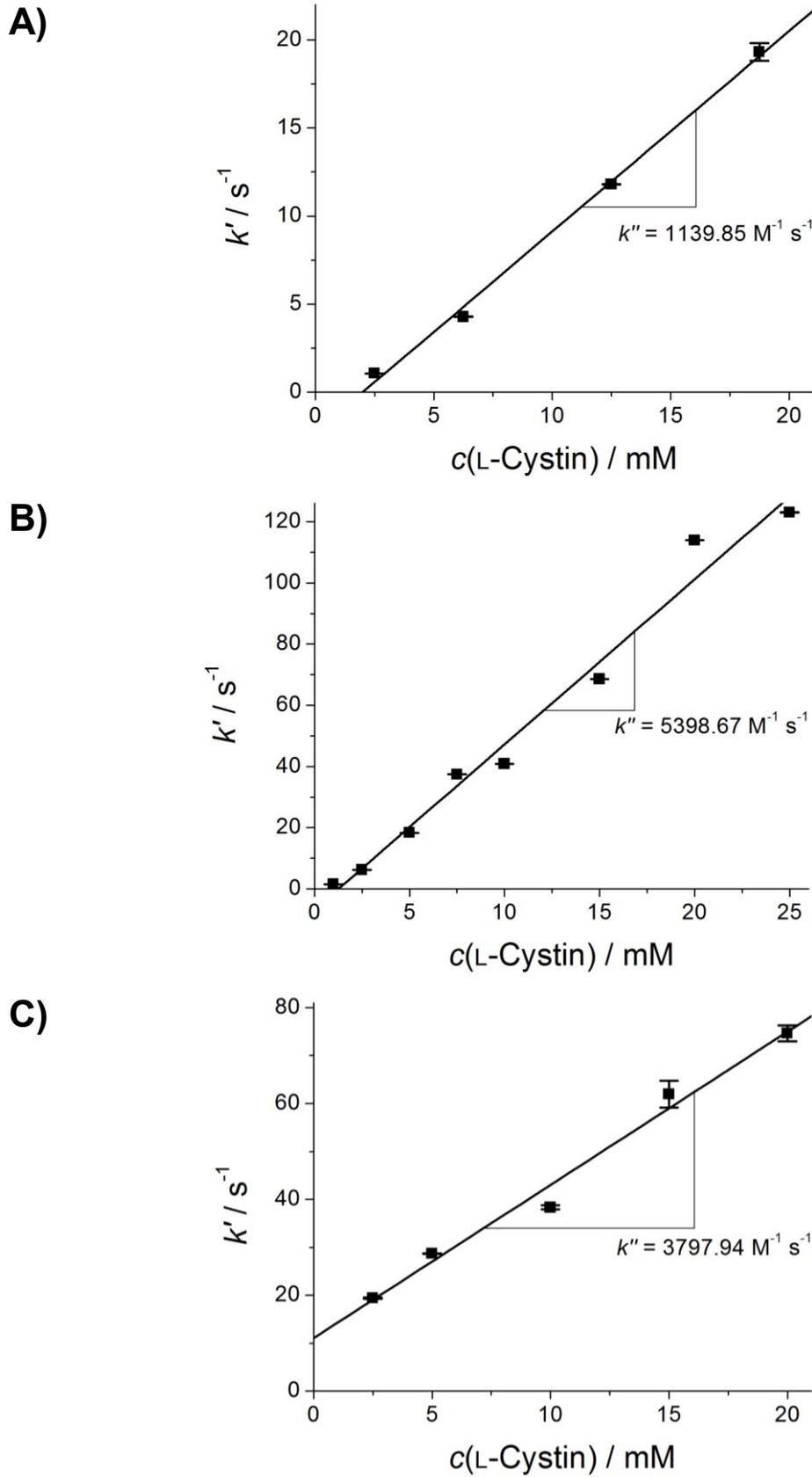


Abb. 65. Abhängigkeit k' von $c(\text{L-Cystin})$ in 0.5 M H_2SO_4 (E_T vs. Ag-QRE, Pt-Draht-Gegenelektrode). A) 25 mM KBr, B) 10 mM KBr, C) 5 mM KBr.

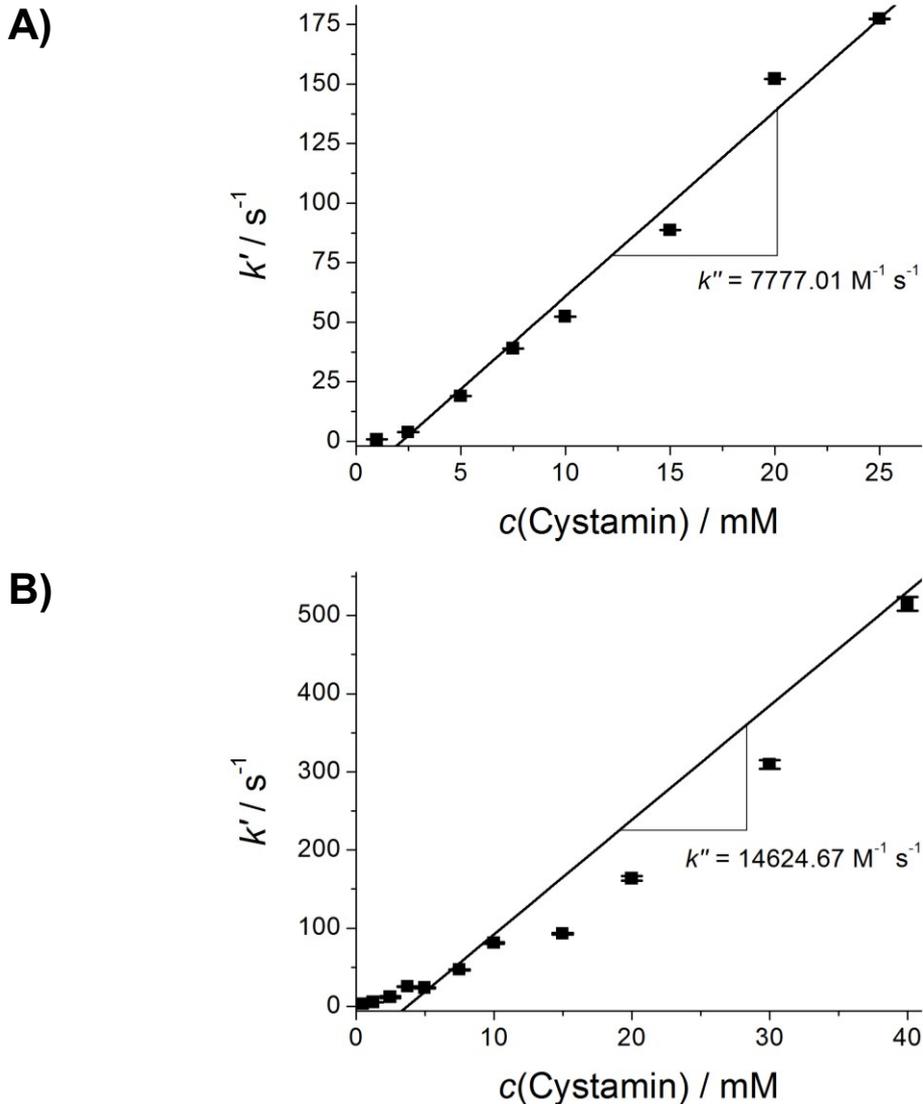


Abb. 66. Abhängigkeit k' von $c(\text{Cystamin})$ in 0.5 M H_2SO_4 (E_T vs. Ag-QRE, Pt-Draht-Gegenelektrode). A) 10 mM KBr, B) 5 mM KBr.

Nun wurden mit den Ergebnissen von Abb. 65 und 66 die theoretische Schichtdicke $\mu_{D,CV}$ der CEL nach der Formel von Tian et al.^[34] (Gl. 11, Kap. 3.4) berechnet. Die Resultate für $\mu_{D,CV}$ sind in Abb. 67 gegen die normierte Fängermolekül-Konzentration $y_{\text{Sc/Br}^-}$ aufgetragen.

Es wird deutlich, dass mit steigendem $y_{\text{Sc/Br}^-}$ die theoretische Schichtdicke für beide Fängermolekül-Systeme gegen einen Endwert strebt, wobei die Steigung beim Cystamin deutlicher ausgeprägt ist als beim L-Cystin. Die Grenzschicht bei unendlich hohem $y_{\text{Sc/Br}^-}$ ist bei Cystamin etwa zwischen 1-2 μm und bei L-Cystin zwischen 3 μm und 4 μm .

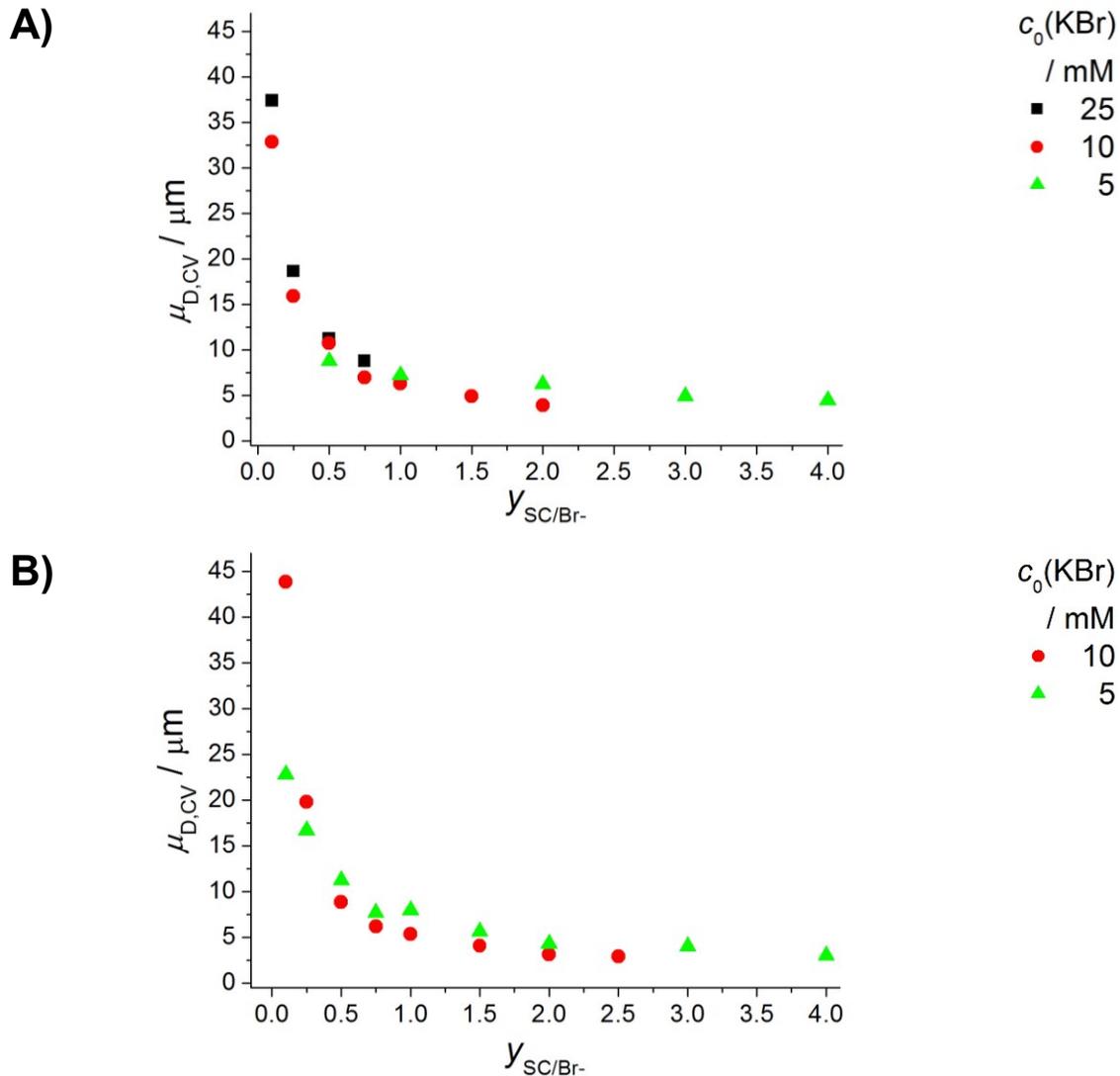


Abb. 67. Berechnete Schichtdicke $\mu_{D,CV}$ der CEL nach Tian et al.^[34] in Abhängigkeit der normierten Fänger-molekül-Konzentrationen y_{SC/Br^-} , berechnet aus den k' von Abb. 65 und 66. A) L-Cystin, B) Cystamin.

Die Schichtdicke $\mu_{D,CV}$ kann nun mit den Daten aus den SECM-Modifizierungs-Experimenten (Kap. 6.2, Abb. 52 bis 56) verglichen werden. Hierbei wird angenommen, dass bei $r_S = 0 \mu\text{m}$ die Br_2 -Reaktionszone die Substratoberfläche nicht mehr erreicht, sodass $d(r_S = 0 \mu\text{m}) \geq \mu_{D,SECM}$ vorausgesetzt wird. Die folgenden Tabellen 17 und 18 zeigen den direkten Vergleich von $\mu_{D,CV}$ und $\mu_{D,SECM}$. Dabei werden die Werte y_{SC/Br^-} eingetragen, bei denen die Diffusionsschicht $\mu_{D,CV}$ und $\mu_{D,SECM}$ bei einem Arbeitsabstand von $d/\mu\text{m} = (5, 10, 15, 20)$ die Substratoberflächen nicht mehr erreichen und somit nicht modifizieren würden.

Tab. 17. Vergleich $\mu_{D,CV}$ und $\mu_{D,SECM}$ von Kap. 6.2, L-Cystin

$\mu_{D,CV}$ / μm	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ für $c(\text{KBr})$ / mM			$\mu_{D,SECM}$ / μm	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ für $c(\text{KBr})$ / mM		
	5	10	25		5	10	25
< 5	3.0	1.5	-	< 5	-	2.5	-
< 10	0.5	0.75	0.5	< 10	3.0	2.5	3.0
< 15	0.5	0.5	0.5	< 15	2.0	2.0	2.5
< 20	0.5	0.25	0.25	< 20	1.0	1.5	2.0

Tab. 18. Vergleich $\mu_{D,CV}$ und $\mu_{D,SECM}$ von Kap. 6.2, Cystamin

$\mu_{D,CV}$ / μm	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ für $c(\text{KBr})$ / mM		$\mu_{D,SECM}$ / μm	$y_{\text{Sc/Br}^-}$ für $c(\text{KBr})$ / mM	
	5	10		5	10
< 5	2.0	1.0	< 5	2.0	0.75
< 10	0.75	0.5	< 10	1.5	0.5
< 15	0.5	0.5	< 15	1.0	0.5
< 20	0.25	0.25	< 20	0.75	0.5

Im Falle des L-Cystins stimmen die $y_{\text{Sc/Br}^-}$ für die $\mu_{D,CV}$ und $\mu_{D,SECM}$ nicht annähernd überein. Beim Arbeiten mit Cystamin hingegen findet man doch eine annähernd gute Übereinstimmung. Da die CVs nicht in der Nähe einer Substrat-Oberfläche sondern im Lösungsvolumen aufgezeichnet wurden, kann es zu großen Abweichungen kommen. Auch spielt der schrittweise OEG-SAM-Abbau (Kap. 6.2, Abb. 60) eine entscheidende Rolle bei der Oberflächenmodifikation und damit bei der Rekonstruktion von $\mu_{D,SECM}$.

6.4.2 Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten mit Hilfe der rotierenden Scheibenelektrode

Eine weitere voltammetrische Methode zur Bestimmung homogener Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten nutzt die rotierende Scheibenelektrode (RDE, *rotating disk electrode*) zur Einstellung stationärer Diffusionsschichten. Sie besteht aus einer Scheibenelektrode, welche an der Stirnseite eines isolierenden Materials (z. B. Teflon oder Epoxydharz) eingebettet ist. Durch einen Quecksilber-Schleifkontakt kann ein Kontakt mit einem Potentiostaten hergestellt werden. Ein Motor sorgt für die Rotation um ihre Symmetrieachse in einer bestimmten Frequenz f (Abb. 68 A). Dadurch strömt die zu analysierende Elektrolytlösung laminar zur Elektrodenfläche hin und wird an der Stirnfläche des Zylinders radial verdrängt. Somit ist der Stofftransport durch konvektive Diffusion über die gesamte aktive Elektrodenoberfläche gleichförmig (Abb. 68 B). Die Diffusionsschichtdicke δ_N ergibt sich nach Levich^[227] aus folgender Näherungslösung:

$$\delta_N = 1.61 \omega^{-1/2} \nu^{1/6} D_0^{1/3} \quad (35)$$

Hierbei steht ω für die Winkelgeschwindigkeit ($\omega = 2 \pi f$), und ν für die kinematische Viskosität der Elektrolytlösung.

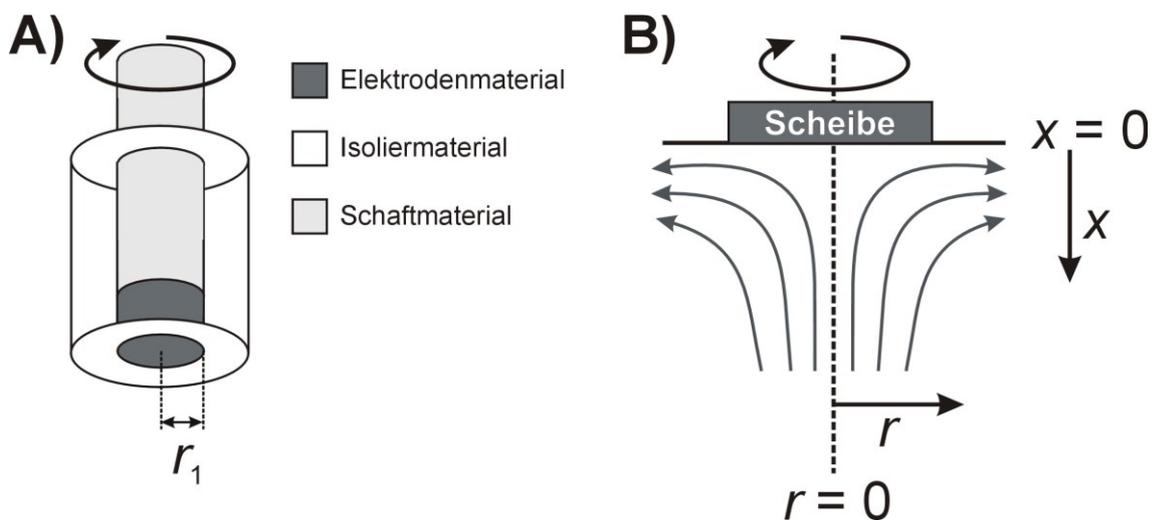


Abb. 68. Schematische Darstellung einer rotierenden Scheibenelektrode.^[228]

A) Aufbau, B) Darstellung des hydrodynamischen Teilchenflusses.

In den folgenden Versuchen wurde eine Pt-Elektrode mit einem $r_1 = 4$ mm verwendet. Es wurden Linear-Sweep-Voltammogramme in 5 mM KBr mit 0.5 M H_2SO_4 als Leitelektrolyt in einem Dreielektrodenaufbau aufgenommen (Pt-Blech als Gegenelektrode, $Hg|Hg_2SO_4|K_2SO_4$ (sat.) als Referenzelektrode). Hierbei wurden vier variable Fängermolekül-Konzentrationen von L-Cystin und Cystamin, 0 mM, 5 mM, 25 mM sowie 50 mM, verwendet (Abb. 69). Auffällig ist, dass bei der Verwendung von hohen L-Cystin-Konzentrationen der Grenzstrom, im Gegensatz zu hohen Cystamin-Konzentrationen, nicht mehr zunimmt. Dies könnte ein Indiz für die schon im vorherigen Kap. 6.4.1 erwähnte Belegung der Pt-Elektrode sein.

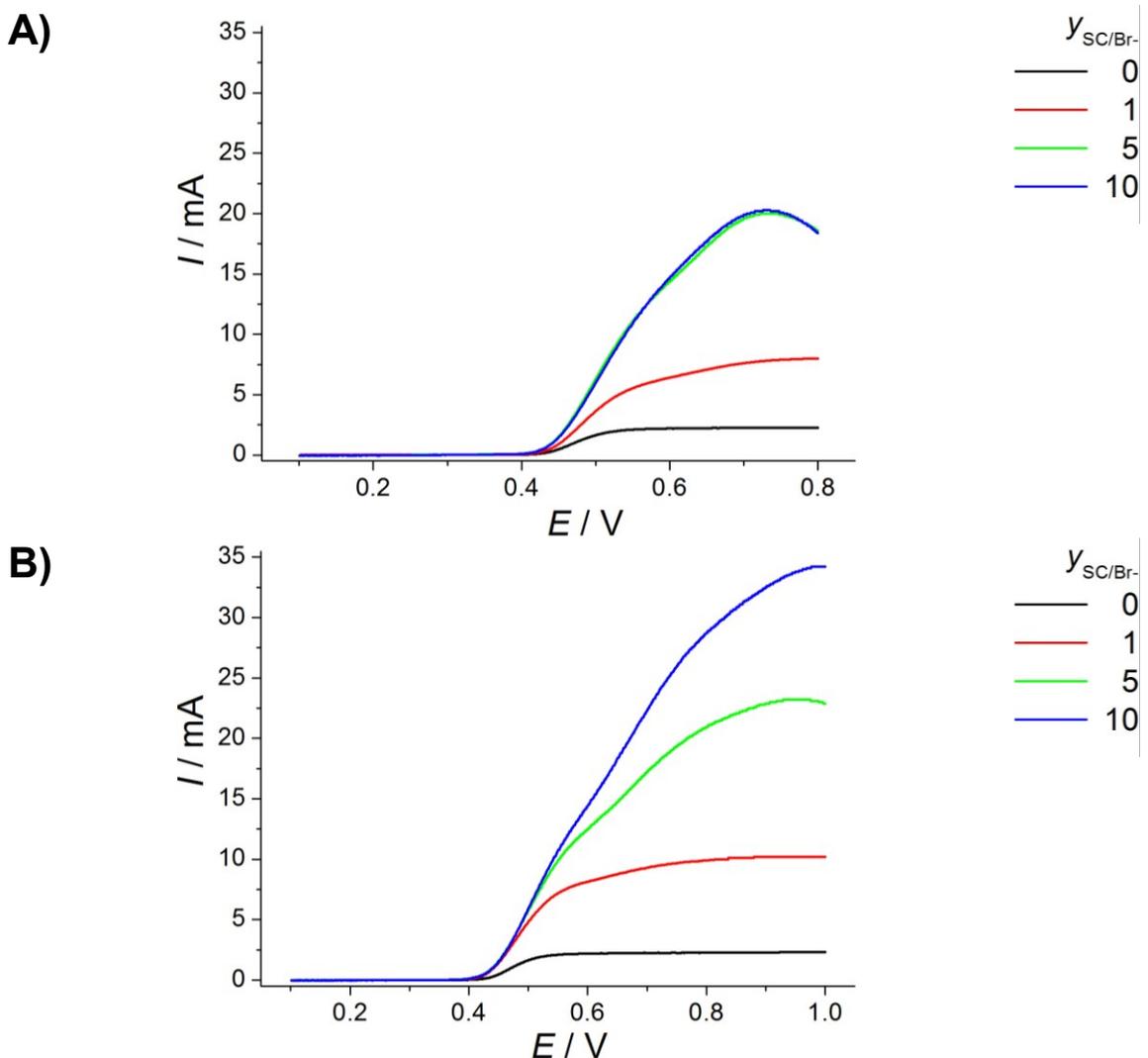


Abb. 69. Linear-Sweep-Voltammogramme einer Pt-Scheibenelektrode ($r = 4$ mm) in 5 mM KBr mit 0.5 M H_2SO_4 als Leitelektrolyt bei $f = 1500 \text{ min}^{-1}$ (E vs. $Hg|Hg_2SO_4|K_2SO_4$ (sat.)). A) 0 – 50 mM L-Cystin, B) 0 – 50 mM Cystamin.

Unter der Bedingung, dass die Dicke der Diffusionsschicht δ_N viel größer als die der Reaktionsschicht μ_D ist, wird eine Begrenzung des kinetischen Stroms, unabhängig von der Rotationsgeschwindigkeiten angenommen.^[229] Aus diesem Grund werden die Messungen bei einer Rotationsfrequenz von 1500 min^{-1} aufgenommen, hier sollte δ_N nach Gl. 35 δ_N etwa $14.70 \text{ }\mu\text{m}$ betragen. Nach den CV-Experimenten ist diese Bedingung bei der höchsten verwendeten Fängermolekül-Konzentration [$c(\text{L-Cystin}) = 25 \text{ mM}$, $c(\text{Cystamin}) = 50 \text{ mM}$] bei L-Cystin mit $\mu_{D,CV} = 4.06 \text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 67 A) und bei Cystamin mit $\mu_{D,CV} = 1.38 \text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 67 B) erfüllt.

Mit den Daten aus Abb. 69 können nun nach folgender Formel gemäß Tian et al.^[229] k' und dadurch k'' berechnet werden. Die Ergebnisse sind in Tab. 19 aufgelistet.

$$I = nFA\sqrt{Dc_{0,\text{Br}^-}}\sqrt{k'c_{0,\text{RSSR}}} \quad (36)$$

Tab. 19. Berechnete Geschwindigkeitskonstanten durch RDE für die höchstmöglichen $c(\text{Fängermolekül})$.

Fängermolekül (RSSR)	k' / s^{-1}	$k'' / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
L-Cystin (25 mM)	1.11×10^3	4.42×10^4
Cystamin (50 mM)	9.37×10^3	1.77×10^5

Tab. 20. Berechnete Geschwindigkeitskonstanten durch CV für die höchstmöglichen $c(\text{Fängermolekül})$ von Tab. 19 (aus Kap. 6.4.1).

Fängermolekül (RSSR)	k' / s^{-1}	$k'' / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
L-Cystin (25 mM)	9.09×10^1	3.97×10^3
Cystamin (50 mM)	7.84×10^2	1.46×10^4

Die experimentellen Ergebnisse von k' und k'' variieren deutlich, wenn diese mit Hilfe von CVs oder mittels RDE-Experimente bestimmt werden. Die Ursache könnte in der möglichen Belegung der UME-Oberfläche liegen. Ein Grund liegt in der Dauer der Experimente. Ein Linear-Sweep-Voltammogram im RDE-Experiment verläuft deutlich schneller (30 s) als eine CV-Messung (5 min), da hier eine besonders schnelle Vorschubgeschwindigkeit eingestellt werden muss. Durch die andauernde Elektrodenreaktion könnten Sulfonsäure-Reste (Produkt aus Fängermolekül-Reaktion, s. a. Gl. XVII) sich an die Pt-UME-Oberfläche adsorbieren und so diese fortwährend

passivieren. Darüber hinaus rotiert die RDE, wodurch diese im geringen Maße durch den Strom der Lösung kontinuierlich gereinigt wird. Um die Belegung der RDE- und UME-Oberflächen zu vermeiden, wurden diese vor jeder Linear-Sweep- und CV-Messung zunächst mechanisch mit Hilfe von Al_2O_3 poliert. Anschließend wurden sie elektrochemisch gereinigt, in dem man sie in 0.5 M H_2SO_4 -Lösung zwischen -0.7 V und 1.0 V vs. Pt-Blech zyklisierte.

Tian et al.^[229] fanden mit Hilfe von RDE für k' und k'' der homogenen Reaktion von L-Cystin mit Br_2 für L-Cystin $k' = 3.5 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ und $k'' = 3.6 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ für $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$. Diese Werte sind deutlich größer als die in dieser Arbeit gemessenen. Gründe hierfür könnten in der Temperatur ($T_{\text{ex}} < 20 \text{ }^\circ\text{C}$) oder der Belegung der Elektrodenoberfläche liegen. Aus der Geschwindigkeitskonstanten berechneten Tian et al.^[229] eine Diffusionsschichtdicke von 0.3 μm . Diese ist kleiner als die berechneten Schichtdicken $\mu_{\text{D,CV}}$ und $\mu_{\text{D,SECM}}$ in Kap. 6.4.1. Es ist jedoch anzumerken, dass die oben genannte Bestimmung von k' , k'' und μ_{D} unabhängig vom Konzentrationsverhältnis des Ätzmittels und Fängermoleküls und unter Verwendung von Makroelektroden geschah.

Die Ergebnisse beweisen jedoch, dass L-Cystin und Cystamin effektive Fängermoleküle für die Modifizierung von Au-OEG-SAMs darstellen. Dabei ergeben sich bei der Verwendung von Cystamin die schnellsten Geschwindigkeitskonstanten k' und k'' , wodurch bewiesen ist, dass Cystamin das effektivere Fängermolekül ist.

7 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden mit dem elektrochemischen Rastermikroskop Reaktionsräume in der Nähe von Ultramikroelektroden erzeugt und mit dem Konfokalmikroskop und diversen elektrochemischen Verfahren charakterisiert. Durch Zugabe von Fänger-molekülen (engl. *scavenger*) ließen sich die Ausdehnungen der Reaktionszonen begrenzen. Anschließend erfolgte ein Vergleich der Ergebnisse mit den Resultanten aus Cyclovoltammetrie an Pt-UMEs und Linear-Sweep-Voltammetrie an rotierenden Pt-Scheibenelektroden.

Zunächst erfolgte die Untersuchung von Reaktionszonen durch das CLSM, welches durch den Einsatz zweier Lochblenden in konfokaler Anordnung Hintergrundlicht ausschließt und lokale Konzentrationsbestimmungen erlaubt. Durch geschickte Auswahl geeigneter Fluoreszenzindikatoren, wurden stoffspezifisch (in dieser Arbeit: H^+ , $Br_2/HOBr$) Reaktionszonen durch die Detektion von konzentrations-abhängigen Lichtintensitäten in der Nähe von UMEs untersucht.

Durch die mikroelektrochemische Reduktion von 1,4-Benzochinon (Q) oder Wasser sowie die Oxidation von 1,4-Hydrochinon (H_2Q) konnten lokale pH-Verschiebungen vorgenommen werden. Die Reduktion/Oxidation von Q/ H_2Q erfolgte über das bisher breiteste pH_{bulk} -Spektrum [pH (5.5 - 9)]. Zudem wurden Q/ H_2Q - und Pufferkonzentration variiert. Es stellte sich heraus, dass durch den Einsatz von Puffern Reaktionszonen eingeschnürt werden. Die Steigerung der Mediatorkonzentration von Q/ H_2Q wie auch die Erhöhung der Pufferkonzentration im Falle der Q-Reduktion bewirkte jedoch bei der elektrochemischen Reduktion von Q keine signifikante Änderung des pH-Wertes. Nur bei der Oxidation von H_2Q an der UME waren deutliche Verringerungen des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Mediatorkonzentration sichtbar. Wichtig für die Interpretation der Ergebnisse war auch die pH-abhängige Pufferkapazität der Messlösungen. Eine Steigerung der Pufferkapazität führte zur Verringerung der lokal mikroelektrochemisch erzeugten pH-Verschiebung sowie zur Verkleinerung des Radius der Reaktionszone r_S .

Erstmals wurde durch den Gebrauch zweier Fluoreszenzfarbstoffe (SNARF-1[®], LysoGreen[™]) die Wasserreduktion an UMEs in einem breiteren pH-Fenster (pH_{bulk} 4 – 9) untersucht. Die elektrochemisch veränderte H^+ -Konzentration in der Nähe der UME verschob sich durch die Erhöhung des Elektrodenpotentials und der Pufferkonzentration

nur geringfügig. Ausgeprägter war hingegen die Wirkung der „chemischen Linse“ auf die Größe der pH-Reaktionszonen bei wachsender Pufferkonzentration. Der fokussierende Effekt nahm mit steigender Pufferkonzentration zu. Entscheidend für die Größe von ΔpH war der, durch die pH-abhängige Verschiebung des Formalpotentials verursachte, Sondenstrom und damit der elektrochemische Umsatz von H_2O an der UME.

Eine neue Entwicklung stellte die konfokale Detektion von Br_2/HOBr dar. Hierzu kam als Fluoreszenzindikator Resorufin zum Einsatz, welches mit Br_2/HOBr umgesetzt wurde. Zusätzlich erfolgte die experimentelle Erprobung der Auswirkungen von L-Cystin als Opferagenz auf die Reaktionszone. Im Anschluss wurde die quantitative Auswertung der Expansion der Br_2/HOBr -Reaktionsräume und der Vergleich mit Daten der SECM-Oberflächenmodifikation von Oligo(ethylenglykol)-terminierten selbstorganisierten Monoschichten durchgeführt. Es zeigten sich gute bis sehr gute Übereinstimmungen für kleine Arbeitsabstände ($5 < d/\mu\text{m} < 15$). Für weiterführende Experimente kann eventuell ein Farbstoff verwendet werden, der im sauren Medium ($\text{pH}_{\text{bulk}} < 2$) zum Einsatz kommt. So könnte eine teilweise Belegung der UME durch Lösen der Produkte (z. B. Sulfonsäure) verhindert werden. Auch sollte die Minderung der Fluoreszenzintensität dieses Farbstoffes reversibel aufgrund eines Effekts der Fluoreszenzlöschung (engl. *quenching*) in Anwesenheit von Br_2/HOBr erfolgen und nicht aufgrund einer Reaktion mit Br_2/HOBr . Eine weitere Möglichkeit die erhaltenen Resultate zu verifizieren, könnte die Nutzung einer Simulation auf Grundlage der Methode der Finiten Elemente sein.

Im weiteren Teil dieser Arbeit erfolgten Oberflächenmodifikationen von Au-OEG-SAM durch das SECM. Dem schloss sich eine Charakterisierung mit Hilfe des SECM sowie mit dem Pulse-Force-Mode des Rasterkraftmikroskops an. Die Vermessung der Radien der modifizierten Flächen erfolgte mit Hilfe der SFM-Software ($r_{\text{S,SFM}}$) und dem Profile-Tool von MIRA ($r_{\text{S,SECM}}$). Aufgrund kleinerer Arbeitsabstände und einer kürzeren Reichweite der ausgenutzten Adhäsionswechselwirkung ist das Auflösungsvermögen des PFM-SFM viel höher als das des SECM. Die größere Sonde ($r_{\text{T}} = 12.5 \mu\text{m}$) im SECM-FB-Mode, der relativ große Arbeitsabstand von $15 \mu\text{m}$ zur Substratoberfläche und die weite Diffusion des Redoxmediators schränkten die Auflösungsmöglichkeiten ein. Dies bewirkte eine scheinbare Vergrößerung der modifizierten OEG-SAM-Flächen in anschließenden FB-Mode-Experimenten des

SECM. Eine Möglichkeit, das laterale Auflösungsvermögen der Oberflächencharakterisierung durch den SECM-FB-Mode zu erhöhen, ist der Einsatz von Nanoelektroden mit Scherkraftabstandsregulation.^[206] Der Gebrauch des Profile-Tools von MIRA ist hinreichend genau, um FB-Mode-Aufnahmen mit der UME mit $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ von elektrochemisch mikrostrukturierte OEG-SAM-Oberflächen auszuwerten. Einen besonderen Einfluss auf die Qualität der FB-Mode-Charakterisierung durch das SECM nahm der pH-Wert der Messlösung.

Im Verlauf der elektrochemischen Ätzung mit Br_2 können Fängermoleküle durch unkontrollierte Substitution frei gewordene Plätze auf der Au-Oberfläche einnehmen. Sind die Endgruppen wie bei der Verwendung des L-Cystins pH-Wertempfindlich, entstehen Oberflächen deren passivierenden Eigenschaften durch den pH-Wert schaltbar sind. Dies wurde durch den Gebrauch der entgegengesetzt geladenen Mediatoren $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ und $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ bewiesen. So steigerte sich die Permeabilität der modifizierten OEG-SAM bei einem $\text{pH} < 2$ in der Messlösung selektiv für $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ und bei einem $\text{pH} > 10$ selektiv für $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$.

Durch die Zugabe der Fängermoleküle L-Cystin und Cystamin erfolgte eine entscheidende Einengung der Reaktionsräume. Dies führte zur Verbesserung der Auflösung der Oberflächemodifikation von OEG-SAM. Es erfolgten Modifizierungen bei variablen Arbeitsabständen, Pulszeiten und Fängermolekül-Konzentrationen. Cystamin erwies sich als effektiveres Fängermolekül als L-Cystin. Untermauert wurde diese Beobachtung durch die höheren homogenen Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion mit Br_2 , die in CV- und Linear-Sweep-Experimenten bestimmt wurden. Ein Vergleich mit der berechneten Schichtdicke von Tian et al.^[34] liefert gute Ergebnisse.

Eine Weiterführung der hier vorliegenden Experimente wäre der Aufbau einer Fängermolekül-Bibliothek. Hierbei können bekannte und neue Reaktanten für Ätzmittel mit Hilfe elektrochemischer Methoden wie der CV charakterisiert werden. Wichtige Faktoren für die Auswahl der Fängermoleküle sind die homogene Geschwindigkeitskonstante, die Löslichkeit in der verwendeten Elektrolytlösung (auch organische Lösungen sind denkbar), pH-Empfindlichkeit, Toxizität (bei z. B. tierische Zellen) und mögliche Nebenreaktionen. Durch Beachtung dieser Parameter könnten noch effektivere Fängermolekül-Reaktant-Kombinationen gefunden werden. Für die *in vivo* Oberflächenmodifikation von OEG-SAM-Zell-Substraten ist es notwendig ein passendes nicht-toxisches Fängermolekül zu finden, das auch bei pH 7.4 eine schnelle

homogene Reaktionsgeschwindigkeit aufweist. Auch ist die Verwendung von „chemischen Linsen“ nicht so weit verbreitet. Würde sie mehr Anwendung finden, so könnte man sie z. B. im SECM-FB-Mode für das elektrochemische Ätzen von passivierten SiO₂-Schichten durch Fluss säure einsetzen. Eine so modifizierte Oberfläche kann in einem zweiten Schritt mit Hilfe von Aryl-Diazonium-Salzen funktionalisiert werden oder katalytisch aktive Metall-Ionen für die Click-Chemie hinterlassen.^[201] Man kann sie für viele Systeme und andere SECM-Modi (z. B. Direktmodus) einsetzen in denen Filme auf- und abgebaut werden und in der die initiierende Elektrodenreaktion eine simple pH-Verschiebung ist.

Der Einsatz von „chemischen Linsen“ kann möglicherweise, über den Gebrauch zur chemischen Modifikation hinaus, auch für die Oberflächencharakterisierung interessant werden. So würde der Gebrauch eines geeigneten Fängermoleküls die Diffusion des im FB-Mode verwendeten Mediators deutlich einschränken, wodurch die Auflösungsmöglichkeit erheblich verbessert würde. Einen diesem Prinzip angenäherten Versuch für die Verbesserung der elektrochemischen Oberflächencharakterisierung mit Hilfe von Fängermaterialien beschrieben Wittstock et al.^[191] Sie verwendeten das Enzym Catalase, um durch eine katalytische Disproportionierung die Lebensdauer von Wasserstoffperoxid, das vom untersuchten Substrat durch immobilisierte Glucosedase gebildet wurde, zu begrenzen.

Lesch et al.^[25, 230] entwickelten weiche parallele UME-Arrays um die „Schreibgeschwindigkeit“ des SECM während der Oberflächenmodifikation und -charakterisierung von Au-OEG-SAM im FB-Mode signifikant zu erhöhen. Diese Technik könnte mit der Zugabe eines Fängermoleküls kombiniert werden, um die Oberflächenmodifikationen nicht nur schneller sondern auch mit höherer Auflösung anzufertigen.

Eine weitere interessante Fragestellung ist es, die Mikrostrukturierung silanisierter Glasoberflächen mit OEG-Terminierung (Si-OEG-SAM) mit der von OEG-SAM auf Au-Substraten zu vergleichen. Das unterliegende Glassubstrat der Si-OEG-SAM weist aufgrund seiner elektrochemischen Passivität andere Modifizierungsmechanismen auf als Au-OEG-SAM, das selber eine Art Fängerfunktion ausüben kann (Vergleiche dazu Kap. 6.2, Abb. 60). Diese und die Ergebnisse der CLSM sowie der kinetischen Untersuchungen durch die Cyclic Voltammetrie können mit Hilfe von Simulationen mit der Methode der Finiten Elemente genauer interpretiert werden.

Anstrengungen in dieser Richtung liefen bereits in Kooperation mit dem Lehrstuhl für Numerische Mathematik der Universität des Saarlandes (Jens Tepe).

Die Erweiterung des SECM um andere Methoden wie die Einzelmolekül-Spektroskopie oder auch die konventionelle Fluoreszenzmikroskopie ist ein viel versprechender Weg in die Zukunft, um lokale elektrochemische Reaktionen an komplexen Oberflächen genauer zu verstehen. Wie oben erwähnt (Kap. 2.3) gelang beispielsweise Boldt et al.^[48] die Kombination eines Einzelmolekül-Spektrometers mit einem SECM um Konzentrationsprofile optisch besser aufzulösen. Durch die gewonnenen Informationen dieser Experimente wurde es möglich, die durch pH-Verschiebung initiierte Drehung von immobilisierter ATP-Synthase zu untersuchen. Casanova-Moreno et al.^[199] nutzten die Fluoreszenzmikroskopie, um die reduktive Desorption von SAM an Au-Mikroelektroden zu beobachten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Erforschung von Reaktionszonen mit dem SECM und dem CLSM neue interessante Aspekte für die Anwendung der „chemischen Linse“ bzw. der CEL in der Mikrostrukturierung von Oberflächen lieferte. H^+ -Reaktionszonen unter Einfluss von Puffern als „chemische Linse“ konnten über einen breiten pH-Bereich beobachtet und quantifiziert werden. Darüber hinaus erfolgte erstmals die Untersuchung von $Br_2/HOBr$ -Reaktionszonen in der Nähe einer UME in Anwesenheit von Fängermolekülen mit Hilfe der CLSM. Die Mikrostrukturierung von OEG-SAM wurde signifikant verbessert und die Pulsabhängigkeit von r_s bei hohen Fängermolekülkonzentrationen ausgeschaltet. Hieraus folgt, dass r_s bei gleichbleibender KBr-Konzentration in der Lösung nur von der Konzentration eingesetzten Fängermoleküle und dem Arbeitsabstand abhängig ist. Für weiterführende Experimente ergibt sich dadurch eine Vereinfachung der Steuerung der Oberflächenmodifikation von OEG-SAM-Oberflächen.

8 Literatur

- [1] D. Mandler, in *Scanning Electrochemical Microscopy, Second Edition* (Eds.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Taylor & Francis, Boca Raton, **2012**, p. 489.
- [2] F. Meiners, I. Plettenberg, J. Witt, B. Vaske, A. Lesch, I. Brand, G. Wittstock, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 3673.
- [3] D. Mandler, S. Meltzer, I. Shohat, *Isr. J. Chem.* **1996**, *36*, 73.
- [4] S. Krämer, R. R. Fuierer, C. B. Gorman, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4367.
- [5] P. Sun, F. O. Laforge, M. V. Mirkin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 802.
- [6] M. V. Mirkin, W. Nogala, J. Velmurugan, Y. Wang, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 21196.
- [7] V. Radtke, J. Heinze, *Z. Phys. Chem.* **2004**, *218*, 103.
- [8] D. Mandler, in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Eds.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, Basel, **2001**, p. 593.
- [9] Y. Yatziv, I. Turyan, D. Mandler, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5618.
- [10] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, S. J. Unwin, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1996**, *92*, 3799.
- [11] D. Mandler, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1990**, *137*, 1079.
- [12] A. J. Bard, G. Denuault, C. Lee, D. Mandler, D. O. Wipf, *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 357.
- [13] D. Mandler, A. J. Bard, *Langmuir* **1990**, *6*, 1489.
- [14] D. Zhan, D. Yang, Y. Zhu, X. Wu, Z.-Q. Tian, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11449.
- [15] F. Grisotto, R. Metaye, B. Jousset, B. Geffroy, S. Palacin, J. Charlier, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 15962.
- [16] E. B. Chubenko, A. A. Klyshko, V. A. Petrovich, V. P. Bondarenko, *Thin Solid Films* **2009**, *517*, 5981.
- [17] K. Borgwarth, C. Ricken, D. G. Ebling, J. Heinze, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 1421.
- [18] C. Combellas, F. Kanoufi, D. Mazouzi, *J. Electroanal. Chem.* **2006**, *589*, 243.
- [19] W. Schuhmann, C. Kranz, H. Wohlschläger, J. Strohmeier, *Biosens. Bioelectron.* **1997**, *12*, 1157.
- [20] C. Combellas, A. Fuchs, F. Kanoufi, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 3612.

- [21] C. Zhao, I. Witte, G. Wittstock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *118*, 5595.
- [22] C. Zhao, I. Zawisza, M. Nullmeier, M. Burchardt, M. Träuble, I. Witte, G. Wittstock, *Langmuir* **2008**, *24*, 7605.
- [23] C. Zhao, M. Burchardt, T. Brinkhoff, C. Beardsley, M. Simon, G. Wittstock, *Langmuir* **2010**, *26*, 8641.
- [24] J. Ufheil, F. M. Boldt, M. Börsch, K. Borgwarth, J. Heinze, *Bioelectrochemistry* **2000**, *52*, 103.
- [25] A. Lesch, B. Vaske, F. Meiners, D. Momotenko, F. Cortes-Salazar, H. H. Girault, G. Wittstock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10413.
- [26] H. Kaji, M. Kanada, D. Oyamatsu, T. Matsue, M. Nishizawa, *Langmuir* **2004**, *20*, 16.
- [27] C. Zhao, T. Brinkhoff, M. Burchardt, M. Simon, G. Wittstock, *Ocean Dynamics* **2009**, *59*, 305.
- [28] M. Tirrell, E. Kokkoli, M. Biesalski, *Surf. Sci.* **2002**, *500*, 61.
- [29] P. Dungel, N. Long, B. Yu, Y. Moussy, F. Moussy, *J. Biomed. Mater. Res. A* **2008**, *85A*, 699.
- [30] F. Harnisch, C. Koch, S. A. Patil, T. Hübschmann, S. Müller, U. Schröder, *Energy Environ. Sci.* **2011**, *4*, 1265.
- [31] A. Kira, K. Okano, Y. Hosokawa, A. Naito, K. Fuwa, J. Yuyama, H. Masuhara, *Appl. Surf. Sci.* **2009**, *255*, 7647.
- [32] B. K. Jena, S. J. Percival, B. Zhang, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 6737.
- [33] C. Hess, K. Borgwarth, C. Ricken, D. G. Ebling, J. Heinze, *Electrochim. Acta* **1997**, *42*, 3065.
- [34] Z. Tian, Z. Fen, Z. Tian, X. Zhuo, J. Mu, C. Li, H. Lin, B. Ren, Z. Xie, W. Hu, *Faraday Discuss.* **1992**, *94*, 37.
- [35] J. Tang, J.-J. Zheng, Y.-T. Yu, I. Chen, N. Zhang, Z. Tian, *Electrochim. Acta* **2012**, *83*, 247.
- [36] L. M. Jiang, W. Li, A. Attia, Z. Y. Cheng, J. Tang, Z. Q. Tian, Z. W. Tian, *J. Appl. Electrochem.* **2008**, *38*, 785.
- [37] C. Marck, K. Borgwarth, J. Heinze, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 747.
- [38] J. Ufheil, C. Hess, K. Borgwarth, J. Heinze, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3185.
- [39] K. Borgwarth, J. Heinze, *J. Electrochem. Soc.* **1999**, *146*, 3285.

- [40] V. Radtke, C. Hess, R. M. Souto, J. Heinze, *Z. Phys. Chem.* **2006**, 220, 393.
- [41] L. M. Jiang, Z. F. Liu, J. Tang, L. Zhang, K. Shi, Z. Q. Tian, P. K. Liu, L. N. Sun, Z. W. Tian, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, 581, 153.
- [42] Y. Zu, L. Xie, B. Mao, Z. Tian, *Electrochim. Acta* **1998**, 43, 1683.
- [43] Y. Zu, L. Xie, Z. Tian, Z. Xie, J. Mu, B. Mao, *Chin. Sci. Bull.* **1997**, 42, 1318.
- [44] K. Shi, J. Tang, L. Zhang, Y.-I. Zhou, D.-s. Qu, L.-N. Sun, Z.-Q. Tian, *J. Solid State Electrochem.* **2005**, 9, 398.
- [45] L. Zhang, X. Ma, J. Tang, D. Qu, Q. Ding, L. Sun, *Electrochim. Acta* **2006**, 52, 630.
- [46] L. Zhang, X. Z. Ma, J. L. Zhuang, C. K. Qiu, C. L. Du, J. Tang, Z. W. Tian, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 3912.
- [47] S. Cannan, I. D. Macklam, P. R. Unwin, *Electrochem. Commun.* **2002**, 4, 886.
- [48] F.-M. Boldt, J. Heinze, M. Diez, J. Petersen, M. Börsch, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 3473.
- [49] N. C. Rudd, S. Cannan, E. Bitziou, I. Ciani, A. L. Whitworth, P. R. Unwin, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 6205.
- [50] C. Amatore, S. Szunerits, L. Thouin, *Electrochem. Commun.* **2000**, 2, 248.
- [51] C. Amatore, S. Szunerits, L. Thouin, J.-S. Warkocz, *Electrochem. Commun.* **2000**, 2, 353.
- [52] J. Zhang, C. J. Slevin, P. R. Unwin, *Chem. Commun.* **1999**, 1501.
- [53] R. C. Engstrom, T. Meaney, R. Tople, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **1987**, 59, 2005.
- [54] R. C. Engstrom, M. Weber, D. J. Wunder, R. Burgess, S. Winqvist, *Anal. Chem.* **1986**, 58, 844.
- [55] C. Wei, A. J. Bard, G. Nagy, K. Toth, *Anal. Chem.* **1995**, 67, 1346.
- [56] B. D. Bath, R. D. Lee, H. S. White, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 1047.
- [57] B. R. Horrocks, M. V. Mirkin, D. T. Pierce, A. J. Bard, G. Nagy, K. Toth, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1213.
- [58] C. Wei, A. J. Bard, I. Kapui, G. Nagy, K. Toth, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 2651.
- [59] G. Gyetvai, L. Nagy, A. Ivaska, I. Hernadi, G. Nagy, *Electroanalysis* **2009**, 21, 1970.
- [60] R. M. Souto, A. Kiss, J. Izquierdo, L. Nagy, I. Bitter, G. Nagy, *Electrochem. Commun.* **2013**, 26, 25.

- [61] J. Izquierdo, L. Nagy, A. Varga, I. Bitter, G. Nagy, R. M. Souto, *Electrochim. Acta* **2012**, *59*, 398.
- [62] T. Ozeki, D. E. Irish, *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *280*, 451.
- [63] C. Amatore, F. Bonhomme, J.-L. Bruneel, L. Servant, L. Thouin, *Electrochem. Commun.* **2000**, *2*, 235.
- [64] C. Amatore, F. Bonhomme, J. L. Bruneel, L. Servant, L. Thouin, *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *484*, 1.
- [65] J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1552.
- [66] C. C. Jan, R. L. McCreery, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 2771.
- [67] H. J. Kragt, C. P. Smith, H. S. White, *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *278*, 403.
- [68] J. Pawliszyn, M. F. Weber, M. J. Dignam, R. D. Venter, S. M. Park, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 236.
- [69] J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 3207.
- [70] J. Pawliszyn, M. F. Weber, M. J. Dignam, S. M. Park, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 239.
- [71] C. Barbero, M. C. Miras, R. Kötz, *Electrochim. Acta* **1992**, *37*, 429.
- [72] R. E. Russo, F. R. McLarnon, J. D. Spear, E. J. Cairns, *J. Electrochem. Soc.* **1987**, *134*, 2783.
- [73] R. Pruiksma, R. L. McCreery, *Anal. Chem.* **1981**, *53*, 202.
- [74] C. C. Jan, R. L. McCreery, F. T. Gamble, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1763.
- [75] H. P. Wu, R. L. McCreery, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 2347.
- [76] A. L. Deputy, R. L. McCreery, *J. Electroanal. Chem.* **1988**, *257*, 57.
- [77] A. L. Deputy, R. L. McCreery, *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *285*, 1.
- [78] A. Deputy, H. P. Wu, R. L. McCreery, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 3620.
- [79] X. Li, D. J. Harrison, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2168.
- [80] C. Amatore, A. Chovin, P. Garrigue, L. Servant, N. Sojic, S. Szunerits, L. Thouin, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 7202.
- [81] S. Fiedler, R. Hagedorn, T. Schnelle, E. Richter, B. Wagner, G. Fuhr, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 820.
- [82] R. C. Engstrom, K. W. Johnson, S. DesJarlais, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 670.
- [83] R. J. Bowling, R. L. McCreery, C. M. Pharr, R. C. Engstrom, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 2763.
- [84] J. E. Vitt, R. C. Engstrom, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 1070.

- [85] R. C. Engstrom, S. Ghaffari, H. Qu, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2525.
- [86] A. J. Bard, M. V. Mirkin, Second ed., CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York, **2012**, p. 660.
- [87] W. J. Bowyer, J. Xie, R. C. Engstrom, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2005.
- [88] S. E. Pust, *Local Electrochemical Characterization and Modification of Functional Interfaces*, PhD thesis, Carl von Ossietzky University of Oldenburg, **2009**.
- [89] M. A. Alodan, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1997**, *144*, L282.
- [90] M. Minsky, *Scanning* **1988**, *10*, 128.
- [91] S. W. Paddock, *Molecular biotechnology* **2000**, *16*, 127.
- [92] S. W. Paddock, *Bioessays* **1994**, *16*, 357.
- [93] S. W. Paddock, *Curr Biol* **1994**, *4*, 857.
- [94] M. C. Moss, J. A. Veiro, S. Singleton, D. P. Gregory, J. J. Birmingham, C. L. Jones, P. G. Cummins, D. Cummins, R. M. Miller, *Analyst* **1993**, *118*, 1.
- [95] C. J. R. Sheppard, D. M. Shotton, *Confocal Laser Scanning Microscopy*, Springer-Verlag New York Inc., USA, New York, USA, **1997**.
- [96] L. Microsystems, *TCS SP5 II AOBS-Flyer* **2008**
- [97] S. Wilhelm, B. Gröbler, M. Gluch, H. Heinz, *Mikroskopie von Carl Zeiss* **2003**, *9*
- [98] R. L. Price, W. G. Jerome, Springer Science + Business Media, LLC, New York, **2011**.
- [99] J. Han, K. Burgess, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2709.
- [100] X. Wang, I. Kurtz, *Am. J. Physiol.* **1990**, *259*, C365.
- [101] L. Hao, J. Li, A. Kappler, M. Obst, *Appl. Environ. Microbiol.* **2013**, *in press*
- [102] B. V. R. Tata, B. Raj, *Bull. Mater. Sci.* **1998**, *21*, 263.
- [103] R. Leiva-Garcia, J. Garcia-Anton, M. J. Munoz-Portero, *Corros. Sci.* **2010**, *52*, 2133.
- [104] M. A. Alodan, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 957.
- [105] A. P. R. Johnston, A. N. Zelikin, L. Lee, F. Caruso, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 5913.
- [106] D. Oyamatsu, N. Kanaya, H. Shiku, M. Nishizawa, T. Matsue, *Sens. Actuators, B* **2003**, *B91*, 199.
- [107] M. Burchardt, *Fabrication and Characterisation of Micropatterned Functional Surfaces*, PhD thesis, Carl von Ossietzky University of Oldenburg, **2010**.

- [108] W. Nogala, K. Szot, M. Burchardt, M. Jonsson-Niedziolka, J. Rogalski, G. Wittstock, M. Opallo, *Bioelectrochemistry* **2010**, *79*, 101.
- [109] J. V. Macpherson, C. Demaille, in *Scanning Electrochemical Microscopy, Second Edition* (Eds.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Taylor & Francis, Boca Raton, **2012**, p. 569.
- [110] D. Pletcher, S. Sotiropoulos, *J. Electroanal. Chem.* **1993**, *356*, 109.
- [111] J. M. A. Grime, M. A. Edwards, N. C. Rudd, P. R. Unwin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 14277.
- [112] K. Fa, J. J. Tulock, J. V. Sweedler, P. W. Bohn, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13928.
- [113] R. Mukhopadhyay, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 224A.
- [114] A. Rutkowska, T. M. Bawazeer, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 5223.
- [115] W. Eck, M. Grunze, *Bunsen-Magazin* **2009**, *11*, 3.
- [116] A. Bietsch, M. Hegner, H. P. Lang, C. Gerber, *Langmuir* **2004**, *20*, 5119.
- [117] A. Bietsch, J. Zhang, M. Hegner, H. P. Lang, C. Gerber, *Nanotechnology* **2004**, *15*, 873.
- [118] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 550.
- [119] R. K. Smith, P. A. Lewis, P. S. Weiss, *Prog. Surf. Sci.* **2004**, *75*, 1.
- [120] T. Ito, S. Okazaki, *Nature* **2000**, *406*, 1027.
- [121] G. M. Wallraff, W. D. Hinsberg, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1801.
- [122] G. P. Lopez, H. A. Biebuyck, G. M. Whitesides, *Langmuir* **1993**, *9*, 1513.
- [123] S. Y. Chou, C. Keimel, J. Gu, *Nature* **2002**, *417*, 835.
- [124] K. Salaita, Y. Wang, C. A. Mirkin, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 145.
- [125] M. Liu, N. A. Amro, G.-y. Liu, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2008**, *59*, 367.
- [126] A. Revzin, R. J. Russell, V. K. Yadavalli, W.-G. Koh, C. Deister, D. D. Hile, M. B. Mellott, M. V. Pishko, *Langmuir* **2001**, *17*, 5440.
- [127] S. Onclin, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6282.
- [128] N. Herzer, S. Hoepfner, U. S. Schubert, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 5634.
- [129] A. Kumar, H. A. Biebuyck, G. M. Whitesides, *Langmuir* **1994**, *10*, 1498.
- [130] R. J. Jackman, J. L. Wilbur, G. M. Whitesides, *Science* **1995**, *269*, 664.
- [131] P. Fenter, A. Eberhardt, P. Eisenberger, *Science* **1994**, *266*, 1216.
- [132] A. Ulman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533.

- [133] E. Delamarche, B. Michel, H. Kang, C. Gerber, *Langmuir* **1994**, *10*, 4103.
- [134] W. Knoll, *Handbook of Biofunctional Surfaces*, Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., Singapore, **2013**.
- [135] Y. S. Kim, K. Y. Suh, H. H. Lee, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *79*, 2285.
- [136] K. Y. Suh, J. Seong, A. Khademhosseini, E. Laibinis Paul, R. Langer, *Biomaterials* **2004**, *25*, 557.
- [137] C. D. James, R. C. Davis, L. Kam, H. G. Craighead, M. Isaacson, J. N. Turner, W. Shain, *Langmuir* **1998**, *14*, 741.
- [138] A. Bernard, E. Delamarche, H. Schmid, B. Michel, H. R. Bossard, H. Biebuyck, *Langmuir* **1998**, *14*, 2225.
- [139] M. N. Yousaf, B. T. Houseman, M. Mrksich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1093.
- [140] O. Pieroni, J. L. Houben, A. Fissi, P. Costantino, F. Ciardelli, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5913.
- [141] Y. G. Takei, T. Aoki, K. Sanui, N. Ogata, Y. Sakurai, T. Okano, *Macromolecules* **1994**, *27*, 6163.
- [142] S. Raghavan, R. A. Desai, Y. Kwon, M. Mrksich, C. S. Chen, *Langmuir* **2010**, *26*, 17733.
- [143] S. E. Pust, S. Szunerits, R. Boukherroub, G. Wittstock, *Nanotechnology* **2009**, *20*, 075302.
- [144] R. Barbey, L. Lavanant, D. Paripovic, N. Schuwer, C. Sugnaux, S. Tugulu, H.-A. Klok, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5437.
- [145] A. Wörz, B. Berchtold, K. Moosmann, O. Prucker, J. Rühle, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 19547.
- [146] E. Wischerhoff, K. Uhlig, A. Lankenau, H. G. Boerner, A. Laschewsky, C. Duschl, J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5666.
- [147] I. Brand, M. Nullmeier, T. Klüner, R. Jogireddy, J. Christoffers, G. Wittstock, *Langmuir* **2010**, *26*, 362.
- [148] M. K. Strulson, D. M. Johnson, J. A. Maurer, *Langmuir* **2012**, *28*, 4318.
- [149] M. A. Schneeweiss, H. Hagenström, M. J. Esplandiu, D. M. Kolb, *Appl. Phys. A* **1999**, *69*, 537.
- [150] M. A. Schneeweiss, D. M. Kolb, *Chem. unserer Zeit* **2000**, *34*, 72.
- [151] D. M. Kolb, M. A. Schneeweiss, *Electrochem. Soc. Interface* **1999**, 26.

- [152] M. Tang, Y. Chen, J. Wang, M. Ouyang, S. M. Cai, Z. F. Liu, B. H. Loo, *Appl. Phys. A* **1999**, *68*, 177.
- [153] H.-Y. Liu, F.-R. F. Fan, C. W. Lin, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3838.
- [154] G. Bolat, J. Izquierdo, J. J. Santana, D. Mareci, R. M. Souto, *Electrochim. Acta* **2013**, *88*, 447.
- [155] R. M. Souto, Y. Gonzalez-Garcia, D. Battistel, S. Daniele, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 230.
- [156] Y.-S. Torisawa, T. Kaya, Y. Takii, D. Oyamatsu, M. Nishizawa, T. Matsue, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 2154.
- [157] S. Amemiya, A. J. Bard, F.-R. F. Fan, M. V. Mirkin, P. R. Unwin, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2008**, *1*, 95.
- [158] G. Wittstock, M. Burchardt, S. E. Pust, Y. Shen, C. Zhao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1584.
- [159] J. Heinze, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1327.
- [160] A. J. Bard, F.-R. F. Fan, J. Kwak, O. Lev, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 132.
- [161] Y. Saito, *Rev. Polarogr.* **1968**, *15*, 177.
- [162] J. Kwak, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1221.
- [163] M. V. Mirkin, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* **1992**, *328*, 47.
- [164] J. L. Amphlett, G. Denuault, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9946.
- [165] A. J. Bard, M. V. Mirkin, P. R. Unwin, D. O. Wipf, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 1861.
- [166] F. Forouzan, A. J. Bard, M. V. Mirkin, *Isr. J. Chem.* **1997**, *37*, 155.
- [167] G. Wittstock, M. Burchardt, S. E. Pust, Y. Shen, C. Zhao, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1604.
- [168] C. W. Lin, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1987**, *134*, 1038.
- [169] D. H. Craston, C. W. Lin, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1988**, *135*, 785.
- [170] R. Lei, L. Stratmann, D. Schafer, T. Erichsen, S. Neugebauer, N. Li, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 5070.
- [171] M. Nishizawa, K. Takoh, Y. Takii, H. Kaji, T. Matsue, *Chem. Sens.* **2001**, *17*, 98.
- [172] R. Cornut, S. Nunige, C. Lefrou, F. Kanoufi, *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 10701.

- [173] L. Liu, R. Toledano, T. Danieli, J.-Q. Zhang, J.-M. Hu, D. Mandler, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 6909.
- [174] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 11764.
- [175] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 1704.
- [176] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 19475.
- [177] L. Liu, C. Tan, J. Chai, S. Wu, A. Radko, H. Zhang, D. Mandler, *Small* **2013**, in press
- [178] P.-C. Chen, R. L. C. Chen, T.-J. Cheng, G. Wittstock, *Electroanalysis* **2009**, 21, 804.
- [179] S. Meltzer, D. Mandler, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1995**, 91, 1019.
- [180] H. Shiku, T. Takeda, H. Yamada, T. Matsue, I. Uchida, *Anal. Chem.* **1995**, 67, 312.
- [181] S. Nunige, R. Cornut, H. Hazimeh, F. Hauquier, C. Lefrou, C. Combellas, F. Kanoufi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 5208.
- [182] H. Kaji, K. Tsukidate, T. Matsue, M. Nishizawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15026.
- [183] H. Kaji, T. Kawashima, M. Nishizawa, *Langmuir* **2006**, 22, 10784.
- [184] N. Ktari, P. Poncet, H. Senechal, L. Malaquin, F. Kanoufi, C. Combellas, *Langmuir* **2010**, 26, 17348.
- [185] H. Shiku, I. Uchida, T. Matsue, *Langmuir* **1997**, 13, 7239.
- [186] J.-M. Noel, A. Latus, C. Lagrost, E. Volanschi, P. Hapiot, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 2835.
- [187] C. Richter-Landsberg, M. Heinrich, *J. Neurosci. Res.* **1996**, 45, 161.
- [188] B. Vaske, *Selektive mikroelektrochemische Modifikation und Charakterisierung von Oberflächen*, Diploma thesis, Carl von Ossietzky Universität, **2009**.
- [189] A. Hengstenberg, C. Kranz, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 1547.
- [190] C. Cougnon, J. Mauzeroll, D. Belanger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 7395.
- [191] G. Wittstock, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **1997**, 69, 5059.
- [192] L. Zhang, X. Z. Ma, M. X. Lin, Y. Lin, G. H. Cao, J. Tang, Z. W. Tian, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 18432.
- [193] L.-J. Lai, H. Zhou, Y.-J. Du, J. Zhang, J.-C. Jia, L.-M. Jiang, L.-M. Zhu, Z.-W. Tian, Z.-Q. Tian, D.-P. Zhan, *Electrochem. Commun.* **2013**, 28, 135.

- [194] J. P. Greenstein, M. Winintz, in *Chemistry of amino acids, Vol. 3* John Wiley & Sons Inc, New York, **1961**, p. 1908.
- [195] R. Jogireddy, I. Zawisza, G. Wittstock, J. Christoffers, *Synlett* **2008**, 1219.
- [196] C. Kranz, M. Ludwig, H. E. Gaub, W. Schuhmann, *Adv. Mater.* **1995**, 7, 38.
- [197] Y. Okabe, U. Akiba, M. Fujihira, *Appl. Surf. Sci.* **2000**, 157, 398.
- [198] T. Miyatani, M. Horii, A. Rosa, M. Fujihira, O. Marti, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, 71, 2632.
- [199] J. R. Casanova-Moreno, D. Bizzotto, *Langmuir* **2013**, 29, 2065.
- [200] <http://www.lifetechnologies.com>, 15.01.2014, **2014**.
- [201] G. Valenti, L. Bardini, D. Bonazzi, S. Rapino, M. Marcaccio, F. Paolucci, *J. Phys. Chem. C* **2010**, 114, 22165.
- [202] K. Torbensen, K. Malmos, F. Kanoufi, C. Combellas, S. U. Pedersen, K. Daasbjerg, *ChemPhysChem* **2012**, 13, 3303.
- [203] J. Cheng, C. Soetjpto, M. R. Hoffmann, A. J. Colussi, *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, 1, 374.
- [204] H. Eichler, *Z. Anal. Chem.* **1934**, 99, 272.
- [205] C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, A. Noy, M. S. Wrighton, C. M. Lieber, *Science* **1994**, 265, 2071.
- [206] S. E. Pust, D. Scharnweber, C. Nunes Kirchner, G. Wittstock, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 878.
- [207] D. R. Lide, *CRC handbook of chemistry and physics: A ready-reference book of chemical and physical data*, CRC Taylor & Francis, Boca Raton, **2006**.
- [208] I. Rianasari, L. Walder, M. Burchardt, I. Zawisza, G. Wittstock, *Langmuir* **2008**, 24, 9110.
- [209] G. Wittstock, C. Kranz, D. J. Strike, W. Schuhmann, H. L. Schmidt, *European Microscopy and Analysis* **1996**, 5.
- [210] G. W. de Groot, M. G. Santonicola, K. Sugihara, T. Zambelli, E. Reimhult, J. Voeroes, G. J. Vancso, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, 5, 1400.
- [211] D. G. Shchukin, M. Zheludkevich, K. Yasakau, S. Lamaka, M. G. S. Ferreira, H. Möhwald, *Adv. Mater.* **2006**, 18, 1672.
- [212] W. Tong, C. Gao, H. Mohwald, *Macromol. Rapid Commun.* **2006**, 27, 2078.
- [213] G. B. Sukhorukov, A. A. Antipov, A. Voigt, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, 22, 44.

- [214] S. B. Lee, C. R. Martin, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 768.
- [215] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Electrochim. Acta* **2001**, *47*, 275.
- [216] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Langmuir* **2002**, *18*, 9485.
- [217] T. H. Degefa, P. Schoen, D. Bongard, L. Walder, *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *574*, 49.
- [218] P. Schön, T. H. Degefa, S. Asaftei, W. Meyer, L. Walder, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11486.
- [219] A. G. Gilicinski, D. H. Evans, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1989**, *267*, 93.
- [220] H. Lund, K. Daasbjerg, T. Lund, S. U. Pedersen, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 313.
- [221] F. Kanoufi, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10469.
- [222] G. Denuault, M. Fleischmann, D. Pletcher, O. R. Tutty, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1990**, *280*, 243.
- [223] G. Denuault, M. Fleischmann, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1990**, *280*, 255.
- [224] G. Denuault, M. V. Mirkin, A. J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* **1991**, *308*, 27.
- [225] G. Denuault, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1991**, *305*, 131.
- [226] W. J. Albery, M. L. Hitchman, J. Ulstrup, *Trans. Faraday Soc.* **1968**, *64*, 2831.
- [227] W. Vielstich, *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1960**, *173*, 84.
- [228] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, New York, **2001**.
- [229] L. Y. Su, J. Luo, Z. H. Lin, Z. W. Tian, *Chin. Chem. Lett.* **1995**, *6*, 243.
- [230] A. Lesch, *Flexible Microelectrode Probes for Scanning Electrochemical Microscopy - From Concept to High-Throughput Applications*, PhD thesis, Carl-von-Ossietzky-Universität, **2012**.

9 Anhang

9.1 Abkürzungen

ATP	Adenosintri-phosphat
CDD	Charge-coupled Device
CE	Gegenelektrode (<i>counter electrode</i>)
CEL	Begrenzte Ättschicht (<i>confined etchant layer</i>)
CELT	Technik, in der die begrenzte Ättschicht ausgenutzt wird (<i>confined etchant layer technique</i>)
CLSM	Konfokalmikroskop/-mikroskopie (<i>confocal laser scanning microscope/microscopy</i>)
CV	Cyclischvoltammetrie (<i>Cyclic voltammetry</i>)
EC'	(„ <i>EC prime</i> “)
ECL	Elektrochemilumineszenz (<i>electrogenerated chemiluminescence</i>)
FEM	Methode der Finiten Elemente
FB-Mode	Feedback-Modus
FRET	Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer
H ₂ Q	1,4-Hydrochinon
I _F *	Fluoreszierender Farbstoff
Q	1,4-Benzochinon
QRE	Quasireferenzelektrode
O	Oxidierter Form des Redoxmediators oder Reaktanden
OEG	Oligo(ethylenglykol)-terminierte Thiole
OEG-OH	(1-Mercapto-undec-11-yl)hexa(ethylenglykol)
OEG-Me	(1-Mercapto-undec-11-yl)hexa(ethylenglykol)methylether
PDMS	Polydimethylsiloxan
PFM-SFM	Pulsed-Force-Modus des Rasterkraftmikroskops

PM-IRRAS	Polarisationsmodulierte Infrarot-Reflektions-Absorptions-Spektroskopie
PTM	Photomultiplier
QRE	Quasireferenzelektrode
R	Reduzierte Form des Redoxmediators oder Reaktanden
RDE	Rotierende Scheibenelektrode (<i>rotating disk electrode</i>)
RE	Referenzelektrode
RSSR	Disulfidische Verbindung
SAM	Selbst organisierende Monoschichten (<i>self-assembled monolayers</i>)
SECM	Elektrochemisches Rastermikroskop/-mikroskopie (<i>scanning electrochemical microscope/microscopy</i>)
SFM	Rasterkraftmikroskop/-mikroskopie (<i>scanning force microscope/microscopy</i>)
SPM	Rastersondenmikroskop/-mikroskopie (<i>scanning probe microscope/microscopy</i>)
STM	Rastertunnelmikroskop/-mikroskopie (<i>scanning tunnel microscope/microscopy</i>)
UME	Ultramikroelektrode (<i>ultramicroelectrode</i>)
UV	Ultraviolett
WE	Arbeitselektrode (<i>working electrode</i>)
μCP	Mikrokontaktdrucken <i>microcontact printing</i>

9.2 Symbole

a	Experimentabhängige Konstante
b	Experimentabhängige Konstante
c	Konzentration
c_0	Ausgangskonzentration in der Messlösung
c^*	Konzentration des Reaktanden in der Volumenphase
$c_{\infty,A}$	Konzentration von Komponente A (Fängermolekül) im Lösungsvolumen
$c_{\infty,R}$	Konzentration von Komponente R (Edukt des Ätzmittels) im Lösungsvolumen
D	Diffusionskoeffizient
D_{LB}	Durchmesser der Detektionslochblende des Mikroskops
d	Abstand der Mikroelektrode zur Oberfläche
E	Spannung
E_T	Sondenspannung
F	Faraday-Konstante
f	Frequenz
g	Geometriefaktor
h	Plancksches Wirkungsquantum
I	Strom
i_d	Stationärer Strom einer UME ohne Zugabe von Fängermolekülen
i_k	Stationärer Strom einer UME mit Zugabe von Fängermolekülen
I_T	Normierte Sondenstrom der UME
i_T	Sondenstrom der UME
$I_{T,con}$	Sondenstrom der UME bei der Annäherung an leitende Oberflächen
$\bar{i}_{T,min}$	Durchschnittlicher minimaler Sondenstrom der kinetisch gehinderten Au-OEG-OH-Oberfläche
$I_{T,ins}$	Sondenstrom der UME bei der Annäherung an isolierende Oberflächen
$i_{T,\infty}$	Sondenstrom bei unendlichem Arbeitsabstand
I_F	Lichtintensität des fluoreszierenden Farbstoffes
\bar{I}_F	Mittelwerte der Lichtintensitäten

$I_{F,0}$	Wert für geringste Lichtintensität
$I_{\lambda,1}$	Lichtintensität des fluoreszierenden Farbstoffes, Detektionsbereich 1
$I_{\lambda,2}$	Lichtintensität des fluoreszierenden Farbstoffes, Detektionsbereich 2
J	Diffusionsfluss ausgehend von der UME
k_x	r_{glas} -abhängige Konstante
k'	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante pseudo-erster Ordnung
k''	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung
L	Normierte Abstand der Mikroelektrode zur Oberfläche
m	Steigung einer Geraden
n	Anzahl der pro Formelumsatz übertragenen Elektronen
n_B	Berechnungsindex des Immersionsmediums
NA	Numerische Aperatur
pH_{bulk}	Ausgangs-pH-Wert in der Messlösung
pH_{ex}	Mikroelektrochemisch erzeugter End-pH-Wert
RG	Verhältnis zwischen r_{glas} und r_T
r_{glas}	Radius der isolierenden Glas-Ummantelung einer UME
r_T	Radius der scheibenförmigen aktiven UME-Oberfläche
r_S	Radius der modifizierten Fläche, Radius der Reaktionszone
$r_{S,0}$	Radius der elektrochemischen Reaktionszone in der Nähe einer Mikroelektrode
$r_{S,E}$	Radius der untersuchten Substratregion
$r_{S,\text{SECM}}$	Radius der modifizierten Fläche charakterisiert durch das SECM
$r_{S,\text{CLSM}}$	Radius der modifizierten Fläche charakterisiert durch das CLSM
$r_{S,\text{SECM}}$	Radius der modifizierten Fläche charakterisiert durch das SFM
s_{step}	Schrittgröße SECM-Abbildungen
t	Zeit
V	Volumen
v_T	Translationsgeschwindigkeit der SECM-Sonde
y	Abstand der untersuchten Region in y -Richtung
$y_{\text{Sc/Br}^-}$	Normierte Fängermolekül-Konzentration
x	Abstand der untersuchten Region in x -Richtung
z	Abstand der untersuchten Region in z -Richtung

β	Gesamtpufferkapazität
β_x	Pufferkapazität für Puffer X
Δ	Differenz/Änderung
δ_N	Diffusionsschichtdicke
λ	Wellenlänge
$\bar{\lambda}$	Mittlere Wellenlänge des verwendeten Lichts
λ_{ex}	Anregungswellenlänge
λ_{em}	Emissionswellenlänge
μ_D	Diffusionsschichtdicke der beschränkten Reaktionszone
$\mu_{D,\text{SECM}}$	Diffusionsschichtdicke der beschränkten Reaktionszone in SECM-FB-Mode-Experimenten
ν	Kinematische Viskosität
σ_{IF}	Standardabweichung der Lichtintensität des fluoreszierenden Farbstoffes
ω	Winkelgeschwindigkeit

9.3 Weitere Primärdaten zu Kapitel 6.2

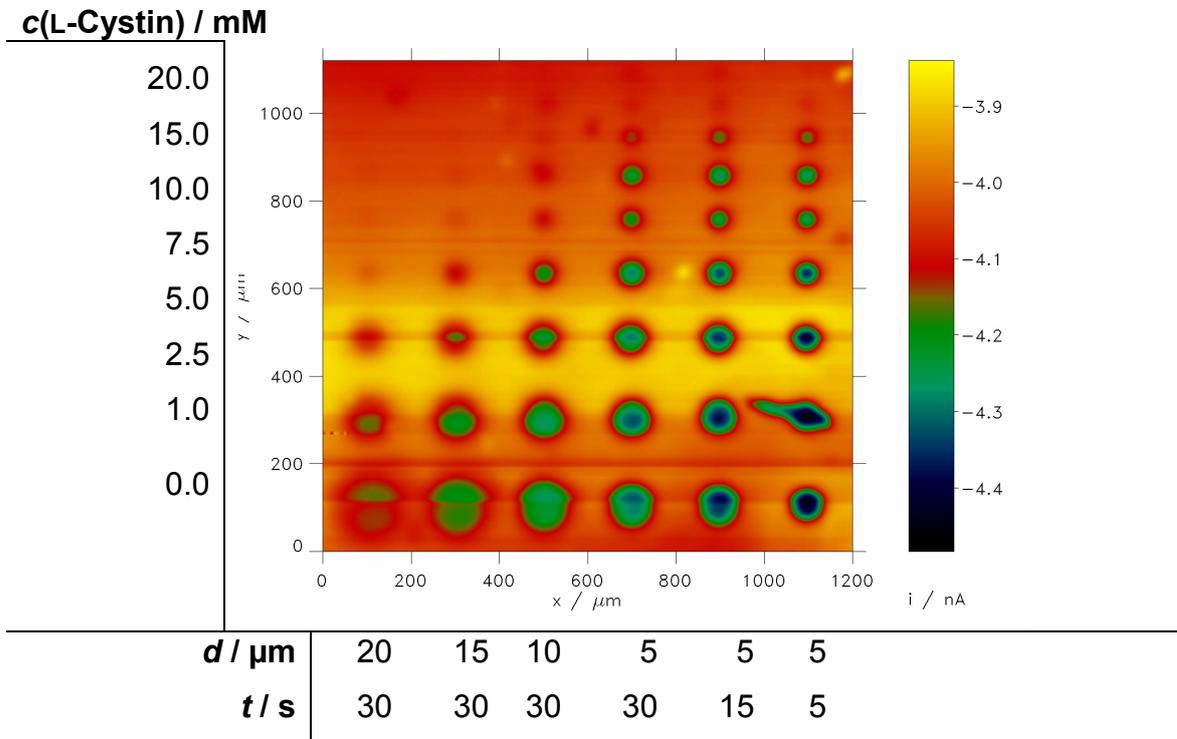


Abb. 70. OEG-OH-SAM nach Oberflächenmodifikation (10 mM KBr in 0.5 M H₂SO₄) mit unterschiedlichen Arbeitsabständen d , Pulszeiten t und $c(\text{L-Cystin})$. SECM-Aufnahme im FB-Mode ($v_T = 25 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V vs. Ag-QRE}$) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7).

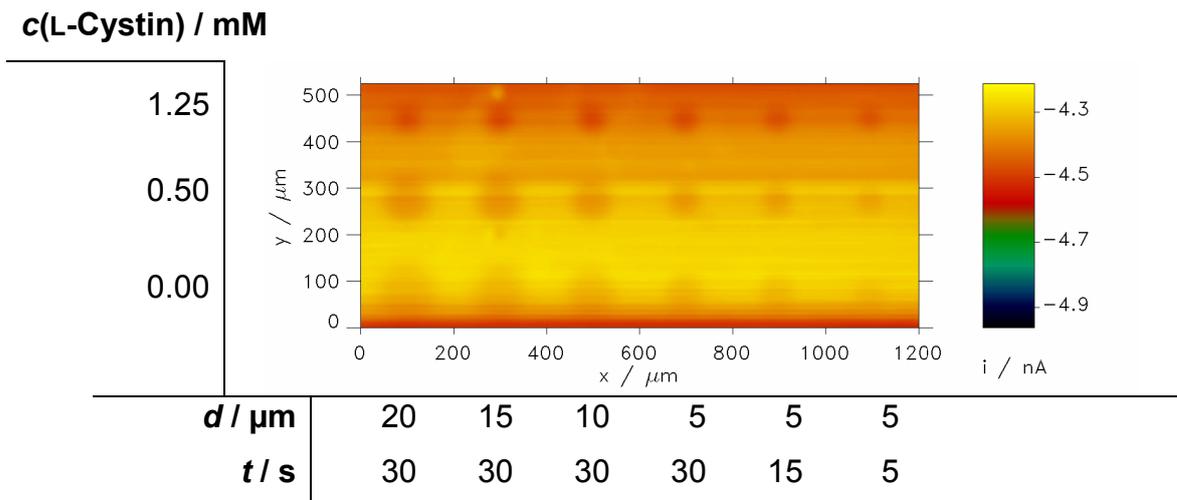


Abb. 71. OEG-OH-SAM nach Oberflächenmodifikation (5 mM KBr in 0.5 M H₂SO₄, Teil 1) mit unterschiedlichen Arbeitsabständen d , Pulszeiten t und $c(\text{L-Cystin})$. SECM-Aufnahme im FB-Mode ($v_T = 25 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V vs. Ag-QRE}$) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7).

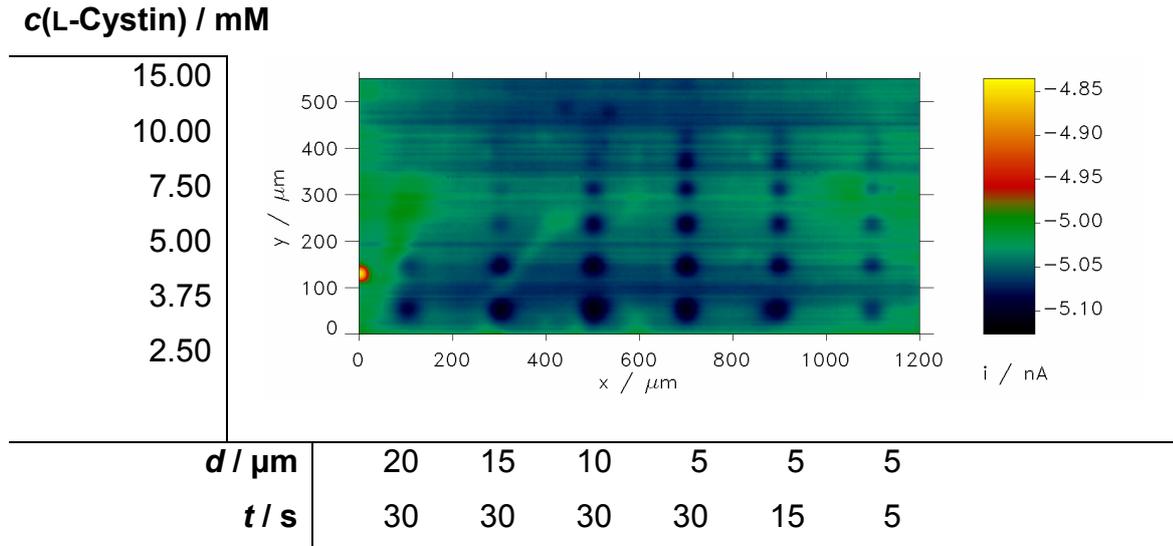


Abb. 72. OEG-OH-SAM nach Oberflächenmodifikation (5 mM KBr in 0.5 M H₂SO₄, Teil 2) mit unterschiedlichen Arbeitsabständen d , Pulszeiten t und $c(\text{L-Cystin})$. SECM-Aufnahme im FB-Mode ($v_T = 25 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V vs. Ag-QRE}$) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7).

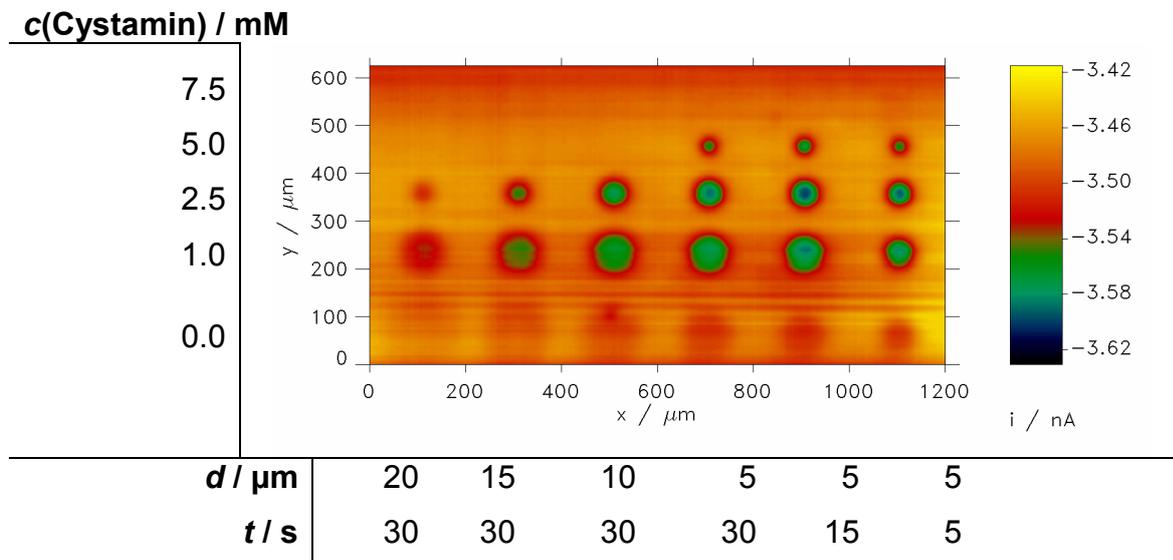


Abb. 73. OEG-OH-SAM nach Oberflächenmodifikation (10 mM KBr in 0.5 M H₂SO₄) mit unterschiedlichen Arbeitsabständen d , und $c(\text{Cystamin})$. SECM-Aufnahme im FB-Mode ($v_T = 20 \mu\text{m s}^{-1}$, $s_{\text{step}} = 5 \mu\text{m}$, $d = 15 \mu\text{m}$, $E_T = -0.4 \text{ V vs. Ag-QRE}$) mit 1 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7).

9.4 Eigene Publikationen

[A1] A. Lesch, D. Momotenko, F. Cortés-Salazar, I. Wirth, U. M. Tefashe, F. Meiners, B. Vaske, H. H. Girault, G. Wittstock

Fabrication of soft gold microelectrode arrays as probe for scanning electrochemical microscopy

Journal of Electroanalytical Chemistry **2012**, 666, 52-61.

[A2] A. Lesch, B. Vaske, F. Meiners, D. Momotenko, F. Cortés-Salazar, H. H. Girault, G. Wittstock

Parallel imaging and chemical template-free patterning of self-assembled monolayers with soft microelectrode arrays

Angewandte Chemie, International Edition **2012**, 51, 10413-10416.

Parallele Abbildung und templatfreie Strukturierung selbstorganisierter Monoschichten mit weichen linearen Mikroelektrodenarrays

Angewandte Chemie **2012**, 124, 10559-10563.

[A3] F. Meiners, I. Plettenberg, J. Witt, B. Vaske, A. Lesch, I. Brand, G. Wittstock

Local control of protein binding and cell adhesion by patterned organic thin films

Analytical and Bioanalytical Chemistry **2013**, 405, 3673-3691.

Non-refereed publication:

[A4] A. Lesch, B. Vaske, F. Meiners, D. Witte, D. Momotenko, F. Cortés-Salazar, I. Wirth, H. H. Girault, G. Wittstock

Soft microelectrode arrays as SECM probes for surface modification and characterisation

Bunsen-Magazin **2012**, 14, 203.

9.5 Konferenzen und Workshops

- 09/2012 Poster-Präsentation im Rahmen der *Electrochemistry 2012 – Fundamental and Engineering Needs for Sustainable Development*, München
- Using the chemical lens for local microelectrochemical pattern of organic thin layers**
- 08/2012 Poster-Präsentation im Rahmen des *63. annual Meeting of the International Society of Electrochemistry – Electrochemistry for Advanced Materials, Technologies and Instrumentation*, Prag, Tschechische Republik
- Using the chemical lens for local microelectrochemical pattern of organic thin layers**
- 06/2012 Poster-Präsentation im Rahmen des *12th International Fischer Symposiums on „Frontiers in Nanoelectrochemistry“*, Lübeck
- Microelectrochemical pattern of oligoethyleneglycol-terminated self-assembled monolayers with the chemical lens and soft stylus probes**
- 05/2012 Vortrag im Rahmen der *111. Hauptversammlung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie e.V.*, Leipzig
- Microelectrochemical pattern of oligoethyleneglycol-terminated self-assembled monolayers with the chemical lens and soft stylus probes**
- 09/2011 Poster-Präsentation im Rahmen des *Wissenschaftsforums Chemie 2011*, Bremen
- Using fluorescence confocal laser scanning microscopy for real-time mapping of local pH-values and –profiles**
- 03/2011 Workshop-Teilnehmer des *Bosch-Forschungs-Kolloquiums 2011 – Intelligente Speicherung von Energie*, Stuttgart
- 09/2010 Teilnehmer und Hilfskraft im Rahmen der *Electrochemistry 2010 – From microscopic understanding to global impact*, Bochum

- 05/2010 Poster-Präsentation im Rahmen der *109. Hauptversammlung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie e.V.*, Bielefeld
Local control of cell adhesion by electrochemically patterned oligoethylenglycol-terminated self-assembled monolayers
- 11/2009 Poster-Präsentation im Rahmen der *4. Surface Modification for chemical and biochemical sensing*, Krakau, Polen
Local control of cell adhesion by electrochemically patterned oligoethylenglycol-terminated self-assembled monolayers
- 02/2009 Workshop-Teilnehmer bei den *Manfred-Eigen-Nachwuchswissenschaftlertgesprächen* zum Thema „Chemische Evolution“, Delmenhorst

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name: Britta Bernadette Helene Vaske
Geburtsdatum: 04.10.1984
Geburtsort: Quakenbrück
Familienstand: ledig

Schulausbildung

1997 – 2004 Copernicus Gymnasium, Lönigen
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
1995 – 1997 Orientierungsstufe, Essen (Oldenburg)
1991 – 1995 Grundschule, Essen (Oldenburg)

Hochschulausbildung

Seit 07/2009 **Promotionsstudium**
Institut für Chemie, Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg
(Arbeitsgruppe: Prof. Dr. G. Wittstock)
Steuerung lokaler Reaktionszonen mit Ultramikroelektroden

11/2008 – **Diplomarbeit** (Arbeitsgruppe: Prof. Dr. G. Wittstock)
05/2009 *Selektive mikroelektrochemische Modifikation und Charakterisierung von Oberflächen*

10/2004 – **Chemiestudium (Diplom)**
05/2009 Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg
Abschluss: Diplom Chemiker

Berufstätigkeit

10/2012 – **Wissenschaftliche Hilfskraft**
12/2012 Institut für Chemie und Biologie des Meeres, Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg (Arbeitsgruppe: Prof. Dr. H.-J. Brumsack)

07/2009 – **Wissenschaftliche Mitarbeiterin**
06/2012 Institut für Chemie, Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg
(Arbeitsgruppe: Prof. Dr. G. Wittstock)

- 10/2008 – **Studentische Hilfskraft**
02/2009 Institut für Reine und Angewandte Chemie, Carl von Ossietzky
Universität, Oldenburg (Arbeitsgruppe: Prof. Dr. G. Wittstock)
- 10/2007 – **Studentische Hilfskraft**
12/2007 Institut für Chemie und Biologie des Meeres, Carl von Ossietzky
Universität, Oldenburg (Arbeitsgruppe: Prof. Dr. H.-J. Brumsack)

Ehrenamtliche Tätigkeiten

- Seit 01/2008 **Aktives Mitglied im Jungchemikerforum (GDCh) Oldenburg**
09/2009 bis 08/2012: 3. Vorsitzende
- 04/2011 – **Ordentliches Institutsratsmitglied (Vertretung der Statusgruppe**
03/2013 **„Wissenschaftliche Mitarbeiter“)**
Institut für Chemie, Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg
- 07/2009 – **Dezentrale Gleichstellungsbeauftragte**
03/2011 Institut für Reine und Angewandte Chemie, Carl von Ossietzky
Universität, Oldenburg

Auszeichnungen

- 09/2012 **Tagungsstipendium (*Electrochemistry 2012, München*)**
Vergeben durch die Arbeitsgemeinschaft Elektrochemischer
Forschungsinstitutionen e. V.
- 08/2012 **Kongress-Stipendium der Oldenburger Bankleiter**
Vergeben durch die Universitätsgesellschaft Oldenburg e. V.
- 05/2010 **Tagungsteilstipendium (*109. Hauptversammlung der Deutschen
Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie e.V., Bielefeld*)**
Vergeben durch die Gesellschaft Deutscher Chemiker

Mitgliedschaften und Vereine

- Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh), (FG: Angewandte Elektrochemie)
- International Society of Electrochemistry

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Aus der Dissertation sind die zuvor genannten Veröffentlichungen hervorgegangen. Die Dissertation hat weder zu Teilen noch in Gänze einer anderen wissenschaftlichen Hochschule zur Begutachtung in einem Promotionsverfahren vorgelegen.

Oldenburg, den 01.04.2014

Britta Vaske