Oberflächenmodifikationen von Funktionsmaterialien mit organischen Dünnschichten zur Beeinflussung biologischer Zellen

Von 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 Herrn

Frank Meiners (Master of Science)

Geboren am 21. Juli 1985 in Barßel

Oldenburg, den 16.09.2014

Diese Arbeit wurde vom November 2010 bis Juli 2014 an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften, Center of Interface Science (CIS), Institut für Chemie unter Anleitung von Prof. Dr. Gunther Wittstock angefertigt. Die Arbeit wurde im Rahmen der Transferinitiative PoreGenic® der Universität Rostock mit finanzieller Förderung der GoBio-Initiative des Bundesministeriums für Bildung und Forschung durchgeführt. Teile dieser Arbeit wurden bereits publiziert. Diese Publikationen sind mit [A#] gekennzeichnet und im Kapital 12.1 aufgeführt.

Gutachter:	Prof. Dr. Gunther Wittstock
Zweitgutachter:	Prof. Dr. Rüdiger Beckhaus
Tag der Disputation:	08.09.2014

Zusammenfassung

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf der Modifikation und Beschichtung von Oberflächen mit organischen Dünnschichten und Polymeren zur Steuerung der Proteinadsorption und Zelladhäsion. Als Oberflächen wurden technologisch wichtige siliciumoxidhaltige Substrate verwendet. Zur Erzeugung von organischen Dünnschichten auf den SiO_x-Oberflächen kamen Oligoethylengylcol (OEG)- und Polyethylenglycol- (PEG) terminierte Silanverbindungen zum Einsatz. Die Charakterisierung der organischen Dünnschichten erfolgte durch die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS), die Rasterkraftmikrospie (SFM), die polarisationsmodulierte Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (PM IRRAS) sowie durch Kontaktwinkelmessungen und Zelladhäsionsuntersuchungen. Zudem wurden die organischen Dünnschichten einer neuen OEG-terminierten perfluorierten Silanverbindung charakterisiert und die zellabweisenden Eigenschaften untersucht. Durch die anschließende Strukturierung solcher Dünnschichten durch Oxidation gelang die Musterung solcher Systeme auf SiO_x, die das gerichtete Zellwachstum erlaubte.

Neben der Erzeugung und Charakterisierung von Dünnschichten aus Silanverbindungen wurden ebenfalls Beschichtungen aus den zellabweisenden Polymeren Polydimethylsiloxan (PDMS) und Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylenglycol (PLL-*g*-PEG) auf ihre zellabweisenden Eigenschaften untersucht. Diese Polymere erlaubten die Strukturierung von SiO_x-Oberflächen durch Anwendung des Mikrokontakt-druckverfahrens (µCP) zur Steuerung des gerichteten Zellwachstums.

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit war die Charakterisierung von adsorbiertem Collagen Typ I auf Au-Elektroden mit Hilfe von SFM-Aufnahmen sowie die spektroelektrochemische Charakterisierung von organischen Dünnschichten auf neuartigen TiO_xC_y-Oberflächen durch *in-situ*-PM IRRAS-Messungen. Die Messungen erfolgten in einer spektroelektrochemischen Messzelle. Hierbei kam ein anorganischer Eisenkomplex als Modellverbindung zum Einsatz.

Abstract

The focus of this work was laid on the modification and coating of surfaces with organic monolayers and polymers to control the protein adsorption and the cell adhesion. Different technological important silicon oxide surfaces were used. The formation of monolayers were done by using oligo(ethylene glycol) (OEG) and poly(ethylene glycol) terminated silanes. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), scanning force microscopy (SFM), polarization modulation infrared reflection absorption spectroscopy (PM IRRAS), contact angle measurements and cell adhesion tests were applied for the characterization of the monolayers on SiO_x. Also the characterization of monoalyers consisting of a new OEG-terminated silane with a perfluorinated alkyl chain and the cell repelling properties of this new compound were described in this thesis. Oxidation was used for the structuring of monolayers. The structuring allowed guiding cell growth on the surface.

Polymers like polydimethylsiloxane (PDMS) or poly-L-lysine-*grafting*-poly(ethyleneglycol) (PLL-*g*-PEG) were coated on SiO_x surfaces and the cell preventing properties were investigated by cell adhesion tests. The use of these polymers allowed the patterning of SiO_x surfaces by microcontact printing (μCP) for the guided growth of living cells.

Another aspect in this thesis was the characterization of adsorbed collagen type I on Au-electrodes by SFM and the spectroelectrochemical characterization of new TiO_xC_y surfaces by using *in-situ*-PM IRRAS in a spectroelectrochemical cell. For this characterization an inorganic iron complex was used.

Danksagung

Hiermit bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Gunther Wittstock für die Möglichkeit, diese Arbeit in seinem Arbeitskreis durchzuführen, und für seine engagierte Unterstützung bei der Bearbeitung der spannenden Themen dieser Arbeit. Herrn Prof. Dr. Rüdiger Beckhaus danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens. Ebenso möchte ich Frau Dr. habil. Izabella Brand für die Unterstützung bei PM IRRAS-Messungen sowie für die Möglichkeit, diese Arbeit auch in Teilen unter ihrer Anleitung durchzuführen danken.

Des Weiteren danke ich meinen Kooperationspartnern des durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung finanzierten PoreGenic®-Projektes der Universität Rostock und hier insbesondere Dr. Philipp Julian Köster und Dr. Oliver Klink für die Zelladhäsionsuntersuchungen, die an der Universität Rostock durchgeführt wurden.

Ein besonderes Dankeschön gilt den ehemaligen und jetzigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wittstock für die angenehme Atmosphäre und stete Hilfsbereitschaft. Ich bedanke mich besonders bei Frau Julia Witt für die Unterstützung bei AFM-Fragen, bei Frau Inka Plettenberg und Frau Ina Schmidt für ihre Hilfen bei SECM-Fragen sowie bei Herrn Patrick Mösgen und Frau Antje Wessel für die unermüdliche Hilfe beim Vorbereiten von Proben und Herrn Gerd Gertjegerdes für die Unterstützung bei technischen Fragen. Frau Dr. Britta Vaske und Herrn Dr. habil. Carsten Dosche danke ich für die Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen. Auch möchte ich mich bei Herrn Jan Henning Roß für die Synthese neuer Silane, bei Frau Dr. Anna Buling für die XPS-Messungen und bei Frau Prof. Dr. Monika Fritz von der Universität Bremen für die Hilfe bei AFM-Fragestellungen bedanken. Ein besonderer Dank gilt auch Frau Jessica Schröder und Frau Denise Franz für die Zelltests an der Universität Rostock und Herrn Prof. Dr. Karl-Wilhelm Koch und Frau Jutta Appelt für die Zelltests an der Universität Oldenburg.

Ich bedanke mich bei meiner Familie und bei meinen Freunden, insbesondere bei Herrn Jan Mitschker und Herrn Dr. Matti Reißmann, für ihre großartige Unterstützung, die ich während meines Studiums und der Promotion von ihnen erfahren habe und die diese Arbeit erst ermöglich hat.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1

2. Artifizielle organische Dünnschichten auf Funktionsmaterialien zur Beeinflussung von biologischen Zellen 4

2.1 Oxidische Materialien als Substrate 4

2.2 Oberflächenmodifikationen mit selbstorganisierten Monolagen 7

2.2.1 Grundlegende Konzepte zu selbstorganisierten Monolagen 7

2.2.2 Selbstorganisierte Monolagen aus Organosilanen 10

2.2.3 Oligo- und Polyethylenglycolterminierungen 13

2.3 Oberflächenmodifikationen mit Polymeren 17

2.4 Laterale Strukturierung von organischen Dünnschichten für Biochips 23

2.4.1 Parallele Verfahren 23

2.4.2 Ortsgerichtete, sondeninduzierte Verfahren 24

2.4.3 Parallelisierte sondeninduzierte Verfahren 28

2.4.4 Anwendung von Oberflächenmodifikationen zur Steuerung des Zellwachstums 29

3. Charakterisierungsmethoden 31

3.1 Röntgenphotoelektronenspektroskopie 31

3.1.1 Physikalische Grundlagen 31

3.1.2 Oberflächensensitivität 33

3.1.3 Quantifizierung von XP-Spektren 34

3.1.4 Apparativer Aufbau und Auswertung 36

3.2 Polarisationsmodulierte Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie 37

3.2.1 Grundlagen 37

3.2.2 Apparativer Aufbau und Auswertung 40

3.3 Rasterkraftmikroskopie 42

3.3.1 Grundlagen 42

3.3.2 Kontaktmodus (Contact mode) 46

3.3.3 Schwingungsmodus (Tapping Mode™) 48

3.3.4 Gepulste Kraftmikroskopie (Pulsed force mode) 50

3.3.5 Apparativer Aufbau und Auswertung 53

4. Experimenteller Teil 56

4.1 Modifizierung von Oberflächen mit Organosilanverbindungen 56

4.2 Beschichtung mit Polymerverbindungen 63

4.3 Erzeugung von Collagenfilmen 64

4.4 Elektrochemische Charakterisierung von TiO_xC_y-Oberflächen 65

4.5 Kontaktwinkelmessung 66

4.6 Proteinadsorptions- und Zelladhäsionsuntersuchungen 66

5. Oberflächenmodifikationen mit synthetisierten Oligo- und Polyethylenglycol-terminierten Silanen 68

5.1 Oberflächenmodifikationen mit 1,1,1-Trichlor-4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,12,12,13,13-icosafluoro-2,15,18,21,24,27,30,33-octoxa-1-silatetriacontan 68

5.1.1 Charakterisierung mittels XPS-Messungen 69

5.1.2 Charakterisierung mittels SFM-Messungen 75

5.1.3 IR-Charakterisierung mittels PM IRRAS 81

5.1.4 Kontaktwinkelmessungen 85

5.1.5 Zelladhäsionsuntersuchungen 86

5.2 Oberflächenmodifikationen mit OEG und PEG-terminierten Silanen auf SiO_x 88

5.2.1 IR-Charakterisierung von OEG- und PEG- Silane auf SiO_x 88

5.2.2 Proteinadsorption und Zelladhäsion auf OEG-terminierten SiO_x 100

5.2.3 Charakterisierung von modifizierten SiO_x-Oberflächen mit dem PFM-SFM 104

5.3 Aufbau von Dünnschichten auf SiO_x mittels Precursor-Verbindungen 105

5.3.1 IR-Charakterisierung mittels PM IRRAS und ATR 105

5.3.2 Charakterisierung mittels AFM-Messungen 111

6. Polymere Dünnschichten auf SiO_x 115

6.1 Oberflächenmodifikation mit Polydimethylsiloxan 115

6.2 Oberflächenmodifikation mit Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylen-glycol 119

7. Collagenadsorption auf Implantatmodellen und oxidischen Materialien 131

7.1 Temperaturabhängige AFM-Messungen von Au mit adsorbiertem Collagen Typ I 132

7.2 Collagenadsorption auf TiO_xC_y-Oberflächen 135

7.3 Collagenadsorption auf SiO_x-Oberflächen 143

8. Spektroelektrochemische Charakterisierung von Dünnschichten auf TiO_xC_y 147

9. Zusammenfassung und Ausblick 155

10. Anhang 159

10.1 Abkürzungen 159

10.2 Symbole 161

11. Literaturverzeichnis 164

12. Eigene Publikationen und Konferenzbeiträge 176

12.1 Publikationen 176

12.2 Konferenzvorträge 176

12.3 Posterpräsentationen 177

13. Lebenslauf 178

1. Einleitung

Die Ausbildung von Biofilmen ist ein wichtiger Bestandteil des bakteriellen Wachstums und erlaubt das Adhärieren auf biologischen und nicht-biologischen Oberflächen.[1, 2] Dabei konnte durch Fossilienfunde belegt werden, dass die ersten Biofilmsysteme bereits vor über 3.25 Milliarden Jahren entstanden.[3, 4] Biofilme sind ein wichtiger Faktor im prokaryontischen Lebenszyklus und ein Schlüsselfaktor für das Überleben in unterschiedlichsten Umgebungen. Sie sind sehr komplex und stellen ein facettenreiches Ökosystem dar.[2, 4] Die Ausbildung der Biofilme erlaubt das geschützte Wachstum von Zellen, ihr Ausbreiten sowie das Besetzen neuer ökologischer Nischen.[1, 2] Obwohl diese Art der Oberflächenbesiedelung schon sehr alt ist, können diese Lebensgemeinschaften durch ihre Fähigkeit auch auf nicht-biologischen Substraten zu adhärieren, in modernen technischen Systemen zu Problemen führen. Vor allem biotechnologische und medizinische Anwendungen[5] wie Implantatoberflächen[1] sind von dieser Art der Besiedelung betroffen. Die Besiedelung solcher Implantatoberflächen stellt ein großes gesundheitliches Problem dar. Mit Biofilmen kontaminierte Oberflächen führen z. B. zur Kontamination mit Bakterien, die normalerweise nur auf der Hautoberfläche vorkommen und im Körper zu schweren Infektionen führen können.[2]

Die Steuerung der Proteinadsorption und der nachfolgenden Zelladhäsion ist für die Anwendungen in der Biotechnologie, in der Medizin oder in der Technik, z. B. bei Biosensoren[6], Biochips[7] Implanatoberflächen[1, 2] oder in der Schifffahrt[8] sowie bei Lebensmittelverpackungen[9] und Wasserentsalzungsanlagen von großer Bedeutung.[10] Proteine sind ein Bestandteil der von Mikroorganismen gebildeten extrazellulären polymeren Substanzen (EPS).[11] Die Ausbildung von Biofilmen startet häufig mit der Adsorption von EPS.[1, 2] Auf diesen EPS-Schichten adhärieren bevorzugt Zellen und es bauen sich mit der Zeit mehrschichtige Biofilmsysteme auf.

Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten zur Kontrolle der Proteinadsorption und zur Steuerung des Zellwachstums. So können selbstorganisierte Monolagen (SAM)[12-14] oder Polymere[15-18] verwendet werden. Eine der ersten Arbeiten zur Kontrolle der Proteinadsorption über SAMs von Thiolen auf Au-Oberflächen wurde von Whitesides et al.[12] 1991 publiziert. Auch die Kontrolle über SAMs aus Silanen für

Siliciumoxidoberflächen konnte erfolgreich gezeigt werden.[14, 19, 20] Neben diesen SAM-Oberflächen erlauben Polymere ebenfalls die lokale Steuerung der Proteinadsorption[21, 22] und der Zelladhäsion.[15, 23] Lateral gemusterte Schichten zur lokalen Ansiedlung von Zellen lassen sich durch unterschiedliche Techniken wie Softlithographie[13, 22, 24] oder Photolithographie[25-27] erzeugen. Daneben können solche Oberflächenbeschichtungen auch durch elektrochemisch erzeugtes Brom lokal gemustert werden,[28, 29] womit sich zunächst zellabweisende Schichten in der Zellkultur zu zelladhäsiven Schichten umschalten lassen, ohne dass die Zellen dabei Schaden nehmen.[28]

Der Fokus dieser Arbeit lag auf der Modifizierung und Strukturierung von siliciumoxidhaltigen Oberflächen mit Silanverbindungen und dünnen Polymerfilmen zur Steuerung der Zelladhäsion. Diese Oberflächenbeschichtungen können für die Strukturierung von Biochipsystemen verwendet werden und erlauben zudem eine nachträgliche Strukturierung durch elektrochemische oder photoinduzierte Prozesse. Das Kap. 2 gibt einen zusammenfassenden Überblick über bereits bekannte Schichtsysteme zur Steuerung der Zelladhäsion sowie deren Strukturierungsmöglichkeiten. Die modifizierten Oberflächen sollen mit verschiedenen Charakterisierungsmethoden wie Rasterkraftmikroskopie, polarisationsmodulierter Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie und Röntgenphotoelektronen-spektroskopie untersucht werden, deren Grundlagen im Kap. 3 erläutert werden. Das Kap. 4 umfasst eine ausführliche Beschreibung der experimentellen Arbeiten. In Kap. 5 wird zunächst auf die Modifikation von SiO_x-Oberflächen mit OEG- und PEG-terminierten Silanverbindungen eingegangen. Die Charakterisierung von Dünnschichten einer neuen OEG-terminierten perfluorierten Silanverbindung wird in Kapitel 5.1 beschrieben. Dieses neue Silan kombiniert die Eigenschaften der zellabweisenden OEG-Terminierung mit den Eigenschaften der perfluorierten Alkylkette. Die Steuerung der Zelladhäsion wird in Kap. 5.2 beschrieben. OEG-terminierte Oberflächen lassen sich durch Oxidation strukturieren und erlauben das gerichtete Zellwachstum auf vorgegebenen Bahnen. Die Verwendung von Polymeren wird in Kap. 6 beschrieben. Polymere zeichnen sich gegenüber Monolagen durch eine bessere Stabilität aus. Dies ist für die Anwendung auf Biochipsystem von Vorteil und wurde mit dem Projektpartner getestet.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit besteht darin, die Adsorption von Collagen Typ I auf verschiedenen Oberflächen wie Au oder TiO_xC_y-Oberflächen zu untersuchen (Kap. 7). Collagen ist eines der wichtigsten Proteine im menschlichen Körper. Der hier verwendete Collagentyp I ist unter anderen Bestandteil im Knochengewebe und somit häufig für die Collagenadsorption auf Implantatoberflächen, die mit Knochengewebe in Kontakt kommen, verantwortlich.[30] In dieser Arbeit wird die Strukturänderung von adsorbierten Collagen Typ I auf Au-Oberflächen bei unterschiedlichen Potentialen und unterschiedlichen Temperaturen mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie untersucht (Kap.7.1). Die Collagenadsorption auf neuartigen TiO_xC_y-Oberflächen wird in Kap. 7.2 beschrieben. Diese neuen Oberflächen könnten als neue Beschichtungen für Titanlegierungen dienen, die in der Medizin für Implantate eine große Bedeutung besitzen. Die Adsorption von Collagen auf neuartigen TiO_xC_y-Oberflächen wird elektrochemisch charakterisiert. Zudem wird die spektroelektrochemische Charakterisierung eines Eisenkomplexes auf diesen neuartigen Oberflächen vorgenommen (Kap. 8). Die Veränderung der Orientierung und Struktur des adsorbierten Films bei Potentialänderung wird mit Hilfe einer spektroelektrochemischen Messzelle durch *in-situ*-PM IRRAS-Messungen kontrolliert.

Die Arbeit schließt mit einem Ausblick und einer Zusammenfassung in Kap. 9 ab. Im Anhang befindet sich ein Abkürzungs- und Symbolverzeichnis.

2. Artifizielle organische Dünnschichten auf Funktionsmaterialien zur Beeinflussung von biologischen Zellen

2.1 Oxidische Materialien als Substrate

In vielen technischen und biologischen Produkten finden oxidische Materialien als Substrate Verwendung. Solche Materialien werden in biologischen und medizinischen Anwendungen wie Biochips,[31] Biosensoren,[32] Nanopore-Array-Chips,[33] Patch-Clamp-Chips[34] und für Implantate[35, 36] verwendet oder in technischen Produkten wie Transistoren,[37] in Mikrosystemen[38] oder in Solarzellen genutzt.[39] All diesen oxidischen Materialien ist gemeinsam, dass sie einen hohen Anteil oberflächengebundenen Hydroxidgruppen aufweisen. Dabei lässt sich zwischen siliciumoxidhaltigen (SiO_x) Materialien wie Siliciumdioxid (SiO_2), oxidierten Siliciumnitriden (Si/Si_3N_4), Siliciumoxinitriden (SiO_xN_y) und Glas sowie metalloxidischen Materialien wie Titandioxid (TiO_2), TiO_xC_y-Oberflächen, Indium-Zinnoxid (engl. *indium tin oxide*, ITO) oder Fluor-Zinnoxid (engl. *fluorine doped tin oxide*, FTO) unterscheiden. Bei den in dieser Arbeit verwendeten Oberflächen handelte es sich um SiO_x-haltige Materialien wie SiO_x auf Siliciumwafer (Si/SiO_x), oxidierte Siliciumnitride (Si/Si_3N_4), mit SiO_x bedampfte Goldoberflächen (Au/SiO_x) und Glasoberflächen.

Glasoberflächen weisen je nach Anwendungsgebiet einen unterschiedlichen Gehalt aus SiO_2 und anderen Oxiden auf. Der SiO_2-Anteil bei Silikatgläsern beträgt 55 bis 80 %.[40] Zusätzlich enthalten sie Anteile von Alkali- und Erdalkalimetalloxiden wie Calciumoxid, Natriumoxid, Lithiumoxid, Magnesiumoxid, Kaliumoxid und Bariumoxid sowie Anteile von Bortrioxid, Aluminiumoxid und im Falle von Bleikristallglas Bleioxide. Quarzgläser hingegen bestehen zu 100 % aus SiO_2.[40] Diese Zusammensetzungen führen dazu, dass Glasoberflächen unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften aufweisen und für verschiedene Anwendungen genutzt werden können.[40] Als Glasoberflächen wurden in dieser Arbeit neben Objektträgerglas auch ein Borofloat® 33 (BF33)-Glaswafer des Herstellers Schott verwendet. Bei diesem Glas handelt es sich um ein Borosilikatglas, das eine chemische Zusammensetzung von 13 % B_2O_3, 4 % Na_2O/K_2O, 2 % Al_2O_3 und 81 % SiO_2 aufweist. BF33-Glas enthält einen niedrigen Alkalimetallanteil, besitzt gute elektrische Isolationseigenschaften und

absorbiert aufgrund des hohen B_2O_3-Anteils Neutronen. Der Produktname leitet sich aus der Glasart (**Boro**silikatglas) sowie dem Herstellungsprozess (Micro**float**-Verfahren) und dem nominalen mittleren thermischen Längenausdehnungskoeffizienten (3.25×10^{-6} K^{-1}) ab.

Gläser wie BF33 werden im Float-Verfahren (auch Schwimmverfahren genannt) hergestellt (Abb. 1).[41] Hierbei fließt geschmolzenes Glas kontinuierlich über ein metallisches Schmelzbad, in der Regel flüssiges Zinn. Das Glas wird dabei gleichmäßig in die gewünschte Dicke verteilt. Aufgrund der höheren Dichte des Metallbades schwimmt das Glas auf der Oberfläche und lässt sich so zum Abkühlen von der Oberfläche abheben. Das von Schott verwendetet Microfloatverfahren erlaubt die Erzeugung von Gläsern mit einer geringen Rauigkeit. Das BF33-Glas weist laut Schott eine mittlere Mikrorauigkeit (engl. *average roughness*, *Ra*) von 0.1 bis 0.5 nm auf, die im Rahmen von Rasterkraftmikroskopie-Untersuchungen (engl. *scanning force microscopy*, SFM) in dieser Arbeit bestätigt werden konnte.

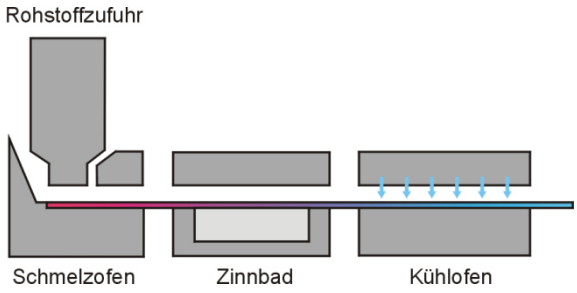


Abb. 1: Schematische Darstellung des Float-Prozesses zur Herstellung von Floatglas, adaptiert nach Ref. [41].

Für die Erzeugung von SiO_x- und Si_3N_4-Schichten auf Si-Oberflächen ist die Gasphasenabscheidung ein technisch wichtiger Prozess. Hier unterscheidet man zwischen der chemischen Niedrigdruck-Gasphasenabscheidung (engl. *low pressure chemical vapour deposition*, LPCVD) und der Plasma-unterstützten chemischen Gasphasenabscheidung (engl. *plasma-enhanced chemical vapour deposition*, PECVD). Beim LPCVD werden niedrige Drücke, hohe Temperaturen und Precursorverbindungen wie Tetraethylorthosilikat (TEOS), Dichlorsilan (H_2SiCl_2) oder Monosilan (SiH_4) verwendet. Diesen Precursorverbindungen werden, je nachdem welche Oberflächenschicht hergestellt werden soll, weitere Gase zugesetzt. SiO_2-Schichten können aus Gemischen von H_2SiCl_2 und Distickstoffmonoxid (N_2O),[42] TEOS und

O_2,[42] SiH_4 mit N_2O[43, 44] sowie bei der Pyrolyse von TEOS[45] erzeugt werden. Si_3N_4-Schichten werden im LPCVD aus Gemischen von Ammoniak (NH_3) und H_2SiCl_2 hergestellt.[46] Die Temperaturen beim LPCVD variieren je nach Gaszusammensetzung und Modifizierung. Sie liegen zwischen 300 °C und 850 °C für die Erzeugung von SiO_x[43, 45, 47] und bei 630-730 °C für die Erzeugung von Si_3N_4-Oberflächen.[48] Beim PECVD-Verfahren wird dagegen ein Plasma in einem Gasgemisch aus Monosilan (SiH_4) und N_2O bei Temperaturen von 300-400 °C zur Erzeugung von SiO_x induziert.[42, 49]

Außerdem lassen sich SiO_x-Schichten durch thermische oder anodische Oxidation auf Si und Si_3N_4-Oberflächen erzeugen.[42, 45, 50] Die thermische Oxidation von Si führt zu sehr flachen, homogenen Oberflächen, deren Rauigkeiten vergleichbar mit polierten Si-Wafern mit einer nativen Oxidschicht sind. Die LPCVD und PECVD ergeben dagegen Oberflächen mit einer höheren Rauigkeit.[42]

Die Vorteile von Glasoberflächen sind, dass diese Oberflächen kostengünstig, leicht zu modifizieren und zu sterilisieren sowie optisch transparent sind und die Oberflächenchemie von Glas sehr gut bekannt ist.[51, 52] Si-haltige Oberflächen lassen sich ebenfalls aufgrund der SiO_x-Schicht leicht mit Silanen oder Polymeren modifizieren und funktionalisieren.[33, 53, 54] Si_3N_4-Schichten zeigen zudem eine starke mechanische und chemische Belastbarkeit.[55]

Siliciumhaltige Oberflächen finden sich in einer Reihe von technischen Produkten wie Zellchips und bioelektronischen Produkte wie Patch-Clamp-Chips wieder[34, 56-58] und werden im Falle von Si/Si_3N_4 als Passivierungen auf Patch-Clamp-Chips oder auf Nanopore-Array-Chips zur Ausbildung von Nanoporen und als Membranmaterialien verwendet.[33, 59] Oxidierte Si/Si_3N_4- und Si/SiO_x-Oberflächen dienen zur Erzeugung von elektrischen Widerständen (*Gigaseal*) bei Patch-Clamp-Chips.[34] Sordel et al.[34] konnten bei ihren Patch-Clamp-Tests feststellen, dass reine Si_3N_4-Oberflächen einen schlechteren Gigaseal erzeugen als mit SiO_2 beschichtete Si_3N_4-Oberflächen. Auch konnten sie in einer anderen Arbeit zeigen, dass mit PECVD erzeugte SiO_2-Schichten auf planaren Patch-Clamp-Chips beim Patch-Clamp-Verfahren einen höheren Widerstand erzeugen als thermisch erzeugte SiO_2-Schichten.[42]

Da eine zentrale Aufgabenstellung der Forschungsarbeit die Oberflächenbeschichtungen von Biochipsystemen des PoreGenic®-Unternehmens der Universität Rostock war, lag der Schwerpunkt dieser Arbeit in der Modifikation und Beschichtung von SiO_x-haltigen Oberflächen wie Si/SiO_x, Si/Si_3N_4 und BF33. Daneben wurden spezielle Au/SiO_x-Oberflächen für die IR-Charakterisierung von organischen Dünnschichten genutzt, da diese aufgrund der dünnen SiO_x-Schicht leicht mit Silanen modifiziert werden können. Durch die reflektierende Goldschicht sind diese organischen Dünnschichten einer Charakterisierung mit der polarisationsmodulierten Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (engl. *polarization modulation infrared reflection absorption spectroscopy,* PM IRRAS) zugänglich.[60, 61]

Ein weiterer Aspekt in dieser Arbeit war die Charakterisierung der Collagenadsorption auf metallischen Substraten wie Gold und TiO_xC_y-Oberflächen. Die Biofilmausbildung durch Proteine wie Collagen auf Goldsubstraten wurde bereits ausführlich elektrochemisch untersucht.[62] Goldoberflächen spielen allerdings in der Medizin als Implantatoberflächen keine Rolle. Dort werden Metalloberflächen wie Titan oder Titanlegierungen bevorzugt als Implantatoberflächen eingesetzt.[63, 64] Dabei kommt es ebenfalls zu einer Biofilmbildung.[65] Aufgrund der schnellen Passivierung dieser Oberflächen durch eine Oxidschicht, können keine elektrochemischen Untersuchungen auf Ti-Oberflächen analog zur Collagenadsorption auf Goldoberflächen durchgeführt werden.[62, 66] Um Collagenfilme auf Ti-haltigen Oberflächen elektrochemisch zu charakterisieren, wurden in dieser Arbeit spezielle TiO_xC_y-Oberflächen verwendet. Diese Oberflächen enthalten einen Anteil von etwa 20 % Kohlenstoff, der es erlaubt, diese Oberflächen für elektrochemische Messungen zu verwenden.[67] In dieser Arbeit wurde damit die Adsorption von Collagen Typ I elektrochemisch untersucht.

2.2 Oberflächenmodifikationen mit selbstorganisierten Monolagen

2.2.1 Grundlegende Konzepte zu selbstorganisierten Monolagen

Die Modifikation von Oberflächen mit selbstorganisierten Monolagen (engl. *self-assembled monolayer*, SAM) besitzt eine hohe technologische Relevanz. SAMs bilden sich durch Chemisorption und Selbstorganisation spontan auf geeigneten Oberflächen aus.[24] Es kommt zur spontanen Anordnung von Molekülen oder Objekten in geordneten Strukturen, da die Endstruktur nahe dem oder im thermodynamischen

Gleichgewicht liegt.[68] Verschiedenste Oberflächen lassen sich auf vielfältige Weise mit SAMs strukturieren, um chemisch gut definierte Oberflächen zu erzeugen.[69] Die einfachste Möglichkeit SAMs zu erzeugen, ist dabei das Eintauchen eines Substrates in eine Lösung mit einer oberflächenaktiven Substanz.[70] Dadurch kommt es zur spontanen Ausbildung einer SAM auf der Oberfläche durch kovalente Bindungen. Die oberflächenaktive Substanz besteht aus einer substratspezifischen Ankergruppe, einem Rückgrat aus Alkylketten oder aromatischen Ringen und aus einer funktionalen Endgruppe als Terminierung am Ende des Rückgrats (Abb. 2).[71]

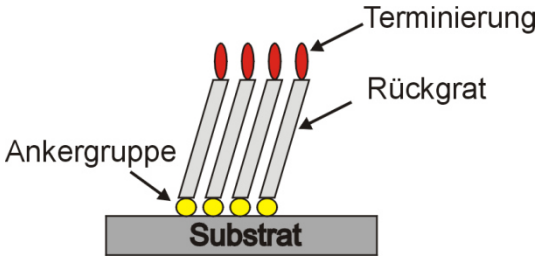


Abb. 2: Schematische Darstellung einer selbstorganisierten Monolage (SAM). Die Ankergruppe dient der Ausbildung einer kovalenten Bindung zum Substrat und ist substratspezifisch. Das Rückgrat besteht aus Alkylketten oder aromatischen Ringen und beeinflusst die Ordnung und Packungsdichte. Die Terminierung der SAM beeinflusst die Eigenschaften der Oberfläche. Adaptiert nach Ref. [71].

Das Rückgrat der Verbindung und die Terminierung spielen für die Ordnung und Packung der SAM sowie für die Funktionalisierung der Oberfläche eine entscheidende Rolle.[71-73] Das Rückgrat bildet die Verbindung zwischen Ankergruppe und Terminierung und beeinflusst aufgrund von verschiedenen Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Molekülen die Packungsdichte und die Ordnung der SAM.[71] Die Terminierung der SAM ist dagegen entscheidend für die Eigenschaften der modifizierten Oberfläche.[71] So lassen sich zum Beispiel hydrophile oder hydrophobe Oberflächen erzeugen, indem Verbindungen mit hydrophilen, polaren Endgruppen wie Carboxyl-Einheiten[74] oder hydrophobe Endgruppen wie CF_3-Einheiten[75] verwendet werden.

Metalloberflächen wie z. B. Ag- oder Au-Substrate lassen sich mit Thiolen,[12, 69, 70] ITO-Oberflächen mit Silanen[71] oder Phosphonsäurederivaten,[76] wasserstoffterminierte Siliciumsubstrate mit Alkenen[77, 78] und Si_3N_4-Oberflächen mit Silanen[79] oder Alkenen[80] modifizieren. Die technisch wichtigen Glas- und SiO_x-Oberflächen lassen sich ebenfalls mit unterschiedlichen Silanen modifizieren.[71, 81-83]

Des Weiteren lassen sich funktionale Gruppen wie Halogenide[84], Aminogruppen[85], Thiolgruppen[86], Alkene[87, 88], Alkine[87] oder Azide[89] auf diesen Oberflächen aufbringen. Diese können dann anschließend in einer Folgereaktion gegen weitere funktionale Einheiten ausgetauscht werden oder weiterreagieren.[81, 90] Ebenso lassen sich protein[91]- und zellabweisende[51] bzw. anhaftende Oberflächen[92] erzeugen oder Biomoleküle wie Desoxyribonukleinsäure (DNS)-Stränge[93] an Oberflächen binden. Ein Beispiel für die Post-Funktionalisierung von SAM auf Oberflächen ist die Nutzung der kupferkatalysierten Huisgen-1,3-dipolaren Azid-Alkin-Cycloaddition („Click-Chemie“, Abb. 3).[94, 95]

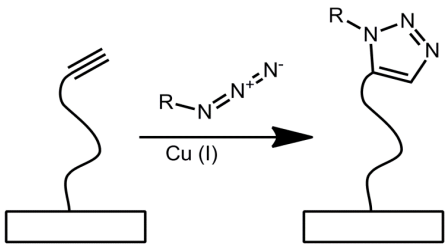


Abb. 3: „Click-Chemie“ auf einer Acetylen-terminierten Oberfläche.

Hierbei reagiert ein Azid unter Einwirkung eines Cu(I)-Katalysators mit einem Alkin zu einem Tetrazol-Ring. Die Postfunktionalisierung durch die Click-Chemie erlaubt unter anderem das Aufbringen verschiedener Endgruppen. Acetylen-terminierte Siliciumoberflächen lassen sich über die Click-Chemie gegen Proteinadsorption passivieren[96] oder Biomoleküle wie DNS auf Si(111) und Si(100) Oberflächen mittels Click-Chemie anbinden.[78, 93]

Neben dem Eintauchen des Substrats in eine Lösung einer oberflächenspezifischen Substanz, wie z. B. in eine Lösung aus einer Organosilanverbindung, besteht als weitere Möglichkeit zur einheitlichen Modifizierung von Oberflächen das chemische Gasphasenabscheidungs (CVD)-Verfahren. Eine oberflächenaktive Substanz wird zunächst in die Gasphase gebracht und reagiert anschließend an der Substratoberfläche.[97, 98] Es lassen sich mit diesem Verfahren z. B. einheitlich perfluorierte Oberflächen[97] erzeugen oder Zwischenräume nach dem Mikrokontaktdrucken auffüllen.[85] Dabei entstehen im Falle des Auffüllens von Zwischenräumen eher unebene organische Dünnschichten.[85]

Strukturierte SAMs mit mehr als einer funktionalen Gruppe lassen sich durch Softlithographietechniken[24] wie Mikrokontaktdrucken,[99-101] durch Adsorption zweier Verbindungen aus einer Mischung,[12] durch lokale *Removal-Refilling*-Prozesse,[102, 103] durch lokale Umformung funktionaler Gruppen[104, 105] oder durch Umwandlung vorstrukturierter Monolagen und mit lokal adressierbaren Substraten erreichen.[106, 107] Daneben lassen sich SAMs mit Photolithographietechniken,[108] Elektronenstrahllithographie,[109] Ionenstrahl-[110] und Röntgenstrahllithographie[111] sowie mit Rastersondenlithographietechniken[112] strukturieren. Solche strukturierten SAMs erlauben unter anderem die Immobilisierung von Fluorophoren,[113] die Proteinadsorption und Zelladhäsion[108] oder die Kontrolle des Oberflächenpotentials.[98]

Im Jahr 2008 gelang es Gentilini et al.[114] ein Oligoethylenglycol (OEG)-terminiertes Thiol zu synthetisieren, das als Rückgrat eine perfluorierte Alkylkette besitzt. Diese Verbindung erlaubte die Modifikation von Au-Nanopartikeln und die Kombination von OEG-Terminierungen mit einer perfluorierten Alkylkette.[115] Eine analoge Verbindung mit einer Cl_3Si-Kopfgruppe als Ankergruppe zur Modifikation von oxidischen Oberflächen konnte während dieser Arbeit ebenfalls dargestellt und charakterisiert werden.[A4]

2.2.2 Selbstorganisierte Monolagen aus Organosilanen

Siliciumoxidhaltige Oberflächen besitzen eine herausragende Bedeutung für Anwendungen in der Technologie und Biomedizin. Die große Anzahl an Übersichtsartikeln, die sich mit der Modifizierung und Strukturierung von SiO_x-Oberflächen befassen, zeigt den großen Stellenwert dieses Themas.[71, 81, 116] Daher ist die Modifizierung solcher Oberflächen ein wichtiger Teil dieser Arbeit. Die Modifikation von SiO_x-Oberflächen erfolgt häufig über die Silanisierung unter Nutzung von Alkyltrichlorosilanen,[14] Alkyltrialkoxysilanen wie Alkyltrimethoxy- oder Alkyltriethoxysilanen[117] oder durch Monochlorsilanen.[118]

Eine der ersten Arbeiten, die zu dem Thema SAMs auf SiO_x-Oberflächen erschienen ist, ist die Arbeit von Sagiv[119] aus dem Jahre 1980. Ihm gelang die Modifizierung von Hydroxid-terminierten Oberflächen wie Glas, Polyvinylalkohol, oxidiertem Polyethylen und Aluminium mit Alkyltrichlorosilanen. Dabei nutzte er zur Modifizierung das *n*-Octadecantrichlorosilan ($C_{18}H_{37}SiCl_3$, OTS). Seit diesen ersten Arbeiten sind die

Eigenschaften der Filme und die Parameter für die Monolagenbildung auf SiO_x gut untersucht worden. So stellt sich heraus, dass das Lösungsmittel,[120] die Konzentration[120, 121] und das Alter der Lösung,[121, 122] der Wassergehalt,[122] die Adsorptionszeit,[121, 123] lokale Konzentrationsgradienten und Alkylkettenlängen[121] sowie die Temperatur[123, 124] für die Silanisierung von SiO_x-Oberflächen von entscheidender Bedeutung sind.

Vor allem der Bildungsmechanismus führte in den ersten Jahren zu einer lebhaften Debatte. Sagiv[119] ging zunächst davon aus, das Spuren von Wasser zu einer Hydrolyse-Reaktion des Silans unter Abspaltung von Salzsäure führt. Nach der Hydrolyse sollte es laut Sagiv zu einer Kondensationsreaktion mit den Silanolgruppen der Oberfläche sowie weiteren OTS-Molekülen kommen. Dadurch sollten sich polykondensierte Netzwerke bilden, in denen jedes OTS-Molekül an der Oberfläche chemisorbiert ist (Abb. 4).[119] Dies wurde zunächst von Wassermann et al.[82] auf Si/SiO_2-Oberflächen durch XPS-Messungen bestätigt, da nach der Modifizierung keine Signale für Chlor nachgewiesen werden konnten. Man ging daher davon aus, dass jeweils drei Si-O-Bindungen entstanden sind.

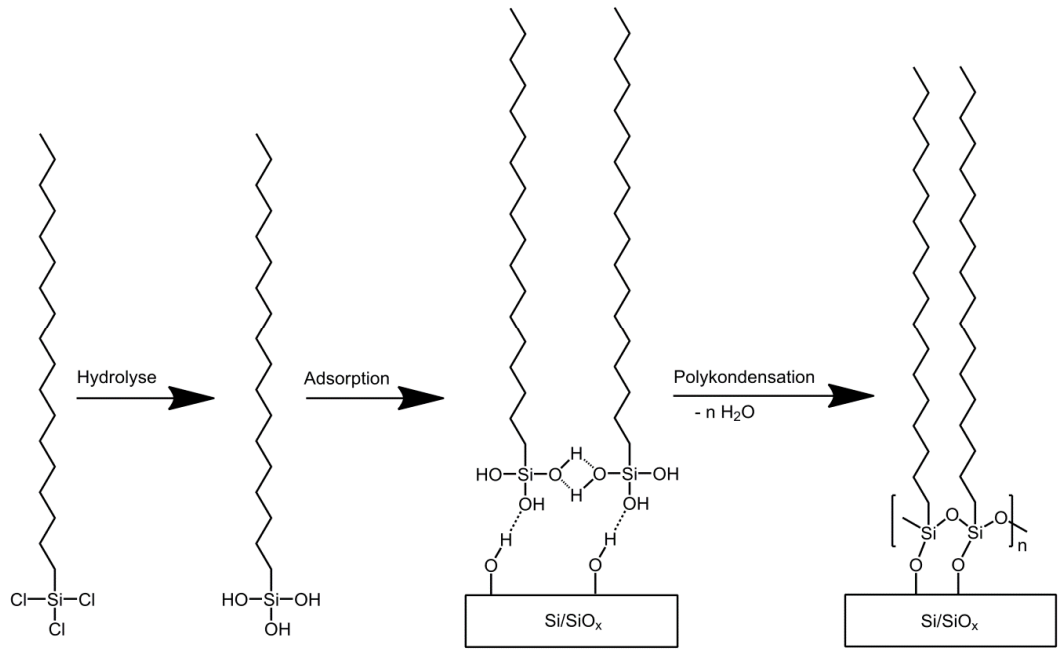


Abb. 4: Von Sagiv 1980 postulierter Bildungsmechanismus einer mit OTS silanisierten SiO_x-Oberfläche adaptiert nach Ref. [119].

Der Gegenbeweis zu dieser Theorie wurde 1986 von Finklea et al.[125] erbracht. Ihnen gelang die SAM-Bildung mit OTS-Molekülen auf Au-Oberflächen. Dies lässt darauf

schließen, dass der Wasserfilm, der sich auf hydrophilen Oberflächen wie Au oder den vor der Modifikation mit starken Säuren oder O_2-Plasma aktivierten Glas- und SiO_x-Oberflächen ausbildet, für die Selbstorganisation zuständig ist und es zu einer Ausbildung eines 2D-quervernetzen Si-O-Si-Netzwerkes kommt.[81, 125] Diese Theorie konnte durch IR-Messungen von Allara et al.[126] bestätigt werden. Röntgenreflexionsmessungen von Silberzan et al.[127] zeigten, dass mit Silanen modifizierte Si-Wafer eine geringere Körnung aufwiesen, als es bei unmodifizierten der Fall war. Dies deutete auf ein querverbundenes Netzwerk hin, welches nur mit 10-20 % der Si-O-Bindungen an die Oberfläche gebunden war (Abb. 5).[71]

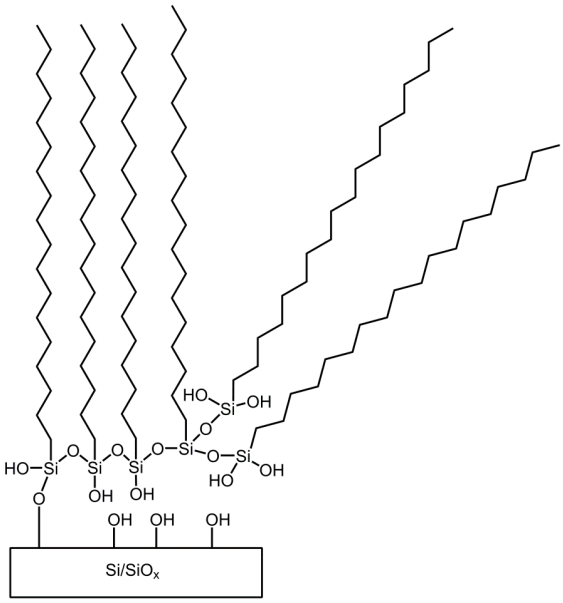


Abb. 5: Schematische Darstellung des 2D-Netzwerkes. Die Wechselwirkungen zwischen den Kohlenwasserstoffatomen in den Alkylketten und die querverbundenen Si-O-Si-Bindungen sind dabei die Triebkraft der Selbstorganisation.[71]

Der Wassergehalt ist auch bei der Herstellung reproduzierbarer Schichten ein häufig diskutiertes Thema. Während einige Gruppen davon ausgingen, dass Spuren von Wasser zu gut-organisierten SAM führen,[128, 129] zeigen neuere Studien, dass eine Zunahme der Wassermenge und des Alters der Silanlösung die Inselausbildung unterstützen.[121, 130] Wang und Liebermann[122] gelang es, ultraflache OTS-SAM auf nativen Siliciumoxidoberflächen aus trockenen Lösungen herzustellen. SAMs aus Silanen weisen zudem eine hohe thermische Stabilität auf,[131] sind gegen saure Medien stabil,[82] neigen aber im Basischen zur Hydrolyse der Si-O-Si-Bindung.[71] Frühere Arbeiten zur mechanischen Stabilität von Organosiliciumverbindungen auf SiO_x-

Oberflächen zeigten eine höhere Stabilität gegenüber SAMs aus Thiolen auf Gold.[132] Allerdings stützen neuere Arbeiten diese Untersuchungen nicht mehr.[133]

Diese vielen unterschiedlichen Faktoren lassen erahnen, dass es sehr schwierig ist, reproduzierbare, gut-definierte SAMs aus Silanverbindungen auf SiO_x-Oberflächen zu erhalten.[129] So kommt es zur Ausbildung von Multilagen durch die Bildung von polykondensierten Silanen[134] sowie zur Physisorption von Silanen auf der Oberfläche,[127] die sich analytisch nur schwer von chemisorbierten Silanen unterscheiden lassen.[71] Trotz dieser Schwierigkeiten bietet die Silanisierung eine einfache und effektive Möglichkeit, Oberflächen für unterschiedliche Anwendungen zu modifizieren, da es bei vielen Anwendungen nicht entscheidend ist, ob sich eine Monolage oder Multilagen ausbilden.[71] Bei Anwendungen auf molekularer Basis kann die Multilagenausbildung ein Problem darstellen.[135] Daher entsprechen Systeme auf Organosilanbasis nicht den Vorstellungen idealer SAM-Systeme, aber für einige Anwendungen stellen sie die bestmögliche Methode zur Modifizierung dar.[71]

2.2.3 Oligo- und Polyethylenglycolterminierungen

Eine große technische Bedeutung besitzen Alkanthiole und Silane, die mit Oligoethylenglycol (OEG)- und Polyethylenglycol (PEG)-Einheiten terminiert sind. Zwei Beispiele sind in Abb. 6 dargestellt.



Abb. 6: Beispiele für Oligoethylenglycol (OEG)-terminierte Alkanthiole und Alkyltrichlorosilane. Die rot eingezeichneten Einheiten stellen die OEG-Einheiten dar.

Diese Terminierungen sind dafür bekannt protein- und zellabweisend zu wirken.[12, 14] Dadurch lässt sich das sogenannte *Biofouling* zurückdrängen. Als *Biofouling* wird die Ausbildung von Biofilmen bezeichnet, die mit der Adsorption von Proteinen und der Adhäsion von Bakterien oder Zellen beginnt. Zunächst adhärieren einige Zellen auf dem Substrat und produzieren extrazelluläre polymere Substanzen (EPS).[1] Die EPS bestehen aus Polysacchariden, einer großen Anzahl von Proteinen, Glycoproteinen, Glycolipiden und in einigen Fällen aus extrazellulärer DNS.[11] Sie dienen der

Stabilisierung der Filmstruktur, helfen beim Besiedeln neuer Bereiche und schützen die Bakterienzellen vor schädlichen Einflüssen wie Antibiotika.[1] Der Biofilm wächst an und breitet sich durch das Ablösen von Zellen oder von Teilen des Biofilms aus, die an anderer Stelle wieder auf der Oberfläche adhärieren können.[1, 2] Die Proteinadsorption und die Zelladhäsion spielen vor allem bei biomedizinischen und biologischen Anwendungen, etwa in Biochips,[7] Biosensoren,[6] bei medizinischen Implantaten[1] wie Kathetern,[5] Implantationsoberflächen wie Prothesen,[1] aber auch in Funktionstextilien,[136] Lebensmittelverpackungen,[9] Wasserentsalzungsanlagen[10] oder in der Schifffahrt[8] eine große Rolle.

Zu den ersten Arbeiten über die protein- und zellabweisende Wirkung von OEG-Terminierungen gehören die Arbeiten von Prime und Whitesides[12] aus dem Jahre 1991. Ihnen gelang es, Au-Oberflächen durch Adsorption OEG-terminierter Alkanthiole so zu modifizieren, dass diese gegenüber der Proteinadsorption resistent waren. Die Erzeugung hydrophiler Oberflächen aufgrund von Hydroxyl-terminierten OEG-Einheiten konnte durch Wasserkontaktwinkelmessungen bestätigt werden.[12] Des Weiteren beobachteten Prime und Whitesides, dass eine Zunahme der Hydrophobie zu einer Zunahme der Proteinadsorption führt. Daher nahmen sie an, dass die Proteinadsorption von hydrophoben Wechselwirkungen abhängt.[12]

In den Jahren nach dieser Entdeckung wurde die proteinabweisende Wirkung der OEG-Terminierung durch verschiedenste Messungen wie Kontaktwinkelmessungen, Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl. *X-ray photoelectron spectroscopy*, XPS),[73] Infrarotspektroskopie (IR),[137, 138] Ellipsometriemessungen[139] ebenso wie durch elektrochemische Verfahren[137, 140] untersucht. Daneben wurden ebenfalls Simulationen wie Hartree-Fock-Rechnungen durchgeführt.[141]

Harder et al.[73] konnten durch IR-Messungen von SAMs aus OEG-terminierten Alkanthiolen auf Au und Ag die Abhängigkeiten der proteinabweisenden Wirkung von der Konformation der gebildeten SAM nachweisen. Die Arbeit von Herrwerth et al.[72] zeigte, dass vor allem die interne und die terminalen Hydrophilie sowie die laterale Packungsdichte für die Adsorption von Proteinen eine entscheidende Rolle spielen. Dabei steigt die Proteinadsorption mit Zunahme der Packungsdichte und Ordnung an. Die hydrophilen Hydroxyl-terminierten OEG-Einheiten zeigen dabei die besten proteinabweisenden Eigenschaften. Dies wurde bereits von Prime und Whitesides[12]

beobachtet. Herrwerth et al.[72] beobachteten, dass die Proteinadsorption mit Zunahme der Endgruppenlänge von -OH zu -OBu anstieg und somit bei Zunahme der terminalen Hydrophobie der Oberfläche zunahm. Sie gingen davon aus, dass eine lockere laterale Packungsdichte oder Unordnung mit Fehlstellen wichtig für die abweisenden Eigenschaften sind, da dies den Wassereinbau in die SAM erlaubt.[72] Dieser Wassereinbau wird für die resistenten Eigenschaften der OEG-Einheiten benötigt.[73] Auch die interne Hydrophilie der OEG-Einheiten spielt eine wichtige Rolle für den Einbau von Wasser sowie für die daraus resultierenden abweisenden Eigenschaften.[72] Ebenfalls steigt die proteinabweisende Wirkung mit der Zahl der EG-Einheiten an.[139] Schlecht et al.[20] konnten für OEG-terminierte Trialkoxyalkylsilane zeigen, dass eine Alkylkettenlänge des Rückgrats von 14 C-Atomen und mehr die beste Ordnung solcher Systeme auf Glas bedingt. Proteinadsorptionsstudien zeigten dabei, dass für gemusterte SAMs aus OEG-terminierten Silanen eine gut-geordnete Alkylkette innerhalb der Monolage wichtig für die proteinabweisende Wirkung war.[20]

Aufgrund der protein- und zellabweisenden Eigenschaften der OEG- und PEG-Einheiten wurden neben OEG-terminierten Thiolen weitere OEG-terminierte Verbindungen dargestellt. Analoge OEG- und PEG-terminierte Silane wurden entwickelt, um technisch wichtige Oberflächen wie Glas, Siliciumdioxide oder ITO-Oberflächen resistent gegenüber dem *Biofouling* zu machen.[14, 19, 25, 51] Lee et al.[14] synthetisierten ein OEG-terminiertes Alkyltrichlorosilan mit zwei bis drei OEG-Einheiten, um proteinresistente Dünnschichten auf Glas- und Siliciumdioxidoberflächen zu erzeugen. Zu diesem Zweck synthetisierten Hoffmann et al.[118] ein Dimethylmonochloralkylsilan mit drei OEG-Einheiten. PEG-terminierte Silane werden unter anderem für die Herstellung mikrofluidischer Netzwerke,[142] die Passivierung von Metalloxidoberflächen wie ITO,[25] zur Kontrolle des Zellwachstums auf transparenten Mikroelektroden,[143] oxidiertem Silicium[144, 145] und Siliciumnitride[79] sowie auf Au/SiO_2-Strukturen genutzt.[146-148] Neben den OEG- und PEG-Silanen mit Alkylketten als Rückgrat wurden weitere OEG-und PEG-Silane hergestellt, die statt einer reinen Alkylkette eine Urethaneinheit aufweisen.[117, 149] Diese Verbindungen dienen zur Modifizierung von mikrofluidischen Netzwerken[117] und Siliciummembranen.[150] Wasserstoff-terminierte Siliciumoberflächen lassen sich mit OEG-terminierten Alkenen modifizieren.[93, 151]

Ein wesentlicher Vorteil von OEG-terminierten SAMs besteht in der Möglichkeit, die Monolagen nachträglich strukturieren zu können. Dadurch erlauben diese Oberflächen die Steuerung der Proteinadsorption[152] und des lokalen Zellwachstums.[100] Diese nachträgliche Strukturierung ist durch die elektrochemische Erzeugung von Brom[28] oder durch die Photostrukturierung mit UV-Licht möglich.[108, 152]

OEG-Einheiten lassen sich durch elektrochemisch erzeugtes Brom oxidieren und die zellabweisenden Eigenschaften der OEG-terminierten Monolagen werden dadurch aufgehoben. Die Veränderung der chemischen Eigenschaften lässt sich z. B. durch die PFM-CFM mit einer hydrophilen AFM-Messspitze darstellen. Die Messspitze erlaubt es, die Wechselwirkung zwischen hydrophiler intakter OEG-Terminierung und hydrophober Brom-modifizierter Oberfläche darzustellen. Nach der Erzeugung von Brom an einer D-förmigen Softarrayelektrode konnten die OEG-Einheiten einer OEG-terminierten SAM auf Au entfernt und mit dem PFM-CFM charakterisiert werden. Dabei ließ sich im Adhäsionsbild eine D-förmige Struktur erkennen, die eine geringere Adhäsion zur hydrophilen AFM-Spitze aufweist als die intakten umliegenden OEG-SAMs (Abb. 7a). Die hier gezeigten PFM-CFM-Aufnahmen wurden im Rahmen dieser Arbeit aufgenommen und sind ein Bestandteil der Publikation von Lesch et al.[A2] Ein ähnliches Ergebnis konnte mit Hilfe einer Ultramikroelektrode (UME) durch die elektrochemische Erzeugung von Brom an dieser UME erhalten werden (Abb. 7b).[153] Die PFM-CFM-Aufnahmen wurden ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt.

a) b)

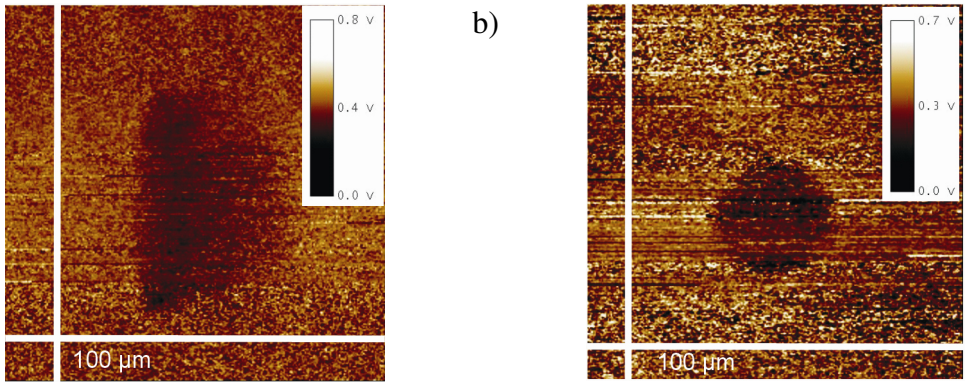


Abb. 7: PFM-CFM-Aufnahmen von OEG-SAMs auf Gold nach der lokalen Oxidation mit Br_2: a) unter Verwendung einer D-förmigen Softarrayelektrode[A2] und b) einer UME.[153]

Ein Problem dieser OEG- und PEG-Verbindungen stellt allerdings deren geringe Stabilität dar. Die meisten OEG-terminierten SAMs aus Thiolen auf Au zeigen unter Zellkulturbedingungen eine zellabweisende Wirkung von 5 bis 7 Tagen.[154, 155] Für

strukturierte Monolagen aus OEG-terminierten Verbindungen lassen sich dagegen nur Stabilitäten von 1 bis 2 Tagen messen.[154, 155] OEG-terminierte Silane sind gegenüber der Einwirkung von Feuchtigkeit instabil und hydrolysieren schnell. Diese geringe Stabilität stellt ein Problem bei Systemen für Langzeitstudien dar. Strulson et al.[156] konnten 2012 ein OEG-Thiol mit einer Amideinheit entwickeln. Dieses Thiol ist analog zur Verbindung **5** (Kap. 4, Tab. 2) aufgebaut, besitzt aber eine C_{11}-Alkylkette statt einer C_3-Kette. Diese Amid-verknüpfte OEG-Thiolverbindung ist bis zu 35 Tage gegenüber der Zelladhäsion stabil und zeigt dabei eine höhere Stabilität als analoge OEG-Thiole ohne Amideinheiten. Dies könnte an der höheren thermischen Stabilität der Amidverknüpfung zwischen OEG- und Alkylkette liegen.[156]

2.3 Oberflächenmodifikationen mit Polymeren

Da die OEG- und PEG-terminierten Monolagen keine dauerhafte Stabilität aufweisen und sich somit für die Verwendungen auf Biochipsystemen als ungeeignet erwiesen, wurde während dieser Arbeit ebenfalls an der Beschichtung mit Polymeren gearbeitet. Mit dem Aufbringen von Polymeren auf Oberflächen wie Glas oder SiO_x lassen sich je nach Art des Polymers hydrophobe oder hydrophile Oberflächen erzeugen,[15] die Zelladhäsion und das *Biofouling* unterdrücken[22] oder begünstigen[157] und die Reibungseigenschaften von Oberflächen verändern.[158] Bei der Modifizierung mit Polymeren können verschiedene Ansätze verfolgt werden. So ist es möglich, Oberflächen durch Beschichten oder Eintauchen in eine Polymerlösung zu modifizieren. Auch Strukturierungen wie Mikrokontaktdrucken (engl. *microcontact printing*, μCP) sind möglich.[15] Dabei wird festes Polydimethylsiloxan (PDMS) als eine Stempelmatrize verwendet und die zu stempelnde Substanz stellt die Tinte dar. Diese Modifikationstechniken werden unter anderem bei der Beschichtung von Glas- oder SiO_x-Oberflächen mit Polymeren wie PDMS (Abb. 8) oder Poly-L-Lysin-*graft*-PEG (PLL-*g*-PEG) angewandt.

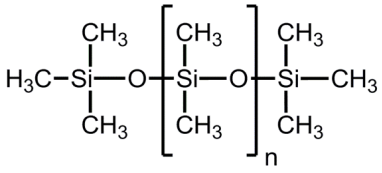


Abb. 8: Strukturformel von Polydimethylsiloxan (PDMS).

PDMS-Oberflächen finden in der Biotechnologie sowie in biomedizinischen Anwendungen eine weite Verbreitung. PDMS wird bei der Herstellung von Mikrobauelementen wie Biosensoren oder Biozellchips verwendet,[159-161] da es kostengünstig, transparent[162] und leicht zu handhaben ist, eine moderate Anforderung an Reinräume stellt und eine gute Biokomptabilität aufweist.[163] Dazu sind PDMS-Oberflächen gasdurchlässig und lassen sich leicht durch Sauerstoffplasma oder UV/O_3 oxidieren.[161] PDMS-Beschichtungen finden Anwendung als Substrate für die Nanostrukturierung von Oberflächen zur Untersuchung von neuronalen Zelldifferenzierung[164] und zur dielektrophoretischen Untersuchung boviner Endothelzellen.[165] PDMS-Oberflächen werden zudem für die Mikrostrukturierung von Hydrogelen[166] und zur Selbstorganisation von Silber-Aminosilikat-Nanokompositen genutzt.[167]

Einen Vorteil von PDMS-Oberflächen stellt auch die einfache Modifizierung nach Oxidation des PDMS mit Silanen[161, 163, 166, 168, 169] sowie die Möglichkeit der Strukturierung mit UV-Licht[170] oder Elektronenstrahlung dar.[171] PDMS-Oberflächen können außerdem mit Au-Filmen beschichtet werden, die anschließend elektrochemisch geätzt werden.[172] Die hohe Hydrophobizität des PDMS ist bei einigen Anwendungen erwünscht und stellt bei anderen Anwendungen ein Problem dar. Einerseits führt die hohe Hydrophobizität dazu, dass Zellen nicht auf PDMS-Strukturen wachsen können.[173] Dies ist zum Beispiel bei der Erzeugung von neuronalen Netzwerken auf SiO_x-haltigen Oberflächen wichtig. Frimat et al.[15] modifizierten Oberflächen mit PDMS, indem sie flüssiges PDMS auf einen festen PDMS-Stempel aufbrachten und anschließend im µCP-Verfahren die Oberflächen stempelten (Abb. 9). Dadurch lassen sich strukturierte Oberflächen erzeugen, die ein gerichtetes Wachstum von Nervenzellen ermöglichen.

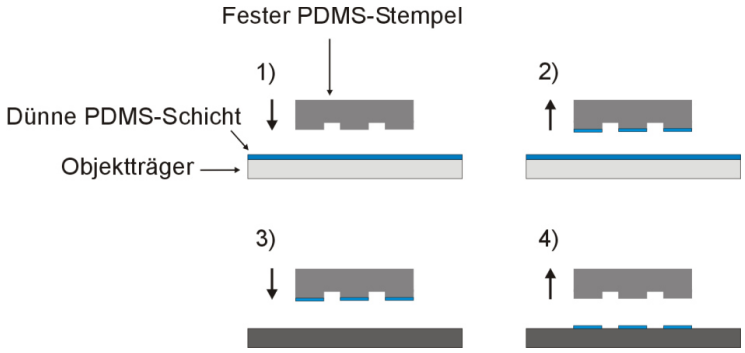


Abb. 9: Mikrokontaktdrucken von flüssigem PDMS nach Ref. [15] 1) Benetzen eines festen PDMS-Stempels durch leichtes Andrücken auf einen mit einer flüssigen PDMS-Schicht beschichteten Objektträger. 2) Entfernen des benetzten Stempels und 3) Andrücken auf ein neues Substrat. 4) Nach Entfernen des PDMS-Stempels und Aushärten bleiben Stempelstrukturen auf dem Substrat zurück.

Andererseits stellt dieser Effekt bei der Kultivierung von Zellen auf PDMS-Oberflächen ein Problem dar[162, 166] und auch die Proteinadsorption wird durch die hohe Hydrophobie nicht verhindert, was eine anschließende Modifizierung mit PEG-Einheiten nötig macht.[163, 174] Eine längere Kultivierung mit Zellen erwies sich daher ebenfalls als schwierig.[162] Um dies zu umgehen, werden die PDMS-Oberflächen zur Adhäsionssteigerung von Zellen mit Silanen modifiziert.[162, 173] Die so modifizierten Oberflächen können dann zur Kultivierung mit Zellen wie z. B. Stammzellen eingesetzt werden.[166] Aus festem PDMS lassen sich auch 3D-Strukturen erzeugen, die das gerichtete Wachstum von Zellen leiten können. Li et al.[23] beobachteten, dass sich neuronale Zellen ab einer senkrechten Wandhöhe von ca. 20 µm durch PDMS-Strukturen separieren ließen. Sie erzeugten 3D-Strukturen aus PDMS und beschichteten diese mit Poly-D-Lysin zur Unterstützung der Zelladhäsion. Die Zellen, die auf den Wänden adhärierten, konnten diese nicht verlassen und wuchsen nur auf den Erhebungen entlang. Zellen in den Zwischenräumen konnten dagegen nur zwischen den Wänden wachsen. Die Breite zwischen den Wänden lag bei 50-300 µm und hatte laut Li et al.[23] keinen Einfluss. Ein ähnlicher Ansatz wurde auch von Baek et al.[157] untersucht. Sie beschichteten ITO-Oberflächen mit Polyethylenimin (PEI) und führten eine Photostrukturierung mit UV-Licht und einer Schattenmaske durch. Das bestrahlte PEI wurde dabei von der ITO-Oberfläche entfernt. Neuronale Zellen konnten auf den nicht bestrahlten PEI-Strukturen entlang wachsen, während die ITO-Oberflächen nicht bewachsen wurden.

Neben dem Polymer PDMS wurde auch das Polymer PLL-*g*-PEG für die Beschichtungen von SiO_x-haltigen Oberflächen verwendet (Abb. 10). Diese Verbindung ist ein Mitglied der Familie der polykationischen Copolymere und besteht aus einem Poly-L-Lysin-Rückgrat mit inerten Seitenketten aus PEG-Einheiten.[17, 175]

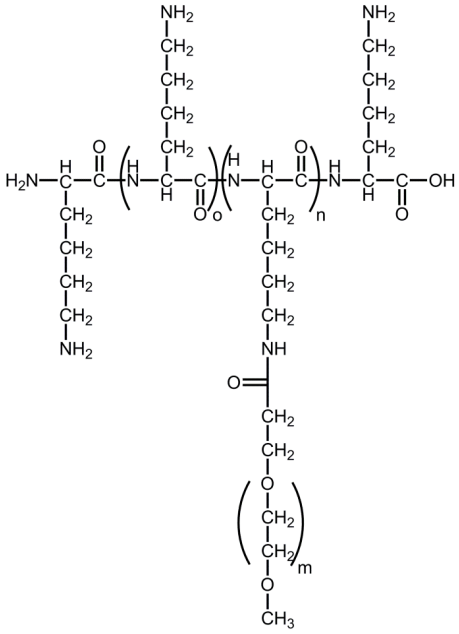


Abb. 10: Darstellung des verwendeten polykationischen Copolymers Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylenglycol.[175]

PLL-*g*-PEG lässt sich mittels µCP oder durch Eintauchen in eine Lösung des Polymers auf Oberflächen wie Glas, Polystyrol, TiO_2, SiO_2, Nb_2O_5 oder andere Metalloxidoberflächen aufbringen[22, 176] und adsorbiert schnell und fest bei physiologischen pH-Werten durch die elektrostatische Wechselwirkung der NH_3^+-Einheiten mit negativgeladenen Oberflächen (Abb. 11).[175, 177] Durch die Bindung von PEG-Einheiten an die NH_2-Gruppen des Poly-L-Lysins entstehen dabei hydrophile, flexible, bürstenartige PEG-Seitenketten (Abb. 11).[17]

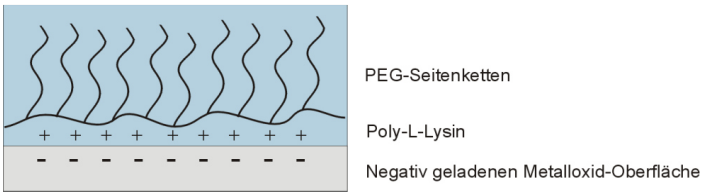


Abb. 11: Schematische Darstellung der Adsorption von PLL-*g*-PEG auf negativ geladenen Metalloxidoberflächen bei pH-Werten größer als 2.0 durch elektrostatische Wechselwirkungen des positiv geladenen PLL-Rückgrates und der Oberfläche. Die PEG-Seitenketten ragen bürstenartig von der Oberfläche weg. Adaptiert von Ref. [177].

PLL-*g*-PEG besitzt eine gut bekannte Toxizität,[175] eine hohe Stabilität gegenüber hohen Ionenkonzentrationen[178] und reduziert die Reibungskräfte auf Metalloxiden sowie auf SiC- und Si_3N_4-Keramiken.[177, 179] Es kommt zur Erzeugung von Gradientenoberflächen zum Einsatz[176] und weist eine hohe proteinabweisende Wirkung auf,[21] die von der Dichte der PEG-Einheiten an der Oberfläche abhängig ist.[180] Der Aufbau des Copolymers und die adsorbierte Masse auf der Oberfläche bestimmen dabei die Dichte der OEG-Einheiten an der Oberfläche.[21, 180, 181] Mit PLL-*g*-PEG lassen sich Oberflächen erzeugen, die Anwendung in Bioassays oder in biomedizinischen Geräten finden.[177] Durch Derivatisierung der PEG-Kette an der ω-Position können PLL-*g*-PEG-Beschichtungen modifiziert werden.[176] Biotin oder Peptide lassen sich an die Oberfläche anbinden[16, 181] und diese Oberflächen können dann zur Immobilisierung von Enzymen auf Sensorchips verwendet werden.[182] Neben der Möglichkeit, Metalloxide zu beschichten, kann PLL-*g*-PEG auch zur Modifizierung von oxidiertem PDMS[17] und zur Nano- und Mikrostrukturierung verwendet werden.[183] Bei der Verringerung der Reibungskräfte spielen sowohl die Länge der PEG-Einheiten als auch das Verhältnis des L-Lysin-Monomers zu PEG-Einheiten eine Rolle.[184] Eine Abnahme der Reibungskraft lässt sich bei einer Zunahme der PEG-Länge sowie einer Abnahme des Verhältnisses des L-Lysin-Monomers zu PEG-Einheiten beobachten.[184] Eine anschließende Strukturierung durch UV-Licht[185] oder durch Plasma-Oxidation ist ebenfalls möglich.[186] Hardelauf et al.[186] gelang es, durch die Oxidation von PLL-*g*-PEG-Beschichtungen mit Sauerstoffplasma und einer PDMS-Maske sehr feine Netzwerke aus neuronalen Zellen zu erzeugen.

Eine weitere Möglichkeit, Polymere auf Oberflächen zu binden, ist die Erzeugung von sogenannten Polymerbürsten (engl. *polymer brushes*). Dabei werden sehr dünne

Polymerfilme erzeugt. Die Polymerketten binden mit einem Kettenende direkt an die Oberfläche. Die kovalente Anbindung der polymeren Bürsten lässt sich durch verschiedene Ansätze wie durch das *Grafting-To* und durch das *Grafting-From* erreichen (Abb. 12).

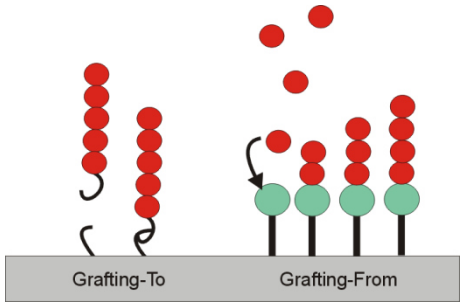


Abb. 12: Ansätze zur Ausbildung von Polymerbürsten adaptiert nach Ref. [187].

Bei *Grafting-To*-Verfahren wird ein vorher synthetisiertes Polymer auf die Oberfläche aufgebracht.[188, 189] Es kommt zu einer Physisorption oder Chemisorption des Polymers. Bei diesem Ansatz besteht ein Problem darin, dicke und dichte Polymerfilme zu erzeugen. Beim *Grafting-From* wird das Wachstum der Polymerbürsten direkt an der vorher mit einem Initiator modifizierten Oberfläche gestartet. Vor allem kontrollierte/„lebende“ Polymerisationstechniken sind hierfür gut geeignet. Dieser Ansatz bietet eine gute Kontrolle der Filmdicke, der Zusammensetzung und der Struktur der Polymerschichten. Die Polymerbürsten lassen sich durch die oberflächen-initialisierte kontrollierte Radikalpolymerisation (engl. *surface-initiated controlled radical polymerization*, SI-CRP) erzeugen. Es lassen sich als Haupttechniken die Atomtransfer-Radikalpolymerisation (engl. *surface-initiated atom transfer radical polymerization,* SI-ATRP), die reversible Additions-Fragmentierungs-Kettenpolymerisation (engl. *surface-initiated reversible-addition fragmentation chain transfer polymerization,* SI-RAFT), die Nitroxid-vermittelte Radikalpolymerisation (engl. *surface-initiated nitroxide-mediated polymerization,* SI-NMP) und die Photoiniferter-vermittelte Polymerisation (engl. *surface-initiated photoiniferter-mediated polymerization,* SI-PIMP) nutzen. Hierzu ist ein großer Übersichtartikel von Barbey et al.[187] über die Modifizierung, Strukturierung und Anwendung solcher Polymerbürsten verfügbar.

Polymerbürsten finden bei der Passivierung von Siliciumoberflächen durch die Click-Chemie,[190] bei der Erzeugung zwitterionischer Polymerbürsten-Beschichtungen auf Si_3N_4 als Beispiel für das *Grafting-From*-Verfahren und bei der Modifizierung von Silikat-Nanokapillaren Anwendung.[190-192] Außerdem finden Polymere mit OEG- oder PEG-Terminierung, wie z. B. PEG-block-poly(4-vinylpyrdidin)diblock-Copolymer,[193] ultradünne PEG-terminierte Polymerfilme oder PEG-terminierte Polymerbürsten Einsatz zur Steuerung der Proteinadsorption und Zelladhäsion[194-196] auf bioselektiven Oberflächen[195] und in Silicium-basierten Mikrobauteilen.[194] Wischerhoff et al.[18] entwickelten PEG-terminierte thermosensitive Polymere, die bei Temperaturen von 25 °C zellabweisend wirken und bei Temperaturen von 37 °C die Zelladhäsion unterstützen.

In dieser Arbeit wurden die Beschichtungen mit den Polymeren PDMS und PLL-*g*-PEG aufgrund der in der Literatur vermuteten zellabweisenden Eigenschaften untersucht, um die Anwendung auf den Biochip des Projektpartners zu testen.

2.4 Laterale Strukturierung von organischen Dünnschichten für Biochips

2.4.1 Parallele Verfahren

Zu den parallelen Verfahren lassen sich die Photolithographie und die Softlithographie zählen. Diese Techniken erlauben das parallele Strukturieren von Oberflächen unter Verwendung von UV-Licht in Kombination mit Photomasken bzw. durch Verwendung von Stempelmatrizen. Die Photolithographie wird bei der Strukturierung von festen, anorganischen Oberflächen verwendet,[90] da sich nicht bestrahlte Bereiche von der Oberfläche entfernen lassen, während die bestrahlten Bereiche durch das UV-Licht untereinander vernetzen und aushärten.[193] Sie findet Verwendung in der Aktivierung von Oberflächen für Zelladhäsionsuntersuchungen,[157, 197] zur Erzeugung von Mikrostrukturen aus Polymeren auf Silicium- oder Glasoberflächen[198] oder zur Kontrolle der Proteinadsorption und anschließender Zelladhäsion.[193] Neben Polymeren lassen sich auch SAM-Systeme mit der Photolithographie strukturieren. So lassen sich SAMs aus Alkanthiolen auf Au mustern, um Zellen zu immobilisieren[26] oder Gradienten auf solchen Systemen erzeugen.[27] Photolithographie eignet sich auch zur

Strukturierung von PEG-Silan-beschichteten ITO-Oberflächen, um zwei verschiedene Zellarten auf einem Substrat zu adhärieren.[25]

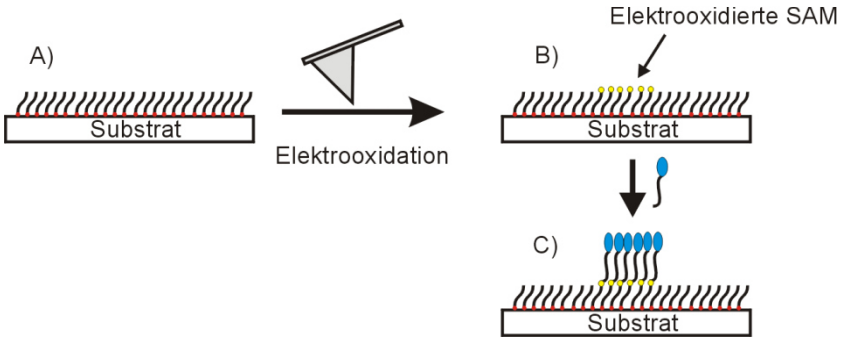
Als Softlithographie[24] lassen sich alle Techniken zusammenfassen, bei denen ein Stempel, meist aus festem PDMS, sowie eine Tintenlösung aus SAM-bildenden Molekülen oder flüssigen Oligomeren verwendet werden. Mit diesen Techniken können unter anderem gemusterte Oberflächen aus SAMs aus Alkanthiolen auf Au zur Steuerung der Zelladhäsion erzeugt werden.[24, 154, 199] Daneben ist es ebenfalls möglich, Oberflächen mit Polymeren wie PDMS[15] oder PEG-Dimethylacrylate[200] zu strukturieren. Weiterhin können Proteine[201, 202] auf Glasoberflächen oder Polymere auf dünne Polymerfilme[203] gestempelt werden. Mit mikrofluidischen Netzwerken aus PDMS-Stempeln lassen sich Strukturen mit unterschiedlichen Funktionalitäten auf einer Oberfläche erzeugen. Noch komplexere Strukturen sind unter Verwendung von 3D-mikrofluidischen Netzwerken zugänglich.[204]

2.4.2 Ortsgerichtete, sondeninduzierte Verfahren

Strukturierung durch Rastersondenmikrokopie-Verfahren

Mit Hilfe der Rastersondenmikroskopie ist es möglich, Oberflächen zu modifizieren bzw. zu strukturieren.[112, 205] Diese Art der Strukturierung wird als Rastersondenlithographie bezeichnet und erlaubt die Oberflächenmusterungen im Bereich von wenigen Nanometern. Bereits 1993 konnten Ross et al.[206] mit Rastertunnelmikroskopen (engl. *scanning tunneling microscope*, STM) Alkanthiole auf Au-Oberflächen strukturieren. Es kann dabei zwischen additiver und subtraktiver Lithographie unterschieden werden. Zu den additiven Verfahren lassen sich die konstruktive Nanolithographie (Abb. 13a) und die Dip-Pen-Nanolithographie (DPN, Abb. 13b) zählen. Diese Verfahren zerstören die Dünnschichten nicht. Bei den subtraktiven Verfahren werden dagegen vorhandene Monolagen und Oberflächenstrukturen zunächst entfernt und *in-situ* gegen andere Verbindungen ausgetauscht.

a)



b)

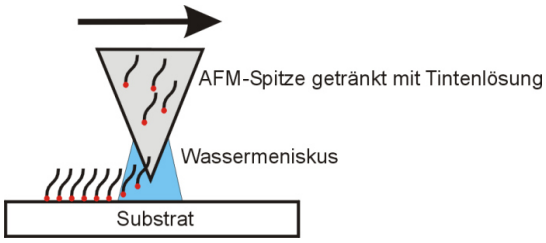


Abb. 13: Schematische Darstellung der additiven Lithographieverfahren: a) konstruktive Nanolithographie: A) SAM-Bildung. B) Elektrooxidation einer SAM durch Anlegen einer Spannung an eine AFM-Spitze. C) SAM-Bildung einer zweiten Substanz auf der elektrooxidierten Oberfläche. Adaptiert nach Ref. [207]. b) DPN-Verfahren adaptiert nach Ref. [81].

Eine der ersten Arbeiten der Rastersondenlithographie auf Siliciumoberflächen wurde von Sugimura et al.[208] erstellt. Durch lokale anodische Oxidation einer Si-H-Oberfläche zu SiO_2 mit Hilfe einer STM-Spitze erzeugten sie in Anwesenheit eines Organosilan-Dampfes Strukturen von Monolagen von 20 nm auf den SiO_2-Bereichen. Des Weiteren gelang es ihnen, durch Anlegen einer Vorspannung an die Messspitze Teile von SAMs zu entfernen und diese Lücken anschließend wieder mit einer anderen funktionalisierten Verbindung zu befüllen.[209, 210] Durch diese subtraktive Technik lassen sich unter anderem OTS-SAMs auf SiO_x-Oberflächen zunächst entfernen und die Lücken anschließend durch stromlose Abscheidung von Gold wieder füllen.[210] Brooksby et al.[205] gelang mit der subtraktiven Rastersondenlithographie die Strukturierung flacher Kohlenstoffoberflächen im Nanometerbereich. Dazu wurde ein Film elektrochemisch auf eine Kohlenstoffoberfläche abgeschieden und mit Hilfe des AFMs wieder entfernt. Inoue et al.[211] beschrieben die Strukturierung mit der Feld-induzierten Oxidation mit Hilfe eines leitfähigen Cantilevers. Hierbei wurden Hydroxidgruppen von der Oberfläche entfernt. Dies führte zur Unterdrückung der SAM-Ausbildung. Dadurch ließen sich Strukturen von 22 nm in lateraler Ausdehnung erzeugen.

Bei der konstruktiven Nanolithographie werden leitfähige AFM-Cantilever zur zerstörungsfreien Strukturierung genutzt. Dabei wird unter ambienten Bedingungen gearbeitet und es folgt eine schablonengesteuerte Ausbildung von Monolagen.[81] Sagiv et al.[212] konnten durch die konstruktive Nanolithographie unter Nutzung eines leitfähigen AFM-Cantilevers zunächst CH_3-terminierte OTS-SAMs und vinylterminierte SAMs elektrooxidieren. Dadurch ließen sich unter anderem selbstorganisierte Metallinseln[104, 212] und Nanopartikel erzeugen.[207] Ähnliche Verfahren der lokalen Oxidation von Monolagen wurden für die Funktionalisierung von SAM auf Bor-dotiertem Diamantelektroden,[213] zur Reduktion von Alkylazid-SAM[214] und zur Strukturierung von Ag auf OTS-SAMs auf Si verwendet.[215] Paxton et al.[216] konnten mit einer Cu-beschichteten AFM-Spitze unter Nutzung der konstruktiven Nanolithographie Click-Chemie an Azid-terminierten Si-Oberflächen durchführen.

Die Dip-Pen-Nanolithographie (DPN) stellt eine weitere Methode der additiven Oberflächenmusterung mittels Rasterkraftmikroskopie dar.[217, 218] Bei dieser Technik werden AFM-Spitzen mit einer Tinte aus oberflächenaktiven Substanzen benetzt.[218] Über einen Wassermeniskus zwischen der AFM-Spitze und der zu modifizierenden Oberfläche kommt es zur Übertragung der Moleküle durch den Film zur Oberfläche hin.[218] Mit dieser Technik konnten unter anderem Thiolmoleküle auf Au-Oberflächen,[219, 220] Zellen auf Amin-terminiertem SiO_x[221] und Polymere auf SiO_x[222] und Si(100) adsorbiert werden.[223] Diese Technik erlaubte die Erzeugung von Nanodrähten,[224] von Nanopartikel-[225] und Proteinarrays[226] und Nanoarrays für die Zelladhäsionsuntersuchungen.[227] Mit der DPN ließen sich mit Alkoxysilanlösungen als Tinten Linien auf SiO_2 strukturieren.[228] Postfunktionalisierungen wie Click-Chemie konnten ebenfalls mit DPN realisiert werden. Long et al.[229] tauchten dafür eine AFM-Spitze in eine Lösung aus einem Azid-derivatisiertem Dendron, Kuper(I)iodid und Diisopropylethylamin in Acetronitril und konnten mit dieser Spitze eine vorher mit Acetylen terminierte Siliciumoberfläche mittels Click-Chemie modifizieren. Ivanisevic et al.[230] konnten durch Hexamethyldisilazan-Tinten auf SiO_x-Strukturen im Bereich von kleiner 100 nm in lateraler Ausdehnung erzeugen.

Strukturierung durch elektrochemische Rastermikroskopie

Die elektrochemische Rastermikroskopie (engl. *scanning electrochemical microscopy,* SECM) erlaubt die Strukturierung von Dünnschichten durch Verwendung einer Ultramikroelektrode (UME). Durch diese Methode lassen sich sondeninduzierte Oberflächenmodifikationen erreichen. Es lassen sich Polymere wie Poly-*N*-Succinimidylacrylate an leitfähige Oberflächen anbinden,[231] durch die Erzeugung lokaler pH-Gradienten Chitosan abscheiden,[232] oberflächengebundes 4-Nitrophenol reduzieren[233] oder Br_2 an der UME generieren. Die Brom-Erzeugung wird beim Ätzen von Halbleitern,[234] bei der Abscheidung von Polymeren,[235] bei der Umwandlung von zellabweisenden Proteinoberflächen in zelladhäsiven Proteinoberflächen[236] oder dem Entfernen von OEG-Einheiten aus OEG-terminieren SAMs verwendet.[28][A2] Beim Entfernen der protein- und zellabweisenden OEG-Einheiten von Au-Oberflächen wird lokal Br_2/HOBr generiert, welches schnell die OEG-Einheiten abbaut (Abb.14).[28]

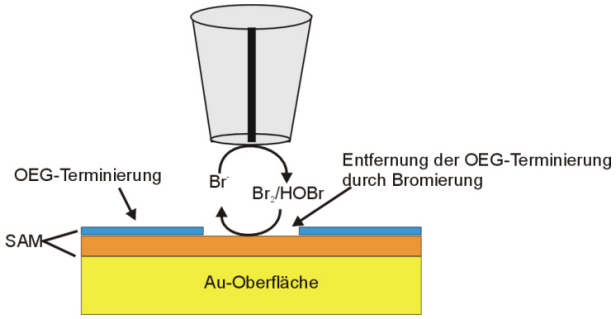


Abb. 14: Schematische Darstellung der Modifikation einer OEG-SAM auf Gold durch die elektrochemische Erzeugung von Br_2/HOBr an einer UME, um OEG-Einheiten von der Oberfläche lokal zu entfernen. Adaptiert nach Ref. [28, 90].

Die modifizierte Schicht ist im Gegensatz zur unbehandelten SAM permeabel für kleine Moleküle und erlaubt daher Aufnahmen im Feedback-Mode des SECMs. Zelladhäsion kann nun an den so modifizierten Strukturen stattfinden.[28]

Auch andere Verbindungen lassen sich durch SECM lokal an der UME erzeugen. Valenti et al.[237] konnten Fluorwasserstoff durch eine pH-Verschiebung generieren und mit dieser erzeugten HF SiO_2-Oberflächen ätzen. Nachträgliche Oberflächen-modifikationen über die Aktivierung von Aryldiazoniumsalzen[238] sind ebenso möglich wie die sondeninduzierte Freigabe von katalytischen Metallionen für Click-Chemie-Modifikationen.[105] Kanoufi et al.[239, 240] gelang es mit Hilfe von SECM Atomtransfer-

Radikalpolymerisationen (ATRP) von Nanostrukturen[239] sowie die Reduktion von Poly(tetrafluorethylen) durchzuführen.[240]

2.4.3 Parallelisierte sondeninduzierte Verfahren

Parallelisierte sondeninduzierte Verfahren erlauben die gleichzeitige Strukturierung und Charaktersierung von Oberflächen unter Nutzung von Sondenarraychips. Eine der ersten Arbeiten war die Entwicklung des Millipedes von Vettiger et al.[241] im Jahre 2000 als neues, AFM-basiertes Konzept zur Datensicherung. Dabei wurde ein Cantileverarraychip aus 32 × 32 (1024) einzelnen Cantilevern erzeugt, der aufgrund der Parallelisierung eine hohe Datensicherungsrate erlaubt. Das 2D-Array rasterte über ein polymeres Speichermedium und erzeugte so ein 32 × 32 (1024)-Speicherfeld auf dem Polymersubstrat.[241] Daneben lässt sich auch die DPN parallelisieren. Hong und Mirkin[242] stellten 2000 ein Funktionsmuster für die Nutzung eines Acht-Stift-Nanoplotters vor, welcher es ihnen erlaubte, parallel Au-Oberflächen mit einer Thioltinte zu strukturieren. Das Konzept wurde von Salaita et al.[243] unter Nutzung eines 2D-Array aus bis zu 55000 Cantilevern weiterentwickelt. Durch die parallelen DPN-Verfahren lassen sich auch sehr schnell Protein-Nanoarrays auf der Basis von Thiolmonolagen auf Au erzeugen.[244]

Die Arbeit von Wang und Liu[245] beschreibt eine andere Art der parallelen Verfahren der Oberflächenmodifizierung und Charakterisierung. Sie nutzten ein multifunktionales Sondenarray zur Nanostrukturierung und Bilddarstellung der Strukturierung. Das Sondenarray bestand dabei aus einer Vielzahl von Cantilevermessspitzen, die jede einzeln adressiert werden konnte. Die Cantilever unterschieden sich dabei in ihrer Anwendung. So erlaubte das Array zunächst die Strukturierung mit Hilfe der DPN- und Rasterkraftkontaktdruck-Techniken sowie die anschließende AFM-Untersuchung der strukturierten Oberfläche mit den eingebauten Kontaktmodus-Cantilevern.[245]

Lesch et al.[246][A2] gelang die Entwicklung eines Elektrodenarrays aus flexiblen Mikroelektroden. Dabei handelte es sich um eine lineare Anordnung aus acht einzeln adressierbaren Mikroelektroden aus Kohlenstoff mit einer Parylen C-Beschichtung. Dieses Array ermöglichte unter anderem die elektrochemische Erzeugung von Brom und die Modifizierung von OEG-SAM[A2] sowie die schnelle elektrochemische Untersuchung von unebenen Probenoberflächen.[246]

2.4.4 Anwendung von Oberflächenmodifikationen zur Steuerung des Zellwachstums

Wie bereits in den Kapiteln 2.2 und 2.3 erwähnt, lassen sich Funktionsmaterialien wie SiO_x, Au oder metallische Oberflächen mit OEG- und PEG-Terminierungen oder Polymeren beschichten, um die Proteinadsorption und das Zellwachstum auf diesen Funktionsmaterialien zu kontrollieren und lokal zu steuern. Bei der Strukturierung ist es wichtig, dass die erzeugten Strukturen nicht zu klein werden und diese eine Mindestgröße nicht unterschreiten, da es sonst zum Zelltod kommt.[199]

Durch Strukturierungstechniken wie µCP lassen sich Oberflächen für die Steuerung der Proteinadsorption und des Zellwachstums strukturieren.[19, 156] Daneben haben Mrkisch und Yousaf[106] die *dynamische Oberflächen-Stimuli* eingeführt. Durch die Strukturierung von chemisch schaltbaren Oberflächen lassen sich Strukturierungen der Oberflächen während des Zellwachstums *in-vitro* erzeugen. Dadurch ergibt sich unter anderem die Möglichkeit, unterschiedliche Zellarten auf einem Substrat zu kultivieren[107] oder die Migration von Zellen zu steuern.[100] Bhatita et al.[247] nutzten zur Erzeugung solcher mikrostrukturierten Co-Kultivierungsoberflächen Photolithographie-Techniken, während Yousaf et al.[107] µCP-Techniken zur Strukturierung von Au-Oberflächen heranzogen. Dazu wurden CH_3-terminierte Alkanthiole auf die Oberfläche gestempelt und die Zwischenräume mit einer Mischung aus OEG- und Hydrochinon-terminierten Thiolen aufgefüllt. Die erste Zellkultur adhärierte auf den CH_3-terminierten Strukturen. Nach der elektrochemischen Oxidation der Hydrochinon-Verbindungen und der anschließenden Bindung eines RGD-Peptides war es möglich, eine weitere Zellkultur auf die Oberfläche zu adhärieren.[107]

Sondeninduzierte Strukturierungen von Oberflächen können auch zur Kultivierung zweier unterschiedlicher Zellkulturen verwendet werden. Kaji et al.[248] gelang die Kultivierung von zwei verschiedenen HeLa-Zellkulturen auf einer mit Albumin beschichteten Oberfläche durch die lokale Erzeugung von Br_2/HOBr.[248] Zhao et al.[13, 28] konnten durch SECM-Modifikationen von OEG-SAM auf Au zeigen, dass sich die Adhäsion von marinen Bakterien steuern ließ[13] und die räumlich getrennte Adhäsion zweier unterschiedlich gefärbter Fibroblasten nacheinander möglich war.[28] Dazu wurden zunächst grüngefärbte Fibroblasten lokal auf eine durch SECM modifizierte OEG-SAM aufgebracht. Anschließend wurde eine weitere SECM-Modifikation

durchgeführt, die die Adhäsion einer rot eingefärbten Fibroblastenkultur auf die Oberfläche erlaubte.[28]

Die Untersuchung und Kontrolle von Zellmigrationen erfordert die Veränderung der Oberflächeneigenschaften an einer voreingestellten Position und für definierte Zeiten.[90] Kaji et al.[248] kultivierten dafür HeLa-Zellen auf einer modifizierten Glasoberfläche. Die Zellen waren von einer Rinderalbumin-Schicht (engl. *bovine serum albumin*, BSA) umgegeben. Dieses BSA ließ sich durch Br_2/HOBr lokal oxidieren und die Autoren konnten dadurch eine neue zell-adhäsive Oberfläche in der Nähe der vorher aufgebrachten HeLa-Zellen erzeugen.[248] Es wurden keine zusätzlichen Zellkulturen auf die Oberfläche aufgebracht. Die Strukturen wurden nun innerhalb 24 h von den bereits auf der Oberfläche adhärierten Zellen bewachsen. Sekine et al.[249] konnten diese Funktionsweise auf einen Biochip übertragen, indem sie integrierte Elektroden zur Umwandlung von zellabweisende in zelladhäsive Oberflächenbeschichtungen nutzen. Raghavan et al.[100] nutzten für ihre Zellmigrationsuntersuchungen dreifach funktionalisierte Au-Oberflächen. Die Zellen wurden auf COOH-terminierten Bereichen angesiedelt, an denen Strukturen aus OEG-terminierten Thiolen grenzten. Nach der elektrochemische Oxidation der OEG-Einheiten konnten die Zellen auf diese Strukturen migrieren.[100]

3. Charakterisierungsmethoden

3.1 Röntgenphotoelektronenspektroskopie

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl. *X-ray photoelectron spectroscopy*, XPS) ist eine atomare Spektroskopietechnik, die es erlaubt, Informationen über die atomaren und molekularen Eigenschaften von Oberflächen zu erhalten.[250] Diese Messmethode wird auch Elektronenspektroskopie für die chemische Analyse (ESCA) genannt. Die Technik wurde in den 1960er Jahren von Siegbahn entwickelt, der dafür 1981 den Nobelpreis erhielt.[250]

3.1.1 Physikalische Grundlagen

Die Grundlage der XPS-Messungen ist der photoelektrische Effekt.[251] Durch die Anregung von festen Materialoberflächen mit Hilfe von weicher Röntgenstrahlung kommt es zur Emission eines Elektrons (auch Photoionisation genannt) aus den Rumpfniveaus der vorhandenen Elemente. Verlässt das angeregte Elektron das Material oberflächennah, so spricht man von der Photoemission. Die Energie dieser Photoelektronen wird analysiert. Als Strahlenquellen werden häufig Mg Kα- und Al Kα-Quellen verwendet, da sie schmale Röntgenlinien besitzen. Bei Mg Kα-Strahlung beträgt die Halbwertsbreite 0.7 eV bei einer Photonenenergie von 1253.6 eV und bei Al Kα-Strahlung liegt die Halbwertsbreite bei 0.85 eV bei einer Photonenenergie von 1486.6 eV. Daneben kommt auch die Synchroton-Strahlung als Anregungsquelle zum Einsatz.[251]

Im einfachsten Fall (Koopmann Theorem) kann die Photoelektronenemission als Einteilchenanregung angesehen werden, wobei die elektronische Struktur der Atome oder Moleküle unverändert bleibt.[252]

Dann gilt für elektrisch leitende Oberflächen:

$$E_{Kin} = h\nu - E_B^F - \Phi_{sp} \qquad (1)$$

wobei E_{Kin} für die gemessene kinetische Energie des emittierten Elektrons, $h\nu$ für die Energie des Röntgenphotons, E_B^F für die Bindungsenergie (E_B) relativ zum Fermi-Niveau (E_F) der Oberfläche (definiert als $E_F = 0$) und für Φ_{sp} die Austrittsarbeit des Spektrometers steht.[251]

Da Isolatoren keine gut-definierten Fermi-Niveaus besitzen und nicht im elektrischen Kontakt mit dem Spektrometer gebracht werden können, muss die Gleichung angepasst werden und es gilt:

$$E_{Kin} = h\nu - E_B - \Phi \tag{2}$$

wobei in Φ die Unsicherheiten wie Aufladungseffekte enthalten sind.

Sind die Aufladungseffekte homogen, so lassen sich diese durch Kalibrierungen kompensieren. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung einer *Flood-Gun*, da bei den XPS-Messungen von Isolatoren hauptsachlich positive Aufladungen durch die Photoelektronen entstehen. Dieses Gerät emittiert Elektronen mit niedriger Energie, um die Aufladung zu kompensieren.[251]

Neben der Identifizierung der Elemente durch die XPS-Messung ist es auch möglich, die effektive Ladungsverteilung am Ort des Elements zu messen. Für die effektive Bindungsenergie ($E_{B,eff}$) gilt:[252]

$$E_{B,eff} = E_B(Atom) + \Delta E_{chem} + \Delta E_{Mad} + \Delta E_{r,int} + \Delta E_{r,ext} \tag{3}$$

Die statischen Effekte, die die Energie des Grundzustands beeinflussen, werden durch die chemische Verschiebung ΔE_{chem} und dem Madelungterm ΔE_{Mad}, der nur in Ionenkristallen auftritt, beschrieben. Die Relaxationseffekte $\Delta E_{\mathrm{r,int}} + \Delta E_{\mathrm{r,ext}}$ werden dagegen durch die dynamischen Prozesse, die die energetische Lage des Endzustands verändern, beeinflusst und umfassen die Vielteilcheneffekte. Durch ΔE_{chem} lassen sich die effektiven Ladungen des Atoms und der Einfluss der Nachbaratome in der Nähe bestimmen. Dabei nimmt ΔE_{chem} zu, je mehr Aussenelektronen durch die benachbarten Atome angezogen werden. Es kommt zur effektiven Erhöhung der Bindungsenergie der tiefer liegenden Rumpfelektronen, da die effektive Kernladungszahl beim Entfernen der Valenzelektronen erhöht wird.

Neben der Röntgenfluoreszenz tritt auch der Auger-Prozess in XPS-Messungen auf. Dabei hinterlässt das emittierte Elektron ein Loch, welches durch ein weiteres Elektron aus einem äußeren Orbital aufgefüllt wird. Die freiwerdende Energie führt nun entweder zur Röntgenfluoreszenz oder zur Emission eines zweiten Elektrons beim Auger-Effekt. Daher lassen sich in XP-Spektren auch Auger-Linien beobachten.

Daneben lassen sich *Shake-up*- und *Shake-off*-Satelliten in den Spektren finden. Sie sind bei niedrigeren kinetischen Energien relativ zum Primärpeak lokalisiert. Dabei handelt es sich um Zweielektronenprozesse, bei denen neben der Emission des Photoelektrons ein weiteres Elektron auf Kosten der kinetischen Energie des Photoelektrons angeregt wird.[252] Während beim *Shake-up*-Prozess das zweite Elektron weiter gebunden bleibt, kommt es beim *Shake-off*-Prozess zur Emission des zweiten angeregten Elektrons.[252]

Die *Spin-Bahn*-Kopplung beeinflusst die Dublett-Aufspaltung in XP-Spektren. Das emittierte Elektron kann entweder mit einer günstigeren Gesamtdrehimpuls ($j = l-s$)-Kopplung oder einer ungünstigeren Gesamtdrehimpuls-Kopplung von $j = l+s$ emittieren. Dies führt dann zu niedrigeren oder höheren kinetischen Energien. Die *Spin-Bahn*-Kopplung bezieht sich dabei auf den Anfangszustand. Unterschiede in den Peakflächen werden durch die Häufigkeit $2j+1$ des Kopplungszustands bestimmt.[252]

In XP-Spektren treten auch Multiplett-Aufspaltungen auf, da Photoemissionsspektren nur Zustände zeigen bei denen ein Elektron fehlt. Grund dafür ist die *Spin-Spin*-Kopplung der Elektronen. Das emittierte Elektron hinterlässt ein Loch, welches mit anderen ungepaarten Elektronen koppeln kann. Die durch Relaxation entstandenen Energiebeiträge werden durch das emittierte Elektron aufgenommen, was zur Aufspaltung in den XP-Spektren führt. Des Weiteren können Energieverluste durch Plasmonenanregungen in XP-Spektren beobachtet werden.

3.1.2 Oberflächensensitivität

Bei XPS-Messungen verlassen nur oberflächennahe Elektronen den Festkörper mit ihrer ursprünglichen Energie und tragen somit zu den Peaks im Spektrum bei. Dabei sind die Ursprungstiefe sowie die Dämpfung der Elektronen beim Transport durch das Probenmaterial wichtige Größen. Zunächst hielt man nur die inelastische Streuung für die Dämpfung der Elektronen verantwortlich und man nahm an, dass diese dem Lambert-Beerschen Gesetz unterliegt:[251]

$$I_z = I_0 \, e^{-z/\lambda \sin\theta} \tag{4}$$

I_z entspricht der Intensität der Elektronen aus der Tiefe z. I_0 ist die Intensität der Oberflächenatome und θ ist der Elektronen-*Take-off*-Winkel (zur Oberflächenebene). λ entspricht der inelastischen, mittleren, freien Weglänge der Elektronen (engl. *electron inelastic mean free path*, IMFP). Dabei handelt es sich um die zurückgelegte,

durchschnittliche Distanz zwischen den unelastischen Kollisionen eines Elektrons einer bestimmten Energie mit Elektronen der Probenatome (Abb. 15).

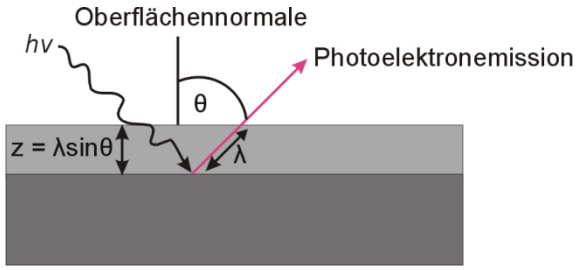


Abb. 15: Schematische Darstellung einer XPS-Oberflächenanalyse.

Für Proben mit einer Deckschicht aus Material A auf einem Substrat auf Material B gilt, wenn beide homogen sind:[251]

$$I_A = I_A^{\infty}(1 - e^{-d/\lambda_A sin\theta}) \quad (5)$$

und

$$I_B = I_B^{\infty}\, e^{-d/\lambda_B sin\theta} \quad (6)$$

I_A und I_B stellen die gemessenen Intensitäten dar. I_A^{∞} und I_B^{∞} sind die Intensitäten für den Bulk A und B, gemessen bei gleichen Bedingungen. λ_A und λ_B sind die IMFPs der Kernelektronen von A und B, die durch Material A wandern.

Da aber auch die elastische Streuung für den Transport der Elektronen wichtig ist, führt dies zu signifikant größeren λ-Werten (auch Dämpfungslängen genannt). Die Abschwächung der Elektronen in Festkörpern verhält sich somit nicht exponentiell und die Dämpfungslängen sind von der experimentellen Geometrie abhängig. Aus diesem Grund ist es besser die effektiven Dämpfungslängen in die Gleichungen 5 und 6 einzusetzen. Auch sind die zu vermessenden Proben in der Regel von heterogener Natur, so dass die vereinfachten Gleichungen 5 und 6 zu großen Fehlern in der Quantifizierung von inhomogenen Proben führen.[251]

3.1.3 Quantifizierung von XP-Spektren

Durch die Intensität der Signale im XP-Spektrum kann auf die relative Zusammensetzung der Probe geschlossen werden, da die Zahl der emittierten Photoelektronen proportional zur Anzahl der Rumpfniveauelektronen ist. Für homogene Proben gilt:[253]

$$I = \sigma \cdot y \cdot n \cdot \lambda \cdot \theta \cdot A \cdot f \cdot T \tag{7}$$

und für die relativen Intensitäten gilt:

$$\frac{I_1}{I_2} = \frac{\sigma_1 \cdot y_1 \cdot n_1 \cdot \lambda_1 \cdot \theta_1 \cdot A_1 \cdot f_1 \cdot T_1}{\sigma_2 \cdot y_2 \cdot n_2 \cdot \lambda_2 \cdot \theta_2 \cdot A_2 \cdot f_2 \cdot T_2} \tag{8}$$

mit Intensität I, photoelektrischer Wirkungsquerschnitt σ, Wahrscheinlichkeit der Bildung von Photoelektronen mit normaler Energie y, Anzahl Atome n, Dämpfungslänge λ, winkelabhängiger Effizienzfaktor des Aufbaus θ, Probenfläche A, Röntgenphotonenstrom f sowie Wahrscheinlichkeit der Detektion durch Analysesystem T.

Durch Einführen eines Sensitivitätsfaktors S vereinfacht sich die Gleichung 8 zu

$$\frac{I_1}{I_2} = \frac{n_1 \cdot S_1}{n_2 \cdot S_2} \tag{9}$$

da

$$S = \sigma\, y\, \lambda\, \theta\, A\, T \tag{10}$$

Dieser Faktor S ist ein proben- und geräteabhängiger Parameter und kann als Referenz definiert werden.[253] Diese Sensitivitätsfaktoren lassen sich in Tabellenwerken, z. B. bezogen auf das Atom F 1s, finden.[253]

Für eine homogene Oberfläche aus Material A und B lässt sich ein Verhältnis von:

$$\frac{n_A}{n_B} = \frac{\frac{I_A}{S_A}}{\frac{I_B}{S_B}} \tag{11}$$

bestimmen. Die Standardabweichung liegt bei ca. 10 %.

Für die quantitative Analyse der XP-Spektren müssen diese Hintergrund-korrigiert werden, um eine definierte Peakfläche zu erhalten. Dies geschieht durch eine lineare Basislinie, die Shirley-Hintergrundkorrektur[254] oder die Tougaard-Methode.[255] Die Shirley- und die Tougaard-Methoden berücksichtigen die Untergrundänderungen durch die gestreuten Elektronen. Die Methoden müssen für jedes Spektrum angepasst werden.

Da die homogene Verteilung von Material A auf Material B eher dem Idealfall als der Realität entspricht, wurden weitere Schichtenmodelle wie das Modell von Kerkhof und Moulijn[256] zur Quantifizierung von Katalysatoroberflächen entwickelt.

3.1.4 Apparativer Aufbau und Auswertung

Das XP-Spektrometer besteht aus einer Röntgenquelle, einer Ultrahochvakuum-(UHV)-Umgebung, einem Elektronenenergieanalysator und einem Elektronendetektor.

Die XPS-Messungen der organischen Dünnschichten aus OEG-terminierten Organosilanverbindungen wurden mit einem PHI 5600ci Multitechnique-Spektrometer von Physical Electronics (Chanhassen, MN, USA) durchgeführt. Es wurde eine monochromatische Al Kα-Strahlung ($h\nu$ = 1486.6 eV) mit einer FWHM-Bandbreite von 0.3 eV verwendet. Die Energiebreite (*pass energy*) des Elektronenenergie-analysators für die hochaufgelösten XPS-Spektren betrug 29 eV und führte zu einer Auflösung von 0.44 eV. Die zu analysierende Fläche lag bei allen Messungen bei einem Durchmesser von 400 µm. Der Druck in der Messkammer wurde während der Messungen bei 10^{-9} mbar konstant gehalten. Die Spektren wurden auf den Si 2p-Peak der SiO_2-Oberfläche bei 103.3 eV referenziert und mit der XPSPeak-Software (Version 4.1) analysiert. Die gemessenen Spektren werden als gefüllte Kreise, der Untergrund und die einzelnen Komponenten als dünne Linien und die Summenkurven als fette Linien dargestellt.

Die XPS-Messungen nach der Modifizierung mit der „Click"-Reaktion wurden mit einem AXIS Ultra^{DLD} Photoelektronspektrometer von Kratos Analytical gemessen. Es wurde eine monochromatische Al Kα-Strahlung ($h\nu$ = 1486.6 eV) verwendet. Die Energiebreite des Elektronenenergieanalysators für die hochaufgelösten XPS-Spektren betrug 20 eV und die analysierte Fläche war 700 × 300 µm^2 groß. Die Spektren wurden auf das C 1s-Signal von Kohlenwasserstoff bei 285.0 eV kalibriert und mit der Software Kratos Vision 2 Processing Software ausgewertet.

3.2 Polarisationsmodulierte Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie

3.2.1 Grundlagen

Die polarisationsmodulierte Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (PM IRRAS) wurde im Jahre 1980 von Golden et al.[257] entwickelt. Die Idee war, dass nur *p*-polarisiertes Licht von Molekülen an der Probenoberfläche und den Molekülen in der Gasphase absorbiert wird. Dahingehen wechselwirkt *s*-polarisiertes Licht nicht mit den Molekülen an der Probenoberfläche, sondern nur mit Molekülen, die sich im Strahlengang in der Gasphase befinden. Deshalb beinhaltet *s*-polarisiertes Licht nur Informationen über den Untergrund. Durch Modulation mit 50 kHz zwischen dem *s*- und *p*-polarisierten Licht lässt sich somit quasi simultan der Hintergrund und die Probe vermessen.[258] Die gleichzeitige Messung von Hintergrundsignal und Probenoberfläche erlaubt eine schnellere und genauere Messung für Oberflächenbeschichtungen im Monolagenbereich im Vergleich zu anderen IRRAS-Techniken. Um die Modulation zu realisieren, wird ein photoelastischer Modulator (PEM) verwendet, der zwischen dem Polarisator und der Probe eingebaut wird und das Umschalten zwischen *s*- und *p*-polarisiertem Licht ermöglicht. Das PEM besteht meist aus einem ZnSe-Kristall und ist an Piezoelemente gekoppelt. Durch Anlegen von Wechselspannung kommt es zu einer periodischen Verformung des Kristalls. Diese Verformung führt zu einer Phasenverschiebung zwischen dem eintretenden und austretenden Lichtstrahl. Erreicht die Phasenverschiebungen den Wert von 90°, so erhält man *s*-polarisiertes Licht.[259] Durch die periodische Verformung des Kristalls erhält man somit abwechselnd *s*- und *p*-polarisiertes Licht. Die Signale werden nicht einzeln sondern als Verhältnis der Differenz $|I_s - I_p|$ der Reflexion zum Mittelwert $(I_s + I_p)/2$ der beiden Polarisationen gemessen.[258, 260] Es handelt sich hier immer um das reflektierte Licht. Die Intensität (I) entspricht der Intensität des reflektierten Lichts.

Das theoretische Gesamtspektrum lässt sich durch die Intensitäten vom *s*- und *p*-polarisiertem Licht I_s und I_p beschreiben (12).[258, 259] Für die gilt:

$$\left(\frac{\Delta I}{\langle I \rangle}\right)_{theor.} = 2\frac{I_s - I_p}{(I_s + I_p)} \tag{12}$$

wobei hier ΔI dem Intensitätsdifferenzsignal und $\langle I \rangle$ dem Mittelwert der Intensitäten entspricht. Das detektierte Signal muss nun in zwei Signale $\Delta I(\omega)$ und $\langle I \rangle(\omega)$ demoduliert werden. $\Delta I(\omega)$ und $\langle I \rangle(\omega)$ sind dabei Funktionen der Anregungsfrequenz des PEM (ω) und sind mit der Besselfunktion erster Ordnung $J_1(\varphi_0)$ und zweiter Ordnung $J_2(\varphi_0)$ verknüpft, wobei φ_0 die maximale Verschiebung des Lichts durch den PEM ist.[260, 261]

$$\langle I \rangle(\omega) = \frac{\left(I_s(\omega) + I_p(\omega)\right)}{2} + \frac{\left|I_s(\omega) - I_p(\omega)\right|}{2} J_1(\varphi_0) \tag{13}$$

$$\Delta I(\omega) = \left|I_s(\omega) - I_p(\omega)\right| J_2(\varphi_0) \tag{14}$$

Fasst man nun Gleichung (13) und (14) zusammen, so erhält man:

$$\langle I \rangle(\omega) = \langle I \rangle + \frac{\Delta I}{2} J_1(\varphi_0) \tag{15}$$

$$\Delta I(\omega) = \Delta I \, J_2(\varphi_0) \tag{16}$$

Abbildung 16 zeigt das erhaltende Intensitätsmittelwertspektrum und das Intensitätsdifferenzspektrum einer Au/SiO_x-Oberfläche. Die SiO_x-Schicht war 10 nm dick und wurde auf eine 200 nm dicke Au-Schicht aufgedampft.

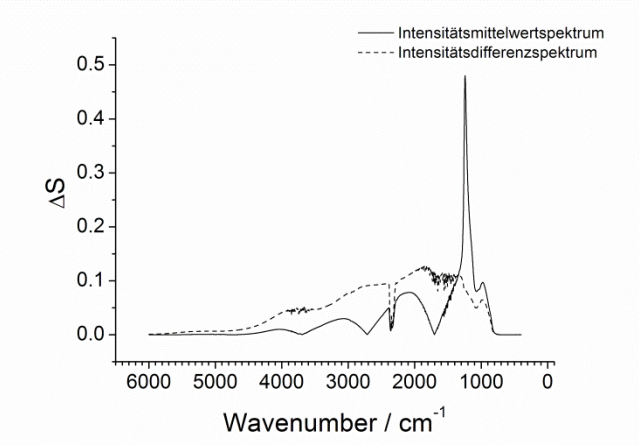


Abb. 16: Intensitätsmittelwertspektrum (schwarze durchgehende Linie) und Intensitätsdifferenzspektrum (schwarze gestrichelte Linie) einer Au/SiO_x-Oberfläche.

Dabei wird angenommen, dass die Goldgrenzfläche und die Luftgrenzfläche unendlich groß sind, während die SiO_x-Schicht eine definierte Schichtdicke von 10 nm aufweist, damit die darunterliegende Au-Schicht das IR-Licht reflektieren kann (Abb. 17).[60]

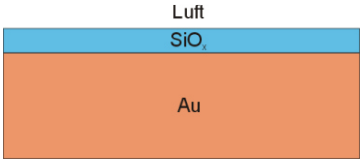


Abb. 17: Schematische Darstellung der Au/SiO_x-Substrate.[60]

Da ΔI auf hochreflektierenden Metalloberflächen vernachlässigbar klein gegenüber ⟨I⟩ ist, ist das experimentell gemessene Spektrum das Verhältnis von $\Delta I(\omega)$ und ⟨I⟩(ω) (17):[261]

$$\left(\frac{\Delta I(\omega)}{\langle I\rangle(\omega)}\right)_{exp} = \frac{\Delta I}{\langle I\rangle} J_2(\varphi_0) \tag{17}$$

Somit ist das experimentell erhaltende Spektrum das Produkt aus theoretischem Spektrum und Besselfunktion zweiter Ordnung (Abb. 18). Dabei ist zu beachten, dass die maximale Effizienz des PEM vor der Messung auf den zu vermessenden Wellenlängenbereich eingestellt werden muss, da nur der Bereich um das Hauptmaximum der Besselfunktion zur Auswertung genutzt werden kann.[261]

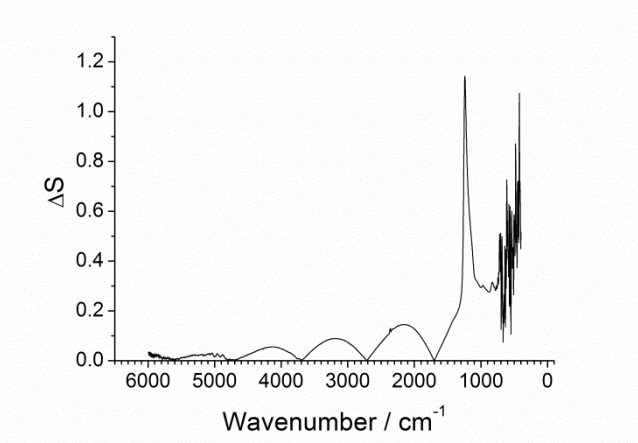


Abb. 18: Gemessenes Spektrum einer Au/SiO_x-Oberfläche.

Zum Erhalten des Spektrums der absorbierten Schicht wird die Besselfunktion zweiter Ordnung $J_2(\varphi_0)$ vom Gesamtsignal als Hintergrund abgezogen. Nach dem Abzug der Besselfunktion erhält man das reine Absorptionsspektrum der Au/SiO_x-Oberfläche (Abb. 19). Da die Funktion $J_2(\varphi_0)$ von der maximalen Verschiebung des eingestrahlten Lichts vom Modulator φ_0 abhängig ist, müssen für jede Probe mehrere Spektren bei unterschiedlichen maximalen Wellenlängeneffizienzen des PEM aufgenommen werden,

um alle Bereiche im Spektrum auswerten zu können. Dabei lässt sich die Besselfunktion berechnen oder wie in dieser Arbeit manuell polynominal an die Kurve anlegen.[62, 262]

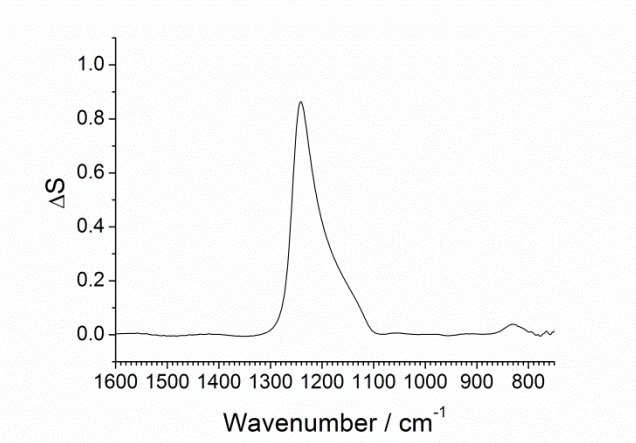


Abb. 19: PMIRRA-Spektrum nach der Korrektur der Besselfunktion einer Au/SiO_x-Oberfläche im Bereich von 1600 bis 750 cm^{-1}.

Die reine Au/SiO_x-Oberfläche zeigt eine starke Absorptionsbande bei ca. 1245 cm^{-1} mit einer Schulter bei ca. 1122 cm^{-1}. Diese Absorptionsbanden stammen von der asymmetrischen Streckschwingung ν_{as}(SiOSi) der SiO_x-Schicht. Diese Banden limitieren die PM IRRAS-Untersuchungen von adsorbierten Verbindungen in diesem Spektralbereich, da es hier zu Überlappungen mit anderen Absorptionsbanden kommen kann.[60]

3.2.2 Apparativer Aufbau und Auswertung

PM IRRA-Spektren wurden mit einem Vertex 70 IR-Spektrometer und einem externen Reflexionsaufbau von Bruker Optics (Ettlingen) gemessen. Der Reflexionsaufbau enthält einem photoelastischen Modulator (PEM) PMA 50 von Hinds Instruments (Hillsboro, OR, USA), einen DSP Lock-in-Amplifier SR830 von Stanford Research Systems (Sunnyvale, USA) und einen D313/BQ MCT-Detektor mit BaF_2-Fenstern (Abb. 20).

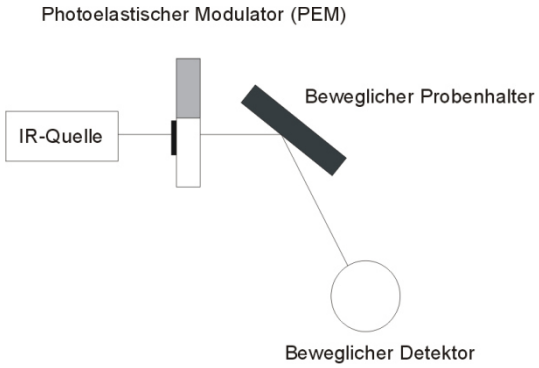


Abb. 20: Schematische Darstellung des PM IRRA-Aufbaus.

Die Auflösung der aufgenommenen Spektren lag bei 4 cm^{-1}. Die Halbwellenverzögerung (engl. *half-wave retardation*) wurde für jeden untersuchten Bereich angepasst. Für die Untersuchung von CH-Streckschwingungen wurde sie auf 2900 cm^{-1} eingestellt, für die Analyse der Amid I- und Amid II-Bereiche auf 1600 cm^{-1} und für die Analyse der CF_2- und SiO_2-Streckschwingungen auf 1100 cm^{-1}. Der Einfallswinkel des Lichts wurde für jedes Substrat variiert. Für organische Dünnschichten auf Au/SiO_x-Substraten wurde ein Einfallswinkel von 80° verwendet. Für die Untersuchung der Collagenadsorption und der Adsorption organischer und anorganischer Verbindungen auf TiO_xC_y-Oberflächen musste dieser Einfallswinkel für jede Probe neu bestimmt werden und lag in der Regel zwischen 55 und 75°. Ein beweglicher Probenhalter sowie der bewegliche Detektor erlauben die genaue Einstellung des Einfallswinkels des IR-Lichts. In der Regel wurden dreimal 1000 Scans aufgenommen und anschließend gemittelt.

Die aufgenommen PM IRRA-Spektren wurden mit der OPUS-Software Version 5.5.1 (Bruker Optics, Ettlingen) ausgewertet. Die Spektren wurden teilweise Min/Max normalisiert. Dabei werden die Intensitätswerte skaliert. Das Minium wird dabei auf null gesetzt, während die maximale Intensität einen Wert von zwei Absorptionseinheiten einnimmt. Die 2. Ableitung wurde von den Spektren gebildet, um die Position der Absorptionsbanden zu bestimmen. Diese erscheinen in der 2. Ableitung als Minima.

3.3 Rasterkraftmikroskopie

3.3.1 Grundlagen

Bereits 1986 entwickelten Binnig et al.[263] die ersten Rasterkraftmikroskope (engl. *scanning force microscope*, SFM). Durch diese Messmethode konnten wichtige Informationen für das Verständnis von Strukturen und Eigenschaften von Materialien erhalten werden.[264] Die SFM wird häufig mit der atomaren Kraftmikroskopie (engl. *atomic force microscopy*, AFM) gleichgesetzt, obwohl es sich dabei um eine Variante der SFM handelt, bei der die abstoßenden Wechselwirkungen der Atome ausgenutzt werden. Die SFM hat sich zu einer Art Standardausrüstung in der Forschung und Entwicklung, zur Charakterisierung und zur Konstruktion von neuen Materialoberflächen und Grenzflächen entwickelt.[264] Diese Messmethode findet auch in der Biologie bei unterschiedlichsten Umgebungsbedingungen Anwendung.[265] So ließen sich erstmals Biomoleküle bildlich in einer molekularen Auflösung mit Hilfe des AFMs in einer Flüssigkeitszelle in wässriger Umgebung darstellen.[266] Der Vorteil der SFM-Methode ist, dass hier, anders als bei Rastertunnelmikroskopie (STM), die Oberflächen sowohl elektrisch leitend als auch nichtleitend sein können.[264, 267] Dies erlaubt eine große Variabilität an zu charakterisierenden Oberflächen. Es können Metalloberflächen,[268] Polymere,[269, 270] und biologische Proben wie Bakterien[271] oder die Faltung von Proteinen[272] in hoher Auflösung vermessen werden. Dabei erlauben die unterschiedlichen Messmodi die Untersuchungen der Topographie,[263] der Reibungskraft,[273] der Phasenverschiebungen, der Adhäsion und der Steifigkeit,[85] der chemischen Eigenschaften durch chemische Kraftmikroskopie (engl. *chemical force microscopy*, CFM),[13] der Elastizität,[264] der magnetische Eigenschaften und der Leitfähigkeit.[274] Es können Kräfte im pN-Bereich zwischen individuellen Molekülen und der Oberfläche gemessen werden.[264] Mit dem AFM ist es auch möglich, Manipulationen im Nanometerbereich durchzuführen.[207] Somit stellt das SFM- und insbesondere die AFM-Technik eine wichtige Messtechnik in der Physik, Biologie, Chemie und in den Materialwissenschaften dar. Durch die AFM-Messmethode sind laterale Auflösungen von 0.2 nm und vertikale Auflösungen von 0.001 nm möglich.[264]

Messprinzip

Im Unterschied zu anderen Mikroskopen wie optischen Lichtmikroskopen oder Elektronenmikroskopen werden für SFM-Aufnahmen keine Linsen aus Glas oder magnetische Linsen zur Bilddarstellung gebraucht.[264] Die Bilddarstellung erfolgt bei den SFM-Methoden durch scharfe Messspitzen (Abb. 21). Diese Messspitzen befinden sich an einer weichen Blattfeder, welche auch Cantilever genannt wird. Die Messspitze ist hierbei besonders wichtig, da diese die Auflösung bestimmt.[264] SFM-Spitzen bestehen meist aus pyramidal geformten Si_3N_4, SiO_2 oder Si.[275] Diese Spitzen haben dabei einen Spitzenradius von 10 nm für geätzte Si- und 20 bis 60 nm für Si_3N_4-Spitzen[264] und sind in der Regel 3 µm hoch.[276] Der Cantilever besitzt eine spezifische Federkonstante von 0.0006 bis 100 N m^{-1}. Die Resonanzfrequenz des Cantilevers wird unter anderem in Abhängigkeit von der Anwendung ausgesucht und liegt im Bereich von 3 bis 500 kHz.[264] Für biologische Materialen werden Si_3N_4-Cantilever mit einer Kraftkonstante von 0.0006 bis 2 N m^{-1} und einer Resonanzfrequenz von 3 bis 120 kHz verwendet.[276] Der Öffnungswinkel der Spitzen liegt bei 55°,[276] sie haben glatte Seitenwände und einen Radius von 20-400 nm.[264] Superscharfe Messspitzen erlauben das Vermessen tiefer Strukturen und die Auflösung von Strukturen im subatomaren Bereich.[277] Die Federkonstante darf dabei auch nicht zu gering sein, da es sonst zu einem Steckenbleiben in der Probe kommen könnte.

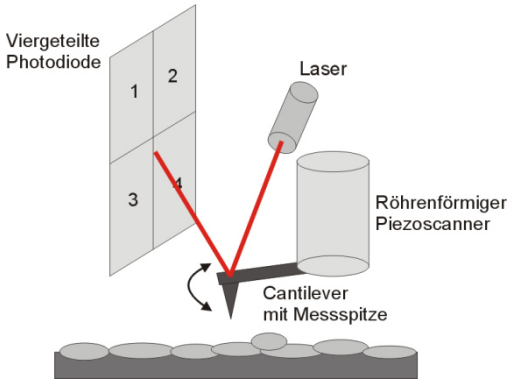


Abb. 21: Schematische Darstellung des Messprinzips des SFMs.

Bei Messungen an Luft kommt es zu Kräften im nN- bis µN-Bereich. Die Kraft lässt sich durch das Hooksche Gesetz berechnen:[264]

$$F = -k\,x \tag{18}$$

Dabei ist k die Federkonstante und x die Auslenkung des Cantilevers.

Die Auslenkung in *z*-Richtung des Cantilevers wird mit einem Lichtzeiger und einer meist viergeteilten Photodiode detektiert.[264] Die Reflexion des Lichtzeigers wird an jedem Punkt der Oberfläche detektiert und in ein elektronisches Differenzsignal umgerechnet. Daraus wird das Feedback-Signal für den Piezoscanner gebildet und erlaubt die Erzeugung einer konstanten Kraft auf die Messspitze.[264] Die AFM-Spitze ist dabei entweder im direkten Kontakt mit der Oberfläche oder wird sehr nahe in einem Abstand von $d \approx 0.1\text{-}10$ nm über der Oberfläche gehalten. Für die Auflösung des AFMs sind neben den Messspitzen auch die Piezoelemente wichtig.[264] Piezokeramiken erlauben Rasterbewegungen in *x*-*y*-Richtung mit einer Präzision im Subnanometerbereich[278] und die Bewegung in *z*-Richtung, um eine konstante Kraft zwischen Probe und Spitze zu erzeugen.[264] Dabei rastert die Spitze die Oberfläche ab. Es wirken Kräfte zwischen der Spitze und der Probenoberfläche wie die elektrostatische Abstoßung, van-der-Waals-Wechselwirkungen, Kapillarkräfte, magnetische Kräfte und Reibungskräfte. Die Piezoscanner sind meist röhrenförmig und wandeln die elektronischen Signale vom SFM-Controller in mechanische Rasterbewegungen um. Sie bestehen häufig aus Zirkoniumtitanat und besitzen aufgrund von Polung starke piezoelektrische Effekte.

Kraftabstandsmessungen

Neben der Topographie, den chemischen Eigenschaften sowie Materialunterschieden lassen sich auch die Kräfte, die zwischen Spitze und Oberfläche wirken, messen. Dies wird in Kraft-Abstandskurven dargestellt (Abb. 22).

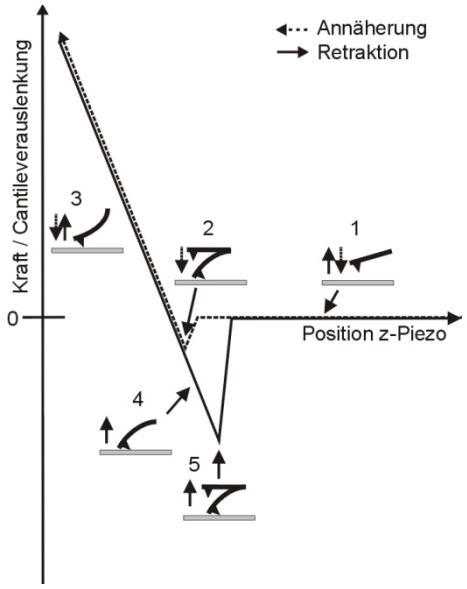


Abb. 22: Schematische Darstellung einer Kraft-Abstandskurve adaptiert nach Ref. [264]: 1) Kein Kontakt zwischen Messspitze und Probenoberfläche. 2) Kontakt zwischen Spitze und Probe wird durch sogenannten *jump-in* aufgrund von anziehenden Wechselwirkungen hergestellt. 3) Verbiegung des Cantilevers durch weitere Krafteinwirkung. 4) Adhäsive Kräfte wirken auf die Messspitze bei der Retraktion. 5) Abriss der Messspitze von der Probenoberfläche (*pull-out*).

Diese Kurven geben quantitative Informationen über die Wechselwirkungen zwischen Messspitze und Oberfläche und werden als Funktion des Spitze-Oberflächen-Abstands aufgetragen. Bei Annäherung der Spitze an die Oberfläche kommt es zunächst zu einer Auslenkung des Cantilevers (Abb. 22.1).[264] Ist die Distanz zwischen Spitze und Oberfläche dabei größer als 10 nm, so wirken zunächst elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probenoberfläche.[264] Durch anziehende Kräfte kommt es dabei zu einem Verbiegen des Cantilevers zur Probenoberfläche hin. Unterhalb eines Abstands von 10 nm wirken attraktive van-der-Waals-Wechselwirkungen[264] von 10^{-11} bis 10^{-9} N auf die Spitze.[279] Weiteres Annähern führt dann zu einem sprunghaften Kontakt zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche, auch *jump-in contact/ touching regime* genannt (Abb. 22.2).[264] Dieser Kontakt kommt durch die anziehenden Kräfte zustande, die nun höher sind als die Federkonstante des Cantilevers. Bei weiterer Annäherung kommt es zu einer plastischen und elastischen Verformung der Messspitze, des Cantilevers oder der Probenoberfläche (Abb. 22.3). Bei der Retraktion bleibt die Messspitze zunächst aufgrund von adhäsiven und kapillaren Wechselwirkungen an der Probenoberfläche kleben (Abb. 22.4) und verliert bei weiterer Retraktion, wenn die Rückstellkraft der

Feder wieder groß genug ist, schlagartig den Kontakt zur Oberfläche (Abb. 22.5). Die Messspitze ist nun wieder in der Nicht-Kontakt-Region. Dieser Abriss wird auch *pull-out* genannt.[264] Die Kapillarkräfte, die auf die Spitze wirken, können Werte von 9.3×10^{-8} N annehmen und sind ein wichtiger Faktor bei Messungen von Kraft-Abstands-Kurven an Luft.[280] Sie lassen sich durch Messungen in wässrigen Medien oder im Hochvakuum verringern.[264]

3.3.2 Kontaktmodus (Contact mode)

Der Kontaktmodus (engl. *contact mode*) zeichnet sich dadurch aus, dass bei dieser Messmethode die Messspitze im dauerhaften Kontakt mit der Oberfläche steht. Die Bildgebung erfolgt durch die Auslenkung des Cantilevers, die durch die konstante Kraft auf der Oberfläche entsteht. Dabei wird im Bereich der abstoßenden Wechselwirkungen gemessen. Es werden vorzugsweise weiche Cantilever mit einer Federkonstante von 0.01 bis 1 N m^{-1} verwendet. Diese Cantilever verringern die Beschädigungen der Probenoberfläche durch die Reibung der Messspitze. Daher wird dieser Messmodus vor allem bei harten und stabilen Probenoberflächen verwendet und ist für weiche Biomaterialien eher ungeeignet.[264] Die Messung in Flüssigkeiten verringert die Reibungskräfte. Dadurch sind auch Messungen von Biomaterialien oder Polymeren möglich.[265, 270] Der Vorteil dieser Messmethode besteht darin, dass eine hohe Auflösung bei hohen Scangeschwindigkeiten erreicht werden kann. So konnten atomare Auflösungen mit dem AFM bisher nur im Kontaktmodus sowie im *non-contact-Modus* erreicht werden.[277]

Beim Kontaktmodus wird zwischen *constant height mode* und zum dem *constant force mode* unterschieden (Abb. 23). Beim *constant height mode* wird die vertikale Position des Cantilevers konstant gehalten. Dadurch lassen sich Rückschlüsse aus der Verformung des Cantilevers über die Topographie ziehen. Der Vorteil ist die hohe Geschwindigkeit, mit der die Oberflächen abgerastert werden können, da keine Korrektur der vertikalen Position des Cantilevers notwendig ist. Allerdings werden atomar flache Oberflächen benötigt, um die Beschädigung des Cantilevers und der Oberfläche durch Unebenheiten der Probenoberfläche zu verringern.[281]

Im *constant force mode* wird die Kraft zwischen Messspitze und Probenoberfläche durch eine Rückkopplungsschleife konstant gehalten.[264] Die vertikale Position des

Cantilevers wird dabei variiert und lässt Aussagen über die Topographie der Oberfläche zu. Der Vorteil des *constant force mode* ist die Möglichkeit, auch unebene und verkippte Oberflächen vermessen zu können. Ein Nachteil ist allerdings die geringere Scangeschwindigkeit, die durch fortlaufende Korrektur der vertikalen Cantileverposition bedingt ist.[281]

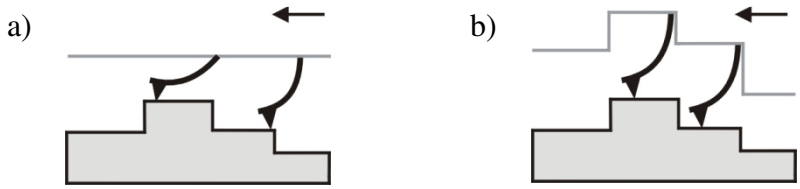


Abb. 23: Schematische Darstellung der verschiedenen Messmodi im Kontaktmodus: a) *constant height mode* und b) *constant force mode*.

Durch die Änderung des Scanwinkels lassen sich die lateralen Reibungskraftunterschiede der Probe darstellen. Diese Messmethode nennt sich lateraler Reibungskraft-Modus (engl. *lateral force mode*, LFM) und erlaubt die Detektion von Materialunterschieden (Abb. 24).[282] Dabei kommt es zu einer Torsion des Cantilevers in *x*-*y*-Richtung, welche die unterschiedlichen Reibungskräfte einer Oberfläche widerspiegelt.[264]

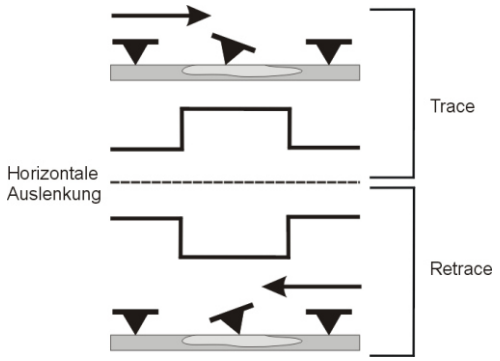


Abb. 24: Schematische Darstellung des lateralen Reibungskraftmodus (engl. *lateral force mode*, LFM) auf einer Probe bestehend aus unterschiedlichen Materialien adaptiert nach Ref. [283].

Eine weitere Variante des Kontaktmodus ist die chemische Kraftmikroskopie (engl. *chemical force microscopy*, CFM). Hierbei wird eine AFM-Messspitze mit hydrophilen oder hydrophoben Endgruppen modifiziert (Abb. 25).[13] Dies erlaubt die Detektion von hydrophoben und hydrophilen Regionen auf einer Probe, da eine vergleichbare Terminierung von Spitze und Oberfläche zu einer stärkeren Wechselwirkung führt, als

dies bei unterschiedlichen Terminierungen der Fall wäre. Über eine höhere Reibungskraft kann daher eine stärkere Wechselwirkung detektiert werden.[264]

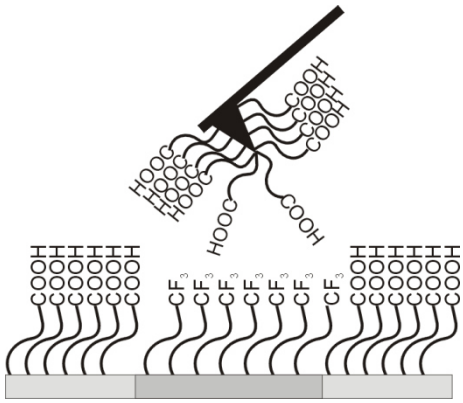


Abb. 25: Schematische Darstellung der CFM-Methode mit einer hydrophilen Messspitze zur Detektion der Adhäsionsunterschiede einer gemusterten Oberflächen.

3.3.3 Schwingungsmodus (Tapping Mode™)

Der Modus mit intermittierendem Kontakt, auch Tapping Mode™ genannt, erlaubt die Untersuchung der Topographie einer Oberfläche ohne Auswirkung von lateralen Reibungskräften auf die Probenoberfläche (Abb. 26). Daher ist dieser Modus besonders für weiche Oberflächen wie Biomaterialien geeignet.[264] Im Tapping Mode™ wird im Bereich der abstoßenden Wechselwirkungen gearbeitet. Es wird eine oszillierende Spitze verwendet, deren typische Frequenz bei 50 bis 500 kHz bei Messungen an Luft und bei 10 kHz für Messungen in Flüssigkeiten wie Wasser liegt.[264] Typische Kraftkonstanten für Cantilever liegen zwischen 20 und 100 N m^{-1}.[281] Dies verhindert das Steckenbleiben der Messspitze im adsorbierten Wasserfilm bei Messungen an Luft und reduziert gleichzeitig Störsignale wie akustische Schwingungen und Vibrationen. Der Cantilever wird durch einen Oszillationspiezo in vertikale Schwingung versetzt. Diese Schwingung liegt etwas unterhalb der Resonanzfrequenz mit einer Amplitude von 20 bis 100 nm. Beim Scannen über die Oberfläche kommt es zur kurzzeitigen (intermittierenden) Berührung zwischen der Oberfläche und der Messspitze, wobei ein Energieverlust der schwingenden Messspitze und eine Verringerung der Amplitude auftritt.[264] Die Reduktion der Amplitude wird durch die Änderung der vertikalen Cantileverposition ausgeglichen, was eine topographische Abbildung ermöglicht. Der Tapping Mode™ wurde für die Charakterisierung der mit Silanen modifizierten SiO_x-Oberflächen verwendet.

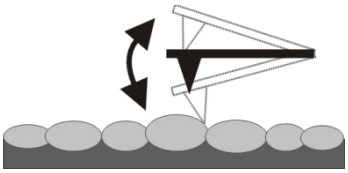


Abb. 26: Schematische Darstellung des Tapping Mode™.

Die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probenoberfläche ist nicht nur von der Topographie abhängig, sondern auch von verschiedenen Oberflächeneigenschaften wie Härte, Elastizität oder Adhäsion.[283] Veränderungen in den Materialeigenschaften führen zu einer Phasenverschiebung der Cantileveroszillation relativ zum Signal, das zum Piezooszillationsantrieb des Cantilevers gesendet wird (Abb. 27). Phasenbilder geben dabei nicht-quantitative Informationen über die Härte und Elastizität der Proben wieder. Ein Beispiel für die Anwendung des Phasenimaging ist die Vermessung flacher Oberflächen mit zwei verschiedenen Polymeren mit unterschiedlichen Steifigkeiten auf der Oberfläche.[284] Diese lassen sich im Phasenbild voneinander unterscheiden, obwohl im Topographiebild keine Unterschiede messbar sind.

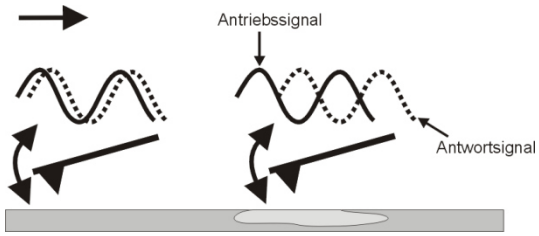


Abb. 27: Schematische Darstellung des Phasenimagings während des Abrasterns einer Oberfläche mit zwei unterschiedlichen Materialeigenschaften im Tapping Mode™ adaptiert nach Ref. [283].

Zusätzlich zur Topographie und zum Phasenbild lässt sich auch ein Amplitudenbild darstellen (Abb. 28). Das Fehlersignal im Tapping Mode™ wird in den Amplitudendaten dargestellt.[264]

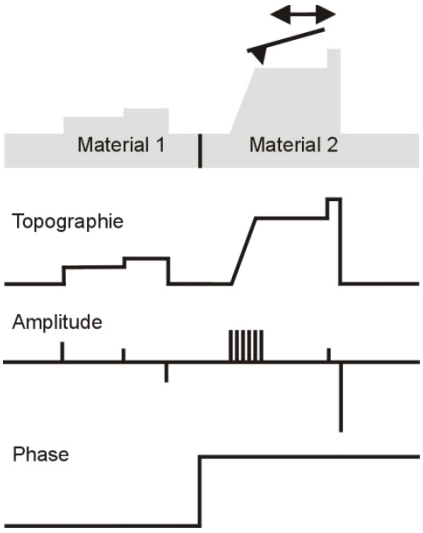


Abb. 28: Schematische Darstellung des Topographiebildes, des Amplitudenbildes und des Phasenbildes während der Aufnahme im Tapping Mode™ einer Oberfläche bestehend aus zwei unterschiedlichen Materialen, adaptiert nach Ref. [264]. Das Topographiebild stellt das 3D-Oberflächenprofil dar, während das Amplitudenbild die Ränder verstärkt darstellt. Das Phasenbild zeigt die unterschiedlichen Materialeigenschaften der Oberfläche an.

3.3.4 Gepulste Kraftmikroskopie (Pulsed force mode)

Die gepulste Kraftmikroskopie (engl. *pulsed force microscopy*, PFM) erlaubt neben der Topographiemessung die Messungen von Materialeigenschaften wie lokale Steifheit und Adhäsion von Probenoberflächen.[285, 286] Die gepulste Kraftmikroskopie wurde 1997 von Rosa-Zeiser et al.[287] entwickelt und etabliert. Es kommt dabei zu einer sinusförmigen Modulation des *z*-Piezos mit einer Amplitude von 10 bis 500 nm und einer Frequenz zwischen 100 und 2000 Hz.[286] Abbildung 29 zeigt das typische Messsignal des PFM.

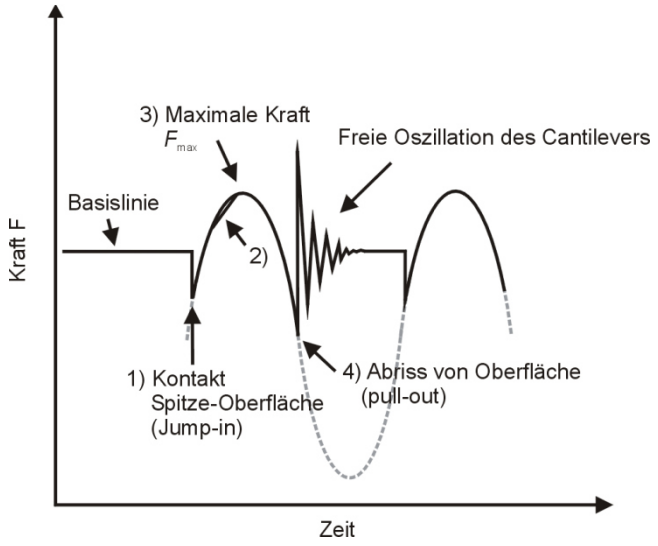


Abb. 29: Schematische Darstellung eines Messzyklus des PFM-SFM adaptiert von Ref. [286]. An Punkt 1) kommt es zum sprunghaften Kontakt zwischen Messpitze und Oberfläche (*jump-in*). An 2) wird die Steigung zur Detektion der Steifheit der Probenoberfläche gemessen. 3) Maximale Kraft, mit der auf die Oberfläche gedrückt wird. 4) Abriss der Messspitze von der Oberfläche (*pull-out*). Adhäsion wird zwischen F_{max} und 4) gemessen.

Bei der PFM ist die Messspitze zunächst weit von der Probenoberfläche entfernt. Bei ausreichender Annäherung springt die Spitze aufgrund der anziehenden Wechselwirkungen an die Oberfläche (Abb. 29.1, *jump-in*). Durch weiteres Andrücken an die Oberfläche wird am Punkt 3 das Maximum der abstoßenden Kräfte F_{max} erreicht. Bei der Rückbewegung der Messspitze werden die abstoßenden Kräfte kleiner und es kommt dabei zu einem Wechsel von abstoßenden zu anziehenden Kräften. Dadurch wirken nun Adhäsionskräfte auf die Messspitze. Durch weiteres Rückziehen des Piezos reißt der Kontakt zwischen Messspitze und Probe in Punkt 4 ab und es kommt zur freien Oszillation (Abb. 29.4, *pull-out*) des Cantilevers, die durch Dämpfung in die Basislinie übergeht. Die PFM-Elektronik registriert dabei fünf Eigenschaften der Probenoberfläche:[286]

1) die Basislinie. Diese kann durch weitreichende elektrostatische Wechselwirkungen variieren. Von der Basislinie sind die anderen Eigenschaften abhängig.
2) die maximale Kraft F_{max} dient der Rückkopplung mit dem Kontrollkreislauf des SFM zur Konstanthaltung der Kraft an diesem Punkt, die an die Proben angelegt wird. Dabei wird die Topographie der Oberfläche gemessen (Abb. 29.3).

3) die lokale Steifheit der Probe wird bei abstoßenden Kräften durch die Steigung bei Punkt 2 erfasst (Abb. 29.2). Dazu legt der Anwender einen Triggerpunkt fest. Die Steigung wird zwischen dem Triggerpunkt und dem Punkt maximaler Kraft F_{max} ermittelt und variiert mit den lokalen Probeneigenschaften. Sie ist bei harten Proben größer als bei weichen.
4) die Adhäsion wird zwischen dem Punkt maximaler Kraft F_{max} und dem Abriss der Messspitze von der Oberfläche an Punkt 4 gemessen und in einen zusätzlichen analogen Inputkanal des SFM eingespeist (Abb. 29.4). Daraus lässt sich das Adhäsionsbild rekonstruieren.
5) lokale Aufladungen von Oberflächen lassen sich durch Änderungen der Basislinienposition detektieren. Weitreichende elektrostatische Wechselwirkungen können diese Position beeinflussen und können mit Hilfe eines zusätzlichen Kanals detektiert werden.

Das PFM lässt sich als externes Modul in bestehende SFM-Systeme integrieren. Dabei muss das SFM den Zugang zur Kraftmessung erlauben und die *z*-Modulation muss groß genug sein, um die Oszillation des Piezos von 10-500 nm zu ermöglichen. Die Amplitude variiert dabei und ist von der Federkonstante des Cantilevers abhängig.[286]

Die Vorteile des PFM sind die geringe Belastung der Probe mit lateralen Kräften und die präzise Kraftkontrolle.[286] Dadurch kann die PFM auch für weiche Proben wie Polymere sowohl an Luft als auch im wässrigen Medium verwendet werden. Eine Beispielaufnahme ist in Abb. 30 gezeigt.

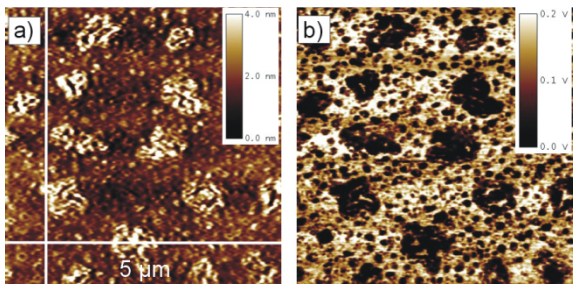


Abb. 30: PFM-SFM-Aufnahmen in Wasser einer über die Gasphase mit einem perfluorierten Silan modifizierten Glasoberfläche nach 5 min: a) Topographie und b) Adhäsion. Die dunkleren Bereiche im Adhäsionsbild sind das adsorbierte Silan.

Die PFM findet Anwendung bei der Untersuchung von selbstorganisierten Monolagen aus Silanen auf SiO_x,[85] als CFM mit modifizierten Messspitzen,[29] bei der

Untersuchung von Polymeren,[269, 285, 288] bei der Untersuchung von Aufladungen von Probenoberflächen[289] und in der Biologie bei Untersuchungen von Zellen[290]. Die PFM kann auch in wässrigen Medien genutzt werden.[289] Die Variante PFM-CFM wurde für die Charaktersierung von OEG-SAMs nach der Strukturierung mit elektrochemisch erzeugtem Brom verwendet.[A2]

3.3.5 Apparativer Aufbau und Auswertung

In Tab. 1 sind die verwendeten SFM-Geräte, Messmethoden und Messspitzen sowie die vermessenen Probenarten zusammengefasst.

Tab. 1: Verwendete SFM-Geräte, Messmethoden und Messspitzen.

Gerätetyp	**Messmodus (Umgebung)**	**verwendete Spitze**	**Probenarten**
Dimension-SFM	Tapping Mode (Luft)	TESP (k = 42 N m^{-1}, nom. Resonanzfrequenz: 320 kHz)	Organosilanschichten
Dimension-SFM	Tapping Mode (Luft)	NCHV-A (k = 42 N m^{-1}, nom. Resonanzfrequenz: 320 kHz)	Collagen auf TiO_xC_y und SiO_x, PLL-g-PEG auf SiO_x und Au/SiO_x
Dimension-SFM	Kontaktmodus (Luft)	MSCT (k = 0.6 N m^{-1}, Resonanzfrequenz: 90-160 kHz)	Collagen auf TiO_xC_y und SiO_x
Dimension-SFM	Lateral-Force-Mode (Luft)	MSCT (k = 0.6 N m^{-1}, Resonanzfrequenz: 90-160 kHz)	Collagen auf TiO_xC_y und SiO_x
Dimension-SFM + PFM-Modul	PFM-CFM (Luft)	Olympus OMCL-RC800PB (0.82 N m^{-1})	PFM-Messungen µCP
Enviroscope-SFM	Kontaktmodus (Wasser)	MSCT (k = 0.03 N m^{-1}, Resonanzfrequenz: 10-20 kHz)	Organosilanschichten, Click-Chemie
Enviroscope-SFM	Lateral-Force-Mode (Wasser)	MSCT (k = 0.03 N m^{-1}, Resonanzfrequenz: 10-20 kHz)	Organosilanschichten
Enviroscope-SFM	Kontaktmodus (0.05 M NaF)	MSCT (k = 0.6 N m^{-1}; Resonanzfrequenz: 90-160 kHz)	Collagen auf Au

Das Dimension-SFM besteht aus einem Nanoscope IIIA Controller, einem Dimension 3100 Probentisch und einem Dimension „G“ Scannerkopf von Veeco Instruments Inc. (Plainview, NY, USA). Das Enviroscope-SFM, ausgerüstet mit einem Enviroscope-

Controller, stammt ebenfalls von Veeco Instruments Inc. (Plainview, NY, USA). Die verwendeten TESP-Spitzen wurden von Veeco Instruments Inc. und die NCHV-A und MSCT-Spitzen von Bruker Corporation (Billerica, MA, USA) bezogen.

Für die PFM-CFM-Messungen an Luft wurde ein PFM-Modul von WITec (Ulm) zwischen den Nanoscope IIIA Controller und dem Dimension „G“ Scannerkopf geschaltet (Abb. 31). Die SFM-Messspitze wurde mit 1 mM 11-Mercaptoundecansäure modifiziert, um eine COOH-Terminierung zu erzeugen. Diese erlaubte die Messung von hydrophilen und hydrophoben Bereichen auf der Monolage.

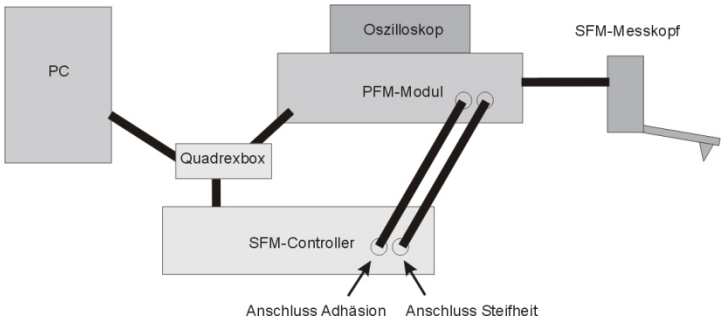


Abb. 31: Schematische Darstellung der Integration des PFM-Moduls in ein bestehendes SFM-System.

Die SFM-Charakterisierung von Collagenfilmen auf Au-Oberflächen wurde im Kontaktmodus in einer wässrigen 0.05 M NaF-Lösung (99 %, Sigma-Aldrich, Steinheim) durchgeführt. Die Aufnahmen erfolgten in einer elektrochemischen Messzelle mit eingebauter Heizplatte, bestehend aus der Au-Oberfläche als Arbeitselektrode, einem Silberdraht als Referenzelektrode und einem Platin-Draht als Gegenelektrode. Die Potentialkontrolle geschah mit einem CHI7001B-Potentiostaten (CH Instruments, Austin, Texas, USA). Einer SFM-Aufnahme der Collagenfilme beim Ruhepotential (engl. *open circuit potential*, OCP) schlossen sich Aufnahmen bei E = 0.182 V, E = -0.218 V und E = -1.118 V an. Die angelegten Potentiale entsprechen E = 0.0 V, E = 0.4 V und E = -0.9 V gegen eine Ag|AgCl|3M KCl-Referenzelektrode. Die Temperatur wurde mit einem LakeShore 331S Temperaturkontroller (Lake Shore Cryotronics Inc., Westerville OH, USA) mit Arbeitspunkten (*setpoint*) von 38 °C, 43 °C und 50 °C kontrolliert. Messungen bei Raumtemperatur erfolgten ohne den Temperaturkontroller.

Die Punktdichte der Aufnahmen der Collagenfilme in 0.05 M NaF lag bei 512 × 512 Pixel. Die Scanfrequenz wurde zwischen 3 - 4 Hz variiert. Bei allen anderen

SFM-Aufnahmen betrug die Punktdichte 256 × 256 Pixel und die Scanfrequenz 1 Hz bei Bildgrößen zwischen 1 × 1 und 5 × 5 μm^2. Bei den PFM-CFM-Messungen wurden 100 × 100 μm^2-Aufnahmen mit Punktdichten von 256 × 256 Pixel und Scanfrequenzen von 1 Hz aufgenommen. Details finden sich bei den jeweiligen Abbildungen.

Zur Auswertung der Aufnahmen wurde die mitgelieferte Nanoscope-Software (V5.30r3sr3) verwendet. Von den Aufnahmen wurde ein Hintergrund unter Verwendung der Routine „*Flattening*“ mit einem Polynom 1. Ordnung abgezogen. Rauigkeiten werden in *Root mean square* (RMS)-Werten oder in der mittleren Rauigkeit (*Ra*) angegeben.

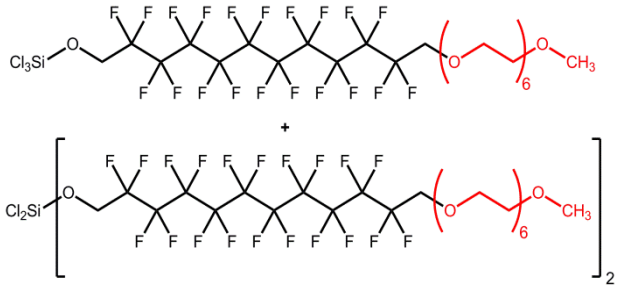
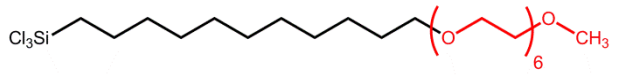
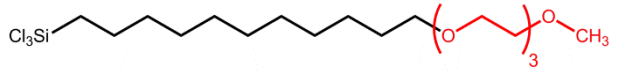
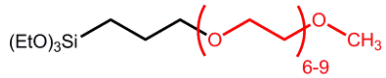
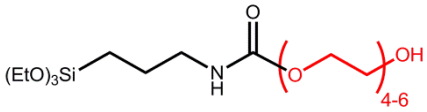
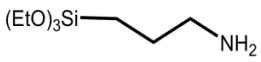
Für die Hintergrund-Korrektur („Flattening“) bei den PFM-CFM-Aufnahmen wurde das Polynom der 1. Ordnung für die Steifheit und die Adhäsion und das Polynom 3. Ordnung für die Topographie verwendet.

4. Experimenteller Teil

4.1 Modifizierung von Oberflächen mit Organosilanverbindungen

Für die Modifikationen mit Organosilanverbindungen wurden die in Tabelle 2 dargestellten Silane verwendet.

Tab. 2: Verwendete Organosilanverbindungen zur Modifizierung von SiO_x-Oberflächen.

Verbindung	Name und Strukturformel	Abkürzung	Quelle (Reinheit)
1	Verbindung 1 	OEG6-perfluoriert	universitäts-intern
2	1,1,1-Trichlor-13,16,19,22,25,28,31-heptaoxa-1-siladotria-contan 	OEG6	universitäts-intern
3	1,1,1-Trichloro-13,16,19,22-tetraoxa-1-silatricosan 	OEG3	ABCR, Karlsruhe
4	2-[Methoxy(polyethyleneoxy)propyl]trimethoxysilan 	PEG	ABCR, Karlsruhe (90 %)
5	*N*-(Triethoxysilylpropyl)-O-polyethyleneoxideurethan 	OEG-Urethan	ABCR, Karlsruhe (95 %)
6	3-Aminopropyltriethoxysilan 	APTES	Fluka Analytical (> 98 %)

Die Verbindung **1** ist ein Gemisch, das aus dem monosubstituierten 1,1,1-Trichlor-4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,12,12,13,13-icosafluoro-2,15,18,21,24,27,30,33-octoxa-1-silatetriacontan und dem disubstituierten 34,34-Dichloro-22,22,23,23,24,24,25,25,26,26,27,27,28,28,29,29,30,30,31,31,37,37,38,38,39,39,40,40,41,41,42,42,43,43,44,44,45,45,46,46-tetracontafluoro-2,5,8,11,14,17,20,33,35,48,51,54,57,60,63,66-hexadecaoxa-34-silaheptahexacontane (Verhältnis 3:2) besteht. Es wurde wie die Verbindung **2** universitätsintern in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christoffers synthetisiert. Das Gemisch wird im weiteren Verlauf Verbindung **1** genannt.

Alle anderen verwendeten Chemikalien wurden von Chemikalienhändlern bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Die verwendeten Chemikalien und Materialien für die Oberflächenmodifikationen mit Organosilanverbindungen sind in Tab. 3 aufgelistet.

Tab. 3: Verwendete Chemikalien und Materialien für die Oberflächenmodifizierung mit Organosilanverbindungen.

Chemikalie/ Material (Reinheit)	**Hersteller**	**Chemische Formel (Abkürzung)**
Ethanol (absolute)	Fisher Chemical	C_2H_5OH (EtOH)
Methanol (UV/IR grade)	Carl Roth, Karlsruhe	CH_3OH (MeOH)
Kaliumhydroxid (p.a.)	Carl Roth, Karlsruhe	KOH
Isopropanol (Normapur)	VWR International, Darmstadt	C_3H_7OH
Wasserstoffperoxid (30%, p.a.)	Carl Roth, Karlsruhe	H_2O_2
Dichlormethan (extra dry)	Acros Organics, Nidderau	CH_2Cl_2 (DCM)
Dichlormethan (Normapur)	VWR International, Darmstadt	CH_2Cl_2 (DCM)
Toluol (Normapur)	VWR International, Darmstadt	C_7H_8
Toluol (absolute, over mole sieve)	Sigma-Aldrich, Steinheim	C_7H_8
n-Butylamin (99.5 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim	$C_4H_{11}N$
Tetrahydrofuran (analytical reagent)	LabScan, Gliwice, Polen	C_4H_8O (THF)
Salzsäure (Normapur)	VWR International, Darmstadt	HCl
Aceton (Normapur)	VWR International, Darmstadt	C_2H_6O
Schwefelsäure (96 %, p.a.)	Carl Roth, Karlsruhe	H_2SO_4
Chloroform (Normapur)	VWR International, Darmstadt	$CHCl_3$

Zur Reinigung der Oberflächen mit den verschiedenen Lösungsmitteln vor und nach der Modifikation kam ein Ultraschallbad (Bandelin Sonorex, Berlin) zum Einsatz. Die Oxidation der Oberflächen erfolgte durch UV/O_3 in einem UV.TC.EU.003 UV TipCleaner (Bioforce Nanosciences, Inc. Ames, IA, USA). Für die Trocknung der modifizierten Oberflächen wurde Argon 5.0 (Air Liquide Deutschland GmbH) verwendet. Das verwendete deionisierte Wasser stammte aus der hauseigenen Reinstwasseranlage (Elga Purelab Classic UV). Für die verwendeten PDMS-Stempel und die Strukturierung mit flüssigem PDMS wurde ein PDMS-Härter-Kit verwendet (Sylgard® 184 Silicone Elastomer Kit, Dow Corning Corporation, Midland, MI, USA).

Vorbereitung der SiO_x-Oberflächen

Die verwendeten Substrate wurden von iX factory (Dortmund) bezogen. Es handelt sich dabei um BF33-Glaswafer, Si/SiO_x (1000 nm SiO_x), oxidiertes Si/Si_3N_4 und Au/SiO_x (10 nm SiO_x). Die Herstellung der Si/SiO_x und Au/SiO_x-Substrate erfolgte mit Hilfe des PECVD-Verfahrens. Die oxidierten Si/Si_3N_4-Oberflächen wurden dagegen in einem Ofenprozess produziert und anschließend erfolgte eine thermische Oxidation zur Erzeugung einer Oxidschicht auf diesen Oberflächen.

Die SiO_x-Oberflächen wurden, wenn nicht anders vermerkt, mit EtOH gespült, anschließend mit Argon getrocknet und für 30 min mit UV/O_3 oxidiert, um möglichst hydrophile Oberflächen zu erzeugen.

Für die Reinigung der Oberflächen bei der Silanisierung mit PEG (**4**) wurde eine abgewandelte Vorschrift von Schlecht et al.[20] verwendet. Der Reinigung der Au/SiO_x-Oberflächen im siedenden MeOH für 5 min schlossen sich eine Trocknung mit Argon und eine Oxidation mit UV/O_3 für 30 min an. Anschließend erfolgte das Spülen der Oberflächen mit EtOH, um etwaige organische Kontaminationen zu entfernen und nochmals eine Oxidation mit UV/O_3 für 10 min, um eine hohe Anzahl an Oberflächenhydroxidgruppen zu erzeugen. Die so gereinigten Oberflächen wurden sofort für die Silanisierungen verwendet.

Alternativ wurden bei der Modifizierung mit der Verbindung (**5**) Glasobjektträger (VWR International, Darmstadt) geschnitten und 30 min mit einer Mischung aus KOH/ Isopropanol mit 10 Vol. % H_2O_2 gereinigt, mit H_2O gespült und mit Argon getrocknet.

Modifizierung mit Silangemisch (1)

Für die Modifizierung von SiO_x mit dem Silangemisch **1** wurde das Silan (c = 15.5 mM) in trockenem DCM gelöst und die oxidierten Oberflächen in die Lösung eingetaucht. Die Reaktion erfolgte unter einer Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur. Nach Beendigung der Reaktion wurden die Oberflächen mit Toluol gespült, mit DCM und Isopropanol gereinigt, mit Argon getrocknet und sofort verwendet. Das Silangemisch **1** liegt im Verhältnis 3:2 (monosubstituiert: disubstituiert) vor und lässt sich nicht trennen. Da angenommen wird, dass das zweifach substituierte Silan aufgrund sterischer Hinderung nicht mit der Oberfläche reagieren kann, kam das Gemisch zur Modifizierung von SiO_x-Oberflächen zum Einsatz. Die Synthese des Silangemisches **1** wurde bereits in Ref. [A4] veröffentlicht.

Modifizierung mit 1,1,1-Trichlor-13,16,19,22,25,28,31-heptaoxa-1-siladotriacontan (2)

Die Modifizierung von Au/SiO_x mit der Verbindung **2** (c = 2.9 mM) erfolgte unter Schutzgasatmosphäre in absolutem Toluol für 22 h bei Raumtemperatur. Nach der Reaktion wurden die Oberflächen mit Toluol und Isopropanol und für die PM IRRAS-Messungen verwendet.

Modifizierung mit 1,1,1-Trichloro-13,16,19,22-tetraoxa-1-silatricosan (3)

Die Verbindung 1,1,1-Trichloro-13,16,19,22-tetraoxa-1-silatricosan (**3**) (c = 20 mM) wurde unter Schutzgasatmosphäre in absolutem Toluol gelöst und die oxidierten SiO_x für 1-3 h in die Reaktionslösung bei Raumtemperatur eingetaucht. Nach der Reaktion wurden die Oberflächen mit Toluol und Isopropanol gereinigt und für die IR-Messungen sowie für die Protein- und Zelltests verwendet.

Modifizierung mit 2-[Methoxy(polyethyleneoxy)propyl]trimethoxysilan (4)

Für die Modifizierung von Au/SiO_x-Oberflächen kam die Modifizierungsstrategie von Schlecht et al.[20] zum Einsatz. Dazu wurden 2 Vol. % von PEG (**4**) mit 70 mM *n*-Butylamin in absolutem Toluol gelöst und die gereinigten Au/SiO_x-Oberflächen in der Lösung für 3-5.5 h bei Raumtemperatur und 50 °C unter Schutzgasatmosphäre silanisiert. Danach wurden die Oberflächen getrocknet und für 15 min bei 150 °C

ausgehärtet. Die Reinigung der Oberflächen erfolgte durch das Spülen mit THF, CH_2Cl_2, EtOH und H_2O mit anschließender Trocknung durch einen Argonstrom.

Modifizierung mit *N*-(Triethoxysilylpropyl)-O-polyethyleneoxideurethan (5)

Die Modifizierung der mit KOH/Isopropanol/H_2O_2 gereinigten Oberflächen mit Verbindung **5** erfolgte nach der Vorschrift von Yang et al.[291]. Dazu wurde 1 ml der Verbindung **5** mit 2.5 ml 2M HCl in 46.5 ml Isopropanol gelöst und die Objektträger für 60 h bei leichtem Schütteln in diese Lösung gelegt. Die Objektträger wurden mit Isopropanol gewaschen, mit Argon getrocknet und für zwei Tage bei Raumtemperatur ausgehärtet.

Modifizierung mit 1,3-dipolarer Cycloaddition (Click-Chemie)

In Tab. 4 sind die verwendeten Chemikalien und Materialien für die Click-Chemie-Modifizierung aufgelistet.

Tab. 4: Verwendete Chemikalien und Materialien für die Click-Chemie-Modifizierung.

Chemikalie/ Material (Reinheit)	**Hersteller**	**Chemische Formel (Abkürzung)**
4-Pentinsäure (98 %)	ABCR, Karlsruhe	$C_5H_6O_2$
N,*N*'-Dicyclohexylcarbodiimid (99 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim	$C_{13}H_{22}N_2$ (DCC)
4-Dimethylaminopyridin (99 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim	$C_7H_{10}N_2$ (DMAP)
11-Azido-3,6,9-trioxa-1-undecanol (90 %)	FutureChem, Seoul, Südkorea	$C_8H_{17}N_3O_4$
Kupfer(II)sulfat-Pentahydrat (>98 %)	Carl Roth, Karlsruhe	$CuSO_4 \times 5\ H_2O$
(+)-Natrium-L-ascorbat (> 98%)	Sigma-Aldrich, Steinheim	$C_6H_7NaO_6$
Ethylendiamintetraessigsäure (>98.5 %)	Sigma-Aldrich, Steinheim	$C_{10}H_{16}N_2O_8$ (EDTA)

Die Modifizierung von SiO_x-Oberflächen durch die 1,3-dipolare Cycloaddition erfolgte in drei Stufen. In der ersten Stufe wurde eine Amin-Terminierung auf den Oberflächen unter Verwendung der Vorschrift von Ramus et al.[85] erzeugt (Abb. 32). Dazu wurde eine Lösung aus 1 Vol. % APTES (**6**) in H_2O hergestellt, diese Lösung für 10 min zur Hydrolyse des Silans stehen gelassen und die SiO_x-Oberflächen unter leichtem

Schütteln bei Raumtemperatur für 1 h in die APTES-Lösung gelegt. Nach Reinigung mit H_2O, EtOH und Aceton erfolgte eine Trocknung der Oberflächen im Ar-Strom.

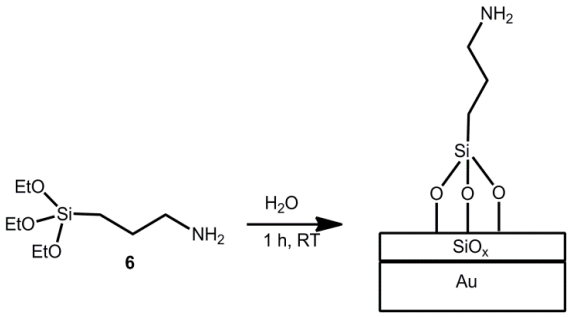


Abb. 32: Erzeugung der Amin-Terminierung bei der Click-Chemie mit APTES (**6**).

Durch Eintauchen der Amin-terminierten Oberflächen in eine Lösung aus 20 mM 4-Pentinsäure (**7**), 40 mM DCC und 40 mM DMAP in $CHCl_3$ für 24 h unter leichtem Schütteln und bei Raumtemperatur kam es zur Ausbildung einer Acetylen-Terminierung auf der Oberfläche (Abb. 33).[229] Die Oberflächen wurden mit DCM, Isopropanol und Aceton gespült und im Argonstrom getrocknet.

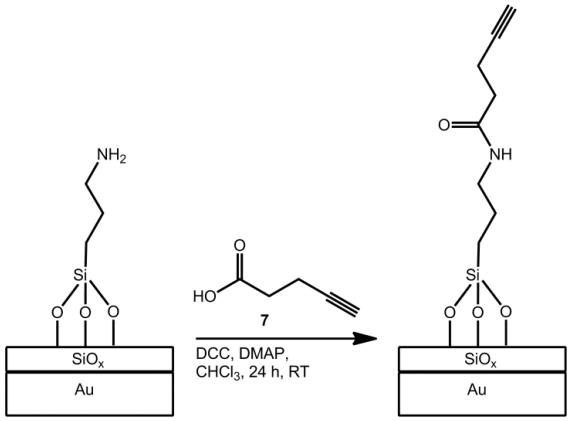


Abb. 33: Erzeugung der Acetylen-Terminierung durch die Ausbildung einer Amidkopplung mit 4-Pentinsäure (**7**).

Durch Verwendung der Vorschrift von Ng et al.[96] ließen sich OEG-Terminierungen erzeugen. Die Acetylen-terminierten Oberflächen wurden in eine Lösung aus 10 mM 11-Azido-3,6,9-trioxa-1-undecanol (**8**), 0.1 mM Kupfer(II)sulfat-Pentahydrat und 1 mM (+)-Natrium-L-ascorbat in H_2O/EtOH (1:1) für 24 h bei leichtem Schütteln und Raumtemperatur eingetaucht (Abb. 34).[96] Nach der Reinigung der Oberflächen mit

H_2O und EtOH und der Trocknung mit Argon erfolgte die Komplexierung der Cu-Ionen durch Eintauchen der Oberflächen in eine Lösung aus 0.05 % EDTA über Nacht. Die Oberflächen wurden anschließend mit H_2O gespült und mit Argon getrocknet.

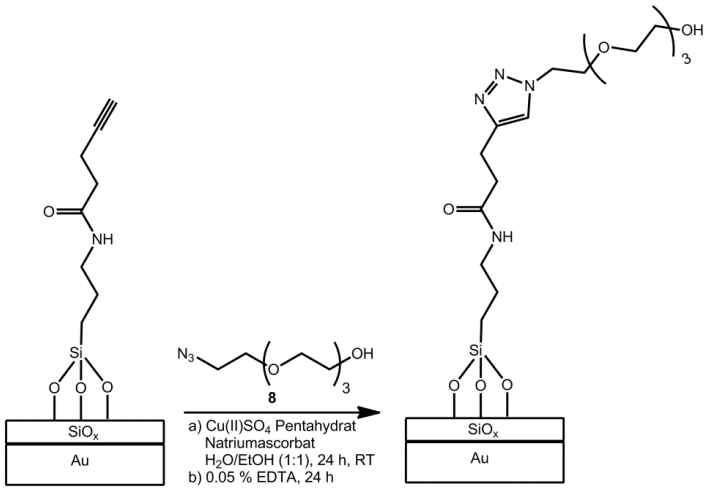


Abb. 34: Erzeugung der OEG-Terminierung durch Umsetzung der Acetylen-Terminierung mit OEG-Azid (**8**).

Mikrokontaktdrucken von Verbindung 1 und 2

Für das µCP von Organosilanverbindungen fand ein PDMS-Stempel mit einer Stegbreite von 34 µm Verwendung. Der Abstand zwischen den Stegen betrug ca. 13 µm. Die verwendeten PDMS-Stempel wurden aus einer Mischung aus 30 g flüssigem PDMS und 3 g Härtersubstanz (10:1) hergestellt, im Wasserstrahlvakuum entgast und über Nacht bei 60 °C ausgehärtet.

Für das Bestempeln von Verbindung **1** wurde ein PDMS-Stempel benetzt und nach der Evaporation des Lösungsmittels der Stempel unter leichtem Druck für 10 s auf eine Glasoberfläche aufgedrückt. Anschließend erfolgte ein Auffüllen (*backfilling*) der Zwischenräume mit 10 mM APTES in EtOH.

Für die Strukturierung von Glasoberflächen mit APTES und Verbindung **2** im µCP wurde zunächst eine 1 Vol. % APTES-Lösung in H_2O hergestellt und für 10 min zur Hydrolyse stehen gelassen. Nach Benetzung des PDMS-Stempels mit der Lösung für 1 min und Trocknung mit Argon wurde der benetzte PDMS-Stempel für ca. 10 s mit der Oberfläche in Kontakt gebracht und die Zwischenräume durch Eintauchen der Oberfläche für 1 Stunde in eine 2.9 mM Lösung der Verbindung **2** in Toluol aufgefüllt.

Nach der Reinigung mit Toluol, Chloroform und Isopropanol erfolgte eine Trocknung im Argonstrom.

4.2 Beschichtung mit Polymerverbindungen

Mikrokontaktdrucken von flüssigem PDMS

Die Strukturierung von Glasoberflächen mit flüssigem PDMS im µCP-Verfahren erfolgte nach der Vorschrift von Frimat et al.[15]. Die verwendeten Master wurden von iX factory (Dortmund) bezogen, vor der Verwendung gereinigt, für 30 min mit UV/O_3 oxidiert und für 30 min in eine Lösung aus 10 mM Tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyltrichlorosilan (97 %, ABCR, Karlsruhe) eingetaucht. Nach der Reinigung mit Toluol und Isopropanol und der Trocknung mit Argon ließen sich die verwendeten PDMS-Stempel, wie oben bereits beschrieben, aus flüssigem PDMS und einer Härtersubstanz (10:1) herstellen. Es wurden dabei zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt. Zum einen ließen sich vorher oxidierte Glasoberflächen mit PDMS strukturieren. Dazu wurde eine Mischung aus PDMS und Härtersubstanz im Verhältnis 10:1 hergestellt, mit Chloroform verdünnt (Verhältnis 1:20 PDMS-Härter/$CHCl_3$) und 500 µl dieser Mischung für 30 s bei 100 Umdrehungen/s auf eine gereinigte Glasoberfläche schleuderbeschichtet (KLM Spincoater Modell SCC-200 mit Vakuumpumpe KL-MVP-01, L.O.T.-Oriel GmbH & Co. KG, Darmstadt). Ein PDMS-Stempel wurde auf die Oberfläche für 10 s unter leichtem Druck angedrückt, danach überschüssiges PDMS durch Bestempeln einer weiteren Glasoberfläche entfernt und die zu strukturierende Oberfläche mit dem mit flüssigem PDMS benetzten Stempel durch leichtes Andrücken strukturiert und anschließend bei 60 °C ausgehärtet.

Zum anderen wurde zunächst ein dünner PDMS-Film auf eine Glasoberfläche mit Hilfe des Spincoaters aufgebracht, nach dem Aushärten für 1 Stunde mit UV/O_3 oxidiert und anschließend wie bereits oben beschrieben mit PDMS im µCP strukturiert.

Herstellung von PDMS-Stempel für Zelladhäsionsuntersuchungen

Für die Erzeugung der Stempel wurden perfluorierte Master verwendet, eine Mischung aus flüssigem PDMS und Härter (10:1) auf den Master gegossen, im Wasserstrahlvakuum entgast und für 20 min bei 60 °C ausgehärtet. Die Stempel ließen sich nach dem Entfernen von den Vorlagen mit etwas PDMS/Härter auf runde

Deckgläser kleben. Die Aushärtung fand über Nacht bei 60 °C statt. Die PDMS-Stempel wurden in Aluminiumtüten verschweißt und für die Zelladhäsionsuntersuchungen an die Kooperationspartner an der Universität Rostock geschickt.

Beschichtung von SiO_x-Oberflächen mit Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylenglycol (PLL-*g*-PEG)

Das PLL-*g*-PEG (PLL(20)-g[3.5]-PEG(2), SuSoS, Dübendorf, Schweiz) wurde wie im mitgelieferten Protokoll beschrieben in 10 mM 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES)-Pufferlösung (c = 1 M, bioreagent, pH = 7.4, Sigma-Aldrich, Steinheim) oder in PBS mit einer Konzentration von 1 mg/ml gelöst. Die einheitliche Oberflächenmodifizierung erfolgte durch Eintauchen der oxidierten Glasobjektträger für 30 min in die Lösung. Die Oberflächen wurden durch Spülen mit H_2O, HEPES und H_2O gereinigt und im Argonstrom getrocknet. Die Strukturierung der modifizierten Oberflächen gelang zum einen durch die Bestrahlung für 10 min mit UV/O_3 durch ein Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)-Gitter (Mesh 50) als Schattenmaske und zum anderen durch die Verwendung des µCP-Verfahrens nach der Vorschrift von Csucs et al.[22] Dazu wurden PDMS-Stempel für 30 min in eine Lösung aus PLL-*g* -PEG in 10 mM HEPES-Puffer (c = 1 mg/ml, pH = 7.4) eingetaucht, mit Argon getrocknet und die so benetzten Stempel für ca. 15 s auf die Glasoberflächen aufgedrückt. Die strukturierten Glasoberflächen wurden mit H_2O, HEPES und wieder H_2O gespült und mit Argon getrocknet.

4.3 Erzeugung von Collagenfilmen

Die Collagenadsorption auf Gold erfolgte nach der Vorschrift aus der Dissertation von Ahlers.[62] Dazu wurde eine Proteinlösung aus Collagen (c = 4.41 mg/ml, Typ I, aus dem Rattenschwanz in 0.02 M Essigsäure, BD Bioscience, Deutschland) mit phosphatgepufferter Salzlösung (pH = 7.4, engl. *phosphate buffered saline*, PBS) auf eine Konzentration von 0.1 mg/ml verdünnt. Der PBS-Puffer wurde aus 4 g NaCl (99.9 %, VWR International, Darmstadt), 0.1 g KCl (99.6 %, VWR International, Darmstadt), 0.72 g Na_2HPO_4 (reagent grade, Scharlau Chemie S. A., Deutschland) und 0.12 g KH_2PO_4 (≥99 %, Carl Roth, Karlsruhe), gelöst in H_2O, hergestellt. Nach der Reinigung der verwendeten Au-Substrate mit H_2O und EtOH und der Oxidation für 30

min mit UV/O_3 erfolgte die Adsorption von Collagen für 10 min bei 4 °C. Die Au-Oberflächen wurden mit Wasser gespült, mit Argon getrocknet und anschließend mit dem AFM untersucht.

Die verwendeten TiO_xC_y-Oberflächen wurden von Celine Rüdiger[67] an der Technischen Universität München hergestellt. Nach dem Reinigen der Oberflächen mit EtOH und der Oxidation für 10 min mit UV/O_3 erfolgte die Collagenadsorption aus einer Lösung aus Collagen (c = 0.1 mg/ml) in PBS bei 4 °C und einer Adsorptionsdauer von 1 Stunde. Die Oberflächen wurden danach mit H_2O gespült, mit Argon getrocknet und durch PM IRRAS als auch elektrochemisch charakterisiert.

Die Bildung des Collagenfilms auf vorher für 30 min oxidierten SiO_x-Oberflächen erfolgte bei 4 °C für 10 min aus einer Lösung aus Collagen (c = 0.1 mg/ml) in PBS. Nach dem Spülen mit H_2O und Trocknen mit Argon wurden die Oberflächen mit dem AFM charakterisiert.

4.4 Elektrochemische Charakterisierung von TiO_xC_y-Oberflächen

Für die elektrochemische Charakterisierung der TiO_xC_y-Oberflächen kam ein Aufbau bestehend aus einer Teflonzelle mit der TiO_xC_y-Oberfläche als Arbeitselektrode, einer Ag|AgCl| 3M KCl -Referenz-Elektrode und einem Platindraht als Gegenelektrode zum Einsatz. Um die TiO_xC_y-Substrate als Arbeitselektroden zu verwenden, wurden diese mit einem Au-Draht kontaktiert. Die Messung von Cyclovoltammogrammen in PBS, 0.1 M NaCl, 0.1 M H_2SO_4 und in 0.1 M H_2SO_4 mit 1 mM Ferrocenmethanol (Alfa Aesar, Karlsruhe) erfolgte bei unterschiedlichen Scangeschwindigkeiten. Diese lassen sich unter den jeweiligen Abbildungsbeschreibungen finden.

Kapazitätsmessungen der modifizierten TiO_xC_y-Oberflächen erfolgten mit der Wechselstromvoltammetrie (engl. *alternating current voltammetry*, ACV) in PBS und in 0.1 M NaCl mit dem Potentiostat CHI 600A electrochemical analyzer von CH Instruments Inc. (Austin, Texas, USA) mit der Software CHI (Version 2.06). Der Scanbereich für die CV- und ACV-Aufnahmen lag zwischen -0.2 und 1.0 V vs. Ag|AgCl| 3M KCl.

4.5 Kontaktwinkelmessung

Die Wasserkontaktwinkel von reinen und modifizierten Oberflächen wurden mit einem Kontaktwinkelmessgerät OCA 15plus von DataPhysics (Filderstadt), ausgestattet mit einer CCD-Kamera und der SCA20-Software (Version 1.0.0) zur Auswertung der Kontaktwinkel, gemessen. Die Berechnung der Kontaktwinkel erfolgte, wenn nicht anders vermerkt, mit der Laplace-Young-Gleichung der Software. Die Tropfengröße betrug 2 µL und es wurden die gemittelten Werte aus drei Messungen auf verschiedenen, frisch modifizierten Oberflächen angegeben.

4.6 Proteinadsorptions- und Zelladhäsionsuntersuchungen

Für die Untersuchung der Proteinadsorption auf OEG- und PEG-terminierten Oberflächen wurden die OEG3- und PEG-terminierten Substrate für 1 Stunde in eine Proteinlösung aus Fibrinogen-Alexa 488-Konjugat (c = 0.1 mg/ml, aus menschlichem Plasma, Molecular Probes) in PBS (0.1 M Phosphat, 0.15 M NaCl, pH = 7.4)[28] eingetaucht. Anschließend wurden die Oberflächen mit H_2O gespült und mit Argon getrocknet. Die OEG3-terminierten Substrate wurden zur Erzeugung von strukturierten Oberflächen vor der Proteinadsorption für 10 min in einem UV TipCleaner durch ein TEM-Gitter (Mesh 300) als Maske oxidiert und die Proteinadsorption mit der konfokalen Laserrastermikroskopie (engl. *confocal laser scanning microscopy*, CLSM) TCS SP2 AOBS von Leica Microsystems GmbH (Wetzlar) charakterisiert. Die Anregung des Farbstoffes erfolgte bei einer Wellenlänge von 488 nm und die Fluoreszenz wurde in einem Spektralbereich von 500-535 nm detektiert. Mit Fibrinogen-Alexa 488-Konjugat behandelte PEG-terminierte Au/SiO_x-Oberflächen wurden für die PM IRRAS-Messung verwendet.

Die Strukturierung von OEG3- und OEG-Urethan-terminierten SiO_x-Oberflächen für Zelladhäsionsuntersuchungen erfolgte durch die Oxidation für 10 min mit UV/O_3 unter der Verwendung eines Athene Sjostrand-Gitters (75 und 150 µm breite Aussparungen) als Schattenmaske. Der Projektpartner führte die Zelladhäsionsuntersuchungen auf den strukturierten Oberflächen sowohl mit humanen embryonalen Nierenzellen (HEK) 293 Passage 80 (engl. *human embryonic kidney cells*) als auch mit Gliazellen durch. Zelltests mit der Verbindung **1** auf BF33 und Si/SiO_x wurden mit HEK293-Zellen im Arbeitskreis von Prof. Dr. Koch (Universität Oldenburg) sowie an der Universität Rostock beim Projektpartner durchgeführt. Die Zelladhäsionsuntersuchungen auf mit

PLL-*g*-PEG und PDMS strukturierten Oberflächen wurden mit HEK293-Zellen und neuronalen Zellen an der Universität Rostock durchgeführt.

5. Oberflächenmodifikationen mit synthetisierten Oligo- und Polyethylenglycol-terminierten Silanen

5.1 Oberflächenmodifikationen mit 1,1,1-Trichlor-4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,12,12,13,13-icosafluoro-2,15,18,21,24,27,30,33-octoxa-1-silatetriacontan

In diesem Kapitel wird die Charakterisierung eines neu synthetisierten OEG-terminierten Silans mit einer perfluorierten Alkylkette als Rückgrat beschrieben. Die Ergebnisse wurden bereits in Ref. [A4] publiziert.

Die Idee war es, eine neue Verbindung zu synthetisieren, welche zwei unterschiedliche funktionelle Einheiten in einer Verbindung kombiniert. Bei diesen Einheiten handelt es sich um die perfluorierte Alkylkette und die OEG-Terminierung. Mit dieser neuen Verbindung **1** lassen sich SiO_x-haltige Oberflächen modifizieren. Durch das neue Silan **1** ist es möglich, die zell- und proteinabweisenden Eigenschaften der OEG-Einheiten mit den hydrophoben Eigenschaften einer perfluorierten Alkylkette zu kombinieren, wobei das Einbringen der hydrophoben perfluorierten Alkylkette zu einer stabileren Silanschicht führt. Wie bereits beschrieben, kommt es bei der Lagerung von Monolagen aus Silanen in wässrigen Lösungen zur Hydrolyse der Si-O-Si-Bindung. Diese Hydrolyse führt zu einem Abbau der Silanschicht. Durch die hydrophobe, perfluorierte Alkylkette soll die Hydrolyse der Si-O-Si-Bindung zwischen Silan und Oberfläche unterbunden oder erschwert werden. Perfluorierte Verbindungen sind zudem lipophob, besitzen eine gute Biokompatibilität sowie eine hohe chemische und biologische Trägheit.[292, 293]

Ein wesentlicher Nachteil betrifft die komplizierte Darstellung der Verbindung **1**. Der starke elektronenziehende Effekt des Fluoratoms auf das benachbarte Kohlenstoffatom erschwert eine nukleophile Substitution im klassischen Sinne.[114, 294]

5.1.1 Charakterisierung mittels XPS-Messungen

Die Durchführung der XPS-Messungen der Verbindung **1** auf Si/SiO_x-Oberflächen erfolgte mit einer Al Kα-Quelle. Zuvor wurden die Si/SiO_x für drei Stunden mit einer 15.5 mM Lösung aus Verbindung **1** und Dichlormethan modifiziert. In Abb. 35 ist das Übersichtspektrum dargestellt. Es lassen sich die typischen Photoelektronensignale für Si 2p, Si 2s, C 1s, O 1s und F 1s und die dazugehörigen Augersignale von C KVV, F $KL_{23}L_{23}$, F KL_1L_{23}, O $KL_{23}L_{23}$ und O KL_1L_{23} finden.

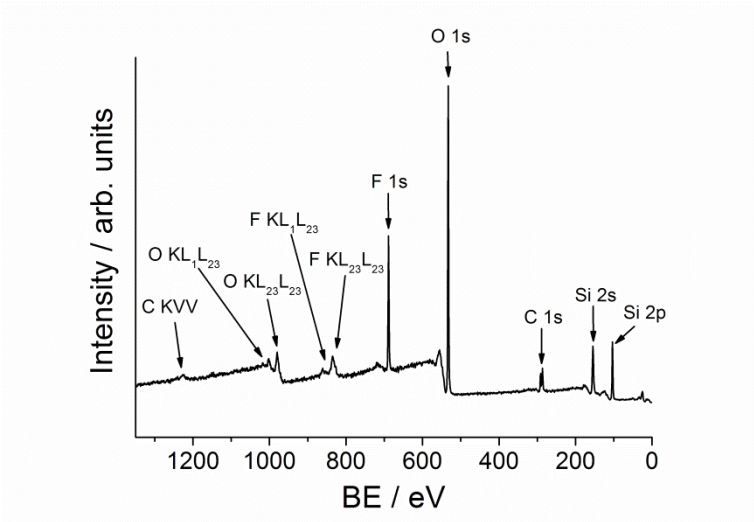


Abb. 35: XPS-Übersichtsspektrum von Verbindung **1** auf Si/SiO_x.

Im hochaufgelösten C 1s-Spektrum lassen sich zwei Hauptmaxima erkennen (Abb. 36). Zum einen lässt sich ein Signal bei einer Bindungsenergie von 286.6 eV finden. Dieses Signal stammt vom C-Atom der CO-Gruppen der OEG-Einheiten.[79, 295, 296] Es ist bekannt, dass die Kohlenstoffatome der Ethylenglycoleinheiten in PEG-terminierten Silanen eine Bindungsenergie von 286.8 eV aufweisen. Dies steht in guter Übereinstimmung mit dem gemessenen Wert für die CO-Einheiten der Verbindung. Zum anderen findet sich ein zweites Hauptmaximum bei einer Bindungsenergie von 291.5 eV und kann den Kohlenstoffatomen der CF_2-Gruppen der perfluorierten Alkylkette zugeordnet werden. Typische Bindungsenergien für C-Atome in CF_2-Gruppen liegen zwischen 291.0 und 292.4 eV.[297, 298] Kumar et al.[297] konnten für ein perfluoriertes Polymer eine Bindungsenergie für das CF_2-Signal von 292.4 eV finden. Für eine aus 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*,-Perfluorodecyltrichlorsilanen gebildete SAM auf einer oxidierten Si(100)-Oberfläche fanden Fréchette et al.[298] eine Bindungsenergie von

291.5 eV für die $\underline{C}F_2$-Gruppe der Verbindung. Dieser Wert stimmt gut mit dem gemessenen Wert der Verbindung überein. Evans et al.[296] fanden für eine SAM aus perfluorierten Thiolen auf Gold eine Bindungsenergie bei 291.0 eV für das Kohlenstoffatom der $\underline{C}F_2$-Gruppe der perfluorierten Alkylkette. Ein weiteres kleines Signal im C 1s bei 284.4 eV lässt sich der Oberflächenkontamination durch Kohlenwasserstoffe zuordnen. Typische Bindungsenergien hierfür lassen sich zwischen 284 und 285 eV finden.[79, 298]

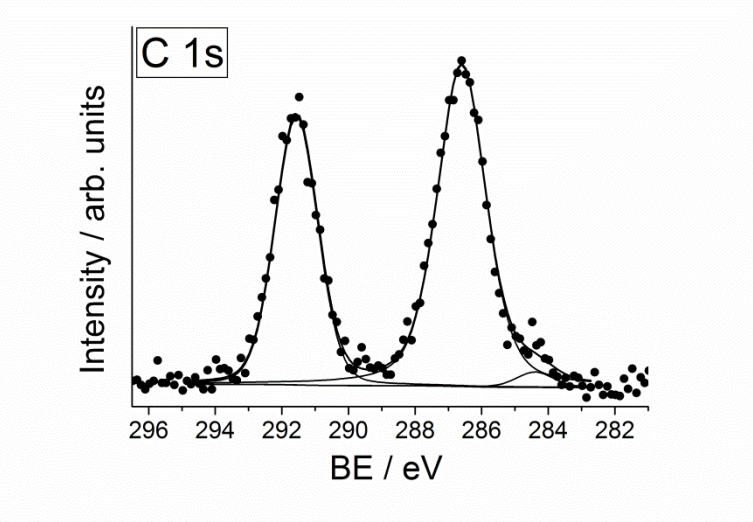


Abb. 36: Hochaufgelöstes C 1s-Spektrum der Verbindung **1** auf Si/SiO_x.

Aus dem hochaufgelöstem C 1s-Spektrum (Abb. 36) lässt sich zudem das atomare Verhältnis der $\underline{C}F_2$-Einheiten zu den $\underline{C}O$-Einheiten bestimmen. Es wird ein Verhältnis von $N(\underline{C}F_2):N(\underline{C}O)$ = 1:1.52 gefunden. Ausgehend von der Strukturformel der monosubstituierten Verbindung stehen den 10 C-Atomen der $\underline{C}F_2$-Gruppen 12 C-Atome aus den $\underline{C}O$-Gruppen der OEG-Einheiten, ein C-Atom der $O\underline{C}H_3$-Endgruppe sowie zwei C-Atome der $\underline{C}H_2$-Gruppen, die zwischen der Siliciumkopfgruppe, der perfluorierten Alkylkette und den OEG-Einheiten liegen, gegenüber. Daraus ergibt sich ein theoretisches Verhältnis für $N(\underline{C}F_2):N(\underline{C}O)$ von 1:1.5, das dem Verhältnis aus dem C 1s-Spektrum entspricht und darauf hindeutet, dass die Verbindung **1** an der Siliciumoberfläche adsorbiert ist.

Abbildung 37 zeigt das hochaufgelöste XPS-Spektrum der F 1s-Linie. Es lässt sich ein Signal finden, dass dem Fluoratom der $C\underline{F}_2$-Kette zugeordnet werden kann. Die Bindungsenergie des Signals liegt bei 688.7 eV. Für das F 1s-Signal perfluorierter

SAMs auf oxidierten Si(100)-Oberflächen konnten Fréchette et al.[298] eine Bindungsenergie von 688.8 eV messen. Ebenfalls konnten Kristalyn et al.[75] für perfluorierte SAMs auf Siliciumdioxidoberflächen eine Bindungsenergie von 689.1 eV für das F 1s messen.

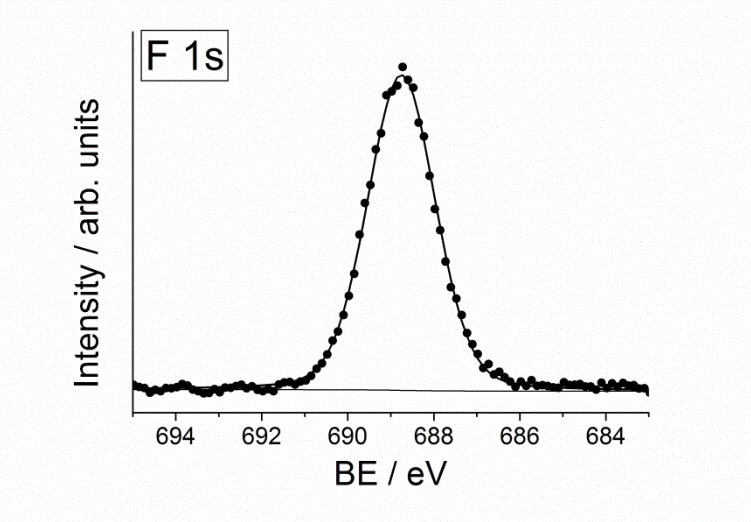


Abb. 37: Hochaufgelöstes F 1s-Spektrum der Verbindung **1** auf Si/SiO_x.

In der O 1s-Region findet sich ein breites Signal mit einem Maximum bei 532.9 eV (Abb. 38). Diese Bindungsenergie lässt sich zum einen den O-Atomen in der SiO_x-Schicht und zum anderen den Sauerstoffatomen der OEG-Terminierung der Verbindung zuordnen.[295] In der Literatur findet man für OC-Einheiten von PEG-terminierten Silanen eine Bindungsenergie von 533.0 eV.[79] Diese steht in guter Übereinstimmung mit den gefundenen Werten für das O 1s-Signal.

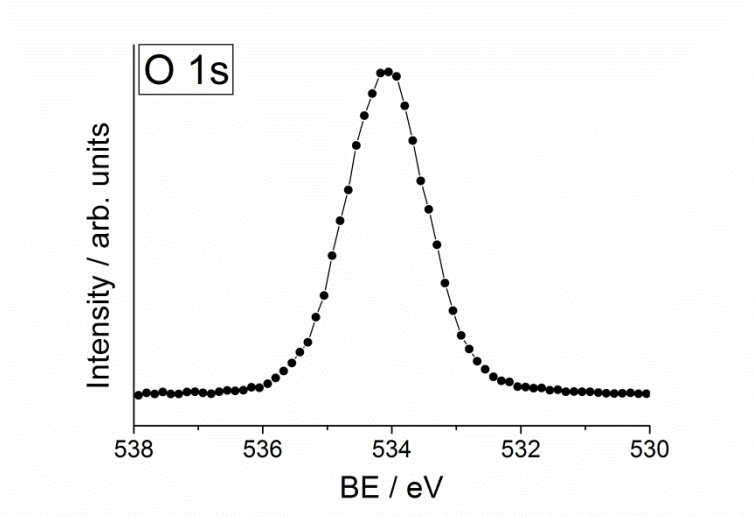


Abb. 38: Hochaufgelöstes O 1s-Spektrum der Verbindung **1** auf Si/SiO_x.

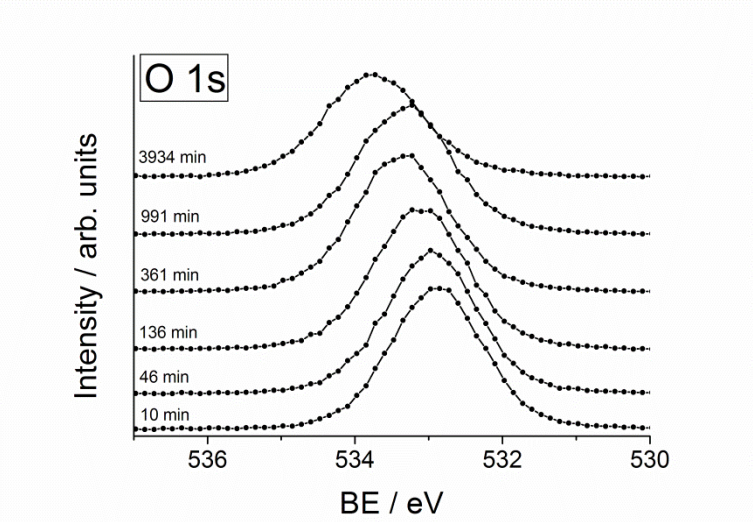


Abb. 39: Veränderung im XPS-Spektrum von O 1s während der der Dauer der Messung von 10-3934 min.

Während der Messung kommt es zu einer Veränderung der Signale in den C 1s-, F 1s- und O 1s-Spektren. Im O 1s-Spektrum kommt es zur Verschiebung der O 1s-Linie von 532.9 eV zu 533.8 eV (Abb. 39). Dies könnte auf den Verlust der OEG-Einheiten und auf die Desorption von Wasserspuren hinweisen. Im C 1s kommt es zunächst zu einer Verringerung der Intensität des CO-Signals bei 286.6 eV, das nach ca. 391 min komplett aus dem Spektrum verschwindet (Abb. 40). Diese Intensitätsverringerung könnte zusammen mit der beobachteten Verschiebung des O 1s auf den Verlust von OEG-Einheiten der OEG-Terminierung hindeuten. Zeitgleich kommt es zu einer Intensitätssteigerung des Signals bei 284.4 eV (Abb. 40). Dies könnte für eine Zunahme

der Kohlenstoffoberflächenkontamination sprechen, die sich während der Messung an der Oberfläche des Substrates ablagern.

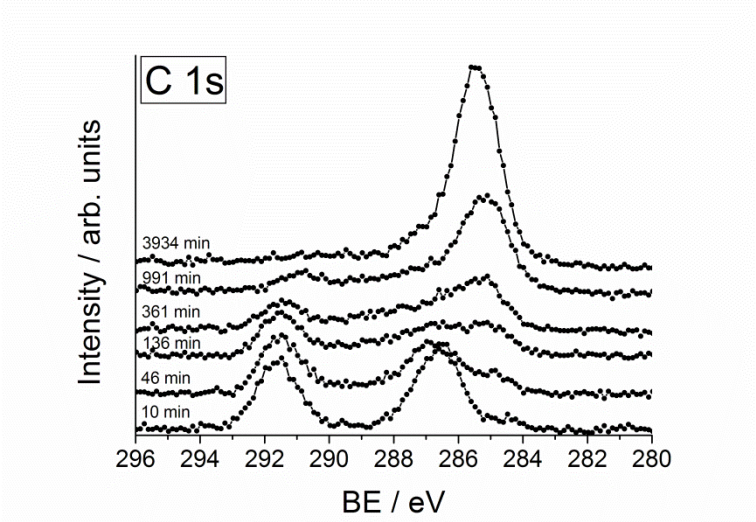
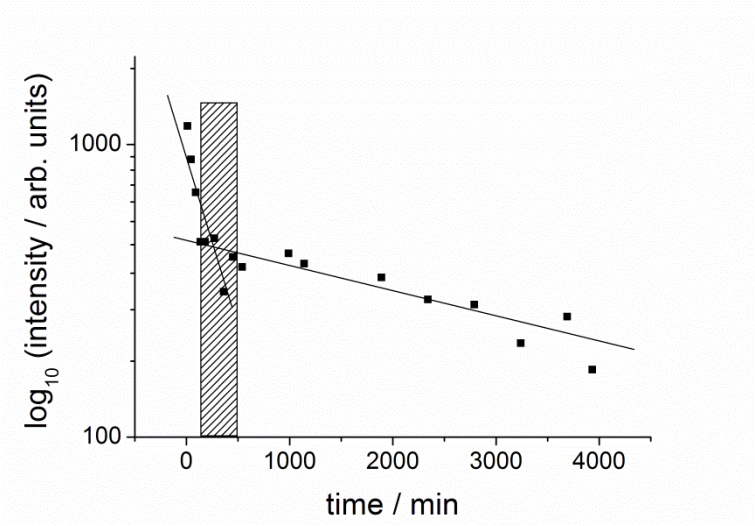


Abb. 40: Veränderung im XPS-Spektrum von C 1s während der Dauer der Messung von 10-3934 min.

Ebenfalls kommt es während der Messung zur Abnahme der Intensität des $\underline{C}F_2$-Signals, was auf den Verlust von perfluorierten Alkylketten oder auf die Reduktion der Fluoratome hindeutet. Durch Auftragung des Logarithmus der Intensität gegen die Zeit lässt sich erkennen, dass es während der XPS-Messung zu einem schnelleren Abbau des $\underline{C}O$-Signals kommt als es bei der Abnahme des $\underline{C}F_2$-Signals der Fall ist (Abb. 41a, 41b). Dies lässt sich damit erklären, dass es zunächst zu einem Verlust der OEG-Einheiten kommt und erst im zweiten Schritt die CF_2-Kette, die unter den OEG-Einheiten liegt, zerstört wird.

a)



b)

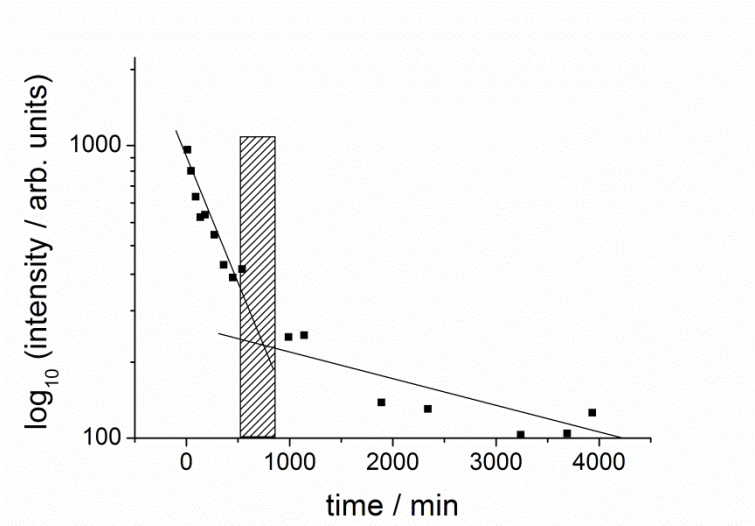


Abb. 41: Veränderung im XPS-Spektrum von C 1s während der Dauer der Messung a) C 1s von CO; b) C 1s von CF_2.

Ebenso kommt es während der Messung zu einer Verringerung der Intensität des F 1s–Signals und einer Verschiebung der Bindungsenergie um ca. 0.8 eV von 688.7 eV zu 687.9 eV (Abb. 42a). Dieser Verlust der Intensitäten der F 1s-Linie steht im Einklang mit dem Verlust des CF_2-Signals im C 1s-Spektrum (Abb. 40, Abb. 41b) und weist auf den Verlust von perfluorierten Alkylketten-Einheiten an der Oberfläche hin. Fréchette et al.[298] konnten bei ihrem perfluorierten SAMs auf Si(100) durch thermische Anregung eine Verschiebung der F 1s-Linie von 688.8 eV zu 687.9 eV beobachten. Der Verlust von F-Atomen führt dazu, dass es zu einer Abwinklung der übrigen F-Einheiten von der vertikalen Ausrichtung in einer gut gepackten SAM kommt. Dabei kann die Nähe zwischen einzelnen F-Atomen und der elektronenreichen SiO_x-Oberfläche zu einer

Anhebung der MO-Energien führen. Dies führt dann zur Verschiebung in Richtung niedriger Bindungsenergien.[298]

a)

b)

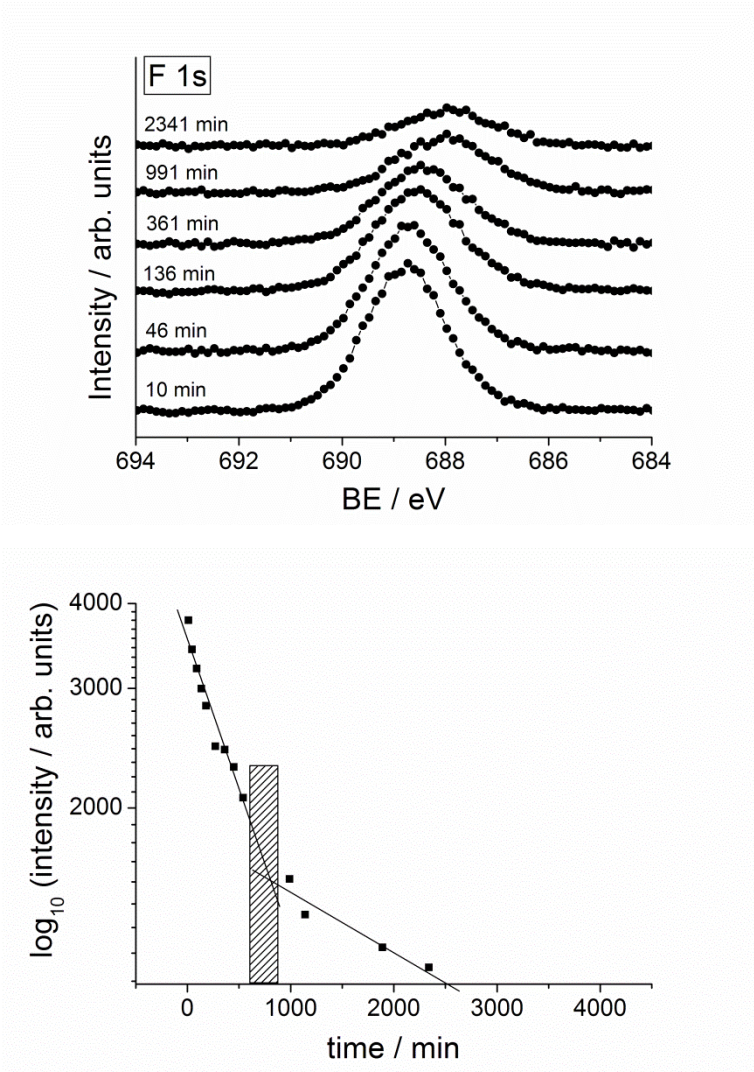


Abb. 42: Veränderung im XPS-Spektrum von F 1s während der Dauer der Messung von 10-2341 min. a) Übersichtspektrum, b) Auftragung Log_{10}(Intensität) gegen die Zeit.

In der Auftragung des Log_{10} der Intensität gegen die Zeit lässt sich erkennen, dass die Abnahme der Intensität des $C\underline{F}_2$-Signals (Abb. 41b) ähnlich schnell erfolgt wie die Abnahme der Intensität des Signals im F 1s-Spektrum (Abb. 42b).

5.1.2 Charakterisierung mittels SFM-Messungen

Die Charakterisierung von reinen und modifizierten Substraten hinsichtlich der Topographie und der Materialeigenschaften wie Reibungskraftunterschiede lässt sich mittels SFM-Messungen durchführen. Hierzu wurden vorher gereinigte und für 30 Minuten oxidierte Au/SiO_x- und SiO_x-Oberflächen sowie mit der Verbindung **1**

modifizierte Au/SiO_x- und SiO_x-Oberflächen mit verschiedenen Modi vermessen. Für die SFM-Aufnahmen von Au/SiO_x wurde der Kontaktmodus verwendet und die Messungen in deionisierten Wasser durchgeführt.

Die Aufnahmen der Au/SiO_x-Oberflächen zeigen eine von Partikeln übersäte Struktur, die einer Goldoberfläche ähnelt. Diese Strukturen stammen von der unter der SiO_x-Schicht liegenden Goldoberfläche, die thermisch auf einen Glasobjektträger aufgedampft wurde. Die Partikel weisen im Durchschnitt einen Durchmesser von ca. 156 nm und eine Höhe von 1-2 nm auf (Abb. 43).

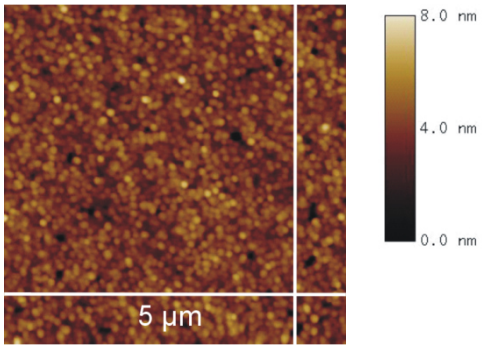


Abb. 43: SFM-Aufnahme einer reinen Au/SiO_x-Oberfläche im Kontaktmodus in Wasser.

Die Oberflächenrauigkeit RMS (*root mean square*) eines 5×5 µm^2-Ausschnitts einer reinen Au/SiO_x beträgt (0.94 ± 0.04) nm. Die gereinigte und oxidierte Oberfläche wurde dann für drei Stunden in eine Lösung der Verbindung **1** eingetaucht. Hierbei steigt die Oberflächenrauigkeit RMS leicht auf (1.27 ± 0.12) nm an. Auch steigt die Partikelhöhe auf 3-5 nm an (Abb.44).

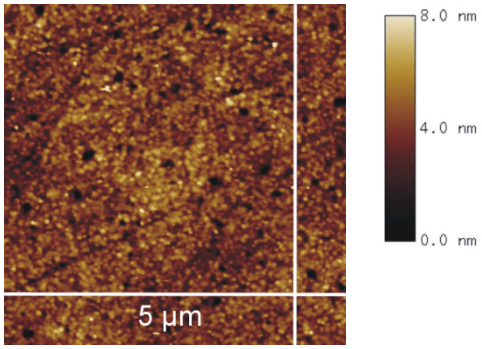


Abb. 44: Au/SiO_x-Oberfläche nach Eintauchen in eine Lösung aus Verbindung **1** in Dichlormethan für drei Stunden.

Im Reibungskraftmodus können die einheitlichen Oberflächeneigenschaften einer reinen und einer modifizierten Au/SiO_x dargestellt werden. Nach der Modifikation mit dem Silan **1** kommt es zur Verringerung der lokalen Reibungskräfte (Abb. 45).

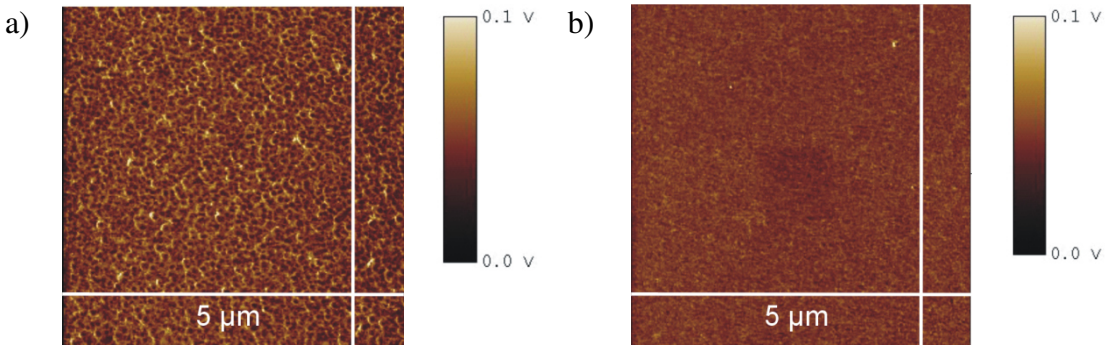


Abb. 45: Reibungskraft-Aufnahmen von a) einer reinen oxidierten Au/SiO_x und b) nach dreistündiger Modifikation mit Verbindung **1**.

Dies ist auch von perfluorierten Silanmonolagen bekannt und beruht auf der Tatsache, dass es zu einer Verringerung der Interaktion zwischen SFM-Spitze und Probe kommt.[299] Ebenso konnten Tizazu et al.[300] die Verringerung der lokalen Reibung nach Modifikation einer Glasoberfläche mit einem OEG-terminierten Silan beobachten, indem sie die Glasoberfläche zunächst mit dem OEG-Silan modifizierten und anschließend durch eine Schattenmaske die Oberfläche oxidierten. Die geschützten OEG-terminierten Areale wiesen im LFM eine geringere Reibungskraft auf als die ungeschützten oxidierten Bereiche. Hier konnten durch die Photodegradation oxidische Verbindungen entstehen, die besser mit der hydrophilen Messspitze interagieren können.[300]

Im Gegensatz zum Verhalten auf Au/SiO_x kommt es bei der Modifizierung von SiO_x-Oberflächen mit dem Silan mit Zunahme der Reaktionszeit zu einer Zunahme der Oberflächenrauigkeit RMS und Partikelhöhe. Die Rauigkeit einer reinen BF33-Oberfläche von 5 × 5 μm^2 beträgt zunächst (0.27 ± 0.01) nm. Nach ca. einer Minute in der Reaktionslösung steigt diese auf (1.16 ± 0.13) nm an. Die Partikelhöhe nimmt ebenfalls zu und liegt bei (2.9-5.4) nm (Abb. 46b). Nach 10 min steigt die RMS auf (4.0 ± 1.0) nm und die Partikelhöhe nimmt auf (7.2 bis 13.8) nm zu (Abb. 46c). Nach 60 min ist die Oberfläche von Partikeln, die eine Größe von (1.1 × 0.6) nm^2 aufweisen, bedeckt. Die Oberfläche hat nun eine RMS von (8.07 ± 0.29) nm und die Partikelhöhe ist auf 29.2 nm angestiegen (Abb. 46d).

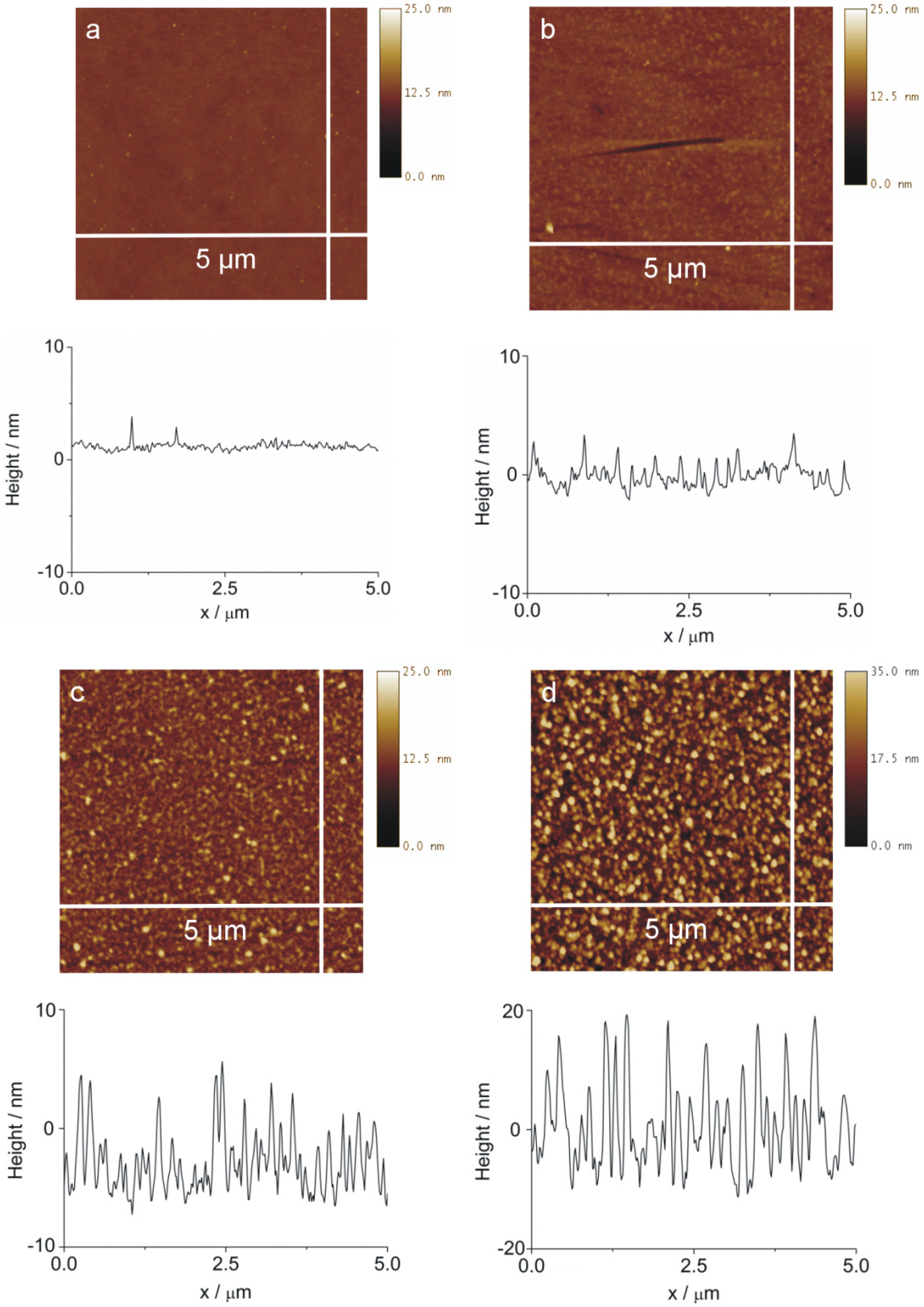


Abb. 46: Topographie-Aufnahmen im Tapping Mode™ von a) einer reinen, oxidierten BF33-Oberfläche, b) nach 1 Minute, c) nach 10 Minuten und d) nach 60 Minuten Modifizierung mit Verbindung **1**.

Auf Si/SiO_x steigt der RMS von zunächst (0.46 ± 0.03) nm auf (8.09 ± 0.11) nm nach vier Stunden in der Reaktionslösung an. Ein ähnliches Verhalten wurde von Bunker et al.[299] und Pellerite et al.[301] bereits beschrieben. Sie beobachten die Zunahme von Aggregaten und die dadurch einhergehende Erhöhung der RMS bei der Modifizierung von Si-Oberflächen mittels perfluorierten Silanen. Pellerite et al.[301] konnte durch die Modifikation einer Si-Oberfläche mit 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-Perfluordodecylsilan in Heptan zeigen, dass die Adsorption des Silans von der Reaktionszeit abhängig ist. Es entstanden Filme mit Partikelhöhen von 1.5 bis 15.0 nm während der Variation der Reaktionszeiten zwischen einer und 60 Minuten.

Die Adsorption der Verbindung OEG-perfluoriert **1** führt auf BF33 und Si/SiO_x-Oberflächen zur Multilagenausbildung und zur Erzeugung von ungleichmäßigen Filmen auf den Oberflächen. Ein möglicher Grund dafür könnte die Adsorption von Oligomeren auf den Oberflächen sein, die in der Reaktionslösung durch Hydrolyse und Polymerisationsreaktionen zwischen den einzelnen Monomeren entstanden sind.

Die neue Verbindung **1** wurde zudem mit dem PFM-SFM untersucht, da die Verwendung dieses Modus die Messungen von Oberflächeneigenschaften wie Adhäsion und Steifigkeiten ermöglicht. Um die neue Verbindung **1** mit dem PFM-SFM zu charakterisieren wurden mit Hilfe des µCP-Verfahrens SiO_x-Oberflächen strukturiert.

Abbildung 47 zeigt das Topographiebild, die Adhäsionsaufnahme sowie die Steifigkeit einer mit Verbindung **1** und APTES (**6**) strukturierten Oberfläche. Die Verbindung **1** wurde dazu auf einen festen PDMS-Stempel aufgebracht und nach Evaporation des Lösungsmittels auf die vorher oxidierte Oberfläche gestempelt. Anschließend erfolgte ein Auffüllen der Zwischenräume mit APTES. Für die PFM-SFM-Aufnahmen wurden hydrophile COOH-terminierte AFM-Spitzen verwendet. Diese erlauben die bessere Darstellung von Adhäsionseigenschaften aufgrund stärkerer Wechselwirkungen mit hydrophilen Bereichen auf der Oberfläche.

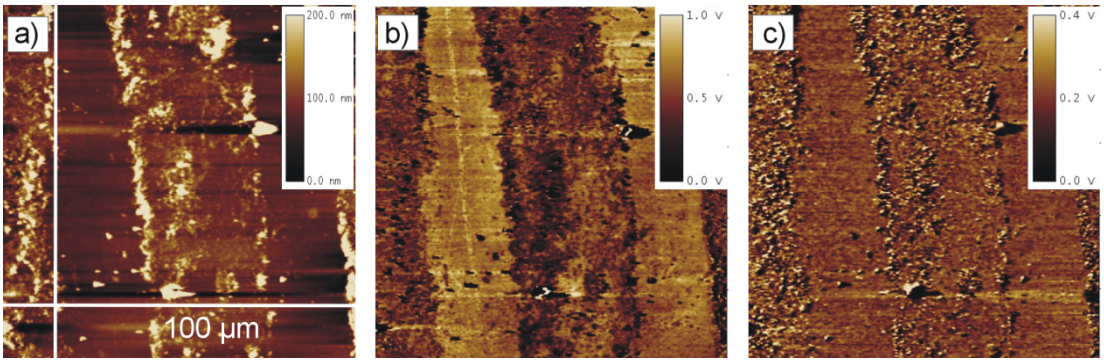


Abb. 47: PFM-SFM-Aufnahmen einer mit APTES und Verbindung **1** strukturierten Glasoberfläche: a) Topographie, b) Adhäsion und c) Steifigkeit. Dunkle Bereiche stellen die gestempelten Strukturen dar.

Es lässt sich in allen drei Aufnahmen die Stempelstruktur erkennen. Zudem zeigen sich große Agglomerationen im Topographiebild. Diese könnten von der Polymerisation der Verbindung **1** an der PDMS-Oberfläche durch die Luftfeuchtigkeit stammen. Die Agglomerationen lassen sich sowohl im Adhäsionsbild (Abb. 47b) als dunklere Strukturen als auch in der Steifigkeitsaufnahme (Abb. 47c) erkennen. Die gestempelten Strukturen sind in der Adhäsion als deutlich dunklere Bereiche dargestellt. Dies deutet auf eine geringere Wechselwirkung der hydrophoberen Oberfläche mit der hydrophilen AFM-Spitze hin. Dahingegen zeigen sich deutlich stärkere Wechselwirkungen zwischen der hydrophilen NH_2-terminierten Oberfläche und der hydrophilen COOH-terminierten Messspitze. Diese könnte durch die Ausbildung von positiv-geladenen NH_3^+-Einheiten auf der Oberfläche und negativ-geladenen COO^--Einheiten an der AFM-Spitze entstehen. Das Steifigkeitsbild zeigt dagegen eine eher einheitliche Oberfläche. Die oben erwähnten Agglomerate in den Topographieaufnahmen stellen ein Problem dar. Diese könnten durch Höheneffekte die Adhäsion- und Steifigkeitsmessungen beeinflussen.

Die Agglomeration der neuen Verbindung **1** konnte in verschiedenen AFM-Messungen auf Si/SiO_x- und Glasoberflächen beobachtet werden. Möglicherweise adsorbieren neben der monosubstituierten Verbindung auch das Nebenprodukt sowie Polymerisationsprodukte auf der Oberfläche. Auf Au/SiO_x konnten dagegen keine Agglomerationen beobachtet werden. Möglicherweise ist dies von der Oberflächenstruktur des Substrates abhängig.[A4]

5.1.3 IR-Charakterisierung mittels PM IRRAS

Um die PM IRRAS-Technik für die Charakterisierung von Multilagen der Verbindung **1** auf SiO_x zu nutzen, werden spezielle IR-reflektierende Substrate benötigt. Bei diesen Substraten handelt es sich um Au/SiO_x-Oberflächen. An der dünnen SiO_x-Schicht kann die Verbindung **1** durch Chemisorption gebunden werden. Die Au-Schicht wirkt als Spiegel in den PM IRRAS-Messungen. Abbildung 48 zeigt das PM IRRA-Spektrum der adsorbierten Verbindung **1** auf Au/SiO_x im Bereich von 3100-2700 cm^{-1} nach unterschiedlich langen Reaktionszeiten.

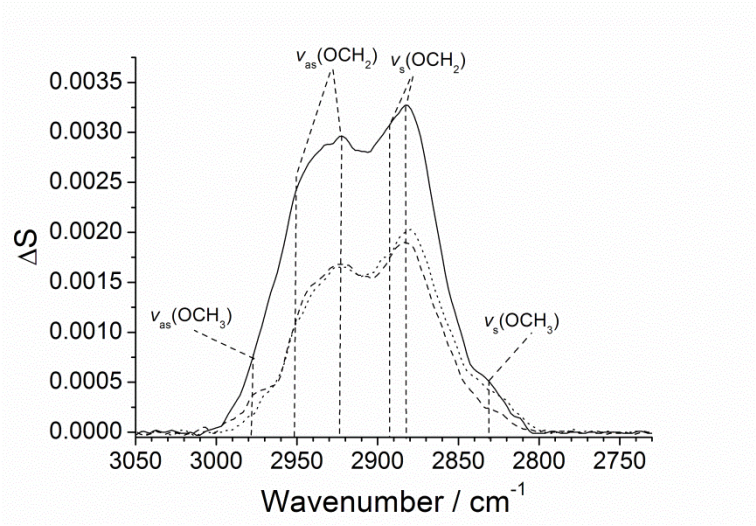


Abb. 48: PMIRRA-Spektum der CH-Streckschwingungen der Verbindung **1** im Bereich von 3100-2700 cm^{-1} nach Reaktionszeiten von 3 h (gepunktete Linie), 24 h (gestrichelte Linie) und 48 h (durchgängige Linie).

Da die Verbindung **1** zwischen der Silicium-Kopfgruppe und den OEG-Einheiten eine überwiegend perfluorierte Alkylkette besitzt, stammen die Signale der CH-Streckschwingungen ausschließlich von den OEG-Einheiten und den beiden restlichen CH_2-Gruppen, die ebenfalls an einen Sauerstoffatom gebunden sind. Die Intensität der Signale nimmt mit der Zeit der Selbstorganisation zu und nach 48 Stunden lassen sich keine weiteren Veränderungen im PM IRRA-Spektrum erkennen. Dies spricht für eine langsame Monolagenausbildung der Verbindung **1**. Im CH-Spektrum lassen sich Signale für die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der OCH_3- und OCH_2-Gruppen unterscheiden. Die $\nu_{as}(OCH_3)$- und $\nu_s(OCH_3)$-Streckschwingungen stammen von der Methoxy-Endgruppe der OEG-Einheiten und können bei (2976 ± 3) cm^{-1} für die $\nu_{as}(OCH_3)$-Streckschwingung und (2830 ± 5) cm^{-1} für die

$\nu_s(OCH_3)$-Streckschwingung als schwache Absorptionsbanden detektiert werden.[302] Des Weiteren erscheinen im CH-Streckschwingungsspektrum die Absorptionsbanden für die $\nu_{as}(OCH_2)$- und $\nu_s(OCH_2)$-Streckschwingungen der OEG-Einheiten sowie der CH_2-Gruppen der Alkylkette, die ebenfalls an einem Sauerstoffatom gebunden sind. Durch die Anwendung der 2. Ableitung des CH-Streckschwingungspektrums lassen sich Minima bei (2949 ± 4) cm^{-1}, (2923 ± 2) cm^{-1}, (2892 ± 4) cm^{-1} und (2879 ± 1) cm^{-1} erhalten, die den $\nu_{as}(OCH_2)$- und $\nu_s(OCH_2)$-Streckschwingungen zugeordnet werden können.[302, 303]

Der Vergleich der PM IRRA-Spektren von Verbindung **1** auf Au/SiO_x mit einer SAM von OEG-terminierten perdeuterierten Alkanthiolen auf Gold zeigt, dass die schwachen Intensitäten der CH-Streckschwingungen der Verbindung **1** auf Au/SiO_x von einer schwachen Bedeckung stammen (Abb. 49).[73, 137, 303]

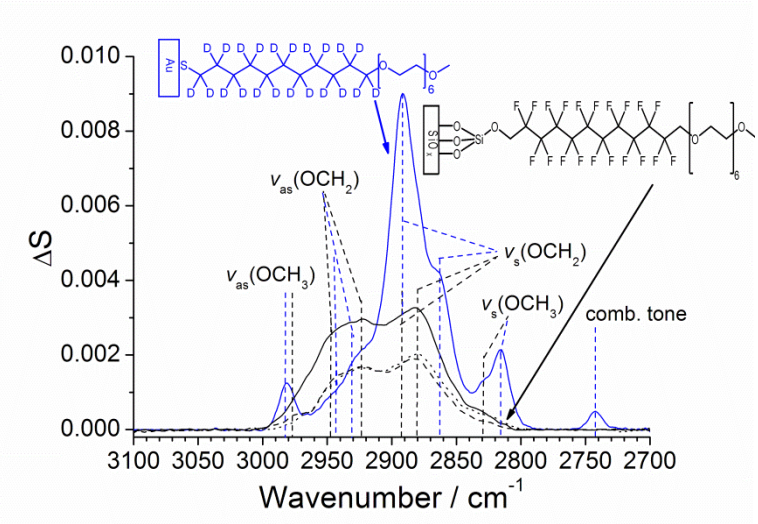


Abb. 49: PM IRRA-Spektrum im Bereich der CH-Streckschwingungen von Verbindung **1** auf Au/SiO_x nach 3 h (gepunktete Linie), 24 h (gestrichelte Linie) und 48 h (schwarze durchgängige Linie) Reaktionszeit im Vergleich zu einer SAM auf Au aus perdeuterierten OEG-Thiolen (blaue durchgängige Linie).

Ebenfalls zeigt die Verbindung **1** eine andere Packung an der Oberfläche als die analoge SAM auf Au. Dies führt zu den schwächeren CH-Streckschwingungssignalen im Vergleich zu dem perdeuterierten OEG-Thiol auf Au. Ein weiterer Unterschied stellt das Signal für die symmetrische CH-Streckschwingung $\nu_s(OCH_2)$ dar. Dieses Signal stellt bei 2879 cm^{-1} die stärkste Absorptionsbande dar. Bei Thiolen auf Au-Oberflächen findet man allerdings die stärkste Absorptionsbande für $\nu_s(OCH_2)$ bei 2890 cm^{-1}.[73, 137]

Dies lässt darauf schließen, dass die OEG-Ketten einer unterschiedlichen Orientierung unterliegen. Der Vektor des Übergangsdipolmoments für $\nu_s(OCH_2)$ ist bei 2879 cm^{-1} senkrecht zur Längsachse der OEG-Kette orientiert, während der Vektor des Übergangsdipolmoments für die $\nu_s(OCH_2)$-Streckschwingung des Thiols auf Au bei 2890 cm^{-1} parallel orientiert ist (Abb. 50).[302]

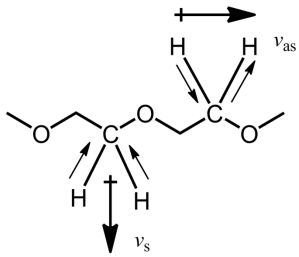


Abb. 50: Übergangsdipolmoment der asymmetrischen (ν_{as}) und symmetrischen (ν_s) Streckschwingungen in OEG-Einheiten.

Dies lässt auf eine große Abwinkelung der OEG-Kette zur Oberflächennormalen schließen, die auf eine geringe Packungsdichte in der organischen Dünnschicht von Verbindung **1** auf Au/SiO_x hinweist.

Abbildung 51 zeigt die PM IRRA-Spektren im Bereich von 1500-900 cm^{-1} der adsorbierten Verbindung **1** auf Au/SiO_x. Das normierte PM IRRA-Spektrum sowie dessen 2. Ableitung sind für eine reine sowie für modifizierte Au/SiO_x-Oberflächen für unterschiedliche Reaktionszeiten dargestellt (Abb. 51a, 51b). Ebenso ist das Differenzspektrum der Monolagen von **1** und dem Hintergrundspektrum dargestellt (Abb. 51c). Im normierten PM IRRA-Spektrum lässt sich eine starke Absorptionsbande bei 1245 cm^{-1} mit einer breiten Schulter bei 1122 cm^{-1} beobachten. Diese beiden Banden lassen sich der transversalen und der längsverlaufenden asymmetrischen Streckschwingung ν_{as}(SiOSi) zuordnen und stammen aus dem dünnen SiO_x-Film auf der Au-Oberfläche.[60, 304] Da auch die charakteristischen Schwingungen unter anderem für die CF_2-Gruppen in diesem IR-Bereich erwartet werden, wurden die 2. Ableitungen der Spektren gebildet. In diesen Ableitungen lassen sich nun weitere Signale finden, die der Verbindung **1** zugeordnet werden können.

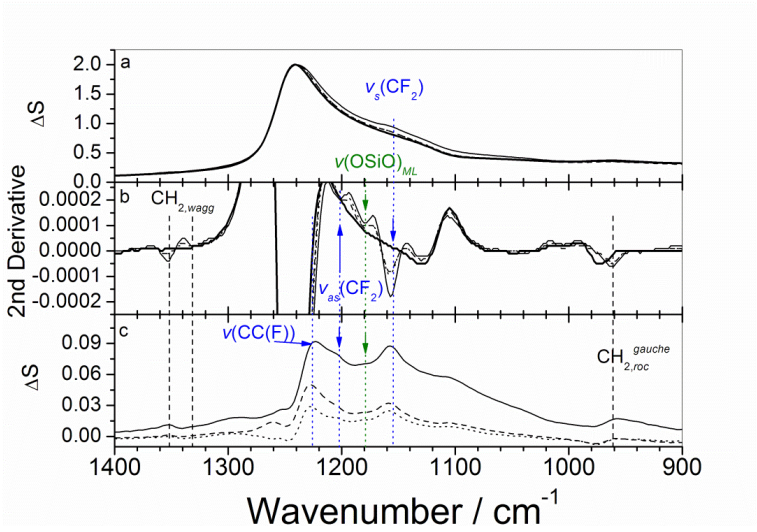


Abb. 51: PMIRRA-Spektren im Bereich von 1400-900 cm^{-1}. a) Normiertes PMIRRA-Spektrum der Verbindung auf Au/SiO_x, b) Darstellung der 2. Ableitung der normierten Spektren und c) Differenzspektrum von Verbindung **1** und Hintergrundspektrum nach Adsorptionszeiten von 3 Stunden (gepunktete Linie), 24 Stunden (gestrichelte Linie) und 48 Stunden (dünne durchgängige Linie) sowie einer unmodifizierten Au/SiO_x-Oberfläche (dicke durchgängige Linie).

Die 2. Ableitung des PM IRRA-Spektrum zeigt verschiedene Minima für die Verbindung bei 1353 cm^{-1}, 1203 cm^{-1}, 1179 cm^{-1}, 1158 cm^{-1}, 1129 cm^{-1} und 961 cm^{-1}. Durch die Normierung der Spektren und der anschließenden Bildung des Differenzspektrums zwischen der modifizierten Oberflächen und dem Hintergrundspektrum lassen sich die Minima der Verbindung **1** zuordnen. Die Absorptionsbande bei 1353 cm^{-1} stammt von den CH_2-Wippschwingungen in den amorphen, ungeordneten Phasen der OEG-Ketten.[137, 302] Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden kommt es zu einer Zunahme der Intensität einer schwachen Absorptionsbande bei 1330 cm^{-1}. Zusätzlich lässt sich eine Bande bei 961 cm^{-1} finden. Diese Absorptionsbande kann den CH_2-Schaukelschwingungen der OEG-Einheiten zugeordnet werden.[72, 73] Das Auftreten dieser beiden Banden legt die Vermutung nahe, dass ein Teil der OEG-Einheiten in einer *gauche*-Konformation vorliegt und Teile der OEG-Terminierungen eine helikalen Form annehmen.[72, 73] Die geringe Intensität der CH_2-Streckschwingung sowie die Form der Absorptionsbande in Kombination mit der schwachen CH_2-Wippschwingung zeigt, dass in den Monolagen der Verbindung **1** Fragmente der OEG-Ketten in einem amorphem Zustand vorliegen und die OEG-Ketten ungeordnet und schlecht gepackt sind. In der 2. Ableitung lassen sich auch Absorptionsbanden für die perfluorierte Alkylkette finden. Das Minimum bei 1203 cm^{-1}

lässt sich der $\nu_{as}(CF_2)$-Schwingung zuordnen.[305] Das Signal bei 1158 cm^{-1} stammt von den $\nu_s(CF_2)$- sowie $\delta(CF_2)$-Schwingungen.[305, 306] Selbstorganisierte Monolagen von 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-Perfluordecyltrichlorosilanen auf ITO zeigen IR-Absorptionsbanden für die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der CF_2-Gruppen bei 1212 cm^{-1} und 1152 cm^{-1}.[110] Auf silikatischen Oberflächen lassen sich die CF_2-Absorptionsbanden bei 1210 und 1148 cm^{-1} finden.[305] Im Differenzspektrum lässt sich zusätzlich bei 1226 cm^{-1} ein Signal beobachten, dass der ν(CC(F))-Streckschwingung zugeordnet werden kann.[305] Des Weiteren lassen sich noch zwei schwache Banden bei 1130 cm^{-1} und 1179 cm^{-1} identifizieren. Die Absorptionsbande bei 1130 cm^{-1} stammt von den COC-Streckschwingungen der OEG-Einheiten,[73, 302] der CC-Progressionsschwingung der Perfluoralkylkette[306] sowie der SiOSi-Streckschwingung der SiO_x-Oberfläche, da das Signal auch in der 2. Ableitung des Spektrums der nicht modifizierten Oberfläche zu finden ist.[60] Die Bande bei 1179 cm^{-1} könnte von der ν_{as}(OSiO)-Streckschwingung des O-Si-O-Gitters stammen.[307, 308]

5.1.4 Kontaktwinkelmessungen

Für die Kontaktwinkelmessungen wurden zunächst gereinigte und mit UV/O_3 oxidierte Au/SiO_x-, Si/SiO_x- und BF33-Oberflächen vermessen. Die Kontaktwinkel für Wasser lagen bei ungefähr 0°. Dies spricht für eine sehr hydrophile Oberfläche und eine hohe Anzahl an OH-Gruppen auf den Substraten. Nach der Modifizierung mit der Verbindung **1** stieg der Kontaktwinkel auf ca. 80° an. Für die Au/SiO_x-Oberflächen nach der Modifizierung mit Verbindung **1** konnte ein Kontaktwinkel von (77 ± 3)° gemessen werden. Für den Wasserkontaktwinkel der Si/SiO_x- und BF33-Oberflächen nach der Modifizierung lassen sich Werte um (82 ± 1)° finden. Methoxy-terminierte OEG-Thiole mit einer C_{11}-Alkylkette auf Au- oder Ag-Substraten haben einen Kontaktwinkel von 63°.[72, 73] Für Methoxy-terminierte OEG-Silane mit einer C_{11}-Alkylkette lassen sich Werte um 69° auf SiO_x-Oberflächen finden.[14] Für reine perfluorierte Silane auf SiO_x-Oberflächen lassen sich dagegen Kontaktwinkel von 110 bis 120° messen.[75, 299, 301, 309] Der gemessene Kontaktwinkel der Verbindung **1** lässt darauf schließen, dass sowohl die OEG-Terminierung als auch die perfluorierte Alkylkette Einfluss auf den Kontaktwinkel nehmen. Es ist bekannt, dass nicht nur die Terminierung, sondern auch die Molekül-Struktur den Kontaktwinkel bestimmt.[118] So konnten Hoffmann und Tovar[118] für eine SAM aus einem $CH_3O(OEG)_3(CH_2)_{11}$-

Dimethylmonochlorsilan einen minimalen Vortriebskontaktwinkel (*advancing contact angle*) von ca. 81° messen. Sie begründeten den höheren Kontaktwinkel mit einer geringeren Packungsdichte und einer höheren Unordnung in den Schichten aus dem Dimethylsilan im Gegensatz zu OEG-terminierten Thiolen auf Gold.[118] Der gemessene hohe Kontaktwinkel der Verbindung **1** zeigt, dass auch hier eine geringe Packungsdichte und eine hohe Unordnung in den Multilagen der Verbindung vorhanden sein müssen. Die geringe Erniedrigung des Kontaktwinkels der Verbindung **1** auf Au/SiO_x zu Si/SiO_x spricht für einen höheren Grad an Ordnung der Filme auf den Au/SiO_x-Substraten.

5.1.5 Zelladhäsionsuntersuchungen

Zur Untersuchung der zellabweisenden Wirkungen wurden Oberflächen mit Verbindung **1** modifiziert und anschließend mit HEK293-Zellen besiedelt. Dies geschah für modifizierte und unmodifizierte BF33-Oberflächen im Arbeitskreis von Prof. Dr. Koch an der Universität Oldenburg sowie für Si/SiO_x-Oberflächen nach der Modifikation mit **1** an der Universität Rostock beim Projektpartner PoreGenic®. Die modifizierten Oberflächen sowie reine Oberflächen, die als Kontrolloberflächen dienten, wurden mit 70 % Ethanol sterilisiert und in 6-Wellplatten mit 2 ml HEK/N2A-Medium und einer HEK-Zellen-Konzentration von 360000 Zellen/ml für 2 Stunden bei 37.5 °C in einer 5% CO_2/95% Luft-Atmosphäre (v/v) inkubiert. Danach wurden die Oberflächen mit PBS gespült und in ein frisches Nährmedium gelegt. Nach 6 Tagen wurden die Oberflächen unter dem Lichtmikroskop beobachtet und Aufnahmen durchgeführt. Abbildung 52 zeigt einen reinen sowie mit der Verbindung **1** modifizierten BF33-Wafer nach 6 Tagen Inkubation mit HEK293-Zellen.

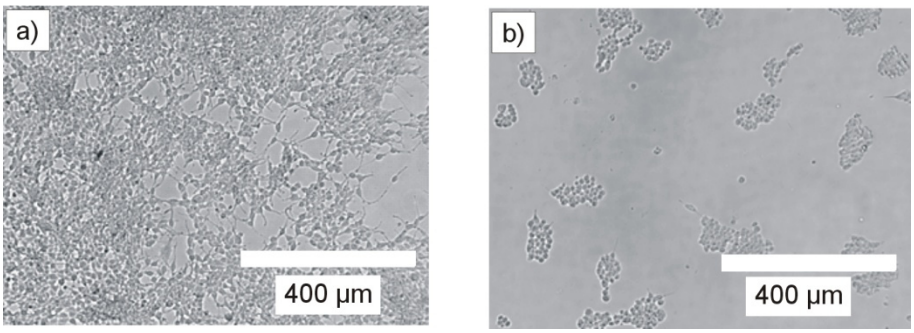


Abb. 52: Optische Mikroskopaufnahmen nach der Zellbesiedelung mit HEK293-Zellen einer a) reinen und b) mit Verbindung **1** modifizierten BF33-Glasoberfläche nach 6 Tagen.

Nach 6 Tagen haben sich die Zellen auf der Kontrolloberfläche ausgebreitet und bilden einen zusammenhängenden Film (Abb. 52a). Dabei zeigen die Zellen eine längliche Form. Diese Form deutet darauf hin, dass ein Großteil der Zellen direkt auf der Oberfläche liegt und anwachsen konnte. Dahingegen lassen sich nur wenige Zellen auf der mit dem Silan **1** modifizierten Oberfläche beobachten (Abb. 52b). Die Zellen sind zu ca. (50 × 150) μm^2 großen Cluster zusammengewachsen und die einzelnen Zellen weisen zudem eine eher rundliche Form auf. Es ist bekannt, dass eine rundliche Form der Zellen eher auf schwache Adhäsion oder den Zelltod hindeutet.[199] Auch die Si/SiO_x-Oberfläche zeigt ein ähnliches Verhalten der Zellen nach der Modifikation mit dem Silan (Abb. 53). Die neue Verbindung **1** wirkt auf verschiedenen siliciumhaltigen Oberflächen zellabweisend. Neben der OEG-Einheit der Verbindung spielt wahrscheinlich auch die hydrophobe, perfluorierte Alkylkette eine entscheidene Rolle bei der zellabweisenden Wirkung der Verbindung. Es ist bekannt, dass auch perfluorierte Monolagen auf SiO_x-Oberflächen diese gegenüber dem Biofouling durch Proteine oder Zellen aufgrund der hohen Hydrophobizität passivieren.[7] Ein Problem von OEG-terminierten Oberflächen ist die geringe Stabilität, die meist nur für einige Tage anhält.[154, 155, 310] Ein Grund dafür ist die Hydrolyse der Silicium-Sauerstoff-Bindung von Silan zum SiO_x. Da die Verbindung auf SiO_x relativ dicke Schichten erzeugt und eine sehr hydrophobe Alkylkette besitzt, kann die Hydrolyse möglicherweise verlangsamt werden, wodurch die Oberfläche länger gegenüber dem Biofouling stabil bleibt.

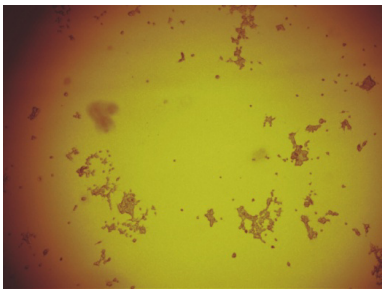


Abb. 53: Optische Mikroskop-Aufnahme einer mit Verbindung **1** modifizierten Si/SiO_x-Oberfläche nach der Inkubation mit HEK293-Zellen nach 6 Tagen.

5.2 Oberflächenmodifikationen mit OEG und PEG-terminierten Silanen auf SiO_x

5.2.1 IR-Charakterisierung von OEG- und PEG- Silane auf SiO_x

Durch die IR-Spektroskopie lassen sich die Absorptionsbanden von adsorbierten OEG- und PEG-terminierten Silanverbindungen detektieren. Die Positionen der Absorptionsbanden lassen Aussagen über den physikalischen Zustand und die Kettenkonformation zu. Für die IR-Charakterisierung wurden sowohl die abgeschwächte Totalreflexion-IR-Technik (engl. *attenuated total reflection*, ATR) als auch die PM IRRAS-Technik verwendet. Die Verbindung OEG3 (**3**) wurde mit der ATR-Technik untersucht. Hierzu wurde zunächst eine Hintergrundmessung einer reinen Si/Si_3N_4-Oberfläche durchgeführt. Anschließend wurde dieser Hintergrund vom Absorptionsspektrum der adsorbierten Verbindung **3** abgezogen und das reine Absorptionsspektrum der Verbindung OEG3 erhalten. Die Verbindungen OEG6 (**2**), PEG (**4**) und OEG6-perfluoriert (**1**) wurden mit Hilfe der PM IRRAS-Technik charakterisiert. Dafür wurden Au/SiO_x-Substrate mit diesen Verbindungen modifiziert. Die so erhaltenden Absorptionsspektren wurden mit Literaturwerten verglichen. Tabelle 5 und Tabelle 6 zeigen die Absorptionsbanden im CH-Streckschwingungsbereich der Verbindungen.

Tab. 5: Vergleich der von den OEG- und PEG-Einheiten stammenden IR-Absorptionsbanden der Verbindung OEG3 (**3**), OEG6 (**2**) und PEG (**4**) mit OEG6-perfluoriert (**1**) sowie Literaturwerten für OEG-Terminierungen.

	Position [cm^{-1}]					
Bande	**OEG3**	**OEG6**	**PEG nach 5.5 h 50°C**	**OEG6-perfluoriert**	**Literatur**	**Ref.**
$\nu_{as}(OCH_3)$	2976	2987	2987	2976 ± 3	*2981* ***a***	[73, 137, 302]
			2970		*2885* ***b***	
$\nu_{as}(OCH_2)$	2949	2950	2941	2949 ± 4	*2942* ***a***	[73, 137, 302]
			2950		*2950* ***b***	
$\nu_{s}(OCH_2)$	2896	2900	2902	2892 ± 4	*2892* ***a***	[73, 137, 302]
			2898		*2900* ***b***	
$\nu_{s}(OCH_2)$	2889	2883	2873	2879 ± 1	*2870*	[73, 137, 302, 311]
			2888		*2880-2882*	
$\nu_{s}(OCH_3)$	2813	2818	2819	2830 ± 5	*2814-2816*	[73, 137, 302]

a: fester, kristalliner Zustand **b**: flüssiger Zustand

Tab. 6: Vergleich der von den Alkylketten stammenden IR-Absorptionsbanden der Verbindung OEG3 (**3**), OEG6 (**2**) und PEG (**4**) mit OEG6-perfluoriert (**1**) sowie Literaturwerten für OEG-Terminierungen.

	Position [cm^{-1}]					
Bande	**OEG3**	**OEG6**	**PEG nach 5.5 h 50°C**	**OEG6-perfluoriert**	**Literatur**	**Ref.**
$\nu_{as}(CH_3)$	2964	2968	-		*2963 u. 2953* ***a***	[312-314]
					2964 ***b***	
$\nu_{as}(CH_2)$	2924	2928	2925	2923 ± 2	*2914-2921* ***a***	[312-314]
	2933		2933		*2925-2932* ***b***	
$\nu_{s}(CH_3)$	2876	-	-		*2877* ***a*** *und* ***b***	[312-314]
$\nu_{s}(CH_2)$	2854	2857	2856		*2849-2851* ***a***	[312-314]
					2853-2856 ***b***	

a: fester, kristalliner Zustand **b**: flüssiger Zustand

Für die Verbindung OEG3 (**2**) lassen sich zwei Hauptabsorptionsmaxima bei 2924 und 2854 cm^{-1} beobachten, die sich der asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingung der CH_2-Einheiten der C_{11}-Alkylkette der Verbindung zuordnen lassen (Abb. 54). Daneben zeigt das Spektrum weitere kleinere Absorptionsbanden bei 2976 cm^{-1}, 2964 cm^{-1}, 2896 cm^{-1}, 2889 cm^{-1}, 2876 cm^{-1} und 2813 cm^{-1}, die sich den $\nu_{as}(OCH_3)$-, $\nu_{as}(CH_3)$-, $\nu_{s}(OCH_2)$, $\nu_{s}(OCH_2)$-, $\nu_{s}(CH_3)$- und $\nu_{s}(OCH_3)$-Streck-

schwingungen zuordnen lassen. Durch Verwendung der 2. Ableitung lassen sich zusätzlich zwei Absorptionsbanden bei 2949 und 2933 cm^{-1} detektieren, die von den asymmetrischen Streckschwingungen der OCH_2-Gruppen sowie von den asymmetrischen Streckschwingungen der CH_2-Gruppen der Alkylkette stammen könnten. Die $\nu_{as}(CH_3)$ bei 2964 cm^{-1} könnte von Verunreinigungen stammen.

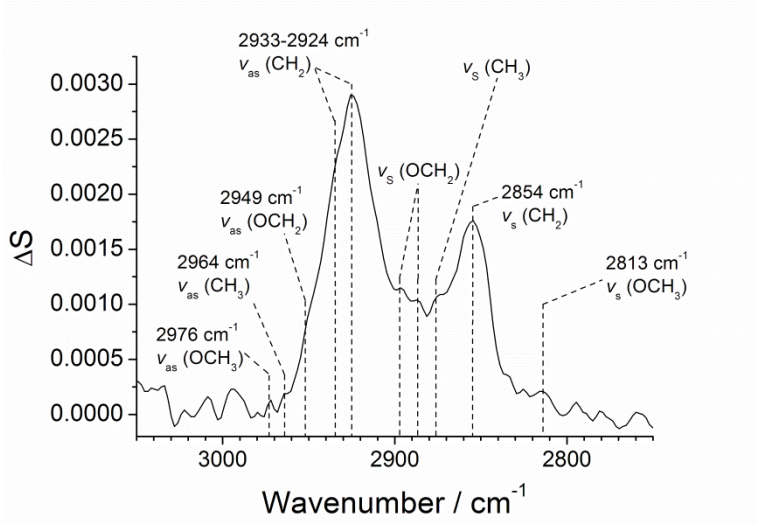


Abb. 54: ATR-IR im Bereich von 3050 bis 2750 cm^{-1} nach Modifizierung einer oxidierten Si/Si_3N_4-Oberfläche mit der Verbindung **3**.

Die Position der $\nu_{as}(OCH_3)$-Absorptionsbande liegt bei einer ähnlichen Wellenzahl wie bei der Verbindung **1**. Sie ist zu niedrigeren Wellenzahlen verschoben, als dies bei OEG-Terminierungen von Alkanthiol-SAMs der Fall ist. Dies könnte für eine geringere Packungsdichte sprechen. Die Position der $\nu_{as}(OCH_2)$- und $\nu_s(OCH_2)$-Banden sind vergleichbar mit den Absorptionsbandenpositionen solcher OEG-Einheiten im flüssigen Zustand. Die Absorptionsbanden für die ν_{as} und ν_s-Absorptionen der CH_2-Einheiten der Alkyl-Kette liegen bei 2924 und 2854 cm^{-1}.[314, 315] Für Silane auf SiO_x-Oberflächen lassen sich ähnliche Positionen dieser Absorptionsbanden finden. Die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der CH_2-Einheiten bei SAMs aus Alkylsilanen liegen bei vergleichbaren Werten während bei Alkanthiolen auf Gold diese Absorptionsbanden bei 2918 und 2850 cm^{-1} auftreten.[316] Diese Verschiebungen zeigen, dass die adsorbierte Verbindung **3** eher in einem flüssigen, ungeordneten Zustand als in einem festen, gut-gepackten Zustand vorliegt und eine hohe Anzahl an *gauche*-Konformeren aufweist.[312, 313] Im Spektralbereich von 1600 bis 1000 cm^{-1} zeigt das ATR-IR-Spektrum drei starke Absorptionsbanden bei 1459 cm^{-1}, 1255 cm^{-1} und

1100 cm^{-1} (Abb. 55). Diese Absorptionsbanden lassen sich der $\delta(CH_2)$, der $\nu_{as}(SiOSi)$ und der $\nu_{as}(COC)$ der OEG-Einheiten zuordnen.

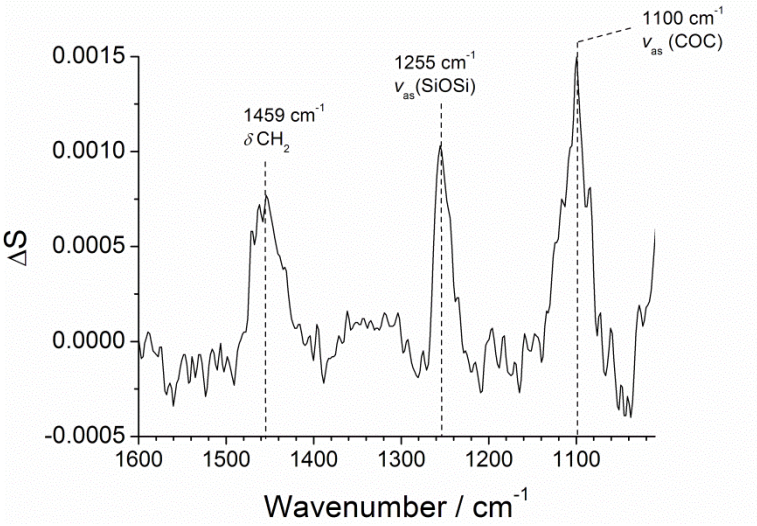


Abb. 55: ATR-IR im Bereich von 1600 bis 1000 cm^{-1} nach Modifizierung einer oxidierten Si/Si_3N_4-Oberfläche mit der Verbindung OEG3 (**3**).

Das PM IRRA-Spektrum der Verbindung OEG6 (**2**) zeigt im CH-Streckschwingungsbereich starke Absorptionsbanden für die $\nu_{as}(CH_2)$ bei 2928 cm^{-1} und für die $\nu_s(CH_2)$ bei 2857 cm^{-1} der Alkylkette sowie eine starke Schulter mit einem Intensitätsmaximum bei 2987 cm^{-1} (Abb. 56). Diese Bande kann der $\nu_{as}(OCH_3)$-Streckschwingung der OEG-Terminierung zugeordnet werden. Durch die Anwendung der 2. Ableitung des Spektrums lassen sich weitere Absorptionsbanden bei 2966 cm^{-1}, 2950 cm^{-1}, 2900 cm^{-1}, 2883 cm^{-1} und 2819 cm^{-1} finden, die sich der $\nu_{as}(CH_3)$, $\nu_{as}(OCH_2)$-, $\nu_s(OCH_2)$-, $\nu_s(OCH_2)$- und der $\nu_s(OCH_3)$-Streckschwingung zuordnen lassen. Die $\nu_{as}(CH_3)$ bei 2966 cm^{-1} könnte ebenfalls wie bei Verbindung **3** von Verunreinigungen während der Synthese oder der Oberflächenmodifikation stammen.

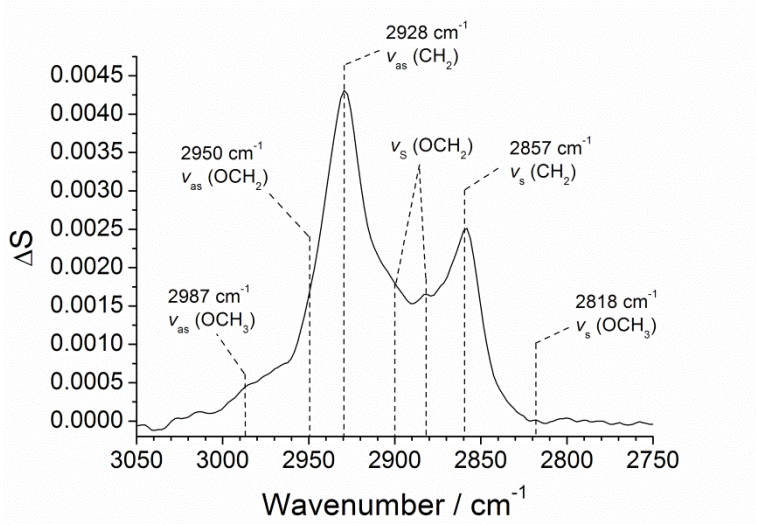


Abb. 56: PM IRRA-Spektrum im CH-Streckschwingungsbereich der Verbindung OEG6 (**2**) auf Au/SiO_x.

Die Absorptionsbande für die $\nu_{as}(OCH_3)$-Streckschwingung ist im Gegensatz zur Verbindung **1** und **3** deutlich zu höheren Wellenzahlen verschoben und entspricht eher den Literaturwerten für den flüssigen Zustand.[73, 302] Die Lage der $\nu_{as}(CH_2)$ und $\nu_s(CH_2)$ bei 2928 und 2857 cm^{-1} deutet wie bei der OEG3-Verbindung auf einen amorphen und schlecht geordneten Zustand mit einer hohen Anzahl an *gauche*-Konformeren hin.[312, 313] Das Verhältnis der $\nu_{as}(CH_2)$- zur $\nu_s(CH_2)$-Intensität entspricht wie bei der Verbindung **3** dem Verhältnis von SAMs aus Alkylsilanen auf SiO_x.[314] Die $\nu_s(OCH_2)$-Bande bei ca. 2900 cm^{-1} weist auf eine parallele Orientierung des Vektors des Übergangsdipolmoments hin.[302]

Im Spektralbereich von 1500 bis 900 cm^{-1} lassen sich durch Anwendung der 2. Ableitung Absorptionsminima bei 1350 cm^{-1}, 1330 cm^{-1}, 1244 cm^{-1}, 1149 cm^{-1}, 1120 cm^{-1} und 964 cm^{-1} finden (Tab. 7). Die Absorptionsbande bei 1244 cm^{-1} sowie die dazugehörige Schulter bei 1120 cm^{-1} stammen von der $\nu_{as}(SiOSi)$ der SiO_x-Schicht des Substrats sowie der Si-O-Si-Bindung zwischen Silan und Substrat. Die Bande bei 1330 cm^{-1} stammt von den Wippschwingungen der CH_2-Gruppen aus Alkylkette sowie OEG-Einheiten. Das Vorhandensein dieser Wippschwingungen sowie die Position der asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der CH_2-Gruppen deuten auf eine hohe Anzahl von *gauche*-Konformeren und eine *all-trans*-Konformation der Alkylkette hin.[317, 318]

Die Schaukelschwingungen bei 964 cm^{-1} deuten auf einen kristallinen Zustand der organischen Dünnschicht mit einer helikalen Konformation hin, in der die OC, CC und CO-Bindungen eine *trans*, *gauche* und *trans*-Konformation aufweisen.[137] Die Wippschwingung bei 1350 cm^{-1} weist auf einen amorphen und ungeordneten Zustand der OEG-Einheiten hin. Die Absorptionsbande bei 1149 cm^{-1} lässt sich der ν_{as}(COC)-Bande zuordnen, die auf eine *all-trans*-Konformation der OEG-Einheiten hinweist.

Tab. 7: Vergleich der IR-Absorptionsbanden der Verbindung OEG6 (**2**) und PEG (**4**) mit OEG6-perfluoriert (**1**) sowie Literaturwerten im Spektralbereich von 1500-900 cm^{-1}.

	Position [cm^{-1}]				
Bande	**OEG6**	**PEG**	**OEG6-perfluoriert**	**Literatur**	**Ref.**
CH_2 wagging OEG-Einheit	1350	1355	1353	*1357 **a** amorph*	[137, 302]
		1346		*1347 **a** helikal*	[137, 302]
CH_2 wagging	1330	1333	1330	*1370-1330 gauche*	[317, 318]
		1323		*1330-1180 all-trans*	[317, 318]
ν_{as}(SiOSi)	1244	1246	1245	*1240*	[60, 304]
ν_{as}(OSiO)		1179	1179	*1030-1157*	[308, 319]
				1170-1120	
ν_{as}(COC)	1149	1150		*1143-1148 all-trans*	[73, 302]
ν_{as}(SiOSi)	1120	1123	1122	*1120*	[304]
CH_2 rocking	964	954-948	961	*964 helikal*	[73, 137]
				947 all-trans	
				945 amorph	

Die PEG-Verbindung **4** weist in der 2. Ableitung im Spektralbereich von 1500-900 cm^{-1} Minima bei 1355 cm^{-1}, 1347 cm^{-1}, 1333 cm^{-1}, 1323 cm^{-1}, 1246 cm^{-1}, 1179 cm^{-1}, 1150 cm^{-1}, 1123 cm^{-1} und 954-948 cm^{-1} auf (Abb. 57).

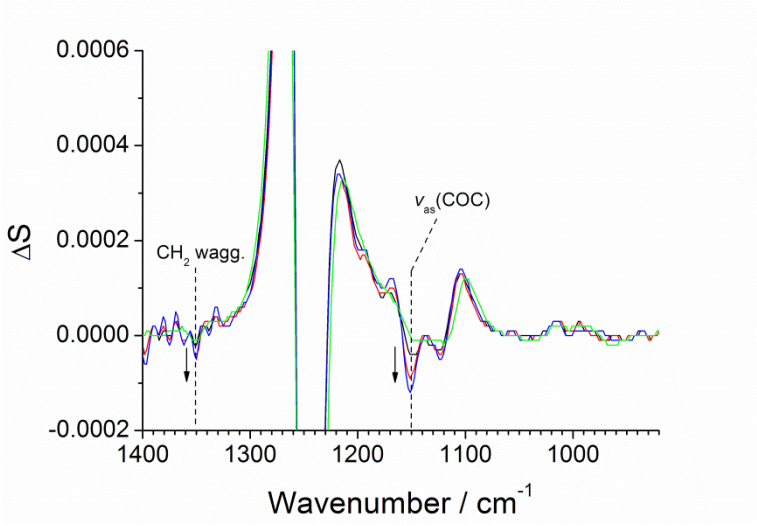


Abb. 57: 2. Ableitung des PM IRRA-Spektrums im Bereich von 1500-900 cm^{-1}: OEG6-Verbindung (**2**) (grün), PEG (**4**) nach 3 h bei RT (schwarz), PEG (**4**) nach 3 h bei 50 °C (rot) und PEG (**4**) nach 5.5 h bei 50 °C (blau).

Die Schaukelschwingungen der OEG-Einheiten bei ca. 1354 und ca. 1346 cm^{-1} deuten auf das Vorhandensein von amorphen und helikalen Bestandteilen der PEG-Einheiten hin. Die Absorptionsbande bei 1354 cm^{-1} steigt mit der Zunahme der Reaktionszeit und Reaktionstemperatur (Abb. 57). Ebenso kommt es zur Zunahme der ν_{as}(COC)-Bande bei 1150 cm^{-1}. Dies legt eine Zunahme der *all-trans*-Konformation der PEG-Einheiten nahe. Die Zunahme der ν_{as}(SiOSi)-Bande bei 1123 cm^{-1} könnte auf die höhere Ausbildung von Si-O-Si-Bindungen zwischen Silankopfgruppe und Sauerstoff der SiO_x-Oberfläche hinweisen.

Die PEG-terminierte Silanverbindung **4** zeigt im CH-Bereich ebenfalls Signale für die CH_2- und CH_3-Gruppen der Alkyl- und PEG-Ketten (Abb. 58). Allerdings ist das Verhältnis der asymmetrischen zur symmetrischen CH_2-Streckschwingungen anders als dies bei den OEG-terminierten Silanen **2** und **3** mit einer C_{11}-Alkylkette der Fall ist. Die stärkste Absorptionsbande lässt sich hier bei ca. 2873 cm^{-1} finden und der $\nu_s(OCH_2)$-Streckschwingung der PEG-Gruppen zuordnen.

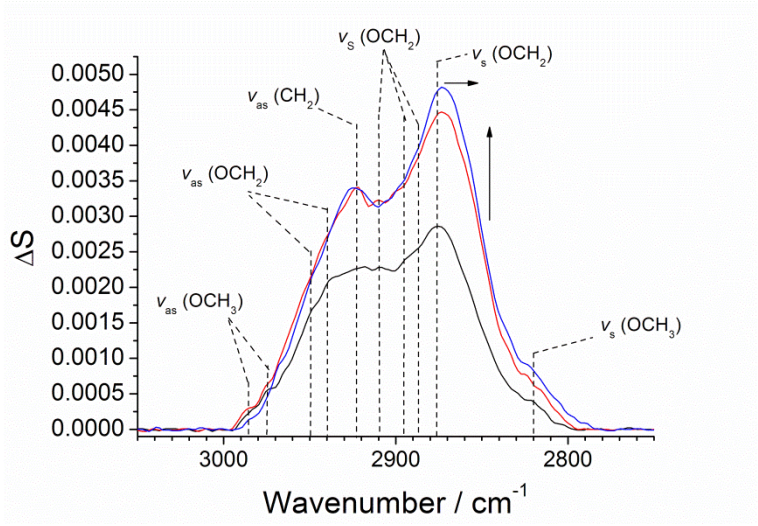


Abb. 58: PM IRRA-Spektrum im CH-Bereich der Verbindung PEG (**4**) auf Au/SiO_x: PEG nach 3 h bei RT (schwarz), PEG nach 3 h bei 50 °C (rot) und PEG nach 5.5 h bei 50 °C (blau).

Dies deutet, wie bei Verbindung **1** (Abb. 48), auf eine senkrechte Orientierung des Übergangsdipolmomentvektors für die $\nu_s(OCH_2)$ zur Längsachse der PEG-Einheiten hin.[282, 302] Die PEG-Ketten scheinen eine starke Abwinklung zur Oberflächennormalen wie die Verbindung **1** aufzuweisen, die auf eine geringe Packungsdichte und Ordnung auf der Oberfläche hinweist. Es ist bekannt, dass kurzkettige Silanverbindungen wie die PEG-Verbindung weniger geordnete Filme erzeugen.[315] Dies könnte die geringe Ordnung erklären. Mit zunehmender Reaktionszeit und Reaktionstemperatur nehmen die Intensitäten der Absorptionsbanden zu. Zusätzlich kommt es zu einer leichten Verschiebung der Banden in Richtung niedriger Wellenzahlen. Dies könnte auf eine Zunahme der Ordnung hindeuten.[314]

Tab. 8: Vergleich der von den PEG-Einheiten stammenden IR-Absorptionsbanden der Verbindung PEG (**4**) nach unterschiedlichen Modifikationstemperaturen mit OEG6-perfluoriert (**1**) sowie Literaturwerten für OEG-Terminierungen.

	Position [cm^{-1}]					
Bande	**nach 3 h bei RT**	**nach 3 h bei 50 °C**	**nach 5.5 h bei 50°C**	**OEG6-perfluoriert**	**Literatur**	**Ref.**
$\nu_{as}(OCH_3)$	2987	2987	2987	2976 ± 3	*2981* ***a***	[73, 137, 302]
	2975	2976	2970		*2885* ***b***	
$\nu_{as}(OCH_2)$	2950	2942	2941	2949 ± 4	*2942* ***a***	[73, 137, 302]
		2956	2950		*2950* ***b***	
$\nu_{s}(OCH_2)$	2908	2908	2902	2892 ± 4	*2892* ***a***	[73, 137, 302]
	2893	2900	2898		*2900* ***b***	
$\nu_{s}(OCH_2)$	2874	2873	2873	2879 ± 1	*2880-2882*	[73, 137, 302, 311]
		2888	2888		*2870*	
$\nu_{s}(OCH_3)$	2817	2814	2819	2830 ± 5	*2814-2816*	[137, 302]
Komb. $\delta(CH_2)$	2821	2823	2821	-	*2825-2827*	[137, 302]

a: fester, kristalliner Zustand **b**: flüssiger Zustand

Tab. 9: Vergleich der von den Alkylketten stammenden IR-Absorptionsbanden der Verbindung PEG (**4**) mit OEG6-perfluoriert (**1**) sowie Literaturwerten für OEG-Terminierungen

	Position [cm^{-1}]					
Bande	**nach 3 h bei RT**	**nach 3 h bei 50 °C**	**nach 5.5 h bei 50°C**	**OEG6-perfluoriert**	**Literatur**	**Ref.**
$\nu_{as}(CH_3)$	2962	2963	-		*2963 u. 2953* ***a***	[312-314]
					2964 ***b***	
$\nu_{as}(CH_2)$	2919	2923	2925	2923 ± 2	*2914-2921* ***a***	[312-314]
	2937		2933		*2925-2932* ***b***	
$\nu_{s}(CH_2)$	2858	2856	2856	-	*2849-2851* ***a***	[312-314]
					2853-2856 ***b***	

a: fester, kristalliner Zustand **b**: flüssiger Zustand

Die Verbindung OEG-Urethan **5** auf Au/SiO_x zeigt im CH-Streckschwingungsbereich drei starke Banden bei 2963 cm^{-1}, 2925 cm^{-1} und 2875 cm^{-1} (Abb. 59).

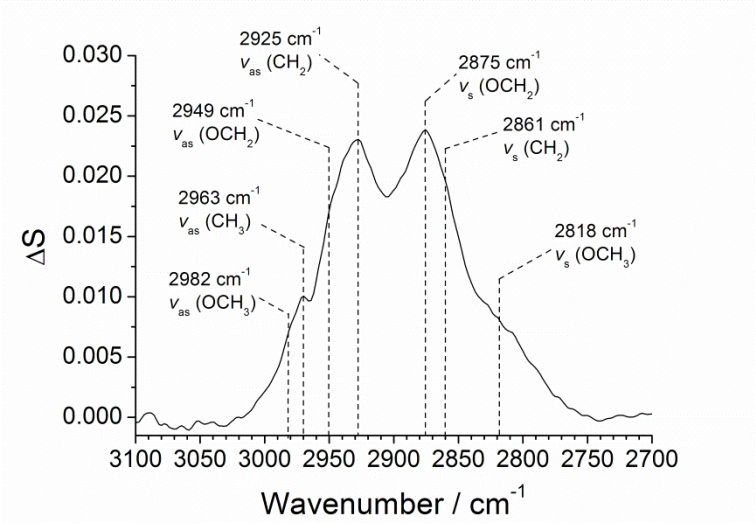


Abb. 59: PM IRRA-Spektrum im CH-Streckschwingungsbereich der Verbindung OEG-Urethan (**5**) auf Au/SiO_x nach zwei Tagen Reaktionszeit bei RT.

Diese Absorptionsbanden lassen sich den $\nu_{as}(CH_3)$-, $\nu_{as}(CH_2)$- und $\nu_s(OCH_2)$-Streckschwingungen zuordnen. Das Auftauchen der $\nu_{as}(CH_3)$ könnte auf eine Verunreinigung der Probenoberfläche hindeuten. Durch Anwenden der 2. Ableitung lassen sich weitere Minima bei 2982 cm^{-1}, 2949 cm^{-1}, 2861 cm^{-1} und 2818 cm^{-1} finden, die den Absorptionsbanden von $\nu_{as}(OCH_3)$, $\nu_{as}(OCH_2)$, $\nu_s(CH_2)$ und $\nu_s(OCH_3)$ zugeordnet werden können. Das Vorhandensein der asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der OCH_3-Gruppe bei 2982 und 2818 cm^{-1} weist auf eine unvollständige Umsetzung der Triethoxy-Gruppen mit den Silanolgruppen der Oberfläche hin. Zusätzlich lassen sich bei 2823-2828 cm^{-1} Absorptionsbanden für die Deformationsschwingungen der CH_2-Gruppen in Kombination mit den Wippschwingungen von CH_2-Gruppen finden. Die stärkste Absorptionsbande bei 2875 cm^{-1} für die symmetrische Streckschwingung der OCH_2-Gruppe der OEG-Einheiten deutet aufgrund der Lage der Bande auf eine senkrechte Orientierung des Übergangsdipolmomentvektors zur OEG-Längsachse hin. Die OEG-Einheiten weisen wie bei den Verbindungen OEG-perfluoriert **1** und PEG **4** eine starke Abwinklung zur Oberflächennormalen auf, was eine geringe Packungsdichte anzeigt. Da sowohl die Verbindung **4** als auch die Verbindung **5** eine kurze C_3-Alkyl-Kette besitzen, erzeugen diese Verbindungen ungeordnete Filme auf SiO_x-Oberflächen.

Tab. 10: Vergleich der IR-Absorptionsbanden der CH-Streckschwingungen von Verbindung OEG-Urethan (**5**) mit Literaturwerten.

	Position [cm^{-1}]		
Bande	**OEG-Urethan**	**Literatur**	**Ref.**
$\nu_{as}(OCH_3)$	2980	*2981* ***a***	[73, 137, 302]
		2885 ***b***	
$\nu_{as}(CH_3)$	2969	*2963 u. 2953* ***a***	[312-314]
		2964 ***b***	
$\nu_{as}(OCH_2)$	2949	*2942* ***a***	[73, 137, 302]
		2950 ***b***	
$\nu_{as}(CH_2)$	2937	*2914-2921* ***a***	[312-314]
	2927	*2925-2932* ***b***	
	2914		
$\nu_s(OCH_2)$	2896	*2892* ***a***	[73, 137, 302]
		2900 ***b***	
$\nu_s(OCH_2)$	2875	*2880-2882*	[73, 137, 302, 311]
		2870	
$\nu_s(OCH_3)$	2819	*2814-2816*	[137, 302]
$\nu_s(OCH_2)$+ Komb. $\delta(CH_2)$ + CH_2 wagging	2861	*2863* ***a***	[73, 137, 302]
		2866 ***b***	
Komb. $\delta(CH_2)$ + CH_2 wagging	2823-2828	*2825-2827*	[137, 302]

a: fester, kristalliner Zustand **b**: flüssiger Zustand

Die Abb. 60 zeigt den Amid-Bandenbereich der Verbindung **5**. Es lassen sich vier starke Banden bei 1699 cm^{-1}, 1616 cm^{-1}, 1540 cm^{-1} und 1455 cm^{-1} beobachten. Im Bereich der Amid I-Bande lassen sich zwei breite Signale bei 1699 cm^{-1} und 1616 cm^{-1} für die Amid I-Bande erkennen. Daneben gibt es eine kleine Schulter bei 1653 cm^{-1}. Die Bande bei 1540 cm^{-1} stammt von der Deformationsschwingung der NH-Gruppe (Amid II-Bande) der Urethaneinheit.[320] Bei 1455 cm^{-1} lassen sich die Deformationsschwingungen der CH_2-Gruppen beobachten (Abb. 60).[321]

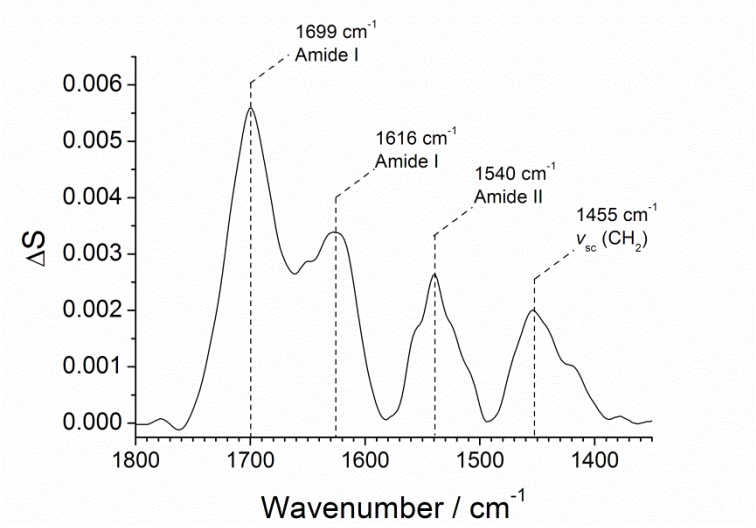


Abb. 60: PM IRRA-Spektrum im Amid I-Bereich der Verbindung OEG-Urethan (**5**) auf Au/SiO_x nach zwei Tagen Reaktionszeit bei RT.

Die Amid I-Bande ist zu höheren Wellenzahlen verschoben als dies z. B. bei der Amid I-Bande von adsorbiertem Collagen auf Au-Oberflächen der Fall ist.[322] Sie stammt von der Carbonyl-Valenzschwingung der C=O-Gruppe in der Urethaneinheit, die als Verbindung zwischen der Alkylkette und der OEG-Kette dient.[320, 323]

Die Aufspaltung der Amid I-Bande weist auf das Vorhandensein von geordneten und ungeordneten Wasserstoff-gebundenen C=O-Einheiten hin.[324, 325] Die stärkste Absorptionsbande bei 1699 cm^{-1} der Dünnschichten der Verbindung **5** auf Au/SiO_x zeigt eine hohe Anzahl von ungeordneten Wasserstoff-gebundenen C=O-Einheiten an.[325, 326] Die Adsorptionsbande bei 1616 cm^{-1} mit der Schulter 1653 cm^{-1} deutet daraufhin, dass ein kleiner Teil der Wasserstoff-gebundenen C=O-Einheiten in einer geordneten Struktur vorliegt.[327]

Durch die Anwendung der 2. Ableitung lassen sich im Spektralbereich von 1400 bis 900 cm^{-1} weitere Signale detektieren. Es lassen sich Minima bei 1329 cm^{-1}, 1246 cm^{-1}, 1172 cm^{-1}, 1149 cm^{-1}, 1122 cm^{-1} und 970 cm^{-1} beobachten. Die Signale bei 1246 cm^{-1}, 1172 cm^{-1} und 1122 cm^{-1} stammen vom SiO_x-Film auf der Au-Oberfläche sowie der Si-O-Si-Bindung zwischen der Silankopfgruppe der Verbindung **5** und den Silanolgruppen der Oberfläche. Die Banden lassen sich der ν_{as}(SiOSi) bei 1246 cm^{-1} mit einer Schulter bei 1122 cm^{-1} und der ν_{as}(OSiO) bei 1172 cm^{-1} zuordnen.[60, 304] Die Absorptionsbande bei 1149 cm^{-1} stammt von der ν_{as}(COC) der OEG-Einheiten und

deutet auf eine *all-trans*-Konformation hin.[73, 302] Das Signal bei 1329 cm^{-1} stammt von der Wippschwingung der CH_2-Gruppen der Alkylkette und lässt auf eine hohe Anzahl von *gauche*-Konformeren und einer *all-trans*-Konformation der Alkylkette schließen.[317, 318] Die Schaukelschwingung der CH_2-Einheiten bei 970 cm^{-1} deutet auf einen kristallinen Zustand der Monolage mit einer helikalen Konformation der OEG-Einheiten hin.[73, 137] Die OC, CC und CO-Bindungen liegen in einer *trans*, *gauche* und *trans*-Konformation vor.[137]

5.2.2 Proteinadsorption und Zelladhäsion auf OEG-terminierten SiO_x

Um die protein- und zellabweisenden Eigenschaften der OEG-und PEG-terminierten SiO_x-Oberflächen zu untersuchen, wurden Proteinadsorptions- und Zelladhäsionsuntersuchungen durchgeführt. Die OEG- und PEG-terminierten Oberflächen ließen sich durch die Bestrahlung mit UV/O_3 durch ein TEM-Gitter strukturieren. Die Bereiche auf denen das TEM-Gitter auflag, wurden gegenüber der Oxidation geschützt und blieben weiterhin proteinabweisend. Dadurch ließen sich gemusterten Oberflächen zur strukturierten Proteinadsorption erzeugen. Für die Proteinadsorption wurde eine SiO_x-Oberfläche zunächst für eine Stunde mit dem OEG3-Silan modifiziert und gereinigt. Zur Strukturierung wurde 10 min mit UV/O_3 durch ein TEM-Gitter (Abb. 61a) oxidiert und anschließend die Oberfläche für 1 h in eine Proteinlösung von Alexa Fluor 488 markiertem Fibrinogen in PBS eingetaucht.

Die Abb. 61b zeigt das Ergebnis nach der Proteinadsorption und dem Reinigen. Das Fibrinogen adsorbiert nur auf den oxidierten Bereichen, während die nicht oxidierten Bereiche dunkler erscheinen, was auf eine geringere Adsorption hindeutet. Die Gitterstrukturen lassen sich deutlich erkennen. Somit erlaubt diese Strukturierungsmöglichkeit das Erzeugen von strukturierten Oberflächen für die Kontrolle der Proteinadsorption.

a) b)

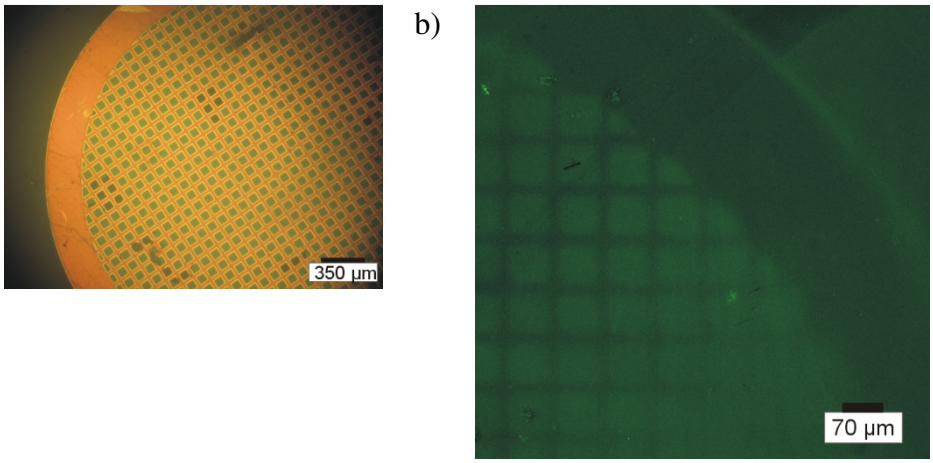


Abb. 61: Lichtmikroskopaufnahme des verwendeten TEM-Gitters (a) und b) Fluoreszenzmikroskopieaufnahme einer mit UV/O_3 strukturierten OEG3-Oberfläche nach der Adsorption von mit Alexa Fluor 488 markierten Fibrinogen.

Die proteinabweisende Wirkung der OEG- und PEG-Einheiten lässt sich auch mit Hilfe der PM IRRAS-Technik untersuchen. Abbildung 62 zeigt die Adsorptionsspektren im Bereich der Amid I- und Amid II-Bande nach der Adsorption von Fibrinogen auf einer reinen, oxidierten Au/SiO_x-Oberfläche, einer alkylterminierten Au/SiO_x- sowie einer mit PEG-Silan modifizierten Au/SiO_x-Oberfläche nach unterschiedlichen Reaktionsdauern und Reaktionstemperaturen.

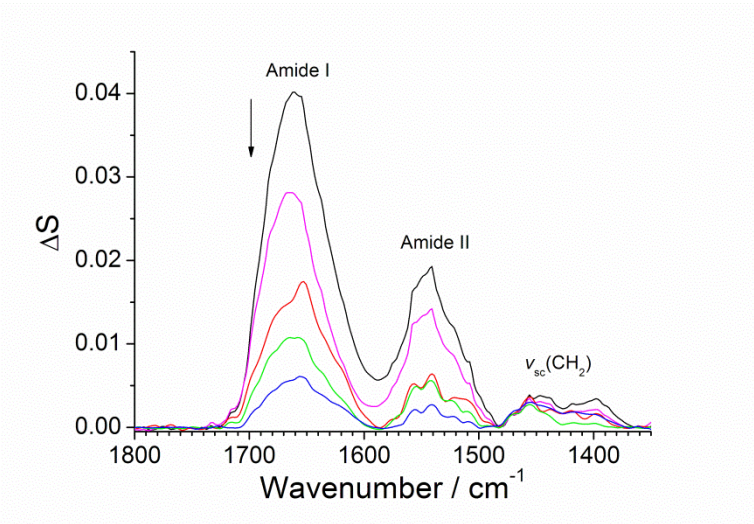


Abb. 62: PM IRRA-Spektren im Amid I-Bereich nach der Proteinadsorption von Fibrinogen auf unterschiedlich modifizierten Au/SiO_x-Oberflächen: reine Au/SiO_x (schwarz), PEG-Silan nach einer Reaktionsdauer von 3 h bei RT (rot), PEG-Silan nach einer Reaktionsdauer von 3 h bei 50 °C (grün), PEG-Silan nach einer Reaktionsdauer von 5.5 h bei 50 °C (blau) und einer Decyltriethoxysilan-Terminierung (violett).

Die reine Au/SiO_x-Oberfläche zeigt nach der Fibrinogenadsorption die höchsten Intensitäten für die Absorptionsbanden bei 1655 cm^{-1} und 1541 cm^{-1}. Die Banden stammen von der Amid I- und der Amid II-Bande des Fibrinogens.[328] Die Position der Amid I-Bande deutet auf α-Helix-Komponenten hin.[328, 329] Dahingegen nehmen die Intensitäten der Absorptionsbanden für die Amid-Gruppen nach der Modifizierung der Oberflächen mit dem PEG-Silan ab. Eine Zunahme der Reaktionszeit und der Reaktionsdauer führen zu einer weiteren Verringerung der Adsorption von Fibrinogen auf den Oberflächen. Nach einer Reaktionszeit von 5.5 h bei einer Temperatur von 50 °C sinkt die Intensität der Amid I-Bande auf ein Achtel der Intensität der Amid I-Bande auf einer reinen Au/SiO_x-Oberfläche ab. Eine reine Alkylterminierung zeigt dagegen nur eine geringfügige Verringerung der Amid-Banden gegenüber der reinen Oberfläche. Die Abnahme der Adsorption mit der Zunahme der Reaktionsdauer und Reaktionstemperatur könnte, wie bereits anhand der PM IRRA-Spektren der PEG-Verbindung (Abb. 57 und Abb. 58) erläutert, mit der Zunahme der adsorbierten PEG-Einheiten an der Oberfläche einhergehen. Es ist außerdem deutlich erkennbar, dass immer ein kleiner Anteil vom Protein adsorbiert wird. Dies bestätigt sich ebenfalls bei der Adsorption von Fibrinogen auf OEG3-terminierten SiO_x-Oberflächen (Abb. 61b) und wurde bereits von Lee et al.[14] beschrieben.

Um die zellabweisenden Eigenschaften von OEG-terminierten SiO_x-Oberflächen zu untersuchen, wurden SiO_x-Oberflächen für 3 h mit der Verbindung OEG3 (**3**) und für 48 h mit dem OEG-Urethan (**5**) modifiziert und anschließend eine oxidierende Strukturierung dieser Oberflächen mit Hilfe eines TEM-Gitters und UV/O_3 durchgeführt.

Die Verbindung **5** unterscheidet sich von den vorher verwendeten OEG- und PEG-terminierten Silanen dadurch, dass diese Verbindungen eine Urethaneinheit als Verbindung zwischen OEG-Kette und der kurzkettigen Alkylkette besitzt. Zusätzlich weist die OEG-Einheit dieser Verbindung im Gegensatz zu den anderen OEG-Silanen eine Hydroxyl-Terminierung statt einer Methoxy-Terminierung auf, was zu einem niedrigeren Wasserkontaktwinkel im Vergleich zu den Kontaktwinkeln von Dünnschichten aus OEG3 und OEG6 führt (Tab. 11).

Tab. 11: Statischer Wasserkontaktwinkel nach Modifikation von SiO_x-Oberflächen mit verschiedenen OEG-und-PEG-terminierten Silanverbindungen. Tropfengröße von 2 µl deionisiertem Wasser bei Raumtemperatur.

Verbindung	Wasserkontaktwinkel nach Modifikation [°]
OEG3	62.9 ± 4.3
OEG6	58.0 ± 4.0
PEG	36.6 ± 2.5
OEG-Urethan	38.9 ± 1.6

Die mit UV/O_3 durch eine Schattenmaske strukturierten Oberflächen wurden vom Projektpartner an der Universität Rostock mit unterschiedlichen Zelllinien kultiviert. Die Abb. 63 zeigt die Ergebnisse nach der Kultivierung mit HEK293 (Abb. 63b) und Gliazellen (Abb. 63c, d) sowie das verwendete TEM-Gitter (Abb. 63a).

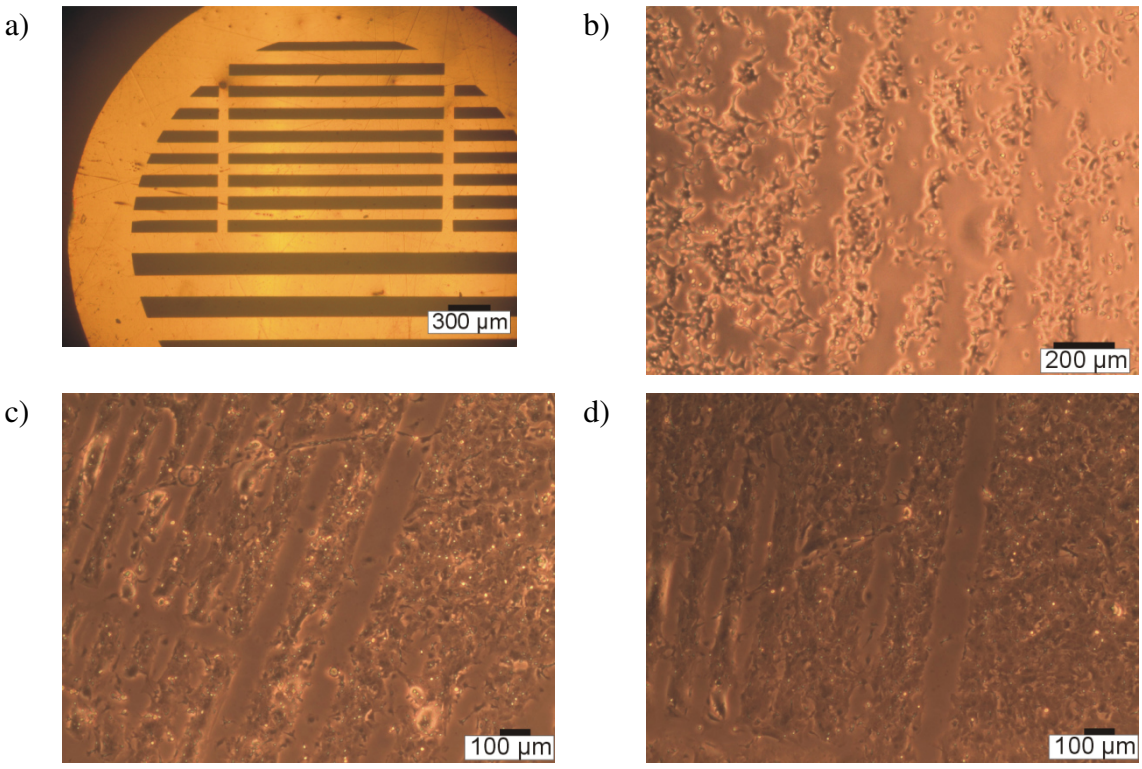


Abb. 63: a) Athene Sjostrand-Gitter, das als Schattenmaske diente. b) Mit Verbindung **3** modifizierte Oberfläche nach Oxidation und Aussaat von HEK293-Zellen Passage 80, aufgenommen an DIV 3. c) Mit Verbindung **5** modifizierte Oberfläche nach Oxidation und Aussaat von Glia-Zellen an DIV 2 und d) DIV 4.

Dabei wachsen die Zellen in Linien. Diese Linien entsprechen in der Breite und dem Abstand den Stegen der verwendeten TEM-Gitter. Die zellabweisenden Eigenschaften der OEG-Oberflächen werden durch die Oxidation mit UV/O_3 aufgehoben. Dabei

zeigen die mit dem OEG-Urethan **5** modifizierten Proben auch nach zwei Wochen Lagerung sehr gut definierte Abgrenzungen zwischen bewachsenen und zellfreien Bereichen. Diese bleiben auch nach vier Tagen in Kultur (*Days in vitro*, DIV) erhalten (Abb. 63d).

Eine nachträgliche Strukturierung von OEG-terminierten Thiolen zur Steuerung der Proteinadsorption und Zelladhäsion ist bereits durch die elektrochemische Erzeugung von Brom an einer UME[28] oder durch die Bestrahlung mit UV-Licht der OEG-Einheiten bekannt.[300] Dadurch werden die OEG-Einheiten abgebaut und somit an den Stellen die protein- und zellabweisenden Eigenschaften aufgehoben. Diese Strukturierungsmethode durch Oxidation lässt sich auch auf organische Dünnschichten aus Silanen übertragen und könnte auf dem Biochipsystem des Projektpartners angewandt werden, um strukturierte Oberflächen für die Kontrolle des Zellwachstums zu erzeugen.

5.2.3 Charakterisierung von modifizierten SiO_x-Oberflächen mit dem PFM-SFM

Um die neue Verbindung **2** hinsichtlich ihrer Adhäsions- und Steifigkeitseigenschaften zu untersuchen, wurden Topographie-, Adhäsions- und Steifigkeitsaufnahmen einer mit Verbindung **2** und APTES strukturierten Oberfläche mit dem PFM-SFM aufgenommen. Die Oberfläche wurde mit APTES im µCP-Verfahren modifiziert. Anschließend erfolgte ein Auffüllen der Zwischenräume durch die Verbindung **2**.

In Abb. 64 sind die Topographie-, Adhäsions- und Steifigkeitsaufnahmen darstellt.

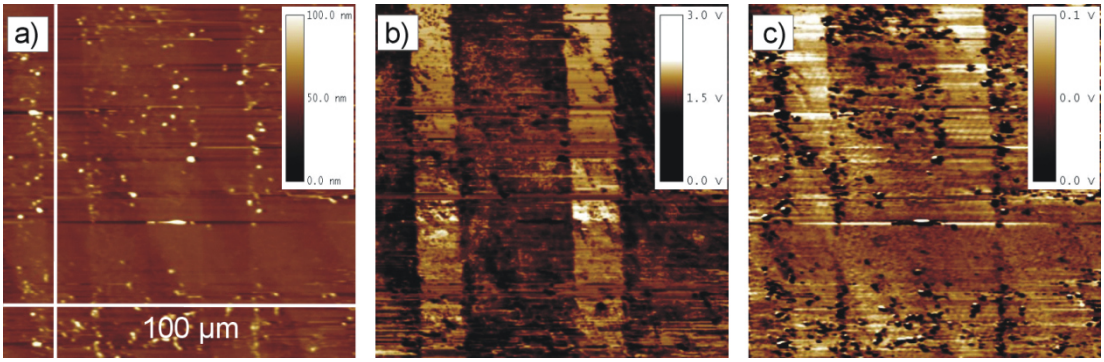


Abb. 64: PFM-SFM-Aufnahmen einer mit APTES und Verbindung **2** strukturierten Glasoberfläche: a) Topographie, b) Adhäsion und c) Steifigkeit. Dunkle Bereiche stellen die gestempelten Strukturen dar.

Die APTES-Strukturen sind schwach in der Topographie zu erkennen. Es lassen sich auf den APTES-Bereichen einige Agglomerate erkennen, die von adsorbierten Oligomeren stammen könnten. In der Adhäsion zeigen die APTES-Oberflächen schwächere Wechselwirkungen mit der COOH-terminierten Messspitze als dies z. B. bei den Adhäsionsaufnahmen der Verbindung **1** der Fall ist (Abb. 47b). Ein ähnliches Verhalten konnten Ramrus et al.[85] bei PFM-Aufnahmen von mit OTS und APTES modifizierten SiO_x-Oberflächen beobachten. Zunächst stempelten sie das OTS per µCP auf die Oberfläche und modifizierten anschließend die Zwischenräume mit APTES. Bei den Adhäsionsbildern im PFM zeigte das APTES eine schwächere Adhäsion zur hydrophilen Messspitze als das hydrophobe OTS. Sie folgerten daraus, dass dies an der Strukturierung mit µCP-Verfahren liegen musste. Das µCP führt dabei nicht zur SAM-Ausbildung.[85] Die Moleküle auf der PDMS-Oberfläche können sich nicht ordnen und es entstehen ungeordnete Schichten, während bei der Adsorption aus Lösungen die Moleküle die Möglichkeit haben sich geordnet zur Oberfläche auszurichten. Dadurch kommt es zur Veränderung in den Materialeigenschaften wie etwa der Adhäsion.[85] Dies könnte ebenfalls bei den PFM-SFM-Aufnahmen in Abb. 64 der Fall sein.

5.3 Aufbau von Dünnschichten auf SiO_x mittels Precursor-Verbindungen

5.3.1 IR-Charakterisierung mittels PM IRRAS und ATR

Dünnschichten auf SiO_x lassen sich mittels Precursorverbindungen direkt an der Oberfläche aufbauen. Dies gelingt unter anderem über die sogenannte Click-Chemie. Mit Hilfe der PM IRRAS-Technik lassen sich die Veränderungen der IR-Spektren während der Oberflächenmodifikation von Au/SiO_x beobachten. Zunächst wird eine Amin-Gruppe auf die Au/SiO_x-Oberfläche aufgebracht. Dies geschieht unter Verwendung von APTES (**6**). Das Reaktionschema findet sich unter Kapitel 4.1 in Abb. 32. Im PM IRRAS in der Region von 3450-2750 cm^{-1} lassen sich Signale für die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der CH_2-Gruppen der Alkylkette finden (Abb. 65).

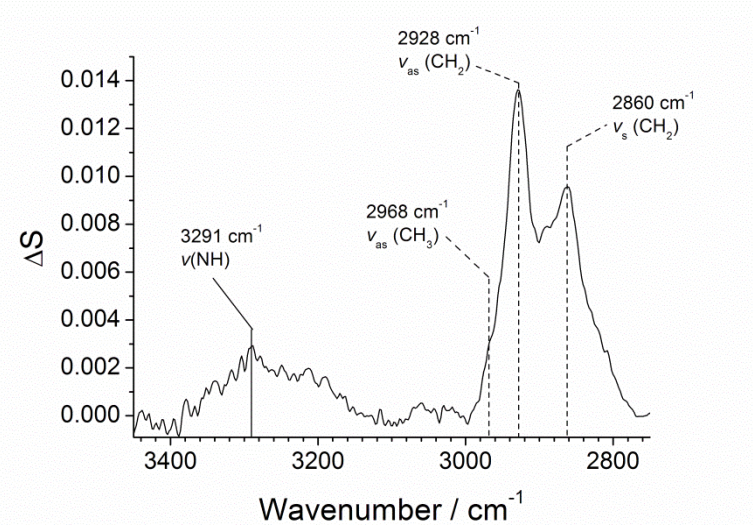


Abb. 65: PM IRRAS im Bereich von 3450 bis 2750 cm^{-1} nach Modifizierung eines Au/SiO_x-Substrates mit APTES (**6**).

Die Signale erscheinen bei 2928 cm^{-1} für $\nu_{as}(CH_2)$ und 2860 cm^{-1} für $\nu_s(CH_2)$.[123] Eine schwache Absorptionsbande bei 2968 cm^{-1} kann den asymmetrischen Streckschwingungen von CH_3-Gruppen zugeordnet werden. Dies deutet auf eine unvollständige Hydrolyse der Ethoxygruppen hin. Die APTES-Moleküle sind nicht vollständig an der Oberfläche gebunden.[123] Die Lage der $\nu_{as}(CH_2)$- und $\nu_s(CH_2)$-Schwingung deutet auf eine dichte Packung der APTES-Moleküle an der Oberfläche hin.[123] Daneben lässt sich ein breites Signal bei 3291 cm^{-1} finden. Dieses Signal lässt sich der NH-Streckschwingung der Aminogruppe zuordnen.[123, 229]

Im Bereich von 1800 bis 1350 cm^{-1} lassen sich zwei Banden bei 1621 und 1417 cm^{-1} detektieren (Abb. 66). Die Bande bei 1621 cm^{-1} ist die N-H-Deformationsschwingung primärer oder sekundärer Amine und stammt von der Aminogruppe der APTES-Terminierung.[123, 229] Das Signal bei 1417 cm^{-1} hingegen lässt sich der CH_2-Deformationsschwingungen der Alkylkette zuordnen.[229]

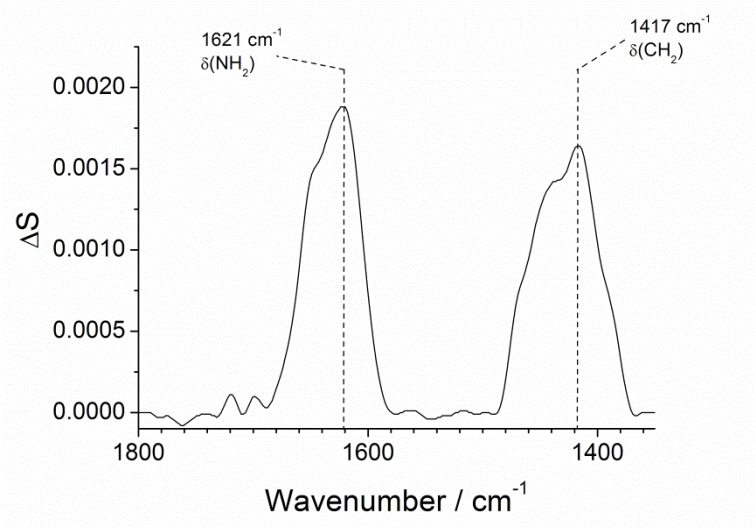


Abb. 66: PM IRRA-Spektrum im Bereich von 1800 bis 1350 cm^{-1} nach APTES-Modifizierung.

Als nächster Modifikationsschritt wird eine Acetylen-Terminierung auf die Oberfläche aufgebracht. Das Reaktionschema findet sich unter Kapitel 4.1 in Abb. 33. Dies geschieht über die Reaktion der Aminogruppe der Oberfläche mit einer Acetylen-terminierten Carbonsäure (**7**) unter Mithilfe von Kupplungsreagenzien. Es kommt dabei zur Ausbildung einer Amid-Gruppe. Die erfolgreiche Kupplung lässt sich im CH-Streckschwingungsbereich erkennen (Abb. 67).

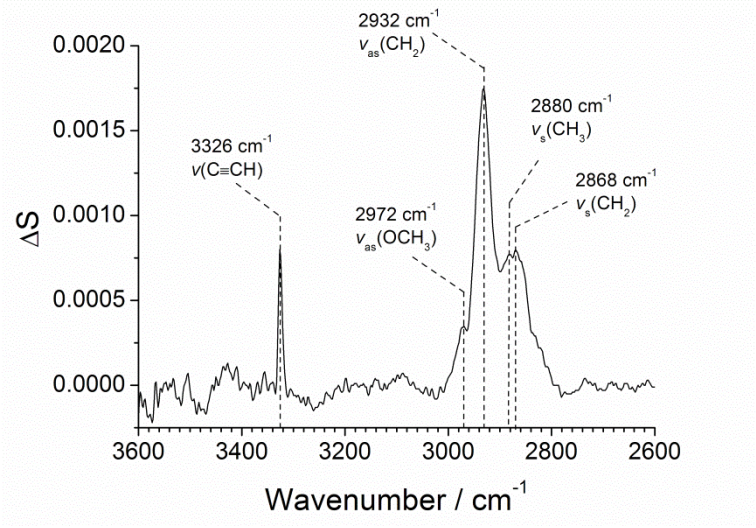


Abb. 67: PM IRRAS im Bereich von 3600 bis 2600 cm^{-1} nach Ausbildung der Amid-Gruppe und Acetylen-Terminierung.

Neben den Signalen für die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der Alkylkette bei 2868 cm^{-1} ($\nu_s(CH_2)$) und 2932 cm^{-1} ($\nu_{as}(CH_2)$) lässt sich auch ein

Signal bei 3326 cm^{-1} erkennen.[123] Dieses Signal lässt sich der C-H-Valenzschwingung der Acetyleneinheit zuordnen.[330] Daneben sind die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der NH_2-Gruppe verschwunden. Dies weist auf die vollständige Reaktion der Aminogruppen mit der Carbonsäure hin. Im Spektrum lässt sich auch ein Signal bei 2972 cm^{-1} erkennen, dass von der Lage der Adsorptionsbande her einer $\nu_{as}(OCH_3)$ zugeordnet werden kann.[123] Bei 2880 cm^{-1} lässt sich eine Absorptionsbande für $\nu_s(CH_2)$ erkennen.[312, 331] Diese Signale stammen möglicherweise von den nicht umgesetzten Ethoxygruppen. Die Banden für die $\nu_s(CH_2)$ und für die $\nu_{as}(CH_2)$ sind zu höheren Wellenzahlen verschoben als dies nach der APTES-Modifizierung der Fall ist. Dies deutet auf eine Abnahme der Ordnung und Packungsdichte nach der Acetylenmodifizierung hin.[123]

Nach der Acetylen-Modifizierung lassen sich drei starke Banden im Amid I- und Amid II-Bereich bei Wellenzahlen von 1651 cm^{-1}, 1557 cm^{-1} und 1440 cm^{-1} erkennen (Abb. 68).

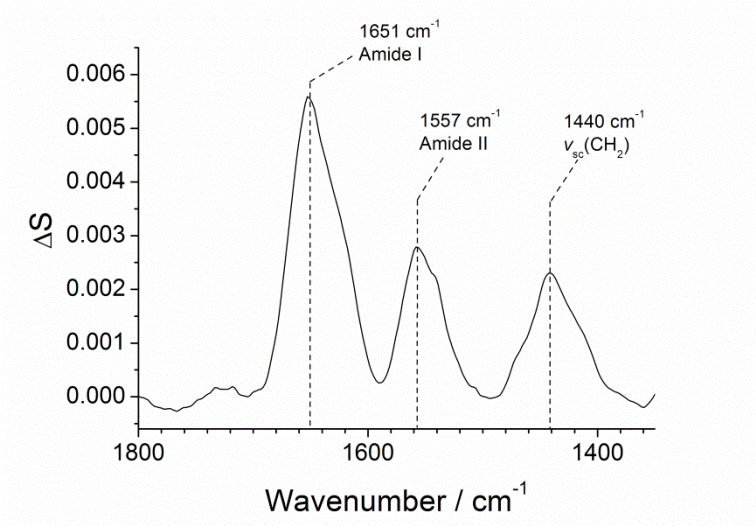


Abb. 68: PM IRRA-Spektrum in der Region von 2300 bis 1300 cm^{-1} nach der Acetylen-Terminierung.

Bei diesen Banden handelt es sich unter anderem um die C=O-Valenzschwingung (Amid I) bei 1651 cm^{-1} und um die N-H-Deformationsschwingung (Amid II) bei 1557 cm^{-1}, die von der Säureamid-Funktion stammen.[332] Die Signale weisen in Kombination mit der C-H-Valenz bei 3326 cm^{-1} auf die erfolgreiche Umsetzung und Modifizierung der APTES-terminierten Oberfläche mit der Acetylen-terminierten

Carbonsäure hin. Die Bande bei 1440 cm^{-1} stammt hingegen von der CH_2-Deformationsschwingung der Alkylkette.[321]

Die Acetylen-terminierte Oberfläche wurde anschließend mit einem OEG-terminierten Azid (**8**) unter Einwirkung eines Cu(I)-Katalysators in einer Click-Chemie-Reaktion (Kap. 2.1 und Kap. 4.1.) umgesetzt. Das Reaktionschema findet sich in Kapitel 4.1, Abb. 34. Im PM IRRA-Spektrum der CH-Streckschwingungen lassen sich nun ebenfalls Signale für die asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der CH_2-Gruppen der Alkylkette sowie der OCH_2-Gruppen der OEG-Einheiten bei 2873 cm^{-1}, 2894 cm^{-1} und 2929 cm^{-1} beobachten (Abb. 69).

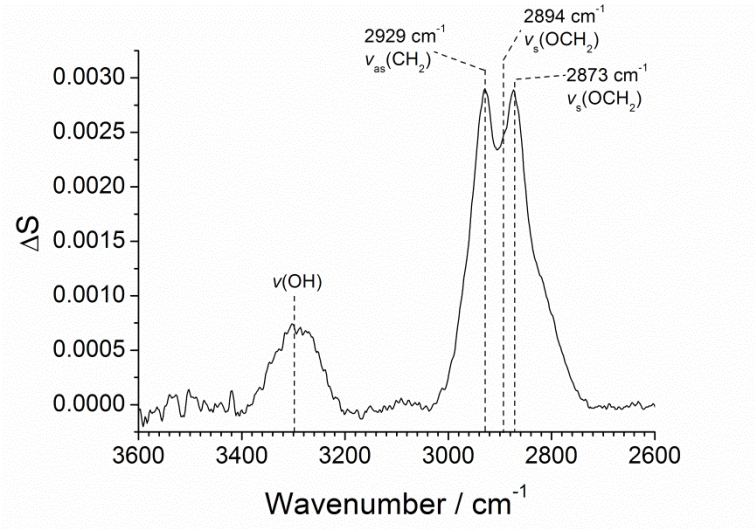


Abb. 69: PM IRRAS im Bereich von 3600 bis 2600 cm^{-1} der OEG-Terminierung.

Die Absorptionsbande bei 2929 cm^{-1} stammt von der asymmetrischen Streckschwingung ($\nu_{as}(CH_2)$) der Alkylkette während die Banden bei 2894 und 2873 cm^{-1} von den symmetrischen Streckschwingungen ($\nu_s(OCH_2)$) von der OEG-Kette stammen.[73, 137, 302, 313] Allerdings ist das Signal für die C-H-Valenzschwingung der Acetylengruppe verschwunden und ein breites Signal zwischen 3400 und 3200 cm^{-1} mit einem Maximum bei 3292 cm^{-1} erscheint im Spektrum. Dies Signal kann der OH-Terminierung der OEG-Einheiten zugeordnet werden.[332]

Im PM IRRA-Spektrum im Bereich von 2300 bis 1300 cm^{-1} nach der OEG-Modifizierung lassen sich ebenfalls die Signale für die Amid I- und Amid II-Banden und für die CH_2-Deformationsschwingungen der CH_2-Gruppen der Alkylkette sowie der OEG-Einheiten finden (Abb. 70). Die Amid I- und Amid II-Bande lassen sich bei

1651 cm^{-1} und 1541 cm^{-1} beobachten.[332] Die Bande bei 1440 cm^{-1} stammt von der CH_2-Deformationsschwingung der Alkylkette.[321]

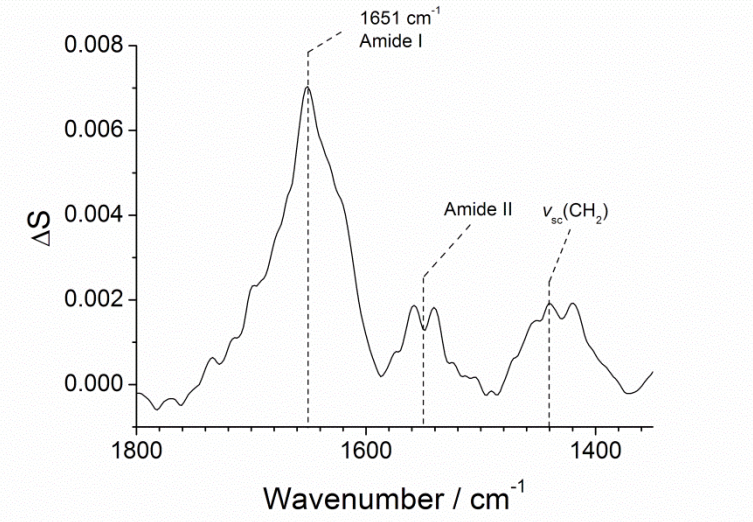


Abb. 70: PM IRRA-Spektrum in der Region von 2300 bis 1300 cm^{-1} nach der OEG- Terminierung.

Ein ebenfalls mit dem Click-Chemie-Verfahren modifizierter Si/Si_3N_4 -Wafer wurde mit der ATR-IR-Spektroskopie untersucht. Es lassen sich für die einzelnen Modifikationsschritte die bereits aus den PM IRRA-Spektren bekannten IR-Banden finden (Abb. 71).

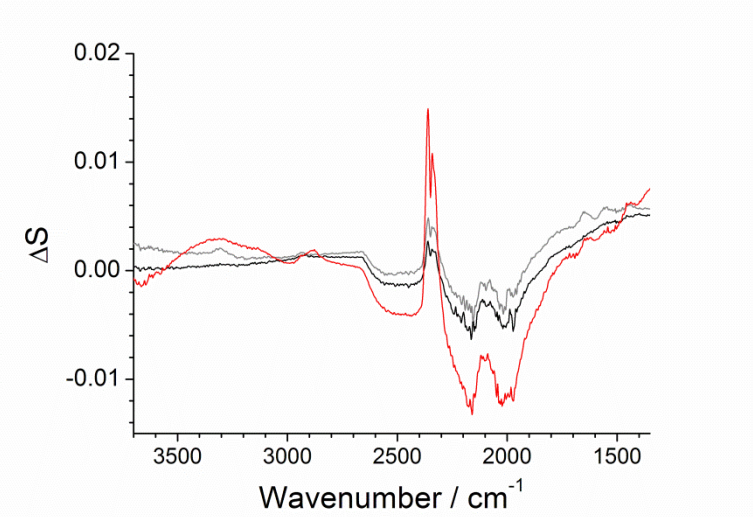


Abb. 71: IR-Messungen eines Si/ Si_3N_4-Wafers nach Modifikation mit einer APTES-Schicht (schwarze Linie), Acetylen-Terminierung (graue Linie) und OEG-Terminierung (rote Linie).

Die mit APTES modifizierte Oberfläche zeigt ein Signal bei ca. 2938 cm^{-1} für die CH-Streckschwingungen. Nach der Modifizierung mit der Acetylen-funktionalisierten

Carbonsäure können im IR-Spektrum sowohl die CH-Streckschwingung des Acetylen-Wasserstoffs bei ca. 3310 cm^{-1} als auch die Amid I-Bande (ca. 1645 cm^{-1}), die Amid II-Bande (ca. 1551 cm^{-1}) und die CH_2-Deformationsschwingung der Alkylkette (ca. 1438 cm^{-1}) detektiert werden. Dies weist auf die erfolgreiche Umsetzung der NH_2-Terminierung mit der Carbonsäure zur Säureamid-Gruppe hin. Diese Oberfläche wurde nun mit einem OEG-terminierten Azid unter Einwirkung eines Cu-Katalysators umgesetzt. Nach der Umsetzung mit dem OEG-terminierten Azid zeigt das IR-Spektrum die Amid II- und Amid I-Banden, die CH_2-Deformationsschwingungen und die CH-Streckschwingungen der Alkylkette und der OEG-Einheiten. Daneben findet sich eine breite Bande von ca. 3032 bis 3643 cm^{-1} mit einem Maximum bei ca. 3324 cm^{-1}. Diese breite Bande stammt möglicherweise von der OH-Terminierung der OEG-Einheit.

Somit konnte gezeigt werden, dass die Click-Chemie zum Aufbau von organischen Dünnschichten auf Au/SiO_x und Si/Si_3N_4 verwendet werden kann. Diese Methode erlaubt es auch, unterschiedliche SiO_x-Oberflächen mit verschiedenen Terminierungen zu erzeugen.

5.3.2 Charakterisierung mittels AFM-Messungen

Die mit der Click-Chemie modifizierten Au/SiO_x-Oberflächen wurden nach jedem Modifikationsschritt mit dem AFM untersucht. Dabei wurde der Kontaktmodus in Wasser verwendet (Abb. 72). Es kommt dabei zu einer Veränderung der Rauigkeit *Ra* nach jedem Modifikationsschritt.

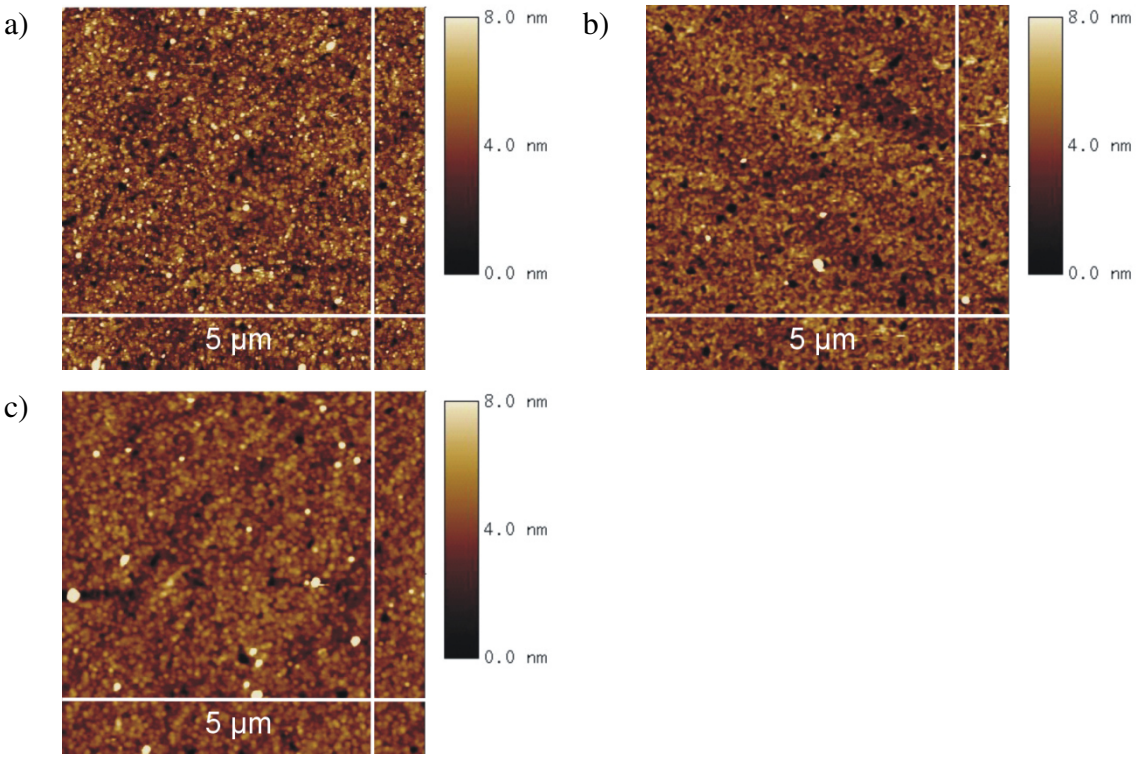


Abb. 72: AFM-Aufnahmen einer Au/SiO_x-Oberfläche bei der Modifikation mit Click-Chemie im Kontaktmodus in Wasser: a) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts einer APTES-Schicht, b) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts nach Acetylen-Modifizierung und c) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts nach OEG-Azid-Modifizierung.

Zunächst liegt die in Wasser gemessene Rauigkeit *Ra* für einen reine Au/SiO_x-Oberfläche bei (0.74 ± 0.06) nm und die Oberfläche weist deutlich die Strukturen der unter der SiO_x-Schicht liegenden Au-Oberfläche auf. Nach der Modifikation mit APTES steigt *Ra* auf (1.02 ± 0.04) nm an. Auf der Oberfläche lassen sich kleinere und größere Agglomerate erkennen, die von dem Silan stammen könnten. Der Wasserkontaktwinkel beträgt nach der Modifikation ca. (29.5 ± 4.2)°. Das entspricht in etwa dem Literaturwert von 25° für frisch hergestellte NH_2-Terminierungen.[229] Nach der Modifizierung mit der Acetylen-terminierten Carbonsäure wirkt die Oberfläche im AFM-Bild unschärfer und die Agglomerate sind weitestgehend verschwunden. Die Rauigkeit steigt auf etwa (1.11 ± 0.08) nm an. Der Kontaktwinkel erhöht sich auf ca. (58.4 ± 1.6)°. Dieser Anstieg zeigt, dass die Oberfläche hydrophober wird. Allerdings lässt sich auf einem mit der Acetylen-terminierten Carbonsäure modifizierten Si-Wafer ein Kontaktwinkel von ca. 78-82° messen.[96, 229] Der geringe Wasserkontaktwinkel könnte deshalb auf einen niedrigeren Umsetzungsgrad der NH_2-Gruppen mit der Carbonsäure hinweisen. Nach der Modifizierung mit dem OEG-Azid (**8**) sinkt der

Wasserkontaktwinkel auf ca. (38.9 ± 0.2)° ab und liegt etwas unterhalb des Kontaktwinkels (48°) einer Siliciumoberfläche, die mit dem analogen OEG-Azid modifiziert wurde.[96] Dies zeigt, dass die Oberfläche nun mit einer OH-Terminierung bedeckt ist. Das lässt sich auch in den entsprechenden IR-Spektren erkennen, da das Signal für den Acetylenwasserstoff verschwindet und sich eine OH-Bande ausbildet. Die AFM-Aufnahmen geben nach der OEG-Terminierung stärker die unter der SiO_x-Schicht liegende Goldstruktur wieder und die Rauigkeit *Ra* sinkt auf einen Wert von 0.78 nm.

Eine Acetylen-terminierte Si/Si_3N_4-Oberfläche zeigt eine *Ra* von 0.63 nm im Kontaktmodus in Wasser. Nach der Umsetzung mit dem OEG-Azid steigt die Rauigkeit leicht auf 0.68 nm an.

XPS-Messungen von mit Click-Chemie modifizierten Si/SiO_x- und Si/Si_3N_4-Oberflächen wurden ebenfalls durchgeführt. Es lassen sich dabei die typischen Signale für C 1s, O 1s und N 1s detektieren. Bei der Click-Chemie-Modifizierung einer Si/SiO_x-Probe enthält das C 1s-Signal Kohlenstoffkomponenten bei 285.0, 286.2, 287.0 und 288.5 eV, die den C-C/C-H- (285.0 eV),[78, 96] C-N- (286.2 eV),[96] C-O (287.0 eV)[96, 333] und N-C=O- (288.5 eV) Einheiten zuzuordnen sind.[305, 334] Daneben zeigt das hochaufgelöste N 1s-Spektrum zwei Komponenten. Das Signal bei 400.2 eV könnte zum Stickstoffatom der Amideinheit gehören,[305] während das Signal bei 401.6 eV vom Stickstoff der N-C-Bindung des Triazolrings stammen könnte.[96]

Das hochaufgelöste C 1s-Spektrum Si/Si_3N_4-Probe nach der Modifikation mit Click-Chemie zeigt unterschiedliche Kohlenstoffspezies bei 285.0, 286.2, 287.0 und 288.48 eV, die sich den C-C/C-H- (285.0 eV),[78, 96] C-N- (286.2 eV),[96] C-O- (287.0 eV)[96, 333] und N-C=O- (288.5 eV) zuordnen lassen.[305, 334] Im hochaufgelöstem N 1s-Spektrum verursacht der Stickstoff in der Si_3N_4-Schicht des Substrats den Hauptpeak bei 398.4 eV. Das Signal bei 400.2 eV könnte vom Stickstoffatom der Amideinheit[305] und das Signal bei 401.7 eV vom Stickstoff der N-C-Bindung des Triazolrings stammen.[96]

In diesem Kapitel wurden Modifikationen mit unterschiedlichen OEG- und PEG-terminierten Silanen durchgeführt. Dabei konnte erfolgreich die Modifizierung unterschiedlicher siliciumoxidhaltiger Substrate gezeigt werden. Die Modifikation

gelang sowohl über OEG- und PEG-terminierte Silane als auch durch den Aufbau von Dünnschichten über Precursorverbindungen. Die Charakterisierung dieser Dünnschichten erfolgte über AFM-, XPS- und PM IRRAS-Messungen. Die IR-Charakterisierung mit Hilfe von PM IRRAS konnte durch die Verwendung spezieller Au/SiO_x Oberflächen realisiert werden. Ein weiterer Schwerpunkt in diesem Kapitel war die Charakterisierung eines neuen perfluorierten Silans, welches die Eigenschaften von OEG-Terminierung und perfluorierter Alkylkette kombiniert um eine stabile, zellabweisende Dünnschicht auf SiO_x zu erzeugen. Proteinadsorptionsuntersuchungen und Zelladhäsionsuntersuchungen wurden ebenfalls mit strukturierten OEG-terminierten Oberflächen durchgeführt. Hier zeigte besonders die Verbindung OEG-Urethan (**5**) eine dauerhafte Stabilität.

Die geringe Stabilität der Dünnschichten auf SiO_x-Oberflächen stellt für die Zielsetzung des Projektpartners ein Problem dar, da eine Integration in ein kommerzielles Biochipsystem erschwert wird. Die Verbindung OEG-Urethan (**5**) zeigte noch die besten Ergebnisse, was eine Anwendung im Biochipsystem ermöglichen könnte. Aufgrund der geringen Stabilität der Organosilanschichten wird im nächsten Kapitel auf die Beschichtung mit zellabweisenden Polymeren eingegangen.

6. Polymere Dünnschichten auf SiO_x

6.1 Oberflächenmodifikation mit Polydimethylsiloxan

Wie bereits beschrieben wurde, besitzen OEG- und PEG-terminierte Dünnschichten eine geringe Stabilität, welche den Einsatz auf einem kommerziellen Biochipsystem erschwert.[154, 155] Aus diesen Grund werden in diesem Kapitel die Beschichtungen von SiO_x mit Polymeren wie Polydimethylsiloxan (PDMS) oder Poly-L-Lysin-*graft*-PEG (PLL-*g*-PEG) hinsichtlich der Stabilität untersucht.

Zellabweisende Polymere besitzen eine hohe Stabilität und können daher möglicherweise länger verwendet werden als OEG-terminierte Monolagen. Dies ist ein wesentlicher Vorteil gegenüber den OEG-terminierten Monolagen, da eine längere Stabilität zu einer längeren Verwendungsdauer solcher Biochipsysteme führen könnte. Um diesen potentiellen Vorteil der Polymere für das Chipsystem des Projektpartners zu untersuchen, wurden SiO_x-Oberflächen mit dem zellabweisenden Polymer PDMS beschichtet. Es ist bekannt, dass PDMS aufgrund der hohen Hydrophobizität zellabweisend wirkt.[173] Dazu bietet die Verwendung von PDMS weitere Vorteile wie eine gute Biokompatibilität[163] und die Möglichkeiten der Strukturierung[171] und nachträglichen Modifizierung.[161, 170] Die Nutzung des µCP-Verfahrens erlaubt zum Beispiel die Strukturierung von SiO_x mit flüssigem PDMS.[15] Für die Strukturierung von SiO_x-Oberflächen wurde zunächst ein Glasobjektträger mit flüssigem PDMS schleuderbeschichtet und ein Stempel aus festem PDMS kurz auf den PDMS-Film aufgedrückt und wieder entfernt. Überschüssiges PDMS ließ sich durch kurzes Bestempeln eines weiteren Objektträgers entfernen. Der mit PDMS benetzte Stempel wurde kurz auf die zu strukturierende Oberfläche aufgedrückt. Nach dem Entfernen blieben dünne PDMS-Strukturen zurück, die ausgehärtet wurden. Auf diesen Proben erfolgte anschließend die Kultivierung von Zellen. Die Abb. 73a und 73b zeigen das Ergebnis von Zelladhäsionstests mit HEK293-Zellen an DIV 2 und DIV 3. Die Zellen adhärieren nur in den Zwischenräumen, während auf den runden PDMS-Oberflächen keine Adhäsion erfolgt.

a) b)

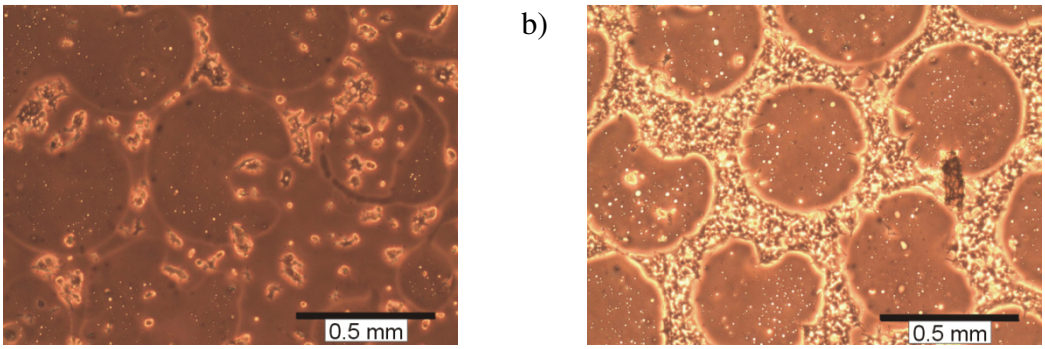
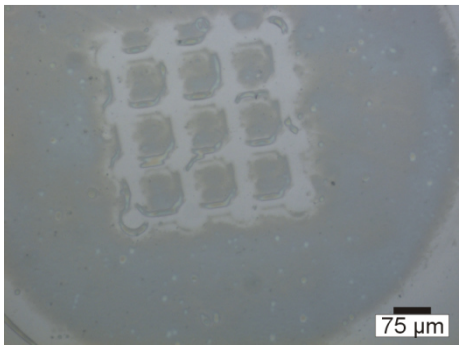


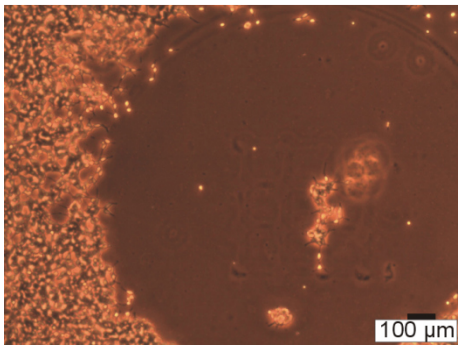
Abb. 73: Mit PDMS strukturierte Glasoberfläche nach Kultivierung mit HEK293-Zellen a) an DIV 2 und b) an DIV 3.

Um die Steuerung der Zelladhäsion mit PDMS zu untersuchen, kamen spezielle PDMS-Stempel zum Einsatz, mit denen sich dünne Verbindungslinien von 20-30 µm Breite erzeugen ließen. Abbildung 74a zeigt eine mit PDMS gestempelte Glasoberfläche. Die dünnen Verbindungslinien sollen die Bahnen für das Zellwachstum vorgeben. Allerdings zeigte sich bei Zelladhäsionsuntersuchungen in Rostock schnell, dass das hydrophobe PDMS bei den kleinen Strukturen zu Benetzungsproblemen mit der Zellkulturflüssigkeit führte. Um dies zu umgehen, können die Oberflächen vor dem Kultivieren mit Sauerstoffplasma oxidiert werden. Dadurch wird die Zelladhäsion in den Strukturen gefördert, aber auch die ursprünglich hydrophoben PDMS-Schichten verlieren ihre zellabweisenden Eigenschaften. Daher können sich die Zellen auf der gesamten Oberfläche ausbreiten. Es wurden daher zwei verschiedene Ansätze untersucht. Zum einen wurde vorher oxidiertes und somit hydrophiles Glas mit PDMS gestempelt. Zum anderen wurde bei einigen Proben zunächst mit Hilfe des Spincoaters ein dünner PDMS-Film auf die Oberfläche aufgebracht und dieser anschließend oxidiert. Das oxidierte PDMS wurde mit neuem PDMS strukturiert. Die Zellen wachsen besser in den Strukturen auf dem oxidierten PDMS (Abb. 74c) als auf dem oxidierten Glas (Abb. 74b). Möglicherweise bleibt das PDMS nach der Oxidation länger hydrophil als das Glas. Die Zellen wachsen in den Aussparungen in der Mitte des Netzwerkes. Die umgebende PDMS-Oberfläche wirkt dagegen zellabweisend.

a)



b)



c)

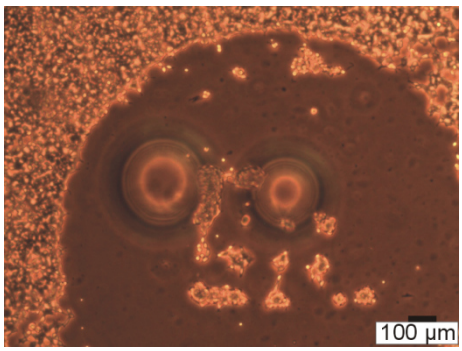
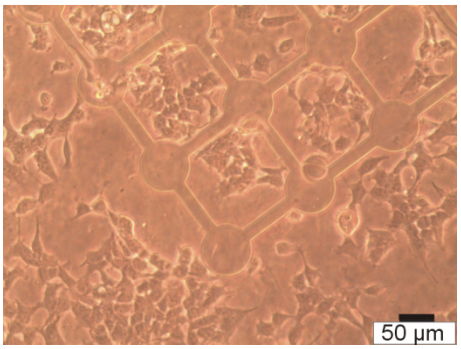


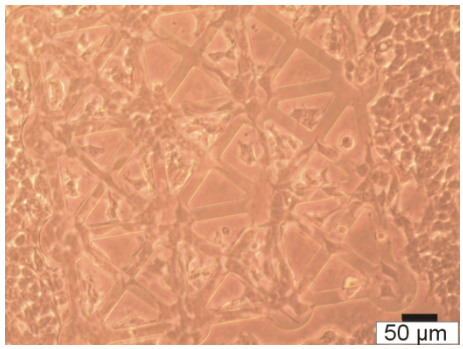
Abb. 74: Mit PDMS strukturierte Glasoberflächen. a) Lichtmikroskopaufnahme der gestempelten Struktur. Die hellen Bereiche des 4 × 4-Arrays sind unbeschichtetes Glas. b) Vor der Strukturierung mit PDMS oxidierte Oberfläche nach DIV 4 mit HEK293-Zellen Passage 90. c) Oberfläche zunächst mit PDMS beschichtet, dann mit UV/O_3 oxidiert und anschließend mit PDMS strukturiert nach DIV 3 mit HEK293-Zellen Passage 90.

Eine weitere Möglichkeit zur Steuerung des Zellwachstums ist die Verwendung von festen PDMS-Stempeln. Diese erlauben ab einer Wandhöhe von ca. 20 µm die Separation von Zellen.[23] Die auf den Strukturen adhärierten Zellen können diese nicht verlassen und wachsen auf den Strukturen entlang, während sich die Zellen in den Zwischenräumen nur dort ausbreiten können. Die Abb. 75 zeigt verschiedene PDMS-Strukturen nach der Kultur mit HEK293-Zellen (Abb. 75a und 75b) und mit primären Neuronen (Abb. 75c). Die PDMS-Oberflächen wurden für die Zelladhäsion zunächst oxidiert, damit die Zellen auf dem PDMS anwachsen können.

a)



b)



c)

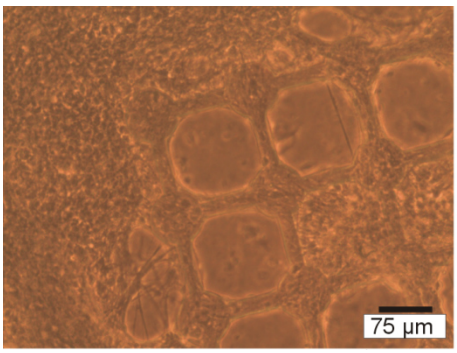


Abb. 75: a) und b) Zellwachstum von HEK293-Zellen Passage 86 an DIV 3 auf verschiedenen festen PDMS-Strukturen. c) Zellwachstum von primären Neuronen aus dem Cerebellum an DIV 15. Die Zellen wachsen separat voneinander auf den Strukturen oder innerhalb der Zwischenräume.

Solche PDMS-Strukturen könnten zur Anwendung auf Biochipsystemen genutzt werden. Es bietet die Möglichkeit, ein gerichtetes Wachstum der Zellen in Bahnen vorzugeben. Zudem könnte es die Möglichkeit erlauben, unterschiedliche Zellarten voneinander zu separieren, indem eine Zellkultur auf die Strukturen aufgebracht wird und eine weitere in den Zwischenräumen kultiviert wird. Ebenso erscheint es möglich, die Migration von Zellen mit solchen Systemen zu steuern und zu untersuchen. Einzelne neuronale Zellen könnten auf den Erhebungen aufgebracht werden. Durch die Wahl sehr dünner Verbindungslinien können sich die Zellen untereinander verknüpfen aber diese Verbindungslinien nicht bewachsen. Dies könnte die Ausbildung eines Netzwerks aus Zellen ermöglichen.

6.2 Oberflächenmodifikation mit Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylenglycol

Neben der Beschichtung von SiO_x-haltigen Oberflächen mit dem Polymer PDMS erfolgte auch eine Beschichtung dieser Oberflächen mit einem weiteren Polymer, dem Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylenglycol (PLL-*g*-PEG). Dieses Polymer weist ebenfalls zellabweisende Eigenschaften auf.[22]

Zunächst wurden die oxidierten Oberflächen für 30 min in eine Lösung des Polymers (c = 1mg/ml) in PBS eingetaucht, gereinigt, getrocknet und anschließend die erfolgreiche Modifikation über eine Kontaktwinkelmessung kontrolliert. Vor der Modifikation mit PLL-*g*-PEG weisen die oxidierten Glasoberflächen, Au/SiO_x-, Si/Si_3N_4- und Si/SiO_x-Oberflächen bei einer Tropfengröße von 2 µl Wasserkontaktwinkel von unter 10° auf. Nach der Oberflächenbeschichtung kommt es zu einer Erhöhung der Wasserkontaktwinkel. Die Kontaktwinkel sind in Tab. 12 dargestellt.

Tab. 12: Statischer Wasserkontaktwinkel nach Beschichtung der verschiedenen SiO_x-haltigen Oberflächen gemessen mit einer Tropfengröße von 2 µl deionisiertem Wasser bei Raumtemperatur.

Substrat	Wasserkontaktwinkel nach Beschichtung [°]
Au/SiO_x	34.6 ± 0.8
Glasobjektträger	33.2 ± 0.3
Si/Si_3N_4	29.4 ± 0.8
Si/SiO_x	29.4 ± 1.2

Die Wasserkontaktwinkel steigen nach der Beschichtung mit PLL-*g*-PEG an und liegen bei etwa 29° für die Si/Si_3N_4- und Si/SiO_x-Substrate, während die Kontaktwinkel für den Glasobjektträger (33.2 ± 0.3)° und für Au/SiO_x (34.6 ± 0.8)° betragen. In der Literatur finden sich Kontaktwinkel für PLL-*g*-PEG von ca. (29.1 ± 2.1)°.[186] Die Kontaktwinkel sprechen daher für eine erfolgreiche Oberflächenbeschichtung mit dem Polymer. Die etwas höheren Werte für die Au/SiO_x-Oberfläche und dem Glasobjektträger könnten von einer weniger homogenen SiO_x-Schicht stammen. Dies könnte zu einer geringeren Adsorption von PLL-*g*-PEG und zu einer insgesamt etwas hydrophoberen Oberfläche führen.

Zur weiteren Charakterisierung der verschiedenen SiO_x-Oberflächen mit dem Polymer PLL-*g*-PEG kommen AFM-Aufnahmen zum Einsatz, um Topographie- und

Höhenprofilmessungen durchzuführen und um die mittleren Rauigkeiten *Ra* zu bestimmen. Die Rauigkeiten reiner und modifizierter Oberflächen sind in Tab. 13 dargestellt.

Tab. 13: Zusammenfassung der mittleren Rauigkeitswerte *Ra* der verschiedenen SiO_x-haltigen Oberflächen im reinen Zustand sowie nach der Beschichtung mit PLL-*g*-PEG.

Substrat	Bildausschnitt [μm^2]	*Ra* des reinen Substrates [nm]	*Ra* nach der Beschichtung mit PLL-*g*-PEG [nm]
Au/SiO_x	1×1	0.96	1.31 ± 0.19
Au/SiO_x	5×5	0.74 ± 0.06	1.25 ± 0.01
Si/Si_3N_4	1×1	1.37	1.51 ± 0.04
Si/Si_3N_4	5×5	1.28 ± 0.01	1.26 ± 0.01
Si/SiO_x	1×1	4.78 ± 0.09	1.78 ± 0.33
Si/SiO_x	5×5	4.74 ± 0.14	1.47 ± 0.15

Die Rauigkeiten liegen nach der Modifizierung mit PLL-*g*-PEG zwischen 1.25 und 1.78 nm. Mit Ausnahme von Si/SiO_x, geht die Modifikation bei allen Proben mit einer Zunahme der Rauigkeit einher. Bei Si/SiO_x tritt dagegen eine starke Verringerung der *Ra*-Werte auf (Tab.13). Die Topographiebilder weisen deutliche Unterschiede vor und nach der Modifikation (Abb. 76 und Abb. 77) auf. Die Si/SiO_x-Oberflächen zeigen zunächst eine *Ra* von ungefähr 4.7 nm mit Aggregationen von bis zu 33.7 nm Höhe an (Abb. 76c). Nach der Modifikation verringert sich die Rauigkeit auf ein Drittel (1.47-1.78 nm). Im Topographiebild eines 1×1 μm^2-Bildausschnittes lassen sich nun rundliche, fast tropfenförmige Agglomerate erkennen (Abb. 77a). Diese Tropfen besitzen eine Höhe von ca. 9.10 nm (Abb. 77c). Vergleicht man die 5×5 μm^2-Bildausschnitte vor und nach der Modifikation, so erkennt man nach der Modifikation deutlich die adsorbierten Polymere (Abb. 77d).

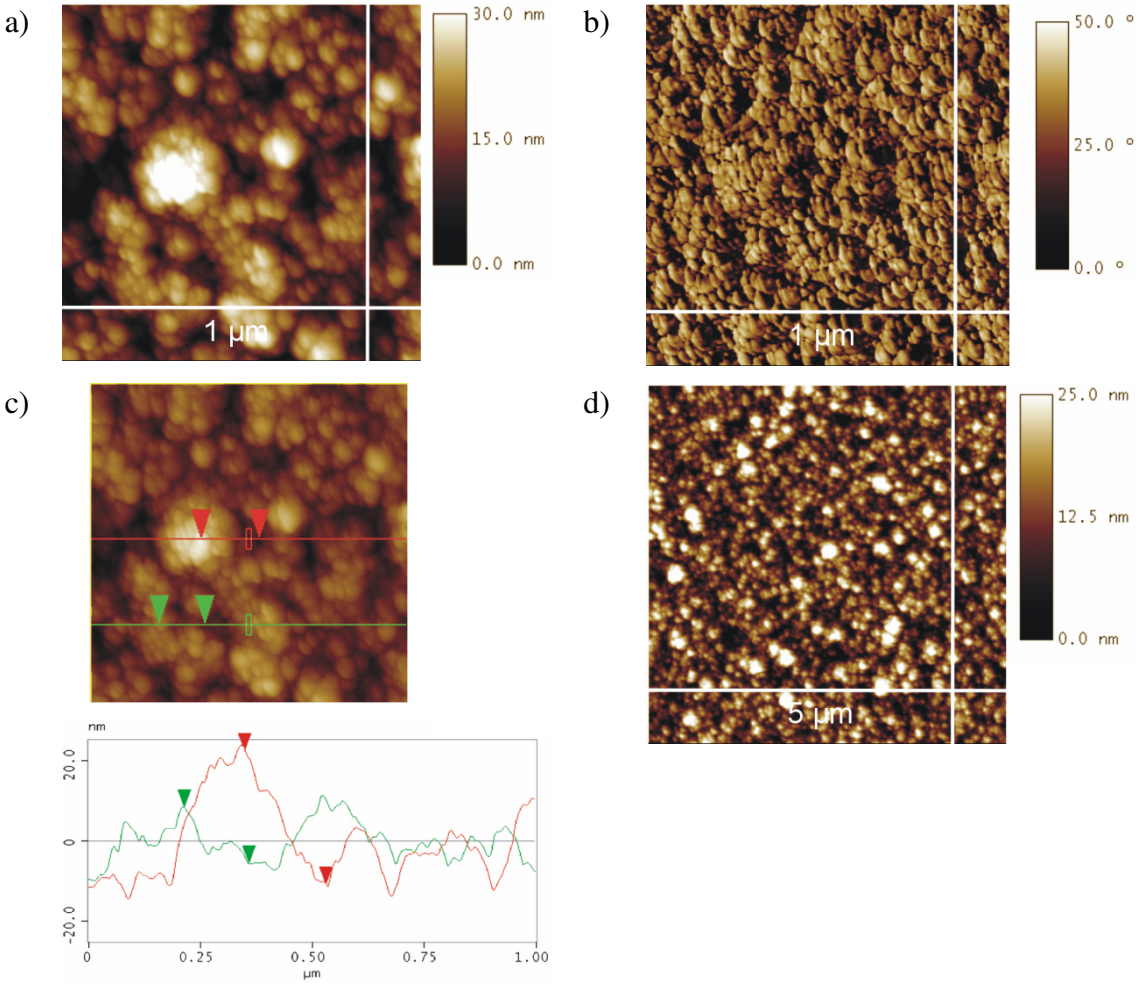


Abb. 76: AFM-Aufnahmen einer oxidierten Si/SiO_x-Oberfläche vor der Modifikation mit PLL-*g*-PEG, aufgenommen im Tapping Mode™: a) Topographie eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, b) Phasenbild eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, c) Höhenprofilbestimmung eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts und d) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts.

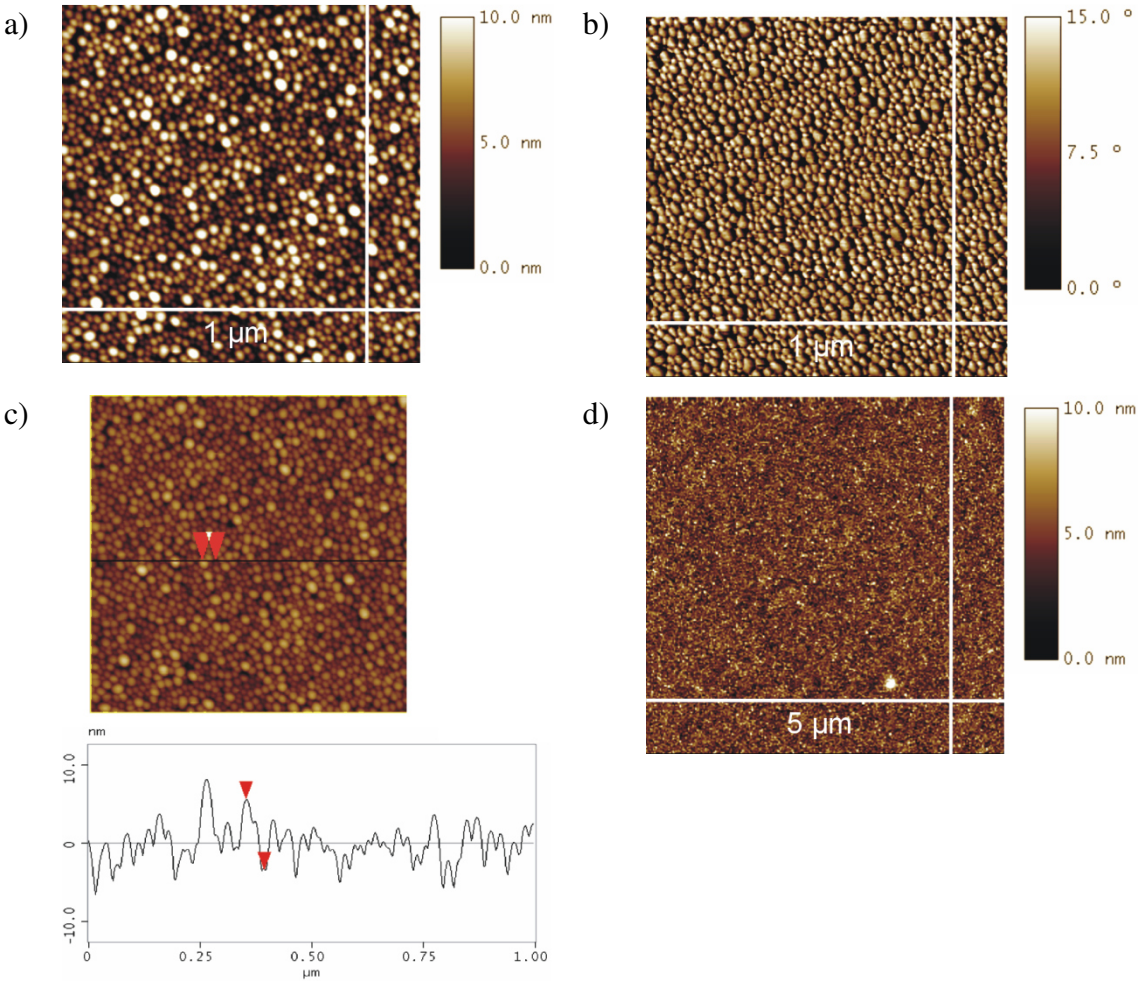


Abb. 77: AFM-Aufnahmen einer oxidierten Si/SiO_x-Oberfläche nach der Modifikation mit PLL-*g*-PEG, aufgenommen im Tapping Mode™: a) Topographie eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, b) Phasenbild eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, c) Höhenprofilbestimmung eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts und d) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts.

Bei der Si/Si_3N_4-Oberfläche (Abb. 78 und Abb. 79) lässt sich der Unterschied vor und nach der Modifikation nicht so eindeutig erkennen wie bei der Si/SiO_x-Oberfläche. Die unbehandelte Oberfläche zeigt bereits kugelförmige Strukturen mit einer Höhe von 9.48 nm und einer *Ra* von 1.37 nm für einen 1 × 1 µm^2-Ausschnitt (Abb. 78). Nach der Modifikation steigt die Rauigkeit für einen 1 × 1 µm^2-Ausschnitt auf (1.51 ± 0.04) nm an, wohingegen die Rauigkeit vor und nach der Modifikation bei einem 5 × 5 µm^2-Ausschnitt nahezu identisch ist. Die Oberflächenstruktur scheint beim 1 × 1 µm^2-Bildausschnitt nach der Modifikation mehr und feinere rundliche Tropfen mit einer Höhe von 4.03-7.96 nm zu besitzen, als es dies vor der Modifikation der Fall ist (Abb. 79a und Abb. 79c). Die Oberfläche ähnelt stark der modifizierten Si/SiO_x-Oberfläche (Abb. Abb. 77a). Der Vergleich der 5 × 5 µm^2-Bildausschnitte zeigt eine kaum

wahrnehmbare Veränderung und ähnelt nach der Modifikation der modifizierten Si/SiO_x-Oberfläche.

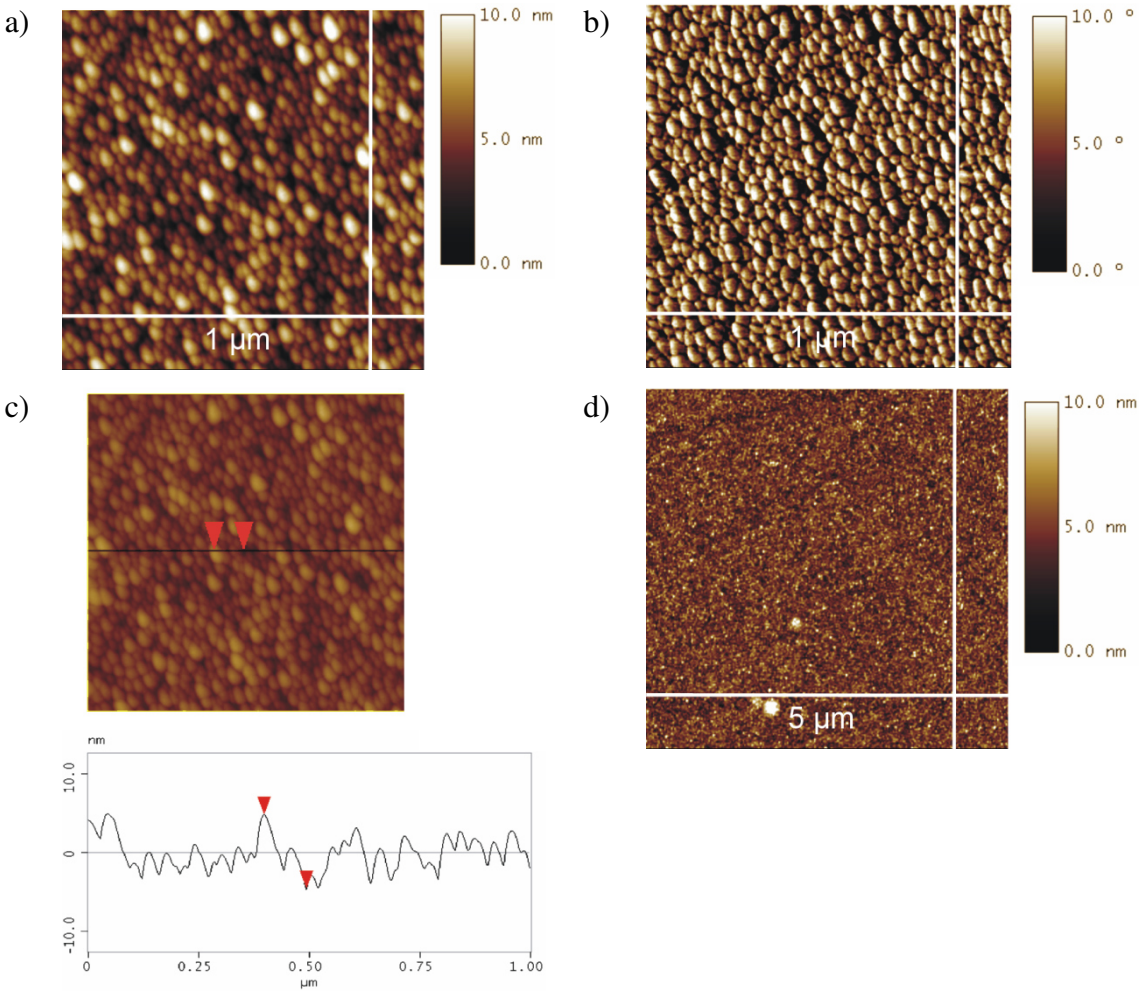


Abb. 78: AFM-Aufnahmen einer oxidierten Si/Si_3N_4-Oberfläche vor der Modifikation mit PLL-*g*-PEG, aufgenommen im Tapping Mode™: a) Topographie eines $1 \times 1\ \mu m^2$-Bildausschnitts, b) Phasenbild eines $1 \times 1\ \mu m^2$-Bildausschnitts, c) Höhenprofilbestimmung eines $1 \times 1\ \mu m^2$-Bildausschnitts und d) Topographie eines $5 \times 5\ \mu m^2$-Bildausschnitts.

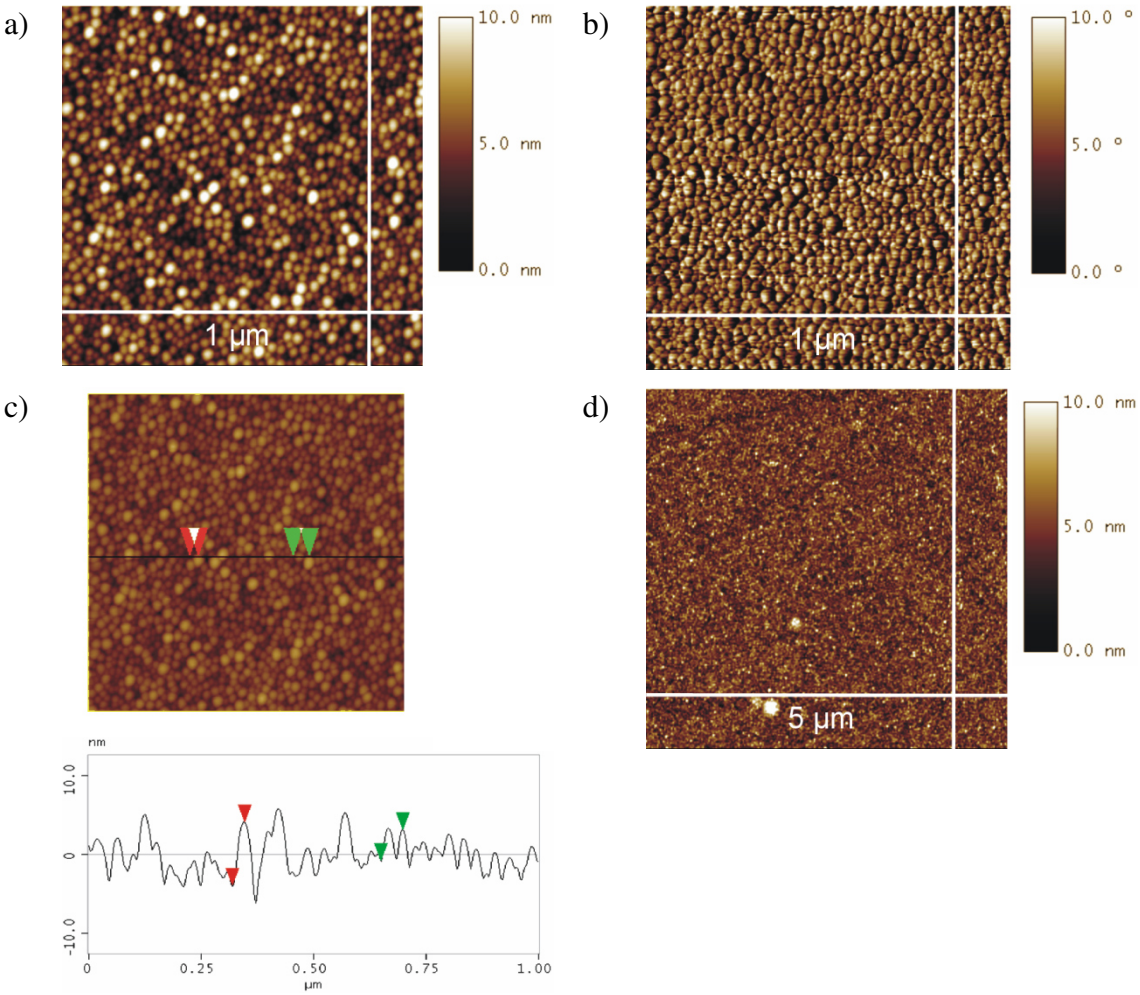


Abb. 79: AFM-Aufnahmen einer oxidierten Si/Si_3N_4-Oberfläche nach der Modifikation mit PLL-*g*-PEG, aufgenommen im Tapping Mode™: a) Topographie eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, b) Phasenbild eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, c) Höhenprofilbestimmung eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts und d) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts.

Die AFM-Aufnahmen einer reinen Au/SiO_x-Oberfläche zeigen die Strukturen der unter der dünnen SiO_x-Schicht liegenden Au-Oberfläche (Abb. 80). Diese Oberflächen weisen eine *Ra* von 0.96 nm für einen Bildausschnitt von 1 × 1 µm^2 und eine *Ra* von (0.74 ± 0.06) nm für einen Bildausschnitt von 5 × 5 µm^2 auf (Tab. 13). Nach der Modifikation mit PLL-*g*-PEG steigt die Rauigkeit auf 1.25 bis 1.31 nm an (Tab. 13). Die Strukturierung der Oberfläche vor der Modifizierung erscheint schärfer und stärker als nach der Beschichtung mit PLL-*g*-PEG. Im 5 × 5 µm^2-Bildausschnitt ist die Au-Struktur nach der Modifikation nicht mehr deutlich zu erkennen, wie dies vor der Modifizierung der Fall ist (Abb. 81b). Ein ähnliches Verhalten konnten Hartung et al.[179] bei der Beschichtung von Si_3N_4 und SiC-Oberflächen mit PLL-*g*-PEG beobachten. AFM-Aufnahmen nach der Beschichtung zeigten eine deutlich flachere und

homogenere Oberfläche als vor der Beschichtung mit PLL-*g*-PEG.[179] Die Höhenprofilmessung ergibt Höhenunterschiede von 2.97 bis 6.03 nm nach der Beschichtung (Abb. 81c). Die Oberfläche zeigt zudem Löcher in der SiO_x-Schicht von bis zu 15.69 nm Tiefe. Dies könnte ein Hinweis auf eine inhomogene SiO_x-Schicht sein und den höheren Kontaktwinkel erklären (Tab. 12).

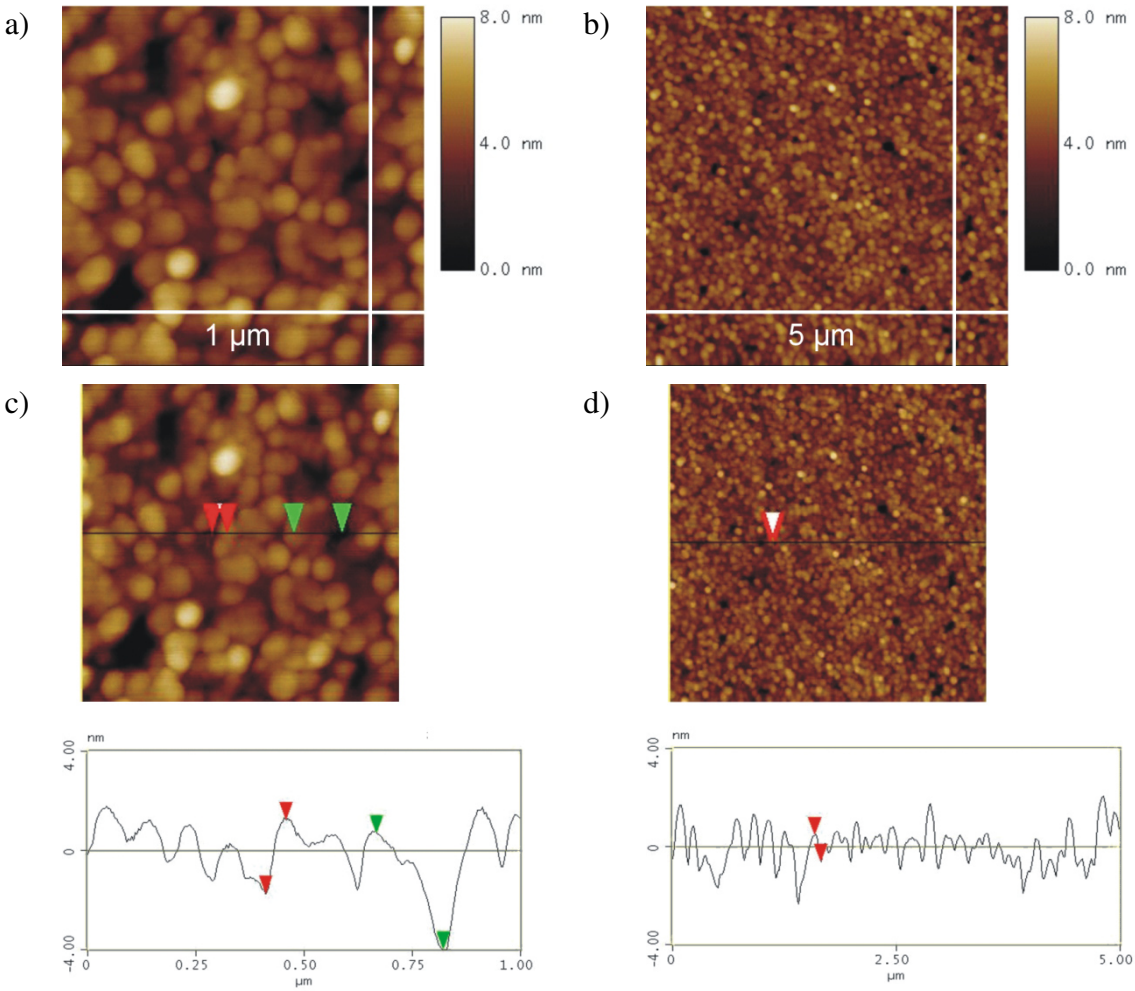


Abb. 80: AFM-Aufnahmen einer oxidierten Au/SiO_x-Oberfläche aufgenommen im Kontaktmodus in Wasser: a) Topographie eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, b) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts, c) Höhenprofilbestimmung eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts und d) Höhenprofilbestimmung eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts.

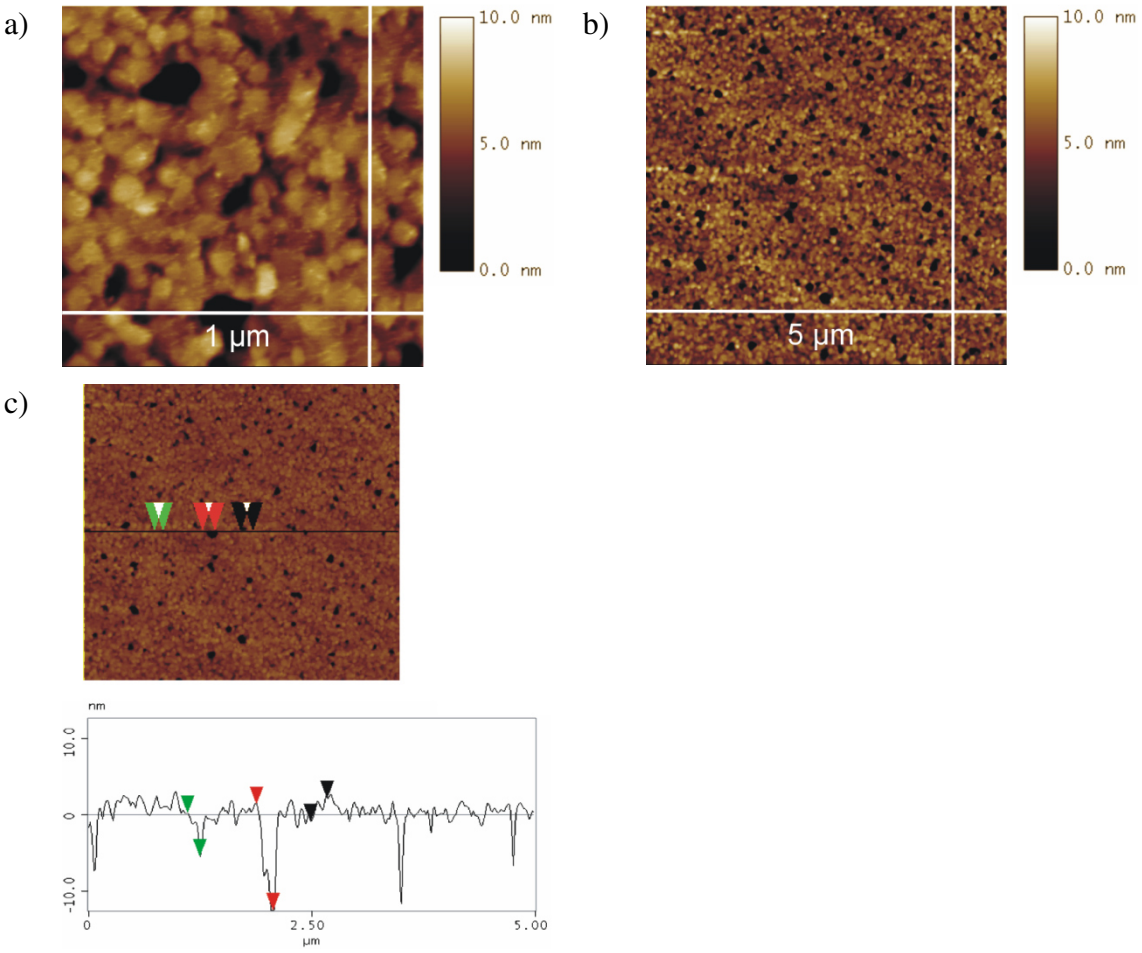


Abb. 81: AFM-Aufnahmen einer oxidierten Au/SiO_x-Oberfläche nach der Modifikation mit PLL-*g*-PEG, aufgenommen im Tapping Mode™: a) Topographie eines 1 × 1 µm^2-Bildausschnitts, b) Topographie eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts und c) Höhenprofilbestimmung eines 5 × 5 µm^2-Bildausschnitts.

Mit den modifizierten Au/SiO_x-Oberflächen wurden PM IRRAS-Messungen durchgeführt. Im Spektralbereich von 2000-1300 cm^{-1} lässt sich mit der Amid I-Bande bei ca. 1652 cm^{-1} ein Intensitätsmaximum finden (Abb. 83).[181] Neben dieser Amid I-Bande findet man bei 1540 cm^{-1} die Amid II-Bande.[181] Bei 1454 cm^{-1} und 1350 cm^{-1} lassen sich zwei weitere Banden für die Deformationsschwingungen der CH_2-Gruppen aus den Alkylketten[181] bzw. für die Wippschwingungen der CH_2-Einheiten aus PEG-Einheiten und Alkylketten detektieren.[181] Die Amid I- und Amid II-Banden stammen ebenfalls aus der Amidbindung der L-Lysin-Einheiten.

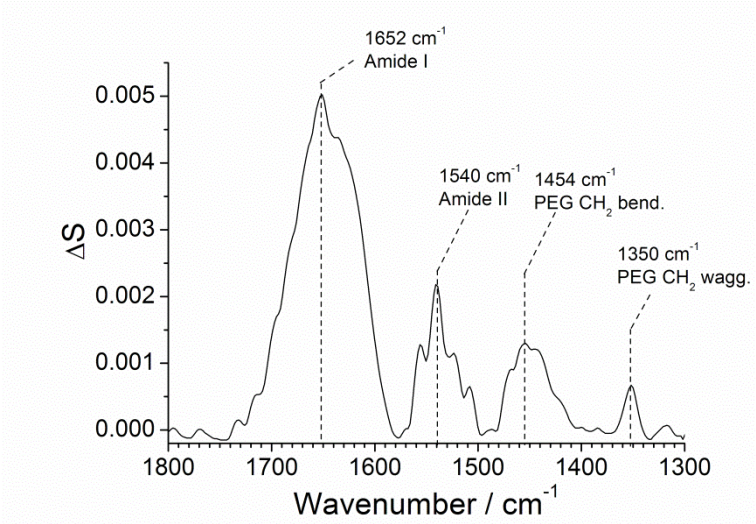


Abb. 82: PM IRRA-Spektrum nach der Adsorption von PLL-*g*-PEG (c = 1 mg/ml) in PBS nach 30 min auf Au/SiO_x-Substrat im Bereich der Amid I- und Amid II-Bande.

Im Spektralbereich von 3100 bis 2700 cm^{-1} lassen sich die CH-Streckschwingung der CH_2- und CH_3-Gruppen der PEG-Einheiten sowie der Alkylketten detektieren (Abb. 83).[73, 137, 181, 302, 312, 313]

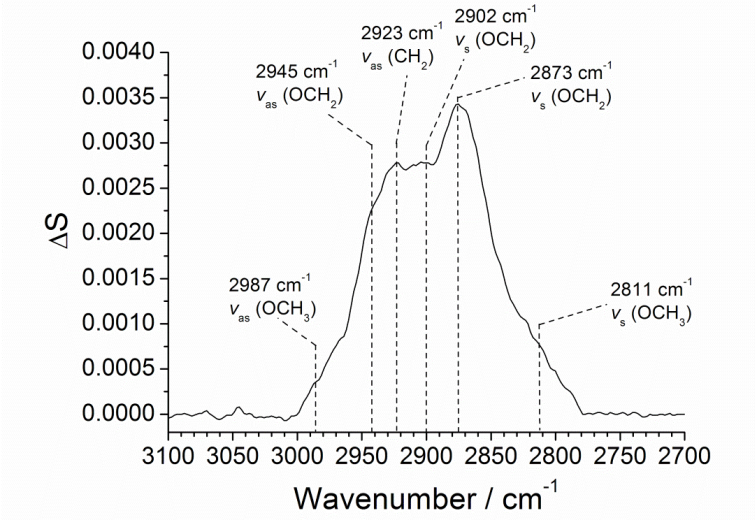


Abb. 83: PM IRRA-Spektrum nach der Adsorption von PLL-*g*-PEG (c = 1 mg/ml) in PBS und 30 min auf Au/SiO_x-Substrat im Bereich der CH-Streckschwingungen.

Es lassen sich zwei starke Banden bei 2923 und 2873 cm^{-1} finden. Daneben gibt es schwächere Banden bei 2987, 2945, 2902 und 2811 cm^{-1}. Die Banden bei 2945 cm^{-1} und 2873 cm^{-1} lassen sich den asymmetrischen Streckschwingungen ($\nu_{as}(OCH_2)$) bei 2945 cm^{-1} und den symmetrischen Streckschwingungen ($\nu_s(OCH_2)$) bei 2873 cm^{-1} der

PEG-Kette zuordnen. Die Bande bei 2923 cm^{-1} könnte aufgrund der Position von den asymmetrischen Streckschwingungen ($\nu_{as}(CH_2)$) der Methylengruppen der Alkylkette stammen und die Bande bei 2902 cm^{-1} lässt sich den symmetrischen Streckschwingungen ($\nu_s(OCH_2)$) der PEG-Kette zuordnen. Die Banden bei 2987 und 2811 cm^{-1} stammen von der Methoxy-Endgruppe der PEG-Einheiten und stellen die asymmetrische Streckschwingung ($\nu_{as}(OCH_3)$) bei 2987 cm^{-1} und die symmetrische Streckschwingung ($\nu_s(OCH_3)$) bei 2811 cm^{-1} dar. Das Vorhandensein der Amid I- und Amid II-Bande als auch der CH_2- und OCH_3-Streckschwingungen zeigt, dass die Beschichtung von Au/SiO_x mit dem Polymer PLL-*g*-PEG erfolgreich war.

Um die Polymerschichten für die Anwendung auf dem Biochip des Projektpartners zu testen, wurden Glasoberflächen mit PLL-*g*-PEG modifiziert und anschließend zum Projektpartner nach Rostock versandt. Für Zelltests mit HEK293-Zellen kamen zwei unterschiedliche Varianten der Oberflächenmodifikation mit PLL-*g*-PEG zum Einsatz. Im ersten Ansatz wurden Glasobjektträger mit PLL-*g*-PEG mit dem µCP-Verfahren strukturiert, um die Struktur des Chips auf der Oberfläche zu erzeugen. Der feste PDMS-Stempel wurde dazu für 30 min in eine Lösung aus PLL-*g*-PEG in HEPES-Puffer eingetaucht. Der Stempel wurde danach getrocknet und unter leichtem Druck kurz auf die Glasoberfläche aufgesetzt. Nach dem Entfernen des Stempels wurden die Substrate unter Argon verpackt und verschickt. Abbildung 84a und 84b zeigen die Resultate nach der Kultivierung mit HEK293-Zellen an verschiedenen Tagen der Kultur.

a) b)

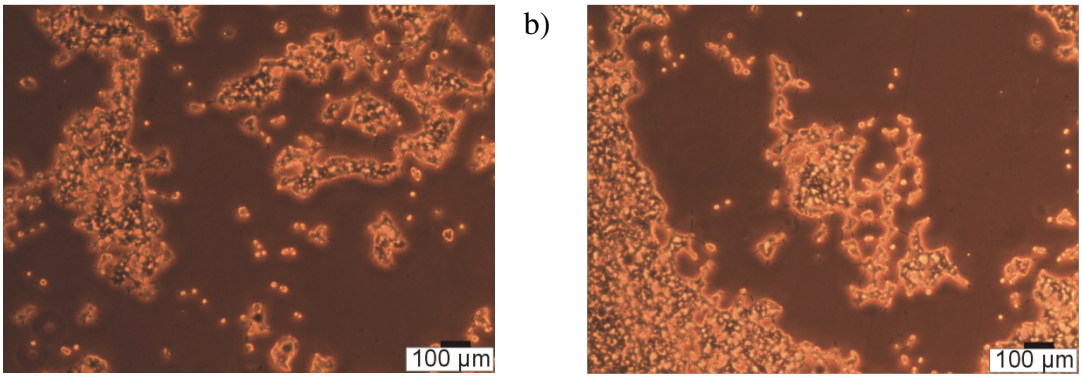


Abb. 84: Mit dem µCP-Verfahren mit PLL-*g*-PEG strukturierte Glasoberflächen nach Kultivierung mit HEK293-Zellen Passage 90: a) nach DIV 3 und b) nach DIV 4. Die Oberflächen zeigen vermehrt Wachstum in der Mitte, bei der es sich um die gestempelte Chipstruktur handelt.

An DIV 3 lassen sich bei einigen Oberflächen runde, zellfreie Bereiche erkennen (Abb. 84a). Um die runden Strukturen herum wachsen die Zellen, ebenso wie in der Mitte, gut an. Hier lässt sich die Struktur des Chipdesigns erahnen. Die zellfreien runden Oberflächen sind die Bereiche, die mit PLL-*g*-PEG bedruckt wurden, während außen die oxidierte, nicht bedruckte Glasoberfläche ebenso wie die freien Strukturen des Chips in der Mitte die Zelladhäsion erlauben (Abb. 84a). Eine Oberfläche an DIV 4 zeigt ein ähnliches Verhalten, wobei hier klar die nicht modifizierten Bereiche von den modifizierten Bereichen unterscheidbar sind. Die reine Glasoberfläche ist mit einem dichten Film aus Zellen besiedelt, während die PLL-*g*-PEG-Oberfläche nur in der Mitte in einer verlaufenen Chipstruktur Zellwachstum aufweist (Abb. 84b).

Im zweiten Ansatz wurden Oberflächen mit PLL-*g*-PEG beschichtetet und anschließend mit UV/O_3 durch eine Schattenmaske bestrahlt. Es ist bekannt, dass PLL-*g*-PEG durch Oxidation mit Sauerstoffplasma strukturiert werden kann.[186] Dies könnte eine Methode zur nachträglichen Strukturierung von Biochipsystemen darstellen, die vorher einheitlich mit PLL-*g*-PEG beschichtet werden. Die Abb. 85 zeigt eine PLL-*g*-PEG-beschichtete Oberfläche nach der Oxidation mit UV/O_3 durch eine Schattenmaske und anschließender Kultivierung mit HEK293-Zellen an DIV 3.

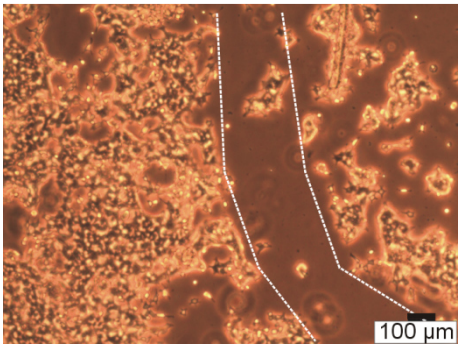


Abb. 85: PLL-*g*-PEG-Beschichtung nach Oxidation mit UV/Ozon für 10 min und Kultivierung mit HEK293 Passage 90 an DIV 3. Zur Strukturierung wurde ein TEM-Grid (Mesh-Größe 50) als Schattenmaske verwendet.

Vor allem die Ränder des TEM-Grids lassen sich gut erkennen und identifizieren (Abb. 85). Die inneren Strukturen des TEM-Grids scheinen dagegen überwachsen zu sein. Es lassen sich einige quadratische Strukturen erkennen. Ein Grund dafür könnte sein, dass die TEM-Grids nicht vollständig planar auf der Oberfläche aufliegen. Dies könnte dann dazu führen, dass es unter den TEM-Grids zu einer Oxidation durch das O_3 gekommen

ist. Azioune et al.[185] konnten nach dem Bestrahlen mit UV-Licht durch eine Photomaske die PLL-*g*-PEG-Oberfläche strukturieren, um Mikrostrukturen auf der Oberfläche zu erzeugen. Anschließend erfolgte eine Proteinadsorption auf den bestrahlten Bereichen.

Es konnte somit gezeigt werden, dass das Polymer PLL-*g*-PEG zellabweisend wirkt und dass sich Oberflächen mit Polymeren durch µCP-Verfahren oder der nachträglichen Oxidation durch eine Schattenmaske strukturieren lassen. Dies könnte hinsichtlich des Biochipsystems des Projektpartners interessant sein. Ein Vorteil von PLL-*g*-PEG gegenüber den Beschichtungen mit PDMS ist auch, dass die Oberflächen nach der Beschichtung mit PLL-*g*-PEG hydrophil sind. Dadurch lassen sich die Benetzungsprobleme bei der Zellkultur umgehen.

7. Collagenadsorption auf Implantatmodellen und oxidischen Materialien

In den folgenden Kapiteln wird die Collagenadsorptionen auf Funktionsmaterialien wie Au und TiO_xC_y beschrieben. Collagen ist eines der wichtigsten Proteine im menschlichen Körper und Bestandteil der extrazellulären Matrix.[335] Es lassen sich 21 unterschiedliche Typen von Collagen unterscheiden.[30] Das in dieser Arbeit verwendetete Collagen Typ I gehört zu den fibrillären Collagenen.[30] Es wurde genutzt, da dieser Typ von Collagen den größten Anteil im menschlichen Körper darstellt und unter anderem im Knochengewebe vorkommt.[30] Daher ist die Adsorption von Collagen Typ I für biomedizinische Anwendungen etwa für die Gestaltung von Implantatoberflächen besonders interessant, da diese vor allem mit Knochengewebe in Kontakt kommen und durch die Adsorption von Collagen Typ I beeinflusst werden. Collagen Typ I-Moleküle bestehen aus drei helikalen Polypeptidketten. Diese Ketten bilden eine rechts-gedrehte Helix.[336] Für die helikale Struktur ist vor allem die Aminosäure Glycin (Gly) verantwortlich.[336-339] Jede Polypetidkette ist aus ungefähr 1000 einzelnen Aminosäuren in einer Dreierabfolge von Gly-X-Y aufgebaut, wobei die Peptide X und Y häufig die Peptide Prolin (Pro) und Hydroxyprolin (Hyp) darstellen. Diese Aminosäuren stellen 20 % der gesamten Aminosäurenabfolge im Collagenmolekül dar. Eine Erhöhung des Hyp-Anteils führt zur Stabilitätserhöhung der Tripelhelix.[340, 341] Es kommt dabei zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der NH-Gruppe von Gly und der Carbonylgruppe von Pro.[338, 339, 341, 342] Das Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen der Collagenhelix sowie die Hydrathülle des Moleküls sind von der Temperatur, dem Wasserzugang, der Aggregation sowie dem Fortschreiten der Fibrillenausbildung abhängig.[322, 343-347] Die Adsorption von Collagen bei Temperaturen ab 26 °C führt zur schnelleren Fibrillenbildung. So ist Collagen bei einer Temperatur von 36 °C und einem pH-Wert von 7.4 in Fibrillen angeordnet. Diese konnten mittels AFM charakterisiert werden.[348] Su et al.[349] konnten ebenfalls die Ausbildung von Fibrillen bei der Adsorption von Collagen bei 4 °C auf hydrophilen Oberflächen beobachten. Bei höheren Temperaturen kommt es dagegen zu einer irreversiblen Denaturierung. Im Falle des Collagen Typ I tritt diese bei einer Temperatur von 43 °C ein.[322] Ein bekanntes Beispiel ist die Bildung von Gelatine. Es

hat sich aber gezeigt, dass Collagenfibrillen stabiler als Collagenmonomere sind und erst ab einer Temperatur von ca. 50 °C die Denaturierung einsetzt.[347]

7.1 Temperaturabhängige AFM-Messungen von Au mit adsorbiertem Collagen Typ I

Die Strukturänderung von Collagen Typ I nach Adsorption auf Au-Substraten bei verschiedenen Temperaturen wurde mit Hilfe von AFM-Aufnahmen untersucht. Die AFM-Aufnahmen in diesem Kapitel sind Bestandteil eines eingereichten Artikels.[A5] Dieser Artikel schließt neben den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten AFM-Messungen auch die von Ahlers durchgeführten PM IRRAS-Untersuchungen und elektrochemischen Charakterisierungen von adsorbiertem Collagen auf Au-Elektroden ein.

Ahlers[62] konnte in seiner Dissertation die Veränderung von Collagenfilmen auf Au-Oberflächen bei verschiedenen Temperaturen und verschiedenen Potentialen mit Hilfe von PM IRRAS-Messungen beschreiben. Dabei untersuchte er die Position der Amid I-Bande, da Veränderungen dieser Bande mit der Strukturänderung des Proteinmoleküls korrelieren. Allerdings fand Ahlers[62] selbst bei Temperaturen höher als 43 °C keinerlei Verschiebung der Amid I-Bande. Dies deutete auf eine höhere Stabilität der adsorbierten Collagenmoleküle hin, da die Moleküle an der Oberfläche immobilisiert sind und daran gehindert werden, sich zu entzerren. Durch Anlegen eines Potentials von E = -0.9 V, E = 0.0 V und E = +0.4 V vs. Ag|AgCl|3M KCl kam es bei höheren Temperaturen zu einer Intensitätsverringerung. Diese war bei Temperaturen von 50 °C am stärksten ausgeprägt und deutete auf eine Desorption des Collagenfilms hin.[62] Um die Veränderung des Collagenfilms bei Temperaturen von 38 °C, 43 °C und 50 °C und bei Potentialen von E = -0.9 V, 0.0 V und +0.4 V zu untersuchen, wurden AFM-Aufnahmen bei den verschiedenen Temperaturen und Potentialen aufgenommen (Abb. 86).

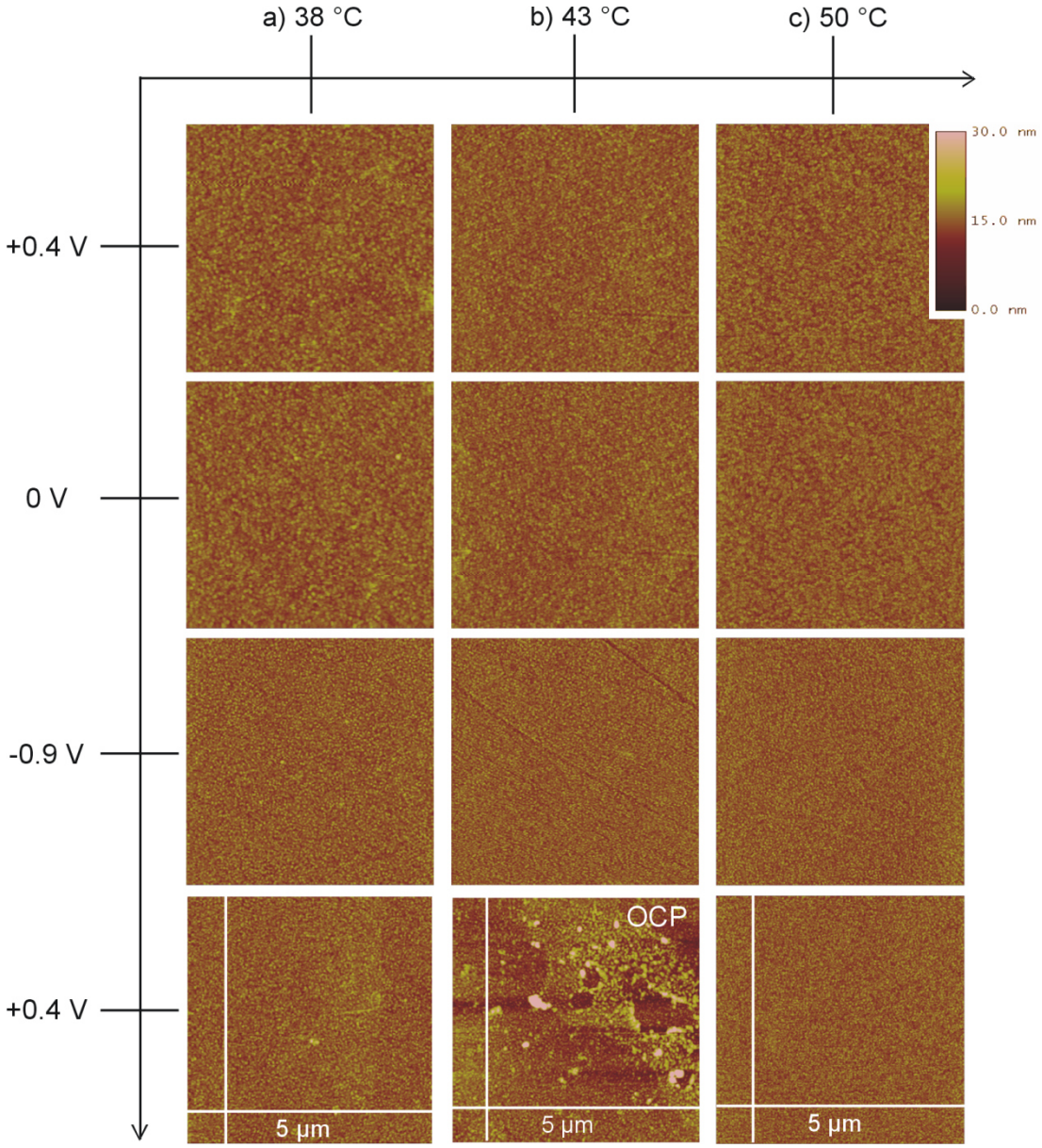


Abb. 86: Temperaturabhängige AFM-Aufnahmen der Topographie von adsorbierten Collagen Typ I auf Au-Oberflächen im Kontaktmodus in 0.05 M NaF nach Anlegen von Potentialen von E = +0.4 V, E = 0 V und E = -0.9 V und OCP vs. Ag|AgCl| 3M KCl.

Dabei ist zu beobachten, dass die Adsorption von Collagen auf Au bei 4 °C und einer Dauer von 10 min zu einem dichten Film führt. Die Rauigkeit hängt vom angelegten Potential sowie der Temperatur ab. Die Rauigkeiten liegen bei einem Potential von E = +0.4 V für 38 °C bei (1.26 ± 0.01) nm, für 43 °C bei (1.24 ± 0.01) nm und für 50 °C bei (1.40 ± 0.04) nm. Der adsorbierte Collagenfilm zeigt dabei kornartige Strukturen mit einem mittleren Durchmesser von (136.7 ± 19.6) nm. Die AFM-Bilder von Collagen auf Au zeigen ähnliche Beschaffenheiten wie die AFM-Bilder von

Collagen, das bei 4 °C auf ITO und Mica-Oberflächen adsorbiert wurde.[349] Es wurde davon ausgegangen, dass die kornartige Struktur von absorbierten Collagenclustern stammt.[349] Eine reine Au-Oberfläche zeigt dagegen kleinere topografische Strukturen von 62.99 nm Durchmesser und die *Ra* beträgt (1.70 ± 0.01) nm.

Durch das erste Anlegen von E = -0.9 V kommt es zu einer irreversiblen Veränderung der Struktur des adsorbierten Collagenfilms. Die Rauigkeiten steigen an und liegen für 38 °C bei (1.39 ± 0.02) nm, für 43 °C bei (1.44 ± 0.01) nm und für 50 °C bei (1.49 ± 0.03) nm. Die einzelnen kornartigen Strukturen erscheinen feiner und kleiner (Abb. 86). Die kornartigen Strukturen haben nun einen Durchmesser von (84.6 ± 16.3) nm und ähneln den Strukturen einer reinen Au-Oberfläche. Nach der Desorption und anschließender Re-Adsorption des Collagens aus der Elektrolytlösung bei einem positivem Potential von E = + 0.4 V bei einer Temperatur von 38 °C kommt es zu einer Erhöhung der Rauigkeit auf (1.45 ± 0.04) nm und kleine Agglomerate bilden sich auf der Oberfläche. Dahingegen kann bei der Re-Adsorption bei 43 °C auf einigen Bereichen der Oberfläche eine Ablagerung von großen Agglomeraten beobachtet werden. Die Rauigkeit dieses Ausschnitts steigt dabei auf 2.46 nm an. Dies ist der Agglomeratablagerung geschuldet. Nach der Re-Adsorption zeigt die Oberfläche bei 50 °C nur die kornartige Struktur. Nach mehrfacher Potentialschaltung zwischen E = -0.9 V und E = +0.4 V kommt es bei einer Temperatur von 50 °C zu einem Anstieg der *Ra* auf bis zu (1.55 ± 0.07) nm, während die *Ra* bei 38 °C und 43 °C bei weiteren Potentialschaltungen nur geringe Änderungen aufweisen. Die Strukturen bei 50 °C werden den Strukturen einer reinen Au-Oberfläche immer ähnlicher. Dies deutet auf eine Desorption des Collagenfilms von der Oberfläche hin.

Ahlers[62] konnte durch Kapazitätsmessungen bei E < -0.7 V eine Zunahme der Kapazitätswerte für Collagen-beschichtete Au-Substrate messen. Die Kapazitätswerte nähern sich dabei den Werten für reine Au-Oberflächen an. Dies deutete er als Desorption von Collagen bei solchen Potentialen. Auch in den AFM-Aufnahmen lassen sich bei E = -0.9 V Veränderungen in der Struktur des Films beobachten, die die These der Desorption unterstützen. Nach der Re-Adsorption zeigen die Oberflächen Aggregate, die denen während der Fibrillisierung auf ITO-Oberflächen ähneln.[349] Schichtdickenbestimmungen mit dem AFM durch Einkratzen zeigen, dass selbst bei Temperaturen von 50 °C nach mehrfacher Potentialänderung ein dünner Collagenfilm

auf der Oberfläche vorhanden ist. Die AFM-Spitze wurde hierzu mit maximaler Kraft auf die Probe gedrückt und mehrfach ein $1 \times 1\ \mu m^2$ großer Bereich gescannt.

Bei Raumtemperatur lassen sich ohne Potentialänderung Schichtdicken von 2.7 - 4.3 nm messen. Nach mehrfacher Potentialschaltung zwischen E = -0.9 V und E = +0.4 V lassen sich mit dieser Methode bei 37 °C Schichtdicken von (2.62 ± 0.27) nm, bei 43 °C Schichtdicken von (1.63 ± 0.30) nm und bei 50 °C Schichtdicken von (1.45 ± 0.01) nm bestimmen. Dies weist darauf hin, dass es mit der Temperaturerhöhung und der mehrfachen Potentialänderung zu einer Abnahme der Collagenfilmdicke kommt. Der Collagenfilm scheint bei 38 °C stabil zu sein, während die Collagenfilme bei 43 °C und 50 °C bei Potentialschaltungen geringer werden. Dies weist auf eine Desorption des Collagenfilms hin. Eine vollständige Desorption des Collagens verläuft allerdings langsam. Diese Beobachtung korreliert auch mit der Beobachtung von Ahlers.[62] Bei Veränderung der Potentiale und Temperaturerhöhung kommt es zu einer Verringerung der Intensität der Amid I-Bande. Auch hier nimmt die Intensität langsam bei 43 °C und 50 °C ab.

7.2 Collagenadsorption auf TiO_xC_y-Oberflächen

Neben Goldsubstraten eignen sich auch Titanoberflächen und Ti-haltige Legierungen als Implantatmodelloberflächen für die Collagenadsorption. In diesem Abschnitt wird die Charakterisierung und Nutzung einer neuen Titanoxidkohlenstoffoberfläche TiO_xC_y als Substrat für die Collagenadsorption und PM IRRAS-Messungen beschrieben. Der Vorteil von Titanoberflächen und deren Legierungen ist, dass diese Substrate in biomedizinischen Anwendungen wie Implantaten, anders als Au, eingesetzt werden können. Ahlers[350] konnte in seiner Diplomarbeit zeigen, dass es möglich ist, stabile Collagenfilme auf Ti-Substraten zu erzeugen. Der Nachteil dieser Titanoberflächen war allerdings die eingeschränkte elektrochemische Nutzbarkeit, da die Ti-Oberflächen schnell oxidiert wurden und sich eine isolierende TiO_2-Schicht ausbildete. Durch Kapazitätsmessungen vor und nach der Collagenadsorption auf Ti-Substraten ließen sich keine Unterschiede messen.[62] Aus diesem Grund wurden leitfähige TiO_xC_y-Substrate verwendet.[67] Die Oberflächen sind aufgrund des ca. 20 %igen Kohlenstoff-Anteils elektrisch leitend und eignen sich daher für elektrochemische Untersuchungen. Ebenfalls wurden diese Oberflächen als Ersatz für TiO_2 für PM IRRAS-Messungen verwendet. Während der elektrochemischen Charakterisierung der Oberflächen zeigte

sich, dass die verwendeten TiO_xC_y-Oberflächen unterschiedliche Eigenschaften aufweisen und sich in zwei Gruppen einteilen ließen. So gab es Oberflächen, die besser elektrisch leitend erschienen und andere die eher dem Verhalten von Halbleitern glichen. Dies könnte dem Herstellungsprozess geschuldet sein oder durch Alterungsprozesse und Oxidation entstehen. Für die Herstellung wurde auf polykristallinen Titan-Oberflächen elektrochemisch ein TiO_2-Film abgeschieden. Diese Oberflächen wurden dann in einem Ofenprozess mit Acetylen thermisch reduziert.[67] Die so entstandenen Oberflächen wiesen durch die unterschiedliche starke Umsetzung mit Acetylen Unterschiede in der Stöchiometrie auf. Diese Unterschiede könnten der Grund für die unterschiedlichen elektrochemischen Eigenschaften sein.

Die verschiedenen Oberflächen wurden durch Cyclovoltammetrie charakterisiert. Dabei zeigte sich deutlich, dass es zu einer Passivierung der Oberfläche durch eine irreversible Oxidation kam. Dies konnte Ahlers[62] in seiner Dissertation bereits mit einer 0.1 M NaF-Lösung zeigen. Die in dieser Arbeit getesteten Elektrolytlösungen PBS, 0.1 M NaCl und 0.1 M H_2SO_4 zeigen dies ebenfalls (Abb. 87 a,b und Abb. 88 a-c).

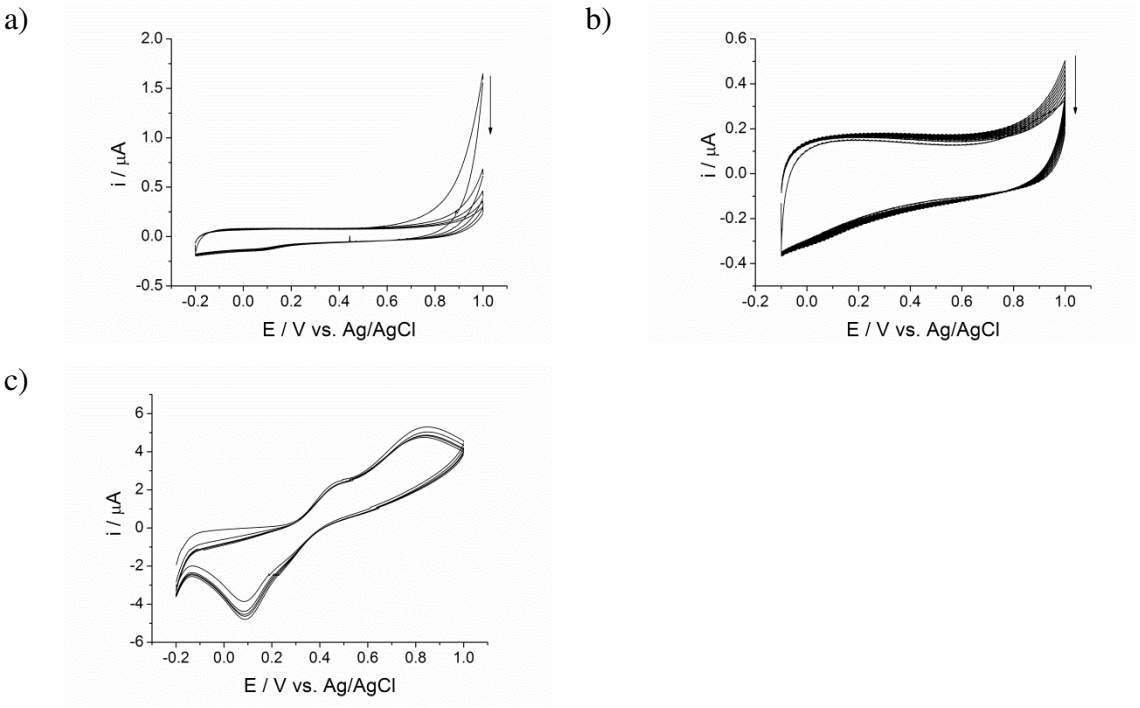


Abb. 87: Cyclovoltammogramme einer halbleiterartigen TiO_xC_y-Oberfläche in verschiedenen Elektrolytlösungen: a) in PBS-Lösung, Scangeschwindigkeit: 10 mV/s; b) in 0.1 M H_2SO_4, Scangeschwindigkeit: 10 mV/s und c) CVs in 0.1 M H_2SO_4 und 1 mM Ferrocenmethanol, Scangeschwindigkeit: 10 mV/s.

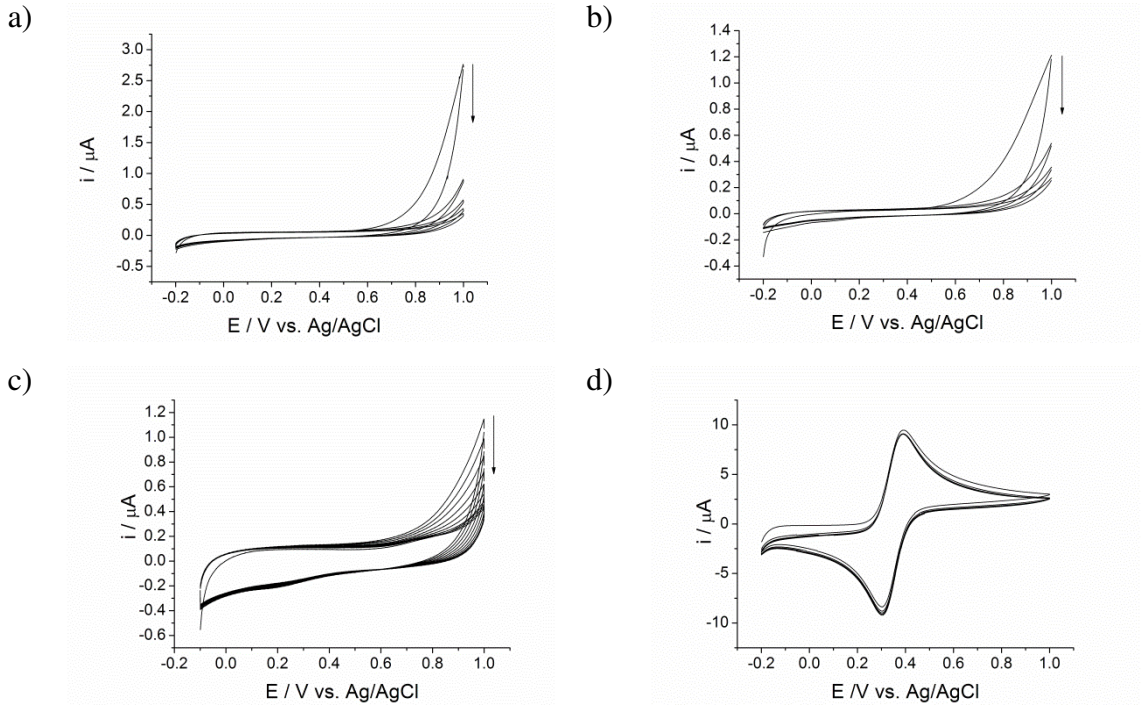


Abb. 88: Cyclovoltammogramme einer elektrisch leitenden TiO_xC_y-Oberfläche in verschiedenen Elektrolytlösungen: a) in PBS-Lösung, Scangeschwindigkeit: 10 mV/s; b) in 0.1 M NaCl, Scangeschwindigkeit: 5 mV/s; c) in 0.1 M H_2SO_4, Scangeschwindigkeit: 10 mV/s und d) CVs in 0.1 M H_2SO_4 und 1 mM Ferrocenmethanol, Scangeschwindigkeit: 10 mV/s.

Die Abb. 87c und 88d zeigen CVs in 0.1 M H_2SO_4 mit Zusatz von 1 mM Ferrocenmethanol. Deutlich erkennbar sind die Unterschiede in den CVs für eine eher isolierende (Abb. 87c) und eine leitfähige Oberfläche (Abb. 88d). Die leitfähige Oberfläche zeigt die typische Form eines CVs für die Redoxreaktion von Ferrocenmethanol mit einem E_{pc}-Peak bei 0.40 V und einem E_{pa}-Peak bei 0.30 V. Die Peakseparation beträgt 0.10 V.

Auf der halbleiterartigen TiO_xC_y-Oberfläche kommt es zu einer Verschiebung der Peakströme. Die halbleiterartige Oberfläche zeigt einen Preoxidationspeak bei 0.45 V sowie einen weiteren Peak bei 0.82 V und einen anodischen Peak bei 0.09 V. Die Ströme sind auch deutlich niedriger als auf der elektrisch leitenden Oberfläche. Der Redoxprozess scheint auf dieser Oberfläche irreversibel zu sein.

Eine Verschiebung der anodischen und kathodischen Spitzenströme konnten Rüdiger et al.[67] bereits nach der Herstellung dieser Oberflächen durch CV-Messungen beobachten, indem sie die Temperatur während der Reduktion mit Acetylen variierten. So zeigten die Oberflächen bei Herstellungstemperaturen von 750-850 °C die typische

CV-Form für eine Redoxreaktion von $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ in 0.1 M H_2SO_4 mit E_{pc} bei ca. 0.55 V und E_{pa} bei 0.50 V, während bei Oberflächen, die mit höheren Temperaturen von 950-1050 °C hergestellt wurden, die Peakströme bei höheren Potentialen auftraten. Neben der Stöchiometrie könnte auch die Alterung der Oberflächen zu einer Veränderung im elektrochemischen Verhalten beitragen.

In dieser Arbeit wurden auch Kapazitätsmessungen der TiO_xC_y-Oberflächen in 0.1 M NaCl vor und nach der Adsorption von Collagen durchgeführt (Abb. 89 und Abb. 90).

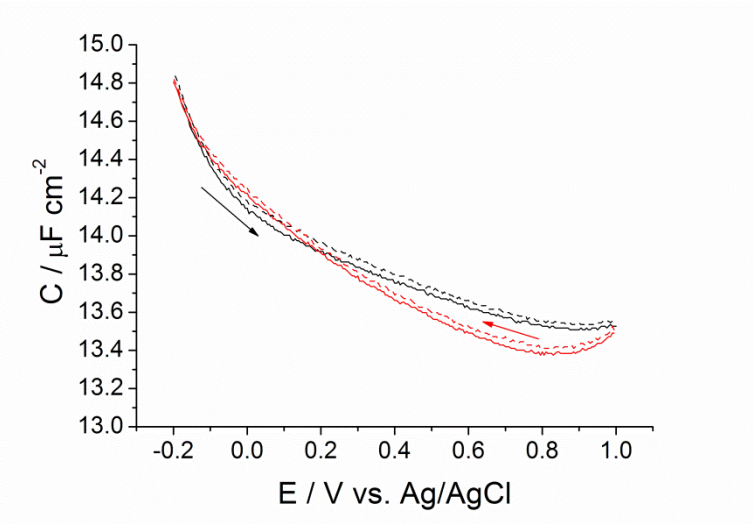


Abb. 89: Kapazitätsmessungen einer TiO_xC_y-Oberfläche in 0.1 M NaCl bei einer Frequenz von 1000 Hz. Schwarze durchgängige Linie: Erster anodischer Scan (-0.2 bis 1.0 V), rote durchgängige Linie: Erster kathodischer Scan (1.0 bis -0.2 V), schwarze und rote gepunktete Linie: Zweiter anodischer und kathodischer Scan.

Die Kapazitäten bei einem Potential von -0.2 V liegen bei ca. 14.8 µF cm^{-2}. Für die Kapazitätswerte bei einem Potential von 1.0 V lassen sich Werte von ca. 13.5 µF cm^{-2} finden.

Leitfähige Oberflächen, wie etwa Gold haben eine deutlich höhere Kapazität von 40-50 µF cm^{-2} im Potentialbereich von -1.0 bis 0.5 V.[62] Für Kapazitätsmessungen von TiO_2-Oberflächen konnte Ahlers[62] in seiner Dissertation Werte von ca. 20 bis ca. 80 µF cm^{-2} im Potentialbereich von -0.6 bis 0.8 V messen. Die Kapazitätswerte der TiO_xC_y-Oberflächen entsprechen daher eher den Werten für eine Halbleiteroberfläche.[62]

Nach der Collagenadsorption bei unterschiedlich langen Absorptionsdauern von 10 min, 1 h und 16 h bei 4°C, wurden ebenfalls Kapazitätsmessungen durchgeführt (Abb. 90).

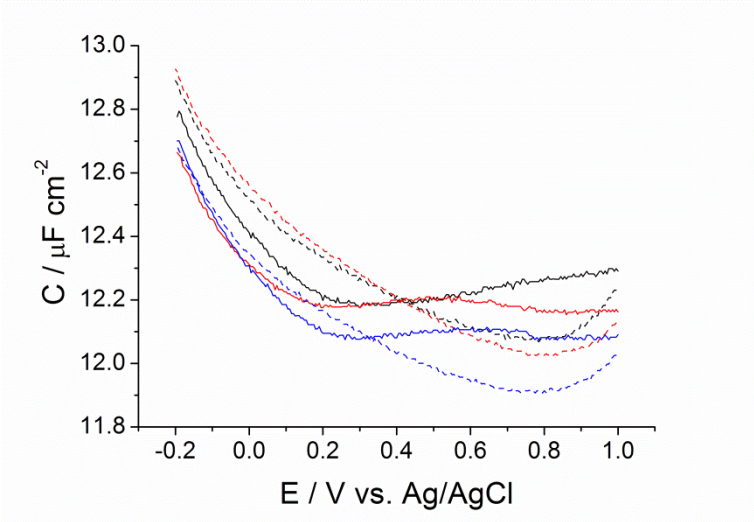


Abb. 90: Kapazitätsmessungen von unterschiedlich lang adsorbiertem Collagen auf TiO_xC_y-Oberfläche in 0.1 M NaCl bei einer Frequenz von 1000 Hz. Schwarze durchgängige Linie: Erster anodischer Scan (-0.2 bis 1.0 V) und schwarze gestrichelte Linie: Erster kathodischer Scan (1.0 bis -0.2 V) nach 10 min Adsorption. Rote durchgängige und rote gepunktete Linie: Anodischer und kathodischer Scan nach 1 h Collagenadsorption. Blaue durchgängige und blaue gepunktete Linie: Anodischer und kathodischer Scan nach 16 h Collagenadsorption.

Für die Collagenadsorption nach 10 min finden sich Kapazitätswerte von 12.3 bis 12.8 µF cm^{-2} für den anodischen Scan sowie Kapazitätswerte von 12.2 bis 12.9 µF cm^{-2} für den kathodischen Scan. Nach 1 h liegen die Werte für den anodischen Scan bei 12.2 bis 12.7 µF cm^{-2} und für den kathodischen Scan bei 12.1 bis 12.9 µF cm^{-2}. Bei einer Adsorptionszeit von 16 h finden sich Werte für den anodischen Scan von 12.1 bis 12.7 µF cm^{-2} und für den kathodischen Scan von 12.0 bis 12.7 µF cm^{-2}. Die Kapazitätswerte werden nach der Collagenadsorption, im Vergleich zur unbedeckten Oberfläche, geringer. Allerdings kommt es nicht zu so einer starken Abnahme wie dies Ahlers[62] auf Au-Oberflächen beobachtete. Nach der Adsorption von Collagen auf Gold liegen die Kapazitätswerte hier bei ca. 20 µF cm^{-2}. Die Adsorptionsdauer des Collagens auf den TiO_xC_y-Oberflächen scheint dabei die Kapazitätswerte nur gering zu beeinflussen. Ahlers konnte durch Kapazitätsmessungen von TiO_2-Oberflächen vor und nach der Collagenadsorption zeigen, dass es keinen signifikanten Unterschied in den Kapazitätswerten von unbeschichteten und beschichteten Oberflächen gibt.[62]

Nach den Kapazitätsmessungen wurden CVs von den Oberflächen aufgenommen (Abb. 91).

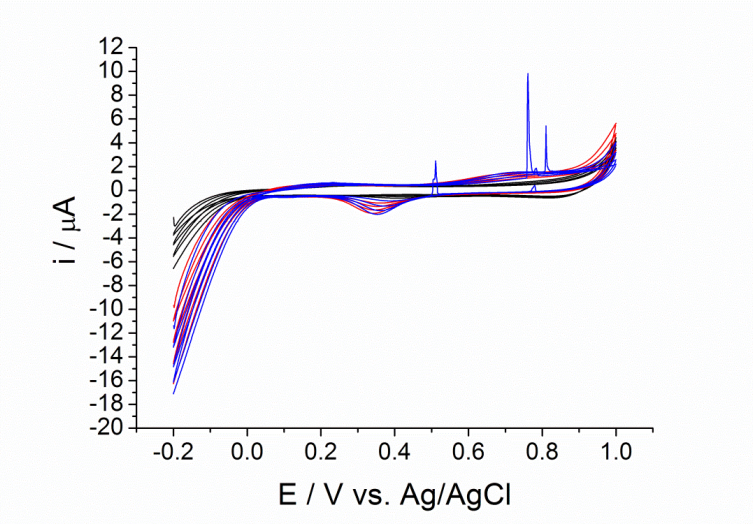


Abb. 91: CVs nach der Kapazitätsmessung einer TiO_xC_y-Oberfläche in 0.1 M NaCl nach Collagenadsorption bei 4 °C in 0.1 M NaCl für 10 min (schwarze Linie), für 1 h (rote Linie) und für 16 h (blaue Linie). Scangeschwindigkeit 5 mV/s

In den CVs erscheinen nach der Adsorption von 1 h und 16 h zwei Peaks bei 0.73 V und 0.35 V. Diese Peaks nehmen mit der Zyklenzahl an Intensität zu und lassen sich auf der unbedeckten Oberfläche nicht finden. Möglicherweise stammen diese Peaks von dem Collagenfilm auf der TiO_xC_y-Oberfläche und zeigen eine Desorption des Collagens an.

PM IRRAS-Messungen von Collagen auf einer leitenden und einer halbleiterartigen TiO_xC_y-Oberfläche wurden ebenfalls durchgeführt. Die Abb. 92 zeigt das PMIRRA-Spektrum nach der Adsorption von Collagen.

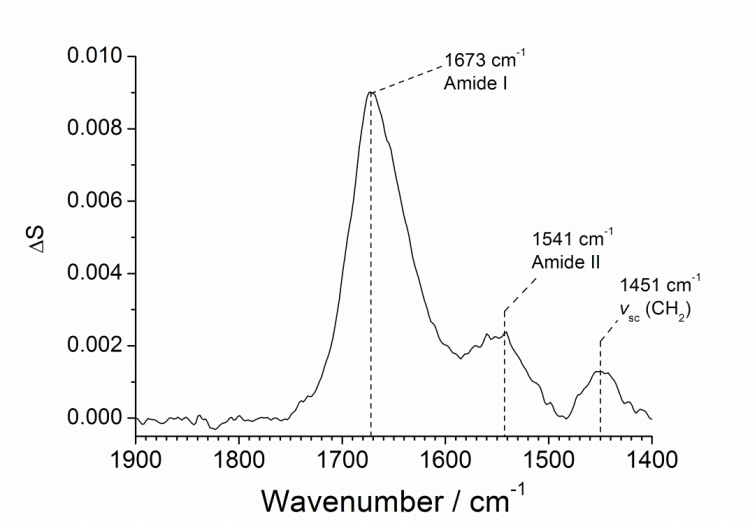


Abb. 92: PM IRRA-Spektrum nach der Adsorption von Collagen in der Amid I- und Amid II-Region von 1900 bis 1400 cm^{-1} einer leitfähigen TiO_xC_y-Oberfläche und einem Lichteinfallswinkel von 55°.

Für die Adsorption von Collagen auf TiO_xC_y-Oberflächen lassen sich die typischen Amid I- und Amid II-Banden bei (1671 ± 2) cm^{-1} und (1545 ± 4) cm^{-1} sowohl auf isolierenden als auch auf den leitfähigen Oberflächen finden.[322, 351] Des Weiteren können die Deformationsschwingung der CH_2-Gruppen bei ungefähr (1449 ± 2) cm^{-1} beobachtet werden.[321] Die Strukturen und die Positionen der Amid I- und Amid II-Bande sind mit den Banden auf Au-Oberflächen vergleichbar. Allerdings konnte Ahlers[62] zeigen, dass die Intensität der Amid I-Bande auf den TiO_xC_y auf ein Zehntel gegenüber der Intensität der Amid I-Bande von Collagen auf Gold verringert ist. Dies könnte zum einen an der geringeren IR-Reflexion der Oberfläche als auch an der hohen Rauigkeit und Inhomogenität der Oberfläche liegen.

Die hohen Rauigkeiten und Inhomogenität konnten bereits durch SEM und AFM-Messungen von Rüdiger et al.[67] gezeigt werden. Abbildung 93 zeigt die Topographie einer halbleitenden TiO_xC_y-Oberfläche im Tapping Mode™. Die Topographie wirkt schuppenartig und die Rauigkeit (*Ra*) dieser Oberfläche beträgt für den 5×5 μm^2-Ausschnitt 4.19 nm wobei die einzelnen länglichen Schuppen etwa 16.61 nm hoch sind (Abb. 93c).

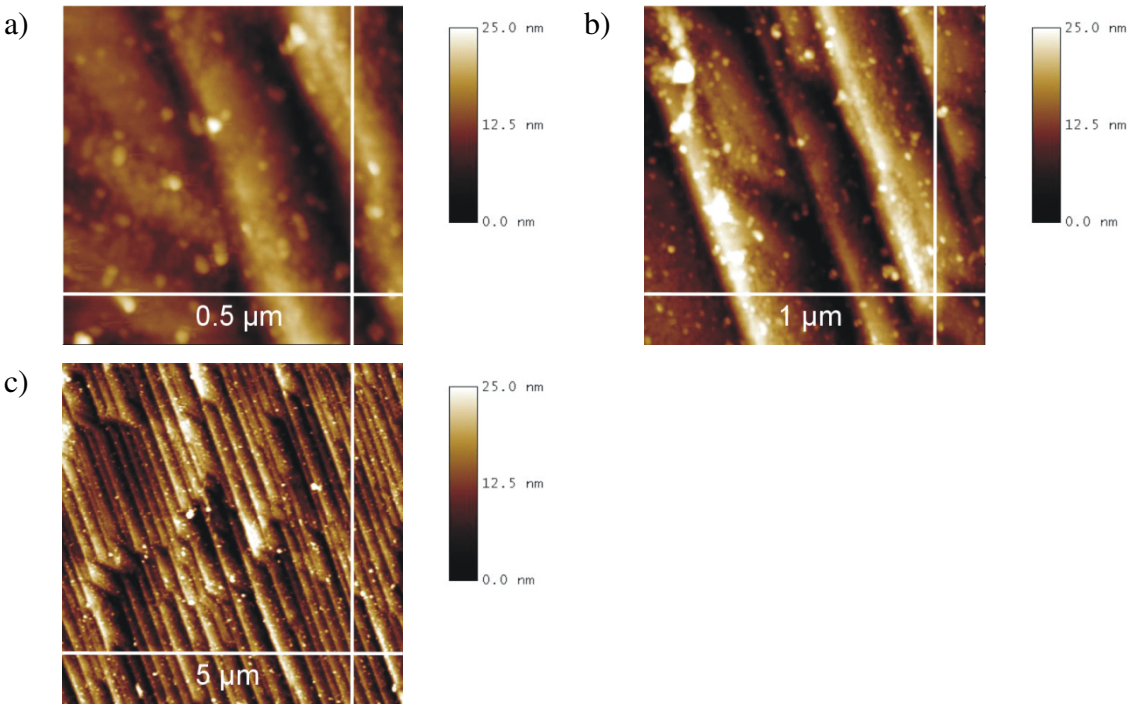


Abb. 93: Topographie-Aufnahmen im Tapping Mode™ von einer reinen, halbleitenden TiO_xC_y-Oberfläche in a) 0.5 × 0.5 µm^2, b) 1 × 1 µm^2 und c) 5 × 5 µm^2-Ausschnitten.

Die Abb. 94 zeigt hingegen eine leitfähige TiO_xC_y-Oberfläche vor und nach der Adsorption von Collagen. Die Rauigkeit, die zunächst bei 6.56 nm liegt, sinkt nach der Adsorption von Collagen auf eine Rauigkeit von ungefähr 2.57 nm ab. Schichtdickenmessungen der Oberfläche ergeben eine Schichtdicke von ca. 5.8 nm. Ahlers[62] konnte mit Hilfe von Ellipsometriemessungen von Collagen auf Au im trockenen Zustand eine Dicke von etwa 6.3 nm ermitteln. Die Dicke der Collagenschicht auf TiO_xC_y entspricht also in etwa den Schichtdicken auf Au. Daher kann die geringe Intensität der Amid I-Bande im PM IRRAS nicht von einer vorher vermuteten geringeren Adsorption des Collagens auf der Oberfläche herrühren.

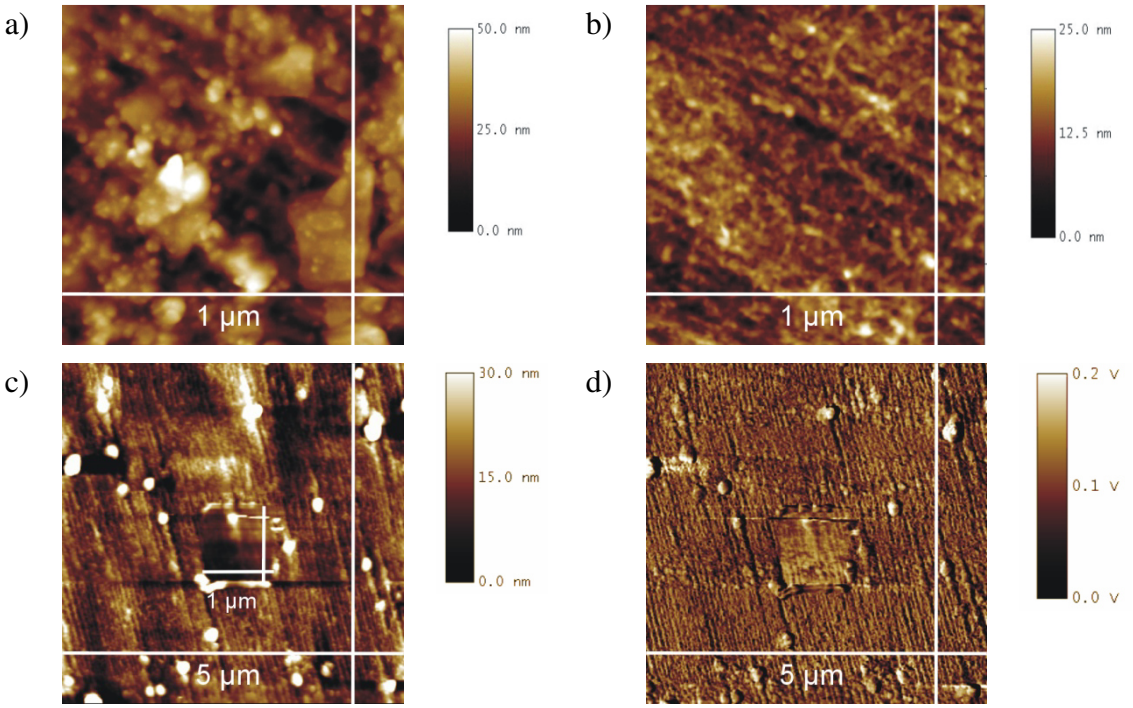


Abb. 94: Topographie-Aufnahmen einer leitfähigen TiO_xC_y-Oberfläche vor und nach der Collagenadsorption. a) 1 × 1 µm²-Ausschnitt vor Collagenadsorption im Tapping Mode™, b) 1 × 1 µm²-Ausschnitt nach Collagenadsorption im Tapping Mode™, c) Topographie eines 5 × 5 µm²-Ausschnitts nach Einkratzen eines 1 × 1 µm² großen Bereichs zur Schichtdickenbestimmung im Kontaktmodus und d) Reibungskraftbild eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts nach Einkratzen eines 1 × 1 µm² großen Bereichs zur Schichtdickenbestimmung im Kontaktmodus.

In diesem Kapitel wurde die Adsorption von Collagen auf der neuen Ti-haltigen Oberfläche TiO_xC_y durch PM IRRAS- und Kapazitätsmessungen untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Intensitäten der Amid II-Bande auf TiO_xC_y nur ein Zehntel der Intensität der Amid II-Bande auf Au beträgt. Kapazitätsmessungen vor und nach der Adsorption mit Collagen zeigten eine geringe Veränderung der Werte nach der Adsorption gegenüber den unbeschichteten Oberflächen. Auch eine Zunahme der Adsorptionsdauer beeinflusste die Kapazitätswerte nur gering. Die neuen Oberflächen werden für die Verwendung zur spektroelektrochemischen Charakterisierung von Dünnschichten in Kapitel 8 getestet.

7.3 Collagenadsorption auf SiO_x-Oberflächen

Neben der Collagenadsorption auf Au und TiO_xC_y lassen sich auch hydrophile Oberflächen wie ITO oder Mica sowie hydrophobe PDMS-Oberflächen mit Collagen beschichten. Su et al.[349] adsorbierten Collagen Typ I bei unterschiedlichen Temperaturen von 4 °C und 26 °C sowie bei verschiedenen Adsorptionsdauern von

30 min bis 48 h auf diesen Oberflächen. Sie charakterisierten die Oberflächen mit Hilfe von AFM-Aufnahmen. Die Collagenadsorption auf den genutzten Oberflächen ist dabei interessant, da diese Oberflächen eine weitreichende Verwendung in biomedizinischen Produkten finden. Eine ebenfalls wichtige Rolle in solchen Anwendungen spielen SiO_x-haltige Oberflächen wie Si/SiO_x oder Si/Si_3N_4. In diesem Kapitel wird daher die Adsorption von Collagen Typ I auf solchen Oberflächen beschrieben. Die Oberflächen wurden bei 4 °C und für eine Dauer von 10 min analog zur Adsorption auf Au beschichtet und anschließend im Kontaktmodus an Luft mit dem AFM charakterisiert. Nach der Adsorption des Collagens wurden die Rauigkeiten sowie die Schichtdicken der Collagenfilme bestimmt.

Die Abb. 95 zeigt eine Si/Si_3N_4-Oberfläche nach der Adsorption mit Collagen.

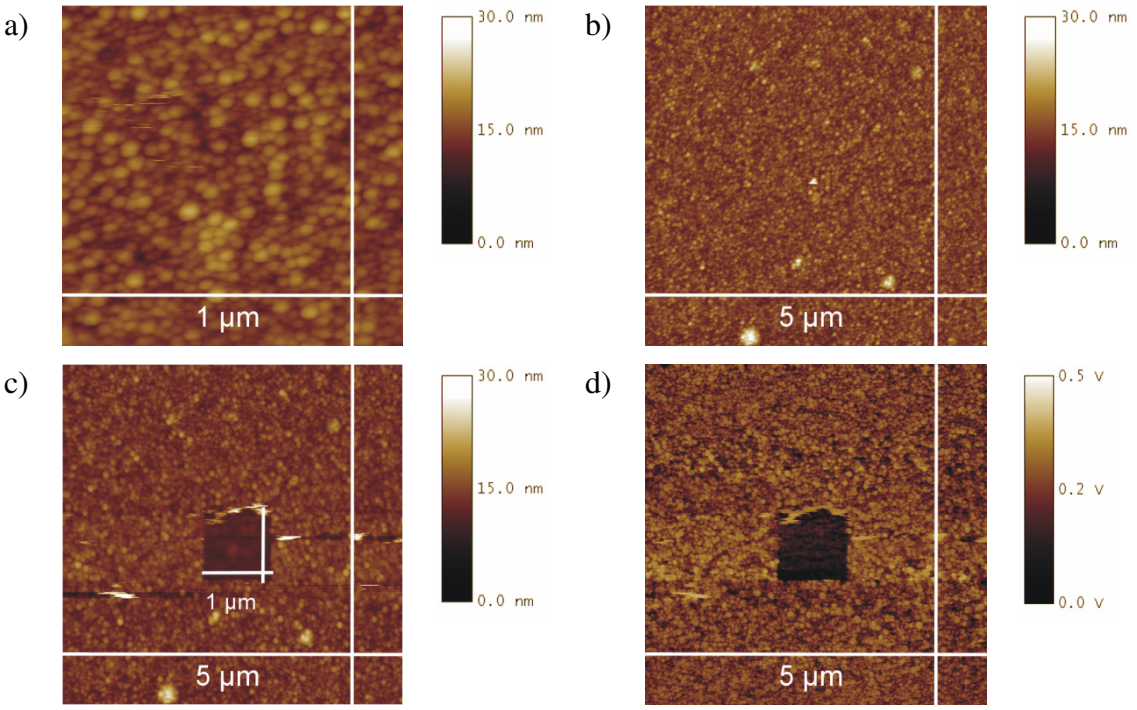


Abb. 95: Kontaktmodus-Aufnahmen von mit Collagen Typ I beschichteten Si/Si_3N_4-Oberflächen. a) Topographie eines 1 × 1 µm² großen Ausschnitts, b) Topographie eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts, c) Topographie eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts nach Einkratzen eines 1 × 1 µm² großen Bereichs zur Schichtdickenbestimmung und d) Reibungskraftbild eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts nach Einkratzen eines 1 × 1 µm² großen Bereichs zur Schichtdickenbestimmung.

Die Rauigkeiten vor der Adsorption für vorher oxidierte Si/Si_3N_4-Oberflächen liegen bei 1.23 nm. Nach der Adsorption mit Collagen kommt es zu einer Erhöhung der *Ra* auf 1.38 nm. Die Schichtdickenbestimmung zeigt, dass die Collagenschichten auf Si/Si_3N_4

in etwa 3.90 nm dick sind. Der Wert für Si/Si_3N_4 entspricht sehr gut dem Mittelwert von (3.50 ± 0.83) nm der Schichtdicke, die im vorherigen Kapitel für die Collagenadsorption auf Au bei Raumtemperatur in Elektrolytlösung gemessen wurde. Die Collagenadsorption auf TiO_xC_y zeigte leicht höhere Werte (5.74 nm). Dies könnte aber auch an der deutlich längeren Adsorptionszeit von 60 min liegen. Ahlers[62] konnte durch Ellipsometriemessungen für die Adsorption von Collagen auf Au-Oberflächen Dicken von ca. 6 nm an Luft beobachten. Die Schichtdicken und die Zunahme der Rauigkeiten lassen auf eine erfolgreiche Adsorption von Collagen auf Si/Si_3N_4-Oberflächen schließen. Im Reibungskraftbild zeigen sich deutliche Unterschiede in der lateralen Reibungskraft zwischen Collagenfilm und Si/Si_3N_4-Unterlage (Abb. 95d). Der Collagenfilm besitzt eine deutlich höhere Adhäsion als die Si/Si_3N_4-Unterlage. Ein möglicher Grund könnte die weichere Struktur des Collagenfilms im Vergleich zur harten Si/Si_3N_4-Oberfläche sein.

Die Abbildung 96 zeigt eine Si/SiO_x-Oberflächen nach der Adsorption mit Collagen.

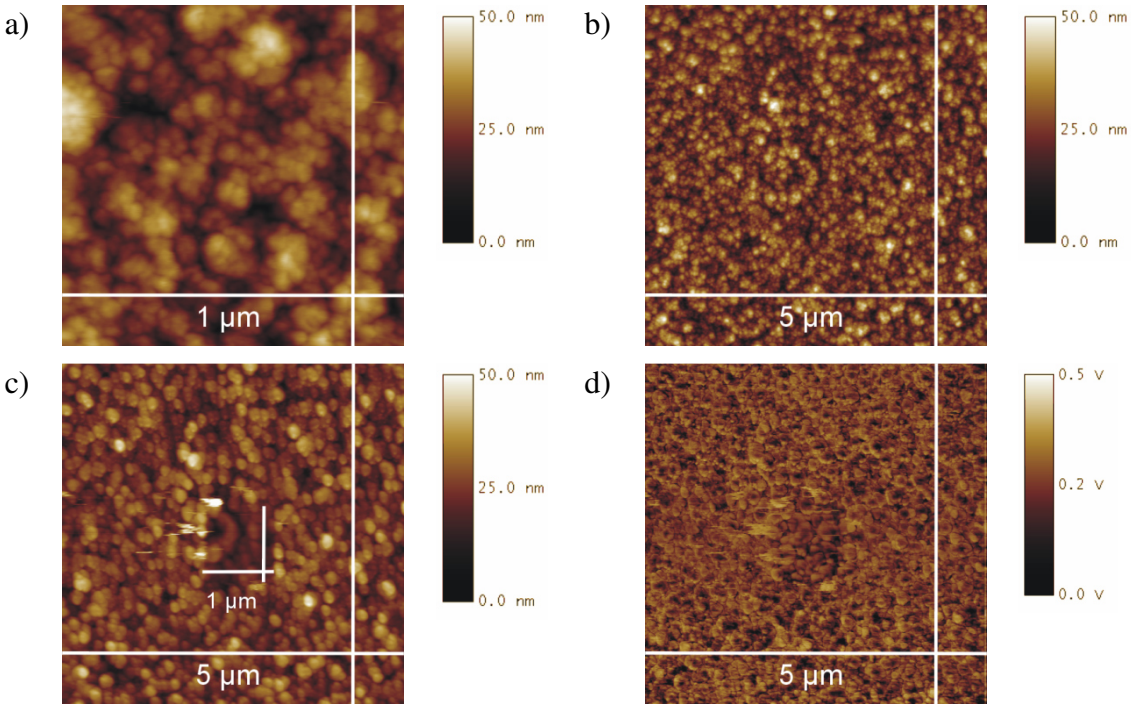


Abb. 96: Kontaktmodus-Aufnahmen von adsorbiertem Collagen Typ I auf Si/SiO_x-Oberflächen. a) Topographie eines 1 × 1 µm² großen Ausschnitts, b) Topographie eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts, c) Topographie eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts nach Einkratzen eines 1 × 1 µm² großen Bereichs zur Schichtdickenbestimmung und d) Reibungskraftbild eines 5 × 5 µm² großen Ausschnitts nach Einkratzen eines 1 × 1 µm² großen Bereichs zur Schichtdickenbestimmung.

Die Rauigkeit *Ra* liegt vor der Adsorption für eine vorher oxidierte Si/SiO_x bei 4.62 nm. Nach der Collagenadsorption mit Collagen steigt die *Ra* auf 4.94 nm an. Dahingegen ist der Unterschied zwischen Collagenfilm und Oberfläche im Reibungskraftbild (Abb. 96d) sowie in der Topographie auf der Si/SiO_x-Oberfläche nach dem Einkratzen (Abb. 96c) nicht so stark ausgeprägt. Die Schichtdickenbestimmung zeigt eine Dicke von 5.05 nm an. Dies könnte aber auch von der sehr rauen Oberflächenstruktur der Si/SiO_x-Unterlage herrühren und in Wirklichkeit eine geringere Dicke aufweisen. Möglicherweise wurde hier nicht der komplette Collagenfilm entfernt. Dies würde auch die nicht so stark ausgeprägten Unterschiede in der Reibungskraftaufnahme erklären.

Die Oberflächen zeigen nach der Adsorption von Collagen eine kornförmige Struktur. Diese Strukturen lassen sich unter anderem durch die Struktur des Substrates erklären. Auf Au-Oberflächen zeigt sich ebenfalls eine kornförmige Strukturierung. Su et al.[349] konnten auf ITO-Oberflächen eine ähnliche Struktur beobachten. Sie schlussfolgerten, dass es sich dabei um amorphe Cluster aus einer Vielzahl von Collagenmolekülen handelte.

Die AFM-Aufnahmen von adsorbierten Collagen auf Si/Si_3N_4 und Si/SiO_x-Oberflächen zeigten, dass es möglich ist, auch solche Oberflächen analog zu Au zu beschichten. Vor allen die Si/Si_3N_4-Oberfläche zeigte nach der Schichtdickenbestimmung im Reibungskraftbild einen deutlich stärkeren Kontrast auf als die Si/SiO_x nach der Collagenadsorption.

8. Spektroelektrochemische Charakterisierung von Dünnschichten auf TiO_xC_y

Die TiO_xC_y-Oberflächen sollten für die spektroelektrochemische Charakterisierung von organischen Modellsubstanzen wie Collagen oder 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (DMPC) untersucht werden. Es stellte sich allerdings schnell heraus, dass die organischen Verbindungen wie Collagen oder Lipide (z. B. DMPC) nur schwach an der TiO_xC_y-Oberfläche adsorbierten und sich leicht von der Oberfläche lösten, so dass keine *in-situ*-PM IRRAS-Messungen möglich waren. Um die Nutzbarkeit der TiO_xC_y-Substrate für die spektroelektrochemische Charakterisierung dennoch zu untersuchen, wurde versucht einen anorganischen Eisen-Komplex (FeL) (Abb. 97) auf der TiO_xC_y-Oberfläche zu adsorbieren.

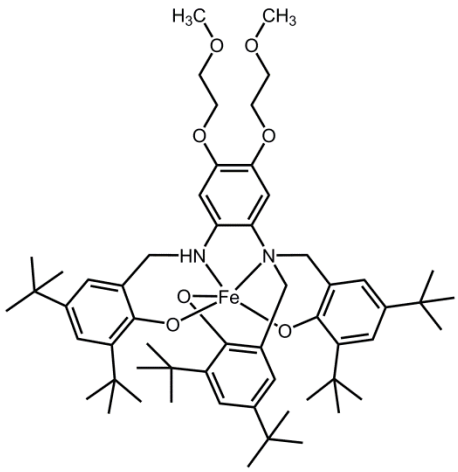


Abb. 97: Strukturformel des verwendeten Fe-Komplexes (FeL).[352]

Der Eisenkomplex wurde von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Claudio Verani an der Universität Detroit synthetisiert.[352] Dieser Komplex eignet sich für die Charakterisierung mit dem PM IRRAS, da er eine gut detektierbare Verbindung darstellt. Die spektroelektrochemische Untersuchung von adsorbierten FeL-Schichten ist hinsichtlich des Verhaltens der Struktur und Orientierung bei Potentialveränderung interessant, da die Verbindung zur Herstellung von Bauteilen im Nanobereich für die Rektifikation dienen soll.[352]

Für die Adsorption des FeL-Komplexes wurden 76 µg/cm^2 auf die Oberfläche aufgebracht und gewartet bis das Lösungsmittel verdampft war. Anschließend wurden

PM IRRA-Spektren an Luft im Spektralbereich von 3000-2700 cm^{-1} sowie von 1800-1000 cm^{-1} aufgenommen.

Im Bereich der CH-Streckschwingungen zeigt die Verbindung Absorptionsbanden bei 2960 cm^{-1}, 2909 cm^{-1}, 2869 cm^{-1} und 2819 cm^{-1}, die sich den CH_2- und CH_3-Streckschwingungen der Kohlenwasserstoffketten zuordnen lassen (Abb. 98).[312-314]

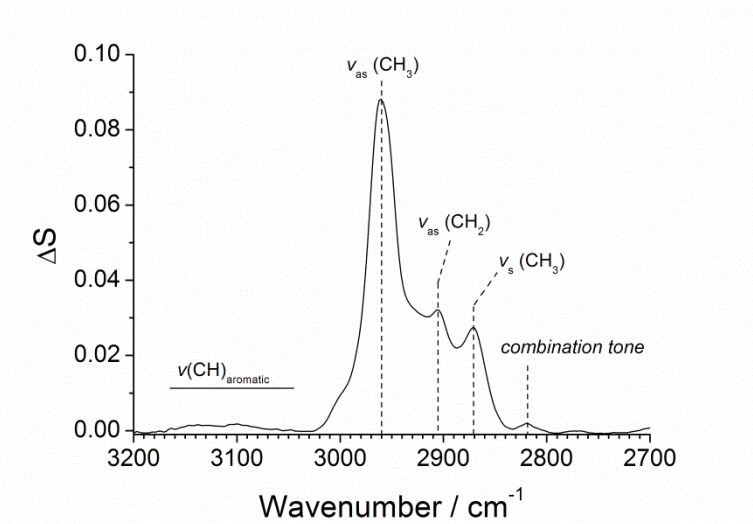


Abb. 98: PM IRRA-Spektrum im Bereich der CH-Streckschwingungen von FeL adsorbiert auf TiO_xC_y an Luft bei einem Einfallswinkel von 75°.

Die Bande bei 2960 cm^{-1} stammt von den asymmetrischen Streckschwingungen der CH_3-Gruppen. Die Position der $\nu_{as}(CH_3)$ bei 2960 cm^{-1} weist darauf hin, dass die Methylgruppen der FeL-Moleküle frei rotieren können und in einem flüssigen Zustand vorliegen.[312, 313] Die Bande bei 2909 cm^{-1} stammt von den asymmetrischen Streckschwingungen ($\nu_{as}(CH_2)$) und der Fermi-Resonanz $\nu_s(CH_2)_{FR}$ der CH_2-Gruppen, die an den Sauerstoff- und Stickstoffatomen gebunden sind, während die Bande bei 2869 cm^{-1} der symmetrischen Streckschwingung ($\nu_s(CH_3)$) der Methylgruppen zugeordnet werden kann (Tab. 14).[312, 314]

Daneben lässt sich eine schwächere Absorptionsbande bei 2819 cm^{-1} beobachten, bei der es sich um eine Kombination aus $\nu_s(OCH_3)$[137] und CH_2 bend. + CH_2 wagg. + CH_2 twist.[302] handeln könnte. Das breite, schwache Signal bei 3077 cm^{-1} könnte von den CH-Schwingungen der aromatischen Ringe stammen.[353]

Tab. 14: Beschreibung und Position der CH-Streckschwingungsbanden von FeL auf TiO_xC_y.

Bande	Bandenposition [cm^{-1}]	Ref.
$\nu(CH)_{aromatic}$	3077	[353]
$\nu_{as}(CH_3)$	2960	[312, 313]
$\nu_{as}(CH_2) + \nu_s(CH_2)_{FR}$	2909	[312, 314]
$\nu_s(CH_3)$	2869	[312, 314]
Kombinationstone aus $\nu_s(OCH_3)$ und CH_2 bend. + CH_2 wagg. + CH_2 twist.	2819	[137, 302]

FR: Fermi-Resonanz

Im Spektralbereich von 1800-1000 cm^{-1} lässt sich eine Vielzahl an Absorptionsbanden beobachten (Abb. 99).

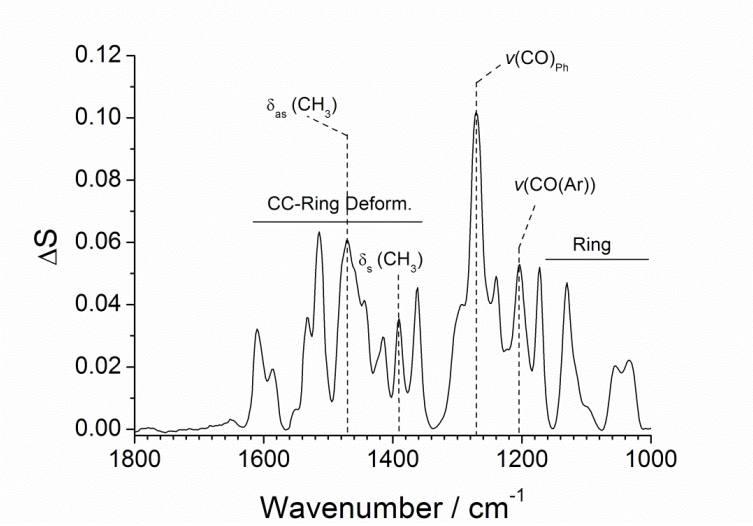


Abb. 99: PM IRRAS-Spektrum im Bereich der Ring-Deformations- und COC-Streckschwingungen von FeL adsorbiert auf TiO_xC_y an Luft bei einem Einfallswinkel von 75°.

Bei 1609, 1586, 1532, 1513 und 1444 cm^{-1} lassen sich Absorptionsbanden für die CC-Ring-Deformationsschwingungen der vier Phenylringe des Komplexes beobachten.[354] Zusätzlich findet man in diesem Bereich die asymmetrische Deformationsschwingung bei 1470 cm^{-1} und die symmetrische Deformationsschwingung bei 1390 cm^{-1} der Methylgruppen.[331] Die stärkste Bande bei 1270 cm^{-1} stammt von der Streckschwingung der Phenolgruppe (ν(C-O)$_{Ph}$) mit einer Schulter bei 1240 cm^{-1}.[355] Die Absorptionsbande bei 1204 cm^{-1} könnte von der Streckschwingung der Ethergruppe am Phenylring (ν(COAr)) stammen.[355] Daneben gibt es weitere Absorptionsbanden bei 1361, 1173, 1053 und 1034 cm^{-1} die von den Streckschwingungen und

Deformationsschwingungen der aromatischen Ringe stammen könnten.[356] Die Intensitäten der Absorptionsbanden bleiben auch nach dem Spülen der Oberfläche mit Wasser unverändert, so dass davon auszugehen ist, dass der FeL-Komplex stark genug auf der TiO_xC_y-Oberfläche adsorbiert, um *in-situ*-PM IRRAS-Messungen zu ermöglichen.

Kapazitätsmessungen wurden ebenfalls von der mit FeL beschichteten Oberfläche durchgeführt (Abb. 100). Die Kapazitätsmessungen wurden in einer Teflonzelle mit der TiO_xC_y-Oberfläche als Arbeitselektrode, einer Ag|AgCl| 3M KCl -Referenzelektrode und einem Platindraht als Gegenelektrode durchgeführt.

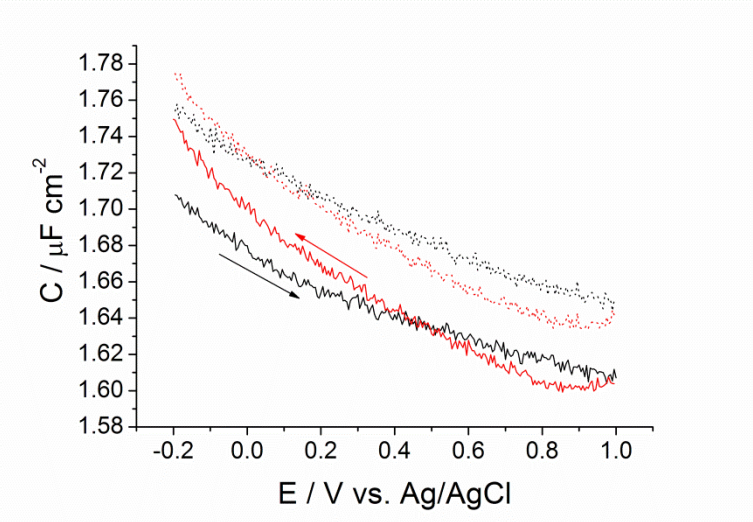


Abb. 100: Kapazitätsmessungen einer TiO_xC_y-Oberfläche mit Fe-Komplex in 0.1 M NaCl bei einer Frequenz von 1000 Hz. Schwarze durchgängige Linie: Erster anodischer Scan (-0.2 bis 1.0 V), rote durchgängige Linie: Erster kathodischer Scan (1.0 bis -0.2 V), schwarze und rote gepunktete Linie: Zweiter anodischer und kathodischer Scan.

Die Kapazitäten liegen bei einem Potential von -0.2 V bei ca. 1.74 µF cm^{-2}, während die Kapazität bei einem Potential von 1.0 V ca. 1.63 µF cm^{-2} beträgt. Die Kapazitäten der reinen TiO_xC_y-Oberflächen bei einer Frequenz von 1000 Hz in 0.1 M NaCl betragen bei -0.2 V ca. 14.8 µF cm^{-2} und bei einem Potential von 1.0 V 13.5 µF cm^{-2}. Die Kapazitäten der mit FeL beschichteten Oberfläche betragen nur noch etwa ein Zehntel der Kapazitäten der reinen Oberfläche. Auch die Ströme der CVs der mit FeL beschichteten Oberfläche sinken auf ein Zehntel ab (Abb. 101). Die sehr dichte Beschichtung der TiO_xC_y-Oberfläche durch den Eisenkomplex führt zu einer Passivierung der Oberfläche.

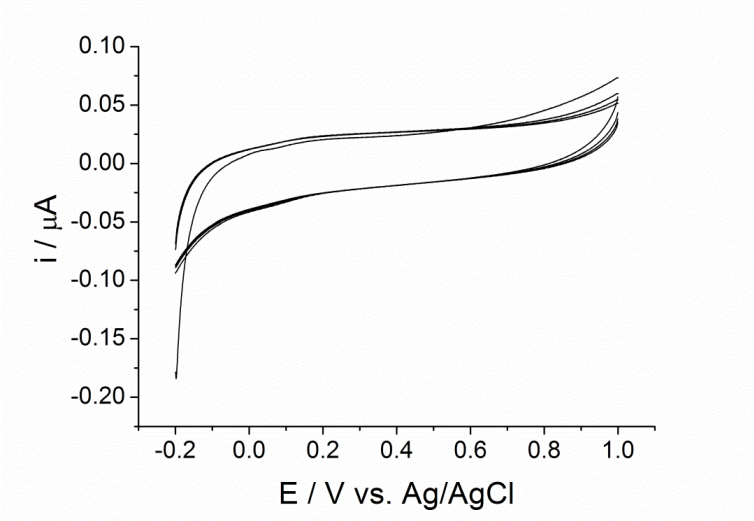


Abb. 101: Cyclovoltammogram einer TiO_xC_y-Oberfläche nach Adsorption mit Eisenkomplex FeL in 0.1 M NaCl, Scangeschwindigkeit: 5 mV/s.

Da sich auch durch das Spülen mit Wasser keine Veränderungen in den PM IRRA-Spektren bemerkbar machten, wurden *in-situ*-PM IRRAS-Messungen mit einer FeL-beschichteten Oberfläche durchgeführt. Die *in-situ*-PM IRRAS-Messungen wurden in einer spektroelektrochemischen Zelle mit einem CaF_2-Prisma durchgeführt. Dadurch ist es möglich, ein Potential an die Elektrode anzulegen und die somit hervorgerufenen Veränderungen der adsorbierten Filme mittels PM IRRAS zu beobachten. Dazu wurde eine mit dem Eisenkomplex FeL beschichtete TiO_xC_y-Oberfläche als Arbeitselektrode und eine Elektrolytlösung aus 0.05 M NaCl in D_2O verwendet. Das deuterierte Wasser diente der Minimierung der Interferenzen der Wasserabsorptionsbanden mit den Absorptionsbanden der zu untersuchenden Oberfläche. Es wurden zwei Zyklen gefahren.

Die Abb. 102 zeigt eine Auswahl der PM IRRA-Spektren im Bereich der CH-Streckschwingungen bei unterschiedlichen Potentialen zwischen -300 und 800 mV.

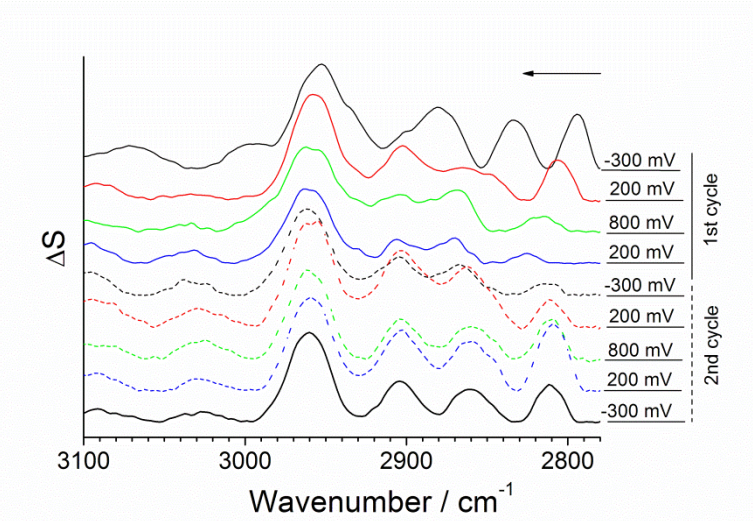


Abb. 102: *in-situ*-PM IRRA-Spektrum von FeL auf TiO_xC_y im Bereich der CH-Streckschwingungen in 0.05 NaCl in D_2O mit einem Einfallswinkel von 75° unter Verwendung eines CaF_2-Prismas bei zwei Potentialzyklen von: 1) -300 mV (durchgängig schwarz), 2) 200 mV (durchgängig rot), 3) 800 mV (durchgängig grün), 4) 200 mV (durchgängig blau), 5) -300 mV (gestrichelt schwarz), 6) 200 mV (gestrichelt rot), 7) 800 mV (gestrichelt grün), 8) 200 mV (gestrichelt blau), 9) -300 mV (dick durchgängig schwarz).

Die PM IRRA-Spektren zeigen Absorptionsbanden für die $\nu_{as}(CH_3)$-, $\nu_{as}(CH_2)$-, $\nu_s(CH_3)$-, $\nu_s(CH_2)$- und $\nu_s(OCH_3)$-Schwingungen sowie für die $\nu(CH)$-Schwingungen der aromatischen Ringe oberhalb von 3000 cm^{-1}. Tabelle 15 zeigt die Positionen der Streckschwingungen bei unterschiedlichen Potentialen. Die Positionen der Banden wurden durch die Anwendung der 2. Ableitung bestimmt.

Tab. 15: Beschreibung und Position der Absorptionsbanden von FeL auf TiO_xC_y bei unterschiedlichen Potentialen.

	Beschreibung und Position [cm^{-1}] der Absorptionsbande					
	$\nu_{as}(CH_3)$ [312, 314]	**$\nu_{as}(CH_2)$ +$\nu_s(CH_3)_{FR}$ [312, 314]**	**$\nu_{as}(CH_2)$ + $\nu_s(CH_2)_{FR}$ [312, 314]**	**$\nu_s(CH_3)$ [312, 314]**	**$\nu_s(CH_2)$ [312, 314]**	**Komb. tone***
-300 mV	2962	2931	2904	2874	(2833)	(2793)
	2953					
200 mV	2959	2930	2903	-	2862	2806
	2952				2844	
800 mV	2965	2928	2902	-	2864	2813
	2951				2841	
200 mV	2963	2928	2907	2870	2858	2824
	2951				2845	
-300 mV	2965	2917	2903	-	2865	2808
					2845	
200 mV	2965	2925	2904	-	2862	2810
	2952				2844	
800 mV	2963	2929	2904	-	2860	2810
	2952					
200 mV	2963	2927	2902	-	2860	2806
	2954				2845	
-300 mV	2965	2923	2903	-	2863	2811
	2957					

***Komb. Tone**: Kombination aus $\nu_s(OCH_3)$[137] und CH_2 bend. + CH_2 wagg. + CH_2 twist.[302]

FR: Fermi-Resonanz

Zu Anfang der Messung tritt eine Verschiebung der Absorptionsbanden zu höheren Wellenzahlen auf, während die Signale der Absorptionsbanden im zweiten Potentialzyklus keine Veränderung der Position aufweisen. So gibt es im ersten Zyklus bei -300 mV zwei Banden bei 2833 und 2793 cm^{-1}, die im Laufe der Messungen verschwinden. Die beiden Absorptionsbanden können dabei nicht sicher zugeordnet werden. Auch nimmt die Intensität der Banden im ersten Potentialzyklus ab, während sie im zweiten Zyklus wieder zunimmt. Ein möglicher Grund für die Veränderung der Positionen und Intensitäten könnte die Zunahme der Ordnung im FeL-Film sein. So liegt zunächst bei der ersten Messungen bei -300 mV ein ungeordneter Film in einem festen Zustand aus mehreren Schichten der FeL-Verbindung vor. Nach dem ersten Potentialzyklus kommt es zu einer Ordnung der FeL-Moleküle. Die asymmetrische

CH_3-Streckschwingung ($\nu_{as}(CH_3)$) lässt sich in der 2. Ableitung in zwei Banden aufspalten. Dies deutet auf einen festen kristallinen Zustand der Methylgruppe hin.[312, 313] Die CH_2-Gruppen scheinen dagegen, aufgrund der Lage der Absorptionsbanden der asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen der CH_2-Gruppen, teilweise im festen kristallinen Zustand sowie im flüssigen Zustand vorzuliegen.[312, 313] Das Vorhandensein der Kombinationsbande bei 2824-2793 cm^{-1} deutet ebenfalls auf eine zumindest teilweise kristalline Phase des Films an der Oberfläche hin.[302]

Es hat sich während der Untersuchung der neuartigen TiO_xC_y-Oberfläche gezeigt, dass organische, biologische Moleküle nur schwach auf den TiO_xC_y-Oberflächen adsorbieren können. Dagegen scheint der anorganische Eisenkomplex stärker an die Oberfläche zu adsorbieren. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass die Polarität des Moleküls die Adsorption auf diesen Oberflächen beeinflusst. Hydrophile Moleküle mit polaren Fragmenten scheinen nur sehr schwach auf den TiO_xC_y-Oberflächen zu adsorbieren. Aus diesem Grund wurden die spektroelektrochemischen Untersuchungen mit dem Eisenkomplex FeL auf der TiO_xC_y-Oberfläche durchgeführt. Durch die *in-situ*-PM IRRAS-Messungen konnte gezeigt werden, dass sich die Multischichten des FeL-Komplexes durch Potentialänderung reorganisieren. Es scheint dabei zur Ausbildung eines kristallinen Zustands des FeL-Komplexes zu kommen. Dies lässt sich in der Aufspaltung der $\nu_{as}(CH_3)$ in zwei Banden erkennen. Es konnte somit gezeigt werden, dass die neuartigen TiO_xC_y-Oberflächen für die spektroelektrochemische Charakterisierung eines anorganischen Eisenkomplexes verwendet werden kann.

9. Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden durch die Modifikationen und die Beschichtungen von siliciumoxidhaltigen Oberflächen die Proteinadsorption und die Zelladhäsion gesteuert und das gerichtete Zellwachstum ausgelöst. Zunächst wurden organische Dünnschichten für diesen Zweck untersucht. Um die organischen Dünnschichten auf SiO_x-Oberflächen zu erzeugen, wurden OEG- und PEG-terminierte Organosilanverbindungen verwendet. Die Charakterisierung der Dünnschichten auf SiO_x erfolgte mit Hilfe von XPS-, SFM-, PM IRRAS- und Kontaktwinkelmessungen sowie Zelladhäsionsuntersuchungen. Ein wichtiger Aspekt war dabei die Strukturierung solcher Systeme für die Steuerung des gerichteten Zellwachstums. Dies gelang durch die Oxidation von organischen Dünnschichten durch ein TEM-Gitter, die die zellabweisenden Eigenschaften in den oxidierten Bereichen aufhob. Die Strukturierung erlaubte das Zellwachstum in vorgegebenen Bahnen. Dabei zeigten die organischen Dünnschichten einer Silanverbindung mit einer Amid-Einheit zwischen Alkylkette und OEG-Kette unter Zellkulturbedingungen die größten Stabilitäten.

Durch die Verwendung spezieller Au/SiO_x-Oberflächen waren diese organischen Dünnschichten für die Charakterisierung durch die PM IRRAS-Technik zugänglich. Es konnte gezeigt werden, dass die Dünnschichten dieser Systeme eine höhere Unordnung aufwiesen, als dies bei vergleichbaren OEG-terminierten Alkanthiolen auf Au-Oberflächen der Fall ist.

Aufgrund der Instabilität von Schichten aus Organosilanverbindungen gegenüber der Hydrolyse, wurden im Rahmen dieser Arbeit erstmalig organische Dünnschichten aus einer neuen OEG-terminierten Silanverbindung mit einer perfluorierten Alkylkette auf SiO_x erzeugt und charakterisiert. Die neue Verbindung sollte die zellabweisenden Eigenschaften der OEG-Terminierung mit den hydrophoben Eigenschaften der perfluorierten Alkylkette kombinieren. Die Charakterisierung erfolgte über XPS-, SFM-, PM IRRAS- und Kontaktwinkelmessungen. Zudem wurden die zellabweisenden Eigenschaften der neuen Verbindung auf verschiedenen SiO_x-Oberflächen untersucht. Dabei zeigte sich unter anderem in den SFM-Aufnahmen, dass die neue Verbindung auf Substraten wie Glas oder Si/SiO_x zur Agglomeration neigte, während dies in SFM-Messungen auf Au/SiO_x-Oberflächen nicht beobachtet wurde. Die Charakterisierungen

mit PM IRRAS und XPS wiesen auf eine erfolgreiche Modifikation von SiO_x-haltigen Oberflächen mit dem neuen Silan hin. Zudem zeigten Zelladhäsionsuntersuchungen, dass Schichten aus der neuen Verbindung unter Zellkulturbedingungen bis zu 6 Tage zellabweisend wirkten.

Neben der Modifikation von SiO_x mit Organosilanverbindungen wurden auch Beschichtungen mit Polymeren auf ihre zellabweisenden Eigenschaften und die Verwendungsmöglichkeiten für ein Biochipsystem untersucht. Die verwendeten Polymere PDMS und PLL-*g*-PEG zeigten zellabweisende Wirkungen. Zudem erlaubten die Polymere die Strukturierung von SiO_x zur Steuerung des Zellwachstums. So konnten PDMS-Strukturen durch das Mikrokontaktdrucken (µCP) von flüssigen PDMS erzeugen werden. Außerdem gelang das gerichtete Zellwachstum durch die Verwendung von festen PDMS-Strukturen. Mit dem Polymer PLL-g-PEG konnten ebenfalls strukturierte SiO_x-Oberflächen erzeugt werden. Durch die verwendeten Polymere ließen sich durch µCP-Verfahren 4×4-Array-Chipstrukturen mit Verbindungslinien erzeugen. Auf diesen Arrays konnten Zellen adhärieren und entlang der Verbindungslinien wachsen, während die umgebenden Bereiche keine Zelladhäsion erlaubten. Zudem erwiesen sich die Strukturen als recht stabil. Auch eine nachträgliche Strukturierung des Polymers PLL-*g*-PEG ließ sich erfolgreich zeigen.

Eine Weiterführung der Strukturierungen von organischen Dünnschichten aus OEG-terminierten Silanen und PLL-*g*-PEG auf SiO_x könnte die Verwendung der SECM-Technik darstellen. Durch die lokale elektrochemische Erzeugung von Brom aus Kaliumbromid an einer UME lassen sich die zellabweisenden OEG-Einheiten von der Oberfläche entfernen. Dies ist bereits gut für OEG-terminierte Thiole auf Au-Oberflächen bekannt.[28] Möglicherweise lassen sich auch Dünnschichten aus OEG-terminierten Silanen oder dem PEG-terminierten Polymer PLL-*g*-PEG mit dieser Technik durch die lokale elektrochemische Erzeugung von Brom strukturieren, so dass die OEG-Einheiten bzw. die PEG-Einheiten des PLL-*g*-PEG entfernt werden und zellanhaftende Bereiche entstehen. Dies könnte im Falle des PLL-*g*-PEG für die Anwendung auf Biochipsystemen eine interessante Strukturierungsmöglichkeit während der Zellkultur darstellen, da bereits vorhandene Zellkulturen nicht geschädigt werden. Im Falle der OEG-terminierten Silane auf SiO_x-Oberflächen wurde die Strukturierungsmethode bereits getestet. Es konnten allerdings keine

zufriedenstellenden Ergebnisse erhalten werden. Ein Grund dafür könnte die Ausbildung von Multilagen durch die Silane sein. Die Multilagenformation ist bei Oberflächenmodifikation mit Silanen bevorzugt und schwer zu unterbinden. Dadurch ist es eventuell notwendig, die Anzahl der Pulse sowie die Pulsdauern oder die Konzentrationen des verwendeten Kaliumbromids zu erhöhen, um eine höhere lokale Bromkonzentration zu erzeugen.

Im weiteren Teil der Arbeit erfolgte die Charakterisierung von adsorbierten Collagen auf Au durch die SFM. Dabei zeigte sich, dass durch Potentialänderung bei Temperaturen von 38 °C bis 50 °C Veränderungen in den Schichtdicken und den Strukturen des Collagenfilms eintraten. Die Oberflächenrauigkeiten stiegen mit dem Anlegen eines Potentials von -0.9 V an und es kam zu einer irreversiblen Veränderung der Filmstruktur. Zudem nahmen die Schichtdicken der Collagenfilme mit zunehmender Temperatur ab. Die Schichtdicke blieb bei 38 °C auch nach mehrfacher Potentialschaltung stabil während sie bei 50 °C deutlich abnahm. Diese Desorption konnte ebenfalls durch die Zunahme der Rauigkeit *Ra* beobachtet werden. Dabei näherte sich die *Ra* der mit Collagen beschichteten Oberfläche durch die Potentialänderungen der Rauigkeit *Ra* einer reinen Au-Oberfläche an. Dies deutete auf eine Desorption des Collagenfilms bei mehrfachen Potentialänderungen und einer Temperatur von 50 °C hin. Eine Re-Adsorption des Collagens in Form von Agglomerationen konnte ebenfalls nach einem Potential von -0.9 V beobachtet werden.

Die Collagenadsorption auf neuartigen TiO_xC_y-Oberflächen wurde ebenfalls untersucht. Hierzu wurden PM IRRAS-, SFM- und Kapazitätsmessungen durchgeführt. Die Intensitäten der Amid I- und Amid II-Banden des adsorbierten Collagens auf TiO_xC_y waren deutlich niedriger als die Intensitäten dieser Absorptionsbanden auf Au. Kapazitätsmessungen von adsorbierten Collagenfilmen auf TiO_xC_y zeigten nur eine geringe Abnahme gegenüber den Kapazitäten einer unbeschichteten TiO_xC_y-Oberfläche. Zudem zeigten SFM-Messungen und CV-Messungen, dass sich die verwendeten TiO_xC_y-Oberflächen in ihrer Topographie und ihren elektrochemischen Eigenschaften stark unterschieden.

Des Weiteren konnten die TiO_xC_y-Oberflächen für die spektroelektrochemische Charakterisierung eines anorganischen Eisenkomplexes, der auf den Oberflächen adsorbiert wurde, genutzt werden. Die *in-situ*-PM IRRAS-Messungen zeigten, dass sich

die adsorbierten Multischichten dieses anorganischen Eisenkomplexes bei Potentialänderungen reorganisierten. Es schien dabei zur Ausbildung eines kristallinen Zustands des FeL-Komplexes zu kommen. Dies ließ sich in der Aufspaltung der asymmetrischen Streckschwingung der Methylgruppen ($\nu_{as}(CH_3)$) in zwei Banden erkennen.

Weitere Untersuchungen von organischen und anorganischen Verbindungen auf den TiO_xC_y-Substraten müssen durchgeführt werden, um die ersten Ergebnisse zu stützen. Damit die TiO_xC_y-Oberflächen als Modelloberflächen für Ti-haltige Implantatoberflächen verwendet werden können, sollten weitere Untersuchungen mit der Collagenadsorption z. B. bei anderen Adsorptionstemperaturen erfolgen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Steuerung der Proteinadsorption und der Zelladhäsion auf SiO_x sowohl durch die verwendeten OEG- und PEG-terminierten Silanverbindungen als auch durch die zellabweisenden Poylmere möglich ist. Vor allem die XPS-, die SFM- und die PM IRRAS-Methode eigneten sich für die Charakterisierung dieser Systeme. Bei den organischen Dünnschichten zeigte vor allem die Silanverbindung mit einer Amid-Einheit zwischen Alkylkette und OEG-Kette die größten Stabilitäten gegenüber der Zelladhäsion unter Kulturbedingungen auf. Polymerbeschichtungen scheinen daher vorteilhafter für die Anwendung auf einem kommerziellen Biochipsystem, da sie eine höhere Stabilität gegenüber der Zelladhäsion aufweisen. Dies ist für den Einsatz auf kommerziellen Biochipsystemen wie dem System des Projektpartners wichtig. Eine Strukturierung von organischen Dünnschichten sowie Polymerbeschichtungen durch nachträgliche Oxidation oder µCP ist möglich und für das Biochipsystem interessant, da sich diese beiden Methoden möglicherweise auf dem Biochipsystem realisieren lassen. Die Integration solcher nachträglichen Strukturierungen müssen allerdings noch getestet werden. Weiterer Forschungsbedarf besteht bei der SECM-Modifizierung solcher Systeme und der möglichen Integration in das Biochipsystem.

10. Anhang

10.1 Abkürzungen

2D, 3D	Zwei/dreidimensional
µCP	Mikrokontaktdrucken (engl. *microcontact printing*)
Abb.	Abbildung
ACV	Wechselstromvoltammetrie (engl. *alternating current voltammetry*)
AFM	Atomare Rasterkraftmikroskopie/mikroskop (engl. *atomic force microscopy/microscope*)
APTES	3-Aminopropyltriethoxysilan
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (engl. *attenuated total reflection*)
ATRP	Atomtransfer-Radikalpolymerisationen (engl. *atom transfer radical polymerization*)
Au/SiO_x	mit SiO_x bedampfte Goldoberfläche
BE	Bindungsenergie
BF33	Borofloat® 33-Glaswafer
Br/HOBr	Brom/Hypobromit
BSA	Rinderalbumin (engl. *bovine serum albumin*)
bzw.	beziehungsweise
CCD	*charge coupled device*
CFM	chemische Kraftmikroskopie (engl. *chemical force microscopy*)
CLSM	konfokale Laserrastermikroskopie (engl. *confocal laser scanning microscopy*)
CV	Cyclovoltammetrie/Cyclovoltammogram (engl. *Cyclic voltammetry/voltammograme*)
DCC	*N*,*N*'-Dicyclohexylcarbodiimid
DIV	Tage in Kultur (engl. *Days in vitro*)
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMPC	1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
DPN	Dip-Pen-Nanolithographie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FTO	Fluor-Zinnoxid (engl. *Fluorine doped tin oxide*)
Gly	Glycin

HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)- 1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HEK293	humane, embryonale Nierenzellen 293 (engl. *human embryonic kidney cells*)
Hyp	Hydroxyprolin
ITO	Indium-Zinnoxid (engl. *indium tin oxide*)
IR	Infrarot
Kap.	Kapitel
LFM	lateraler Reibungskraft-Modus (engl. *lateral force mode*)
LPCVD	chemische Niedrigdruck-Gasphasenabscheidung (engl. *low pressure chemical vapour deposition*, LPCVD)
MO	Molekülorbital
OCP	Ruhepotential (engl. *open circuit potential*)
OEG3	1,1,1-Trichloro-13,16,19,22-tetraoxa-1-silatricosan
OEG6	1,1,1-Trichlor-13,16,19,22,25,28,31-heptaoxa-1-siladotria-contan
OEG6-perfluoriert	1,1,1-Trichlor-4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,12,12,13,13-icosafluoro-2,15,18,21,24,27,30,33-octoxa-1-silatetriacontan
OEG-Urethan	*N*-(Triethoxysilylpropyl)-O-polyethyleneoxideurethan
OTS	*n*-Octadecyltrichlorosilan
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (engl. *phosphate buffered saline*)
PEM	Photoelastischer Modulator
PFM	Gepulste Kraftmikroskopie (engl. *pulsed force microscopy*)
PF-Silan	1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-Perfluorooctyltriethoxysilan
PLL-*g*-PEG	Poly-L-Lysin-*graft*-Polyethylenglycol
PM IRRAS	polarisationsmodulierten Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (engl. *polarization modulation infrared reflection absorption spectroscopy*)
p-polarisiert	linear parallel polarisiert
Pro	Prolin
Ra	mittlere Rauigkeit (engl. *average roughness*)
RGD	Aminosäurensequenz Arginin-Glycin-Asparaginsäure
RMS	*Root mean square*-Rauigkeit
SAM	selbstorganisierten Monolagen (engl. *self-assembled monolayer*)

SECM	elektrochemische Rastermikroskopie (engl. *scanning electrochemical microscopy*)
SFM	Rasterkraftmikroskopie/mikroskop (engl. *scanning force microscopy/microscope*)
SI-ATRP	oberflächen-initialisierte Atomtransfer-Radikalpolymerisation (engl. *Surface-initiated atom transfer radical polymerization*)
SI-CRP	oberflächen-initialisierte kontrollierte Radikalpolymerisation (engl. *surface-initiated controlled radical polymerization*)
SI-NMP	oberflächen-initialisierte Nitroxid-vermittelte Radikalpolymerisation (engl. *Surface-initiated nitroxide-mediated polymerization*)
SI-PIMP	oberflächen-initialisierte Photoiniferter-vermittelte Polymerisation (engl. *surface-initiated photoiniferter-mediated polymerization*)
SI-RAFT	oberflächen-initialisierte reversible Additions-Fragmentierungs-Kettenpolymerisation (engl. *Surface-initiated reversible-addition fragmentation chain transfer polymerization*)
Si/SiO_x	SiO_x auf Siliciumwafer
Si/Si_3N_4	oxidiertes Siliciumnitrid auf Siliciumwafer
s-polarisiert	linear senkrecht polarisiert
STM	Rastertunnelmikroskop (engl. *scanning tunneling microscope*)
Tab.	Tabelle
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethylorthosilikat
THF	Tetrahydrofuran
UME	Ultramikroelektrode
UV	Ultraviolett
XPS	Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl. *X-ray photoelectron spectroscopy*)
z. B.	zum Beispiel

10.2 Symbole

A	Probenfläche
c	Konzentration
C	Kapazität

d	Abstand, Tiefe
E	Potential
E_B	Bindungsenergie
$E_{B(Atom)}$	Atomare Bindungsenergie
$E_{B,eff}$	Effektive Bindungsenergie
E_B^F	E_B relativ zum Fermi-Niveau (E_F) der Oberfläche (definiert als $E_F = 0$)
E_{Kin}	gemessene kinetische Energie des emittierten Elektrons
ΔE_{chem}	chemische Verschiebung
ΔE_{Mad}	Madelungterm
$\Delta E_{\text{r,int}} + \Delta E_{\text{r,ext}}$	Relaxationseffekte
f	Röntgenphotonenstrom
F	Kraft
h	Stunde
hv	Energie des Röntgenphotons
I	Intensität der Absorption der IR-Strahlung
I_{p}	Intensität der *p*-polarisierten IR-Strahlung
I_{s}	Intensität der *s*-polarisierten IR-Strahlung
ΔI	Intensitätsdifferenzsignal
$\Delta I(\omega)$, $\langle \text{I} \rangle(\omega)$	Funktionen der Anregungsfrequenz des PEM (ω)
$\langle \text{I} \rangle$	Mittelwert der Intensitäten
j	Gesamtdrehimpulsquantenzahl
$J_1(\varphi_0)$	Besselfunktion erster Ordnung
$J_2(\varphi_0)$	Besselfunktion zweiter Ordnung
k	Federkonstante
l	Nebenquantenzahl
M	Mol
min	Minute
n, N	Anzahl Atome
RT	Raumtemperatur
s	Spinquantenzahl
S	Sensivitätsfaktor

T	Wahrscheinlichkeit der Detektion durch Analysesystem
v_s	Symmetrische Streckschwingung
v_{as}	Asymmetrische Streckschwingung
x	Auslenkung des Cantilevers
y	Wahrscheinlichkeit der Bildung von Photoelektronen mit normaler Energie
z	Tiefe
δ	Deformationsschwingung
θ	Elektronen-*Take-off*-Winkel (zur Oberflächenebene)
	Winkelabhängiger Effizienzfaktor des Aufbaus
λ	unelastischen, mittleren, freien Weglänge der Elektronen (Dämpfungslänge)
σ	photoelektrischer Wirkungsquerschnitt
Φ	Austrittsarbeit, die die Unsicherheiten beinhaltet
Φ_{sp}	Austrittsarbeit des Spektrometers
φ_0	maximale Verschiebung des Lichts durch den PEM
ω	Anregungsfrequenz des PEM

11. Literaturverzeichnis

[1] D. Pavithra, M. Doble, *Biomed. Mater.* **2008**, *3*, 034003/1.
[2] L. Hall-Stoodley, J. W. Costerton, P. Stoodley, *Nature Reviews Microbiology* **2004**, *2*, 95.
[3] F. Westall, M. J. de Wit, J. Dann, S. van der Gaast, C. E. J. de Ronde, D. Gerneke, *Precambrian Res.* **2001**, *106*, 93.
[4] B. Rasmussen, *Nature* **2000**, *405*, 676.
[5] R. M. Donlan, *Clinical Infectious Diseases* **2001**, *33*, 1387.
[6] N. Wisniewski, F. Moussy, W. M. Reichert, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, *366*, 611.
[7] A. Kira, K. Okano, Y. Hosokawa, A. Naito, K. Fuwa, J. Yuyama, H. Masuhara, *Appl. Surf. Sci.* **2009**, *255*, 7647.
[8] A. Rosenhahn, S. Schilp, H. J. Kreuzer, M. Grunze, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 4275.
[9] X. Li, Y. Xing, Y. Jiang, Y. Ding, W. Li, *International Journal of Food Science and Technology* **2009**, *44*, 2161.
[10] M. Ben-Sasson, K. R. Zodrow, Q. Genggeng, Y. Kang, E. P. Giannelis, M. Elimelech, *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 384.
[11] H.-C. Flemming, T. R. Neu, D. J. Wozniak, *J. Bacteriol.* **2007**, *189*, 7945.
[12] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *Science* **1991**, *252*, 1164.
[13] C. Zhao, M. Burchardt, T. Brinkhoff, C. Beardsley, M. Simon, G. Wittstock, *Langmuir* **2010**, *26*, 8641.
[14] S.-W. Lee, P. E. Laibinis, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1669.
[15] J.-P. Frimat, J. Sisnaiske, S. Subbiah, H. Menne, P. Godoy, P. Lampen, M. Leist, J. Franzke, J. G. Hengstler, C. van Thriel, J. West, *Lab Chip* **2010**, *10*, 701.
[16] S. VandeVondele, J. Vörös, J. A. Hubbell, *Biotechnol. Bioeng.* **2003**, *82*, 784.
[17] S. Lee, J. Vörös, *Langmuir* **2005**, *21*, 11957.
[18] E. Wischerhoff, K. Uhlig, A. Lankenau, H. G. Boerner, A. Laschewsky, C. Duschl, J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5666.
[19] D. M. Yanker, J. A. Maurer, *Mol. BioSyst.* **2008**, *4*, 502.
[20] C. A. Schlecht, D. M. Johnson, J. A. Maurer, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 8826.
[21] S. Pasche, S. M. De Paul, J. Vörös, N. D. Spencer, M. Textor, *Langmuir* **2003**, *19*, 9216.
[22] G. Csucs, R. Michel, J. W. Lussi, M. Textor, G. Danuser, *Biomaterials* **2003**, *24*, 1713.
[23] N. Li, A. Folch, *Exp. Cell Res.* **2005**, *311*, 307.
[24] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 550.
[25] S. S. Shah, M. C. Howland, L.-J. Chen, J. Silangcruz, S. V. Verkhoturov, E. A. Schweikert, A. N. Parikh, A. Revzin, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 2592.
[26] W. S. Dillmore, M. N. Yousaf, M. Mrksich, *Langmuir* **2004**, *20*, 7223.
[27] D. Ryan, B. A. Parviz, V. Linder, V. Semetey, S. K. Sia, J. Su, M. Mrksich, G. M. Whitesides, *Langmuir* **2004**, *20*, 9080.
[28] C. Zhao, I. Witte, G. Wittstock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *118*, 5595.
[29] A. Lesch, B. Vaske, F. Meiners, D. Momotenko, F. Cortes-Salazar, H. H. Girault, G. Wittstock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10413.

[30] K. Gelse, E. Poschl, T. Aigner, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2003**, *55*, 1531.
[31] P. J. Köster, PhD thesis, Universität Rostock, **2009**.
[32] A. Bange, H. B. Halsall, W. R. Heineman, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20*, 2488.
[33] X. Han, A. Studer, H. Sehr, I. Geissbuhler, M. Di Berardino, F. K. Winkler, L. X. Tiefenauer, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 4466.
[34] T. Sordel, F. Kermarrec, Y. Sinquin, I. Fonteille, M. Labeau, F. Sauter-Starace, C. Pudda, F. de Crecy, F. Chatelain, M. De Waard, C. Arnoult, N. Picollet-D'hahan, *Biomaterials* **2010**, *31*, 7398.
[35] B. Kasemo, *Surf. Sci.* **2002**, *500*, 656.
[36] M. Thieme, K. P. Wieters, F. Bergner, D. Scharnweber, H. Worch, J. Ndop, T. J. Kim, W. Grill, *J. Mater. Sci. - Mater. Med.* **2001**, *12*, 225.
[37] P. Fromherz, A. Offenhausser, T. Vetter, J. Weis, *Science* **1991**, *252*, 1290.
[38] W. Ehrfeld, *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 2857.
[39] S. Ito, T. Kitamura, Y. Wada, S. Yanagida, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2003**, *76*, 3.
[40] H. A. Schaeffer, R. Langfeld, in *Werkstoff Glas : Alter Werkstoff mit großer Zukunft* Springer Vieweg, Berlin, Heidelberg, **2014**, p. 1.
[41] H. A. Schaeffer, R. Langfeld, in *Werkstoff Glas : Alter Werkstoff mit großer Zukunft* Springer Vieweg, Berlin, Heidelberg, **2014**, p. 131.
[42] T. Sordel, F. Kermarec-Marcel, S. Garnier-Raveaud, N. Glade, F. Sauter-Starace, C. Pudda, M. Borella, M. Plissonnier, F. Chatelain, F. Bruckert, N. Picollet-D'hahan, *Biomaterials* **2007**, *28*, 1572.
[43] C. Cobianu, J. B. Rem, J. H. Klootwijk, M. H. H. Weusthof, J. Holleman, P. H. Woerlee, *J. Phys. IV* **1995**, *5*, 1005.
[44] F. Iacona, G. Ceriola, F. La Via, *Mater. Sci. Semicond. Process.* **2001**, *4*, 43.
[45] V. E. Vamvakas, D. Davazoglou, *J. Electrochem. Soc.* **2004**, *151*, F93.
[46] A. A. Bagatur'yants, K. P. Novoselov, A. A. Safonov, J. Vernon Cole, M. Stoker, A. A. Korkin, *Surf. Sci.* **2001**, *486*, 213.
[47] Y. Kamigaki, K. e. Yokogawa, T. Hashimot, T. Uemura, *J. Appl. Phys.* **1996**, *80*, 3430.
[48] K. Williams, E. Brenniman, J. Su, H. Lee, X. Zhao, J. Sun, *Solid State Technology* **2007**, *50*, 41.
[49] K. Chiba, *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *256*, 1641.
[50] Y.-P. Lin, J.-G. Hwu, *Electrochem. Solid State Lett.* **2004**, *7*, G87.
[51] Z. Chen, W. Chen, B. Yuan, L. Xiao, D. Liu, Y. Jin, B. Quan, J.-o. Wang, K. Ibrahim, Z. Wang, W. Zhang, X. Jiang, *Langmuir* **2010**, *26*, 17790.
[52] S. Prakash, T. M. Long, J. C. Selby, J. S. Moore, M. A. Shannon, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 1661.
[53] D. Irimia, J. O. M. Karlsson, *Biomed. Microdev.* **2003**, *5*, 185.
[54] R. L. DeRosa, J. A. Cardinale, A. Cooper, *Thin Solid Films* **2007**, *515*, 4024.
[55] C. Py, D. Salim, R. Monette, T. Comas, J. Fraser, D. Martinez, M. Martina, G. Mealing, *Biotechnol. Bioeng.* **2011**, *108*, 1936.
[56] P. Fromherz, *ChemPhysChem* **2002**, *3*, 276.
[57] D. Braun, P. Fromherz, *Biophys. J.* **2004**, *87*, 1351.
[58] R. Pantoja, J. M. Nagarah, D. M. Starace, N. A. Melosh, R. Blunck, F. Bezanilla, J. R. Heath, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *20*, 509.
[59] M. Ronaghi, A. A. H. H. Talasaz, R. W. Davis, (The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University, USA). Application: US, **2012**, p. 26pp.

[60] I. Zawisza, G. Wittstock, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Langmuir* **2007**, *23*, 9303.
[61] I. Zawisza, G. Wittstock, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Langmuir* **2008**, *24*, 3922.
[62] M. Ahlers, PhD thesis, Carl von Ossietzky University of Oldenburg, **2013**.
[63] C. Liu, Y. Xin, X. Tian, J. Zhao, P. K. Chu, *Journal of Vacuum Science & Technology, A: Vacuum, Surfaces, and Films* **2007**, *25*, 334.
[64] C. Wolf-Brandstetter, A. Lode, T. Hanke, D. Scharnweber, H. Worch, *J. Biomed. Mater. Res. A* **2006**, *79A*, 882.
[65] D. E. MacDonald, B. E. Rapuano, N. Deo, M. Stranick, P. Somasundaran, A. L. Boskey, *Biomaterials* **2004**, *25*, 3135.
[66] T. Eliades, *Int J Oral Maxillofac Implants* **1997**, *12*, 621.
[67] C. Rüdiger, F. Maglia, S. Leonardi, M. Sachsenhauser, I. D. Sharp, O. Paschos, J. Kunze, *Electrochim. Acta* **2012**, *71*, 1.
[68] J. M. Lehn, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1347.
[69] J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103.
[70] C. D. Bain, E. B. Troughton, Y. T. Tao, J. Evall, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 321.
[71] J. J. Gooding, S. Ciampi, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2704.
[72] S. Herrwerth, W. Eck, S. Reinhardt, M. Grunze, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9359.
[73] P. Harder, M. Grunze, R. Dahint, G. M. Whitesides, P. E. Laibinis, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 426.
[74] W. Sanders, R. Vargas, M. R. Anderson, *Langmuir* **2008**, *24*, 6133.
[75] C. B. Kristalyn, S. Watt, S. A. Spanninga, R. A. Barnard, K. Nguyen, Z. Chen, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *353*, 322.
[76] M. Chockalingam, N. Darwish, G. Le Saux, J. J. Gooding, *Langmuir* **2011**, *27*, 2545.
[77] S. Ciampi, J. B. Harper, J. J. Gooding, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2158.
[78] S. Ciampi, M. James, P. Michaels, J. J. Gooding, *Langmuir* **2011**, *27*, 6940.
[79] M. Cerruti, S. Fissolo, C. Carraro, C. Ricciardi, A. Majumdar, R. Maboudian, *Langmuir* **2008**, *24*, 10646.
[80] M. Rosso, A. T. Nguyen, E. de Jong, J. Baggerman, J. M. J. Paulusse, M. Giesbers, R. G. Fokkink, W. Norde, K. Schroen, C. J. M. van Rijn, H. Zuilhof, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 697.
[81] S. Onclin, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6282.
[82] S. R. Wasserman, Y. T. Tao, G. M. Whitesides, *Langmuir* **1989**, *5*, 1074.
[83] Y. Xia, M. Mrksich, E. Kim, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9576.
[84] B. S. Lee, Y. S. Chi, K.-B. Lee, Y.-G. Kim, I. S. Choi, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 3922.
[85] D. A. Ramrus, J. C. Berg, *J. Adhes. Sci. Technol.* **2004**, *18*, 1395.
[86] S.-R. Yang, B. O. Kolbesen, *Appl. Surf. Sci.* **2008**, *255*, 1726.
[87] A. Ng, S. Ciampi, M. James, J. B. Harper, J. J. Gooding, *Langmuir* **2009**, *25*, 13934.
[88] C. Wendeln, S. Rinnen, C. Schulz, H. F. Arlinghaus, B. J. Ravoo, *Langmuir* **2010**, *26*, 15966.

[89] M. Das, D. Bandyopadhyay, R. P. Singh, H. Harde, S. Kumar, S. Jain, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 24652.
[90] F. Meiners, I. Plettenberg, J. Witt, B. Vaske, A. Lesch, I. Brand, G. Wittstock, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 3673.
[91] M. Mrksich, G. M. Whitesides, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1996**, *25*, 55.
[92] J. H. Seo, L.-J. Chen, S. V. Verkhoturov, E. A. Schweikert, A. Revzin, *Biomaterials* **2011**, *32*, 5478.
[93] T. Böcking, A. Kilian Kristopher, K. Gaus, J. J. Gooding, *Langmuir* **2006**, *22*, 3494.
[94] R. Huisgen, G. Szeimies, L. Möbius, *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 2494.
[95] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596.
[96] C. C. A. Ng, S. Ciampi, J. B. Harper, J. J. Gooding, *Surf. Sci.* **2010**, *604*, 1388.
[97] H. Schift, S. Saxer, S. Park, C. Padeste, U. Pieles, J. Gobrecht, *Nanotechnology* **2005**, *16*, S171.
[98] K. Hayashi, N. Saito, H. Sugimura, O. Takai, N. Nakagiri, *Langmuir* **2002**, *18*, 7469.
[99] C. Wendeln, B. J. Ravoo, *Langmuir* **2012**, *28*, 5527.
[100] S. Raghavan, R. A. Desai, Y. Kwon, M. Mrksich, C. S. Chen, *Langmuir* **2010**, *26*, 17733.
[101] M. Mrksich, G. M. Whitesides, *Trends Biotechnol.* **1995**, *13*, 228.
[102] S. Xu, G.-y. Liu, *Langmuir* **1997**, *13*, 127.
[103] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Electrochim. Acta* **2001**, *47*, 275.
[104] R. Maoz, E. Frydman, S. R. Cohen, J. Sagiv, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 725.
[105] S.-Y. Ku, K.-T. Wong, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2392.
[106] M. N. Yousaf, B. T. Houseman, M. Mrksich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1093.
[107] M. N. Yousaf, B. T. Houseman, M. Mrksich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 5992.
[108] M. J. Hynes, J. A. Maurer, *Mol. BioSyst.* **2013**, *9*, 559.
[109] S. Krakert, N. Ballav, M. Zharnikov, A. Terfort, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 507.
[110] C. K. Luscombe, H.-W. Li, W. T. S. Huck, A. B. Holmes, *Langmuir* **2003**, *19*, 5273.
[111] G. M. Wallraff, W. D. Hinsberg, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1801.
[112] S. Krämer, R. R. Fuierer, C. B. Gorman, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4367.
[113] C. S. Dulcey, J. H. Georger, Jr., V. Krauthamer, D. A. Stenger, T. L. Fare, J. M. Calvert, *Science* **1991**, *252*, 551.
[114] C. Gentilini, M. Boccalon, L. Pasquato, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 3308.
[115] C. Gentilini, F. Evangelista, P. Rudolf, P. Franchi, M. Lucarini, L. Pasquato, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15678.
[116] N. Herzer, S. Hoeppener, U. S. Schubert, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 5634.
[117] J. D. Cox, M. S. Curry, S. K. Skirboll, P. L. Gourley, D. Y. Sasaki, *Biomaterials* **2002**, *23*, 929.
[118] C. Hoffmann, G. E. M. Tovar, *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *295*, 427.
[119] J. Sagiv, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 92.
[120] N. Rozlosnik, M. C. Gerstenberg, N. B. Larsen, *Langmuir* **2003**, *19*, 1182.

[121] J. Foisner, A. Glaser, J. Kattner, H. Hoffmann, G. Friedbacher, *Langmuir* **2003**, *19*, 3741.
[122] Y. Wang, M. Lieberman, *Langmuir* **2003**, *19*, 1159.
[123] R. M. Pasternack, S. Rivillon Amy, Y. J. Chabal, *Langmuir* **2008**, *24*, 12963.
[124] A. Glaser, J. Foisner, G. Friedbacher, H. Hoffmann, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 653.
[125] H. O. Finklea, L. R. Robinson, A. Blackburn, B. Richter, D. Allara, T. Bright, *Langmuir* **1986**, *2*, 239.
[126] D. L. Allara, A. N. Parikh, F. Rondelez, *Langmuir* **1995**, *11*, 2357.
[127] P. Silberzan, L. Leger, D. Ausserre, J. J. Benattar, *Langmuir* **1991**, *7*, 1647.
[128] R. Wang, S. L. Wunder, *Langmuir* **2000**, *16*, 5008.
[129] J. D. Le Grange, J. L. Markham, C. R. Kurkjian, *Langmuir* **1993**, *9*, 1749.
[130] T. Vallant, H. Brunner, U. Mayer, H. Hoffmann, T. Leitner, R. Resch, G. Friedbacher, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 7190.
[131] D. Devaprakasam, S. Sampath, S. K. Biswas, *Langmuir* **2004**, *20*, 1329.
[132] X.-D. Xiao, G.-y. Liu, D. H. Charych, M. Salmeron, *Langmuir* **1995**, *11*, 1600.
[133] S. Ren, S. Yang, Y. Zhao, J. Zhou, T. Xu, W. Liu, *Tribol. Lett.* **2002**, *13*, 233.
[134] R. Tian, O. Seitz, M. Li, W. Hu, Y. J. Chabal, J. Gao, *Langmuir* **2010**, *26*, 4563.
[135] Q. Li, G. Mathur, S. Gowda, S. Surthi, Q. Zhao, L. Yu, J. S. Lindsey, D. F. Bocian, V. Misra, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 133.
[136] C. Yang, G. L. Liang, K. M. Xu, P. Gao, B. Xu, *J. Mater. Sci.* **2009**, *44*, 1894.
[137] I. Brand, M. Nullmeier, T. Klüner, R. Jogireddy, J. Christoffers, G. Wittstock, *Langmuir* **2010**, *26*, 362.
[138] D. J. Vanderah, R. S. Gates, V. Silin, D. N. Zeiger, J. T. Woodward, C. W. Meuse, G. Valincius, B. Nickel, *Langmuir* **2003**, *19*, 2612.
[139] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10714.
[140] C. Zhao, I. Zawisza, M. Nullmeier, M. Burchardt, M. Träuble, I. Witte, G. Wittstock, *Langmuir* **2008**, *24*, 7605.
[141] R. L. C. Wang, H. J. Kreuzer, M. Grunze, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 9767.
[142] A. Papra, A. Bernard, D. Juncker, N. B. Larsen, B. Michel, E. Delamarche, *Langmuir* **2001**, *17*, 4090.
[143] S. S. Shah, J. Y. Lee, S. Verkhoturov, N. Tuleuova, E. A. Schweikert, E. Ramanculov, A. Revzin, *Langmuir* **2008**, *24*, 6837.
[144] A. Papra, N. Gadegaard, N. B. Larsen, *Langmuir* **2001**, *17*, 1457.
[145] K. Norrman, A. Papra, F. S. Kamounah, N. Gadegaard, N. B. Larsen, *J. Mass Spectrom.* **2002**, *37*, 699.
[146] S. Lan, M. Veiseh, M. Zhang, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20*, 1697.
[147] M. Veiseh, M. H. Zareie, M. Zhang, *Langmuir* **2002**, *18*, 6671.
[148] M. Veiseh, M. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1197.
[149] S. Jo, K. Park, *Biomaterials* **2000**, *21*, 605.
[150] L. Velleman, C. J. Shearer, A. V. Ellis, D. Losic, N. H. Voelcker, J. G. Shapter, *Nanoscale* **2010**, *2*, 1756.
[151] T. Böcking, M. Gal, K. Gaus, J. J. Gooding, *Aust. J. Chem.* **2005**, *58*, 660.
[152] M. J. Hynes, J. A. Maurer, *Langmuir* **2012**, *28*, 16237.
[153] B. Vaske, PhD thesis, Carl von Ossietzky University of Oldenburg, **2014**.
[154] M. Mrksich, L. E. Dike, J. Tien, D. E. Ingber, G. M. Whitesides, *Exp. Cell Res.* **1997**, *235*, 305.
[155] Y.-Y. Luk, M. Kato, M. Mrksich, *Langmuir* **2000**, *16*, 9604.
[156] M. K. Strulson, D. M. Johnson, J. A. Maurer, *Langmuir* **2012**, *28*, 4318.

[157] N. S. Baek, J.-H. Lee, Y. H. Kim, B. J. Lee, G. H. Kim, I.-H. Kim, M.-A. Chung, S.-D. Jung, *Langmuir* **2011**, *27*, 2717.
[158] S. Lee, M. Müller, M. Ratoi-Salagean, J. Vörös, S. Pasche, S. M. De Paul, H. A. Spikes, M. Textor, N. D. Spencer, *Tribol. Lett.* **2003**, *15*, 231.
[159] Z. Zhang, X. Feng, F. Xu, X. Liu, B.-F. Liu, *Electrophoresis* **2010**, *31*, 3129.
[160] H. Chun, D. S. Lee, H. C. Kim, *Methods Mol. Biol.* **2009**, *509*, 145.
[161] J. Zhou, D. A. Khodakov, A. V. Ellis, N. H. Voelcker, *Electrophoresis* **2012**, *33*, 89.
[162] L. Wang, B. Sun, K. S. Ziemer, G. A. Barabino, R. L. Carrier, *J. Biomed. Mater. Res. A* **2010**, *93A*, 1260.
[163] W. Hellmich, J. Regtmeier, T. T. Duong, R. Ros, D. Anselmetti, A. Ros, *Langmuir* **2005**, *21*, 7551.
[164] E. Migliorini, J. Ban, G. Grenci, L. Andolfi, A. Pozzato, M. Tormen, V. Torre, M. Lazzarino, *Biotechnol. Bioeng.* **2013**, *110*, 2301.
[165] Y.-W. Lin, G.-J. Wang, *Microsyst. Technol.* **2013**, *19*, 945.
[166] S. Sugaya, S. Kakegawa, S. Fukushima, M. Yamada, M. Seki, *Langmuir* **2012**, *28*, 14073.
[167] Y.-J. Choi, T.-J. M. Luo, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 2778.
[168] M. Yao, J. Fang, *J. Micromech. Microeng.* **2012**, *22*, 025012.
[169] P. Sun, J. H. Horton, *Appl. Surf. Sci.* **2013**, *271*, 344.
[170] K. Ma, J. Rivera, G. J. Hirasaki, S. L. Biswal, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *363*, 371.
[171] E. J. Lee, I.-T. Hwang, C.-H. Jung, H.-J. Kwon, J.-H. Choi, M. G. Hur, S. O. Cho, K. Shin, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2013**, *9*, 461.
[172] H.-J. Bai, M.-L. Shao, H.-L. Gou, J.-J. Xu, H.-Y. Chen, *Langmuir* **2009**, *25*, 10402.
[173] S. Kuddannaya, Y. J. Chuah, M. H. A. Lee, N. V. Menon, Y. Kang, Y. Zhang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 9777.
[174] L. B. Carneiro, J. Ferreira, M. J. L. Santos, J. P. Monteiro, E. M. Girotto, *Appl. Surf. Sci.* **2011**, *257*, 10514.
[175] G. L. Kenausis, J. Vörös, D. L. Elbert, N. Huang, R. Hofer, L. Ruiz-Taylor, M. Textor, J. A. Hubbell, N. D. Spencer, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 3298.
[176] S. Morgenthaler, C. Zink, B. Stadler, J. Vörös, S. Lee, N. D. Spencer, S. G. P. Tosatti, *Biointerphases* **2006**, *1*, 156.
[177] X. Yan, S. S. Perry, N. D. Spencer, S. Pasche, S. M. De Paul, M. Textor, M. S. Lim, *Langmuir* **2004**, *20*, 423.
[178] T. M. Blättler, S. Pasche, M. Textor, H. J. Griesser, *Langmuir* **2006**, *22*, 5760.
[179] W. Hartung, A. Rossi, S. Lee, N. D. Spencer, *Tribol. Lett.* **2009**, *34*, 201.
[180] R. Michel, S. Pasche, M. Textor, D. G. Castner, *Langmuir* **2005**, *21*, 12327.
[181] N.-P. Huang, R. Michel, J. Voros, M. Textor, R. Hofer, A. Rossi, D. L. Elbert, J. A. Hubbell, N. D. Spencer, *Langmuir* **2001**, *17*, 489.
[182] G. Zhen, V. Eggli, J. Vörös, P. Zammaretti, M. Textor, R. Glockshuber, E. Kuennemann, *Langmuir* **2004**, *20*, 10464.
[183] R. Michel, J. W. Lussi, G. Csucs, I. Reviakine, G. Danuser, B. Ketterer, J. A. Hubbell, M. Textor, N. D. Spencer, *Langmuir* **2002**, *18*, 3281.
[184] S. S. Perry, X. Yan, F. T. Limpoco, S. Lee, M. Müller, N. D. Spencer, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 1224.
[185] A. Azioune, N. Carpi, J. Fink, M. M. Chehimi, D. Cuvelier, M. Piel, *Langmuir* **2011**, *27*, 7349.

[186] H. Hardelauf, J. Sisnaiske, A. A. Taghipour-Anvari, P. Jacob, E. Drabiniok, U. Marggraf, J.-P. Frimat, J. G. Hengstler, A. Neyer, C. van Thriel, J. West, *Lab Chip* **2011**, *11*, 2763.
[187] R. Barbey, L. Lavanant, D. Paripovic, N. Schuwer, C. Sugnaux, S. Tugulu, H.-A. Klok, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5437.
[188] R. Rotzoll, D. H. Nguyen, P. Vana, *Macromol. Symp.* **2009**, *275-276*, 1.
[189] M. Baum, W. J. Brittain, *Macromolecules* **2002**, *35*, 610.
[190] R.-V. Ostaci, D. Damiron, S. Capponi, G. Vignaud, L. Leger, Y. Grohens, E. Drockenmuller, *Langmuir* **2008**, *24*, 2732.
[191] A. N. Constable, W. J. Brittain, *Colloids Surf., A* **2011**, *380*, 128.
[192] A. T. Nguyen, J. Baggerman, J. M. J. Paulusse, C. J. M. van Rijn, H. Zuilhof, *Langmuir* **2011**, *27*, 2587.
[193] J. Racine, H. Cheradame, Y. S. Chu, J. P. Thiery, I. Rodriguez, *Biotechnol. Bioeng.* **2011**, *108*, 983.
[194] S. Sharma, R. W. Johnson, T. A. Desai, *Langmuir* **2004**, *20*, 348.
[195] L. Andruzzi, W. Senaratne, A. Hexemer, E. D. Sheets, B. Ilic, E. J. Kramer, B. Baird, C. K. Ober, *Langmuir* **2005**, *21*, 2495.
[196] M. Dahm, B. J. Chang, O. Prucker, M. Pierkes, T. Alt, E. Mayer, J. Rühe, H. Oelert, *The Annals of thoracic surgery* **2001**, *71*, 437.
[197] W. Song, N. Kawazoe, G. Chen, *J. Nanomater.* **2011**, *2011*, 265251.
[198] 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.
[199] C. S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, *Science* **1997**, *276*, 1425.
[200] K. Y. Suh, J. Seong, A. Khademhosseini, E. Laibinis Paul, R. Langer, *Biomaterials* **2004**, *25*, 557.
[201] C. D. James, R. C. Davis, L. Kam, H. G. Craighead, M. Isaacson, J. N. Turner, W. Shain, *Langmuir* **1998**, *14*, 741.
[202] A. Bernard, E. Delamarche, H. Schmid, B. Michel, H. R. Bossard, H. Biebuyck, *Langmuir* **1998**, *14*, 2225.
[203] H. Zheng, M. C. Berg, M. F. Rubner, P. T. Hammond, *Langmuir* **2004**, *20*, 7215.
[204] D. T. Chiu, N. L. Jeon, S. Huang, R. S. Kane, C. J. Wargo, I. S. Choi, D. E. Ingber, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 2408.
[205] P. A. Brooksby, A. J. Downard, *Langmuir* **2005**, *21*, 1672.
[206] C. B. Ross, L. Sun, R. M. Crooks, *Langmuir* **1993**, *9*, 632.
[207] D. Wouters, U. S. Schubert, *Langmuir* **2003**, *19*, 9033.
[208] H. Sugimura, N. Nakagiri, N. Ichinose, *Appl. Phys. Lett.* **1995**, *66*, 3686.
[209] H. Sugimura, N. Nakagiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9226.
[210] H. Sugimura, O. Takai, N. Nakagiri, *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *473*, 230.
[211] A. Inoue, T. Ishida, N. Choi, W. Mizutani, H. Tokumoto, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, *73*, 1976.
[212] R. Maoz, E. Frydman, S. R. Cohen, J. Sagiv, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 424.
[213] S. E. Pust, S. Szunerits, R. Boukherroub, G. Wittstock, *Nanotechnology* **2009**, *20*, 075302.
[214] W. T. Müller, D. L. Klein, T. Lee, J. Clarke, P. L. McEuen, P. G. Schultz, *Science* **1995**, *268*, 272.
[215] A. Zeira, J. Berson, I. Feldman, R. Maoz, J. Sagiv, *Langmuir* **2011**, *27*, 8562.
[216] W. F. Paxton, J. M. Spruell, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6692.

[217] R. D. Piner, J. Zhu, F. Xu, S. Hong, C. A. Mirkin, *Science* **1999**, *283*, 661.
[218] K. Salaita, Y. Wang, C. A. Mirkin, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 145.
[219] T. Rakickas, E. M. Ericsson, Z. Ruzele, B. Liedberg, R. Valiokas, *Small* **2011**, *7*, 2153.
[220] Y. Zhang, K. Salaita, J.-H. Lim, K.-B. Lee, C. A. Mirkin, *Langmuir* **2004**, *20*, 962.
[221] J. Kim, Y.-H. Shin, S.-H. Yun, D.-S. Choi, J.-H. Nam, S.-K. Moon, B. H. Chung, J.-H. Lee, J.-H. Kim, K.-Y. Kim, K.-M. Kim, J.-H. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 16500.
[222] M. Yang, P. E. Sheehan, W. P. King, L. J. Whitman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6774.
[223] S. Jegadesan, S. Sindhu, R. C. Advincula, S. Valiyaveettil, *Langmuir* **2006**, *22*, 780.
[224] B. Basnar, Y. Weizmann, Z. Cheglakov, I. Willner, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 713.
[225] X. Liu, L. Fu, S. Hong, V. P. Dravid, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 231.
[226] K.-B. Lee, S.-J. Park, C. A. Mirkin, J. C. Smith, M. Mrksich, *Science* **2002**, *295*, 1702.
[227] D. K. Hoover, E.-j. Lee, E. W. L. Chan, M. N. Yousaf, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1920.
[228] D. J. Pena, M. P. Raphael, J. M. Byers, *Langmuir* **2003**, *19*, 9028.
[229] D. A. Long, K. Unal, R. C. Pratt, M. Malkoch, J. Frommer, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 4471.
[230] A. Ivanisevic, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7887.
[231] S. Rapino, G. Valenti, R. Marcu, M. Giorgio, M. Marcaccio, F. Paolucci, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 7272.
[232] P.-C. Chen, R. L. C. Chen, T.-J. Cheng, G. Wittstock, *Electroanalysis* **2009**, *21*, 804.
[233] S. Schwamborn, L. Stoica, S. Neugebauer, T. Reda, H.-L. Schmidt, W. Schuhmann, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 1066.
[234] H. Kaji, M. Kanada, D. Oyamatsu, T. Matsue, M. Nishizawa, *Langmuir* **2004**, *20*, 16.
[235] K. Borgwarth, C. Ricken, D. G. Ebling, J. Heinze, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 1421.
[236] H. Kaji, T. Kawashima, M. Nishizawa, *Langmuir* **2006**, *22*, 10784.
[237] G. Valenti, L. Bardini, D. Bonazzi, S. Rapino, M. Marcaccio, F. Paolucci, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 22165.
[238] C. Cougnon, F. Gohier, D. Belanger, J. Mauzeroll, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4006.
[239] C. Slim, Y. Tran, M. M. Chehimi, N. Garraud, J.-P. Roger, C. Combellas, F. Kanoufi, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 6677.
[240] C. Combellas, F. Kanoufi, D. Mazouzi, A. Thiebault, *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *556*, 43.
[241] P. Vettiger, M. Despont, U. Drechsler, U. Durig, W. Haberle, M. I. Lutwyche, H. E. Rothuizen, R. Stutz, R. Widmer, G. K. Binnig, *IBM Journal of Research and Development* **2000**, *44*, 323.
[242] S. Hong, C. A. Mirkin, *Science* **2000**, *288*, 1808.
[243] K. Salaita, Y. Wang, J. Fragala, R. A. Vega, C. Liu, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7220.

[244] S. W. Lee, B.-K. Oh, R. G. Sanedrin, K. Salaita, T. Fujigaya, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1133.
[245] X. Wang, C. Liu, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1867.
[246] A. Lesch, D. Momotenko, F. Cortes-Salazar, F. Roelfs, H. H. Girault, G. Wittstock, *Electrochim. Acta* **2013**, *110*, 30.
[247] S. N. Bhatia, M. L. Yarmush, M. Toner, *J. Biomed. Mater. Res.* **1997**, *34*, 189.
[248] H. Kaji, K. Tsukidate, T. Matsue, M. Nishizawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15026.
[249] S. Sekine, S. Nakanishi, T. Miyake, K. Nagamine, H. Kaji, M. Nishizawa, *Langmuir* **2010**, *26*, 11526.
[250] H. R. Verma, in *Atomic and nuclear analytical methods. XRF, Moessbauer, XPS, NAA and ion-beam spectroscopic techniques* (Ed. P. Hoffmann), Springer, Berlin, Heidelberg, New York, **2007**, p. 213.
[251] D. Briggs, J. T. Grant, IM Publ. [u.a.], Chichester [u.a.], **2003**, pp. XI.
[252] M. Henzler, W. Göpel, *Oberflächenphysik des Festkörpers,* Teubner Studienbücher, Stuttgart, **1994**.
[253] C. D. Wagner, L. E. Davis, M. V. Zeller, J. A. Taylor, R. H. Raymond, L. H. Gale, *Surf. Interface Anal.* **1981**, *3*, 211.
[254] D. A. Shirley, *Physical Review B: Solid State* **1972**, *5*, 4709.
[255] S. Tougaard, P. Sigmund, *Phys. Rev. B: Condens. Matter* **1982**, *25*, 4452.
[256] F. P. J. M. Kerkhof, J. A. Moulijn, *J. Phys. Chem.* **1979**, *83*, 1612.
[257] W. G. Golden, D. S. Dunn, J. Overend, *J. Catal.* **1981**, *71*, 395.
[258] T. Buffeteau, B. Desbat, J. M. Turlet, *Appl. Spectrosc.* **1991**, *45*, 380.
[259] M. Röefzaad, Diploma thesis, Carl von Ossietzky Universität, **2006**.
[260] V. Zamlynny, I. Zawisza, J. Lipkowski, *Langmuir* **2003**, *19*, 132.
[261] M. Nullmeier, Diploma thesis, Carl von Ossietzky Universität, **2007**.
[262] M. Nullmeier, PhD thesis, Carl-von-Ossietzky-Universität, **2011**.
[263] G. Binnig, C. F. Quate, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930.
[264] K. D. Jandt, *Surf. Sci.* **2001**, *491*, 303.
[265] H. C. van der Mei, H. J. Busscher, R. Bos, J. de Vries, C. J. P. Boonaert, Y. F. Dufrêne, *Biophys. J.* **2000**, *78*, 2668.
[266] A. L. Weisenhorn, M. Egger, F. Ohnesorge, S. A. C. Gould, S. P. Heyn, H. G. Hansma, R. L. Sinsheimer, H. E. Gaub, P. K. Hansma, *Langmuir* **1991**, *7*, 8.
[267] A. F. Raigoza, J. W. Dugger, L. J. Webb, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 9249.
[268] C. Masens, J. Schulte, M. Phillips, S. Dligatch, *Microsc. Microanal.* **2000**, *6*, 113.
[269] C. A. Rezende, L.-T. Lee, F. Galembeck, *Langmuir* **2009**, *25*, 9938.
[270] S. Kraus-Ophir, J. Witt, G. Wittstock, D. Mandler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 294.
[271] T. Nishino, E. Ikemoto, K. Kogure, *J. Oceanogr.* **2004**, *60*, 219.
[272] A. F. Oberhauser, P. E. Marszalek, M. Carrion-Vazquez, J. M. Fernandez, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 1025.
[273] Q. Zhang, L. A. Archer, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 13123.
[274] S. Szunerits, S. E. Pust, G. Wittstock, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389*, 1103.
[275] T. R. Albrecht, C. F. Quate, *J. Vac. Sci. Technol., A* **1988**, *6*, 271.
[276] T. R. Albrecht, S. Akamine, T. E. Carver, C. F. Quate, *J. Vac. Sci. Technol., A* **1990**, *8*, 3386.
[277] F. J. Giessibl, S. Hembacher, H. Bielefeldt, J. Mannhart, *Science* **2000**, *289*, 422.

[278] J. A. Gallego-Juarez, *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **1989**, *22*, 804.
[279] Y. Martin, C. C. Williams, H. K. Wickramasinghe, *J. Appl. Phys.* **1987**, *61*, 4723.
[280] E. Meyer, H. J. Hug, R. Bennewitz, *Scanning probe microscopy: the lab on a tip,* Springer, Berlin [u.a.], **2004**.
[281] S. E. Pust, Diploma thesis, Carl von Ossietzky Universität, **2006**.
[282] F. Meiners, J. H. Ross, I. Brand, A. Buling, M. Neumann, P. J. Köster, J. Christoffers, G. Wittstock, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2014**, *449*, 31.
[283] *A Practical Guide to Scanning Probe Microscopy SPM,* Veeco Instruments Inc., **2005**.
[284] D. Raghavan, X. Gu, T. Nguyen, M. VanLandingham, A. Karim, *Macromolecules* **2000**, *33*, 2573.
[285] H. U. Krotil, T. Stifter, O. Marti, *Rev. Sci. Instrum.* **2000**, *71*, 2765.
[286] H.-U. Krotil, T. Stifter, H. Waschipky, K. Weishaupt, S. Hild, O. Marti, *Surf. Interface Anal.* **1999**, *27*, 336.
[287] A. Rosa-Zeiser, E. Weilandt, S. Hild, O. Marti, *Meas. Sci. Technol.* **1997**, *8*, 1333.
[288] S. Jradi, O. Soppera, D. J. Lougnot, *J. Microsc.* **2007**, *229*, 151.
[289] T. Miyatani, S. Okamoto, A. Rosa, O. Marti, M. Fujihira, *Appl. Phys. A: Mater. Sci. Process.* **1998**, *A66*, S349.
[290] O. Marti, M. Holzwarth, M. Beil, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 384015.
[291] D.-H. Yang, N. Kim, J. Gunther, (Agilent Technologies, Inc., USA). Application: US, **2003**, p. 9 pp.
[292] J. G. Riess, *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* **2009**, *14*, 294.
[293] K.-H. Park, C. Berrier, F. Lebaupain, B. Pucci, J.-L. Popot, A. Ghazi, F. Zito, *Biochem. J* **2007**, *403*, 183.
[294] T. Briza, V. Kral, P. Martasek, R. Kaplanek, *J. Fluorine Chem.* **2008**, *129*, 235.
[295] J. Moulder, W. M. Stickle, P. E. Sobol, K. D. Bomben, *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy,* Physical Electronics, **1995**.
[296] S. D. Evans, T. M. Flynn, A. Ulman, G. Beamson, *Surf. Interface Anal.* **1996**, *24*, 187.
[297] V. Kumar, J. Pulpytel, F. Arefi-Khonsari, *Plasma Processes and Polymers* **2010**, *7*, 939.
[298] J. Fréchette, R. Maboudian, C. Carraro, *Langmuir* **2006**, *22*, 2726.
[299] B. C. Bunker, R. W. Carpick, R. A. Assink, M. L. Thomas, M. G. Hankins, J. A. Voigt, D. Sipola, M. P. de Boer, G. L. Gulley, *Langmuir* **2000**, *16*, 7742.
[300] G. Tizazu, O. El Zubir, S. Patole, A. McLaren, C. Vasilev, D. J. Mothersole, A. Adawi, C. N. Hunter, D. G. Lidzey, G. P. Lopez, G. J. Leggett, *Biointerphases* **2012**, *7*, 54.
[301] M. J. Pellerite, E. J. Wood, V. W. Jones, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 4746.
[302] T. Miyazawa, K. Fukushima, Y. Ideguchi, *J. Chem. Phys.* **1962**, *37*, 2764.
[303] M. Himmelhaus, F. Eisert, M. Buck, M. Grunze, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 576.
[304] C. T. Kirk, *Phys. Rev. B: Condens. Matter* **1988**, *38*, 1255.
[305] T. J. Lenk, V. M. Hallmark, C. L. Hoffmann, J. F. Rabolt, D. G. Castner, C. Erdelen, H. Ringsdorf, *Langmuir* **1994**, *10*, 4610.
[306] S. L. Hsu, N. Reynolds, S. P. Bohan, H. L. Strauss, R. G. Snyder, *Macromolecules* **1990**, *23*, 4565.

[307] M. Zaharescu, A. Jitianu, A. Braileanu, J. Madarasz, G. Pokol, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2001**, *64*, 689.
[308] B. C. Trasferetti, C. U. Davanzo, M. A. Bica de Moraes, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 10699.
[309] R. J. Klein, D. A. Fischer, J. L. Lenhart, *Langmuir* **2011**, *27*, 12423.
[310] E. Cooper, R. Wiggs, D. A. Hutt, L. Parker, G. J. Leggett, T. L. Parker, *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 435.
[311] L. Kankate, U. Werner, A. Turchanin, A. Goelzhaeuser, H. Grossmann, R. Tampe, *Biointerphases* **2010**, *5*, 30.
[312] R. A. MacPhail, H. L. Strauss, R. G. Snyder, C. A. Elliger, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 334.
[313] R. G. Snyder, H. L. Strauss, C. A. Elliger, *J. Phys. Chem. A* **1982**, *86*, 5145.
[314] H. Hoffmann, U. Mayer, A. Krischanitz, *Langmuir* **1995**, *11*, 1304.
[315] T. Vallant, J. Kattner, H. Brunner, U. Mayer, H. Hoffmann, *Langmuir* **1999**, *15*, 5339.
[316] M. D. Porter, T. B. Bright, D. L. Allara, C. E. D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3559.
[317] F. Holler, J. B. Callis, *J. Phys. Chem. A* **1989**, *93*, 2053.
[318] N. C. Chia, R. Mendelsohn, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 10543.
[319] M. Zaharescu, A. Jitianu, A. Braileanu, V. Badescu, G. Pokol, J. Madarász, C. Novák, *J. Therm. Anal. Calorim.* **1999**, *56*, 191.
[320] S. L. Dean, J. J. Stapleton, C. D. Keating, *Langmuir* **2010**, *26*, 14861.
[321] I. Zawisza, M. Nullmeier, S. E. Pust, R. Boukherroub, S. Szunerits, G. Wittstock, *Langmuir* **2008**, *24*, 7378.
[322] K. J. Payne, A. Veis, *Biopolymers* **1988**, *27*, 1749.
[323] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie,* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1991**.
[324] M. M. Coleman, D. J. Skrovanek, J. Hu, P. C. Painter, *Macromolecules* **1988**, *21*, 59.
[325] M. M. Coleman, K. H. Lee, D. J. Skrovanek, P. C. Painter, *Macromolecules* **1986**, *19*, 2149.
[326] W. Wang, W. Wang, X. Chen, X. Jing, Z. Su, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **2009**, *47*, 685.
[327] S. S. Nobre, C. D. S. Brites, R. A. S. Ferreira, V. d. Z. Bermudez, C. Carcel, J. J. E. Moreau, J. Rocha, M. W. C. Man, L. D. Carlos, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 4172.
[328] M.-J. Desroches, S. Omanovic, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 2502.
[329] M. L. Clarke, J. Wang, Z. Chen, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 22027.
[330] D. Fournier, F. Du Prez, *Macromolecules* **2008**, *41*, 4622.
[331] R. G. Snyder, *J. Mol. Spectrosc.* **1961**, *7*, 116.
[332] B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy-Fundamentals and Applications. (Analytical Techniques in the Sciences (AnTs)),* John Wiley & Sons, New York, **2004**.
[333] I. Beaulieu, M. Geissler, J. Mauzeroll, *Langmuir* **2009**, *25*, 7169.
[334] S. Wang, Y. Zhou, W. Guan, B. Ding, *Nanoscale Research Letters* **2008**, *3*, 289.
[335] R. Garrone, *Progress in Clinical and Biological Research* **1981**, *54*, 141.
[336] G. N. Ramachandran, G. Kartha, *Nature* **1955**, *176*, 593.
[337] J. Bella, M. Eaton, B. Brodsky, H. M. Berman, *Science* **1994**, *266*, 75.
[338] J. Bella, H. M. Berman, *J. Mol. Biol.* **1996**, *264*, 734.
[339] R. Z. Kramer, J. Bella, B. Brodsky, H. M. Berman, *J. Mol. Biol.* **2001**, *311*, 131.

[340] J. Rosenbloom, M. Harsch, S. Jimenez, *Arch. Biochem. Biophys.* **1973**, *158*, 478.
[341] J. Bella, B. Brodsky, H. M. Berman, *Structure* **1995**, *3*, 893.
[342] R. Berisio, L. Vitagliano, L. Mazzarella, A. Zagari, *Protein Sci.* **2002**, *11*, 262.
[343] T. Dahl, B. Sabsay, A. Veis, *Journal of Structural Biology* **1998**, *123*, 162.
[344] A. George, A. Veis, *Biochemistry* **1991**, *30*, 2372.
[345] C. A. Miles, A. J. Bailey, *Micron* **2000**, *32*, 325.
[346] R. J. Jakobsen, L. L. Brown, T. B. Hutson, D. J. Fink, A. Veis, *Science* **1983**, *220*, 1288.
[347] E. I. Tiktopulo, A. V. Kajava, *Biochemistry* **1998**, *37*, 8147.
[348] S. Rogler, D. Scharnweber, H. Worch, *J. Mater. Sci. Lett.* **1999**, *18*, 577.
[349] H.-W. Su, M.-S. Ho, C.-M. Cheng, *Appl. Phys. Lett.* **2012**, *100*, 233703/1.
[350] M. Ahlers, Diploma thesis, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, **2009**.
[351] Y. A. Lazarev, B. A. Grishkovskii, T. B. Khromova, *Biopolymers* **1985**, *24*, 1449.
[352] L. D. Wickramasinghe, M. M. Perera, L. Li, G. Mao, Z. Zhou, C. N. Verani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13346.
[353] L.-J. Wan, M. Terashima, H. Noda, M. Osawa, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 3563.
[354] K. T. Carron, L. G. Hurley, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 9979.
[355] A. Tejado, C. Pena, J. Labidi, J. M. Echeverria, I. Mondragon, *Bioresour. Technol.* **2007**, *98*, 1655.
[356] B. de Boer, H. Meng, D. F. Perepichka, J. Zheng, M. M. Frank, Y. J. Chabal, Z. Bao, *Langmuir* **2003**, *19*, 4272.

12. Eigene Publikationen und Konferenzbeiträge

12.1 Publikationen

[A1] A. Lesch, D. Momotenko, F. Cortes-Salazar, I. Wirth, U. M. Tefashe, F. Meiners, B. Vaske, H. H. Girault, G. Wittstock; Fabrication of soft gold microelectrode arrays as probes for scanning electrochemical microscopy, *J. Electroanal. Chem.* **2012**, *666*, 52-61.

[A2] A. Lesch, B. Vaske, F. Meiners, D. Momotenko, F. Cortes-Salazar, H. H. Girault, G. Wittstock; Parallel Imaging and Template-Free Patterning of Self-Assembled Monolayers with Soft Linear Microelectrode Arrays, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10413- 10416.

[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, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013,** *405*, 3673-3691.

[A4] F. Meiners, J. H. Ross, I. Brand, A. Buling, M. Neumann, P. J. Köster, J. Christoffers, G. Wittstock; Modification of silicon oxide surfaces by monolayers of an oligoethylene glycol-terminated perfluoroalkyl silane, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2014**, *449*, 31-41

[A5] F. Meiners, M. Ahlers, I. Brand, G. Wittstock; Impact of temperature and electrical potentials on the stability and structure of collagen adsorbed on the gold electrode, *Surface Science,* **accepted**

12.2 Konferenzvorträge

[B1] F. Meiners, B. Vaske, J. H. Ross, J. Christoffers, A. Buling, M. Neumann, J. Schröder, O. Klink, P. J. Köster, G. Wittstock „*Modification of Silicon Oxides with Oligoethylene Glycol-Terminated Perfluorinated Silanes*", ISE Spring meeting Bioelectrochemistry 2013, 17.03.-21.03.2013, Bochum

12.3 Posterpräsentationen

[C1] F. Meiners, P. Köster, G. Wittstock *„Switchable control of protein adhesion on silicon oxide surfaces“*, 3rd German-French Summer School on Electrochemistry & Nanotechnologies, 18.09.-23.09.2011, Hyères, Porquerolles, Frankreich

[C2] F. Meiners, P. Köster, G. Wittstock *„Switchable control of protein adhesion on silicon oxide surfaces“*, Lab-on-a-Chip European Congress, 28.03.-29.03.2012, Edinburgh, Schottland

[C3] F. Meiners, I. Plettenberg, P. Köster, G. Wittstock *„Switchable control of protein adhesion on silicon oxide surfaces“*, Bunsentagung 2012, 17.05-19.05.2012, Leipzig

[C4] F. Meiners, B. Vaske, I. Plettenberg, J. H. Ross, J. Christoffers, P. J. Köster, G. Wittstock *„Modification of silicon oxides with OEG-perfluorinated silanes”*, Electrochemistry 2012, 17.09.-19.09.2012, München

13. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Frank Meiners
Geburtsdatum	21.07.1985
Geburtsort:	Barßel
Familenstand	ledig

Schulausbildung

1992-1996	Grundschule Esterwegen
1996-1998	Orientierungsstufe Esterwegen
1998-2005	Hümmling-Gymnasium Sögel

Hochschulausbildung

10/2005-09/2008	Bachelorstudiengang Chemie an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
10/2008-10/2010	Masterstudiengang Chemie an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
Seit 11/2010	Promotionsstudium in der Physikalischen Chemie der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg

Ich versichere hiermit, dass ich diese Arbeit selbstständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Aus dieser 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 16.09.2014

Frank Meiners