
**Untersuchung des Verhaltens von thermoresponsiven
Polymeren auf Elektroden in Interaktion
mit biomolekularen Systemen**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

"doctor rerum naturalium"

(Dr. rer. nat.)

in der Wissenschaftsdisziplin "Polymerchemie"

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Potsdam

von

Artur Fandrich

Potsdam, November 2016

Online veröffentlicht auf dem
Publikationsserver der Universität Potsdam:
URN urn:nbn:de:kobv:517-opus4-396551
<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-396551>

Publikationsliste

Einige Ergebnisse dieser Arbeit wurden bzw. werden in Kürze in Form von Fachartikeln publiziert:

1. A. Fandrich, J. Buller, E. Wischerhoff, A. Laschewsky, F. Lisdat,
"Electrochemical Detection of the Thermally Induced Phase Transition of a Thin Stimuli-Responsive Polymer Film",
ChemPhysChem 13 (8) (2012) 2020-2023
2. A. Fandrich, J. Buller, D. Schäfer, E. Wischerhoff, A. Laschewsky, F. Lisdat,
"Electrochemical characterization of a responsive macromolecular interface on gold",
Physica Status Solidi (a) 212 (6) (2015) 1359-1367
3. A. Fandrich, J. Buller, H. Memczak, W. Stöcklein, K. Hinrichs, E. Wischerhoff,
B. Schulz, A. Laschewsky, F. Lisdat,
„Responsive Polymer-Electrode Interface – Study of its Thermo- and pH-Sensitivity and the Influence of Peptide Coupling“
Electrochimica Acta 229 (2017) 325-333

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Elektrodenmodifizierung.....	1
1.2	Zielsetzung und Inhaltsübersicht der Arbeit.....	3
2	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	7
2.1	Stimuli-responsive Polymere: funktionale Materialien mit vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten.....	7
2.2	Thermoresponsive Polymere.....	10
2.3	Analytische Methoden zur Untersuchung stimuli-responsiver Systeme.....	13
2.3.1	Methoden zur Untersuchung stimuli-responsiver Polymere in Lösung.....	13
2.3.2	Oberflächenanalytische Methoden zur Untersuchung responsiver polymerer Interfaces	14
2.4	Methoden zur chemischen Modifizierung von Gold-Oberflächen mit Polymeren.....	30
2.4.1	Klassifizierung der Modifizierungsmethoden	30
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	35
3.1	Zusammensetzung und Löseeigenschaften der untersuchten Polymere I – III.....	35
3.2	Temperaturverhalten der Polymere I – III in Lösung.....	38
3.3	Polymerimmobilisierung an die Goldoberfläche	42
3.3.1	Immobilisierung von Polymer I an Gold.....	43
3.3.2	Immobilisierung von Polymer II an Gold	47
3.3.3	Immobilisierung von Polymer III an Gold	51
3.4	Temperaturverhalten von Polymerfilmen auf Gold.....	62
3.4.1	Temperaturverhalten von Polymer I an Gold	62
3.4.2	Temperaturverhalten von Polymer II an Gold.....	67
3.4.3	Temperaturverhalten von Polymer III an Gold	70
3.5	Schaltbare Polymerfilme als Plattform für Bioerkennungreaktionen.....	75
3.5.1	Polymer II als Reaktionsmatrix für ein Bioereignis	76
3.5.2	Polymer III als Plattform für Biorezeptoren.....	80
4	ZUSAMMENFASSUNG, FAZIT UND AUSBLICK.....	84
5	MATERIALIEN UND METHODEN	88
5.1	Synthese der Polymere I – III.....	88
	Synthese von Polymer I.....	88

Synthese von Polymer II	88
Synthese von Polymer III	89
5.2 Turbidimetrie-Messungen	89
5.3 UV/vis-Messungen zur Kinetik der Photoreaktion	89
5.4 Reinigung von Goldelektroden und von Goldsensoren	90
5.5 Immobilisierung von Polymeren I – III an die Goldoberfläche	90
Immobilisierung von Polymer I an die Goldoberfläche	90
Immobilisierung von Polymer II an die Goldoberfläche mit anschließender Peptid- sowie Antikörper-Ankopplung	91
Immobilisierung von Polymer III an die Goldoberfläche mit anschließender Peptidankopplung	91
5.6 Elektrochemische Messungen bei Raumtemperatur und unter Temperaturvariation.....	92
5.7 Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie-Messungen unter Temperaturvariation	92
5.8 Quarzkristall-Mikrowaage-Experimente.....	92
QCM-Messung zur Untersuchung der Polymer II-Ankopplung.....	92
QCM-Messung zur Untersuchung der Polymer III-Ankopplung.....	93
5.9 Spektroskopische Infrarot-Ellipsometrie.....	94
5.10 Verwendete Chemikalien.....	94
6 LITERATURVERZEICHNIS	97

1 Einleitung

1.1 Elektrodenmodifizierung

Das Konzept der chemischen Modifizierung von Elektrodenoberflächen wurde in den 1970ern vorgestellt. Seitdem erfuhr es eine beachtenswerte Entwicklung mit Anwendungen in der Forschung und der Technologie¹⁻⁵. Nach einer Empfehlung zur Terminologie der International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) von 1997 werden als chemisch modifizierte Elektroden solche Systeme bezeichnet, bei denen ein dünner Film (monomolekulare Schicht bis einige Mikrometer dicke Multischicht) eines ausgewählten Stoffes die leitende oder halbleitende Oberfläche eines Materials benetzt oder an diese gebunden ist, wobei die chemischen, elektrochemischen und optischen Eigenschaften der erhaltenen Grenzfläche durch den Film bestimmt werden⁶. Auch elektrochemische Biosensoren gehören zur Gruppe der chemisch modifizierten Elektroden. Es handelt sich dabei um einen Sonderfall der chemisch modifizierten Elektrode, bei dem eine bioaktive Komponente (Bioerkennungselement bzw. Biorezeptor) an die Elektrodenoberfläche gebunden ist⁷.

Viele Ansätze in der Elektrochemie wären ohne eine erfolgreiche chemische Manipulation der Elektrodenoberfläche nicht möglich. Zum einen können damit unspezifische Wechselwirkungen der Elektrode mit der Analytlösung (Verunreinigung durch Adsorption von Fremdstoffen) sowie die Korrosion des Elektrodenmaterials unterdrückt werden. Besonders wertvoll ist die Möglichkeit der Beeinflussung der Selektivität oder gar der Spezifität des Outputs der Elektrode durch die chemische Modifizierung. Damit wird die elektrochemische Ansprechbarkeit der Elektrode gegenüber einer prinzipiell elektroaktiven Spezies oft gar erst ermöglicht.

Der Wissenschaft stehen zur Modifizierung von Elektrodenoberflächen verschiedene Materialien zur Verfügung. Das können Atome, kleine und große Moleküle, molekulare Assemblate, makromolekulare Stoffe, ganze Partikel oder Zellen sein. Einige der Modifikatoren aus dem Bereich der kleinen Moleküle haben sich als so nützlich erwiesen, dass deren Verwendung zu Standardverfahren der Elektrochemie wurde. So stellen selbst-organisierende Monolagen (SAM) von organischen (oft funktionalisierten) Thiolen auf Edelmetallen eine beinahe univer-

Einleitung

selle Grundlage für weitere Elektrodenmodifizierungen dar^{8,9}. Bereits gut etabliert ist der Einsatz von (Nano)Partikeln¹⁰⁻¹², reaktiven Molekülen¹³⁻¹⁷, Lipidschichten¹⁸, Verbindungen mit π - π -Wechselwirkungen^{19,20} usw.. Auch die Immobilisierung von organischen polymeren Strukturen auf Elektroden^{3,21-23} wurde bereits vielfach und intensiv untersucht. Basierend auf genannten Methoden können Elektroden-Grenzflächen mit sehr nützlichen elektrochemischen Eigenschaften hergestellt werden.

Die Vielfalt organischer Polymere ist sehr groß, weswegen je nach Wissenschaftsdisziplin zum Überblick eine individuelle Klassifizierung sinnvoll ist. In der Elektrochemie ist primär die native elektrochemische Aktivität von Polymeren relevant. Unabhängig vom Anwendungszweck bzw. von der Zusammensetzung stellt sich zunächst die Frage, ob es sich beim gegebenen Stoff um ein leitfähiges oder um ein nicht leitfähiges Polymer handelt. Die Leitfähigkeit einer Polymerkette kann prinzipiell auf Vorhandensein von zwei strukturellen Eigenschaften basieren: Polymere mit ausgedehnten konjugierten π -Elektronensystemen, sie werden in die Gruppe der leitfähigen Polymere eingeordnet^{24,25}, und ebenso Polymerketten mit am Rückgrat gebundenen elektroaktiven Zentren (zum Beispiel Charge-Transfer-Komplexen), die sogenannten Redoxpolymere^{26,27}. Die elektrische Leitfähigkeit ist eine wichtige Eigenschaft für Anwendungen der Polymere als Elektroden-Modifikatoren.

Auch nicht leitfähige Polymere können nützlich für die Modifizierung der Elektrodenoberflächen sein. Zu den einstellbaren Grenzflächeneigenschaften, die nicht leitende Polymere beeinflussen können, gehören zum Beispiel verbessertes Antifouling-Verhalten, höhere Biokompatibilität der Elektrode oder dessen Permeabilität gegenüber Analyten. Solche Polymere können eine geeignete Plattform für bestimmte Reaktionen oder Bioprozesse bieten. Der einschränkende Faktor für die Verwendung nicht leitfähiger Polymere ist das Ausmaß der elektrischen Isolierung. Um ein noch auslesbares Signal zu ermöglichen, darf die Elektrodenoberfläche nicht komplett elektrisch isoliert sein.

Eine interessante Gruppe von Polymeren rückt derzeit stärker ins Blickfeld der modernen Wissenschaft, die Stimuli-responsiven Polymere. Es handelt sich dabei um makromolekulare organische Verbindungen, die in Lösung starken, oft reversiblen strukturellen Veränderungen als Antwort auf äußere Stimuli unterliegen²⁸⁻³⁵. Die Stimuli können chemischer (z.B. Änderung des pH-Wertes des umgebenden Mediums), physikalischer (Temperaturänderung) oder biologischer Natur (Anbindung eines Biomoleküls) sein. Die strukturellen Änderungen sind oft Phasenübergänge, zum Beispiel ein Übergang von einem löslichen in einen nicht löslichen Zustand.

Einleitung

Das Auslösen eines Überganges wird oft auch als „Schalten“ bezeichnet. Die responsiven Eigenschaften solcher Polymere sind nicht auf Lösungen beschränkt. Auch an Oberflächen als Filme oder Bürsten immobilisierte responsive Polymere zeigen oft ein Schaltverhalten²⁹. Somit sind Stimuli-responsive Polymere geeignete Materialien zur Herstellung von responsiven Filmen an Oberflächen von Elektroden^{36–38}. Solche Elektroden ermöglichen das gesteuerte, reversible Schalten der Elektrodeneigenschaften zwischen einem aktivierten und einem deaktivierten Zustand für z.B. spezifische elektrochemische, elektrokatalytische oder biokatalytische Prozesse und können somit wesentlich zur vertieften Untersuchung dieser Prozesse beitragen.

Der spezifische Stimulus, der die elektrochemischen Eigenschaften von responsiven Grenzflächen an Elektroden verändert, kann auch die zu messende Größe darstellen. Oft sind die Veränderungen der responsiven Grenzfläche infolge einer nur geringen Variation des spezifischen externen Stimulus sehr stark, womit eine Empfindlichkeitssteigerung des analytischen Systems bei gleichzeitiger hoher Spezifität gewährleistet wird. Aufgrund dieser nützlichen Eigenschaft werden schaltbare polymere Elektroden-Grenzflächen zunehmend im Bereich der elektrochemischen Biosensorik eingesetzt^{33,39,40}.

1.2 Zielsetzung und Inhaltsübersicht der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Charakterisierung einer thermoresponsiven polymeren Elektrodengrenzfläche. Das zu entwickelnde Elektrodensystem könnte als Ausgangsmaterial für die Anbindung von spezifischen bioaffinen Erkennungselementen wie Peptiden geeignet sein. Die Untersuchung der Voraussetzungen für diese Anwendung war ein Teil dieser Arbeit. Das Interesse an diesen Untersuchungen wird durch die Frage nach der Möglichkeit der Nutzung der polymeren Elektroden-Grenzfläche mit daran gebundenen bioaffinen Erkennungsmolekülen für die Biosensorik begründet. Es ist zum Beispiel denkbar, dass die Eigenschaften des an die Elektrode fixierten Polymers durch das Erkennungselement aus sterischen Gründen (Senkung der Flexibilität der Ketten) oder aus Gründen eines veränderten Quellgrades stark verändert werden. Dies könnte die Ausnutzung des responsiven Elektroden-Systems für analytische Zwecke erlauben. Die Identifizierung von wichtigen Randbedingungen für einen möglichen Einsatz der zu entwickelnden Elektrodensysteme in Sensoren war ebenso ein Schwerpunkt dieser Arbeit.

Einleitung

Aus der Literatur sind bereits einige Beispiele bekannt, in denen thermoresponsive Grenzflächen in analytischen Systemen beschreiben sind. Die Temperatur ist im Vergleich zu anderen Stimuli mit vielen Vorteilen verbunden. So kann die Temperatur sehr einfach eingestellt werden. Auch die „Entfernung“ des Temperatur-Stimulus für die Rückkehr zu den Startbedingungen ist ebenso unkompliziert im Vergleich zum Beispiel zu den chemischen oder biologischen Stimuli. Die thermoresponsiven Polymere reagieren auf Temperaturänderungen vor und nach Erreichen des kritischen Punktes mit kontinuierlichen, geringen strukturellen Veränderungen. Am kritischen Punkt zeigen sich dagegen sehr starke Veränderungen. Somit kann die Temperatur auch zu kleinen Einstellungen der Grenzflächen-Eigenschaften von thermoresponsiven Polymer-Filmen auf Elektroden benutzt werden³⁶.

Eine detaillierte Literaturübersicht zu thermoresponsiven Elektroden-Systemen folgt im Kapitel „Theoretische Grundlagen“. Ausgehend von der Zielsetzung der Arbeit sind an dieser Stelle vor Allem diejenigen Beispiele interessant, bei denen thermisch kontrollierbare Systeme und Grenzflächen beschrieben werden, deren Arbeitsweise auf dem Prinzip der bioaffinen Erkennung basiert. Solche Systeme können prinzipiell in einer der zwei Kategorien eingeordnet werden: einerseits in polymere Systeme, in denen Temperaturveränderungen die Zugänglichkeit des (an das polymere Rückgrat gebundenen) Erkennungselementes für den Analyten beeinflussen⁴¹ und andererseits in thermosensitive Polymere, deren physikochemische Eigenschaften (Löslichkeit, Schalttemperatur, Konformation) durch das Anbinden des Analyten an das Erkennungselement variiert werden⁴².

Einige der Beispiele aus der Literatur, die die bioaffine Bindung als Schlüsselkonzept beschreiben, basieren auf der Benutzung elektroanalytischer Methoden. Katz et al beschreiben in ihrer Arbeit eine Biobrennstoffzelle, deren Funktion über ein pH-responsives Polymer durch Enzymgelabelte Antikörper ausgeschaltet werden kann[45]. Ein anderes Beispiel stellt ein thermoresponsiver elektrochemischer Immunosensor dar, bei dem der Zugang des Analyten zur Bindungsstelle des Antikörpers thermisch kontrolliert wird[46].

Wie oben bereits erwähnt, ist auch prinzipiell ein umgekehrter Prozess möglich, d.h. die Bioerkennung, die die physikochemischen Eigenschaften des thermoresponsiven Polymers signifikant verändert. Solche Systeme, die auf elektrochemischen Analysetechniken basieren, sind in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden. Dafür werden in dieser Arbeit Grundlagen gelegt. Auch ist bisher nur wenig über das Verhalten dünner responsiver Polymer-Filme in der

Einleitung

Interaktion mit biomolekularen Komponenten bekannt. Durch Untersuchungen dieses Verhaltens können wichtige Randbedingungen (wie beispielsweise die Schichtdicke des Polymerfilms) für einen möglichen Einsatz in Sensoren identifiziert werden.

Die für diese Arbeit gewählten thermoresponsiven Polymere sind Polymere aus der Gruppe der Poly(oligo(ethylenglykol)methacrylate) (Poly(OEGMAs)). Die Auswahl dieser Polymere ist durch die Zielstellung und die daraus ergebenden Anforderungen begründet. Die Poly(OEGMAs) sind biokompatibel⁴³ und eignen sich somit gut als Matrix für die Einbettung biorelevanter Moleküle. Außerdem zeigen sie keine unspezifischen Wechselwirkungen mit Biomolekülen⁴⁴. Da in dieser Arbeit auch die Möglichkeit des potenziellen Einsatzes der Poly(OEGMA)-Filme an Elektroden für sensorische Anwendungen im Fokus stand, war die Biokompatibilität der Polymere ebenso eine günstige Eigenschaft. Die Auswahl der Zusammensetzung der Polymere erfolgte ebenso im Hinblick auf die Zielsetzung. So tragen die untersuchten Polymere reaktive Ankergruppen, die die Fixierung an Elektroden in Form von unterschiedlich dicken Filmen erlauben und anschließend die Ankopplung von Peptiden ermöglichen. Die eingesetzten Polymere wurden von Dr. Jens Buller (Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung, Arbeitskreis Dr. Wischerhoff und Universität Potsdam, Arbeitskreis Prof. Laschewsky) synthetisiert. Die gereinigten Polymere wurden für diese Arbeit bereitgestellt. Nach der Synthese erfolgte die Untersuchung der responsiven Eigenschaften der Polymere in Lösung. Dabei wurden die thermoresponsiven Eigenschaften der Polymere in Lösung mittels Turbidimetrie und dynamischer Lichtstreuung (DLS) untersucht. Die gewonnenen Erkenntnisse dienen der Orientierung bei den Untersuchungen der Thermoresponsivität der Polymere nach der Fixierung auf Gold-Elektroden.

Für die Umsetzung der Zielsetzung wurde anschließend untersucht, wie die gewählten thermoresponsiven Polymere unter Erhaltung der Thermoresponsivität möglichst einfach in Form von stabilen dünnen Filmen an die Oberfläche von Gold-Elektroden gekoppelt werden können. Es wurde die Methode der kovalenten Fixierung ausgewählt, da diese im Allgemeinen zu stabileren Filmen führt. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde getestet wie stark die durch kovalente Ankopplung erhaltenen Polymerfilme das elektrochemische Grenzflächenverhalten beeinflussen, ob die Thermosensitivität nach der Oberflächenfixierung erhalten bleibt und wie die thermisch induzierten Strukturveränderungen der Polymerfilme verfolgt werden können. Auch stand die Frage nach der Abhängigkeit des Thermoresponsivität von der Schichtdicke des Polymer-Films im Fokus. Es wurde der Ansatz gewählt, dass der elektrochemische Umsatz von

Einleitung

Kaliumhexacyanoferrat (II/III) an der Oberfläche der Goldelektrode in der Weise von den temperaturabhängigen Eigenschaften des daran fixierten responsiven Polymerfilms beeinflusst wird, dass dies Rückschlüsse auf die Konformationsänderungen der Polymerketten erlaubt. Als die eigentliche signalgebende Komponente wurde also das redoxaktive Kaliumhexacyanoferrat (II/III) genutzt. Die Redoxreaktion davon wurde bei unterschiedlichen Temperaturen mittels Cyclovoltammetrie an Polymer-modifizierten Goldelektroden untersucht. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde ermittelt, welche Parameter der cyclovoltammetrischen Messungen geeignet sind, um die Konformationsänderungen der Polymerketten abzubilden. Zur Identifizierung des Anteils des fixierten Polymers an der thermisch induzierten Signalveränderung, wurde auch das Temperaturverhalten von Kaliumhexacyanoferrat (II/III) an der unmodifizierten Goldelektrode untersucht. Weitere, nicht elektrochemische Methoden, die Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR) und die Quarzkristall-Mikrowaage (QCM) wurden eingesetzt, um die Restrukturierungsprozesse an der Goldoberfläche zu untersuchen.

Anschließend stand die elektrochemische Untersuchung der Eignung der Polymerfilme als Matrix für die Anbindung von Peptiden im Mittelpunkt. Zunächst wurde die Frage geklärt, wie die Peptide an die Polymerfilme gebunden werden können und wie stark deren Fixierung an der Oberfläche die elektrochemischen Grenzflächeneigenschaften beeinflussen. Anschließend wurde getestet, inwiefern die Ankopplung der bioaffinen Erkennungselemente an den Polymerfilm seine Thermoresponsivität beeinflusst und ob dabei die Schichtdicke des Polymerfilms eine wichtige Rolle spielt. Das charakterisierte polymere Netzwerk an der Elektrode wurde auch auf die Verwendung zur Detektion eines geeigneten biochemischen Analyten hin überprüft. Dazu wurde untersucht, ob die Anbindung des Analyten an das Polymer-gebundene Erkennungselement spezifisch ist und die elektrochemischen Eigenschaften der Grenzfläche in einer Art beeinflusst, dass dies für sensorische Zwecke ausgenutzt werden kann.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Stimuli-responsive Polymere: funktionale Materialien mit vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten

Ein lange bewährtes Konzept der Materialwissenschaften ist die Bionik – der Transfer natürlich vorkommender Phänomene in die Technik. Von Interesse sind dabei sowohl ganz konkrete, spezielle Konzepte wie auch universelle, grundsätzliche Phänomene. Eines dieser grundsätzlichen Phänomene der Natur ist die Flexibilität biologischer Systeme gegenüber der Umgebung in weiten Bereichen physikalischer Umweltparameter verbunden mit plötzlichen, drastischen reversiblen Eigenschaftsänderungen beim Erreichen eines kritischen Punktes. So teilt sich das DNA-Molekül in zwei Einzelstränge nach Erreichen des Schmelzpunktes. Ein anderes Beispiel ist das Ausfallen von Proteinen nach Erreichen einer bestimmten Salzkonzentration der umgebenden Lösung. In den letzten 25 Jahren wurden viele synthetische Polymerklassen entwickelt, die ein nicht-kontinuierliches Verhalten gegenüber Umweltparametern zeigen. Solche synthetische makromolekulare Stoffe werden als stimuli-responsive Polymere bezeichnet^{28–35,45}. Aufgrund ihrer nützlichen Eigenschaften werden sie manchmal auch als „smart“ und „intelligent“ beschrieben.

Stimuli-responsive Polymere zeigen signifikante Eigenschaftsänderungen als Antwort auf einen Stimulus aus der unmittelbaren Umgebung - ein (oft reversibler) Prozess, der auch als „Schalten“ bezeichnet wird. Die induzierten Eigenschaftsänderungen sind zum Unterscheiden der Polymere geeignet, meistens werden diese allerdings nach der Natur des Stimulus klassifiziert. Der Auslöser einer Eigenschaftsänderung kann physikalischer, chemischer oder biologischer Natur sein (Abbildung 1). Durch die Vielfalt möglicher Trigger stehen der Wissenschaft verschiedene Möglichkeiten der Manipulation von Eigenschaften von Materialien zur Verfügung - je nach Bedarf und bei reversiblen Systemen auch wiederholbar.

Zum Verständnis der Eigenschaftsänderungen stimuli-responsiver Polymere müssen für die makroskopischen Änderungen die zugrunde liegenden mikroskopischen Prozesse beschrieben werden. Die variierbaren makroskopischen Eigenschaften sind vielfältig – das sind Farbände-

rungen, Änderungen der Löslichkeit (Phasenübergänge), der Dimension, der Form, der Organisation, der Leitfähigkeit und weitere. Die zugrunde liegenden mikroskopischen Prozesse sind deutlich übersichtlicher - der Stimulus beeinflusst beim Schalten stets intra- bzw. intermolekulare Wechselwirkungen des Polymers an sich oder die Wechselwirkungen des Polymers mit der umgebenden Lösung. Die Änderungen auf der Ebene der molekularen Wechselwirkungen resultieren in strukturellen Änderungen. Wie die Beeinflussung des Gleichgewichts zwischen den intra- und den intermolekularen Wechselwirkungen das Schalten verursacht, wird in Kapitel 2.2 am Beispiel eines Polymers aus der Poly(OEGMA)-Familie diskutiert.

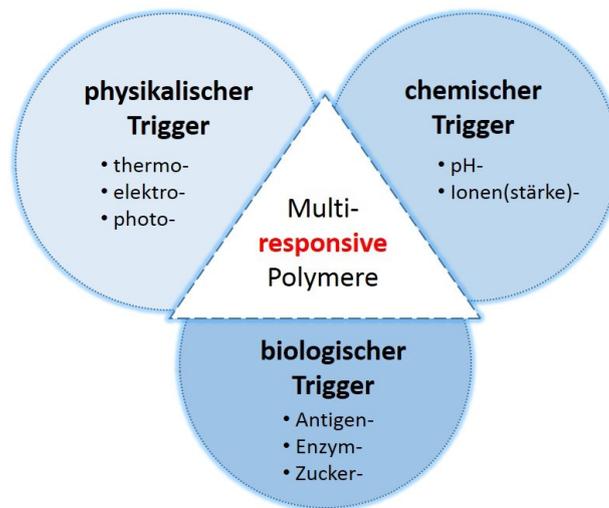


Abbildung 1: Die Vielfalt von Parametern, die einen Schaltprozess auslösen können (adaptiert aus ⁴⁶).

Die Diskussion struktureller Änderungen stimuli-responsiver Polymere ist eng mit der Frage des ursprünglichen Aggregatzustandes des Polymers verbunden – eine polymere Bürste wird nach dem Schalten einer anderen strukturellen Änderung unterliegen als das gleiche Polymer in Lösung. Stuart et al. haben die bis dahin beschriebenen Architekturen schaltbarer Systeme eindrucksvoll als Galaxie beschrieben (Abbildung 2)³⁵.

Für homogen verteilte Polymerketten in Lösung (im Zentrum von Abbildung 2) werden in der Literatur oft zwei Mechanismen der Stimulus-induzierten Konformationsänderung beschrieben – der so genannte „coil-to-globule“-Übergang⁴³ oder Vereinigung der Polymerketten zu größeren Aggregaten wie z.B. Mizellen^{47,48} oder Kapseln⁴⁹. Unter dem „coil-to-globule“-Übergang wird das Zusammenziehen der relativ ausgedehnten Polymerketten zu globulären Strukturen verstanden. In einigen Beispielen folgt auf den coil-to-globule-Übergang die Bildung größerer Aggregate durch Zusammenfinden mehrerer globulärer Einheiten^{43,50}.

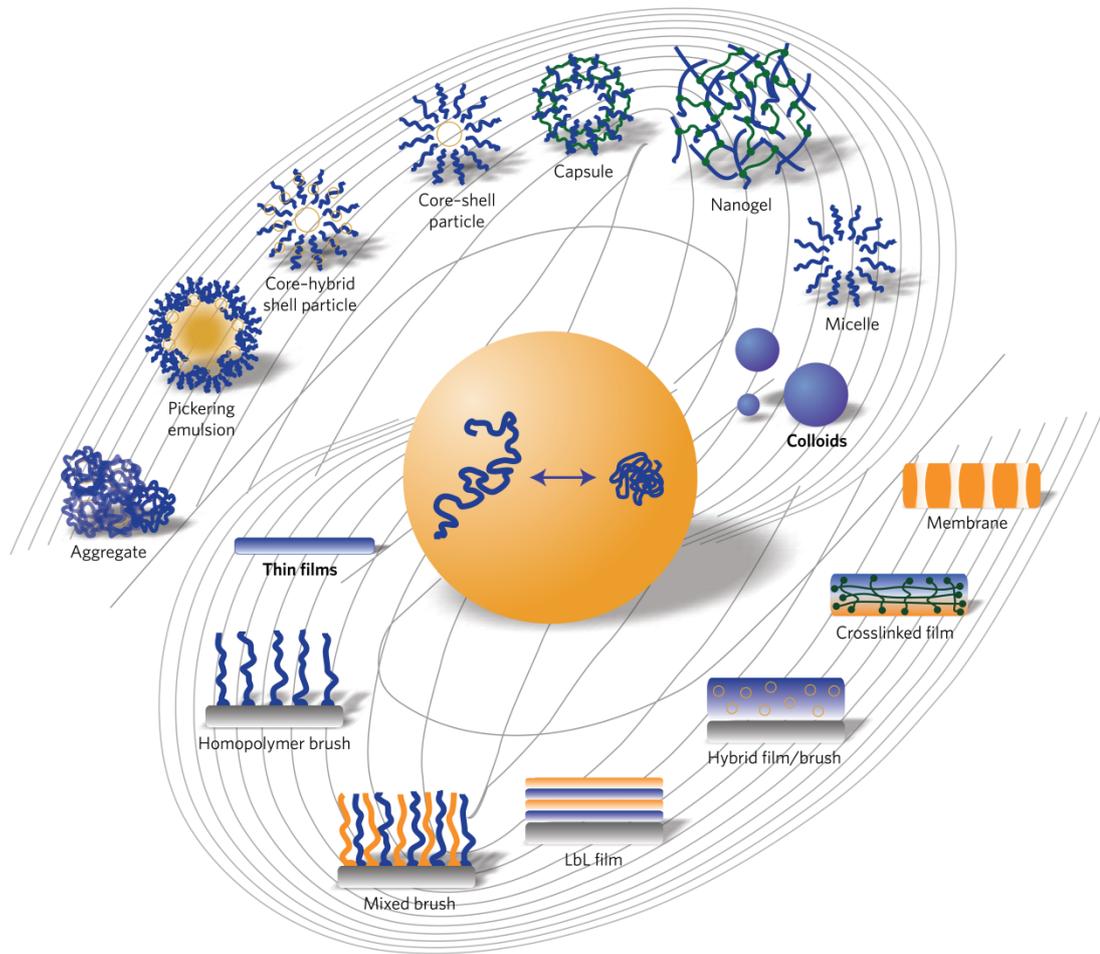


Abbildung 2: „Galaxie“ stimuli-responsiver polymerer Materialien (übernommen aus³⁵ mit Genehmigung des Verlages vom 29.09.2014).

Auch für die responsiven Polymere an Oberflächen sind mehrere mechanistische Beschreibungen der strukturellen Änderungen zu finden. Bei schaltbaren Polymermembranen wird der Durchmesser der Poren variiert⁵¹. Das Zusammenziehen des Polymerfilms oder der Kollaps von Polymerbürsten ist mit der Variation der Schichtdicke und verändertem Zugang zur darunter liegenden Oberfläche verbunden^{52,53}.

Stimuli-responsive Polymere sind aufgrund ihrer Eigenschaft Sensor- und Wandler-Funktionen in sich zu kombinieren vielversprechende Kandidaten als funktionelle Materialien in der Entwicklung von (Bio-)Sensoren. Einige Ansätze sind in der Literatur beschrieben^{54–56}. Thermo-responsive Oberflächen sind geeignete Substrate für Zellkulturen und erlauben bequemes Ablösen von Zellen durch moderates Abkühlen^{57–61}. Ein anderes wichtiges Anwendungsfeld betrifft die gesteuerte Freisetzung von Medikamenten – die in polymere Matrices gebundenen

Wirkstoffe können induziert durch äußeren Stimulus am definierten Ort oder zum erwünschten Zeitpunkt freigesetzt werden, was die Effizienz der Therapiemaßnahme steigert⁶²⁻⁶⁵. Responsive stationäre Phasen sind für Anwendungen in der Flüssigkeits-Chromatographie und zur Festphasen-Extraktion beschrieben⁶⁶⁻⁷². Im Alltag sind stimuli-responsive Polymere in „smarten“ Textilien zu finden⁷³. Das sind zum Beispiel Wasser-responsive Materialien, deren Durchlässigkeit je nach Feuchtigkeitsgrad der Umgebung variiert.

2.2 Thermoresponsive Polymere

Thermisch schaltbare Polymere sind im Vergleich zu allen anderen responsiven Stoffen besonders intensiv untersucht und in der Literatur beschrieben⁷⁴. Es handelt sich dabei um Polymere, die eine kritische Temperatur aufweisen, bei der eine signifikante Konformationsänderung stattfindet. Die mikroskopische Konformationsänderung kann, muss aber nicht, makroskopisch mit einem Phasenübergang verbunden sein.

Bei flexiblen Polymer-Ketten, die nach einem „coil-to-globule“-Übergang zu Aggregaten zusammenfallen können, findet beim Erreichen einer bestimmten Temperatur ein Phasenübergang statt. Der kritische Temperaturpunkt wird je nach Art des Phasenübergangs als untere kritische Entmischungstemperatur (LCST, englisch für lower critical solution temperature) oder obere kritische Entmischungstemperatur (UCST, englisch für upper critical solution temperature) bezeichnet. Wenn beim Heizvorgang nach Erreichen der kritischen Temperatur eine Phasentrennung in eine Polymer-angereicherte und eine Lösungsmittel-angereicherte Phase stattfindet, dann wird diese Temperatur als LCST bezeichnet. Wenn dagegen beim Heizen an einem bestimmten Temperaturpunkt die Phasentrennung verschwindet, wird der Punkt als UCST bezeichnet. Für wässrige Systeme sind deutlich mehr polymere Strukturen mit LCST-Verhalten bekannt als mit UCST-Verhalten.

Bei stark vernetzten polymeren Systemen, die unlöslich sind, kann kein Phasenübergang stattfinden. Aber auch solche Polymere können thermoresponsives Verhalten zeigen, das mit einem Volumen-Phasenübergang^{75,76} verbunden ist. Es handelt sich dabei um einen Übergang zwischen einem stark gequollenen Zustand mit viel gebundenem Lösungsmittel und einem komprimierten Volumenzustand mit wenig gebundenem Lösungsmittel. Auch nicht vernetzte, aber in der Flexibilität eingeschränkte Systeme zeigen nur einen Volumen-Phasenübergang. So zum

Theoretische Grundlagen

Beispiel an Oberflächen immobilisierte Polymerketten, die nicht zu Aggregaten zusammenfallen können.

Wie oben für gelöste und oberflächengebundene Polymere sowie für nicht lösliche Hydrogele dargelegt, sind die Wechselwirkungen der Materialien mit dem Lösungsmittel von entscheidender Bedeutung bei der Erklärung des responsiven Verhaltens. Die molekulare Voraussetzung dafür ist das Vorhandensein geeigneter funktioneller Gruppen in der Polymerkette, die mit den Lösungsmittelmolekülen in Wechselwirkung treten. Für Wasser sind dies funktionellen Gruppen, die Wasserstoffbrücken-Bindungen eingehen können. In Abbildung 3 sind drei Beispiele thermisch schaltbarer Polymere angegeben, auch die jeweiligen Wechselwirkungen mit Wasser sind skizziert.

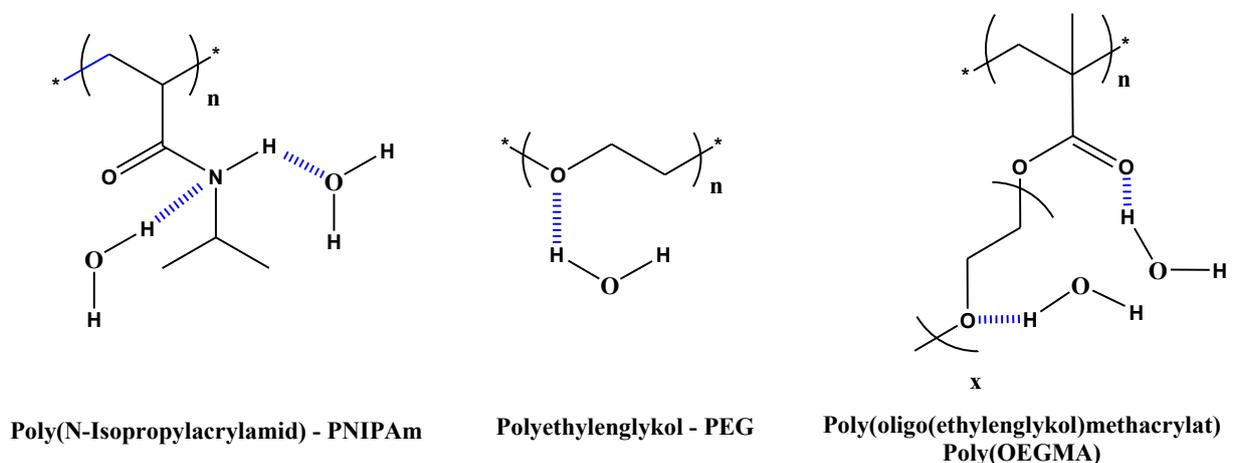
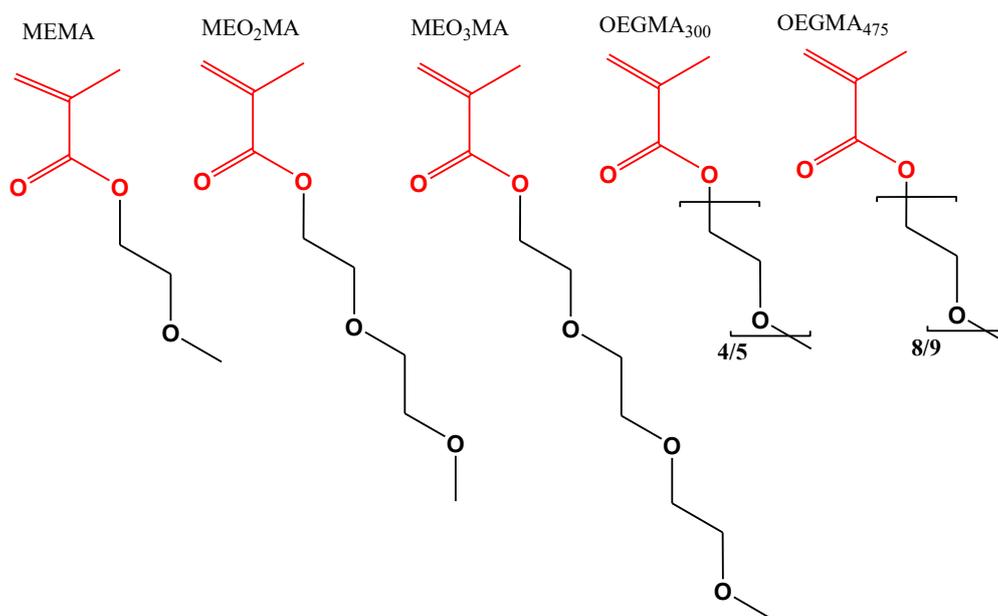


Abbildung 3: Beispiele thermoresponsiver Polymere mit möglichen Wasserstoffbrücken zu Wassermolekülen aus der Umgebung.

Allen thermoresponsiven Systemen aus Abbildung 3 gemeinsam ist das Vorhandensein polarer Gruppen einerseits sowie eines apolaren, hydrophoben Rückgrats andererseits. Die Thermoresponsivität resultiert aus dem Hydrophilie/Hydrophobie-Gleichgewicht zwischen zwei Situationen – dem Zustand, wenn Polymer-Wasser-Wechselwirkungen überwiegen und dem Zustand, wenn die konkurrierenden hydrophoben Polymer-Polymer-Wechselwirkungen überwiegen. Das bekannteste thermisch schaltbare Polymer ist Poly(*N*-Isopropylacrylamid) (PNIPAm) (Abbildung 3). Eine attraktive Alternative für Applikationen im Bio-Bereich stellt die Gruppe der Poly(oligo(ethylenglykol)methacrylate) (Poly(OEGMAs)⁷⁷⁻⁸¹ dar. Diese Polymere werden aus Oligo(ethylenglykol)methacrylat-Monomeren (OEGMA) unterschiedlicher Länge synthetisiert und haben als enge chemische „Verwandte“ von Poly(ethylenglykol) (PEG) mit diesem

einige Eigenschaften gemeinsam. Zu erwähnen ist an dieser Stelle vor allem die gute Löslichkeit in Wasser, die Biokompatibilität und die geringen unspezifischen Wechselwirkungen mit biologischen Systemen⁴³. Das hydrophobe Rückgrat von Poly(OEGMAs) wird kompensiert durch die hydrophilen Oligo(ethylenglykol)-Seitenketten kompensiert, die die sehr gute Löslichkeit dieser Polymere verursachen. Erst nach Erreichen des LCST-Punktes, wenn die hydrophoben Wechselwirkungen überwiegen, wird das Polymer unlöslich. Die Vergrößerung des Anteils hydrophiler Seitenketten in Poly(OEGMAs) verschiebt den LCST-Punkt zu höheren Temperaturen, da in diesem Fall mehr Energie zum Übergang in den hydrophoben Zustand benötigt wird. Der Anteil hydrophiler Bereiche in Poly(OEGMAs) kann zum Beispiel durch Benutzung längerer OEGMA-Monomere erhöht werden. Lutz beschreibt in seinem Review, wie die Temperatur des Phasenüberganges für Poly(OEGMAs) durch die Wahl des zu Polymerisation eingesetzten Methacrylat-Monomers justiert werden kann (Abbildung 4)⁷⁷. Die Lage der LCST wird deutlich nach oben verschoben, wenn längere OEGMA-Monomere eingesetzt werden, da diese das Polymer insgesamt deutlich hydrophiler machen.



Das Methacrylat-Monomer	LCST des entsprechenden Polymers	Literatur
MEMA	leicht hygroskopisch	43
MEO ₂ MA	~ 26 °C	82,83
MEO ₃ MA	~ 52 °C	83,84
OEGMA ₃₀₀	~ 64 °C	85
OEGMA ₄₇₅	~ 90 °C	86

Abbildung 4: Abhängigkeit der Lage des LCST-Punktes von der Länge der zur Polymerisation eingesetzten Methacrylat-Monomere (übernommen aus ⁷⁷ mit Genehmigung des Verlages vom 22.09.2014).

Auch jede andere Variation der Zusammensetzung, die den Anteil hydrophiler oder hydrophober Bereiche im Polymer variiert, resultiert in Verschiebungen der Übergangstemperatur. Buller et al. haben gezeigt, dass die Ankopplung von Avidin an ein biotinyliertes Poly(OEGMA) die Temperatur des Phasenüberganges erhöht⁸⁷. Das gebildete Polymer-Biotin-Avidin-Konjugat ist hydrophiler als das biotinylierte Polymer an sich. Die Copolymerisation von Methacrylat-Monomeren mit weiteren funktionellen Gruppen kann ebenfalls das Hydrophilie/Hydrophobie-Gleichgewicht und somit die LCST beeinflussen. Yamamoto et al. haben den Einfluss von Carboxyl- und Amino-Gruppen in den Seitenketten von Poly(OEGMA)-basierten Polymeren untersucht⁸⁸. Es wird gezeigt, dass diese (de-)protonierbaren Gruppen durch Variation des pH-Wertes zur Einstellung der Hydrophilie der Seitenketten geeignet sind und so Verschiebungen der LCST erlauben. Damit sind solche Polymere sowohl thermoresponsiv als auch pH-sensitiv. Die Einführung reaktiver Gruppen wie der Carboxygruppen in das Polymer erlaubt außerdem eine Ankopplung von weiteren Komponenten, zum Beispiel Biorezeptoren, was das Anwendungsfeld responsiver Systeme erweitert.

2.3 Analytische Methoden zur Untersuchung stimuli-responsiver Systeme

2.3.1 Methoden zur Untersuchung stimuli-responsiver Polymere in Lösung

Bei LCST-Polymeren, deren mikroskopischer Volumen-Phasenübergang auch zur makroskopischen Phasentrennung führt, kann die thermisch induzierte Schaltung bereits mit bloßem Auge beobachtet werden. Die Polymerlösung wird nach Erreichen der Übergangstemperatur typischerweise trübe. Das temperaturabhängige Trübungsverhalten der Lösungen kann optisch einfach und bequem durch Turbidimetrie untersucht werden^{43,88,89}. Hierbei wird der trübungsbedingte Intensitätsverlust der Messstrahlung nach Durchlaufen der Messlösung untersucht (Extinktion). Die Probe befindet sich in einer heizbaren Kammer und die Licht-Extinktion wird an definierten Temperaturpunkten bestimmt. Temperaturabhängige Extinktionskurven können zur Bestimmung der Phasenübergangs-Temperatur, zu Untersuchungen der Reversibilität, der Hysterese und unter Umständen der Geschwindigkeit des Schaltens sowie der Schärfe des Phasenüberganges herangezogen werden. Somit ist diese einfache Technik mit viel Informationsgehalt verbunden. Die Turbidimetrie kann allerdings nicht zu Aussagen über strukturelle Änderungen auf mikroskopischer Ebene herangezogen werden.

Theoretische Grundlagen

Eine alternative optische Technik, die Messung der dynamischen Lichtstreuung (DLS) in Abhängigkeit von der Temperatur, hat sich ebenfalls zur Untersuchung der Thermoresponsivität von Polymeren in Lösung durchgesetzt^{43,90}. Durch die mathematische Analyse des gemessenen Streulichtes wird der hydrodynamische Radius der Polymer-Partikeln bestimmt. Diese Technik erlaubt also die Analyse struktureller Veränderungen, und zwar selbst dann, wenn der Volumen-Phasenübergang nicht mit einer Phasentrennung einhergeht.

Eine weitere bereits oft eingesetzte nicht-optische Untersuchungsmethode von Phasenübergängen thermoresponsiver Polymere in Lösung ist die dynamische Differenzkalorimetrie (DSC), bei der die Wärmeaufnahme einer Probe beim Ablaufen eines Temperaturprogramms aufgenommen wird^{91,92}. Mit dieser Methode sind neben der Bestimmung der Phasenübergangstemperatur auch Aussagen zu thermodynamischen Prozessen beim Phasenübergang möglich.

Einen noch tieferen Einblick in die mikroskopischen Aspekte der Thermoresponsivität erlaubt die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)⁹³. Die thermisch induzierten Änderungen der Polymer-Polymer- bzw. der Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkungen resultieren in Änderungen der Spektren z.B. bezüglich der chemischen Verschiebung, der Signalbreite und Signalintensität.

2.3.2 Oberflächenanalytische Methoden zur Untersuchung responsiver polymerer Interfaces

2.3.2.1 Elektroanalytische Methoden

Eines der zentralen Charakteristika eines jeden analytischen Systems ist die Methode der Signaldetektion. Die Palette der Auslesetechniken, die in responsiven Sensorsystemen eingesetzt werden, reicht von optischen^{56,94}, elektrochemischen⁵³, kraftmikroskopischen⁹⁵ bis hin zu massensensitiven⁹⁶ Methoden. Die Auswahl der geeigneten Technik hängt unter anderem davon ab, ob das untersuchte Polymer an der Oberfläche oder in Lösung verteilt vorliegt.

Elektroanalytische Methoden sind bereits vielfach zur Untersuchung immobilisierter stimuli-responsiver Materialien an leitenden Oberflächen (Elektroden) eingesetzt worden^{38,97-99}. Eine mögliche Klassifizierung solcher analytischen Systeme ist die nach der Art der signalgebenden Komponente. Am häufigsten sind die elektrochemischen Eigenschaften bzw. der elektrochemische Umsatz von Spezies aus oder in der Lösung die eigentlichen Messparameter. Der Einfluss

der Film-Umstrukturierung an der Oberfläche auf die signalgebenden Spezies erlaubt Rückschlüsse auf die Art (Mechanismus) und das Ausmaß der Polymer-Reorganisation. In der Literatur sind aber auch einige wenige Beispiele zu finden, bei denen das stimuli-responsive Material an sich elektroaktiv ist³⁷. Der elektrochemische Output dieser an Elektroden gebundenen Materialien ist vom gegebenen strukturellen Zustand abhängig. Ändert sich dieser als Antwort auf einen äußeren Stimulus, wird auch eine Änderung des elektrochemischen Signals gemessen. Die am häufigsten zur Untersuchung schaltbarer Elektroden beschriebenen Methoden sind die Cyclovoltammetrie und die elektrochemische Impedanzspektroskopie. Aber auch andere elektrochemische Techniken, wie z.B. Amperometrie^{100–103} und Chronopotentiometrie¹⁰⁴ wurden bereits eingesetzt.

Die Detektion der elektrochemischen Eigenschaften der thermoresponsiven Grenzfläche bietet einige wichtige Vorteile gegenüber den anderen Techniken. So zeichnen sich die meisten elektrochemischen Methoden durch die Einfachheit der Instrumente aus. Ein elektroanalytisches Gerät ist außerdem flexibel bezüglich der Dimension der Messvorrichtung und erlaubt eine Miniaturisierung. Elektroanalytische Methoden sind oft möglich ohne die Probe zu verändern. Ebenso sind Temperaturveränderungen während eines elektrochemischen Experimentes einfach zu realisieren.

Einige der Beispiele aus der Literatur nutzen das Prinzip der Bioaffinen Erkennung als zentrales Konzept der beschriebenen responsiven elektroanalytischen Systeme. So entwickelten zum Beispiel Katz et al eine Biobrennstoffzelle deren Funktion über ein pH responsives Polymer durch Enzym-gelabelte Antikörper ausgeschaltet werden kann¹⁰⁵. Ein anderes Beispiel stellt ein thermoresponsiver elektrochemischer Immunosensor dar, bei dem der Zugang des Analyten zur Bindungsstelle des Antikörpers thermisch kontrolliert wird¹⁰⁶. Wie oben bereits erwähnt, ist auch prinzipiell ein umgekehrter Prozess möglich, d.h. die Bioerkennung, die die physikochemischen Eigenschaften des Polymers signifikant verändert. Solche Systeme, die auf elektrochemischen Analysetechniken basieren, sind in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden. Hierfür sollen in dieser Arbeit Grundlagen gelegt werden.

2.3.1.1.1 Cyclovoltammetrie

Das zentrale Element eines cyclovoltammetrischen Experimentes ist die Arbeitselektrode (Messselektrode)^{107–113}. Es handelt sich dabei um einen Leiter, der eine der drei Komponenten der sogenannten Dreielektrodenanordnung (Abbildung 5) ist. Die zwei weiteren Elektroden sind

Theoretische Grundlagen

die Gegenelektrode und die Referenzelektrode. Die drei Elektroden sind über ein Potentiostat miteinander verbunden und tauchen jeweils in die (ionenleitende) Messlösung. Durch Anlegen der Spannung zwischen der Arbeitselektrode und der Gegenelektrode baut sich ein geschlossener Stromkreis auf. Das registrierte Messdiagramm der Cyclovoltammetrie ist die Auftragung des gemessenen Stroms gegen das an der Arbeitselektrode gemessene Potential. Das an der Spannungsquelle angelegte Potential wird im Laufe des Experimentes permanent mit dem Potential zwischen Arbeitselektrode und Referenzelektrode verglichen. Beim Bestehen eines Unterschiedes zwischen der Sollspannung (vorgegebene Spannung) und der realen Ist-Spannung wird dieser durch einen im Potentiostat eingebauten Regler ausgeglichen. Somit wird gewährleistet, dass der reale Potentialwert stets dem vorgegebenen Potential entspricht.

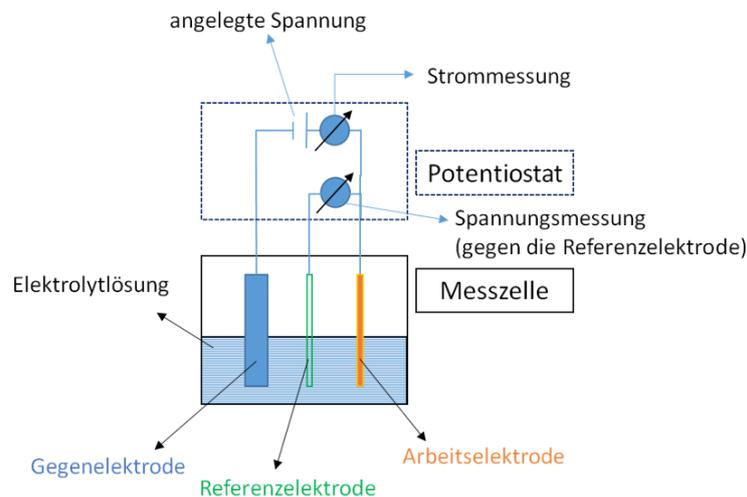


Abbildung 5: Das Schaltschema der Dreielektrodenanordnung.

Das in einem cyclovoltammetrischen Experiment vorgegebene Potential wird zwischen zwei definierten Werten mit konstanter Geschwindigkeit (der sogenannten „Scanrate“) zyklisch verändert. In Abbildung 6 (a) ist ein Beispiel für eine Potential-Zeit-Funktion angegeben, das resultierende Cyclovoltammogramm ist in Abbildung 6 (b) dargestellt.

Die charakteristischen Parameter eines Cyclovoltammogramms sind die Peakpotentiale E_P für jeweils den Oxidationspeak ($E_{P,Ox}$) und den Reduktionspeak ($E_{P,Red}$). Diese zwei Punkte sind die Potentialwerte, an denen die Maximalwerte des anodischen und des kathodischen Stromes gemessen werden. Der Mittelwert aus der Summe der beiden Peakpotentiale wird als formales

Theoretische Grundlagen

Potential bezeichnet (E_F). Für die zwei Peaks des Voltammogramms werden weiterhin die Peakströme $I_{P,Ox}$ und $I_{P,Red}$ angegeben. Dazu wird der Abstand des Maximalstromwertes zur Basislinie bestimmt (Abbildung 6 (b)).

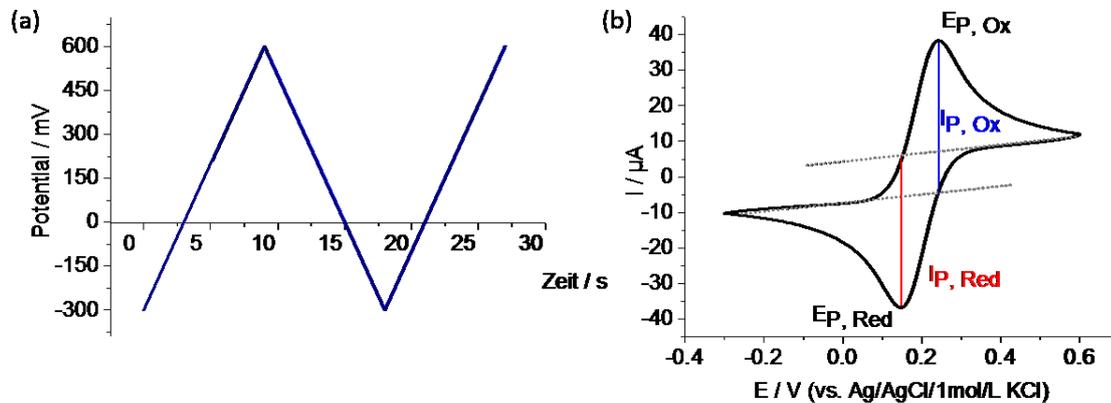


Abbildung 6: (a) Beispiel eines cyclovoltammetrischen Potential-Zeit-Verlaufes (Scangeschwindigkeit $v = 100 \text{ mV/s}$) und (b) das dazugehörige Cyclovoltammogramm; gemessen in $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ -Lösung (jeweils 2.5 mmol/L in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer, $\text{pH } 6.7$).

Das zwischen der Arbeitselektrode und der Gegenelektrode angelegte Potential führt zum gerichteten Stromfluss. Dieser resultiert aus der Überlagerung mehrerer Phänomene auf molekularer Ebene. Im Falle der Anwesenheit eines redoxaktiven Analyten, wie z.B. Kaliumhexacyanoferrat(II/III), setzt sich der gemessene Strom aus zwei Anteilen zusammen – aus dem Faraday'schen Strom (Redoxstrom) und aus dem kapazitiven Strom. Bei Abwesenheit des Redoxstromes wird nur der kapazitive Strom registriert.

Der Begriff Faraday'scher Strom beschreibt den heterogenen Ladungsaustausch zwischen einem Stoff in der Lösung (oder auf der Oberfläche der Elektrode) und der Elektrode. Bei der Messung aus Abbildung 6 b) handelt es sich um die folgenden Teilreaktionen:



Abbildung 7. Teilreaktionen des heterogenen Ladungsübertrittes für die Messung aus Abbildung 6 b).

Der kapazitive Strom ist die Folge des Aufbaus einer elektrochemischen Doppelschicht an der Grenzfläche Elektrode-Elektrolyt. Hierbei orientieren sich die Lösungsmittelmoleküle bzw. entgegengesetzt geladene Ionen der Lösung an der geladenen Elektrodenoberfläche um.

Theoretische Grundlagen

Der Peak-Strom, der in Lösungen mit Redox-Spezies gemessen wird, ist eine Funktion der Elektrodenoberfläche (A), der Scangeschwindigkeit (v), der Anzahl der übertragenen Elektronen (n), der Konzentration (c) und des Diffusionskoeffizienten (D) der Redoxsubstanz sowie der Temperatur der Lösung (T). Er kann (unter der Voraussetzung eines ungehemmten Ladungsdurchtritts) mit der Randles-Sevcik-Gleichung wie folgt beschrieben werden^{111,112}:

$$I_p = 0.4463 \cdot n \cdot F \cdot A \cdot \sqrt{\frac{n \cdot F}{R \cdot T}} \cdot \sqrt{D} \cdot \sqrt{v} \cdot c \quad (1)$$

Das Elektrodenpotential für das Redoxpaar $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ kann nach Nernst berechnet werden:

$$E = E^0_{[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}} + 0.059 \cdot \log \frac{a([\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-})}{a([\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-})} \quad (2)$$

Das Standardelektrodenpotential E^0 in Gleichung (2) ist das Potential (in Bezug auf die Standardwasserstoffelektrode) für das Redoxpaar mit den Aktivitäten a für die oxidierte wie reduzierte Form gleich 1. Die Einstellung der Standard-Versuchsbedingungen ist nicht immer möglich und oft nicht sinnvoll. Deswegen wird ersatzweise mit dem sogenannten formalen Potential E_{0F} gearbeitet. Dieses ist definiert als das Potential eines Systems mit dem Aktivitäten-Quotienten gleich 1 unter der genauen Spezifikation aller anderen Bedingungen. Im Cyclovoltammogramm ist das Mittelpunktspotential leicht als der Mittelwert der Summe aus anodischem und kathodischem Potential abzulesen. Wenn sich das Mittelpunktspotential nicht mit der Scanrate verändert, entspricht es dem formalen Redoxpotential des Stoffes unter den gegebenen experimentellen Bedingungen.

Der Abstand der beiden Peakpotentiale ist als die Peakseparation ΔE_p definiert:

$$\Delta E_p = E_{p, \text{OX}^-} - E_{p, \text{RED}^-} = \frac{0.059 \text{ V}}{n} \quad (3)$$

Die Peakseparation ist nach Nicholson eine Funktion der Temperatur, der Diffusionskonstante D_0 , der Scangeschwindigkeit (v) und der heterogenen Elektronentransfer-Geschwindigkeitskonstante k_H ¹¹⁴. Letztere sinkt beim Auftreten von Hindernissen für den Zugang zur Elektrodenoberfläche, die zum Beispiel bei chemischen Oberflächen-Modifizierungen auftreten. Bei einem einfachen Einelektronenprozess werden drei Grenzfälle unterschieden – reversible, irreversible und quasireversible Elektrodenreaktionen. Bei reversiblen Prozessen ($k_H > 10^{-1} \text{ cm/s}$)

Theoretische Grundlagen

ist der heterogene Ladungstransport so schnell, dass der gemessene Strom ausschließlich durch den Massentransport bestimmt wird. Für den reversiblen Einelektronen-Prozess, sollte die Peakseparation 0.059 V betragen. Die Peakseparation steigt bei der Verlangsamung des Ladungsübertrittes, bei quasireversiblen oder irreversiblen Prozessen. Als irreversibel werden Prozesse bezeichnet, bei denen der heterogene Ladungstransfer extrem langsam ist ($k_H < 10^{-5}$ cm/s) und somit den Messstrom im Wesentlichen bestimmt. Als quasireversibel werden Prozesse bezeichnet, bei denen sowohl der Massentransport als auch der heterogene Ladungstransfer den Messstrom bestimmen ($10^{-1} > k_H > 10^{-5}$ cm/s).

Die Cyclovoltammetrie kann also zusammenfassend sowohl zur Untersuchung thermodynamischer (z.B. Redoxpotential-Bestimmung) als auch kinetischer (z.B. Elektrodentransfer durch die Grenzfläche Elektrode-Elektrolyt) Größen und Phänomene herangezogen werden. In der Biosensorik ist die Cyclovoltammetrie eine beliebte Methode zur Untersuchung biokatalytischer Reaktionen.

In der Literatur sind mehrere Studien zu cyclovoltammetrischen Untersuchungen stimuli-responsiver Elektroden-Interfaces beschrieben. In der Tabelle 1 ist eine Übersicht über ausgewählte Beispiele aufgeführt – sortiert nach Polymersystem, der signalgebenden Komponente und dem Schaltreiz.

In allen in der Tabelle 1 aufgeführten Beispielen werden aus den gemessenen Cyclovoltammogrammen die Peakströme bestimmt. Veränderungen der Peakströme als Antwort auf einen äußeren Stimulus geben gute Hinweise auf strukturellen Veränderungen der Grenzfläche, da diese direkten Einfluss auf den Zugang der Redoxspezies zur Elektrode haben. Als strukturelle Grenzfälle werden Polymerfilme im kollabierten oder im expandierten (gequollenen) Zustand genannt.

So beschreiben Zhou et al. ein auf Poly(N-isopropylacrylamid-co-acrylsäure)-Bürsten basierendes elektrochemisches Sensor-System, bei dem der Zugang zur Elektrodenoberfläche für $K_3[Fe(CN)_6]$ durch den pH-Wert der Umgebung, die Temperatur und die Konzentration von Natriumchlorid kontrolliert werden kann¹¹⁵.

Tabelle 1. Ausgewählte Publikationen mit CV-Experimenten zum Verfolgen struktureller Änderungen einer responsiven Polymerschicht an der Elektrodenoberfläche.

Lit.	Polymersystem	Signalgebender Redoxumsatz	Stimulus
¹¹⁵	Poly(N-isopropylacrylamid-co-acrylsäure)	Redoxreaktion von $K_3[Fe(CN)_6]$	pH, T, NaCl
¹¹⁶	Poly(2-vinylpyridin) und Polyacrylsäure	Redoxreaktion von $K_4[Fe(CN)_6]$ und $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$	pH
¹¹⁷	Poly(4-vinylpyridin)	Redoxreaktion von $K_4[Fe(CN)_6]$	externes elektrisches Potential, pH
¹¹⁸	Poly(2-vinylpyridin) und Polyacrylsäure	Redoxreaktion von $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$	externes elektrisches Potential, pH
¹¹⁹	Poly(N-isopropylacrylamid)	Redoxreaktion von eingebettetem Hämoglobin	T
¹²⁰	Poly(N,N-diethylacrylamid-co-4-vinylpyridin)-Hydrogel mit eingebetteter Glucoseoxidase (GOD)	Oxidation von Glucose (durch GOD) mit 1,1'-Ferrocendicarbonsäure als Mediator	pH, T, SO_4^{2-}
¹²¹	Multischichten aus Poly(allylaminhydrochlorid) und Hyaluronsäure mit darin eingebetteter GOD	Oxidation von Glucose (durch GOD) mit 1,1'-Ferrocendicarbonsäure als Mediator	pH
¹²²	Poly(4-vinylpyridin)	Oxidation von Glucose (durch GOD in Lösung) mit 1,1'-Ferrocendicarbonsäure als Mediator	pH, ClO_4^-
¹²³	Poly(4-vinylpyridin) funktionalisiert mit redoxaktiven Osmiumkomplex-Einheiten	Redoxreaktion vom Osmiumkomplex	pH
¹⁰⁰	Multischicht aus Poly(N-isopropylacrylamid) und Cobalt/Aluminium-Nanoplättchen-Schichten	Redoxreaktion von CoAl-Nanoplättchen-Schichten	T
¹²⁴	Poly(N,N-diethylacrylamid)-(Polyacrylsäure-co-Phenylboronsäure)-Meerrettichperoxidase	Redoxreaktion von $K_3[Fe(CN)_6]$ Oxidation von H_2O_2	pH, T, Fruktose
¹⁰⁴	Poly(m-acrylamidobenzolboronsäure-co-acrylamid)	Redoxreaktion von $K_3[Fe^{III}(CN)_6]/K_4[Fe^{II}(CN)_6]$	Glukose
¹²⁵	Poly(4-vinylpyridin)	Redoxreaktion von $K_3[Fe^{III}(CN)_6]/K_4[Fe^{II}(CN)_6]$	pH-Wert Änderung als Folge von biochemischen Reaktionskaskaden

Theoretische Grundlagen

Tam et al. beschreiben ein interessantes schaltbares Elektrodensystem, bei dem zwei unterschiedliche signalgebende Redoxspezies gleichzeitig in der Analytlösung vorliegen – das negativ geladene Hexacyanoferrat(II) und das positiv geladene Hexa-aminruthenium(III)chlorid¹¹⁶. Die Elektrode ist wiederum mit Poly(2-vinylpyridin) (je nach pH-Wert neutral oder positiv geladen) und Polyacrylsäure (je nach pH-Wert neutral oder negativ geladen) modifiziert. Es wird gezeigt, dass mit den beiden gleichzeitig vorliegenden unterschiedlich geladenen Redoxspezies die pH-induzierten Phasenübergänge der einzelnen Polymere diskriminiert werden können.

Der Stromoutput kann aber auch von komplizierteren Systemen oder Prozessen stammen. Zum Beispiel beschreiben Yin et al. ein responsives Elektrodensystem mit Hämoglobin als Signalgeber¹¹⁹. In mehreren Untersuchungen wird die Beeinflussung biokatalytischer Elektroden-Prozesse durch strukturelle Veränderungen der schaltbaren Schicht an der Elektrode beschrieben. So kann die Oxidation der Glucose durch Glucoseoxidase (GOD) beeinflusst werden, wenn der Phasenübergang den Zugang zum im Film eingebetteten Enzym für das Substrat erschwert oder erleichtert^{120,121}.

In einigen Beispielen elektrochemischer Untersuchungen der Schaltprozesse an der Oberfläche stammt die Stromantwort von dem responsiven Polymer selbst. Dazu muss das responsive Polymer redoxaktiv sein. Tam et al. beschreiben eine Elektrode, die mit Osmiumkomplex-Einheiten tragenden Poly(4-vinylpyridin)-Bürsten modifiziert ist¹²³. Es wird gezeigt, dass die Elektroaktivität des Polymers von der Mobilität der Ketten abhängt. Im kollabierten Zustand (bei hohen pH-Werten) sinkt die Mobilität deutlich, so dass auch das Stromsignal dramatisch reduziert wird. Dou et al. beschreiben Multischichten aus thermoresponsivem Poly(N-isopropylacrylamid) und elektroaktiven CoAl-Nanoplättchen, die beim Zusammenziehen der Schichten aufgrund der Annäherung der signalgebenden Komponente zu höheren Strömen führen¹⁰⁰.

Für biosensorische Anwendungen sind responsive Elektroden-Systeme interessant, bei denen biorelevante Analyte die Schaltung der Grenzschicht verursachen. Liu et al. beschreiben einen elektrochemischen Sensor für Fruktose, der auf einem Phenylboronsäure-Einheiten enthaltendem amphiphilen Polymer basiert¹²⁴. Die Phenylboronsäure und Ihre Derivate bilden schnell und reversibel kovalente Bindungen mit cis-Diolen, wie sie zum Beispiel in vielen Zuckern vorkommen. Die Bildung der Phenylboronsäure-Fruktose-Komplexe führt zum Aufquellen des Polymernetzwerkes wegen der gestiegenen Hydrophilie, was wiederum zu einem besseren Zugang zur Elektrodenoberfläche für die Redoxkomponente führt. Ein ähnliches Sensor-System

beschreiben Gabai et al.¹⁰⁴. Auch hier wird das Aufquellen des Phenylboronsäure enthaltenden polymeren Netzwerkes beobachtet, allerdings mit Glucose als Analyt.

In einigen Studien wird der Auslöser der Schaltung nicht direkt eingestellt, sondern resultiert aus anderen davor geschalteten Prozessen oder Reaktionen. So kann durch das Anlegen eines externen (genügend negativen) Potentials die Sauerstoffreduktion unter gleichzeitigem Verbrauch von Hydronium-Ionen zur Erhöhung des lokalen pH-Wertes führen und so pH-sensitive Hydrogele zu Schaltung anregen^{117,118}. Auch pH-Wert Änderungen am Ende einer komplexen biochemischen Reaktionskaskade können als Trigger für Phasenübergänge von Polymeren an der Elektrodenoberfläche dienen¹²⁵.

2.3.1.1.2 Elektrochemische Impedanzspektroskopie

Das Grundprinzip elektrochemischer Impedanzmessungen besteht im Anlegen einer sinusförmigen Wechselspannung kleiner Amplitude (ca. 1 – 5 mV) an das zu untersuchende Objekt (z.B. an die Arbeitselektrode in der Dreielektrodenanordnung) und der Aufnahme des so generierten Wechselstromes. Das Verhältnis der angelegten Spannung zum gemessenen Strom wird als Impedanz Z (Wechselstromwiderstand) bezeichnet und wird in der Impedanzspektroskopie jeweils für Wechselspannung unterschiedlicher Frequenzen (z.B. 0.1 Hz – 100 000 Hz) bestimmt.

$$Z = \frac{U(t)}{I(t)} = \frac{\hat{U}_{MAX} \cdot \sin(\omega t)}{\hat{I}_{MAX} \cdot \sin(\omega t + \phi_I)} \quad (4)$$

Die Impedanz Z ist eine komplexe Größe. Sie wird einerseits durch das Verhältnis der beiden Amplituden \hat{U}_{MAX} und \hat{I}_{MAX} und andererseits durch den Phasenwinkel ϕ_I (Phasenverschiebung gegenüber der Wechselspannung) definiert. In Abbildung 8 ist die komplexe Impedanz als Vektor dargestellt. Die Beschreibung der Impedanz kann auf zwei Arten erfolgen – durch die Angabe des Impedanzbetrages $|Z|$ und des Phasenwinkels oder durch den Real- und den Imaginärteil der Impedanz Z_R und Z_I .

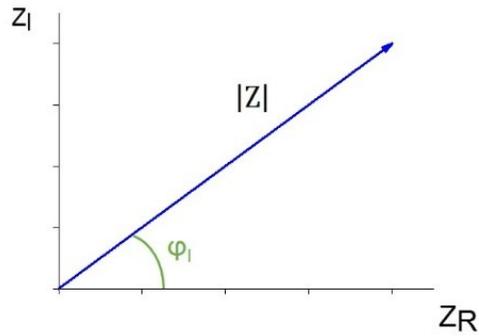


Abbildung 8: Die komplexe Impedanz dargestellt als Vektor.

Entsprechend kann die Darstellung der Ergebnisse einer Impedanzmessung auf zwei Arten erfolgen. Beim so genannten Bode-Plot wird der logarithmierte Betrag der Impedanz $|Z|$ und des Phasenwinkels ϕ_I in einem Diagramm gegen die logarithmierte Frequenz f aufgetragen (Abbildung 9 a)). Alternativ wird beim Nyquist-Plot der Realteil der Impedanz gegen den Imaginärteil aufgetragen (Abbildung 9 b)).

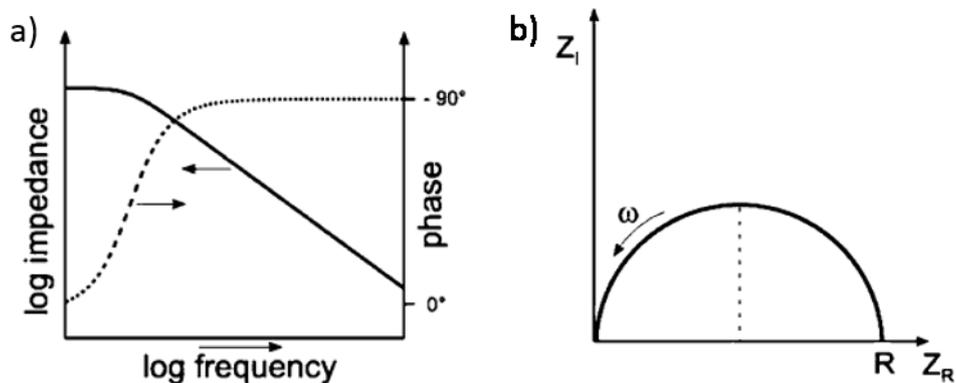


Abbildung 9: (a) Bode-Plot und (b) Nyquist-Plot – zwei übliche Darstellungen der Ergebnisse von Impedanz-Messungen.

Der Gesamtbetrag $|Z|$ ergibt sich durch Überlagerung der Impedanzen für die unterschiedlichen Elektrodenprozesse, die zum Gesamtwechselstrom beitragen. Der relative Anteil eines bestimmten Einzelprozesses hängt dabei von der Frequenz der angelegten Wechselspannung ab. Zur Interpretation der Impedanz-Experimente werden den einzelnen Prozessen bestimmte elektronische Bauelemente, z.B. Widerstände und Kondensatoren, zugeordnet. Das Gesamtsystem kann dann mittels eines Ersatzschaltbildes beschrieben und ausgewertet werden, in dem die Bauelemente in Reihe oder parallel geschaltet werden. In der Tabelle 2 sind die drei wichtigsten Elektrodenprozesse und die jeweiligen Bauelemente gegenübergestellt.

Tabelle 2. Elektrodenprozesse und die entsprechenden Bauelemente für ein Ersatzschaltbild.

Einzelphänomen	Ersatzbauelement
Stromtransport durch die Elektrolytlösung	Ohm'scher Widerstand der Lösung R_L
Stromtransport durch die Phasengrenze Elektrode/Elektrolyt	Ohm'scher Widerstand des heterogenen Ladungstransfers (Durchtrittswiderstand) R_{CT}
Kapazitiver Strombeitrag durch Auf-/Entladen der Doppelschicht	Kapazität C_{DL}
Diffusion von und zu der Elektrode	Warburg-Impedanz Z_W

In Abbildung 10 ist ein Ersatzschaltbild für einen einfachen Elektronentransferprozess (Elektrolyt und Redoxpaar in der Messlösung) dargestellt.

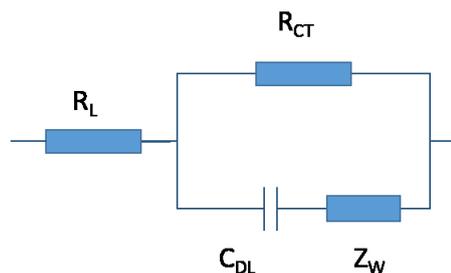


Abbildung 10: Ersatzschaltbild zur Auswertung der Impedanzmessung eines einfachen Elektronentransferprozesses.

Der kapazitive Widerstand verhält sich reziprok zur Kreisfrequenz ω ($\omega = 2\pi f$, mit f –Frequenz der angelegten Wechselspannung) nach:

$$Z_C = \frac{-i}{\omega C} \quad (5)$$

Bei sehr hohen Frequenzen wird die Impedanz der Doppelschicht vernachlässigbar klein, so dass fast der gesamte gemessene Strom durch die Doppelschicht fließt. Die Impedanz wird hier also maßgeblich durch den Elektrolytwiderstand bestimmt. Bei tiefen Frequenzen ist der Widerstand der Doppelschicht sehr groß – der Strom resultiert hauptsächlich aus der Redoxreaktion, die Impedanz wird durch den Durchtrittswiderstand R_{CT} bestimmt.

Die Impedanzspektroskopie wird in der Literatur oft als Ergänzungstechnik neben der Cyclovoltammetrie zur Untersuchung responsiver Schichten beschrieben^{53,98,100,115,116,126–131}. In den meisten Studien wird das Redoxpaar $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ als signalgebende Komponente eingesetzt. Dabei wird aus aufgenommenen Spektren der Durchtrittswiderstand der schaltbaren Grenzfläche bestimmt. Die Größe des Durchtrittswiderstandes bildet die strukturellen Eigenschaften des Films ab. Der Kollaps des Polymernetzwerkes an der Elektrode führt in einigen Studien zum Anstieg des Durchtrittswiderstandes^{117,126}, in anderen Studien wird vom Abfall des Durchtrittswiderstandes berichtet^{53,100}.

Tam et. al. berichten von einem aus zwei Polymeren (einem basischen und einem sauren) bestehendem Film an einer Elektrode, der je nach pH-Wert positiv oder negativ geladen oder gänzlich ungeladen vorliegt¹¹⁶. Bei den pH-abhängigen Impedanzmessungen an solchen Elektroden wird $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ als eine negativ geladene und $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ als eine positiv geladene Signalkomponente benutzt. Die Impedanzspektren werden bei jedem pH-Wert an zwei Potentialen aufgenommen, die jeweils dem Ruhepotential einer der beiden Redoxkomponenten entspricht. Der bestimmte Durchtrittswiderstand bezieht sich somit jeweils auf den Redoxumsatz einer der beiden Komponenten. Bei einem tiefen pH-Wert der Elektrolytlösung (pH 3) wird für $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ ein geringer Durchtrittswiderstand von ca. 1.2 k Ω gemessen, während dieser für $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ bei ca. 160 k Ω liegt. Bei diesem pH-Wert liegen Bereiche des Netzwerkes, die hauptsächlich aus dem sauren Polymer bestehen, kollabiert vor. Der elektrochemische Umsatz keiner der beiden Komponenten ist bei diesem pH-Wert möglich. Die basischen Bereiche liegen dagegen positiv geladen (und dadurch aufgrund der elektrostatischen Abstoßung zwischen den Ketten stark aufgequollen) vor – hier kann $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ gut durch die Polymerschicht zur Elektrode vordringen, der entsprechende Durchtrittswiderstand ist gering. Das positive $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ wird in diesem Fall dagegen durch die elektrostatischen Wechselwirkungen mit gleichnamig geladenen Polymerketten beim Vordringen zur Elektrodenoberfläche verhindert, der entsprechende Durchtrittswiderstand ist hoch.

Ein Vorteil der elektrochemischen Impedanzspektroskopie gegenüber der Cyclovoltammetrie liegt in der Tatsache, dass, abhängig vom strukturellen Zustand des Polymernetzwerkes, der elektrochemische Umsatz an der Elektrodenoberfläche sehr gering sein kann. Die Cyclovoltammogramme sind in diesem Fall schwer auszuwerten⁹⁸. Die Impedanzspektroskopie bietet dagegen mit dem Durchtrittswiderstand im jeden Fall einen präzise bestimmbareren quantitativen Parameter.

2.3.2.2 Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie

Der Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie^{132–135} (engl. **surface plasmon resonance spectroscopy (SPR)**) liegt ein physikalisches Phänomen zugrunde, das den Energietransfer des eingestrahlten Lichts auf Elektronen einer Metalloberfläche beinhaltet. Dieser Energietransfer führt zur Anregung des so genannten Oberflächenplasmons, worunter eine kollektive Schwingung der Außenelektroden im Metall verstanden wird, die als eine Einheit (ein Quasiteilchen) angesehen werden kann. Das Oberflächenplasmon erzeugt ein elektrisches Feld, das als eine evaneszente Welle entlang der Metall-Oberfläche propagiert und exponentiell zu beiden Seiten der Grenzfläche abfällt. Der Energietransfer zwischen dem eingestrahlten Licht und dem Oberflächenplasmon erfolgt bei bestimmten Resonanzbedingungen und kann mittels der Intensität des an der Metalloberfläche reflektierten Lichts beobachtet werden.

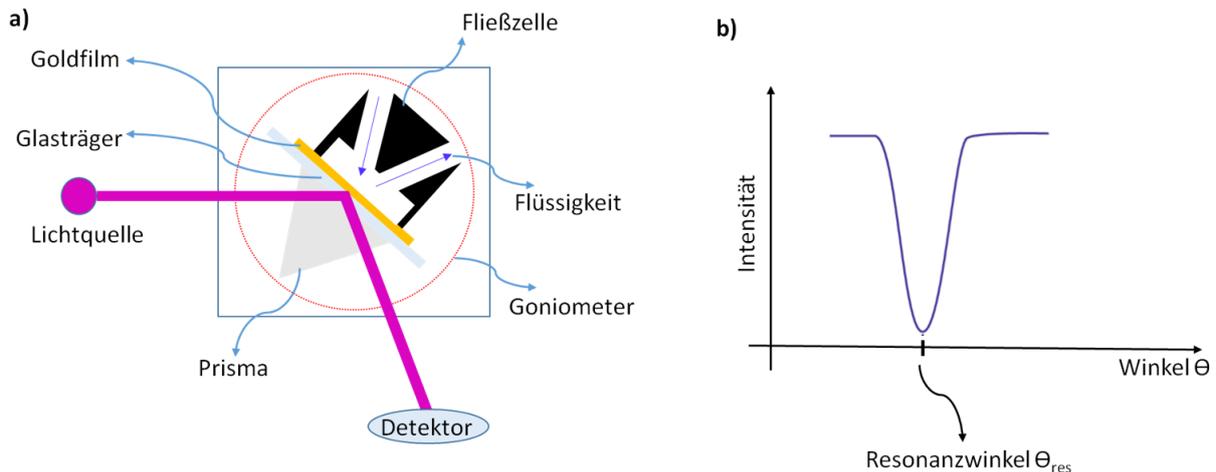


Abbildung 11: (a) Die Anordnung der Komponenten eines SPR-Gerätes nach Kretschmann-Konfiguration; (b) Typisches SPR-Sensorgramm – eine Intensität-Winkel-Auftragung.

Der apparative Aufbau eines SPR-Gerätes (Kretschmann-Konfiguration) ist in Abbildung 11 (a) dargestellt. Das zentrale Element stellt der Sensor dar – ein dünner Metallfilm (meist Gold) auf einem Glasträger. Das eingestrahlte (monochromatische) Licht wird über ein Prisma, das direkt auf dem Glasträger angeordnet ist, auf die Metalloberfläche geleitet. Während des Experiments wird der Einfallswinkel der elektromagnetischen Strahlung über ein Goniometer variiert (Messung im Scanmodus). Die Intensität des von der Metalloberfläche reflektierten Lichts I_R wird in einem Diagramm gegen den Einfallswinkel aufgetragen. Die resonante Energieübertragung wird als Minimum in der Intensität-Winkel-Auftragung registriert (Abbildung 11 b)). Diese Stelle in der Auftragung wird als Resonanzwinkel bezeichnet. Die Änderung des Resonanzwinkels kann auch im sogenannten Kinetikmodus verfolgt werden. Dabei wird die

reflektierte Intensität bei einem festen Winkel aufgenommen. Die analytische Ausnutzung des SPR-Effektes ermöglicht die Tatsache, dass jede Änderung des Brechungsindex der Messlösung oder Adsorption von Stoffen an die Sensoroberfläche zu einer Verschiebung des Resonanzwinkels führt. Das Ausmaß der Verschiebung ist proportional abhängig zum Ausmaß der Änderungen in der Umgebung der Metalloberfläche.

In der Literatur sind bisher nur wenige Studien zum Einsatz der SPR-Technik für Untersuchungen des responsiven Verhaltens von immobilisierten schaltbaren Polymeren oder Materialien beschrieben^{58,136–141}.

Balamurugan et al.¹³⁸ berichten von SPR-Messungen an dicken Filmen von Poly(N-isopropylacrylamid). Es wird gezeigt, dass die Kontraktion des Films kein plötzlicher Prozess mit scharfem strukturellen Übergang ist, sondern ein langsamer, über einen ca. 20 °C breiten Temperaturbereich erstreckter Prozess, bei dem das polymere Netzwerk kontinuierlich Wasser verliert. Nach Beendigung von diesem Prozess entspricht der Resonanzwinkel-Temperatur-Verlauf dem des unmodifizierten Sensors.

Wang et al. beschreiben eine Methode zur Bestimmung des pK_a -Wertes aus der pH-Wert-abhängigen SPR-Messung an Filmen von Poly(4-Vinylpyridin)¹⁴⁰. Für den pH-sensitiven Film werden bei niedrigen pH-Werten relativ konstante SPR-Werte gemessen. Als pK_a -Wert wird der Wert angesehen, bei dem ein signifikanter Sprung der SPR-pH-Auftragung beobachtet wird. Dieser Sprung wird bei pH 4.9 beobachtet. Oberhalb von pH 4.9 verlieren die Ketten bei steigenden pH-Werten zunehmend positive Ladung, die Abstoßung der Ketten sinkt, der Film kollabiert. Die Kontraktion des Filmes führt zur signifikanten Veränderung des SPR-Signals wegen des gestiegenen Brechungsindex.

2.3.2.3 Quarzkristall-Mikrowaage

Der physikalische Grundeffekt, der bei der Quarzkristall-Mikrowaage-Technik (engl. **quartz crystal microbalance (QCM)**)^{142–144} ausgenutzt wird, ist die inverse Piezoelektrizität von Quarz. Darunter wird die Eigenschaft des Quarz-Kristalls verstanden, durch Anlegung einer elektrischen Spannung zur Schwingung angeregt zu werden. Die Frequenz der Kristall-Schwingung hängt unter anderem von seiner Dicke ab. Zur Nutzung von QCM als massensensitive Technik werden alle sonstigen Faktoren, die die Schwingfrequenz beeinflussen, konstant gehalten. Die Anlagerung von Analyten an die Kristalloberfläche verändert die Dicke des Sensors und somit

die Frequenz seiner Schwingung. Die eigentliche Messgröße eines QCM-Experiments ist die Frequenzänderung. Sauerbrey leitete in einer Gleichung den quantitativen Zusammenhang zwischen der Frequenzänderung Δf und der entsprechenden Massenanlagerung Δm ab. Unter der Voraussetzung einer starren Anlagerungsschicht besteht folgender mathematischer Zusammenhang:

$$\Delta f = - \frac{2 \cdot f_0^2}{A \cdot \sqrt{\rho_Q \mu_Q}} \cdot \Delta m \quad (6)$$

In der Sauerbrey-Gleichung (6) ist f_0 die Eigenfrequenz, A die Fläche, ρ_Q die Dichte und μ_Q das Schermodul des Quarzsensors¹⁴⁵.

Das zentrale Element eines QCM-Gerätes ist also ein Quarz-Kristall, der Teil eines Stromkreises ist. Gleichzeitig kann eine der Kristallflächen Teil eines Fließsystems sein, das die Analytlösung enthält (Abbildung 12 (a)). Die Sensorfläche, die in Kontakt mit der Messlösung steht, ist mit einem Goldfilm beschichtet, der die Anlegung der Spannung an den Quarzkristall sowie die Ankopplung von spezifischen Fängermolekülen erlaubt. Während des QCM-Experiments wird die Analytlösung über die Sensorfläche geleitet und dabei durchgehend die zeitabhängige Frequenzänderung gemessen. In einer Flüssigkeit hängt die Frequenz der Kristallschwingung aber auch stark von der Viskosität und von der Dichte der umgebenden Lösung ab. Deshalb müssen die Messlösungen vor und nach der Analytbindung identisch sein, um den Einfluss von Viskosität-Änderungen der Lösung auf die Frequenz auszuschließen (Abbildung 12 (b)).

Eine nützliche Erweiterung der QCM-Technik stellt die Messung der Dissipation der Schwingung dar. Dazu wird der Kristall durch eine Puls-Anregung zum Schwingen gebracht, indem die angelegte Spannung periodisch an- und ausgeschaltet wird. Im ausgeschalteten Zustand wird der Abfall der Oszillation aufgenommen. Die dimensionslose Größe Dissipation ist gegeben durch (7)¹⁴⁶:

$$D = \frac{E_z}{2 \cdot \pi \cdot E_g} \quad (7)$$

E_z in Gleichung (7) steht für die Energie, die während einer Oszillationsperiode verloren geht und E_g ist die Gesamtenergie, die im oszillierenden System gespeichert ist. Das dissipative Verhalten der Schicht erlaubt Aussagen über ihre Starrheit. Starre, flach am Sensor liegende Filme nehmen nur wenig Wasser auf, die Energie wird nur langsam zerstreut. Als Effekt tritt eine

Theoretische Grundlagen

Dämpfung der Schwingung auf, wobei die die Dissipationswerte sinken. Stark aufgequollene, flexible Filme mit hohem Wassergehalt im Netzwerk verlieren dagegen schnell und viel Energie durch Zerstreuung, die Dissipation ist hoch.

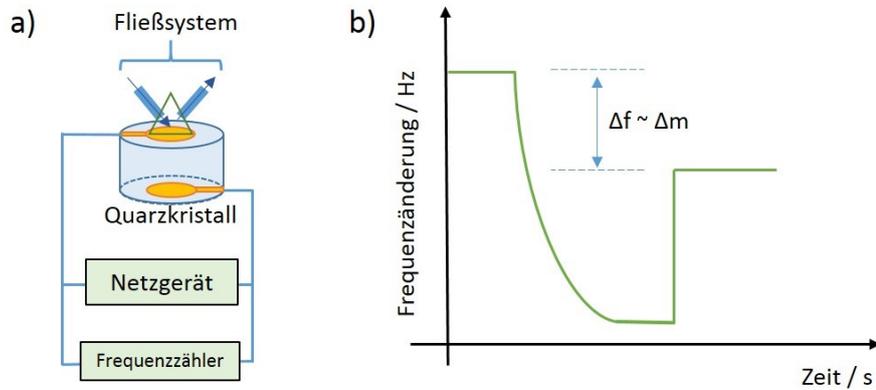


Abbildung 12: (a) Schematischer Aufbau der Elementen eines QCM-Gerätes; (b) Beispiel eines QCM-Sensorgramms – zur Bestimmung der Massenveränderung wird die Frequenzänderung nach dem Spülvorgang bestimmt.

In mehreren Arbeiten wird die Benutzung der Quarzkristall-Mikrowaage zur Untersuchung schaltbarer Eigenschaften von immobilisierten responsiven Materialien beschrieben^{147–158}.

Comminges et al. zeigen mittels QCM mit Aufzeichnung der Frequenz- und der Dissipationsänderung, dass der strukturelle Schaltvorgang einer thermoresponsiven Multischicht ein mehrstufiger, reversibler Prozess ist⁵³.

Ma et al. beschreiben eine temperaturabhängige QCM-Messung an immobilisiertem Poly(N-isopropylacrylamid)¹⁵⁷. Es wird eine mathematische Methode entwickelt, die die Quantifizierung des Wasserverlusts beim Heizen ermöglicht.

Ishida et al. untersuchen das immobilisierte thermoresponsive Poly(N-isopropylacrylamid)¹⁵⁹. Die Auftragungen der Dissipations- und der Frequenzänderung gegen die Temperatur zeigen eine starke Abweichung des Verlaufs im Bereich von ca. 32 °C. Es ist eine starke Absenkung der Dissipation in Folge des Schaltvorganges zu beobachten, die durch zugenommene Starrheit des kollabierten Films zu erklären ist. Laut Ishida sollte der durchgehende Wasserverlust bei Temperaturerhöhung, der in der Dissipation-Temperatur-Auftragung zu sehen ist, entsprechend der Sauerbrey-Gleichung zur Frequenzerhöhung führen. Jedoch sinkt die Frequenz dramatisch

im Bereich rund um die Phasenübergangstemperatur. Zur Begründung wird eine stärkere Bindung des kollabierten Films zum Sensor angenommen, deren Wirkung der einer effektiven Massenlagerung gleicht.

2.4 Methoden zur chemischen Modifizierung von Gold-Oberflächen mit Polymeren

2.4.1 Klassifizierung der Modifizierungsmethoden

Applikative Eigenschaften von mit Polymeren chemisch modifizierten Elektroden sind auch stark von der Herstellungsmethode abhängig. In den letzten Jahrzehnten ist die Entwicklung auf dem Gebiet der Modifizierungstechniken weit fortgeschritten, so dass für jede individuelle Zielmodifizierung prinzipiell mehrere Methoden geeignet sind. Die Auswahl erfolgt sinnvollerweise mit Hinblick auf die gewünschte Anwendung. Parameter wie Schichtdicke, Geometrie der Schicht (zum Beispiel Bürste, Film, Nanostruktur), Vernetzungsgrad, Stabilität und Preis variieren beim gleichen Substrat und gleichen Polymer je nach Modifizierungstechnik. Hier werden ausschließlich Methoden zur Modifizierung von festen Substraten diskutiert, da in dieser Arbeit hauptsächlich feste Gold-Oberflächen eingesetzt werden.

Für einen guten Überblick über die große Anzahl der in der Literatur beschriebenen Methoden zur Oberflächenmodifizierung mit Polymeren ist eine sinnvolle Klassifizierung unumgänglich. In Abbildung 13 sind drei Möglichkeiten der Klassifizierung angegeben. In der ersten Kategorie (Abbildung 13 a) wird der eigentliche Prozess der Material-Aufbringung außer Acht gelassen – hier steht die Natur der Bindung des Polymers mit der Oberfläche im Mittelpunkt. Die Voraussetzung zur Ausbildung unterschiedlicher Bindungen ist das Vorhandensein entsprechender struktureller Bausteine – zum Beispiel geladener Gruppen für elektrostatische Wechselwirkungen oder geeigneter reaktiver Reaktionspartner für kovalente Bindungen. Die Stärke der Bindungen ist ein Anhaltspunkt zum Abschätzen der Stabilität der Polymerschicht. Die kovalente Anbindung der Polymere an chemisorbierte Anker-moleküle an der Oberfläche wird tendenziell zur Herstellung modifizierter Elektroden mit längerer Lebensdauer bevorzugt.

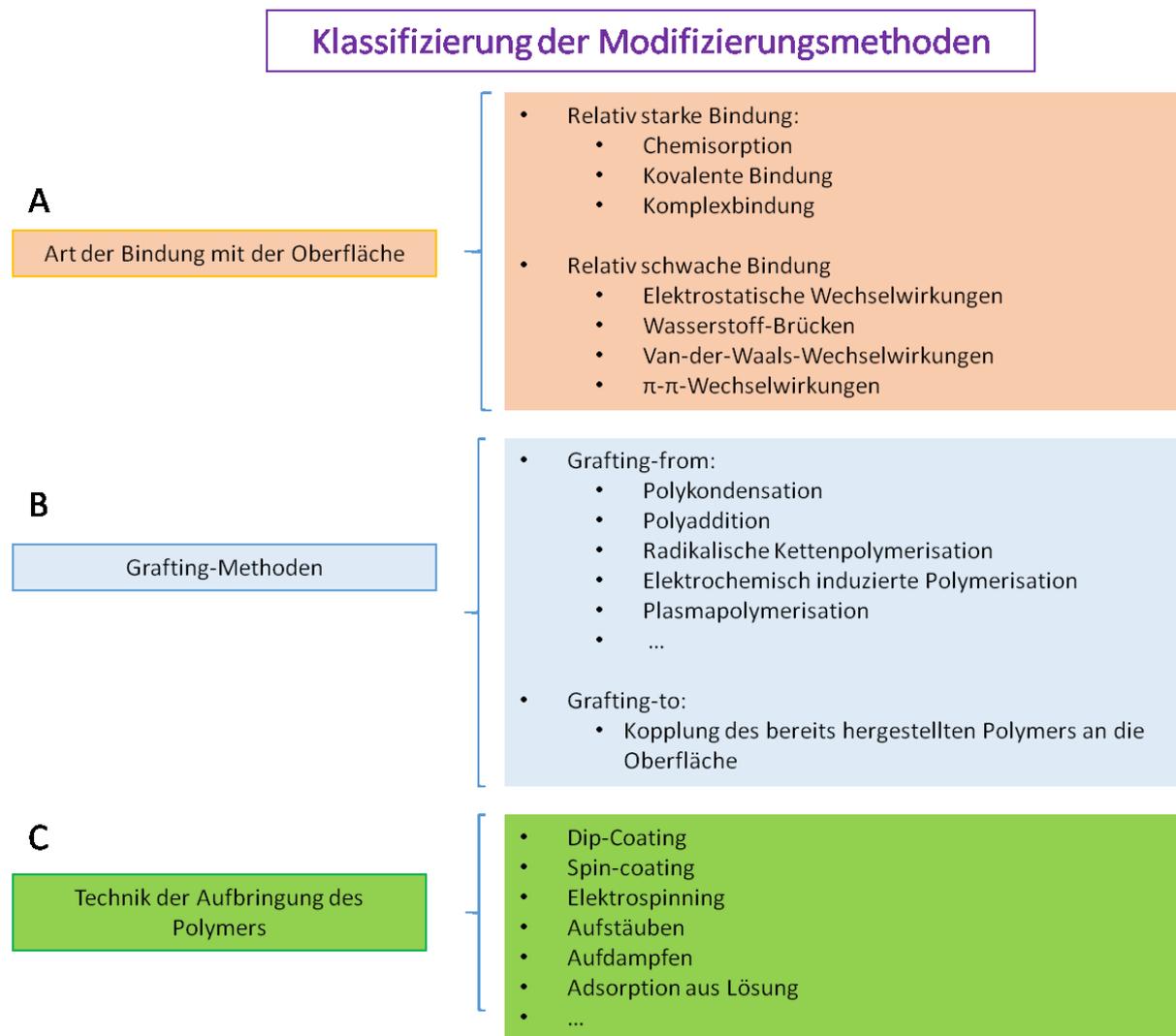


Abbildung 13: Klassifizierung der Methoden zur Polymermodifizierung.

Weitere zwei Methoden der kovalenten Polymer-Immobilisierung sollen an dieser Stelle vorgestellt werden – die „grafting-from“- und die „grafting-to“-Methoden (Abbildung 13 b)^{22,160,161}. Zu der „grafting-from“-Klasse gehören alle Verfahren der Oberflächen-initiierten Polymerisation. Prinzipiell ist jeder Mechanismus der Polymerbildungsreaktion für Reaktanden in Lösung auch für Oberfläche anwendbar. Dafür muss an die Oberfläche ein geeignetes Molekül immobilisiert werden, das die fortlaufende Monomerkopplung startet. Bei radikalischen Kettenwachstumsreaktionen sind solche Startmoleküle typischerweise Peroxo-, Azo- oder Photo-Initiatoren, deren Zerfall zu reaktiven Radikalen thermisch oder photolytisch induziert werden kann. Zwei weitere Methoden aus der „grafting-from“-Klasse sind speziell für Elektroden-Modifizierung von besonderer Wichtigkeit. Es handelt sich dabei um die Elektropolymerisation und die elektrochemisch induzierte Polymerisation. Die „grafting-from“-Technik ist die Methode der Wahl zur Herstellung dicker, stabiler Polymerfilme an festen Substraten²⁵. Diese

Theoretische Grundlagen

Methode ist aber auch mit Nachteilen verbunden. So ist das Verhältnis von eingesetzten Edukten zum immobilisierten Produkt (die Ausbeute) gering. Auch entfällt hier die Möglichkeit das immobilisierte Polymer mit den klassischen Methoden der Analyse von Syntheseprodukten, wie NMR und Massenspektrometrie, zu untersuchen, da die Menge des hergestellten Produktes gering ist.

Bei der „grafting-to“-Methode erfolgt die Modifizierung von Oberflächen mit Polymeren in zwei Schritten. Erst wird in einem getrennten Ansatz die Polymerisation durchgeführt. Nach Ende der Reaktion wird das Polymer in einem zweiten Schritt an die Oberfläche gekoppelt¹⁶¹. Für die kovalente Modifizierung ist das Vorhandensein reaktiver Gruppen in der Polymerkette sowie geeigneter reaktiver Partner an der Oberfläche notwendig. Solche reaktive Gruppen sind zum Beispiel die Aminogruppen oder die Carboxygruppen, die nach Aktivierungsschritt miteinander unter Amidbrücken-Bildung unter milden Bedingungen reagieren. Auf den aufwendigen und teuren chemischen Aktivierungsschritt kann verzichtet werden, wenn das Polymer eine photoaktive Kopplungsgruppe wie Benzophenon trägt. Die Polymerschichten, die nach der „grafting-to“-Methode hergestellt werden, sind tendenziell weniger dicht und relativ dünn. Der große Vorteil der „grafting-to“-Methode ist die Möglichkeit das Polymerisationsprodukt vor der Immobilisierung zu charakterisieren. Mittels Größenausschluss-Chromatographie kann es auch in Größen-Fractionen getrennt werden, was die Bildung homogener Schichten von Polymerketten definierter Mol-Masse erlaubt. Ebenfalls kann bei der „grafting-to“-Methode eine eventuell unerwünschte Filmvernetzung unterbunden bzw. eingestellt werden.

Schließlich kann der eigentliche Prozess der Polymeranbringung zur Klassifizierung der Modifizierungsmethoden betrachtet werden. Die für Laborpraxis am meisten relevanten Techniken sind in Abbildung 13 c aufgeführt. Die einfachste Methode ist die Dip-Coating-Methode. Das zu modifizierende Substrat wird hierbei in die Polymerlösung eingetaucht, nach dem Immobilisierungsschritt herausgenommen und anschließend getrocknet¹⁶². Der große Vorteil dieser Methode ist seine kleinere Variationsbreite im Vergleich zu anderen Verfahren. Ebenso ist diese Technik von der Geometrie der Substrate näherungsweise unabhängig. Die Rotationsbeschichtungen, wie beispielsweise Spin-Coating, sind dagegen nur für flache Substrate geeignet. Damit lässt sich aber die Schichtdicke gut steuern. Alle in Abbildung 13 c aufgeführten Methoden sind sowohl zur kovalenten wie auch zur nicht-kovalenten Polymerimmobilisierung geeignet. Der „grafting-from“-Modus ist mit Rotationsbeschichtung und Elektrosponnen nicht kombinierbar.

2.4.2. Photochemie der Benzophenon-Gruppe

Photoreaktive funktionelle Gruppen und Verbindungen sind chemische Spezies, die aktiviert durch UV-Strahlung zur Kupplung mit Zielmolekülen verwendet werden können. Solche Verbindungen werden auch als Photoinitiatoren zum Start von Polymerisationen verwendet. In Kettenwachstumsreaktionen werden je nach Mechanismus radikalische, anionische und kationische Photoinitiatoren unterschieden. Bei der Bestrahlung mit UV-Licht wird deren Zerfall (oder energetischer Übergang) in Radikale oder positiv bzw. negativ geladene Spezies induziert, die das Kettenwachstum starten. Die wichtigste Polymerisationsreaktion ist die radikalische Polymerisation von Alkenen. Die bekanntesten Vertreter der photoaktivierten Radikalstarter sind Azobis(isobutyronitril) (AIBN), Peroxide und aromatische Ketone. Ein nützlicher und oft eingesetzter Vertreter aromatischer Ketone ist Benzophenon.

Der lichtinduzierte Elektronen-Übergang aus dem nichtbindendem n-Orbital in das leere π^* -Orbital (n- π^* -Übergang) resultiert in der Bildung eines Biradikals, das durch die Nachbarschaft zu zwei Phenylringen und der daraus folgenden Delokalisierung des ungepaarten Elektrons eine Stabilisierung erfährt¹⁶³⁻¹⁶⁵. Trotz dieser Stabilisierung behält das Biradikal eine hohe Reaktivität und eher geringe Selektivität bei. Dies befähigt das Benzophenon zu Radikal-vermittelten Reaktionen mit nahezu jedem organischem Material. Die Addition an elektronenreiche Verbindungen oder funktionelle Gruppen wird in Gegenwart solcher bevorzugt. Bei deren Abwesenheit erfolgt zum Beispiel eine Wasserstoff-Abstraktion. In Abbildung 14 ist der Ablauf der Reaktion von Benzophenon-Biradikal mit Poly(MEO₂MA) dargestellt.

Die photochemische Reaktion von Benzophenon mit unterschiedlichen Verbindungen ist unter vielen Aspekten (Einfluss der Lösungsmittels, Selektivität und Geschwindigkeit der Reaktion) gut untersucht. Zur gezielten Steuerung der chemischen Eigenschaften wurden viele Benzophenon-Derivate entwickelt. Zwei Klassen von Benzophenon-Derivaten sind für die Modifizierung von Elektroden mit (responsiven) Polymeren von besonderem Interesse. Das sind zum einen makromolekulare Verbindungen, die Benzophenon-Einheiten in den Seitenketten tragen. Solche photosensitiven Polymere lassen sich an Elektroden kovalent immobilisieren^{166,167}. Dazu muss die Oberfläche allerdings organische Anker-moleküle aufweisen – zum Beispiel chemisorbierte Monoschichten aus kleinen Molekülen. Die andere Klasse von Derivaten ist modifiziertes Benzophenon, das funktionelle Gruppen trägt, die an feste Substrate binden können – zum Beispiel Thiole oder Phosphane für Gold oder Alkoxysilane für Glas^{136,168-171}. Die so modifizierte Schicht ist photoaktiv und erlaubt so bei UV-Bestrahlung die Immobilisierung von

Polymere. Die zwei Strategien zur Benzophenon-vermittelten Polymerimmobilisierung führen wahrscheinlich zu unterschiedlich stark vernetzten Polymerfilmen.

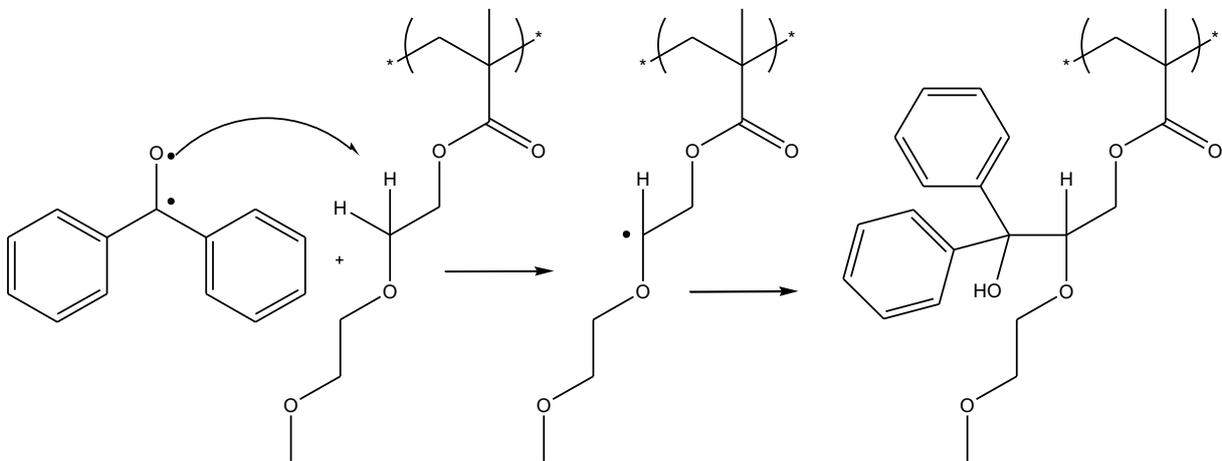


Abbildung 14: Schematische Reaktion von photoaktiviertem Benzophenon mit Poly(MEO₂MA) unter Wasserstoff-Abstraktion und anschließender Rekombination der Radikale.

In Abbildung 14 rekombinieren die zwei nach der Wasserstoff-Abstraktion gebildeten Radikale direkt unter Verlust der Reaktivität. Prinzipiell sind auch andere Reaktionen möglich, wie zum Beispiel weitere H-Abstraktionen, Rekombinationen von zwei Benzophenonen oder zwei Polymerradikalen. Die direkte Rekombination für Reaktionen an Polymerketten wird aber als die wahrscheinlichere angesehen¹⁷². Während die H-Abstraktion von Benzophenon-tragenden Polymeren an Fängermolekülen an der Oberfläche zur kovalenten Ketten-Immobilisierung führt, führt die H-Abstraktion an benachbarten Ketten zu einer Polymervernetzung. Die Polymervernetzung im Falle von Benzophenon an der Oberfläche kann nur stattfinden, wenn das nach H-Abstraktion gebildete Radikal eine andere Reaktion als die Rekombination eingeht.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Zusammensetzung und Löseeigenschaften der untersuchten Polymere I – III

Ein zentrales Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung einer thermoresponsiven Polymerschicht an Goldoberfläche für einen eventuellen Einsatz in schaltbaren elektrochemischen Biosensoren. Dabei sollen die eingesetzten Polymere *in vivo* wie *in vitro* biokompatibel sein, um das zu untersuchende System durch die Analyse nicht zu verändern bzw. nicht zu verfälschen. Auch sollen Biomoleküle nicht unspezifisch an diese Polymere binden. Die für diese Arbeit gewählten Polymere sind aus der Gruppe der Poly(oligo(ethylenglykol)methacrylate) (Poly(OEGMAs))^{77–81}. Die Poly(OEGMAs) sind im Hinblick auf die gestellten Anforderungen aus mehreren Gründen eine gute Wahl. So tragen die Poly(OEGMAs) unterschiedlich lange Ethylenglycol-Seitenketten, die die hohe Biokompatibilität des Polymers bestimmen^{44,173}. Mehrere Studien belegen, dass die Poly(OEGMAs) nicht toxisch und nicht immunogen¹⁷⁴ sind. Die Poly(OEGMAs) binden nicht unspezifisch an Biomolekülen⁴³. Diese Klasse der Polymere ist gut in Wasser und in physiologischen flüssigen Medien löslich. Außerdem zeigen diese Polymere (thermo)responsives Verhalten in physiologisch relevanten Temperaturbereichen^{42,43}. Die Möglichkeit der Copolymerisation von Monomeren mit reaktiven funktionellen Gruppen erweitert die chemischen Eigenschaften dieser Polymere. So können zusätzliche funktionelle Gruppen zur kovalenten Fixierung der Polymerketten an Oberflächen dienen⁸⁹. Auch die Anbindung von weiteren Materialien, z.B. von Bioerkennungselementen kann dadurch ermöglicht werden⁴².

Die Struktur und die Zusammensetzung der drei in dieser Arbeit untersuchten Polymere ist Abbildung 15 zu entnehmen. Die Synthese der Polymere I – III erfolgt nach einer bereits gut etablierten Methode aus den Oligo(ethylenglykol)methacrylaten (siehe Kapitel 5.1 im Anhang)^{87,89,175}. Die Polymere wurden von Dr. Jens Buller (Arbeitsgruppen Dr. Erik Wischerhoff/Prof. André Laschewsky) synthetisiert und bereitgestellt. Die Polymere wurden erst synthetisiert und dann in einem weiteren Schritt an die Oberfläche gebunden. Vorteilhaft ist bei dieser Strategie vor allem die Möglichkeit ein gut definiertes Polymer einzusetzen und dieses eingehend vor der Immobilisierung zu untersuchen. Die thermische Schaltbarkeit dieser Polymere in Lösung ist eine optisch leicht auslesbare Eigenschaft und wurde für jedes Polymer

untersucht. Die thermoresponsiven Eigenschaften der Polymere in Lösung geben eine Orientierung bei Untersuchungen dieser nach der Immobilisierung an der Elektroden-Oberfläche.

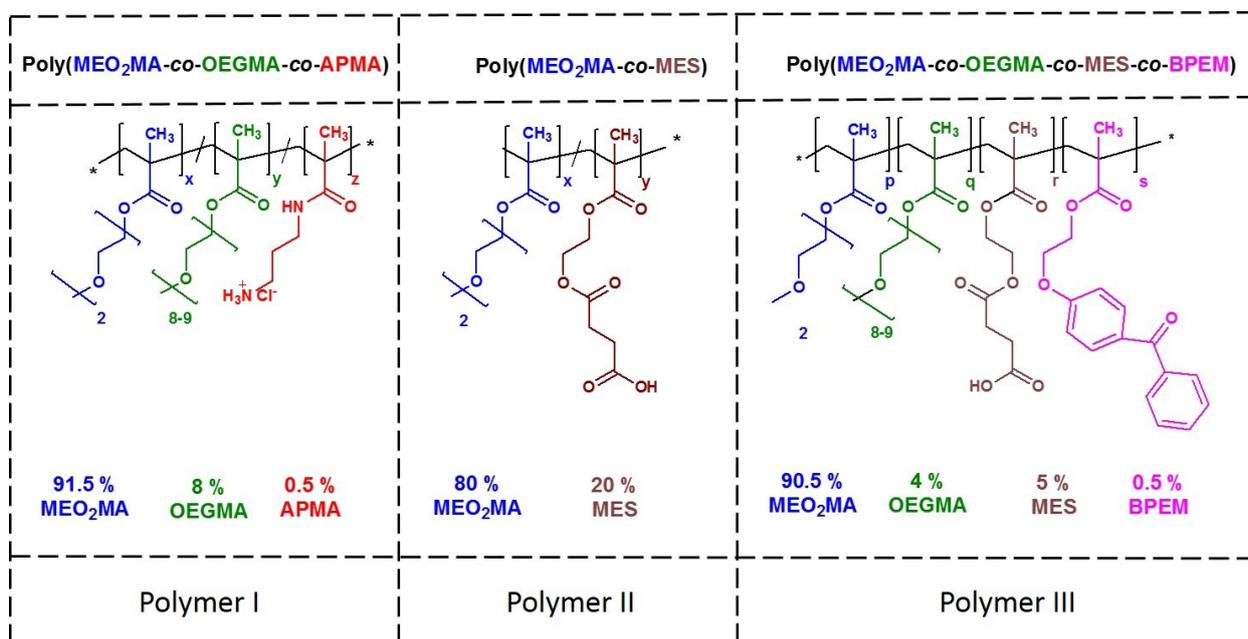


Abbildung 15: Strukturformel und chemische Zusammensetzung der untersuchten Copolymere I–III.

Die Zusammensetzung der synthetisierten Polymere wurde der Fragestellung entsprechend angepasst. Das Polymer I enthält *N*-(3-Aminopropyl)methacrylamidhydrochlorid (APMA) als Comonomer. Die funktionelle Gruppe erlaubt eine kovalente Anbindung des Polymers an aktivierte Carbonsäuren-Ankergruppen an der Oberfläche der Goldelektrode. Der Anteil von APMA (0.5 %) ist klein, die erwartete Dicke des Polymer I-Films ist ebenso gering. Die Dicke des Polymer-Films ist für Anwendungen in elektrochemischen Biosensoren von hoher Bedeutung. Einerseits darf die Dicke nicht zu hoch sein, damit der Zugang der signalgebenden Redoxspezies zur Elektrodenoberfläche gewährleistet ist. Auf der anderen Seite muss die Dicke des Films hoch genug sein, damit deren Einfluss auf die Eigenschaften der Grenzfläche analytisch ausgenutzt werden kann.

Das Polymer II enthält Carbonylgruppen-tragendes 2-Succinyloxyethylmetacrylat (MES) mit einem hohen Anteil von 20 %. Der hohe Anteil von MES wurde gewählt, um die Dicke des immobilisierten Polymer II-Films deutlich zu erhöhen. Außerdem können an Polymer II (nach Aktivierung der Carbonsäure-Gruppen) TAG-Peptide anbinden, die die Anwendung des Films im Bereich der Bioanalytik ermöglichen. Das Polymer II ist aufgrund des hohen Anteils an

Ergebnisse und Diskussion

Carboxygruppen auch stark pH-responsiv. Diese Eigenschaft erlaubt die Justierung der Übergangstemperatur des Polymers II durch die Einstellung des pH-Wertes des umgebenden Mediums.

Das Polymer III enthält nur 5 % MES, als zusätzliches Comonomer wurde allerdings das Benzophenon-tragende 2-(4-Benzoylphenoxy)ethylmethacrylat (BP EM) ausgewählt. Dieses Comonomer erlaubt die photoinduzierte Anbindung des Polymers an die Goldoberfläche sowie gleichzeitig die Vernetzung des erhaltenen Films. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Dicke photovernetzter Filme sehr hoch sein kann^{89,175}. Dieses Polymer erlaubt vermutlich Polymerfilme, die noch dicker sind als bei Polymer II. Die Funktion der MES-Gruppen ist die gleiche wie bei Polymer II.

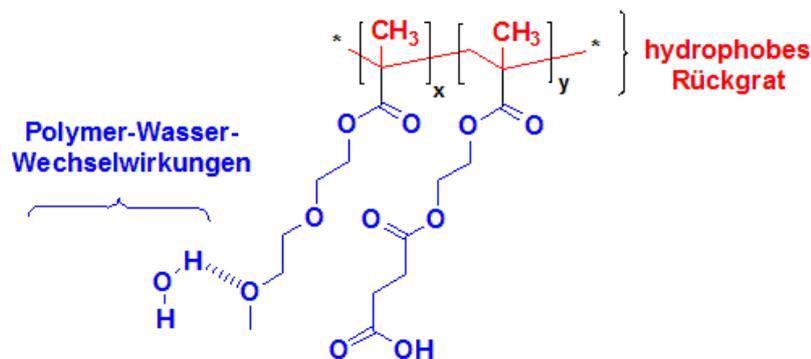


Abbildung 16: Darstellung der Wasserstoff-Brücken am Beispiel der Polymers II.

Die drei Polymere sind jeweils sehr gut in Wasser löslich. Die Wasser-Löslichkeit wird durch die hydrophilen Oligo(ethylenglykol)-Seitenketten vermittelt, die Wasserstoffbrücken mit Wasser ausbilden können (Abbildung 16).

Auch sind die Polymere I – III in vielen polaren organischen Lösungsmitteln wie zum Beispiel Dimethylformamid und Ethanol löslich. Keines der Polymere löst sich jedoch in stark unpolaren Lösungsmitteln wie Cyclohexan oder Pentan (Tabelle 3). Offensichtlich überwiegt bei Raumtemperatur der hydrophile Charakter der Seitenketten gegenüber dem hydrophoben Charakter des polymeren Rückgrates.

Tabelle 3. Löslichkeit der untersuchten Polymere I – III in unterschiedlichen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur.

Polymer	Löslichkeit in			
	Wasser	DMF	Ethanol	Cyclohexan
Polymer I	+	+	+	-
Polymer II	+	+	+	-
Polymer III	+	+	+	-

3.2 Temperaturverhalten der Polymere I – III in Lösung

Zur Untersuchung der thermischen Eigenschaften der Polymere I-III in unterschiedlichen (wässrigen) Lösungen wurden Transmissionsmessungen (Turbidimetrie) sowie Dynamische-Lichtstreuung-Messungen unter Temperaturvariation durchgeführt.

In Abbildung 17 ist die Auftragung der Transmission gegen die Temperatur für die Polymer I-Lösung dargestellt. Die Transmission der Lösung ist bei tiefen Temperaturen sehr hoch, die Lösung erscheint optisch klar. Bei tiefen Temperaturen ist das Polymer vollständig gelöst. Beim anschließenden Heizvorgang sinkt die Transmission ab einer bestimmten Temperatur und erreicht nahezu den Wert Null bei Temperaturen über etwa 40 °C. Die Trübung tritt auf, wenn die Phasentrennung in eine Polymer-angereicherte und eine Polymer-verarmte Phase einsetzt, d.h., wenn die hydrophoben Polymer-Polymer-Wechselwirkungen überwiegen.

In dem in Abbildung 17 dargestellten Beispiel sinkt die Transmission der Polymerlösung im Temperaturbereich zwischen ca. 33 und 40 °C. Als Übergangstemperatur $T_{Ü}$ in diesem und weiteren Turbidimetrie-Experimenten wird diejenige Temperatur definiert, bei der die bei 25 °C gemessene Transmission um 50 % abgesunken ist. Für das Polymer I in 100 mmol/L KCl-Lösung liegt die Übergangstemperatur bei 35 °C. Die Übergangstemperaturen, die für weitere Lösungen der Polymere I – III bestimmt wurden, sind in der Tabelle 5 aufgelistet. Die bestimmten Werte stimmen sehr gut mit den in der Literatur gefundenen Werten für vergleichbare polymere Systeme überein. In der Tabelle 5 sind die Literaturwerte in Klammern zusammen mit der entsprechenden Referenz angegeben.

Ergebnisse und Diskussion

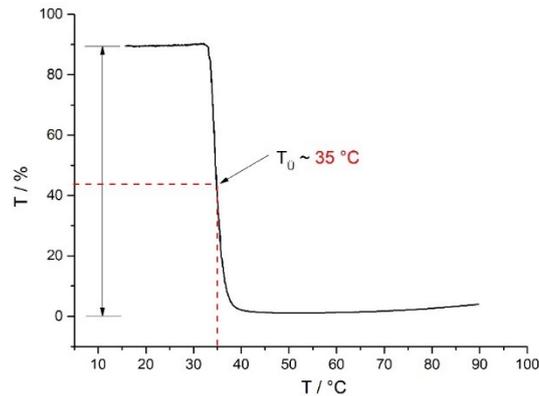


Abbildung 17: Transmission als Funktion der Temperatur für Polymer I-Lösung (1 mg/mL) in 100 mmol/L KCl-Lösung.

Wie oben diskutiert, resultiert die amphiphile Natur der Poly(OEGMAs) in nicht-linearem Temperaturverhalten der wässrigen Polymer-Lösungen. Die hydrophilen Anteile vermitteln die Löslichkeit der Polymere in Wasser bei tiefen Temperaturen, während die überwiegenden hydrophoben Wechselwirkungen bei erhöhten Temperaturen zum Ausfallen des Polymers führen. Die Lage der Übergangstemperatur kann durch den Anteil der hydrophilen Seitenketten beeinflusst werden. Die in der Tabelle 4 zusammengefassten Experimente verdeutlichen weitere Einflussfaktoren – die Anwesenheit von Salzen in der Lösung und der pH-Wert der Lösung.

Der pH-Wert der Polymer-Lösungen spielt eine sehr wichtige Rolle bei responsiven Polymeren mit deprotonierbaren Gruppen. Bei Polymer I ist dies die Amino-Gruppe, bei Polymeren II und III die Carboxyl-Gruppe. Das Polymer I liegt bei hohen pH-Werten ungeladen vor, während die Polymere II und III bei hohen pH-Werten negativ geladen vorliegen. Geladene Polymer-Ketten sind deutlich hydrophiler, so dass eine Verschiebung der Übergangstemperatur zu höheren Werten mit zunehmender Ladung erwartet wird. Außerdem wirkt die elektrostatische Abstoßung zwischen geladenen Polymermolekülen den hydrophoben Polymer-Polymer-Wechselwirkungen entgegen. Auch das sollte den Phasenübergang zu höheren Temperaturen verschieben.

Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 4. Trübungstemperaturen T_0 (am Punkt der Abnahme der Transmission um 50 %) für Polymere I –III, bestimmt in unterschiedlichen wässrigen Lösungsmitteln. In Klammern sind die in der Literatur gefundenen Werte für vergleichbare Polymere angegeben.

Polymer	Trübungspunkt			
	H ₂ O	KCl-Lösung, 100 mmol/L	Na ₂ HPO ₄ /NaH ₂ PO ₄ - Lösung, 100 mmol/L pH 6.7	Na ₂ HPO ₄ /NaH ₂ PO ₄ - Lösung, 100 mmol/L pH 5.3
Polymer I	38 °C (37 °C ⁸²)	35 °C	31 °C	35 °C
Polymer II	keine Schaltung	keine Schaltung	keine Schaltung (ebenso keine Schaltung bei pH 7 für ein ähnliches Polymer aus ⁸⁸)	26 °C
Polymer III	keine Schaltung	27 °C	64 °C	27 °C

In Abbildung 18 (a) sind die bei unterschiedlichen pH-Werten für Polymer III-Lösungen im 100 mmol/L Phosphatpuffer gemessenen Transmissionen aufgetragen. Wie erwartet steigen die Übergangstemperaturen mit steigendem pH-Wert der Lösung. Bei niedrigen pH-Werten (geringer als pH 4.8) ist das Polymer so hydrophob, dass es bereits bei Raumtemperatur nicht mehr löslich ist.

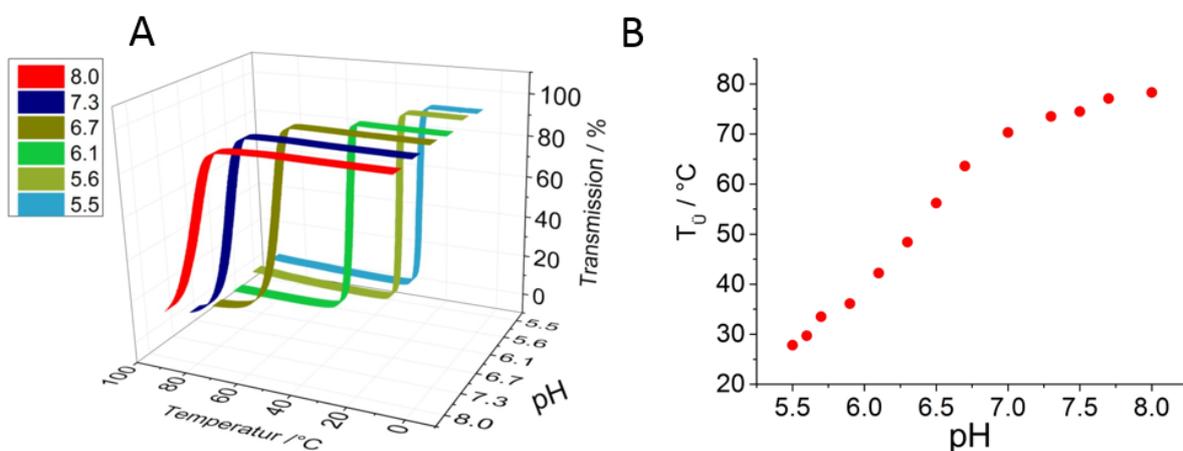


Abbildung 18: a) Transmissionskurven für Polymer III-Lösungen (1 mg/mL) in Natriumphosphat-Puffer (100 mmol/L) bei unterschiedlichen pH-Werten; b) Abhängigkeit der Übergangstemperaturen T_0 vom pH-Wert.

Einen guten Einblick in den Mechanismus und in die pH-Abhängigkeit des Schaltens erlaubt die Messung der dynamischen Lichtstreuung. Die Abbildung 19 zeigt den hydrodynamischen Radius für Polymerspezies in Abhängigkeit vom pH-Wert des Puffers für Polymer III (gemessen bei Raumtemperatur). Der Radius der Polymerteilchen in Lösungen bei pH 5.5 und bei

Ergebnisse und Diskussion

höheren pH-Werten liegt stets in Bereich zwischen 21 und 28 nm, die Lösungen sind optisch klar. Bei niedrigen pH-Werten kommt es zur Trübung der Lösungen und ein starker Sprung zu höheren Radius-Werten von etwa 400 nm ist zu beobachten. Die hydrophoben Wechselwirkungen führen zur Phasentrennung, die als Trübung der Lösung sichtbar wird. Beim Phasenübergang komprimieren die Polymerknäuel unter Wasserverdrängung und lagern sich zu größeren Aggregaten zusammen. Die Zusammenlagerung der Polymerketten wird durch Ladungen erschwert, so dass bei höheren pH-Werten die Übergangstemperaturen für das deprotonierbare Polymer III höher sein müssen (Abbildung 18 b). Ein ähnliches Verhalten zeigt das in der Literatur beschriebene Poly(MEO₂MA-co-OEGMA)⁴³. Für die dort beschriebenen polymeren Spezies wird unterhalb des Schaltpunktes ein hydrodynamischer Radius von 3.7 nm gemessen – nach dem erfolgten thermisch verursachten Phasenübergang bei ca. 40 °C, finden sich die Polymerketten zu größeren Aggregaten mit dem hydrodynamischen Radius von ca. 150 nm zusammen.

Interessant ist ebenfalls der Vergleich der Schalttemperaturen von Polymeren I – III in gleichen Lösungssystemen. In Phosphatlösungen bei pH 6.7 schaltet das Polymer II nicht, während das Polymer III erst bei 64 °C schaltet. Bei diesem pH-Wert sind die Polymere II und III offensichtlich weitgehend deprotoniert und stark negativ geladen - die hohe Hydrophilie und die gegenseitige elektrostatische Abstoßung der Polymerketten sind die Folge. Da das Polymer II etwa 4-mal mehr Carboxyl-gruppen enthält als Polymer III, schaltet es auch nicht mehr bei Temperaturen über 90 °C. Das Polymer I liegt bei pH 6.7 dagegen ungeladen vor, seine Schalttemperatur beträgt 31 °C.

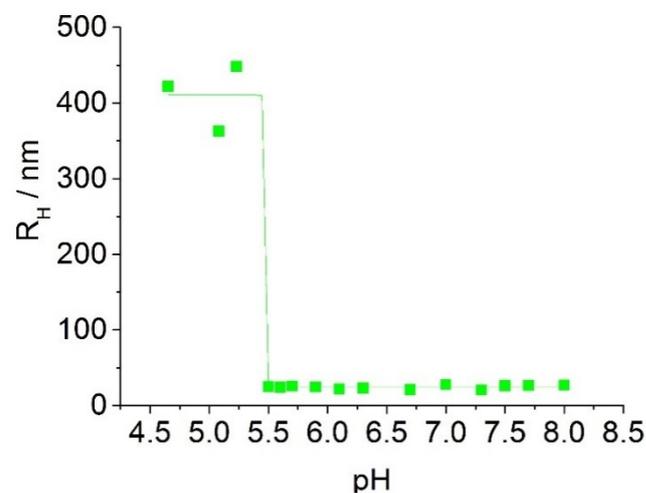


Abbildung 19: Hydrodynamischer Radius (bestimmt mittels DLS-Messungen) für Polymer III (1 mg/mL) in 100 mmol/L Natriumphosphat-Puffer unterschiedlichen pH-Wertes.

Ergebnisse und Diskussion

Die Abnahme des pH-Wertes auf pH 5.3 führt zur Erhöhung des Anteils geladener Gruppen bei Polymer I bzw. zur Abnahme der Ladung bei Polymeren II und III. Wie erwartet steigt die Übergangstemperatur für das Polymer I. Die Zunahme von 4 °C ist allerdings relativ moderat. Dagegen ist die Änderung von Übergangstemperatur für die Polymere II und III deutlich drastischer. Dies ist wiederum auf die geringere Menge protonierbarer Amino-Gruppen bei Polymer I zurückzuführen (0.5 %). Dieser Anteil beträgt bei Polymer II 20 % und bei Polymer III 5.5 %.

Die Anwesenheit von Salzen in der Lösung ist ein weiterer Faktor, der die Schalttemperatur der Polymere stark beeinflussen kann. Ionen in Lösung schirmen zu einem gewissen Grade die Ladungen an Polymeren ab. Somit ist die Abstoßung zwischen den Polymerketten in Lösungen hoher Ionenstärke geringer. Das Polymer I schaltet im entsalzten Wasser bei 38 °C. In 100 mmol/L KCl-Lösung schaltet es dagegen bereits bei 35 °C. Noch deutlicher ist dieses Phänomen beim Polymer III. Dieses Polymer schaltet nicht im entsalzten Wasser. Mit Kaliumchlorid in der Lösung findet der Phasenübergang bereits bei 27 °C statt. Die Verschiebung der Schalttemperaturen in KCl-Lösungen gegenüber diesen in deionisiertem Wasser ist nicht durch den pH-Wert bedingt, da KCl in Wasser neutral reagiert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die thermischen Eigenschaften der Polymere I, II und III in Lösung stark von deren Hydrophilie und der Ladung abhängig sind. Dies muss auch bei der Untersuchung dieser Polymere nach der Immobilisierung an der Elektrodenoberfläche beachtet werden.

3.3 Polymerimmobilisierung an die Goldoberfläche

Bei den untersuchten Poly(OEGMAs) handelt es sich um thermoresponsive Polymere mit kurzen Oligo(ethylenglykol)-Seitenketten. Weitere Seitenketten enthalten reaktive Gruppen, die einerseits der kovalenten Immobilisierung der Polymere an die Elektrodenoberfläche dienen. Andererseits erlauben diese funktionellen Gruppen die Ankopplung von weiteren Stoffen an die oberflächenfixierte Polymerschicht. Das Immobilisierungsprotokoll für die Polymere wurde jeweils individuell in Abhängigkeit von der Kopplungsgruppe und im Hinblick auf die erwünschte Schichtdicke entwickelt. Gemeinsam ist allerdings die „grafting-to“-Strategie zur Modifizierung.

Da die eingesetzten Poly(OEGMAs) nicht elektroaktiv sind, wurde für die elektrochemischen Untersuchungen mittels Cyclovoltammetrie (CV) und elektrochemischer Impedanzspektroskopie (EIS) das Redoxpaar $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ als signalgebende Komponente eingesetzt. Die Veränderung des elektrochemischen Umsatzes des Redoxpaares liefert Informationen über den Erfolg der Modifizierung sowie über das Ausmaß des Einflusses der Polymer-Schicht auf die elektrochemischen Grenzflächen-Eigenschaften. Eine weitere Technik, die in dieser Arbeit zur Untersuchung der Polymer-Immobilisierung eingesetzt wird, ist die Quarzkristall-Mikrowaage (QCM).

Die Untersuchungen zur Elektrodenmodifizierung werden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Beobachtung der thermisch induzierten Schaltung des immobilisierten Polymers erfolgt cyclovoltammetrisch in Redoxpaar-Lösungen, wobei das komplette Messsystem (Zelle, Elektrode, Lösung) temperiert wird und an definierten Temperaturpunkten die Voltammogramm-Parameter Peakströme und Peakseparation bestimmt werden. Der Verlauf der Auftragungen dieser Parameter gegen die Temperatur erlaubt Aussagen zu stattgefundenen thermisch induzierten strukturellen Änderungen der polymeren Grenzfläche. Als unabhängige, nicht-elektrochemische Methoden zur Verifizierung der thermischen Schaltung werden die Oberflächenplasmonen-Resonanzspektroskopie (SPR) und die QCM-Technik eingesetzt.

Schließlich wird der Einsatz des Polymer-basierten Elektrodensystems als Matrix zur Ankopplung von unterschiedlichen Peptid-Rezeptoren untersucht. Dazu werden TAG-Peptide kovalent an die reaktiven Kopplungsgruppen der Polymerschicht gekoppelt. Der Einfluss der Peptid-Modifizierung auf die Schaltbarkeit des immobilisierten Filmes wird getestet.

3.3.1 Immobilisierung von Polymer I an Gold

Das reaktive Aminogruppen-haltige Polymer I kann kovalent an die Oberfläche von Gold gebunden werden. Es enthält APMA als Comonomer, das eine kovalente Anbindung des Polymers an aktivierte Carbonsäuren-Gruppen an der Goldoberfläche ermöglicht. Der Anteil von APMA (0.5 %) ist klein, die erwartete Dicke des Polymer I-Films ist somit gering. Die Dicke des Polymer-Films ist für analytische Anwendungen von hoher Bedeutung. Die Filmdicke für Polymer I ist erwartungsgemäß nicht zu hoch, so dass der Zugang der signalgebenden Redoxspezies zur Elektrodenoberfläche gewährleistet ist.

Die entwickelte Immobilisierungsstrategie ist in Abbildung 20 dargestellt. Zur Immobilisierung von Polymer I wird die Oberfläche im ersten Schritt mit Mercaptopropionsäure (MPA) modifiziert. Dieses Thiol wurde ausgesucht, da seine Reaktionszeiten zur Ausbildung der maximal belegten Schicht recht kurz sind^{8,176}. Außerdem wird der Zugang zur Elektroden-Oberfläche durch die MPA-Modifizierung nicht vollständig behindert, wie dies bei längeren Thiolen, wie zum Beispiel der 11-Mercaptoundecansäure (MUA), der Fall ist.

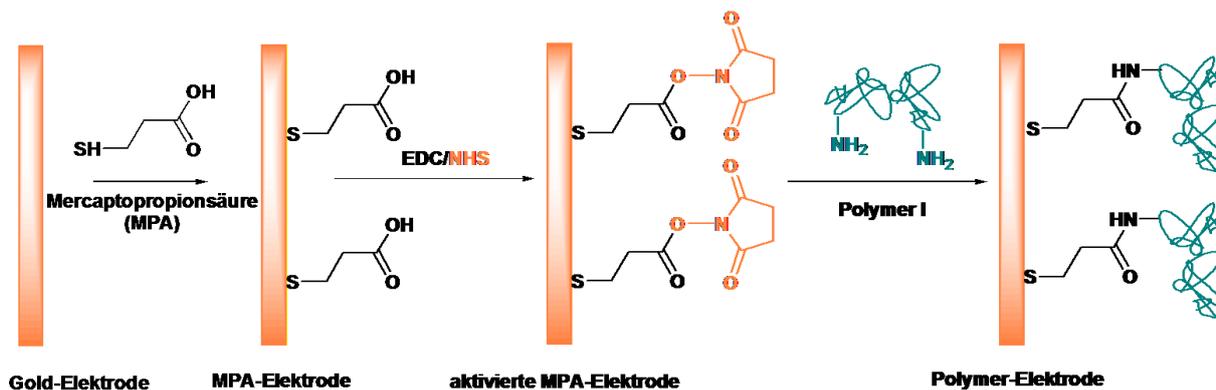


Abbildung 20: Schematische Darstellung der kovalenten Immobilisierung von Polymer I an die Goldoberfläche.

3.3.1.1 Elektrochemische Untersuchung der Immobilisierung von Polymer I an Gold

Die Untersuchung der Modifizierung von Polymer I an Gold erfolgte elektrochemisch mittels Cyclovoltammetrie und Impedanzspektroskopie. Dazu wurden die Gold-, MPA- sowie die Polymer I-Elektroden in Kaliumhexacyanoferrat-Lösung vermessen und die Stromantwort nach jedem Modifizierungsschritt verglichen. In Abbildung 21 (a) sind die für die drei Elektrodentypen gemessenen Cyclovoltammogramme dargestellt. Mit fortschreitender Modifizierung sinken die Peakströme deutlich von ca. $1500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ für die nackte Goldelektrode auf ca. $1000 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ für die MPA und $500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ für die Polymer I-Elektrode. Die Abflachung der beiden Peaks wird gleichzeitig von einer Zunahme der Peakseparation begleitet. Beide Effekte sind auf einen erschwerten Zugang des Redoxpaares zur Elektrode zurückzuführen.

Die zunehmende Isolierung der Elektrode kann auch gut mittels Impedanzspektroskopie gezeigt werden (Abbildung 21 (b)). Die für die drei Elektrodenarten gemessenen Impedanzspektren können gut mittels eines Ersatzschaltbildes, bestehend aus dem Lösungswiderstand R_L , dem Durchtrittswiderstand R_{CT} und dem Kondensator mit der Kapazität C_{DL} (Abbildung 21 (c)) beschrieben werden. Die Warburg-Impedanz wird im Ersatzschaltbild nicht mitberücksichtigt,

Ergebnisse und Diskussion

da die Messungen bei tiefen Frequenzen (dort, wo die Warburg-Impedanz tatsächlich auftritt) nicht durchgeführt wurden. Die nach diesem Ersatzschaltbild erstellten Fit-Kurven weichen nur unwesentlich von den Realwerten ab. In Abbildung 21 (d) sind die realen Messwerte sowie die zugehörige Fit-Kurve für eine Polymer I-Elektrode gezeigt.

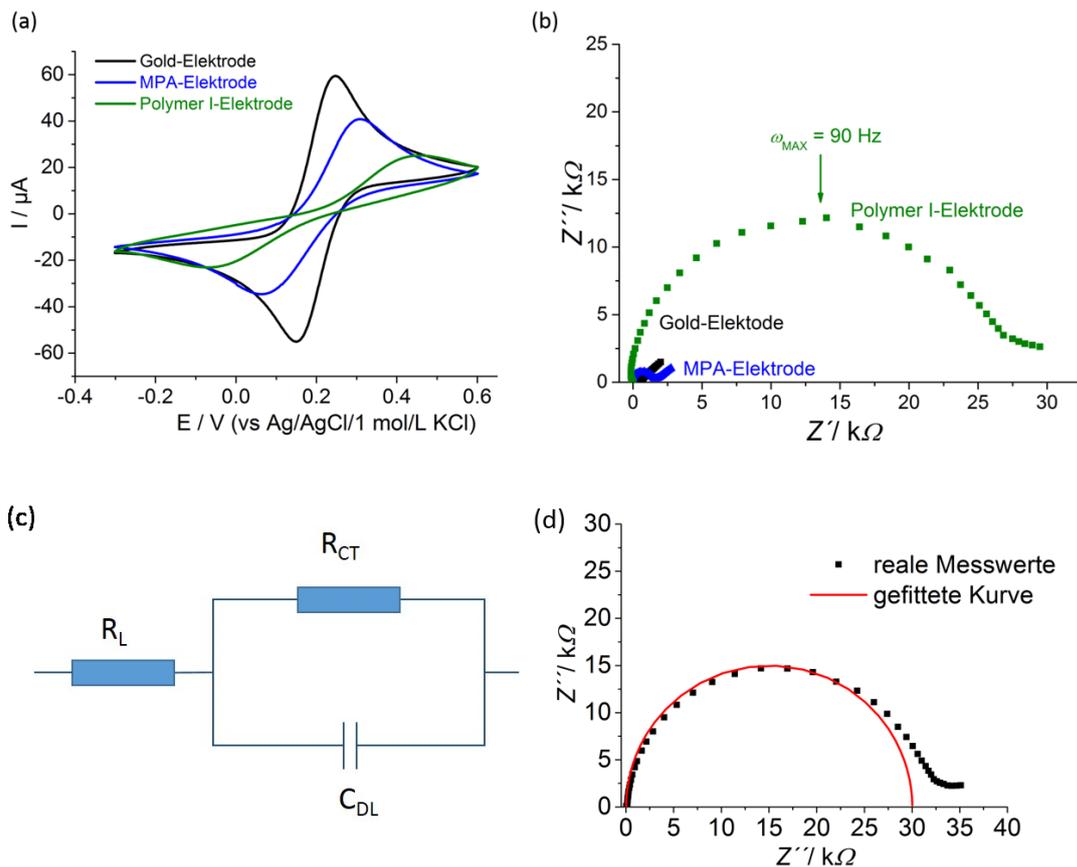


Abbildung 21: (a) Cyclovoltammogramm (gemessen mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s) und (b) Elektrochemisches Impedanz-Spektrum (gemessen am Ruhepotential (zwischen 190 und 210 mV) im Frequenzbereich 0,1 – 100 000 Hz, mit der Anregungsamplitude von 5 mV) für eine unmodifizierte Gold-Elektrode, eine MPA-Elektrode und eine Polymer I-Elektrode; Die Elektrodenoberfläche beträgt jeweils 0,04 cm². Gemessen bei Raumtemperatur in K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆]-Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Kaliumchlorid-Lösung; (c) Das zur Auswertung der Impedanzspektren benutzte Ersatzschaltbild; (d) Das Impedanzspektrum für eine Polymer I-Elektrode und die mittels Ersatzschaltbild bestimmte Fit-Kurve.

Die Durchschnittswerte der bestimmten Parameter sind in der Tabelle 6 angegeben. Hier und später werden ausschließlich die Stromwerte für die Oxidationspeaks angegeben. Die entsprechenden Stromwerte für die Reduktion unterscheiden sich allerdings kaum von denen für die Oxidation.

Ergebnisse und Diskussion

Die elektrochemischen Eigenschaften von Polymer-modifizierten Elektroden hängen unter anderem von der Dicke des Polymerfilms ab. Für das immobilisierte Polymer I wurde die Schichtdicke mittels Ellipsometrie bestimmt. Bei diesem Verfahren wird polarisiertes Licht in einem bestimmten Winkel auf die flache Probe geführt. Das reflektierte Licht wird vom Detektor aufgezeichnet, wobei seine Polarisations-eigenschaften von der Probe (abhängig z.B. von der Schichtdicke und Brechungsindex) geändert werden. Die Änderung der Polarisation wird durch die relative Phasenänderung Δ und durch die relative Amplitudenänderung $\tan(\Psi)$ beschrieben. Diese beiden Parameter werden gegen die Wellenlängen in einem Spektrum aufgetragen. Zur Bestimmung der relevanten Größen wie Brechungsindex oder Schichtdicke, wird ein Modell ausgewählt, welches die optischen Eigenschaften des Films möglichst gut beschreibt. In diesem Modell sind bekannte Größen (z.B. Brechungsindex) berücksichtigt. Die nicht bekannten Parameter werden im Rahmen eines Fittings so lange an die Messung angepasst, bis die mittels Fitting bestimmten Werte für Δ und $\tan(\Psi)$ soweit wie möglich mit den experimentell bestimmten Werten übereinstimmen. Die ellipsometrisch nach dieser Methode bestimmte Schichtdicke der Filme beträgt etwa 10 nm (berechnet mit dem Cauchy-Modell mit folgenden Parametern: Luft ($n=1.000$, $k=0$), organische Layer ($n=1.330$, $k=0$) und Gold-Layer ($n=0.0622$, $k=5.2055$)). Zdyrko et al. geben in ihrem Review einen Schichtdickenbereich für Polymer-Filme an, die mit der „grafting-to“-Methode hergestellt werden¹⁷⁷. Dieser liegt zwischen 10 und 30 nm. Der für das Polymer I erhaltene Schichtdickenwert liegt somit gut im Bereich der Literatur-bekanntesten Werte.

Tabelle 6. Zusammenstellung der Durchschnittswerte der CV- und EIS-Messparameter für die unmodifizierte Gold-Elektrode, die MPA-Elektrode und die Polymer I-Elektrode. Die Durchschnittswerte sind berechnet aus den Messwerten für drei individuelle Elektroden für jede Elektrodensorte.

Elektrodensorte	Cyclovoltammetrie		Impedanzspektroskopie	
	Peakstrom für Oxidationspeak $I_{p,OX} / \mu A/cm^2$	Peakseparation $\Delta E_P / mV$	Durchtrittswiderstand $R_{CT} / \Omega cm^2$	Kapazität $C_{DL} / \mu F/cm^2$
Gold-Elektrode (unmodifiziert)	1470 ± 162	99 ± 8	17.2 ± 2.30	35 ± 4.63
MPA-Elektrode	1110 ± 278	247 ± 52	59.60 ± 1.79	8.5 ± 0.6
Polymer I-Elektrode	536 ± 91	335 ± 34	1476.4 ± 383.87	6.5 ± 2.2

3.3.2 Immobilisierung von Polymer II an Gold

Das Polymer II enthält Carbonylgruppen-tragendes 2-Succinyloxyethylmetacrylat (MES) mit einem hohen Anteil von 20 %. Der hohe Anteil von MES wurde gewählt, um die Dicke des immobilisierten Polymer II-Films im Vergleich zum Polymer I-Film zu erhöhen. Das Carbonsäure-haltige Polymer II kann kovalent an die Oberfläche von Gold gebunden werden. Dazu muss die Oberfläche z. B. Amino-Funktionen aufweisen und das Polymer II vor der Kupplung aktiviert werden. Die Kupplung erfolgt dann unter Amidbildung. Die Aktivierung kann im Falle des Polymers II nicht mittels ECD/NHS-Chemie erfolgen, da die Umwandlung von Carbonsäure-Gruppen zu NHS-Estern die Polymerketten hydrophob macht. Das Polymer II fällt in Gegenwart von NHS sofort aus der Lösung aus und kann so nicht zur Kopplung mit den Aminogruppen an der Goldoberfläche benutzt werden. Aus diesem Grund erfolgte die Aktivierung von Polymer II mit EDC alleine. Die entsprechend entwickelte Immobilisierungsstrategie ist in Abbildung 22 dargestellt.

Zur Immobilisierung von Polymer II wird die Goldoberfläche im ersten Schritt mit Cystamin modifiziert. Das Disulfid Cystamin reagiert mit der Goldoberfläche unter Ausbildung einer SAM-Schicht, die analog auch aus Cysteamin-Lösungen herstellbar ist. Der Vorteil von Cystamin ist seine deutlich bessere Handhabung – es ist im Gegensatz zu Cysteamin nicht hygroskopisch, stabil und nicht giftig. Die Reaktionszeiten der beiden Substanzen zur Ausbildung einer maximal dichten SAM-Schicht sind ähnlich kurz¹⁷⁸. Auch ist der Zugang zur Elektrodenoberfläche nach Cystamin-Modifizierung nicht vollständig blockiert, der elektrochemische Umsatz ist somit weiterhin möglich.

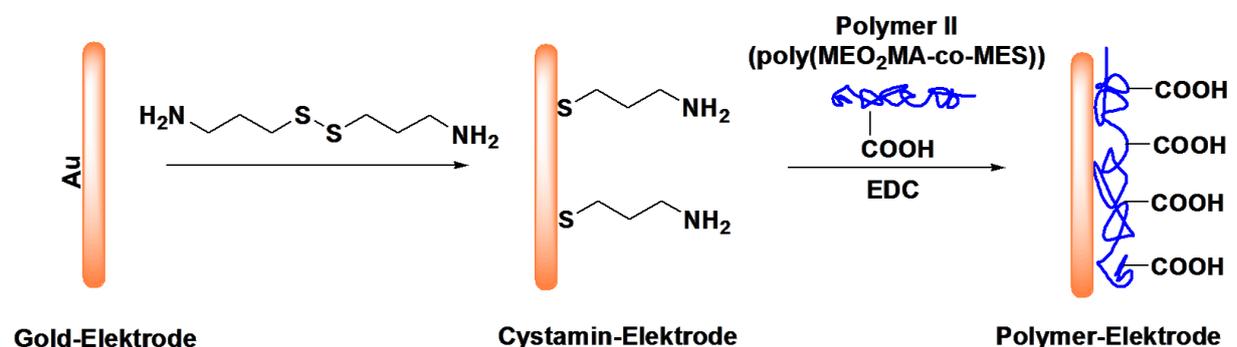


Abbildung 22: Schematische Darstellung der kovalenten Immobilisierung von Polymer II an die Goldoberfläche.

3.3.2.1 Untersuchung der Gold-Modifizierung mit Polymer II mittels Quarzkristall-Mikrowaage

Die QCM-Technik wurde benutzt, um die Modifizierung der Goldoberfläche mit Polymer II in Echtzeit zu beobachten. Dazu wird der Sensor außerhalb der Zelle mit Cystamin modifiziert. Die Ankopplung des Polymers II aus wässriger Lösung mit EDC erfolgt anschließend in der QCM-Zelle im Durchflusssystem bei gleichzeitiger Messung der Schwingfrequenz. In Abbildung 23 ist ein Sensorgramm für die Polymer II-Ankopplung angegeben. Die Schwingfrequenz (Obertonzahl $n = 3$, sensorspezifische Konstante $C = 17.7 \text{ ng/cm} \cdot \text{s}$) sinkt um circa 30 Hz. Die Frequenzabnahme um 30 Hz entspricht nach Gleichung (7) einer Massenzunahme von 177 ng/cm^2 . Es handelt sich also um einen relativ dünnen Polymer-Film. Zum Vergleich - die mittels Ellipsometrie bestimmte Schichtdicke des Polymer II-Films an der Gold-Oberfläche liegt im Bereich von ca. 15 nm.

Die Polymerschicht ist anschließend über Stunden im Flusssystem stabil, so dass die Frequenz nur unwesentlich verändert wird (Zunahme um ca. 1 Hz). Mit diesem Experiment konnte gezeigt werden, dass die kovalente Ankopplung der Polymerketten in dünnen, aber trotzdem stabilen Filmen resultiert. Ebenso ist die Inkubationszeit von einer Stunde in Polymer II-Lösung mit EDC ausreichend, um die möglichst hohe Belegung mit dem Polymer zu erreichen – nach dieser Zeit (vor dem Spülschritt) sinkt die Frequenz kaum noch.

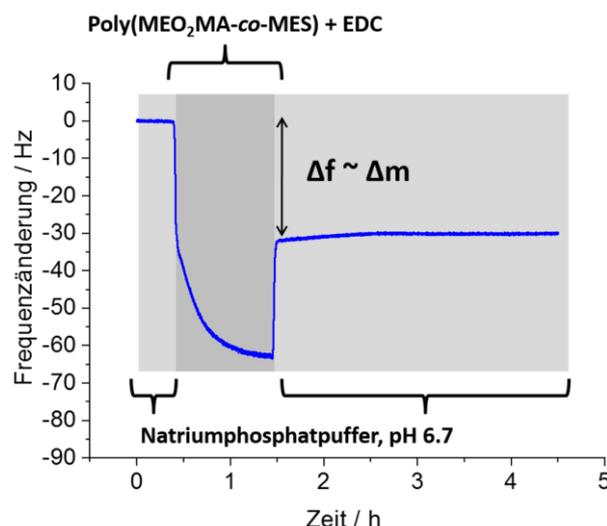


Abbildung 23: QCM-Sensorgramm zum Immobilisierungsprozess von Polymer II an die Goldoberfläche. Die Frequenzänderung bezieht sich auf die Obertonzahl $n = 3$. Gemessen bei der Durchflusgeschwindigkeit von $100 \mu\text{L}/\text{min}$ im $100 \text{ mmol}/\text{L}$ Natriumphosphatpuffer (pH 6.7).

3.3.2.2 Elektrochemische Untersuchung der Immobilisierung von Polymer II an Gold

Zusätzlich zum Nachweis der erfolgten Polymer II-Modifizierung mittels QCM wurden elektrochemische Untersuchungen (Cyclovoltammetrie und Impedanzspektroskopie) bei Raumtemperatur durchgeführt.

Die cyclovoltammetrischen Versuche haben gezeigt, dass die Oberflächeneigenschaften der Polymer II-Elektroden im Laufe der Messung verändert werden. Die anfangs hohen Ströme (bei geringer Peakseparation) sinken deutlich unter gleichzeitiger Erhöhung der Peakseparation. Erst nach etwa 200 Scans ist dieser Prozess abgeschlossen und der Signaloutput der Messung ist stabil. In Abbildung 24 (a) ist ein Overlay der aufeinander folgenden Scans 1-250 für eine Polymer II-Elektrode dargestellt. Die Scans nach Erreichen der Stabilisierung sind in Abbildung 24 (b) zu sehen. Der Oxidationspeakstrom sinkt von $908 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ auf $340 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (-38 %) und die Peakseparation steigt von 93 mV auf 381 mV (+ 24 %).

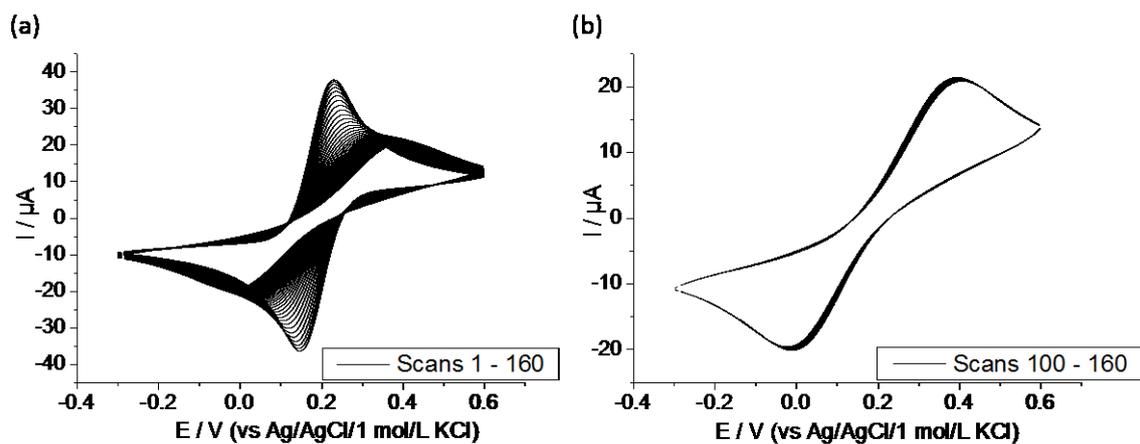


Abbildung 24: Sukzessiv aufgenommene Cyclovoltammogramme für eine Polymer II-Elektrode; (a) Scans 1-250 und (b) Scans 200-250; gemessen bei Raumtemperatur in $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphat-Lösung (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

Tabelle 7: Durchschnittswerte der CV- und EIS-Messparameter für die unmodifizierte Gold-Elektrode, die Cystamin-Elektrode und die Polymer II-Elektrode. Die Durchschnittswerte sind aus den Messwerten für drei individuelle Elektroden für jede Elektrodenart berechnet.

Elektrodenart	Cyclovoltammetrie		Impedanzspektroskopie	
	Peakstrom für Oxidationspeak $I_{p,OX} / \mu\text{A}/\text{cm}^2$	Peakseparation $\Delta E_p / \text{mV}$	Durchtrittswiderstand $R_{CT} / \Omega\text{cm}^2$	Kapazität $C_{DL} / \mu\text{F}/\text{cm}^2$
Gold-Elektrode (unmodifiziert)	1025 ± 103	87 ± 5	12.4 ± 1.6	38 ± 6
Cystamin-Elektrode	600 ± 93	216 ± 16	138.8 ± 9.6	13 ± 3
Polymer II-Elektrode	343 ± 93	258 ± 12	713.65 ± 235.2	10 ± 2.5

Die elektrochemische Impedanzspektroskopie liefert einen weiteren Nachweis der erfolgreichen Polymer II-Immobilisierung. In Abbildung 25 sind die Impedanzspektren für die Gold-, Cystamin- sowie Polymer II-Elektrode dargestellt. Der Durchtrittswiderstand der Grenzfläche R_{CT} steigt deutlich von $12.4 \Omega\text{cm}^2$ für die nackte Goldelektrode auf $119.6 \Omega\text{cm}^2$ und $498.1 \Omega\text{cm}^2$ für entsprechend die Cystamin- und die Polymer II-Elektrode. Die Kapazität sinkt dagegen von $35 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ für die nackte Gold-Elektrode auf $10 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ bzw. $9.8 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ für die Cystamin- bzw. die Polymer II-Elektrode.

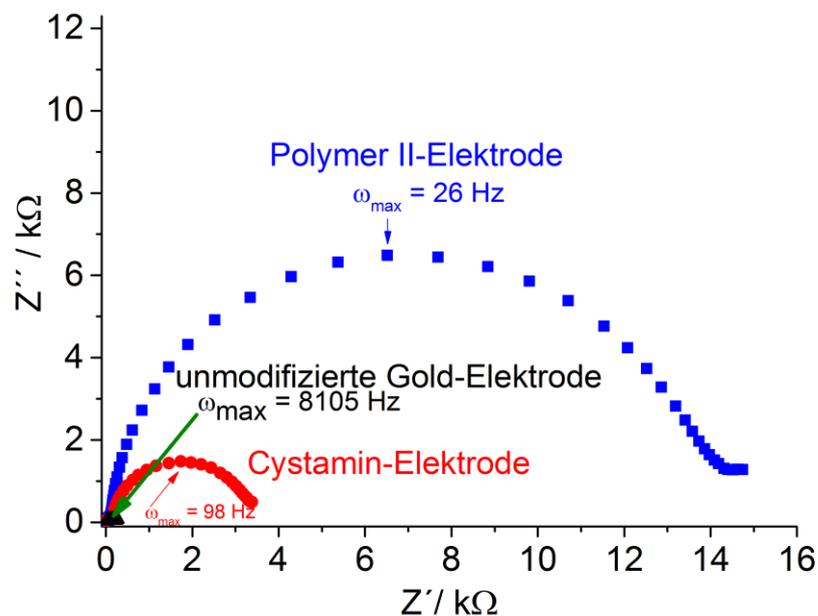


Abbildung 25: Elektrochemisches Impedanz-Spektrum (gemessen am Ruhepotential (zwischen 190 und 210 mV) im Frequenzbereich 0.1 – 100 000 Hz, mit der Anregungsamplitude von 5 mV) für eine unmodifizierte Gold-Elektrode, eine Cystamin-Elektrode und eine Polymer II-Elektrode; gemessen bei Raumtemperatur in $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphat-Lösung (pH 6.7) nach der cyclovoltammetrischen Präkonditionierung; Die Elektrodenoberfläche beträgt jeweils 0.04 cm^2 .

Die ellipsometrisch bestimmte Schichtdicke des Polymer II-Films beträgt etwa 15 nm. Somit sind Polymer II-Filme nur etwas dicker als Polymer I-Filme, trotz der Erhöhung des Anteils der Ankergruppen von 0.5 % auf 20 %. Zur deutlichen Erhöhung der Schichtdicke des Polymerfilms an der Elektrode wurde das Polymer III eingesetzt. Das Polymer III enthält nur 5 % MES, als zusätzliches Comonomer wurde allerdings das Benzophenon-tragende 2-(4-Benzoylphenoxy)ethylmethacrylat (BPEM) ausgewählt. Dieses Comonomer erlaubt die photoinduzierte Anbindung des Polymers an die Goldoberfläche sowie gleichzeitig die Vernetzung des erhaltenen Films. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Dicke photovernetzter Filme sehr hoch sein kann^{89,175}. Dieses sollte die Herstellung dickerer Polymerfilme erlauben.

3.3.3 Immobilisierung von Polymer III an Gold

Das Polymer III enthält wie das Polymer II reaktive Carbonsäure-Gruppen, die, aktiviert, zur kovalenten Ankopplung an Amino-Gruppen auf der Gold-Oberfläche geeignet sind. Da weitere Experimente mit Polymer III mit dickeren Filmen durchgeführt werden sollen, wurde zur Im-

Ergebnisse und Diskussion

mobilisierung eine auf Photovernetzung basierende Strategie entwickelt. Diese Strategie erlaubt im Allgemeinen die Herstellung von dicken und vernetzten Polymerfilmen⁸⁹. Die dazugehörige Modifizierungsmethode ist in Abbildung 26 dargestellt.

Die photoreaktive Komponente in Polymer III ist das Monomer 2-(4-Benzoylphenoxy)ethylmethacrylat (BP \underline{E} M), das mit einem Anteil von 0.5 Mol-% in das Copolymer eingebaut ist. Die Keto-Gruppe des Benzophenon-Ringes kann durch Bestrahlen mit UV-Licht ($n-\pi^*$ -Übergang) zur Bildung eines Biradikals angeregt werden. Das gebildete Radikal kann mit jedem organischen Partner reagieren, so zum Beispiel mit Molekülen an der Oberfläche von Goldelektroden. Eine solche Reaktion führt zur kovalenten Immobilisierung der Polymerketten an der Goldoberfläche. Gleichzeitig führt die Reaktion mit benachbarten Polymerketten zur Vernetzung des Films. Das Ergebnis ist ein vernetztes und fixiertes Polymernetzwerk an der Goldoberfläche.

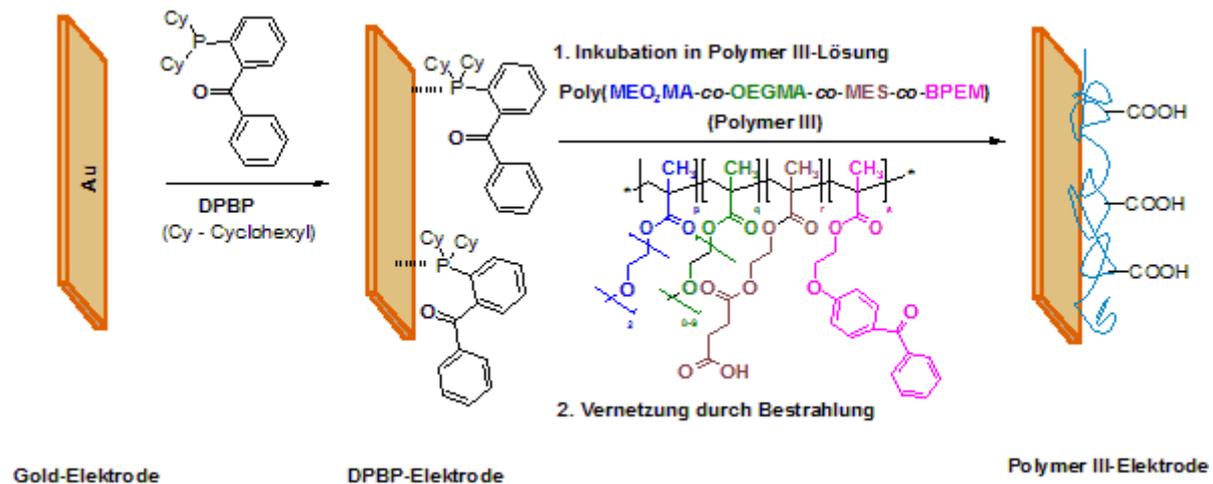


Abbildung 26: Schematische Darstellung der kovalenten Immobilisierung von Polymer III an der Goldoberfläche.

Als Reaktionspartner des Polymers an der Goldoberfläche ist aufgrund der hohen Reaktionsfreude der Benzophenon-Biradikale prinzipiell jedes organische Molekül geeignet. Zur Unterstützung der photolytischen Immobilisierung wurde für diese Arbeit allerdings ein Phosphin ausgesucht, das ebenfalls einen Benzophenon-Ring trägt, nämlich das 2-(**D**icyclohexyl**p**hospino)**b**enzophenon (DPBP). Die Modifizierung von Gold mit Phosphenen ist in der Literatur bereits beschrieben worden^{179–181}, wurde aber noch nicht häufig verwendet. Die Adsorption von Phosphenen an Gold wird als Koordination der Oberflächenatomen durch das Phosphor-Atom¹⁷⁹ beschrieben. Das adsorbierte DPBP agiert somit als Reaktionspartner und Anknüpfungsmolekül für die Biradikale der Polymerketten und erlaubt gleichzeitig die photolytische Anknüpfung des Polymers ausgehend von der Elektrode.

3.3.3.1 Elektrochemische Untersuchung der Goldmodifizierung mit DPBP

Die Modifizierung von Gold-Elektroden mit DPBP wurde elektrochemisch in Kaliumhexacyanoferrat-Lösungen mittels Cyclovoltammetrie untersucht. In Abbildung 27 ist die Überlagerung der Cyclovoltammogramme für Gold-Elektroden vor und nach der DPBP-Inkubation unterschiedlicher Dauer dargestellt.

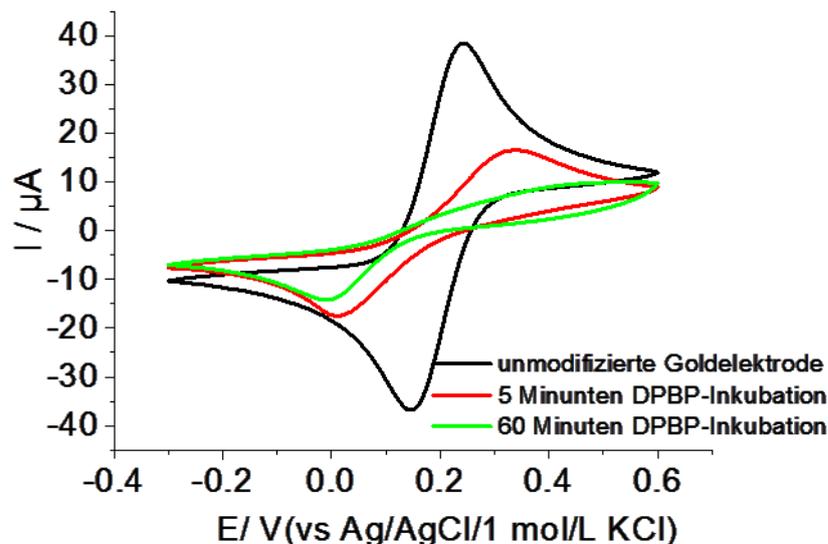


Abbildung 27: Cyclovoltammogramme der Gold-Elektroden vor und nach der DPBP-Modifizierung; gemessen bei Raumtemperatur in $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphat-Lösung (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

Bereits nach kurzer Inkubationszeit von lediglich 5 Minuten, sinken die Strompeaks des Cyclovoltammogramms deutlich von etwa $+40/-40 \text{ } \mu\text{A}$ auf etwa $+17/-17 \text{ } \mu\text{A}$ unter gleichzeitiger Zunahme der Peakseparation. Dies ist auf die Blockierung der Elektrodenoberfläche durch die aufgebaute DPBP-Schicht zurückzuführen. Der Adsorptions-Prozess schreitet bei längerer Inkubation weiter voran – der Oxidationspeak flacht stark ab, auch der Reduktionspeak nimmt weiter ab.

Der stark blockierende Charakter der DPBP-Schicht kann durch die strukturellen Eigenschaften dieses Moleküls erklärt werden. Das Phosphin trägt drei hydrophobe Reste – zwei Cyclohexan-Reste und einen Benzophenon-Rest. Diese Schicht wirkt wasserabweisend und verhindert somit den Zugang der Redoxspezies aus der wässrigen Elektrolytlösung. Vermutlich ist die Schicht auch noch besonders dicht und lückenfrei. Aus Untersuchungen zur SAM von aliphatischen

Thiolen ist bekannt, dass die Blockierung der modifizierten Oberfläche mit steigender Anzahl der Kohlenstoffatome im Molekül steigt^{8,9}. Grund hierfür sind die mit der Anzahl der Kohlenstoffatome zunehmenden Wechselwirkungen zwischen den Molekülen, die die Triebkraft für den Aufbau der Schicht und seine hohe Stabilität sind. Auch beim DPBP-Molekül sind solche zwischenmolekularen Kräfte möglich – die Cyclohexanringe bieten dafür pro Molekül insgesamt 12 Kohlenstoffatome an. Die Benzophenon-Ringe sind auch grundsätzlich zu π - π -Wechselwirkungen befähigt. Vermutlich sind diese starken Wechselwirkungen zwischen den Bausteinen der Schicht der Grund für die starke Blockierung der Oberfläche.

3.3.3.2 Untersuchung der DPBP-Immobilisierung mittels Infrarot-Ellipsometrie

Die Modifizierung der Goldoberflächen mit DPBP wurde zusätzlich mittels Infrarot-Ellipsometrie untersucht. In der Infrarot-Ellipsometrie werden Spektren von oberflächengebundenen Substanzen aufgenommen. Bei einer IR-ellipsometrischen Messung wird das eingestrahlte linear polarisierte Licht von der Probe als elliptisch polarisiertes Licht reflektiert. Die elliptische Polarisation kann mit den elliptischen Parametern wie folgt beschrieben werden: $\tan\psi$ (Amplitudenverhältnis) und Δ (Phasenverschiebung des p- und s-polarisierten reflektierten Lichtes r_p und r_s)^{182–184}. Dank charakteristischer Banden eines ellipsometrischen Infrarotspektrums lassen sich funktionelle Gruppen und andere strukturelle Merkmale von chemischen Stoffen identifizieren. Somit lässt sich diese Technik gut zum Nachweis der Anbindung von Stoffen an Substanzoberflächen einsetzen.

In Abbildung 28 sind drei ellipsometrische Infrarotspektren zu sehen, wobei jeweils das Amplitudenverhältnis $\tan\psi$ gegen die Wellenlänge aufgetragen ist. Als Referenz wurde das entsprechende Spektrum einer nicht-modifizierten Gold-Probe hinzugezogen. Das blaue Spektrum wurde an einem eingetrockneten Tropfen der DPBP-Lösung in Ethanol aufgenommen und wurde zum Vergleich mit den modifizierten Substraten benutzt. Das graue sowie das schwarze Spektrum wurden an einem DPBP-modifizierten Substrat gemessen (Modifizierung identisch mit der an Golddrahtelektroden).

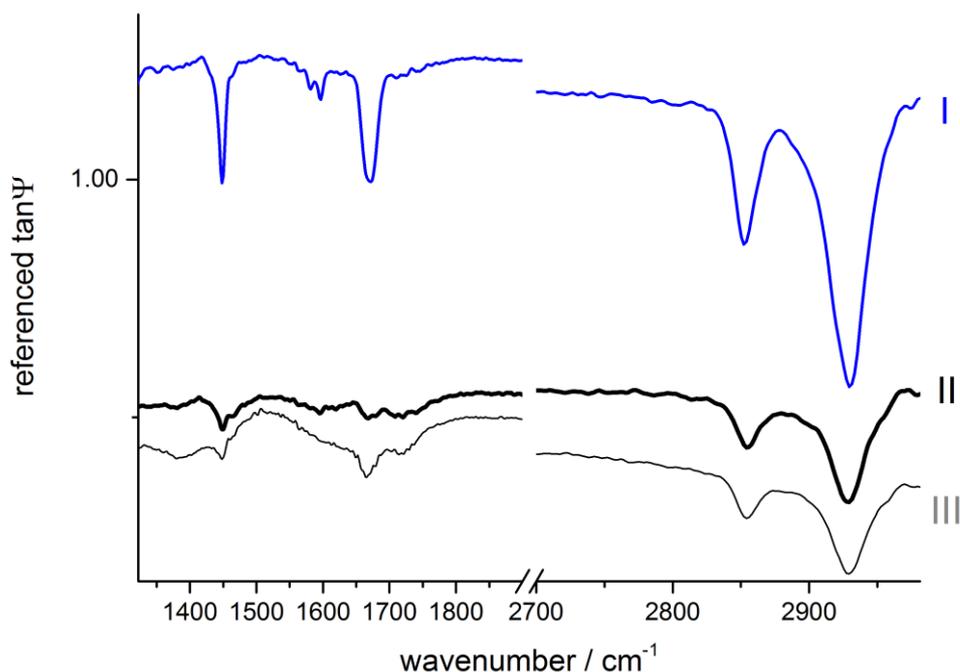


Abbildung 28. IR-ellipsometrisches Spektrum gemessen an einem eingetrockneten DPBP-Tropfen (10 mmol/L in Ethanol) an Goldoberfläche (Kurve I) und an einer Goldoberfläche, die mittels DPBP modifiziert wurde (Kurven II und III für je eine Art der Probenanbringung im Gerät).

Der Vergleich des blauen Referenzspektrums mit denen für das mit DPBP modifizierte Gold erbringt einen Nachweis der erfolgreichen DPBP-Fixierung an die Goldoberfläche, da die Schwingungsbanden bei 1448 cm^{-1} und 1666 cm^{-1} charakteristisch für alle drei Proben sind. Die Banden bei 2854 cm^{-1} and 2929 cm^{-1} können der CH_2 -Streckschwingung zugeordnet werden. Die Bande bei 1448 cm^{-1} ist charakteristisch für die CH_2 -Scherschwingung und die Bande bei 1666 cm^{-1} ist charakteristisch für die CO-Streckschwingung.

3.3.3.3 Kinetik der photoinduzierten Reaktion

Die photoinduzierte Reaktion von Benzophenon-Derivaten DPBP und Polymer III kann mittels UV/vis-Spektroskopie untersucht werden. In Abbildung 29 a) und c) sind die UV/vis-Spektren von Polymer III und von DPBP in Ethanol nach unterschiedlich langer Bestrahlung mit UV-Licht zu sehen. Die UV/vis-Spektren vor der Bestrahlung weisen deutlich ausgeprägte ($\pi\text{-}\pi^*$)-Banden bei 287 nm (Polymer III) und bei 250 nm (DPBP) auf. Angeregt durch UV-Licht einer intensiven Quelle reagieren die gebildeten Biradikale mit den Lösungsmittelmolekülen. Nach

Ergebnisse und Diskussion

dem Abreagieren mit Ethanol (Einzelheiten dazu im Kapitel 2.4.2) verliert das entstandene Molekül seine Anregungsenergie, so dass die Intensität des Absorptionsmaximums im UV/vis-Experiment abnimmt. Der Verlauf der zeitlichen Abnahme der Extinktion ist in Abbildung 29 (b) (Polymer III) und (c) (DPBP) dargestellt.

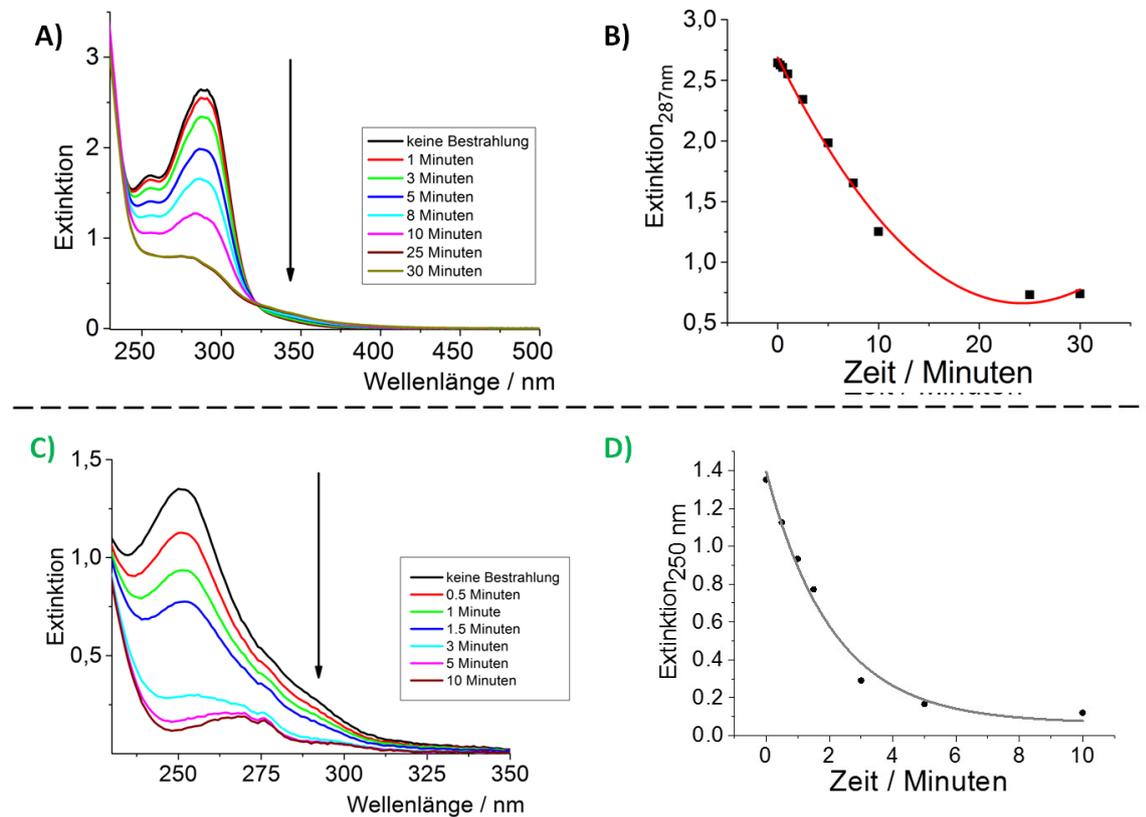


Abbildung 29: UV/vis-Spektren ethanolischer Polymer III- (a) und DPBP-Lösung (c) nach unterschiedlich langer Bestrahlung mit UV-Licht (254 nm und 366 nm Strahler) und die dazugehörigen Auftragungen der Extinktion gegen die Bestrahlungszeit – entsprechend b) und d). Die Polymerkonzentration beträgt 2.5 mg/mL, die DPBP-Konzentration 0.01 mg/mL.

Die kinetischen Messungen zur photoinduzierten Reaktion in Lösung können gut zur Einschätzung der Reaktionsdauer von Polymer III an der DPBP-Oberfläche hinzugezogen werden. Für 2.5 mg Polymer III in Ethanol sind zum kompletten Abreagieren etwa 25 min Bestrahlung nötig. Im Falle von DPBP sind dies etwa 10 min für 0.01 mg. Die Konzentrationen der zur Modifizierung nach dem Schema in Abbildung 26 eingesetzten Lösungen betragen 1.5 – 50 mg/mL für das Polymer III sowie 3.78 mg/mL für DPBP. Es ist zu beachten, dass die abzureagierende Materialmenge, die an der Oberfläche adsorbiert, deutlich geringer ist als die in der Lösung. Als Bestrahlungsdauer für die Polymermodifizierung wurden 30 min angesetzt. Buller et al.

beschreiben in ihrer Arbeit die Kinetik der Photoreaktion der mit Benzophenongruppen funktionalisierten responsiven Polymeren, die mittels UV-Spektroskopie an einer auf ein Quarzglasfenster aufgeschleuderten Polymerschicht (Schichtdicke von 800 nm) untersucht wurde⁸⁹. In dieser Studie wurde festgestellt, dass die Photoreaktion nach 10 Minuten Bestrahlungszeit nahezu vollständig abgeschlossen ist. Somit ist davon auszugehen, dass die Bestrahlungszeit von 30 Minuten ausreichend für das vollständige Abreagieren der Benzophenongruppen an Polymer III ist.

3.3.3.4 Untersuchung der Gold-Modifizierung mit Polymer III mittels Quarzkristall-Mikrowaage

Die Echtzeit-Nachverfolgung der Modifizierung mittels QCM ist im Falle von Polymer III schwierig, da nach der Polymeradsorption Bestrahlung mit UV-Licht erfolgen soll. Dies kann in der QCM-Zelle nicht realisiert werden. Die Modifizierung von Gold-Chips mit Polymer III wurde daher außerhalb der QCM-Zelle durchgeführt. Nach der DPBP-Modifizierung (außerhalb der Zelle) wurden die absoluten Werte der Schwingfrequenz und der Dissipation bestimmt und als Bezugswerte für die Angabe der Frequenz- sowie Dissipationsänderungen nach der Polymer III-Modifizierung gesetzt. Die Modifizierung wurde nach dem in Abbildung 26 dargestellten Schema durchgeführt. Die Konzentration der Polymer III-Lösung lag bei 1.5, 7 oder 50 mg/mL, um Filme unterschiedlicher Dicke zu erhalten.

Die Ergebnisse der QCM-Messungen für die Modifizierung aus 1.5-, 7- und 50 mg/mL-Lösungen sind in Abbildung 30 dargestellt. Die Frequenz sank nach der Polymer III-Immobilisierung um 1379 Hz bei der Polymer III-Konzentration von 1.5 mg/mL, um 5643 Hz bei 7 mg/mL und um 16254 Hz bei 50 mg/mL. Die Dissipationswerte stiegen entsprechend um $8 \cdot 10^{-6}$, $132 \cdot 10^{-6}$ bzw. $1048 \cdot 10^{-6}$. Offensichtlich steigt bei der Adsorption die Menge an immobilisiertem Polymer mit steigender Konzentration in der Inkubationslösung. Die Massenzunahme (nach Gleichung (7)) in diesem Experiment beträgt entsprechend 8136 ng/cm^2 , 33293 ng/cm^2 und 95898 ng/cm^2 . Die mittels QCM bestimmte Massenveränderung im Falle der Polymer II-Immobilisierung liegt dagegen nur bei 177 ng/cm^2 (Kapitel 3.3.2.1). Die Polymer III-Schicht ist also bereits nach der Inkubation aus der relativ verdünnten Lösung (1.5 mg/mL) um ein Vielfaches dicker als im Falle der Polymer II-Immobilisierung. Einer der Gründe für diesen wesentlichen Unterschied liegt möglicherweise in der Tatsache, dass die Modifizierung über eine Oberflächen-unspezifische Kopplungsreaktion grundsätzlich zu dickeren Filmen führt. Hier kann die Belegung mit Polymerketten immer noch weiter steigen, auch wenn die eigentliche Goldoberfläche bereits

Ergebnisse und Diskussion

vollständig belegt ist, da die Polymerketten untereinander binden können. Im Falle der Polymer II-Modifizierung ist dagegen nach dem Abreagieren der Ankergruppen (Cystamin) an der Oberfläche keine wesentliche weitere Polymeranlagerung zu erwarten.

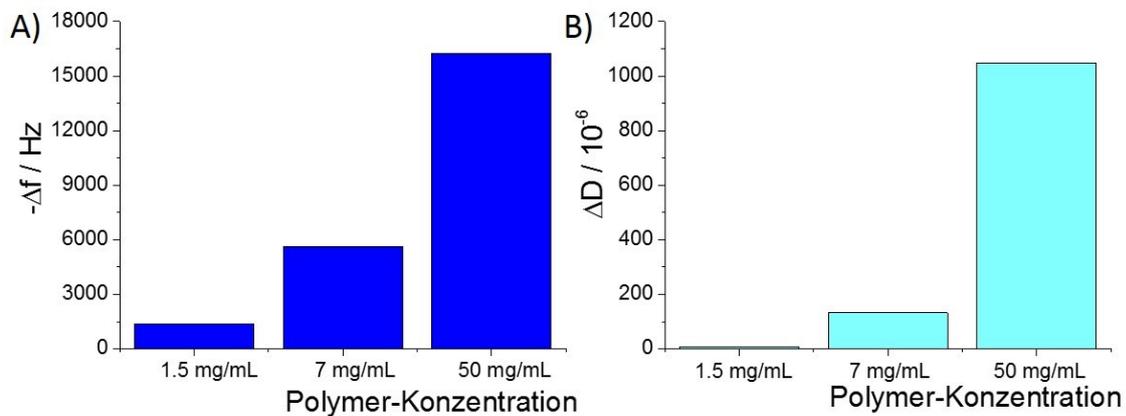


Abbildung 30: (a) Frequenz- und (b) Dissipationsänderung nach Polymer III-Modifizierung der QCM-Sensoren aus Lösungen unterschiedlicher Konzentration (mit Schwingfrequenz bzw. Dissipation nach DPBP-Schritt als Bezug), gemessen bei Raumtemperatur in 100 mmol/L Natriumphosphat-Puffer (pH 6.7) bei ausgeschaltetem Fluss.

Nach der Modifizierung der QCM-Sensoren mit Polymer III wurde die pH-Abhängigkeit der viskoelastischen Eigenschaften des Polymernetzwerkes untersucht. Diese Untersuchungen zielen auf ein tieferes Verständnis der ablaufenden Prozesse bei temperaturabhängigen CV-Messungen (Kapitel 3.4.3). Somit muss die Polymer III-Schicht auf der Elektrode möglichst mit der auf dem QCM-Sensor vergleichbar sein. Die stark konzentrierte 50 mg/mL-Lösung von Polymer III fließt aber viel schlechter vom QCM-Sensor als von der Golddraht-Elektrode ab. Für eine bessere Vergleichbarkeit der erhaltenen Polymer III-Schichten auf dem QCM-Sensor und auf der Elektrode wird daher im Falle des QCM-Sensors nach dem Inkubationsschritt in der Polymerlösung ein kurzer Spülschritt in der Pufferlösung (100 mmol/L Natriumphosphatpuffer, pH 8.0) durchgeführt. Dazu wird der Sensor kurz in die Spüllösung eingetaucht und erst danach erfolgt die Bestrahlung.

Nach der so durchgeführten Polymer III-Immobilisierung wird der Sensor im Flusssystem in der QCM-Zelle untersucht, wobei der pH-Wert der Messlösung sukzessive verändert wird. Das entsprechende Sensorgramm ist in Abbildung 31 gezeigt.

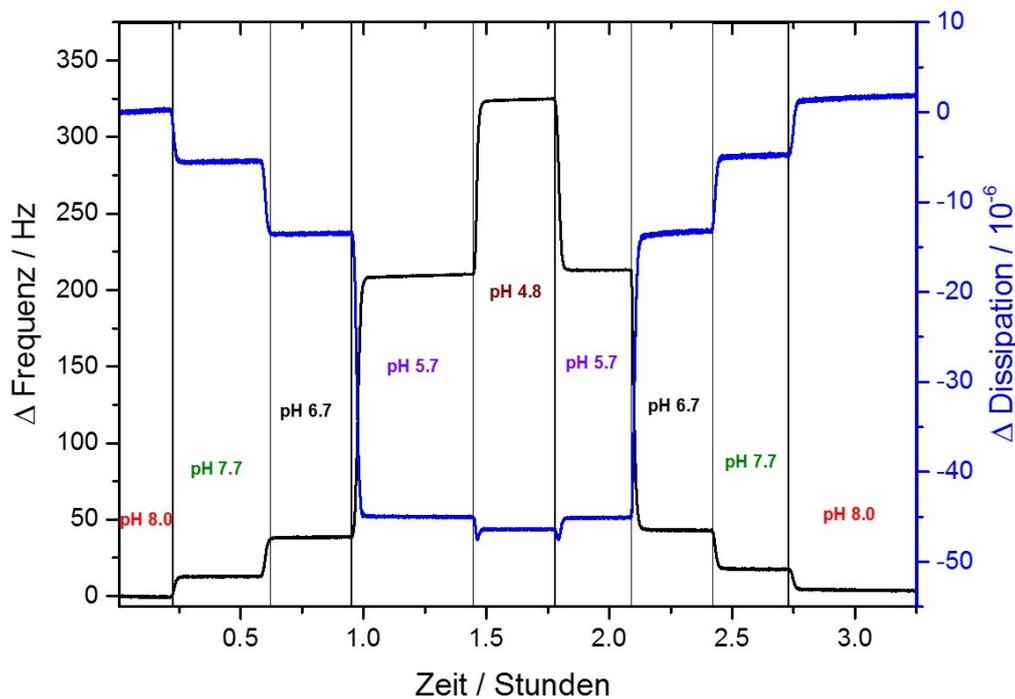


Abbildung 31: Frequenz- und Dissipationsänderung eines Polymer III-modifizierten QCM-Sensors in Abhängigkeit vom pH-Wert der Messlösung (Natriumphosphatpuffer, 100 mmol/L) nach Inkubation aus der 50 mg/mL-Lösung. Die Fließgeschwindigkeit beträgt 100 μ L/min.

Mit sinkendem pH-Wert der Lösung steigt die Schwingfrequenz des Sensors. Bei sinkendem pH-Wert sinkt die Anzahl der deprotonierten Carbonsäure-Gruppen in den Polymerketten. Als Folge wird das Polymernetzwerk zunehmend hydrophober; die Abnahme der Ladung ist auch mit geringerer elektrostatischer Abstoßung zwischen den Polymerketten verbunden. Das führt zu stärkeren hydrophoben Polymer-Polymer-Wechselwirkungen. Das hydrophobere Netzwerk verliert Wasser, was in der deutlichen Frequenzzunahme sichtbar wird. Da die Frequenz eines QCM-Sensors auch von der Viskosität der Messlösung abhängt, wurde das gleiche pH-abhängige Experiment mit einem unmodifizierten Chip durchgeführt. In dieser Referenzmessung schwankte die Frequenz in einem engen Bereich von einigen Hz. Die Effekte der Veränderung der Lösungszusammensetzung sind hier also gering und können vernachlässigt werden. Um eine Frequenzzunahme als Folge von Polymerverlusten auszuschließen, wurde nach der stufenweisen Herabsetzung des pH-Werts dieser wieder stufenweise erhöht. Die Schwingfrequenzen bei gleichen pH-Werten unterscheiden sich kaum; ein Polymerverlust kann somit als Grund für die gefundenen Effekte ausgeschlossen werden. Dieses Kontrollexperiment zeigt auch, dass das

Ergebnisse und Diskussion

pH-Verhalten des Netzwerkes reversibel ist. Somit können mit diesem Experiment die Konformationsänderungen des immobilisierten Polymers detektiert werden.

Weiterhin ist anzumerken, dass die Frequenz beim pH-Wechsel von pH 7.7 auf 6.7 um etwa 25 Hz zunimmt, während sie beim Wechsel von pH 6.7 auf 5.7 bzw. von pH 5.7 auf 4.8 171 Hz bzw. 116 Hz beträgt. Dies ist eventuell darauf zurück zu führen, dass die pK_s -Werte der Säuregruppen im Netzwerk unterhalb von pH 6.7 liegen. Erst dort sind pH-Wert-Veränderungen mit starken viskoelastischen Effekten verbunden. Der pH-abhängige Dissipationsverlauf liefert ebenso wertvolle Informationen zum responsiven Verhalten des Polymerfilms. Die Abnahme der Dissipation deutet auf eine deutliche Zunahme der Schicht-Starrheit hin. Dies ist gut mit der Vorstellung der Film-Schrumpfung unter Wasserverdrängung zu erklären.

In der Literatur sind viele Berichte zur Untersuchung der Konformationsänderungen von Polymer-Schichten mittels QCM zu finden. Je nach Bericht steigt^{185,186} oder sinkt^{148,152} die Schwingfrequenz der modifizierten Sensoren bei der Zunahme der hydrophoben Eigenschaften des Polymers, die durch den Temperaturanstieg oder pH-Wert-Änderungen verursacht wird. Erwartungsgemäß sollte die Frequenz steigen, wenn das Polymernetzwerk Wasser verliert – so wie in dieser Arbeit beobachtet. Doch kann die Schrumpfung oder gar der Kollaps des Netzwerkes die effektive Masse des Sensors erhöhen und somit seine Frequenz senken. Auch kann der Literatur eine gewisse Diskrepanz bezüglich der Kontinuität der Frequenzänderungen entnommen werden. Ishida et al. berichten in ihrer Arbeit mit PNIPAM-modifizierten Sensoren eine abrupte Änderung der Frequenzwerte nach Erreichen eines bestimmten Temperaturpunktes¹⁵⁹. Zhang beschreibt dagegen ein (chemisch) ähnliches PNIPAM-System, das sich aber kontinuierlich verhält¹⁸⁵. Die Frequenz steigt dort kontinuierlich und linear. Vermutlich spielen weitere Faktoren, insbesondere die Schichtdicke des Films eine Rolle. In einer späteren Arbeit untersuchen Ishida et al. die Abhängigkeit der QCM-Frequenzänderungen von der Dicke des PNIPAM-Polymerfilms¹⁵⁰. Es wird gezeigt, dass die Phasenübergänge von dünnen Schichten plötzlich auftreten, während diese im Falle von dicken Filmen kontinuierlich sind. Dieser Aspekt der Abhängigkeit der Filmeigenschaften von der Schichtdicke wird bei der Diskussion temperaturabhängiger elektrochemischer Untersuchungen von Polymer III-Filmen noch eingehender beschrieben.

3.3.3.5 Elektrochemische Untersuchung der Elektrodenmodifizierung mit Polymer III

Schließlich bietet auch die Cyclovoltammetrie eine weitere Verifizierung der erfolgten Polymer III-Ankopplung an. In Abbildung 32 sind zwei Cyclovoltammogramme dargestellt – eins gemessen mit einer DPBP-Elektrode und eins mit einer Polymer III-Elektrode (50 mg/mL). Die Stromwerte für die Polymer III-Elektrode sinken deutlich im Vergleich zur DPBP-Elektrode. Auch die Form ändert sich – die Reduktions- bzw. Oxidationspeaks sind nur schwach ausgeprägt. Die Elektrodenoberfläche ist stark von Polymer III blockiert. Im Vergleich zu Polymer I- und Polymer II-Elektroden (Abbildung 21 und 24) sind die Ströme für die Polymer III-Elektrode um ein mehrfaches geringer. Die Form des Cyclovoltammogramms zeigt, dass die Polymer III-Elektrode sich wie Mikroelektroden verhält. Damit sind Elektrodensysteme gemeint, bei denen viele kleine Zugangskanäle für das Redoxpaar vorhanden sind, so dass ein radialer Stofftransport stattfindet. Dieser Stofftransport führt zur Veränderung der CV-Gestalt zu einer typischen S-Form. Der Umsatz erfolgt also nur an bestimmten Stellen bzw. Lücken an der Elektrode, die Oberfläche ist im Wesentlichen dicht vom Polymer III belegt.

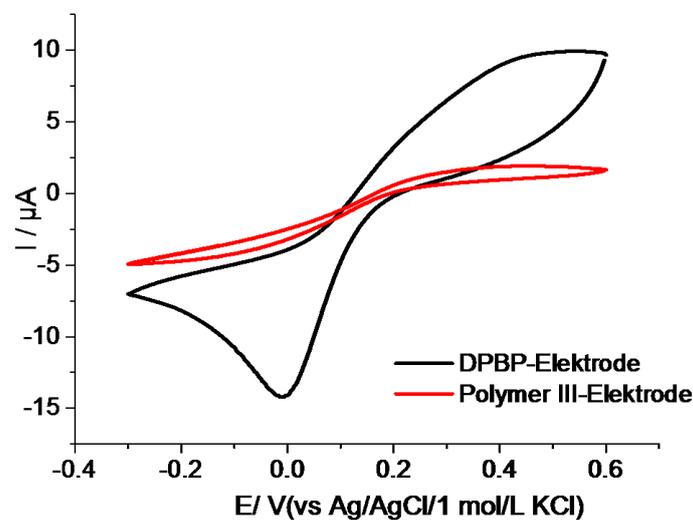


Abbildung 32: Cyclovoltammogramme für eine DPBP- und eine Polymer III-Elektrode (50 mg/mL); gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) bei Raumtemperatur mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

3.4 Temperaturverhalten von Polymerfilmen auf Gold

Nach einer eingehenden Untersuchung der kovalent angekoppelten Polymerfilme bei Raumtemperatur wurden elektrochemische Experimente unter Temperaturvariation durchgeführt. Das Ziel dieser Versuche war, ein Verfahren zu entwickeln, das die Beobachtung der responsiven Eigenschaften der gekoppelten Filme erlaubt. Dazu sollte der Temperaturverlauf von bestimmten Cyclovoltammetrie-Parametern detailliert untersucht werden. Es zeigte sich, dass die Auftragung der Parameter Peakstrom und Peakseparation gut für Aussagen zu thermisch generierten strukturellen Änderungen geeignet ist. Die Reversibilität der Messungen ist ein weiteres wichtiges Charakteristikum, das untersucht werden sollte. Bei den stark pH-abhängigen Polymeren II und III sollte ebenso die Temperaturabhängigkeit der Filmeigenschaften bei unterschiedlichen pH-Werten getestet werden.

3.4.1 Temperaturverhalten von Polymer I an Gold

In Abbildung 33 sind die für eine unmodifizierte Goldelektrode sowie für eine Polymer I-Elektrode bei 25 °C und bei 45 °C (jeweils Anfang und Ende des Experimentes) gemessenen Cyclovoltammogramme dargestellt. Die Auftragung der aus den CVs bestimmten Parameter Oxidationspeakstrom und Peakseparation gegen die Temperatur ist in Abbildung 33 (b) und (c) dargestellt. Die Messung an einer unmodifizierten Gold-Elektrode dient als eine Art Blindprobe, um die gemessenen Temperatur-Effekte eindeutig dem Polymer I zuordnen zu können. Reversibilitäts-Untersuchungen zu Polymer I-Elektroden wurden nicht durchgeführt.

Die Zunahme des Peakstromes mit der Temperatur für die unmodifizierte Gold-Elektrode ist kontinuierlich und zeigt keine plötzlichen signifikanten Veränderungen im Verlauf. Ebenso ist die Auftragung der Peakseparation gegen die Temperatur regulär und zeigt keinen Punkt mit starken Veränderungen. Dagegen weist der Temperaturverlauf der beiden Parameter für eine Polymer I- Elektrode einen Punkt mit signifikanten Veränderungen der Steigung im Bereich zwischen 36 und 38 °C auf. Dieser Temperaturbereich liegt nahe am Trübungspunkt von Polymer I in 100 mmol/L KCl-Lösung von 35 °C. Somit ist es wahrscheinlich, dass die beobachteten Änderungen auf den Restrukturierungsprozess des gekoppelten Polymers I zurückzuführen sind.

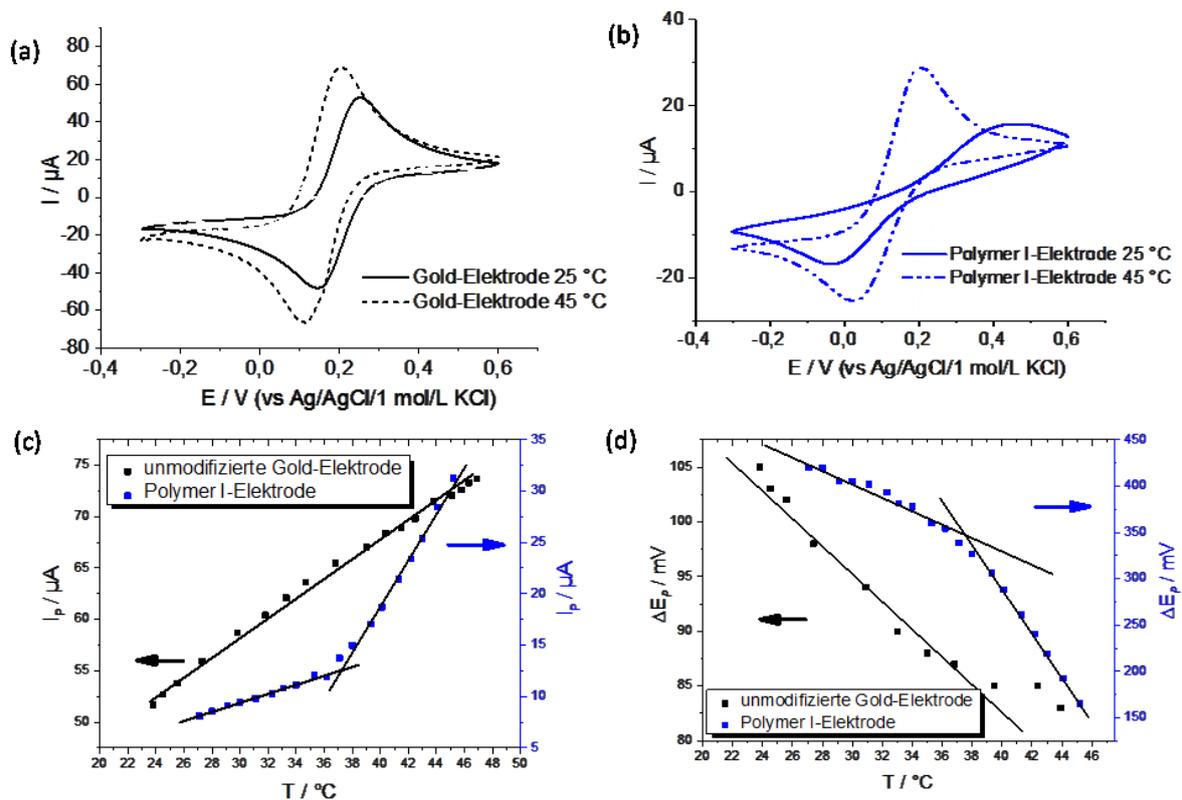


Abbildung 33: (a) Cyclovoltammogramme für eine unmodifizierte Gold-Elektrode und (b) für eine Polymer I-Elektrode gemessen bei 25 °C (durchgehende Linie) und bei 45 °C (punktirierte Linie); (c) Auftragung des Oxidationspeak-Stromes für eine unmodifizierte Gold-Elektrode (schwarz) und für eine Polymer I-Elektrode (blau); (d) Auftragung der Peakseparation für eine unmodifizierte Gold-Elektrode (schwarz) und für eine Polymer I-Elektrode (blau); gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Kaliumchlorid-Lösung mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm².

Zur Interpretation des Verhaltens der Polymer I-Elektrode beim Heizen muss zuerst die Temperaturabhängigkeit des CV-Experiments an einer unmodifizierten Gold-Elektrode verstanden werden. Die Randles-Sevčik-Gleichung (Gleichung (1)) beschreibt auch die Temperaturabhängigkeit des Messstromes.

$$I_p = 0.4463 \cdot n \cdot F \cdot A \cdot \sqrt{\frac{n \cdot F}{R \cdot T}} \cdot \sqrt{D} \cdot \sqrt{v} \cdot c \quad (1)$$

Mit A -Elektrodenoberfläche, v - Scangeschwindigkeit, n - Anzahl der übertragenen Elektronen, c – Konzentration, D – Diffusionskoeffizient der Redoxsubstanz, T - Temperatur der Lösung.

Es ist zu beachten, dass der Diffusionskoeffizient D sich mit der Temperatur ändert nach:

Ergebnisse und Diskussion

$$D = D_0 \cdot e^{\frac{E_D}{RT}} \quad (8)$$

Hierbei ist D_0 die stoffspezifische Diffusionskonstante und E_D die Aktivierungsenergie für die Diffusion. Der für den Beispielfall einer Kaliumhexacyanoferrat(II/III)-Lösung nach (1) und (8) berechnete Temperaturverlauf des Peakstromes ist in Abbildung 34 dargestellt.

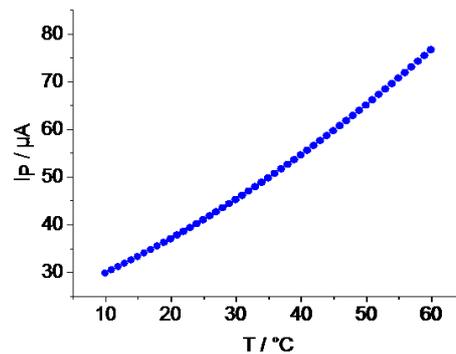


Abbildung 34: Berechnete Peakstromwerte für das cyclovoltammetrische Experiment in einer 5 mmol/L Kaliumhexacyanoferrat(II/III)-Lösung; $E_D = 32.1 \text{ kJ/mol}^{187}$, $D_0 = 3.55 \text{ cm}^2/\text{s}^{187}$, $v = 0.1 \text{ V/s}$, $A = 0.04 \text{ cm}^2$.

Die Peakstromwerte an einer unmodifizierten Elektrode sollen also mit steigender Temperatur zunehmen. Dies ist auf die Zunahme der temperaturabhängigen Diffusion bei zunehmender Temperatur nach Gleichung (8) zurückzuführen.

Der Vergleich von berechneten mit experimentell bestimmten Werten erlaubt weitere Aussagen zu den Eigenschaften der Polymer I-Schicht. Die nach Gleichung (1) für eine unmodifizierte Gold-Elektrode theoretisch berechneten Werte sowie die experimentell für eine unmodifizierte und für eine Polymer I-Elektrode bestimmten Werte sind im Diagramm in Abbildung 35 aufgeführt.

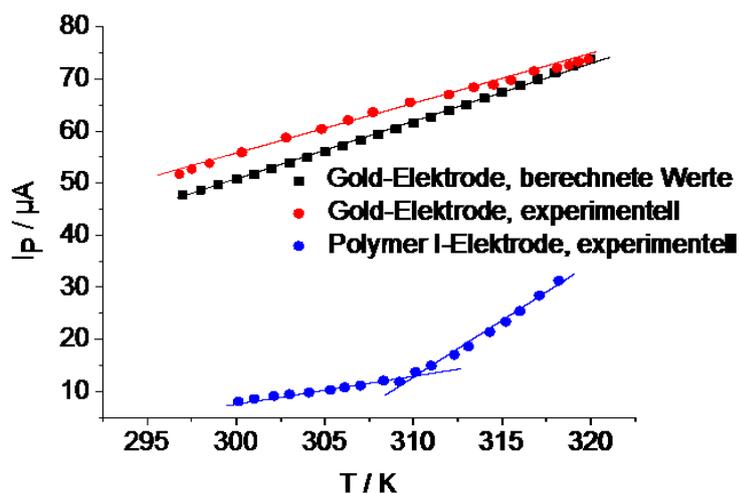


Abbildung 35: Oxidationspeakstrom ($I_{p,OX}$) als Funktion der Temperatur berechnet nach Gleichung (1) für eine unmodifizierte Gold-Elektrode (schwarz) ($n = 1$, $A = 0.04 \text{ cm}^2$, $D_0 = 3.55 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, $E_D = 32.1 \text{ kJ mol}^{-1}$, $C_0 = 5 \text{ mmol L}^{-1}$ und $v = 0.1 \text{ V s}^{-1}$); und experimentell bestimmte Oxidationspeakstrom-Werte für eine unmodifizierte Gold-Elektrode (rot) und eine Polymer I-modifizierte Elektrode (blau). Experimente durchgeführt in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Kaliumchlorid-Lösung mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

Die Stromwerte für die Polymer I-Elektrode steigen mit der Temperatur auch schon vor dem Punkt, an dem die Ketten restrukturieren, wenn auch deutlich schwächer als danach. Die durchgehende Zunahme des Stromes ist auf die Zunahme der temperaturabhängigen Diffusion zurückzuführen. Nach Erreichen der kritischen Temperatur von circa $37 \text{ }^\circ\text{C}$ wird eine schnellere Zunahme des Peakstromes bzw. eine schnellere Abnahme der Peakseparation beobachtet. Dieses deutet auf einen erleichterten Massentransfer des Redoxpaares zur Elektrodenoberfläche aufgrund des erfolgten Reorganisationsprozesses von Polymer I hin. In Abbildung 36 sind schematische die vermuteten strukturellen Veränderungen abgebildet, die eine Möglichkeit zur Erklärung der experimentellen Befunde darstellt - auf mikroskopischer Ebene erfolgt der Kollaps der Polymerketten unter Öffnung von besseren Zugangskanälen für das Redoxpaar zur Elektrodenoberfläche, was wiederum zur schnelleren Peakstromzunahme führt. Nach der Restrukturierung von Polymer I steigen die Stromwerte schneller; die Elektrodeneigenschaften nähern sich mehr und mehr denen einer nackten Gold-Elektrode an.

Ein ähnliches Verhalten einer responsiven Polymer-Multischicht an einer Goldelektrode beschreibt Comminges et al.⁵³. In seiner Arbeit wird eine mit einem thermoresponsiven Film modifizierte Gold-Elektrode mittels Impedanzspektroskopie und Cyclovoltammetrie mit Ferrocencarbonsäure als Signalkomponente untersucht. Die kontinuierliche Schrumpfung des po-

Ergebnisse und Diskussion

lymeren Netzwerkes ist mit der Zunahme des elektrochemischen Umsatzes an der Goldelektrode verbunden. Auch Inoue et al. berichten von einer starken Zunahme der CV-Peakströme nach dem Schaltvorgang der Poly(ethoxyethylglycidylether)-Schicht an der Elektrodenoberfläche¹⁸⁸. In anderen Arbeiten in der Literatur zur elektrochemischen Detektion der Polymer-Schaltung an der Elektrode wird jedoch von der deutlichen Abnahme des elektrochemischen Umsatzes nach dem Kettenkollaps bzw. nach der erfolgten Polymerschrumpfung berichtet⁹⁷⁻⁹⁹.

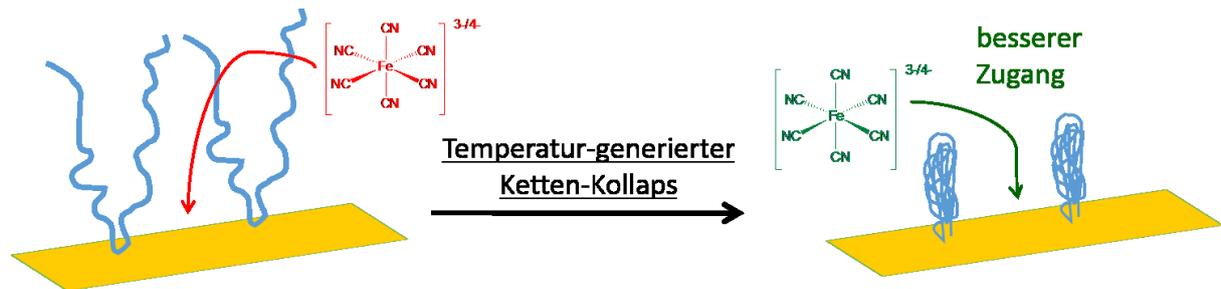


Abbildung 36: Schematische Darstellung der vermuteten mikroskopischen Vorgänge bei der thermisch generierten Polymer-Schaltung.

Ein weiterer, unabhängiger und nicht-elektrochemischer Nachweis der Polymerschaltung erfolgte mittels Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie. In Abbildung 37 ist das SPR-Signal für einen unmodifizierten und einen Polymer I-modifizierten (identisches Immobilisierungsprotokoll wie bei den Gold-Elektroden, durchgeführt außerhalb der Durchfluss-Zelle) Sensor-Chip als Funktion der Temperatur gezeigt.

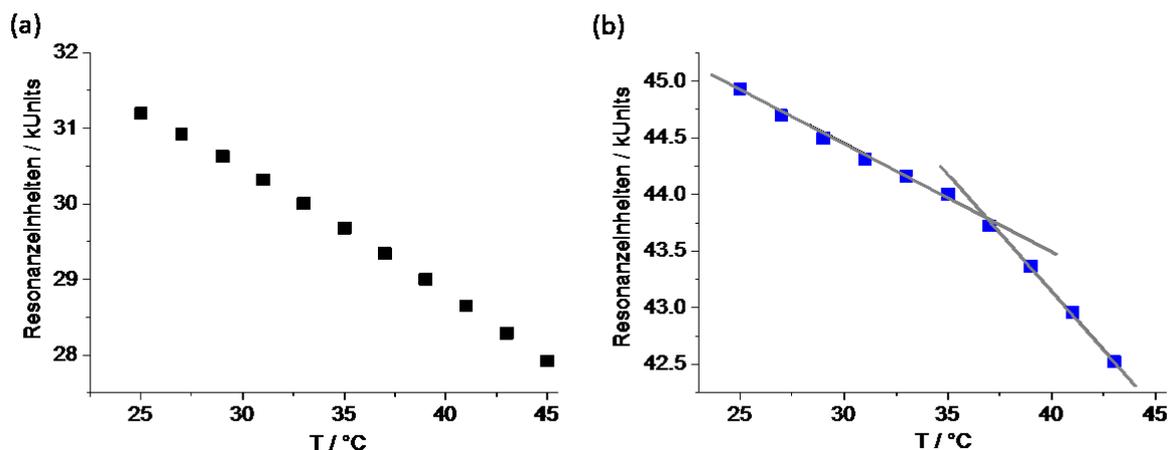


Abbildung 37: Temperaturabhängigkeit des SPR-Signals für einen unmodifizierten Sensor (a) und für einen Polymer I-modifizierten Sensor (b). Aufgenommen in Wasser, die Flussrate beträgt 2 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Die Resonanzwerte des nackten Chips sind deutlich geringer als die für die Polymer I-Modifikation. Grund hierfür ist die Sensitivität des SPR-Signals für die optische Dichte. Offensichtlich ist der Brechungsindex des Polymers höher als von Wasser.

Da die SPR-Technik temperatursensitiv ist¹⁴¹, wird die Temperaturabhängigkeit des unmodifizierten Chips als Referenz aufgenommen, um die Effekte eindeutig dem Polymer I zuordnen zu können. Deutlich ist eine Änderung in der Steigung bei ca. 36 °C für den Polymer I-Sensor, während für den nackten Sensor die Steigung der Abnahme sich nicht verändert. Die Abnahme des Signals für den unmodifizierten Sensor gibt Veränderungen des Brechungsindex des Lösungsmittels (Wasser) mit der Temperatur wider. Die Veränderung der Steigung des SPR-Signals beim Polymer I-Sensor deutet auf einen bei ca. 36 °C erfolgten Restrukturierungsprozess hin. Somit werden die mittels Cyclovoltammetrie beobachteten Restrukturierungs-Effekte auch mittels SPR beobachtet.

Wischerhoff et al. beschreiben in ihrem Bericht die Untersuchung des Phasenüberganges eines thermoresponsiven Polymerfilms an der Goldoberfläche mittels SPR¹⁴¹. Auch dort weist der Verlauf der Temperatur-Resonanzwinkel-Kurve einen Versatz in Richtung höherer Winkelwerte auf, der beim unmodifizierten Goldsensor nicht auftritt. Diese Unstetigkeit in der Auftragung wird als Volumen-Phasenübergang interpretiert. Der Film kollabiert nach Erreichen der Übergangstemperatur, der Brechungsindex der Schicht in der Sensorumgebung ändert sich stark, was wiederum die Verschiebung des Resonanzwinkels verursacht.

3.4.2 Temperaturverhalten von Polymer II an Gold

In Abbildung 38 oben sind die sukzessiv aufgenommenen Cyclovoltammogramme für eine Messung unter Temperaturvariation für eine Cystamin-Elektrode (a) und eine Polymer II-Elektrode (b) dargestellt. Die Cystamin-Elektrode in diesem Experiment dient als Bezugssystem, um die für die Polymer II-Elektrode beobachteten Effekte eindeutig zuordnen zu können. Die Peaks der Cyclovoltammogramme sind für beide Elektrodenarten bei jeder Temperatur gut ausgeprägt und gut auswertbar. Kaliumhexacyanoferrat ist also ein geeignetes Redoxsystem zur Nachverfolgung der strukturellen Veränderungen des Polymerfilms an der Oberfläche. Es wird eine Zunahme der Peakströme sowie eine Abnahme der Peakseparation mit der Temperatur beobachtet. Für die Cystamin-Elektrode sind die Veränderungen der Cyclovoltammogramme im Temperaturbereich zwischen 25 und 50 °C homogen. Für die Polymer II-Elektrode werden dagegen ab

45 °C besonders starke Änderungen beobachtet. Weitere Informationen liefern die Auswertungen der Peakströme und der Peakseparation.

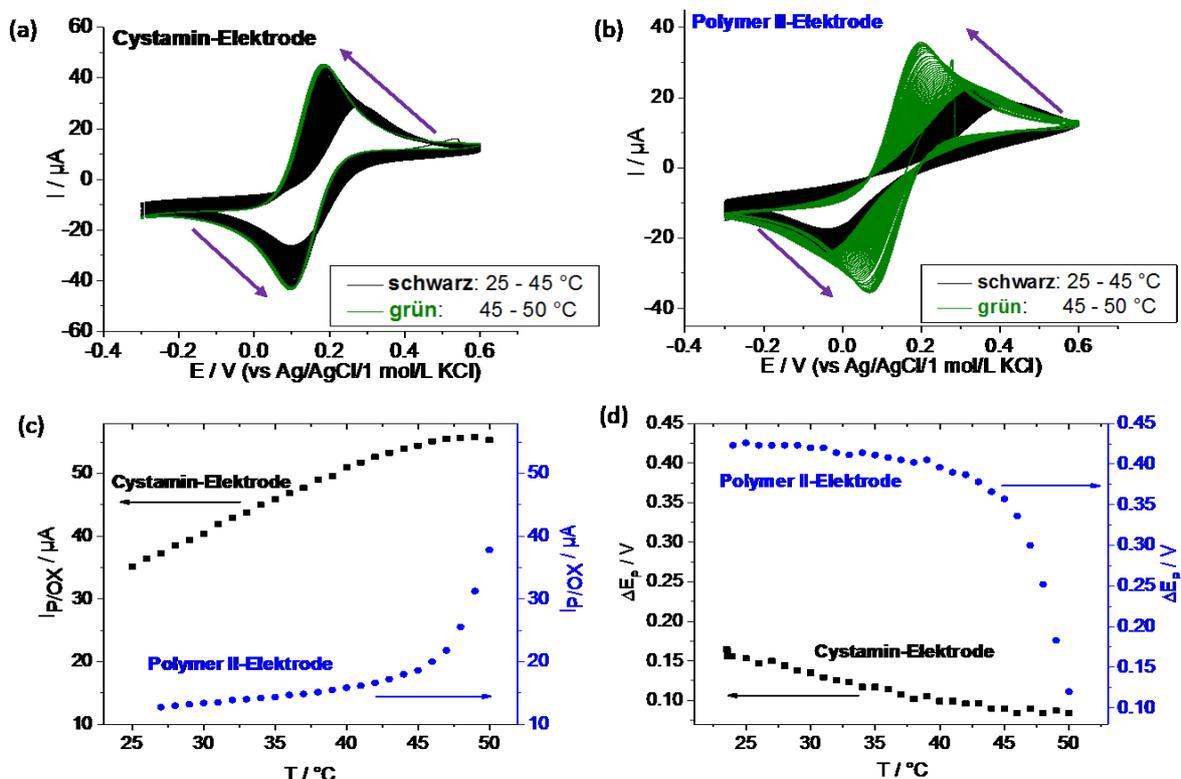


Abbildung 38: Cyclovoltammogramme für eine Cystamin-Elektrode (a) und für eine Polymer II-Elektrode (b) gemessen zwischen 25 °C und 45 °C (schwarz) und zwischen 45 und 50 °C (grün); (c) Auftragung des Oxidationspeak-Stromes für eine Cystamin-Elektrode (schwarz) und für eine Polymer II-Elektrode (blau); (d) Auftragung der Peakseparation für eine Cystamin-Elektrode (schwarz) und für eine Polymer II-Elektrode (blau); gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

In Abbildung 38 unten sind die Temperatur-Abhängigkeiten der Oxidations-Peakströme (c) und der Peakseparation (d) für die Cystamin-Elektrode und für die Polymer II-Elektrode dargestellt. Der temperaturabhängige Verlauf der beiden Parameter für die Polymer II-Elektrode ähnelt stark dem gemessen für eine Polymer I-Elektrode. Auch hier treten starke Veränderungen nach Erreichen eines kritischen Temperaturpunktes auf. Dieser liegt hier bei circa 45 °C. Von da an wird eine deutlich stärkere Zunahme der Peakströme bzw. Abnahme der Peakseparation beobachtet. Der Verlauf dieser Parameter für die Cystamin-Elektrode zeigt dagegen keine Diskontinuitäten, die Effekte können entsprechend nur von Polymer II stammen. Diese gemessenen Effekte der strukturellen Veränderungen vom Polymer II auf den elektrochemischen Umsatz sind ähnlich zu den bereits diskutierten für das Polymer I. Auch hier sind die Ergebnisse gut

mit der Vorstellung von der Freilegung der Zugangskanäle für das Redoxpaar im Laufe der Polymer-Restrukturierung zu erklären. Der eigentliche Punkt, an dem diese Veränderungen auftreten liegt hier allerdings bei einer deutlich höheren Temperatur von ca. 45 °C.

Wiederholungsexperimente mit einmal vermessenen Polymer II-Elektroden nach langsamer Abkühlung haben gezeigt, dass die strukturellen Änderungen an der Oberfläche nicht reversibel sind. Der Temperaturverlauf in Wiederholungsexperimenten ist kontinuierlich und ähnelt dem für eine unmodifizierte Elektrode. Zur Überprüfung der Vermutung, ob das Polymer II im Laufe des Temperaturexperimentes verloren geht, wird ein QCM-Experiment mit mehreren Heiz- und Abkühlzyklen durchgeführt. In Abbildung 39 ist die temperaturabhängige Frequenzänderung des QCM-Sensors nach der Polymer II-Immobilisierung dargestellt. Die Frequenzänderung nach der Polymer II-Ankopplung beträgt etwa -30 Hz, dieser Wert steigt um etwa 5 Hz (Verlust von ca. 17 %) auf etwa -25 Hz nach dem ersten Heizvorgang und bleibt anschließend konstant. Der Polymerfilm scheint somit relativ stabil zu sein und verlässt im Laufe des Temperaturexperimentes nur geringfügig die Oberfläche. Die Restrukturierung des Polymers II ist nach dem ersten Heizvorgang offensichtlich nicht reversibel und führt zu einem stabilen, nicht mehr responsiven strukturellen Zustand.

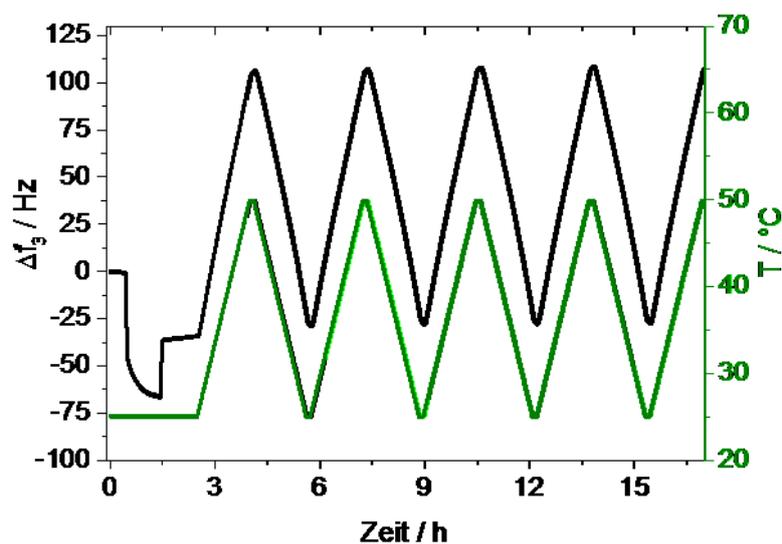


Abbildung 39: Frequenzänderung (schwarze Kurve) zur Polymer II-Immobilisierung und in Abhängigkeit von der Temperatur (grüne Kurve); gemessen in Natriumphosphat-Puffer, 100 mmol/L, pH 6.7 mit der Flußgeschwindigkeit von 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. In die Zelle wurde ein Cystamin-modifizierter Chip eingespannt, ab $t = 30$ Minuten bis $t = 60$ Minuten fließt die Polymer II-Lösung mit EDC, anschließend wird mit dem Puffer gespült. Der eigentliche Heizvorgang wird bei $t = 2$ Stunden gestartet.

3.4.3 Temperaturverhalten von Polymer III an Gold

Das Temperaturverhalten von Polymer III-Filmen an Gold wurde mittels Cyclovoltammetrie untersucht. Dazu wurden die Elektroden in Polymer III-Lösungen unterschiedlicher Konzentration (7 und 50 mg/mL) modifiziert. Die Untersuchungen an dicken Filmen (hergestellt aus 50 mg/mL-Lösungen) haben gezeigt, dass eine alternative Auswertung der Messungen erforderlich ist. Die Cyclovoltammogramme haben hier eine typische Mikroelektrodenform. Es sind keine ausgeprägten Oxidations- bzw. Reduktionspeaks zu sehen (Abbildung 40 (a)). Dies bedeutet, dass der Film von Polymer III die Oberfläche der Elektrode deutlich mehr blockiert als der Film von Polymer I und Polymer II. Wahrscheinlich ist der Grund für dieses Verhalten die deutlich dickere Polymer III-Schicht. Diese wurde ellipsometrisch bestimmt und beträgt ca. 70-80 nm, was wiederum deutlich höher ist als bei der Polymer I-Schicht (ca. 10 nm) oder für die Polymer II-Schicht (ca. 15 nm). Ein dickerer Polymer III-Film ändert auch die Art des Stofftransports zu der Elektrode. Wie oben in Kapitel 3.3.3.5 bereits diskutiert, resultiert der radiale Stofftransport in S-förmigen Cyclovoltammogrammen. Aus diesem Grunde ist die übliche Auswertungsmethode der Cyclovoltammogramme mit der Bestimmung der Peakströme und der Peakseparation nicht möglich. Trotzdem sind die Bereiche der Oxidation bzw. der Reduktion gut zu lokalisieren. Die Oxidation findet im Potentialbereich um 0.3 V, die Reduktion um etwa 0.0 V statt. An diesem Punkt können die Stromwerte abgelesen werden. Die Summe der Beträge der beiden Stromwerte, $\Delta I_{0.3V/0.0V}$ wird im Folgenden als Indikations-Parameter benutzt. Seine Auftragung gegen die Temperatur erlaubt Aussagen bezüglich des Zuganges zur Elektrodenoberfläche für das Redoxpaar, der wiederum vom gegebenen Struktur-Zustand der Polymer III-Schicht abhängig ist. In Abbildung 40 (a) sind Cyclovoltammogramme für 50 mg/mL-Filme bei 25 °C und bei 50 °C gezeigt (jeweils Anfang und Ende des Experimentes). Die Auftragung von $\Delta I_{0.3V/0.0V}$ für die Polymer III-Elektrode sowie der $\Delta I_{MAX,OX/MAX,RED}$ -Werte für eine unmodifizierte Gold-Elektrode gegen die Temperatur ist in Abbildung 40 (b) dargestellt. In Abbildung 40 (c) ist außerdem ein Vergleich der beiden Auswertungsmethoden dargestellt (Stromwerte bei festen Potentialen von 0.0 V und von 0.3 V einerseits und die maximalen Stromwerte bei variierenden Potentialen andererseits). Wie dieser Auftragung zu entnehmen ist, ist der Verlauf der Kurven jeweils der gleiche – die Stromwerte steigen kontinuierlich mit steigender Temperatur. Für den Vergleich mit der Polymer III-Elektrode werden trotzdem die Maximalwerte aus den Cyclovoltammogrammen benutzt, da an diesen Potentialen ganz sicher davon auszugehen ist, dass die Ströme hauptsächlich von der Redoxreaktion von Kaliumhexacyanoferrat(II/III) stammen (siehe Abbildung 40 (d)).

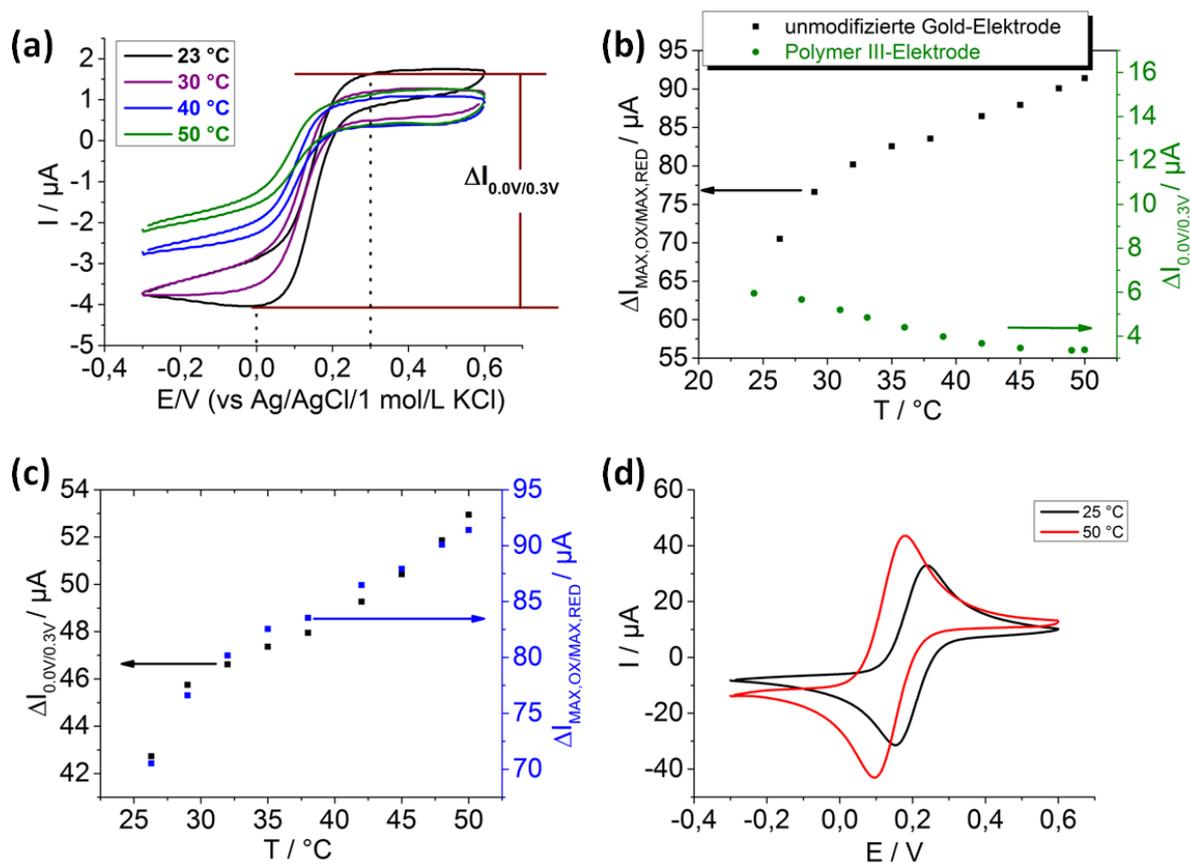


Abbildung 40: (a) Bei verschiedenen Temperaturen gemessenen Cyclovoltammogramme für 50 mg/mL Polymer III-Elektroden; (b) entsprechende Auftragung der $\Delta I_{0,3\text{V}/0,0\text{V}}$ -Werte für die Polymer III-Elektrode (grün) sowie der $\Delta I_{\text{MAX,OX/MAX,RED}}$ -Werte für die unmodifizierte Gold-Elektrode (schwarz) als Funktion der Temperatur; (c) $\Delta I_{0,3\text{V}/0,0\text{V}}$ - und die $\Delta I_{\text{MAX,OX/MAX,RED}}$ -Werte für eine unmodifizierte Elektrode als Funktion der Temperatur im Vergleich; (d) Die bei 25 °C und bei 50 °C gemessenen Cyclovoltammogramme für eine unmodifizierte Gold-Elektrode; gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm².

Das CV-Experiment unter Temperaturvariation für die nicht-modifizierte Gold-Elektrode zeigt einen konstanten Anstieg der $\Delta I_{0,3\text{V}/0,0\text{V}}$ -Werte aufgrund des konstanten Anstiegs der Diffusion von $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ -Teilchen. Die Stromwerte für die Polymer III-Elektrode sinken dagegen mit steigender Temperatur im Bereich zwischen 25 °C und 50 °C. Allerdings wird die Abnahme ab etwa 45 °C etwas schwächer. Dies deutet darauf hin, dass in diesem Temperaturbereich die Restrukturierung im Wesentlichen bereits abgeschlossen ist, weswegen weitere Experimente mit Polymer III-Elektroden im breiteren Temperaturbereich zwischen 20 °C und 60 °C durchgeführt wurden. Diese zeigen einen klaren Anstieg des elektrochemischen Umsatzes ab circa 50 °C (Abbildung 41).

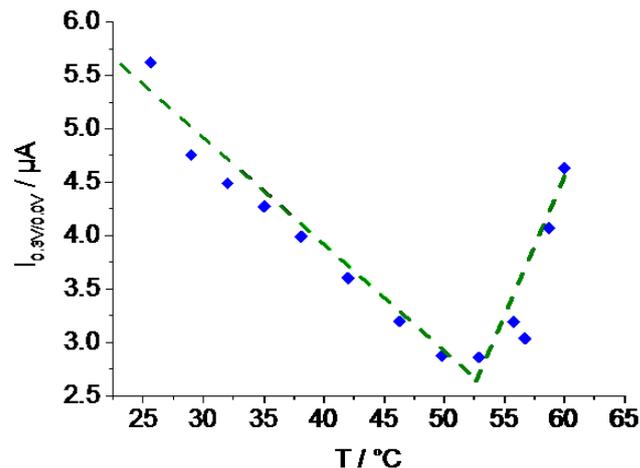


Abbildung 41: Auftragung der $\Delta I_{0.3V/0.0V}$ -Werte als Funktion der Temperatur; gemessen für eine Polymer III-Elektrode (50 mg/mL) in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

Diese Befunde zeigen, dass trotz der relativ hohen Schichtdicke von Polymer III an der Gold-Oberfläche, der elektrochemische Umsatz von Kaliumhexacyanoferrat (II/III) weiterhin stattfindet. Die temperaturbedingte Restrukturierung beeinflusst diesen Umsatz im Temperaturbereich zwischen 25 °C und 50 °C und wird dadurch elektrochemisch detektierbar. Der elektrochemische Umsatz an der Polymer III-Oberfläche wird von zwei Phänomenen beeinflusst. Der beschleunigte Transport von Redox-Teilchen mit steigender Temperatur führt an einer unmodifizierten Gold-Elektrode zum konstanten Anstieg des Peakstromes. An der Polymer III-Elektrode findet aber zusätzlich eine Temperatur-generierte Film-Restrukturierung statt, die den Zugang zur Elektrodenoberfläche zunehmend blockiert. Beim Anstieg der Umgebungstemperatur findet aufgrund steigender hydrophober Wechselwirkungen die Film-Kontraktion unter Wasser-Verdrängung statt. Die resultierende Polymer III-Ketten-Konzentration pro Volumen in der unmittelbaren Nähe zur Elektrodenoberfläche steigt, was wiederum den Zugang zur Elektrodenoberfläche für $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ weiter isoliert. Im Bereich um 50 °C scheint der Prozess der Netzwerk-Schrumpfung abgeschlossen zu sein, ohne dass eine vollständige Blockierung erreicht wird – von da an steigen die Stromwerte entsprechend der steigenden Diffusion des Redoxpaares. Der Restrukturierungsprozess bestimmt also das temperaturabhängige Verhalten im Temperaturbereich zwischen 25 °C und 50 °C.

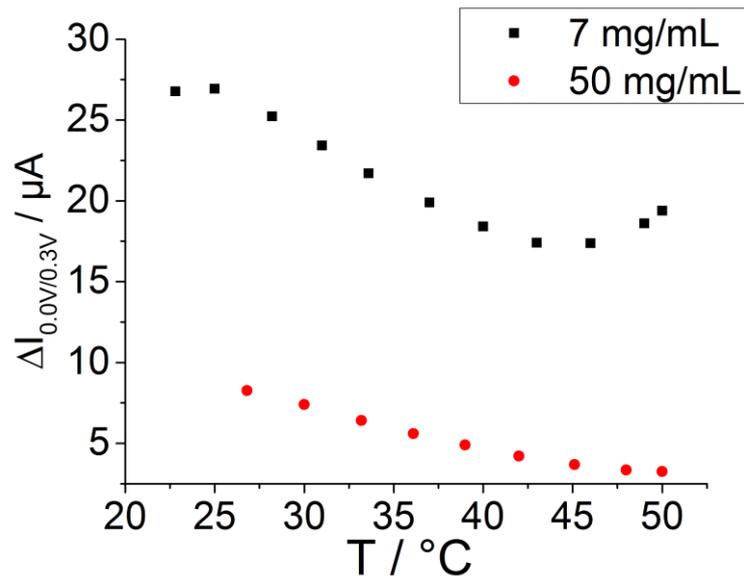


Abbildung 42: Auftragung der $\Delta I_{0.3V/0.0V}$ -Werte als Funktion der Temperatur für Polymer III-Elektroden aus Lösungen unterschiedlicher Konzentration; gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

Die Dicke des Polymer III-Filmes spielt eine wichtige Rolle für das Temperaturverhalten der Grenzfläche. Die Stromwerte für die 50 mg/mL-Elektrode sind deutlich geringer als für die 7 mg/mL-Elektroden (Abbildung 42). Das Netzwerk ist zwar nach wie vor dick genug, um die Durchlässigkeit zur Elektrodenoberfläche signifikant beeinflussen zu können, allerdings fangen die Stromwerte bereits ab circa 45 °C zu steigen.

Wie oben bereits erwähnt, sind in der Literatur sowohl Beispiele für responsive Schichten an Elektroden zu finden, bei denen der Restrukturierungsprozess zur Elektrodenblockierung führt⁹⁷⁻⁹⁹ als auch solche, die zu einem verbesserten Zugang zur Elektrodenoberfläche führen^{53,188}. Die Untersuchungen zum Temperaturverhalten der immobilisierten Polymere I, II und III zeigen, dass das Temperaturverhalten der Polymere unterschiedlich ist. Bei Polymeren I- und Polymer II-Elektroden ist die Temperaturabhängigkeit der Parameterwerte Peakstrom und Peakseparation diskontinuierlich. So wird nach Erreichen eines kritischen Temperaturpunktes (37 °C für Polymer I und 45 °C für Polymer II) eine deutliche Änderung der Peakströme beobachtet. Die zunächst langsame Zunahme der Peakströme wird ab diesem Temperaturpunkt deutlich schneller. Anders verhält sich die Polymer III-Schicht. Das Temperaturverhalten von Polymer III ist bis 50 °C kontinuierlich. Es wird durchgehend die Abnahme der Stromwerte beobachtet. Die Erklärung für diesen Unterschied ist in der detaillierten Betrachtung des Me-

chanismus der Restrukturierung zu suchen. Bei Polymeren I und II entspricht das Temperaturverhalten eher einem Phasenübergang wie dieser in Lösung beobachtet werden kann, da diese Polymere flexibel und weitestgehend unvernetzt an die Elektrode gekoppelt sind. Nach Erreichung der kritischen Temperatur kollabieren die Ketten unter Freilegung der Elektrodenoberfläche, womit der Zugang für das Redoxpaar erleichtert wird. Die Folge von diesem Prozess ist die Zunahme der gemessenen Ströme. Der Polymer III-Film ist dagegen deutlich dicker und ist stark vernetzt. Aus der fehlenden Flexibilität der Polymerketten folgt ein Temperaturverhalten, das eher einer Volumenveränderung entspricht. Das Netzwerk komprimiert bei steigender Temperatur kontinuierlich unter Wasserverdrängung. Die Volumenkonzentration des Polymers an der Goldoberfläche steigt bei fortschreitender Komprimierung, wodurch der Zugang zur Elektrodenoberfläche für das Redoxpaar stärker blockiert wird. Als Folge sinken die gemessenen Ströme.

Eine weitere wichtige Eigenschaft der thermoresponsiven Polymer III-Schicht wurde ebenfalls untersucht, nämlich die Reversibilität der thermisch induzierten strukturellen Veränderungen. Zu diesem Zwecke wurde das Temperaturexperiment mit derselben Polymer III-Elektrode drei Mal hintereinander durchgeführt. Die Form der gemessenen Cyclovoltammogramme bleibt bei wiederholten Messungen ähnlich im Vergleich zu dieser für Wiederholungsmessungen. Der Bereich der Oxidation bzw. der Reduktion wird auch bei Wiederholungsmessungen gut durch die Potentiale bei 0.3 V und 0.0 V repräsentiert.

In der Abbildung 43 sind die bei Anfangstemperatur (je nach Experiment zwischen 25 °C – 27 °C) und bei 50 °C bestimmten Stromwerte für drei aufeinanderfolgende Temperaturmessungen dargestellt. Das Herabsinken der Stromwerte bei steigender Temperatur als Folge der Polymer III-Restrukturierung ist für alle drei Messungen feststellbar. Dieses Ergebnis zeigt, dass die strukturellen Änderungen von fixiertem Polymer III tatsächlich reversibel sind. Allerdings steigen die Stromwerte bei gleicher Temperatur mit der Anzahl der Wiederholungen des Temperaturexperimentes an. Um ausschließen zu können, dass der Anstieg der Redoxströme vom Materialverlust während des Heizvorganges verursacht wird, wurde eine temperaturabhängige QCM-Messung eines Polymer III-modifizierten Sensors durchgeführt. Mehrere Heiz- und Abkühlvorgänge resultieren in einer geringen Frequenzänderung (etwa 5 %). Somit konnte gezeigt werden, dass die gewählte Modifizierungsmethode stabile Filme an Goldoberflächen ermöglicht. Der Grund für den Anstieg der Stromwerte bei Wiederholungsexperimenten hat somit ausschließlich strukturelle Ursachen.

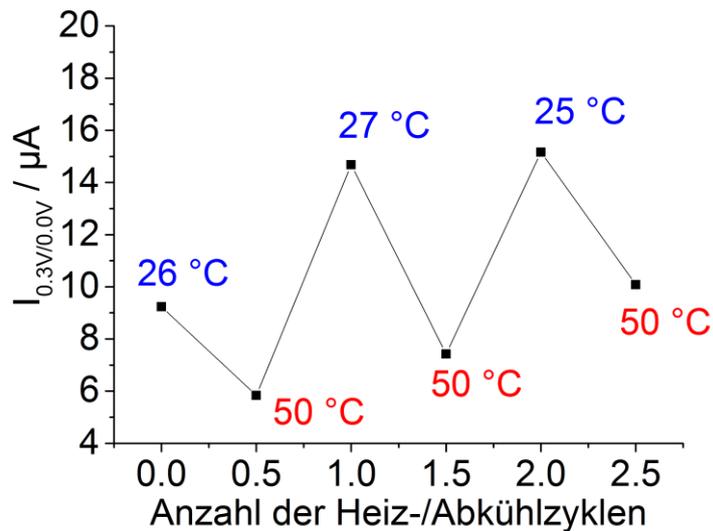


Abbildung 43: $I_{0.3V/0.0V}$ -Werte bei 25 °C und 50 °C gemessen für aufeinanderfolgende Heizzyklen; gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm².

3.5 Schaltbare Polymerfilme als Plattform für Bioerkennungereaktionen

Die Gegenwart von reaktiven Gruppen in Polymeren II und III ist nicht nur nützlich für die kovalente Ankopplung dieser an Goldoberflächen. Sie eignen sich auch zur Kopplung von weiteren Stoffen, zum Beispiel von Rezeptormolekülen. So modifizierte Polymerelektroden können dann als Sensorkomponenten in Systemen zur bioanalytischen Detektion genutzt werden. Die in dieser Arbeit untersuchten Rezeptoren sind zwei Tag-Peptide – das hydrophile FLAG-TAG-Peptid und das hydrophobe HA-TAG-Peptid (Abbildung 44). Das FLAG-TAG-Peptid besteht aus insgesamt acht Aminosäuren, wobei sieben davon hydrophil sind und nur eine hydrophob. Das FLAG-TAG-Peptid ist ein hydrophiles Peptid. Beim HA-TAG-Peptid sind fünf von insgesamt neun Aminosäuren hydrophob, nur zwei sind hydrophil. Das HA-TAG-Peptid ist ein hydrophobes Molekül.

FLAG-TAG-Peptid: N-Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Lys-C

HA-TAG-Peptid: N-Tyr-Pro-Tyr-Asp-Val-Pro-Asp-Tyr-Ala-C

Abbildung 44: Die Aminosäuresequenzen für das hydrophile FLAG-TAG-Peptid und für das hydrophobe HA-TAG-Peptid. Die roten Aminosäuren sind hydrophil, die grünen Aminosäuren sind hydrophob.

Die Grundidee folgender Experimente beinhaltet CV-, EIS- und QCM-Messungen bei Raumtemperatur und unter Temperaturvariation an Polymerelektroden vor und nach Anbindung der Biokomponenten mit Untersuchung des Einflusses auf das responsive Verhalten. Es sollte insbesondere getestet werden, ob der Einfluss der Analytankopplung auf die Responsivität für Detektionszwecke ausgenutzt werden kann.

3.5.1 Polymer II als Reaktionsmatrix für ein Bioerkennungereignis

Das Polymer II wurde in folgenden Experimenten als Reaktionsplattform für eine Bioerkennungsreaktion untersucht. Das dafür ausgesuchte Bindungspaar ist das hydrophile Octopeptid FLAG-TAG und der entsprechende IgG-Antikörper, der dieses Peptid spezifisch erkennt. Peptid-Tags sind nützliche, kurze Aminosäuresequenzen, die zur Markierung von Proteinen benutzt werden. FLAG-TAG ist ein häufig benutztes, immunogenes Tag-Peptid. Der in dieser Arbeit benutzte Bindungspartner ist der monoklonale ANTI-FLAG-M2-Antikörper. Das Modifizierungsschema zur Ankopplung des Bioerkennungspaares an die Polymer II-Oberfläche ist in Abbildung 45 (a) dargestellt.

Die elektrochemische Impedanzspektroskopie bietet einen deutlichen Nachweis der erfolgreichen FLAG-TAG und ANTI-FLAG-TAG-Immobilisierung an die Polymer II-Schicht. In Abbildung 45 sind die Impedanzspektren für eine Polymer II-, eine FLAG-TAG- und eine ANTI-FLAG-TAG-Elektrode dargestellt. Der Durchtrittswiderstand der Grenzfläche R_{CT} steigt deutlich von $498.08 \Omega\text{cm}^2$ für die Polymer II-Elektrode auf $1539.68 \Omega\text{cm}^2$ und $3276.8 \Omega\text{cm}^2$ für entsprechend die FLAG-TAG- und die ANTI-FLAG-TAG-Elektrode. Die Kapazität sinkt dagegen von $9.8 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ auf $10.8 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ und $12 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ für entsprechend die Polymer II-, FLAG-TAG und ANTI-FLAG-TAG-Elektrode. Der Grund für die Zunahme des Durchtrittswiderstandes liegt in der zugenommenen sterischen Hinderung der Polymerschicht für die redoxaktiven Spezies nach der Ankopplung von Peptid und vom Antikörper.

alle drei Elektrodensorten unverändert bei circa 45 °C. Es wird allerdings ein leichter Effekt der Ankopplung von FLAG-TAG-Peptid und des korrespondierenden Antikörpers auf den Bereich des Restrukturierungsprozesses beobachtet. So ist der Temperatur-Bereich des Wendepunktes für die Peptid- sowie für die Antikörper-Elektrode etwas verbreitert im Vergleich zur reinen Polymer II-Elektrode. In Abbildung 46 (c) ist außerdem der Temperaturverlauf der Peakströme für eine Blindprobe dargestellt. Dabei handelt es sich um eine Elektrode, bei der die Ankopplung des FLAG-TAG-Peptides nicht durchgeführt wurde, die ANTI-FLAG-TAG-Inkubation aber schon. Die Stromwerte für die Blindprobe sind viel höher als für die ANTI-FLAG-Elektrode. Offensichtlich bindet der Antikörper nicht unspezifisch an die Polymer II-Oberfläche. Diese Eigenschaft der Polymerschicht an der Elektrode ist vom großen Vorteil für die potentielle sensorische Anwendung, da dadurch jegliche unspezifische Bindung des Analyten ausgeschlossen werden kann. Diese Eigenschaft wurde in der Literatur bereits in mehreren Arbeiten beschrieben. Auch der Temperaturverlauf des Peakstromes ähnelt dem für eine Polymer II-Elektrode. Damit konnte gezeigt werden, dass der Effekt der Verbreiterung auf die Ankopplung der beiden Bioerkennungskomponenten zurückzuführen ist.

Eine mögliche Erklärung für den schwachen Einfluss auf die Responsivität der Schicht ist darin zu finden, dass die Flexibilität der Polymerketten durch die Anbindung der sperrigen FLAG-TAG- und ANTI-FLAG-TAG-Moleküle gehemmt wird. Eine weitere mögliche Erklärung für den schwachen Effekt auf die Responsivität liegt eventuell an der ähnlichen Hydrophilie aller drei Polymeroberflächen. Das FLAG-TAG-Peptid ist stark hydrophil und liegt bei pH 6.7 geladen vor. Auch der Antikörper ist ein hydrophiles Molekül. Die Vergrößerung des Übergangsbereiches ist eventuell auf die geringere Flexibilität der Polymerketten nach der Ankopplung der Biomoleküle zurückzuführen.

In der Literatur sind keine Beispiele für die Ankopplung von Peptiden an responsive Polymerschichten in elektrochemischen Sensoren beschrieben. Es sind allerdings einige wenige Beispiele von elektrochemischen Systemen beschrieben, bei denen die Peptid-Antikörper-Reaktion an der Oberfläche für biosensorische Zwecke benutzt wurde¹⁸⁹⁻¹⁹³. Mehrere solcher Systeme zur elektrochemischen Bestimmung von HIV-Antikörpern wurden von Gerasimov et al. entwickelt^{191,192}. Sie basieren auf einem Dekapeptid, dem hoch antigenen Epitop des HIV-Kapsidproteins (p24), das an der Elektrodenoberfläche fixiert wird. Die Peptidketten tragen Methylenblau-Moleküle, deren elektrochemischer Umsatz voltammetrisch detektiert wird. Als Voraus-

Ergebnisse und Diskussion

setzung für das Stattfinden der Redoxreaktion von Methyleneblau wird die Flexibilität der Peptid-Ketten beschreiben. Die Anbindung des Analyten (HIV-Antikörper) an das Peptid reduziert die erforderliche Flexibilität und hindert den Zugang der Methyleneblau-Moleküle zur Elektrode, womit der Elektronentransfer stark reduziert wird. Gerasimov et al. berichten die sensorische Ausnutzung dieses Effektes mit einem Detektionslimit von bis zu 1 nM (0.15 $\mu\text{g/mL}$) und einem linearen dynamischen Bereich von 1 nM – 100 nM¹⁹¹.

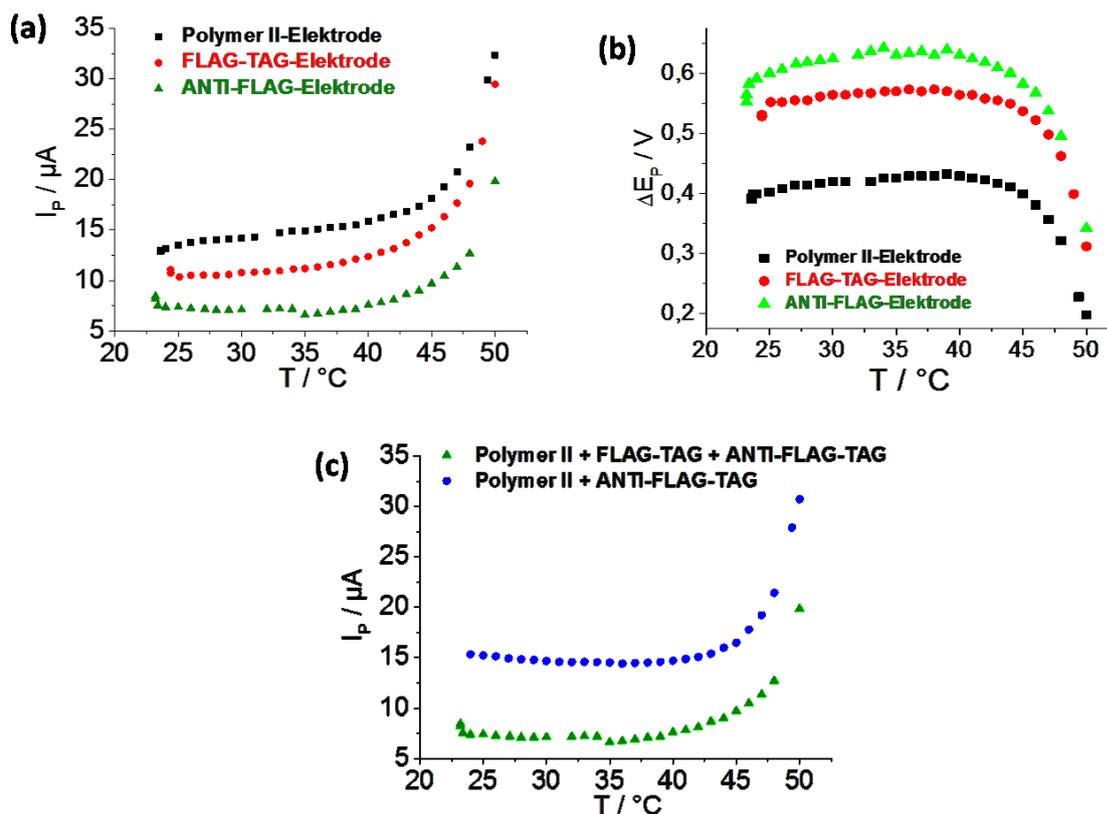


Abbildung 46: Auftragung des Oxidationspeak-Stromes (a) und der Peakseparation (b) für eine Polymer II-Elektrode, eine FLAG-TAG-Elektrode und eine ANTI-FLAG-TAG-Elektrode gegen die Temperatur; (c) Temperaturverlauf der Peakströme für eine ANTI-FLAG-TAG-Elektrode und für eine Blindprobe; gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

In dieser Arbeit lag die Konzentration von ANTI-FLAG in der Inkubationslösung bei $5 \mu\text{g/mL}$ und damit deutlich über der von Gerasimov beschriebenen. Der geringe Effekt erlaubt keine Quantitative Ausnutzung des entwickelten Systems. Somit kann weder das Detektionslimit noch der (lineare) dynamische Bereich angegeben werden. Zur Erhöhung der Sensitivität im Hinblick auf eine potentielle sensorische Anwendung, muss der Effekt der Antikörperanbindung auf die Responsivität der Polymerschicht deutlich gesteigert werden.

Zur Steigerung des Effektes wären zwei Strategien denkbar. Zum Einen wäre ein dickerer Polymerfilm vorteilhaft, da dieser die elektrochemischen Eigenschaften noch stärker beeinflussen würde. Zum Anderen wäre ein hydrophobes Peptid, das den Wassergehalt des Polymerfilms schon bei Raumtemperatur stark beeinflusst, ein interessantes Rezeptor-System. Beide Strategien wurden mit Systemen auf Polymer III-Basis getestet.

3.5.2 Polymer III als Plattform für Biorezeptoren

Das Polymer III wurde in folgenden Experimenten als Träger-Interface für Biorezeptoren untersucht. Es handelte sich dabei um zwei TAG-Peptide – das aus den Studien zum Polymer II bereits bekannte FLAG-TAG-Peptid und das HA-TAG-Peptid. Die Auswahl dieser Rezeptoren erfolgte im Hinblick auf deren Hydrophilie bzw. Lipophilie. Wie mit elektrochemischen Untersuchungen unter Temperaturvariation von Polymer II-FLAG-TAG-Konjugaten bereits gezeigt, ist der Einfluss der Ankopplung des FLAG-TAG-Peptides an das Polymer auf sein responsives Verhalten gering. Das hydrophile, geladene Peptid beeinflusst kaum das Hydrophilie/Lipophilie-Gleichgewicht. Für die folgenden Experimente an Polymer III-modifizierten Elektroden wurde daher das deutlich hydrophobere HA-TAG-Peptid ausgesucht. Der Einfluss der Ankopplung auf die Schaltbarkeit wird für beide Peptide verglichen.

Das Modifizierungsschema zur Ankopplung der Peptide FLAG-TAG und HA-TAG ist in Abbildung 47 (a) dargestellt. Die Cyclovoltammogramme der drei Elektrodensorten gemessen bei Raumtemperatur und bei 50 °C sind ebenfalls dargestellt (entsprechend Abbildung 47 (b) und (c)).

Die Ankopplung der Peptide erfolgt an die mittels EDC/NHS-Chemie aktivierte Polymer III-Oberfläche. Dazu werden Polymer III-Filme nach der Inkubation aus der 50 mg/mL-Lösung eingesetzt, da diese Filme besonders dick sind und hier deutliche Effekte zu erwarten sind. Die erfolgte Modifizierung des Polymer III-Filmes mit den beiden Peptiden kann gut mittels Cyclovoltammetrie verifiziert werden (Abbildung 47 (b)). Sowohl nach der Ankopplung von FLAG-TAG als auch nach der Ankopplung von HA-TAG sinken die Peakströme. Der Zugang zur Elektrode wird durch das Hinzukommen der beiden Moleküle offensichtlich noch weiter blockiert, allerdings ohne, dass die Blockierung vollständig ist. Die Peakströme für die FLAG-TAG-Elektrode sind dabei höher als für die HA-TAG-Elektrode.

Ergebnisse und Diskussion

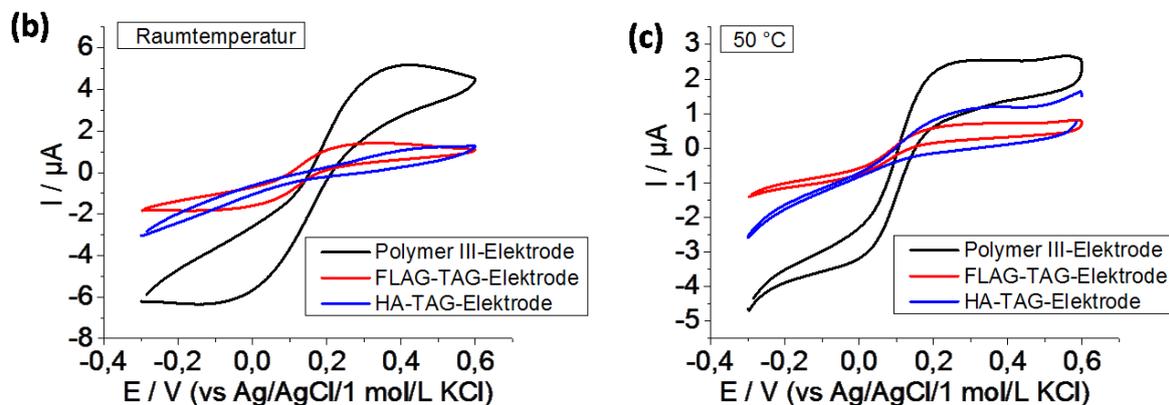
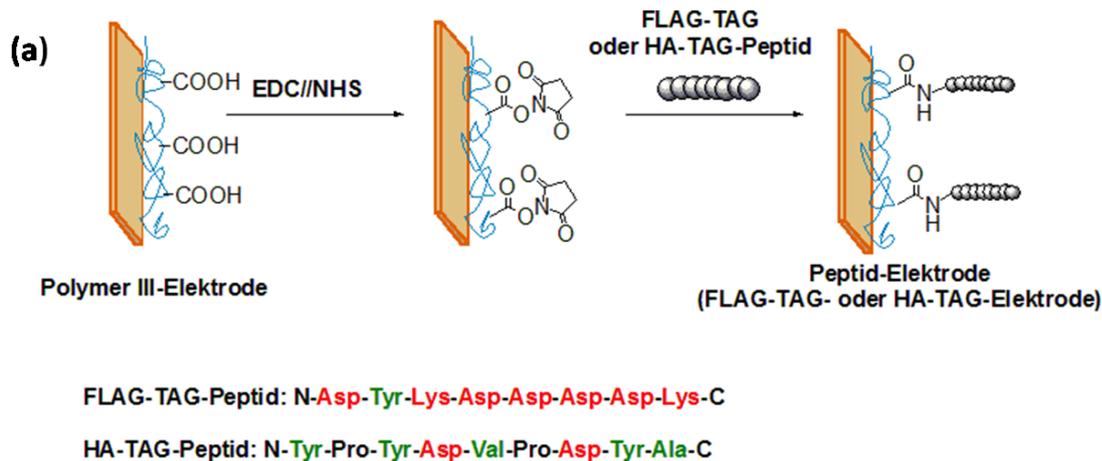


Abbildung 47: (a) Schema der kovalenten Immobilisierung der Peptide FLAG-TAG bzw. HA-TAG an die Polymer III-Oberfläche. In den angegebenen Aminosäure-Sequenzen sind die roten Aminosäuren hydrophil, die grünen Aminosäuren hydrophob; Die bei 25 °C (b) und bei 50 °C (c) gemessenen Cyclovoltammogramme für eine Polymer III-, eine FLAG- und eine HA-TAG-Elektrode; gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm².

Nach der Ankopplung der Peptide werden temperaturabhängige CV-Experimente durchgeführt. In Abbildung 48 sind die Temperaturdiagramme der gemittelten $\Delta I_{0,3V/0,0V}$ -Werte für die drei Elektrodensorten dargestellt.

Im Falle der FLAG-TAG-Elektrode sind die Stromwerte geringer als bei der Polymer III-Elektrode. Die Ankopplung von FLAG-TAG-Peptid erschwert also auch hier den Zugang der Redoxspezies zur Elektrodenoberfläche. Das Temperaturverhalten der FLAG-TAG-Elektrode ähnelt dem der Polymer III-Elektrode – die Stromwerte sinken kontinuierlich bis die Temperatur von ca. 40 °C erreicht ist, bei der ein Plateau beobachtet wird. Offensichtlich beeinflusst FLAG-TAG kaum den Quellgrad des Polymer III-Netzwerkes. Ein ähnlicher, geringer Einfluss der FLAG-TAG-Ankopplung ist auch im Falle der Polymer II-Schicht zu sehen (Kapitel 3.5.1).

Ergebnisse und Diskussion

Das Temperaturverhalten der HA-TAG-Elektroden unterscheidet sich dagegen deutlich von dem der ursprünglichen Polymer III-Elektroden. Bereits ab 30 °C wird ein Anstieg der Stromwerte beobachtet. Hier liegt offensichtlich eine deutlich veränderte Situation vor. Das gekoppelte hydrophobe HA-TAG-Peptid verdrängt Wasser aus dem Polymer III-Netzwerk, was zur Stauchung des Films führt. Dies führt dazu, dass der Film kaum noch im Laufe des Temperaturanstieges komprimiert. Die Stromwerte steigen in diesem Fall entsprechend des Anstieges der temperaturabhängigen Diffusion des Redoxpaares.

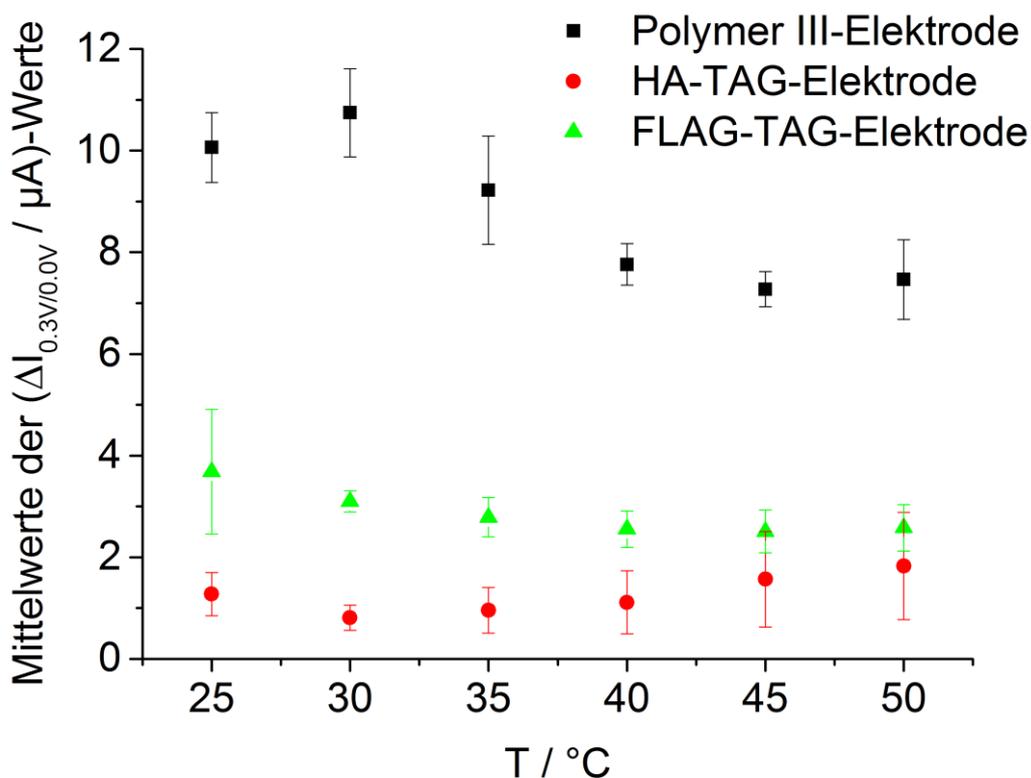


Abbildung 48: Auftragung der $\Delta I_{0,3V/0,0V}$ -Werte als Funktion der Temperatur für Polymer III-Elektroden, HA-TAG sowie FLAG-TAG-Elektroden (jeweils $n = 4$); gemessen in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})]^{4-}$ -Lösung (5 mmol/L) in 100 mmol/L Natriumphosphatpuffer (pH 6.7) mit der Scangeschwindigkeit von 100 mV/s. Die Elektrodenoberfläche beträgt 0.04 cm^2 .

Die Temperaturexperimente zeigen, dass die Polymer III-Eigenschaften nicht nur durch die pH- oder durch die Temperaturvariation beeinflusst werden, sondern auch durch die Ankopplung von Biomolekülen. Das hydrophobe HA-TAG-Peptid ist offensichtlich in der Lage den strukturellen Zustand des Polymernetzwerkes an der Oberfläche noch vor dem Temperaturanstieg zu verändern. Für eine potenzielle Verwendung von Polymer III-Schichten im Bereich der Sensorik bedeutet dies, dass signifikante Änderungen der Filmeigenschaften dann erwartet werden

Ergebnisse und Diskussion

können, wenn die Bioerkennungs-Reaktion signifikant das Hydrophobie/Hydrophile-Gleichgewicht beeinflusst.

Wie die signifikante Beeinflussung der Hydrophilie von responsiven Polymeren die sensorische Verwendung dieser ermöglicht, wurde bereits in einigen Studie demonstriert^{42,194,195}. Buller et al. beschreiben in ihrer Publikation⁴² ein thermosensitives Copolymer, das unter anderem ein Biotin-haltiges Monomer enthält. Die Anbindung von Avidin an das Copolymer erhöht die Hydrophilie des Polymers und verschiebt dadurch in einer signifikanten Weise den Punkt der Temperaturschaltung zu höheren Temperaturen. Die Verschiebung ist konzentrationsabhängig und erreicht einen Wert von bis zu 9 °C.

Couturier et al. beschreiben in ihrer Arbeit ein thermoresponsives Poly(OEGMA)-Polymer, das ein Benzoboroxol-haltiges Monomer enthält. Dieses Polymer bindet spezifisch an Diole, wobei je nach Hydrophilie des Analytdiols der Punkt des thermischen Überganges zu höheren bzw. zu niedrigeren Temperaturen verschoben wird. Die festgestellte Verschiebung der Übergangstemperatur beträgt mehr als +21 °C für das hydrophile Alizarin S bzw. -28 °C für das hydrophobe 3,5-Di-tert-butylcathechol. Dieses Polymer kann außerdem in Form eines inversen Opal-Hydrogels hergestellt und optisch untersucht werden. Unter Anbindung von Diolen an das Hydrogel wird eine signifikante, konzentrationsabhängige Verschiebung des Maximums der Bragg-Bande beschrieben. Der Grund für diese Verschiebung liegt in der Veränderung der Hydrophilie des Hydrogels aufgrund der Ankopplung des Diol-Analyts. Diese Veränderung resultiert im Schrumpfen oder Quellen des Hydrogels und den veränderten optischen Eigenschaften. Die konzentrationsabhängige Verschiebung des Maximums der Bragg-Bande als Antwort auf die Diol-Ankopplung ermöglicht die Verwendung der inversen Opal-Hydrogele für sensorische Zwecke.

4 Zusammenfassung, Fazit und Ausblick

Ein Ziel dieser Arbeit war die Herstellung und Charakterisierung von stabilen, thermoresponsiven und biokompatiblen Filmen auf Goldelektroden durch Fixierung eines bereits synthetisierten thermoresponsiven Polymers. Als Basis für die Entwicklung der responsiven Grenzfläche dienten drei unterschiedliche Copolymere aus der Gruppe der thermisch schaltbaren Poly(oligo(ethylenglykol)methacrylate), die in wässrigen Lösungen einen Knäuel-Kollaps-Übergang vom „Lower Critical Solution Temperature (LCST)“-Typ zeigen. Die gewählten Polymere enthalten reaktive funktionelle Gruppen, die einerseits die Polymer-Fixierung an Gold-Elektroden in Form von unterschiedlich dicken Filmen ermöglichen und andererseits die Ankopplung von bioaffinen Peptiden an den Film erlauben. Die Untersuchung der Polymer-Netzwerke als Matrix für die Ankopplung der bioaffinen Peptide stellte ein weiteres Ziel dieser Arbeit dar. Neben den elektrochemischen Eigenschaften der Polymer-Peptid-Filme stand weiterhin die Frage nach dem möglichen Einsatz dieser Filme in sensorischen Systemen im Fokus der Arbeit.

Die Polymere I, II und III wurden von Dr. Jens Buller (Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung, Arbeitskreis Dr. Wischerhoff und Universität Potsdam, Arbeitskreis Prof. Laschewsky) synthetisiert und für die Untersuchungen dieser Arbeit bereitgestellt. Die Zusammensetzung der Polymere I – III wurde so gewählt, dass Filme unterschiedlicher Dicke erhalten werden können. Das Polymer I enthält Amino-Gruppen, die eine kovalente Anbindung des Polymers an aktivierte Carbonsäuren-Ankergruppen an der Oberfläche der Goldelektrode erlaubt. Das Polymer II enthält Carboxygruppen, die nach der Aktivierung an Amino-Ankergruppen an der Oberfläche der Goldelektrode binden können. Das Polymer III enthält das Benzophenon-tragende BPEM, das die photoinduzierte Anbindung des Polymers an die Goldoberfläche sowie gleichzeitig die Vernetzung des erhaltenen Films erlaubt. Die Polymere II und III enthalten Carbonsäure-Gruppen, die außerdem die Ankopplung von Bioerkennungselementen erlauben.

Die fertig synthetisierten Polymere wurden in wässrigen Pufferlösungen mittels Turbidimetrie untersucht. Die turbidimetrischen Messungen der Copolymere in Lösungen haben gezeigt, dass der Trübungspunkt stark vom pH-Wert, der Gegenwart von Salzen sowie von der Ionenstärke der Lösung abhängig ist. Die pH- und Salz-Abhängigkeit ist durch das Vorhandensein proto-

nierbarer bzw. deprotonierbarer Gruppen in den Polymerketten von Polymeren II und III gegeben. Diese wichtige Eigenschaft in Lösung wurde auch bei weiteren Experimenten an der Oberfläche berücksichtigt. So erfolgten die elektrochemischen Messungen an Polymerelektroden in gepufferten Lösungen bekannter Ionenstärke, um stets gleiche Bedingungen der Messlösungen zu gewährleisten.

Nach der Charakterisierung der Polymere in Lösung wurden Kopplungsexperimente der Polymere I bis III an die Oberfläche der Gold-Elektroden durchgeführt. Die Entwicklung der jeweils passenden Immobilisierungsstrategien für die Polymere an Goldoberflächen erfolgte unter der Berücksichtigung der unterschiedlichen Zusammensetzung der untersuchten Polymere. Zur Herstellung stabiler Filme wurde jeweils eine kovalente Ankopplung der Polymere durchgeführt. Während bei Polymeren I und II die Ankopplung auf einer Amidverbrückung basierte, wurde bei Polymer III als alternative Methode zur Immobilisierung eine photoinduzierte Anbindung unter gleichzeitiger Vernetzung gewählt. Der Nachweis der erfolgreichen Ankopplung erfolgte bei allen Polymeren elektrochemisch mittels Cyclovoltammetrie und Impedanzspektroskopie in $K_{3/4}[Fe(CN)_6]$ -Lösungen. Die Blockierung der Elektrodenoberfläche führte zum verminderten elektrochemischen Umsatz der Redoxspezies, was in geringeren Peakströmen und größerer Impedanz resultierte. Ferner wurden mit SPR, QCM und Ellipsometrie weitere Techniken zum Nachweis der Polymer-Fixierung hinzugezogen. Wie die Ellipsometrie-Messungen zeigten, waren die erhaltenen Polymer-Filme unterschiedlich dick. Die Ankopplung über Amidverbrückung lieferte dünne Filme (10 – 15 nm), während der photovernetzte Film deutlich dicker war (70-80 nm) und die darunter liegende Oberfläche relativ gut isolierte.

Elektrochemische Temperaturexperimente an Polymer-modifizierten Oberflächen zeigten, dass auch die immobilisierten Polymere I bis III responsives Temperaturverhalten zeigen. Die strukturelle Reorganisation der Filme ist aus Temperatur-Auftragungen der cyclovoltammetrischen Parameter gut identifizierbar. Bei Systemen mit relativ dünnen Filmen (basierend auf Polymeren I und II) mit gut ausgeprägten Peaks sind diese Parameter Peakstrom und Peakseparation. Bei Polymer III mit schlecht ausgeprägten Peaks werden die Stromwerte im Oxidationsbereich sowie im Reduktionsbereich von Kaliumhexacyanoferrat hinzugezogen.

In Elektrolyt-Lösungen bei relativ neutralem pH-Wert (Kaliumchlorid-Lösung für Polymer I und Natriumphosphat-Lösung mit pH 6.7 für Polymere II und III) ist das Temperaturverhalten der Polymere unterschiedlich. Bei Elektroden mit den immobilisierten Polymeren I und II ist der Temperaturverlauf der Parameterwerte diskontinuierlich – ab einem kritischen Punkt (37

°C für Polymer I und 45 °C für Polymer II) ändern sich die Peakströme signifikant. Die zunächst langsame Zunahme der Peakströme wird dann deutlich schneller. Das Temperaturverhalten von Polymer III ist dagegen bis 50 °C kontinuierlich, der Peakstrom sinkt hier durchgehend.

Ein wichtiges Kriterium responsiver Systeme ist die Reversibilität der strukturellen Änderungen. Wiederholte QCM-Experimente unter Temperaturvariation mit Polymer II-modifizierten Sensoren zeigen einen nur leichten Verlust des Polymers. Der Polymerfilm scheint relativ stabil zu sein. Wiederholte cyclovoltammetrische Messungen zeigen allerdings, dass die strukturelle Reorganisation von Polymer II nicht reversibel ist. Polymer III-basierte Elektroden-Systeme zeigen dagegen eine gute Stabilität und Reversibilität.

Weiterhin wurde mit den auf Polymeren II und III basierten Elektroden deren Anwendung als responsive Matrix für Bioerkennungsreaktionen untersucht. Sowohl Polymer II als auch Polymer III enthalten reaktive Carboxygruppen, die nach EDC/NHS-Aktivierung zur Ankopplung von Peptiden geeignet sind. Es wurde die Ankopplung von kleinen Biorezeptoren, TAG-Peptiden, durchgeführt. Die erfolgreiche Anbindung konnte mittels elektrochemischer Impedanzspektroskopie nachgewiesen werden.

Das hydrophile FLAG-TAG-Peptid verändert das Temperaturverhalten des Polymer II-Films unwesentlich, da es die Hydrophilie des Netzwerkes nicht beeinflusst. Die Temperaturkurven verlaufen auch für die FLAG-TAG-Elektroden diskontinuierlich, die Schaltung ist also nach wie vor möglich. Weiterhin wurde der Effekt der Ankopplung der ANTI-FLAG-TAG-Antikörper an FLAG-TAG-modifizierte Polymer II-Filme untersucht. Mittels elektrochemischer Impedanzspektroskopie konnte gezeigt werden, dass die Antikörper spezifisch an FLAG-TAG-modifiziertes Polymer II binden. Es wurde keine unspezifische Anbindung von ANTI-FLAG-TAG an Polymer II beobachtet. Die Temperaturexperimente haben gezeigt, dass die thermische Restrukturierung des Polymer II-FLAG-TAG-Filmes auch nach der Antikörper-Ankopplung noch stattfindet. Der Einfluss der ANTI-FLAG-TAG-Ankopplung ist gering. Der Temperaturbereich, in dem strukturelle Veränderungen stattfinden, ist im Vergleich zu Polymer II-Elektroden bzw. zu FLAG-TAG-Elektroden etwas verbreitert. Die Spezifität der ANTI-FLAG-Bindung im untersuchten System ist ein vorteilhaftes Charakteristikum für eine potentielle sensorische Anwendung. Allerdings sind die Effekte auf die thermische Schaltung zu gering, um daraus einen quantitativen Nutzen ziehen zu können. Der Unterschied in der Hydrophilie zwischen Polymer II und FLAG-TAG bzw. ANTI-FLAG-TAG ist offensichtlich zu gering. Für eine potentielle

sensorische Anwendung müssen Peptide benutzt werden, deren Hydrophilie-/Hydrophobie-Eigenschaften sich wesentlich von denen des Polymer-Netzwerkes unterscheiden.

Für die Untersuchungen mit Polymer III-Elektroden wurde neben dem hydrophilen FLAG-TAG-Peptid das deutlich hydrophobere HA-TAG-Peptid ausgewählt. Wie im Falle der Polymer II Elektrode beeinflusst das gekoppelte FLAG-TAG-Peptid das Temperaturverhalten des Polymer III-Netzwerkes nur geringfügig. Die gemessenen Stromwerte sind geringer als bei der Polymer III-Elektrode. Das Temperaturverhalten der FLAG-TAG-Elektrode ähnelt dem der reinen Polymer III-Elektrode – die Stromwerte sinken kontinuierlich bis die Temperatur von ca. 40 °C erreicht ist, bei der ein Plateau beobachtet wird. Offensichtlich verändert FLAG-TAG auch in diesem Fall nicht wesentlich die Hydrophilie des Polymer III-Netzwerkes. Das an Polymer III-Elektroden gekoppelte hydrophobe HA-TAG-Peptid beeinflusst dagegen im starken Maße den Quellzustand des Netzwerkes. Die Ströme für die HA-TAG-Elektroden sind deutlich geringer als die für die FLAG-TAG-Polymer III-Elektroden, was auf geringeren Wassergehalt und einen dickeren Film zurückzuführen ist. Bereits ab 30 °C erfolgt ein Anstieg von Stromwerten, der bei Polymer III- bzw. bei Polymer III-FLAG-TAG-Elektroden nicht beobachtet werden kann. Das gekoppelte hydrophobe HA-TAG-Peptid verdrängt Wasser aus dem Polymer III-Netzwerk, was in der Stauchung des Films bereits bei Raumtemperatur resultiert. Dies führt dazu, dass der Film im Laufe des Temperaturanstieges kaum noch komprimiert. Die Stromwerte steigen in diesem Fall entsprechend des Anstiegs der temperaturabhängigen Diffusion des Redoxpaares. Diese Untersuchungen zeigen, dass das HA-TAG-Peptid als Anker-molekül deutlich besser für eine potentielle Verwendung der Polymer III-Filme für sensorische Zwecke geeignet ist, da es sich deutlich in der Hydrophilie von Polymer III unterscheidet.

Als Fazit für eine potenzielle Verwendung von Poly(OEGMA)-Schichten im Bereich der elektrochemischen Sensorik kann festgestellt werden, dass signifikante Änderungen der Filmeigenschaften dann erwartet werden können, wenn die Bioerkennung-Reaktion signifikant das Hydrophobie/Hydrophilie-Gleichgewicht der Polymerschicht beeinflusst. Bei der Wahl des Rezeptors und des Analyten muss auf wesentliche Unterschiede in der Hydrophilie geachtet werden. Die Dicke des Polymerfilms muss ausreichend groß sein, ohne allerdings die Elektrodenoberfläche vollständig zu blockieren und dadurch den Zugang für die signalgebenden Redoxspezies zu verhindern.

5 Materialien und Methoden

5.1 Synthese der Polymere I – III

Die Polymere I – III wurden von Dr. Jens Buller (Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung, Arbeitskreis Dr. Wischerhoff und Universität Potsdam, Arbeitskreis Prof. Laschewsky) wie folgt synthetisiert. Die gereinigten Polymere wurden für diese Arbeit bereitgestellt.

Synthese von Polymer I

(Diethylenglykol)monomethylethermethacrylat (MEO₂MA, 91 Äquivalente), (Oligoethylenglykol)monomethylethermethacrylat (OEGMA, $M_n = 475$ g/mol, 8 Äquivalente) und das Hydrochlorid von 2-Aminoethylmethacrylat APMA (0.5 Äquivalente) werden in Ethanol (85 Gew.-%) gelöst. Azobis(isobutyronitril) (AIBN) (0.5 Äquivalente) wird hinzugefügt und die Lösung 30 Minuten lang mit trockenem Argon gespült. Die Reaktionsmischung wird danach 20 Stunden bei 60 °C gerührt. Durch Einleiten von Luft in die Reaktionsmischung wird die Reaktion gestoppt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingedunstet, die Lösung mit Wasser verdünnt und gegen entsalztes Wasser dialysiert (ZelluTrans-Dialysemembran von Roth, nominelle Ausschlussgrenze des Molekulargewichts 4000-6000 g/mol). Das Copolymer wird anschließend durch Gefriertrocknung isoliert. Die Ausbeute beträgt 90 % ($M_{w,GPC} = 4.4 \cdot 10^5$ g/mol, $PDI_{GPC} = 6.3$). Das isolierte Copolymer wurde mittels ¹H-NMR analysiert, die Gegenwart der Amino-Gruppen wurde durch qualitativen Ninhydrin-Test bestätigt.

Synthese von Polymer II

MEO₂MA (80 Äquivalente) und 2-Succinyloxyethylmetacrylat (MES, 20 Äquivalente) werden in Ethanol gelöst (23 Gewichts-% der Monomere in Ethanol). AIBN (0.5 Äquivalente) wird hinzugefügt und die Lösung 40 Minuten lang mit trockenem Argon gespült. Die Reaktionsmischung wird danach 16 Stunden bei 60 °C gerührt. Durch Einleiten von Luft in die Reaktionsmischung wird die Reaktion gestoppt. Anschließend wird die Lösung mit entsalztem Wasser verdünnt und gegen entsalztes Wasser dialysiert. Das Copolymer wird dann durch Gefriertrocknung isoliert. Die Ausbeute beträgt 90 % ($M_{w,GPC} = 7.1 \cdot 10^5$ g/mol(in DMF), $PDI_{GPC} = 3.3$). Das isolierte Copolymer wurde mittels ¹H-NMR analysiert. Die ¹H-NMR-Untersuchung zeigte,

dass das molare Verhältnis der im Copolymer eingebauten Monomere dem in der Reaktionslösung entspricht.

Synthese von Polymer III

MEO₂MA (90.5 Äquivalente), OEGMA ($M_n = 475$ g/mol, 4 Äquivalente), MES (5 Äquivalente) und 2-(4-Benzoylphenoxy)ethylmethacrylat (BPEM, 0.5 Äquivalente) werden in Ethanol (20 Gew.-% der Monomere in Ethanol) gelöst. Azobis(isobutyronitril) (AIBN) (0.25 Äquivalente) wird hinzugefügt und die Lösung 30 Minuten lang mit trockenem Argon gespült. Die Reaktionsmischung wird danach 20 Stunden bei 60 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Einleiten von Luft gestoppt, mit entsalztem Wasser verdünnt und anschließend dialysiert. Das Copolymer wird durch Gefriertrocknung isoliert. Alle Arbeitsschritte wurden unter Rotlicht durchgeführt. Das isolierte Copolymer wurde mittels ¹H-NMR analysiert (in CDCl₃, Bruker Advance 300 Spektrometer). Die ¹H-NMR-Untersuchung zeigte, dass das molare Einbauverhältnis der Monomere im Copolymer dem Verhältnis in der Reaktionslösung entspricht.

5.2 Turbidimetrie-Messungen

Trübungsmessungen wurden an Polymerlösungen (1 mg/mL) in entsalztem Wasser, Kaliumchlorid-Lösung (100 mmol/L), Natriumphosphat-Puffer (100 mmol/L, bei unterschiedlichen pH-Werten) durchgeführt. Dazu wurde das Spektrophotometer Evolution 300 (Thermo Fisher Scientific, Germany) mit eingebauter Peltierelement-temperierbarer Zellhalterung benutzt. Die Lichtabsorption (670 nm, Spaltbreite von 4 nm) als Funktion der Temperatur aufgenommen. Die Heizrate betrug 1 °C/min. Messküvetten: Quarzglas SUPRASIL ® (200-2500 nm), von Hellma Analytics (Müllheim, Deutschland), innere Breite 4 mm, optische Weglänge 10 mm.

5.3 UV/vis-Messungen zur Kinetik der Photoreaktion

Die spektralphotometrischen Messungen wurden an Polymer III- und DPBP-Lösungen in Ethanol vor und nach Bestrahlung mit UV-Licht durchgeführt. Die Bestrahlung erfolgte mittels zweier UV-Lampen mit je einem 254- und einem 366 nm-Strahler (4 Watt, Benda, Deutschland). Die Lösungen befanden sich während der Bestrahlung in der Messküvette (Quarzglas SUPRASIL ® (200-2500 nm) von Hellma Analytics (Müllheim, Deutschland), innere Breite 4 mm, optische Weglänge 10 mm). Die Konzentration von DPBP in Ethanol betrug 0.01 mg/mL,

die Konzentration von Polymer III 2.5 mg/mL. Dazu wurde das Spektrophotometer Evolution 300 (Thermo Fisher Scientific, Germany) benutzt (Messfenster 190-1000 nm, Bandbreite 0.5 nm).

5.4 Reinigung von Goldelektroden und von Goldsensoren

Vor der Immobilisierung von Gold mit den Polymeren wird eine intensive Reinigung der zu modifizierenden Oberfläche durchgeführt.

Golddrahtelektroden werden 4 Stunden lang in 2.5 mol/L Kaliumhydroxid-Lösung in Wasser gekocht und anschließend mit viel entsalztem Wasser abgespült. Danach werden die Elektroden drei Mal jeweils 10 Minuten in Piranha-Lösung (H_2O_2 (30 %)/ H_2SO_4 (96 %) im Volumenverhältnis 1/4) gelagert. Nach jedem Piranha-Schritt werden die Elektroden intensiv mit viel entsalztem Wasser gespült. Nach der Reinigung werden die Elektroden in konzentrierter Schwefelsäure gelagert. Vor der Modifizierung der Elektroden werden diese 15 Minuten lang in konzentrierter Salpetersäure gelagert und anschließend mit viel entsalztem Wasser abgespült.

SPR- und QCM-Sensoren werden nicht in KOH-Lösung gekocht. Die Reinigung mit Piranha-Lösung erfolgt wie bei den Golddrahtelektroden. Die Sensoren werden geschützt an der Luft gelagert und nicht vor der Benutzung in Salpetersäure getaucht.

5.5 Immobilisierung von Polymeren I – III an die Goldoberfläche

Immobilisierung von Polymer I an die Goldoberfläche

Golddrahtelektroden werden nach der Reinigung 2 Stunden lang in 10 mmol/L MPA-Lösung in Ethanol inkubiert. Anschließend erfolgt der Aktivierungsschritt – die Elektroden werden für 15 Minuten in die wässrige Lösung von EDC (200 mmol/L) und NHS (50 mmol/L) getaucht und danach kurz mit Wasser abgespült. Danach werden die Elektroden 2 Stunden lang in der wässrigen Polymerlösung der Konzentration 7 mg/mL inkubiert.

Immobilisierung von Polymer II an die Goldoberfläche mit anschließender Peptid- sowie Antikörper-Ankopplung

Golddrahtelektroden werden nach der Reinigung 1 Stunde lang in 10 mmol/L Cystamin-Lösung (Cystamin-Dihydrochlorid) in Wasser inkubiert. Anschließend erfolgt die Polymerankopplung – die Elektroden werden für 1 Stunde in die Polymer II-Lösung (10 mg/mL) mit EDC (200 mmol/L) in Natriumphosphatpuffer (100 mmol/L, pH 6.7) getaucht und danach kurz mit Wasser abgespült. Zur Aktivierung der Carbonsäure-Gruppen an der Polymer II-modifizierten Oberfläche, werden die Elektroden für 15 Minuten in die wässrige Lösung von EDC (200 mmol/L) und NHS (50 mmol/L) getaucht und danach kurz mit Wasser abgespült. Danach erfolgt die Kopplung des FLAG-TAG-Peptides durch einstündige Inkubation in Peptidlösung (1 mmol/L) im Natriumphosphatpuffer (100 mmol/L, pH 4.8). Die FLAG-TAG-Elektrode kann anschließend für das Bioerkennungsexperiment mit dem entsprechenden Antikörper benutzt werden. Dazu wird die Elektrode eine Stunde lang in ANTI-FLAG-Lösung (5 µg/mL) in 10 mmol/L HEPES-Puffer (pH 7.0) inkubiert.

Immobilisierung von Polymer III an die Goldoberfläche mit anschließender Peptidankopplung

Golddrahtelektroden werden nach der Reinigung 1 Stunde lang in 10 mmol/L DPBP-Lösung in Ethanol inkubiert. Die Elektroden werden danach für 15 Minuten in die Polymer III-Lösung (7 mg/mL oder 50 mg/mL) in Natriumphosphatpuffer (100 mmol/L, pH 8.0) getaucht. Nach dem Herausnehmen werden die Elektroden 30 Minuten lang bestrahlt. Die Bestrahlung erfolgt mittels zweier UV-Lampen mit je einem 254- und einem 366 nm-Strahler (4 Watt, Benda, Deutschland). Nach der Bestrahlung werden die Elektroden 18 Stunden lang in PBS (pH 7.0) unter Rührung gelagert. Falls weitere Modifizierung mit Peptiden erfolgt, werden die Elektroden eine Stunde lang in PBS gerührt und anschließend weiter verwendet. Zur Aktivierung der Carbonsäure-Gruppen an der Polymer III-modifizierten Oberfläche, werden die Elektroden 30 Minuten lang in wässriger Lösung von EDC (200 mmol/L) und NHS (50 mmol/L) gerührt und danach kurz mit Wasser abgespült. Danach erfolgt die Kopplung des FLAG-TAG-Peptides (0.092 mg/mL, 91 µmol/L) oder des HA-TAG-Peptides (0.1 mg/mL, 91 µmol/L) durch 17 h Rühren in Peptidlösung in PBS (pH 7.0).

5.6 Elektrochemische Messungen bei Raumtemperatur und unter Temperaturvariation

Zur Aufnahme der Cyclovoltammogramme wurde die elektrochemische Arbeitsstation 660B der CHI Instruments (Austin, TX, USA) benutzt. Die Messungen wurden in einer 1 mL Messzelle, mit (Ag/AgCl/ 1 M KCl)-Referenzelektrode und Platin-Gegenelektrode durchgeführt. Die CVs (Scanrate von stets 100 mV/s) wurden im Messfenster zwischen -0.3 V und 0.6 V in 5 mmol/L-Lösungen von $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ (in unterschiedlichen Puffersystemen) aufgenommen. Für Temperaturexperimente wurde die komplette Messzelle in einem Heizschrank (Binder, Tuttlingen, Deutschland) geheizt. Impedanzspektren wurden an der gleichen Arbeitsstation aufgenommen. Diese Messungen wurden stets am Gleichgewichtspotential des Redoxpaares durchgeführt, mit der Anregungsamplitude von 5 mV.

5.7 Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie-Messungen unter Temperaturvariation

SPR-Messungen wurden durchgeführt mit Biacore T100-System (Biacore AB, Schweden). Dazu wurden die Chips in die Flusszelle montiert und das auf bestimmte Temperatur temperierte Wasser wurde 15 Minuten lang injiziert (2 $\mu\text{L}/\text{min}$). Das SPR-Signal wurde simultan aufgenommen. Die Intensität des Signals wurde für jede Temperatur genau 600 Sekunden nach dem Injektionsstart bestimmt.

5.8 Quarzkristall-Mikrowaage-Experimente

QCM-Messung zur Untersuchung der Polymer II-Ankopplung

Die Immobilisierung von Polymer II an QCM-Sensoren erfolgt im Flusssystem. Dazu wird ein QCM-Chip nach der Reinigung außerhalb der Messzelle eine Stunde lang in Cystamin-Lösung (10 mmol/L, in Wasser) inkubiert. Anschließend wird der Sensor in die Messzelle montiert. Nach dem Einschwingen des Messkristalls im Natriumphosphatpuffer (100 mmol/L, pH 6.7), wird die QCM-Messung gestartet. Bei konstanter Flussrate von 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ erfolgt erst die Messung im Natriumphosphatpuffer (100 mmol/L, pH 6.7), anschließend (nach Erreichen einer konstanten Basislinie) wird die Polymer II-Lösung mit EDC (in der gleichen Konzentration wie für Golddrahtelektroden) drüber geleitet. Die Flussrate beträgt in den ersten drei Minuten 100

$\mu\text{L}/\text{min}$. Anschließend wird die Flussrate für die folgenden 57 Minuten auf $6 \mu\text{L}/\text{min}$ herabgesetzt. Nach dem Spülschritt (Natriumphosphatpuffer, $100 \text{ mmol}/\text{L}$, $\text{pH } 6.7$; $100 \mu\text{L}/\text{min}$) wird die Frequenzänderung bestimmt.

Die mit Polymer II modifizierten Gold-Sensoren wurden außerdem für Temperaturabhängige QCM-Messungen benutzt. Dazu wurde der Chip nach der Modifizierung im Natriumphosphatpuffer ($100 \text{ mmol}/\text{L}$, $\text{pH } 6.7$) bei Flussrate von $6 \mu\text{L}/\text{min}$ vermessen unter gleichzeitiger Temperaturvariation nach Schema aus Abbildung 49.

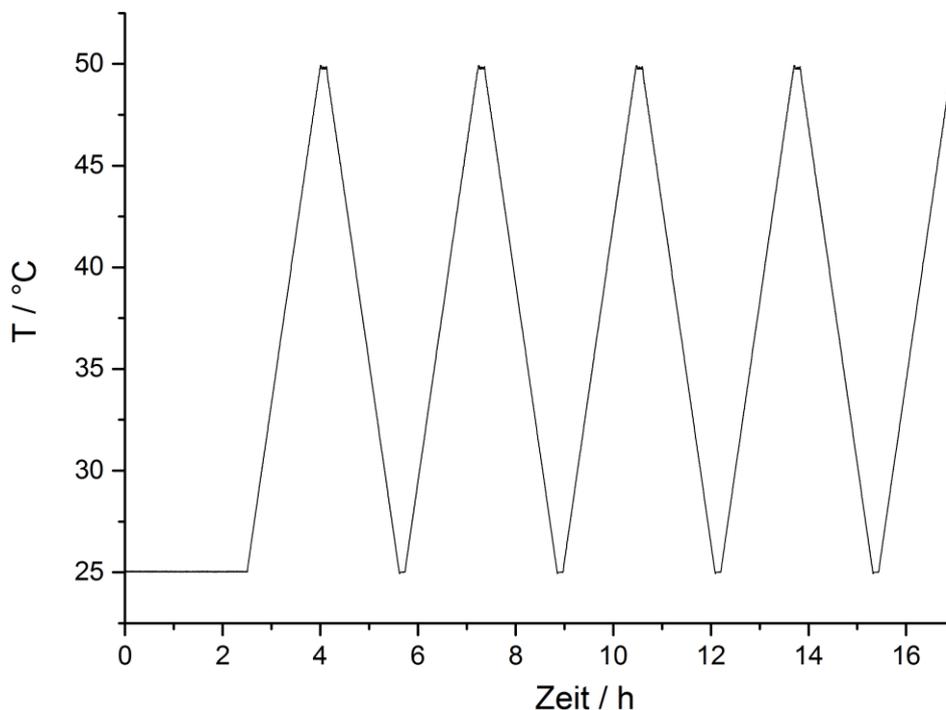


Abbildung 49: Temperaturprogramm für QCM-Messungen.

QCM-Messung zur Untersuchung der Polymer III-Ankopplung

Die Immobilisierung von Polymer III an QCM-Goldsensoren erfolgte nach dem gleichen Schema wie für die Golddrahtelektroden. Allerdings erfolgt nach dem Inkubationsschritt in der Polymerlösung ein kurzer Spülschritt in der Pufferlösung ($100 \text{ mmol}/\text{L}$ Natriumphosphatpuffer, $\text{pH } 8.0$). Dazu wird der Sensor kurz in die Spüllösung eingetaucht und erst danach erfolgt die Bestrahlung (mit einer Lampe). Die Konzentration der Polymerlösung betrug 1.5 , 7 und $50 \text{ mg}/\text{mL}$.

Die mit Polymer III modifizierten Gold-Sensoren wurden außerdem für pH-abhängige QCM-Messungen benutzt. Dazu wurde der Chip nach der Modifizierung im Natriumphosphatpuffer (100 mmol/L) mit unterschiedlichen pH-Werten bei Flussrate von 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ vermessen.

5.9 Spektroskopische Infrarot-Ellipsometrie

Die IR-ellipsometrischen Messungen aus dieser Arbeit wurden von Dr. Hinrichs (ISAS Adlershof) gemacht. Spektroskopische IR-ellipsometrische Messungen wurden im Bereich des mittleren Infrarot ($3000\text{-}800\text{ cm}^{-1}$) mit der spektralen Auflösung von 4 cm^{-1} durchgeführt. Dazu wurde eine selbstgebaute Ellipsometrie-Einheit mit dem Bruker Vertex70/Bruker IFS 55 Fourier transform spectrometer (Bruker, Germany) verbunden. Als Detektor diente ein photovoltaisches MCT-Detektor (Kolmar Technologies, USA), gekühlt mit flüssigem Stickstoff.

5.10 Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Summenformel	CAS-Nummer	Reinheit	Lieferant
ANTI-FLAG-TAG M2 (Maus)	-	-	-	Sigma-Aldrich
n-Butylamin	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}$	109-73-9	99.5	Sigma-Aldrich
Cystamin-Dihydrochlorid	$\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_2\text{S}_2\text{Cl}$	56-17-7	96 %	Sigma-Aldrich
2-(dicyclohexylphosphino)-benzophenon (DPBP)	$\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{OP}$	256926-87-1	95 %	Sigma-Aldrich
Dinatriumhydrogenphosphat	Na_2HPO_4	7558-79-4	$\geq 99.0\%$	Sigma-Aldrich

Materialien und Methoden

1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-Hydrochlorid (EDC)	$C_8H_{18}N_3Cl$	25952-53-8	$\geq 98 \%$	Sigma-Aldrich
Ethanol	C_2H_5OH	64-17-5	$\geq 99,8 \%$	Roth
2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES)	$C_8H_{17}N_2NaO_4S$	75277-39-3	99.5 %	Sigma-Aldrich
FLAG-TAG-Peptid (N-Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys-C)	$C_{41}H_{60}N_{10}O_2$	-	$\geq 85 \%$	Sigma-Aldrich
Golddraht-Elektroden	Au	-	99.95 %	Goodfellow
HA-TAG-Peptid (N-Tyr-Pro-Tyr-Asp-Val-Pro-Asp-Tyr-Ala-C)	$C_{53}H_{67}N_9O_{17}$	92000-76-5	$\geq 97 \%$	Sigma-Aldrich
N-Hydroxysuccinimid (NHS)	$C_4H_5NO_3$	6066-82-6	98 %	Sigma-Aldrich
Kaliumchlorid	KCl	7447-40-7	$\geq 99 \%$	Sigma-Aldrich
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	7778-77-0	$\geq 99.0 \%$	Sigma-Aldrich
Kaliumhexacyanoferrat(II) (Trihydrat)	$C_6FeK_4N_6$	14459-95-1	$\geq 99 \%$	Sigma-Aldrich
Kaliumhexacyanoferrat(III)	$C_6FeK_3N_6$	13746-66-2	$\geq 99 \%$	Sigma-Aldrich
Kaliumhydroxid	KOH	1310-58-3	$\geq 85 \%$	Sigma-Aldrich

Materialien und Methoden

3-Mercaptopropionsäure (MPA)	$C_3H_6O_2S$	107-96-0	$\geq 99 \%$	Sigma-Aldrich
Natriumchlorid	NaCl	7647-14-5	$\geq 99.5 \%$	Sigma-Aldrich
Salpetersäure	HNO_3	7697-37-2	65 %	Roth
Schwefelsäure	H_2SO_4	7664-93-9	96 %	Roth
Wasserstoffperoxid	H_2O_2	7722-84-1	30 %	Roth

6 Literaturverzeichnis

- (1) Moses, P. R.; Wier, L.; Murray, R. W. Chemically Modified Tin Oxide Electrode. *Anal. Chem.* **1975**, *47* (12), 1882–1886.
- (2) Murray, R. W. Chemically Modified Electrodes. *Acc. Chem. Res.* **1980**, *13*, 135–141.
- (3) Murray, R. W. Polymer Modification of Electrodes. *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1984**, *14* (1), 145–169.
- (4) WRIGHTON, M. S. Surface Functionalization of Electrodes with Molecular Reagents. *Science.* **1986**, *231* (4733), 32–37.
- (5) Abruna, H. D. Coordination Chemistry in Two Dimensions: Chemically Modified Electrodes. *Coord. Chem. Rev.* **1988**, *86*, 135–189.
- (6) Durst, R. A.; Bäumer, A. J.; Buck, R. P.; Andrieux, C. P. Chemically Modified Electrodes: Recommended Terminology and Definitions. *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69* (6), 1317–1323.
- (7) Scheller, F.; Schubert, F. *Biosensoren*; Birkhäuser Basel: Basel, 1989.
- (8) Love, J. C.; Estroff, L. a; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (4), 1103–1170.
- (9) Gooding, J. J.; Mearns, F.; Yang, W.; Liu, J. Self-Assembled Monolayers into the 21st Century: Recent Advances and Applications. *Electroanalysis* **2003**, *15* (2), 81–96.
- (10) Putzbach, W.; Ronkainen, N. J. Immobilization Techniques in the Fabrication of Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors: A Review. *Sensors* **2013**, *13* (4), 4811–4840.
- (11) Holzinger, M.; Le Goff, A.; Cosnier, S. Nanomaterials for Biosensing Applications: A Review. *Front. Chem.* **2014**, *2* (August), 1–10.
- (12) Feifel, S. C.; Kapp, A.; Lisdat, F. Electroactive Nanobiomolecular Architectures of Laccase and Cytochrome c on Electrodes: Applying Silica Nanoparticles as Artificial Matrix. *Langmuir* **2014**, *30*, 5363–5367.
- (13) Abad, J. M.; Vélez, M.; Santamaría, C.; Guisán, J. M.; Matheus, P. R.; Vázquez, L.; Gazaryan, I.; Gorton, L.; Gibson, T.; Fernández, V. M. Immobilization of Peroxidase Glycoprotein on Gold Electrodes Modified with Mixed Epoxy-Boronic Acid Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (43), 12845–12853.
- (14) Adak, A. K.; Li, B. Y.; Huang, L. De; Lin, T. W.; Chang, T. C.; Hwang, K. C.; Lin, C. C. Fabrication of Antibody Microarrays by Light-Induced Covalent and Oriented Immobilization. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6* (13), 10452–10460.
- (15) Barbosa, O.; Torres, R.; Ortiz, C.; Berenguer-Murcia, Á.; Rodrigues, R. C.; Fernandez-Lafuente, R. Heterofunctional Supports in Enzyme Immobilization: From Traditional Immobilization

Literaturverzeichnis

- Protocols to Opportunities in Tuning Enzyme Properties. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (8), 2433–2462.
- (16) Mateo, C.; Torres, R.; Fernández-Lorente, G.; Ortiz, C.; Fuentes, M.; Hidalgo, A.; López-Gallego, F.; Abian, O.; Palomo, J. M.; Betancor, L.; et al. Epoxy-Amino Groups: A New Tool for Improved Immobilization of Proteins by the Epoxy Method. *Biomacromolecules* **2003**, *4* (3), 772–777.
- (17) Ó Conghaile, P.; Pöller, S.; MacAodha, D.; Schuhmann, W.; Leech, D. Coupling Osmium Complexes to Epoxy-Functionalised Polymers to Provide Mediated Enzyme Electrodes for Glucose Oxidation. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *43* (1), 30–37.
- (18) Oberts, B. P.; Blanchard, G. J. Strategies for the Growth of Self-Assembled Phospholipid Adlayers. *Bioelectrochemistry* **2010**, *80* (1), 10–16.
- (19) Feifel, S. C.; Lokstein, H.; Hejazi, M.; Zouni, A.; Lisdat, F. Unidirectional Photocurrent of Photosystem I on π -System-Modified Graphene Electrodes: Nanobionic Approaches for the Construction of Photobiohybrid Systems. *Langmuir* **2015**, *31* (38), 10590–10598.
- (20) Feifel, S. C.; Stieger, K. R.; Lokstein, H.; Lux, H.; Lisdat, F. High Photocurrent Generation by Photosystem I on Artificial Interfaces Composed of π -System-Modified Graphene. *J. Mater. Chem. A* **2015**, *3* (23), 12188–12196.
- (21) Stamm, M. Polymere Für Funktionale Oberflächen: Nanostrukturen Und Selbstorganisation. *Chemie Ing. Tech.* **2008**, *80* (11), 1677–1682.
- (22) Stamm, M. *Polymer Surfaces and Interfaces*; Stamm, M., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2008.
- (23) Sarauli, D.; Xu, C.; Dietzel, B.; Schulz, B.; Lisdat, F. A Multilayered Sulfonated Polyaniline Network with Entrapped Pyrroloquinoline Quinone-Dependent Glucose Dehydrogenase: Tunable Direct Bioelectrocatalysis. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2* (21), 3196.
- (24) Balint, R.; Cassidy, N. J.; Cartmell, S. H. Conductive Polymers: Towards a Smart Biomaterial for Tissue Engineering. *Acta Biomater.* **2014**, *10* (6), 2341–2353.
- (25) Schubart, I. W.; Göbel, G.; Lisdat, F. A Pyrroloquinolinequinone-Dependent Glucose Dehydrogenase (PQQ-GDH)-Electrode with Direct Electron Transfer Based on Polyaniline Modified Carbon Nanotubes for Biofuel Cell Application. *Electrochim. Acta* **2012**, *82*, 224–232.
- (26) Gracia, R.; Mecerreyes, D. Polymers with Redox Properties: Materials for Batteries, Biosensors and More. *Polym. Chem.* **2013**, *4* (7), 2206.
- (27) Antiochia, R.; Vinci, G.; Gorton, L. Rapid and Direct Determination of Fructose in Food: A New Osmium-Polymer Mediated Biosensor. *Food Chem.* **2013**, *140* (4), 742–747.
- (28) Samal, S. K.; Dash, M.; Dubruel, P.; Van Vlierberghe, S. Smart Polymer Hydrogels: Properties, Synthesis and Applications. In *Smart Polymers and their Applications*; Elsevier: Cambridge, 2014; pp 237–270.
- (29) Zhai, L. Stimuli-Responsive Polymer Films. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (17), 7148–7160.

Literaturverzeichnis

- (30) Islam, M. R.; Lu, Z.; Li, X.; Sarker, A. K.; Hu, L.; Choi, P.; Li, X.; Hakobyan, N.; Serpe, M. J. Responsive Polymers for Analytical Applications: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *789*, 17–32.
- (31) Galaev, I. Y.; Mattiasson, B. 'Smart' polymers and What They Could Do in Biotechnology and Medicine. *Trends Biotechnol.* **1999**, *17*, 335–340.
- (32) Meng, H.; Hu, J. A Brief Review of Stimulus-Active Polymers Responsive to Thermal, Light, Magnetic, Electric, and Water/Solvent Stimuli. *J. Intell. Mater. Syst. Struct.* **2010**, *21* (9), 859–885.
- (33) Jeong, B.; Gutowska, A. Lessons from Nature: Stimuli-Responsive Polymers and Their Biomedical Applications. *Trends Biotechnol.* **2002**, *20* (7), 305–311.
- (34) de Las Heras Alarcon, C.; Pennadam, S.; Alexander, C. Stimuli Responsive Polymers for Biomedical Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34* (3), 276–285.
- (35) Stuart, M. a C.; Huck, W. T. S.; Genzer, J.; Müller, M.; Ober, C.; Stamm, M.; Sukhorukov, G. B.; Szleifer, I.; Tsukruk, V. V.; Urban, M.; et al. Emerging Applications of Stimuli-Responsive Polymer Materials. *Nat. Mater.* **2010**, *9* (2), 101–113.
- (36) Katz, E. Modified Electrodes and Electrochemical Systems Switchable by Temperature Changes. *Electroanalysis* **2016**, *28* (9), 1916–1929.
- (37) Tam, T. K.; Ornatska, M.; Pita, M.; Minko, S.; Katz, E. Polymer Brush-Modified Electrode with Switchable and Tunable Redox Activity for Bioelectronic Applications. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (22), 8438–8445.
- (38) Bocharova, V.; Katz, E. Switchable Electrode Interfaces Controlled by Physical, Chemical and Biological Signals. *Chem. Rec.* **2012**, *12* (1), 114–130.
- (39) Stuart, M. a C.; Huck, W. T. S.; Genzer, J.; Müller, M.; Ober, C.; Stamm, M.; Sukhorukov, G. B.; Szleifer, I.; Tsukruk, V. V.; Urban, M.; et al. Emerging Applications of Stimuli-Responsive Polymer Materials. *Nat. Mater.* **2010**, *9* (2), 101–113.
- (40) Katz, E.; Fernández, V. M.; Pita, M. Switchable Bioelectrocatalysis Controlled by pH Changes. *Electroanalysis* **2015**, *27* (9), 2063–2073.
- (41) Ding, Z.; Fong, R. B.; Long, C. J.; Stayton, P. S.; Hoffman, a S. Size-Dependent Control of the Binding of Biotinylated Proteins to Streptavidin Using a Polymer Shield. *Nature* **2001**, *411* (6833), 59–62.
- (42) Buller, J.; Laschewsky, A.; Lutz, J.-F.; Wischerhoff, E. Tuning the Lower Critical Solution Temperature of Thermoresponsive Polymers by Biospecific Recognition. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (7), 1486.
- (43) Lutz, J.-F.; Weichenhan, K.; Akdemir, Ö.; Hoth, A. About the Phase Transitions in Aqueous Solutions of Thermoresponsive Copolymers and Hydrogels Based on 2-(2-Methoxyethoxy)ethyl Methacrylate and Oligo(ethylene Glycol) Methacrylate. *Macromolecules* **2007**, *40* (7), 2503–2508.
- (44) Lutz, J.-F.; Andrieu, J.; Üzgün, S.; Rudolph, C.; Agarwal, S. Biocompatible, Thermoresponsive, and

- Biodegradable: Simple Preparation of “All-in-One” Biorelevant Polymers. *Macromolecules* **2007**, *40* (24), 8540–8543.
- (45) Kuckling, D.; Doering, A.; Krahl, F.; Arndt, K.-F. Stimuli-Responsive Polymer Systems. In *Polymer Science: A Comprehensive Reference*; Elsevier B.V., 2012; pp 377–411.
- (46) Cabane, E.; Zhang, X.; Langowska, K.; Palivan, C. G.; Meier, W. Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Nanomedicine. *Biointerphases* **2012**, *7* (1–4), 1–27.
- (47) Hussain, H.; Mya, K. Y.; He, C. Self-Assembly of Brush-Like Poly[poly(ethylene Glycol) Methyl Ether Methacrylate] Synthesized via Aqueous Atom Transfer Radical Polymerization. *Langmuir* **2008**, *24* (23), 13279–13286.
- (48) Jiang, X.; Zhao, B. Tuning Micellization and Dissociation Transitions of Thermo- and pH-Sensitive Poly(ethylene Oxide)- B -Poly(methoxydi(ethylene Glycol) Methacrylate- Co -Methacrylic Acid) in Aqueous Solution by Combining Temperature and pH Triggers. *Macromolecules* **2008**, *41* (23), 9366–9375.
- (49) Chi, C.; Cai, T.; Hu, Z. Oligo(ethylene Glycol)-Based Thermoresponsive Core-Shell Microgels. *Langmuir* **2009**, *25* (6), 3814–3819.
- (50) Sun, S.; Wu, P. On the Thermally Reversible Dynamic Hydration Behavior of Oligo(ethylene Glycol) Methacrylate-Based Polymers in Water. *Macromolecules* **2013**, *46* (1), 236–246.
- (51) Tokarev, I.; Orlov, M.; Katz, E.; Minko, S. An Electrochemical Gate Based on a Stimuli-Responsive Membrane Associated with an Electrode Surface. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (42), 12141–12145.
- (52) Laloyaux, X.; Mathy, B.; Nysten, B.; Jonas, A. M. Surface and Bulk Collapse Transitions of Thermoresponsive Polymer Brushes. *Langmuir* **2010**, *26* (2), 838–847.
- (53) Comminges, C.; Frasca, S.; Sütterlin, M.; Wischerhoff, E.; Laschewsky, A.; Wollenberger, U. Surface Modification with Thermoresponsive Polymer Brushes for a Switchable Electrochemical Sensor. *RSC Adv.* **2014**, *4* (81), 43092–43097.
- (54) Hu, J.; Liu, S. Responsive Polymers for Detection and Sensing Applications: Current Status and Future Developments. *Macromolecules* **2010**, *43* (20), 8315–8330.
- (55) Gawel, K.; Barriet, D.; Sletmoen, M.; Stokke, B. T. Responsive Hydrogels for Label-Free Signal Transduction within Biosensors. *Sensors* **2010**, *10* (5), 4381–4409.
- (56) Wan, X.; Liu, H.; Yao, S.; Liu, T.; Yao, Y. A Stimuli-Responsive Nanogel-Based Sensitive and Selective Fluorescent Sensor for Cr(3+) with Thermo-Induced Tunable Detection Sensitivity. *Macromol. Rapid Commun.* **2014**, *35* (3), 323–329.
- (57) Laloyaux, X.; Fautré, E.; Blin, T.; Purohit, V.; Leprince, J.; Jouenne, T.; Jonas, A. M.; Glinel, K. Temperature-Responsive Polymer Brushes Switching from Bactericidal to Cell-Repellent. *Adv. Mater.* **2010**, *22* (44), 5024–5028.
- (58) Wischerhoff, E.; Uhlig, K.; Lankenau, A.; Börner, H. G.; Laschewsky, A.; Duschl, C.; Lutz, J.-F. Controlled Cell Adhesion on PEG-Based Switchable Surfaces. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47* (30), 5666–5668.

Literaturverzeichnis

- (59) Dworak, A.; Utrata-Wesołek, A.; Szweđa, D.; Kowalczyk, A.; Trzebicka, B.; Anioł, J.; Sieroń, A. L.; Klama-Baryła, A.; Kawecki, M. Poly[tri(ethylene Glycol) Ethyl Ether Methacrylate]-Coated Surfaces for Controlled Fibroblasts Culturing. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (6), 2197–2207.
- (60) Sefcik, L. S.; Kaminski, A.; Ling, K.; Laschewsky, A.; Lutz, J.-F.; Wischerhoff, E. Effects of PEG-Based Thermoresponsive Polymer Brushes on Fibroblast Spreading and Gene Expression. *Cell. Mol. Bioeng.* **2013**, *6* (3), 287–298.
- (61) Park, S.; Cho, H. Y.; Yoon, J. A.; Kwak, Y.; Srinivasan, A.; Hollinger, J. O.; Paik, H.; Matyjaszewski, K. Photo-Cross-Linkable Thermoresponsive Star Polymers Designed for Control of Cell-Surface Interactions. *Biomacromolecules* **2010**, *11* (10), 2647–2652.
- (62) Uzgün, S.; Akdemir, O.; Hasenpusch, G.; Maucksch, C.; Golas, M. M.; Sander, B.; Stark, H.; Imker, R.; Lutz, J.-F.; Rudolph, C. Characterization of Tailor-Made Copolymers of Oligo(ethylene Glycol) Methyl Ether Methacrylate and N,N-Dimethylaminoethyl Methacrylate as Nonviral Gene Transfer Agents: Influence of Macromolecular Structure on Gene Vector Particle Properties and Transfect. *Biomacromolecules* **2010**, *11* (1), 39–50.
- (63) Zhang, R.; Wang, Y.; Du, F.; Wang, Y.; Tan, Y.; Ji, S.-P.; Li, Z.-C. Thermoresponsive Gene Carriers Based on Polyethylenimine-Graft-Poly[oligo(ethylene Glycol) Methacrylate]. *Macromol. Biosci.* **2011**, *11* (10), 1393–1406.
- (64) Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. Smart Drug Delivery Systems: From Fundamentals to the Clinic. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (58), 7743.
- (65) Hoffman, A. S. Stimuli-Responsive Polymers: Biomedical Applications and Challenges for Clinical Translation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65* (1), 10–16.
- (66) Nagase, K.; Kobayashi, J.; Kikuchi, A.; Akiyama, Y.; Kanazawa, H.; Okano, T. Effects of Graft Densities and Chain Lengths on Separation of Bioactive Compounds by Nanolayered Thermoresponsive Polymer Brush Surfaces. *Langmuir* **2008**, *24* (2), 511–517.
- (67) Liu, Z.; Su, R.; Liang, X.; Liang, Y.; Deng, Y.; Li, Y.; Dai, R. A Thermally Switchable Chromatographic Material for Selective Capture and Rapid Release of Proteins and Nucleotides. *RSC Adv.* **2014**, *4* (31), 15830.
- (68) Mizutani, A.; Nagase, K.; Kikuchi, A.; Kanazawa, H.; Akiyama, Y.; Kobayashi, J.; Annaka, M.; Okano, T. Thermo-Responsive Polymer Brush-Grafted Porous Polystyrene Beads for All-Aqueous Chromatography. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217* (4), 522–529.
- (69) Nagase, K.; Kobayashi, J.; Kikuchi, A.; Akiyama, Y.; Kanazawa, H.; Okano, T. Preparation of Thermoresponsive Cationic Copolymer Brush Surfaces and Application of the Surface to Separation of Biomolecules. *Biomacromolecules* **2008**, *9* (4), 1340–1347.
- (70) Li, N.; Qi, L.; Shen, Y.; Li, Y.; Chen, Y. Thermoresponsive Oligo(ethylene Glycol)-Based Polymer Brushes on Polymer Monoliths for All-Aqueous Chromatography. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (23), 12441–12448.
- (71) Tan, I.; Zarafshani, Z.; Titirici, M. PEGylated Chromatography : Efficient Bioseparation on Silica Monoliths Grafted with Smart Biocompatible Polymers. **2009**, *1* (9), 1869–1872.

Literaturverzeichnis

- (72) Tan, I.; Roohi, F.; Titirici, M. Thermoresponsive Polymers in Liquid Chromatography. *Anal. Methods* **2012**, *4* (1), 34–43.
- (73) Hu, J.; Meng, H.; Li, G.; Ibekwe, S. I. A Review of Stimuli-Responsive Polymers for Smart Textile Applications. *Smart Mater. Struct.* **2012**, *21*, 1–23.
- (74) Roy, D.; Brooks, W. L. a; Sumerlin, B. S. New Directions in Thermoresponsive Polymers. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (17), 7214–7243.
- (75) Ye, T.; Yan, S.; Hu, Y.; Ding, L.; Wu, W. Synthesis and Volume Phase Transition of Concanavalin A-Based Glucose-Responsive Nanogels. *Polym. Chem.* **2014**, *5* (1), 186–194.
- (76) Kamata, H.; Chung, U.; Sakai, T. Shrinking Kinetics of Polymer Gels with Alternating Hydrophilic/Thermoresponsive Prepolymer Units. *Macromolecules* **2013**, *46* (10), 4114–4119.
- (77) Lutz, J.-F. Polymerization of Oligo(ethylene Glycol) (Meth)acrylates: Toward New Generations of Smart Biocompatible Materials. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2008**, *46* (11), 3459–3470.
- (78) Lutz, J. Thermo-Switchable Materials Prepared Using the OEGMA-Platform. *Adv. Mater.* **2011**, *23* (19), 2237–2243.
- (79) Lutz, J.-F.; Akdemir, Ö.; Hoth, A. Point by Point Comparison of Two Thermosensitive Polymers Exhibiting a Similar LCST: Is the Age of Poly(NIPAM) Over? *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (40), 13046–13047.
- (80) Hu, Z.; Cai, T.; Chi, C. Thermoresponsive Oligo(ethylene Glycol)-Methacrylate- Based Polymers and Microgels. *Soft Matter* **2010**, *6* (10), 2115.
- (81) Medel, S.; Manuel García, J.; Garrido, L.; Quijada-Garrido, I.; París, R. Thermo- and pH-Responsive Gradient and Block Copolymers Based on 2-(2-Methoxyethoxy)ethyl Methacrylate Synthesized via Atom Transfer Radical Polymerization and the Formation of Thermoresponsive Surfaces. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2011**, *49* (3), 690–700.
- (82) Lutz, J.-F.; Hoth, A. Preparation of Ideal PEG Analogues with a Tunable Thermosensitivity by Controlled Radical Copolymerization of 2-(2-Methoxyethoxy)ethyl Methacrylate and Oligo(ethylene Glycol) Methacrylate. *Macromolecules* **2006**, *39* (2), 893–896.
- (83) Han, S.; Hagiwara, M.; Ishizone, T. Synthesis of Thermally Sensitive Water-Soluble Polymethacrylates by Living Anionic Polymerizations of Oligo (Ethylene Glycol) Methyl Ether Methacrylates. *Macromolecules* **2003**, *36*, 8312–8319.
- (84) Coullerez, G.; Carlmark, A.; Malmström, E.; Jonsson, M. Understanding Copper-Based Atom-Transfer Radical Polymerization in Aqueous Media. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108* (35), 7129–7131.
- (85) Maeda, Y.; Kubota, T.; Yamauchi, H.; Nakaji, T.; Kitano, H. Hydration Changes of Poly (2- (2-Methoxyethoxy) Ethyl Methacrylate) during Thermosensitive Phase Separation in Water. *Langmuir* **2007**, *23*, 11259–11265.
- (86) Neugebauer, D.; Zhang, Y.; Pakula, T.; Sheiko, S. S.; Matyjaszewski, K. Densely-Grafted and Double-Grafted PEO Brushes via ATRP . A Route to Soft Elastomers. *Macromolecules* **2003**, *36*, 6746–6755.

Literaturverzeichnis

- (87) Buller, J.; Laschewsky, A.; Lutz, J.-F.; Wischerhoff, E. Tuning the Lower Critical Solution Temperature of Thermoresponsive Polymers by Biospecific Recognition. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (7), 1486.
- (88) Yamamoto, S.; Pietrasik, J.; Matyjaszewski, K. Temperature- and pH-Responsive Dense Copolymer Brushes Prepared by ATRP. *Macromolecules* **2008**, *41* (19), 7013–7020.
- (89) Buller, J.; Laschewsky, A.; Wischerhoff, E. Photoreactive Oligoethylene Glycol Polymers – Versatile Compounds for Surface Modification by Thin Hydrogel Films. *Soft Matter* **2013**, *9* (3), 929.
- (90) Weiss, J.; Laschewsky, A. Temperature-Induced Self-Assembly of Triple-Responsive Triblock Copolymers in Aqueous Solutions. *Langmuir* **2011**, *27* (8), 4465–4473.
- (91) Haraguchi, K.; Xu, Y. Thermal Analyses of poly(N-Isopropylacrylamide) in Aqueous Solutions and in Nanocomposite Gels. *Colloid Polym. Sci.* **2012**, *290* (16), 1627–1636.
- (92) Shibayama, M.; Suetoh, Y.; Nomura, S. Structure Relaxation of Hydrophobically Aggregated Poly(N-Isopropylacrylamide) in Water. *Macromolecules* **1996**, *29* (21), 6966–6968.
- (93) Zeng, F.; Tong, Z. N.M.R. Investigation of Phase Separation in Poly(N-IsopropylAcrylamide)/water Solutions. *Polymer*. **1997**, *38* (22), 5539–5544.
- (94) Inal, S.; Chiappisi, L.; Kölsch, J. D.; Kraft, M.; Appavou, M.; Scherf, U.; Wagner, M.; Hansen, M. R.; Gradzielski, M.; Laschewsky, A.; et al. Temperature-Regulated Fluorescence and Association of an Oligo(ethyleneglycol)methacrylate-Based Copolymer with a Conjugated Polyelectrolyte—The Effect of Solution Ionic Strength. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117* (46), 14576–14587.
- (95) Kumashiro, Y.; Fukumori, K.; Akiyama, Y.; Itoga, K.; Sakai, K.; Yamato, M.; Okano, T. Asymmetric Behavior of Temperature-Responsive Poly(N-Isopropylacrylamide) Ultrathin Layers Observed by Atomic Force Microscopy. *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, 1852–1858.
- (96) Alf, M. E.; Hatton, T. A.; Gleason, K. K. Insights into Thin, Thermally Responsive Polymer Layers through Quartz Crystal Microbalance with Dissipation. *Langmuir* **2011**, *27* (17), 10691–10698.
- (97) Katz, E.; Minko, S.; Halánek, J.; MacVittie, K.; Yancey, K. Electrode Interfaces Switchable by Physical and Chemical Signals for Biosensing, Biofuel, and Biocomputing Applications. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405* (11), 3659–3672.
- (98) Katz, E.; Pita, M. Biofuel Cells Controlled by Logically Processed Biochemical Signals: Towards Physiologically Regulated Bioelectronic Devices. *Chemistry* **2009**, *15* (46), 12554–12564.
- (99) Katz, E.; Bocharova, V.; Privman, M. Electronic Interfaces Switchable by Logically Processed Multiple Biochemical and Physiological Signals. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22* (17), 8171.
- (100) Dou, Y.; Han, J.; Wang, T.; Wei, M.; Evans, D. G.; Duan, X. Temperature-Controlled Electrochemical Switch Based on Layered Double hydroxide/poly(N-Isopropylacrylamide) Ultrathin Films Fabricated via Layer-by-Layer Assembly. *Langmuir* **2012**, *28* (25), 9535–9542.
- (101) Doron, A.; Portnoy, M.; Lion-Dagan, M.; Katz, E.; Willner, I. Amperometric Transduction and Amplification of Optical Signals Recorded by a Phenoxynaphthacenequinone Monolayer

Literaturverzeichnis

- Electrode: Photochemical and pH-Gated Electron Transfer. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (37), 8937–8944.
- (102) Loaiza, O. a; Laocharoensuk, R.; Burdick, J.; Rodríguez, M. C.; Pingarron, J. M.; Pedrero, M.; Wang, J. Adaptive Orientation of Multifunctional Nanowires for Magnetic Control of Bioelectrocatalytic Processes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, *46* (9), 1508–1511.
- (103) Wang, J.; Scampicchio, M.; Laocharoensuk, R.; Valentini, F.; Gonzalez-García, O.; Burdick, J. Magnetic Tuning of the Electrochemical Reactivity through Controlled Surface Orientation of Catalytic Nanowires. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (14), 4562–4563.
- (104) Gabai, R.; Sallacan, N.; Chegel, V.; Bourenko, T.; Katz, E.; Willner, I. Characterization of the Swelling of Acrylamidophenylboronic Acid–Acrylamide Hydrogels upon Interaction with Glucose by Faradaic Impedance Spectroscopy, Chronopotentiometry, Quartz-Crystal Microbalance (QCM), and Surface Plasmon Resonance (SPR) Experiments. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105* (34), 8196–8202.
- (105) Tsz, K. T.; Strack, G.; Pita, M.; Katz, E. Biofuel Cell Logically Controlled by Antigen-Antibody Recognition: Towards Immune-Regulated Bioelectronic Devices. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11670–11671.
- (106) Ashaduzzaman, M.; Anto Antony, A.; Arul Murugan, N.; Deshpande, S. R.; Turner, A. P. F.; Tiwari, A. Studies on an On/off-Switchable Immunosensor for Troponin T. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *73*, 100–107.
- (107) Paul M.S. Monk. *Analytical Techniques in the Sciences*; Monk, P., Ed.; Analytical Techniques in the Sciences; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 2001.
- (108) Schminckler, W. *Grundlagen Der Elektrochemie*; Braunschweig/Wiesbaden, 1996.
- (109) Skoog, D. A. *Instrumentelle Analytik*; Springer: Berlin, Heidelberg, 1996.
- (110) David K. Gosser. *Cyclic Voltammetry – Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*; Wiley-VCH: Weinheim, 1993.
- (111) Kissinger, P. T.; Lafayette, W.; Heineman, W. R. Cyclic Voltammetry. No. d, 702–706.
- (112) Evans, D. H.; O’Connell, K. M.; Petersen, R. a.; Kelly, M. J. Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983**, *60* (4), 290.
- (113) Heinze, J. Cyclovoltammetrie — Die „Spektroskopie“ Des Elektrochemikers. *Angew. Chemie* **1984**, *96* (11), 823–840.
- (114) Nicholson, R. S. Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. *Anal. Chem.* **1965**, *37* (21), 1351–1355.
- (115) Zhou, J.; Wang, G.; Hu, J.; Lu, X.; Li, J. Temperature, Ionic Strength and pH Induced Electrochemical Switching of Smart Polymer Interfaces. *Chem. Commun.* **2006**, No. 46, 4820.
- (116) Tam, T. K.; Pita, M.; Motornov, M.; Tokarev, I.; Minko, S.; Katz, E. Modified Electrodes with Switchable Selectivity for Cationic and Anionic Redox Species. *Electroanalysis* **2010**, *22* (1), 35–

40.

- (117) Tam, T. K.; Pita, M.; Trotsenko, O.; Motornov, M.; Tokarev, I.; Halámek, J.; Minko, S.; Katz, E. Reversible “closing” of an Electrode Interface Functionalized with a Polymer Brush by an Electrochemical Signal. *Langmuir* **2010**, *26* (6), 4506–4513.
- (118) Tam, T. K.; Pita, M.; Motornov, M.; Tokarev, I.; Minko, S.; Katz, E. Electrochemical Nanotransistor from Mixed-Polymer Brushes. *Adv. Mater.* **2010**, *22* (16), 1863–1866.
- (119) Yin, Z.; Zhang, J.; Jiang, L.; Zhu, J. Thermosensitive Behavior of Poly (N -Isopropylacrylamide) and Release of Incorporated Hemoglobin. **2009**, 16104–16109.
- (120) Liang, Y.; Liu, H.; Zhang, K.; Hu, N. Triply Switchable Bioelectrocatalysis Based on poly(N,N-Diethylacrylamide-Co-4-Vinylpyridine) Copolymer Hydrogel Films with Immobilized Glucose Oxidase. *Electrochim. Acta* **2012**, *60*, 456–463.
- (121) Liu, D.; Liu, H.; Hu, N. pH-Controllable Bioelectrocatalysis of Glucose by Glucose Oxidase Loaded in Weak Polyelectrolyte Layer-by-Layer Films with Ferrocene Derivative as Mediator. *Electrochim. Acta* **2010**, *55* (22), 6426–6432.
- (122) Song, S.; Hu, N. Dual-Switchable Bioelectrocatalysis Synergistically Controlled by pH and Perchlorate Concentration Based on poly(4-Vinylpyridine) Films. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114* (35), 11689–11695.
- (123) Tam, T. K.; Ornatska, M.; Pita, M.; Minko, S.; Katz, E. Polymer Brush-Modified Electrode with Switchable and Tunable Redox Activity for Bioelectronic Applications. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (22), 8438–8445.
- (124) Liu, D.; Liu, H.; Hu, N. Amplified by Enzymatic Reaction and Controlled by Logic Gates Based on Semi-Interpenetrating Polymer Networks. **2012**.
- (125) Wang, X.; Zhou, J.; Tam, T. K.; Katz, E.; Pita, M. Switchable Electrode Controlled by Boolean Logic Gates Using Enzymes as Input Signals. *Bioelectrochemistry* **2009**, *77* (1), 69–73.
- (126) Privman, M.; Tam, T. K.; Bocharova, V.; Halámek, J.; Wang, J.; Katz, E. Responsive Interface Switchable by Logically Processed Physiological Signals: Toward “smart” actuators for Signal Amplification and Drug Delivery. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3* (5), 1620–1623.
- (127) Pita, M.; Tam, T. K.; Minko, S.; Katz, E. Dual Magnetobiochemical Logic Control of Electrochemical Processes Based on Local Interfacial pH Changes. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1* (6), 1166–1168.
- (128) Basso, C. R.; Santos, B. L.; Pedrosa, V. a. Switchable Biosensor Controlled by Biocatalytic Process. *Electroanalysis* **2013**, *25* (8), 1818–1822.
- (129) Tam, T. K.; Zhou, J.; Pita, M.; Ornatska, M.; Minko, S.; Katz, E. Biochemically Controlled Bioelectrocatalytic Interface. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (33), 10888–10889.
- (130) Privman, M.; Tam, T. K.; Pita, M.; Katz, E. Switchable Electrode Controlled by Enzyme Logic Network System: Approaching Physiologically Regulated Bioelectronics. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (3), 1314–1321.

Literaturverzeichnis

- (131) Katz, E.; Willner, I. A Biofuel Cell with Electrochemically Switchable and Tunable Power Output. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (22), 6803–6813.
- (132) Tang, Y.; Zeng, X.; Liang, J. Surface Plasmon Resonance: An Introduction to a Surface Spectroscopy Technique. *J. Chem. Educ.* **2010**, *87* (7), 742–746.
- (133) Bakhtiar, R. Surface Plasmon Resonance Spectroscopy: A Versatile Technique in a Biochemist's Toolbox. *J. Chem. Educ.* **2013**, *90* (2), 203–209.
- (134) Ince, R.; Narayanaswamy, R. Analysis of the Performance of Interferometry, Surface Plasmon Resonance and Luminescence as Biosensors and Chemosensors. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *569* (1–2), 1–20.
- (135) Schasfoort, R.; Tudos, A. *Handbook of Surface Plasmon Resonance*; RSC Publishing: Cambridge, 2008.
- (136) Junk, M. J. N.; Anac, I.; Menges, B.; Jonas, U. Analysis of Optical Gradient Profiles during Temperature- and Salt-Dependent Swelling of Thin Responsive Hydrogel Films. *Langmuir* **2010**, *26* (14), 12253–12259.
- (137) Francis, L. A.; Friedt, J.; Zhou, C.; Bertrand, P.; Louvain, C. De; Sud, C. In Situ Evaluation of Density, Viscosity, and Thickness of Adsorbed Soft Layers by Combined Surface Acoustic Wave and Surface Plasmon Resonance of Acoustic and Optical Methods for the in Situ Quantitative. **2006**, *78* (12), 4200–4209.
- (138) Balamurugan, S.; Mendez, S.; Balamurugan, S. S.; Li, M. J. O. B.; Lo, G. P. Thermal Response of Poly (N -Isopropylacrylamide) Brushes Probed by Surface Plasmon Resonance. **2003**, No. 18, 2545–2549.
- (139) Wang, X.; Tu, H.; Braun, P. V.; Bohn, P. W. Length Scale Heterogeneity in Lateral Gradients of poly(N-Isopropylacrylamide) Polymer Brushes Prepared by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization Coupled with in-Plane Electrochemical Potential Gradients. *Langmuir* **2006**, *22* (2), 817–823.
- (140) Wang, H.; Lee, I. H.; Yan, M. A General Method to Determine Ionization Constants of Responsive Polymer Thin Films. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *365* (1), 178–183.
- (141) Wischerhoff, E.; Zacher, T.; Laschewsky, A.; Rekaï, E. D. Direct Observation of the Lower Critical Solution Temperature of Surface-Attached Thermo-Responsive Hydrogels by Surface Plasmon Resonance. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2000**, *39* (24), 4602–4604.
- (142) Tsionsky, V. The Quartz-Crystal Microbalance in an Undergraduate Laboratory Experiment I. Fundamentals and Instrumentation. *J. Chem. Educ.* **2007**, *84* (8), 1334–1336.
- (143) Tsionsky, V. The Quartz-Crystal Microbalance in an Undergraduate Laboratory Experiment II. Measuring Viscosity. *J. Chem. Educ.* **2007**, *84* (8), 1337–1339.
- (144) Tsionsky, V. The Quartz-Crystal Microbalance in an Undergraduate Laboratory Experiment III. Measuring Mass. *J. Chem. Educ.* **2007**, *84* (8), 1340–1342.
- (145) Sauerbrey, G. Verwendung von Schwingquarzen Zur Wägung Dünner Schichten Und Zur

- Mikrowägung. *Zeitschrift für Phys.* **1959**, *155*, 206–222.
- (146) Dixon, M. C. Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring: Enabling Real-Time Characterization of Biological Materials and Their Interactions. *J. Biomol. Tech.* **2008**, *19* (3), 151–158.
- (147) Jhon, Y. K.; Bhat, R. R.; Jeong, C.; Rojas, O. J.; Szleifer, I.; Genzer, J. Salt-Induced Depression of Lower Critical Solution Temperature in a Surface-Grafted Neutral Thermoresponsive Polymer. *Macromol. Rapid Commun.* **2006**, *27* (9), 697–701.
- (148) Zhang, G.; Wu, C. Quartz Crystal Microbalance Studies on Conformational Change of Polymer Chains at Interface. *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30* (4–5), 328–335.
- (149) Cheng, H.; Liu, G.; Wang, C.; Zhang, G.; Wu, C. Collapse and Swelling of poly(N-Isopropylacrylamide-Co-Sodium Acrylate) Copolymer Brushes Grafted on a Flat SiO₂ Surface. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2006**, *44* (4), 770–778.
- (150) Ishida, N.; Biggs, S. Effect of Grafting Density on Phase Transition Behavior for Poly(N -Isopropylacrylamide) Brushes in Aqueous Solutions Studied by AFM and QCM-D. *Macromolecules* **2010**, *43* (17), 7269–7276.
- (151) Xiong, X.; Liu, W.; Luan, Y.; Du, J.; Wu, Z.; Chen, H. A Versatile, Fast, and Efficient Method of Visible-Light-Induced Surface Grafting Polymerization. *Langmuir* **2014**, *30* (19), 5474–5480.
- (152) Liu, G.; Zhang, G. Collapse and Swelling of Thermally Sensitive poly(N-Isopropylacrylamide) Brushes Monitored with a Quartz Crystal Microbalance. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (2), 743–747.
- (153) Laloyaux, X.; Mathy, B.; Nysten, B.; Jonas, A. M. Surface and Bulk Collapse Transitions of Thermoresponsive Polymer Brushes. *Langmuir* **2010**, *26* (2), 838–847.
- (154) Patra, L.; Toomey, R. Viscoelastic Response of Photo-Cross-Linked poly(N-Isopropylacrylamide) Coatings by QCM-D. *Langmuir* **2010**, *26* (7), 5202–5207.
- (155) Ishida, N.; Biggs, S. Salt-Induced Structural Behavior for Poly(N -Isopropylacrylamide) Grafted onto Solid Surface Observed Directly by AFM and QCM-D. *Macromolecules* **2007**, *40* (25), 9045–9052.
- (156) Tamirisa, P. A.; Hess, D. W. Water and Moisture Uptake by Plasma Polymerized Thermoresponsive Hydrogel Films. *Macromolecules* **2006**, *39* (20), 7092–7097.
- (157) Ma, H.; Fu, L.; Li, W.; Zhang, Y.; Li, M. Real-Time Measurement of the Mass of Water Expelled by poly(N-Isopropylacrylamide) Brushes upon Thermo-Induced Collapse. *Chem. Commun.* **2009**, No. 23, 3428.
- (158) Liu, G.; Zhang, G. Reentrant Behavior of poly(N-Isopropylacrylamide) Brushes in Water-Methanol Mixtures Investigated with a Quartz Crystal Microbalance. *Langmuir* **2005**, *21* (5), 2086–2090.
- (159) Ishida, N.; Biggs, S. Direct Observation of the Phase Transition for a poly(N-Isopropylacrylamide) Layer Grafted onto a Solid Surface by AFM and QCM-D. *Langmuir* **2007**, *23* (22), 11083–11088.

Literaturverzeichnis

- (160) BHATTACHARYA, A. Grafting: A Versatile Means to Modify polymers Techniques, Factors and Applications. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29* (8), 767–814.
- (161) Zdyrko, B.; Luzinov, I. Polymer Brushes by The “grafting To” method. *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32* (12), 859–869.
- (162) Sarauli, D.; Xu, C.; Dietzel, B.; Stiba, K.; Leimkühler, S.; Schulz, B.; Lisdat, F. Thin Films of Substituted Polyanilines: Interactions with Biomolecular Systems. *Soft Matter* **2012**, *8* (14), 3848.
- (163) Walling, C.; Gibian, M. J. Hydrogen Abstraction Reactions by the Triplet States of Ketones. *Org. Biol. Chem.* **1965**, No. 9, 3361–3364.
- (164) Jornet, D.; Tormos, R.; Miranda, M. a. Photobehavior of Mixed $n\pi^*/\pi\pi^*$ Triplets: Simultaneous Detection of the Two Transients, Solvent-Dependent Hydrogen Abstraction, and Reequilibration upon Protein Binding. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115* (36), 10768–10774.
- (165) de Lucas, N. C.; Correa, R. J.; Albuquerque, A. C. C.; Firme, C. L.; Garden, S. J.; Bertoti, A. R.; Netto-Ferreira, J. C. Laser Flash Photolysis of 1,2-Diketopyracene and a Theoretical Study of the Phenolic Hydrogen Abstraction by the Triplet State of Cyclic Alpha-Diketones. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (6), 1117–1122.
- (166) Chiappelli, M. C.; Hayward, R. C. Photonic Multilayer Sensors from Photo-Crosslinkable Polymer Films. *Adv. Mater.* **2012**, *24* (45), 6100–6104.
- (167) Vidyasagar, A.; Majewski, J.; Toomey, R. Temperature Induced Volume-Phase Transitions in Surface-Tethered Poly(N -Isopropylacrylamide) Networks. *Macromolecules* **2008**, *41* (3), 919–924.
- (168) Prucker, O.; Naumann, C. A.; Knoll, W.; Frank, C. W. Photochemical Attachment of Polymer Films to Solid Surfaces via Monolayers of Benzophenone Derivatives. **1999**, No. 20, 8766–8770.
- (169) Griep-Raming, N.; Karger, M.; Menzel, H. Using Benzophenone-Functionalized Phosphonic Acid to Attach Thin Polymer Films to Titanium Surfaces. *Langmuir* **2004**, No. 18, 11811–11814.
- (170) Martin, T. A.; Herman, C. T.; Limpoco, F. T.; Michael, M. C.; Potts, G. K.; Bailey, R. C. Quantitative Photochemical Immobilization of Biomolecules on Planar and Corrugated Substrates: A Versatile Strategy for Creating Functional Biointerfaces. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3* (9), 3762–3771.
- (171) Pahnke, J.; Rühle, J. Attachment of Polymer Films to Aluminium Surfaces by Photochemically Active Monolayers of Phosphonic Acids. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25* (15), 1396–1401.
- (172) Christensen, S. K.; Chiappelli, M. C.; Hayward, R. C. Gelation of Copolymers with Pendent Benzophenone Photo-Cross-Linkers. *Macromolecules* **2012**, *45* (12), 5237–5246.
- (173) Lutz, J. F. Polymerization of Oligo(ethylene Glycol) (Meth)acrylates: Toward New Generations of Smart Biocompatible Materials. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2008**, *46* (11), 3459–3470.
- (174) Hu, F.; Neoh, K. G.; Cen, L.; Kang, E. Cellular Response to Magnetic Nanoparticles “ PEGylated ” via Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 809–

816.

- (175) Buller, J. Entwicklung Neuer Stimuli-Sensitiver Hydrogelfilme Als Plattform Für Die Biosensorik. *Diss. Univ. Potsdam* **2013**.
- (176) Love, J. C.; Wolfe, D. B.; Haasch, R.; Chabynyc, M. L.; Paul, K. E.; Whitesides, G. M.; Nuzzo, R. G. Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates on Palladium. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (9), 2597–2609.
- (177) Zdyrko, B.; Luzinov, I. Polymer Brushes by The “grafting To” method. *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32* (12), 859–869.
- (178) Wirde, M.; Gelius, U.; Nyholm, L. Self-Assembled Monolayers of Cystamine and Cysteamine on Gold Studied by XPS and Voltammetry. *Langmuir* **1999**, *15* (19), 6370–6378.
- (179) Golecki, M.; Lach, J.; Jeremies, A.; Lungwitz, F.; Fronk, M.; Salvan, G.; Zahn, D. R. T.; Park, J.; Krupskaya, Y.; Kataev, V.; et al. Chemisorption of Exchange-Coupled [Ni₂L(dppba)]⁺ Complexes on Gold by Using Ambidentate 4-(Diphenylphosphino)benzoate Co-Ligands. *Chemistry* **2013**, *19* (24), 7787–7801.
- (180) Steiner, U. B.; Neuenschwander, P.; Caseri, W. R.; Suter, U. W.; Stucki, F. Adsorption of NPh₃, PPh₃, AsPh₃, SbPh₃, and BiPh₃ on Gold and Copper. *Langmuir* **1992**, *8* (16), 90–94.
- (181) Weare, W. W.; Reed, S. M.; Warner, M. G.; Hutchison, J. E. Improved Synthesis of Small (D CORE ≈ 1.5 Nm) Phosphine-Stabilized Gold Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (51), 12890–12891.
- (182) Röseler, A. IR Spectroscopic Ellipsometry: Instrumentation and Results. *Thin Solid Films* **1993**, *234* (1–2), 307–313.
- (183) Hinrichs, K.; Eichhorn, K. J.; Ertl, G.; Mills, D. L.; Lüth, H. *Ellipsometry of Functional Organic Surfaces and Films*; Hinrichs, K., Eichhorn, K.-J., Eds.; Springer Series in Surface Sciences; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2014; Vol. 52.
- (184) Tompkins, H. G.; Irene, E. A. *Handbook of Ellipsometry*; William Andrew publishing - Springer, 2005; Vol. 30.
- (185) Zhang, G. Study on Conformation Change of Thermally Sensitive Linear Grafted Poly (N - Isopropylacrylamide) Chains by Quartz Crystal Microbalance. **2004**, No. 11 800, 6553–6557.
- (186) Patra, L.; Toomey, R. Viscoelastic Response of Photo-Cross-Linked poly(N -Isopropylacrylamide) Coatings by QCM-D. *Langmuir* **2010**, *26* (7), 5202–5207.
- (187) Fandrich, A.; Buller, J.; Wischerhoff, E.; Laschewsky, A.; Lisdat, F. Electrochemical Detection of the Thermally Induced Phase Transition of a Thin Stimuli-Responsive Polymer Film. *ChemPhysChem* **2012**, *13* (8), 2020–2023.
- (188) Inoue, S.; Kakikawa, H.; Nakadan, N.; Imabayashi, S. I.; Watanabe, M. Thermal Response of Poly(ethoxyethyl Glycidyl Ether) Grafted on Gold Surfaces Probed on the Basis of Temperature-Dependent Water Wettability. *Langmuir* **2009**, *25* (5), 2837–2841.

Literaturverzeichnis

- (189) Liu, Q.; Wang, J.; Boyd, B. J. Peptide-Based Biosensors. *Talanta* **2015**, *136*, 114–127.
- (190) Puiu, M.; Idili, A.; Moscone, D.; Ricci, F.; Bala, C. A Modular Electrochemical Peptide-Based Sensor for Antibody Detection. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (64), 8962.
- (191) Gerasimov, J. Y.; Lai, R. Y. An Electrochemical Peptide-Based Biosensing Platform for HIV Detection. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (3), 395–397.
- (192) Gerasimov, J. Y.; Lai, R. Y. Design and Characterization of an Electrochemical Peptide-Based Sensor Fabricated Via “click” Chemistry. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (30), 8688.
- (193) McQuistan, A.; Zaitouna, A. J.; Echeverria, E.; Lai, R. Y. Use of Thiolated Oligonucleotides as Anti-Fouling Diluents in Electrochemical Peptide-Based Sensors. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (36), 4690.
- (194) Couturier, J.-P.; Wischerhoff, E.; Bernin, R.; Hettrich, C.; Koetz, J.; Sütterlin, M.; Tiersch, B.; Laschewsky, A. Thermoresponsive Polymers and Inverse Opal Hydrogels for the Detection of Diols. *Langmuir* **2016**, *32* (17), 4333–4345.
- (195) Couturier, J.-P.; Sütterlin, M.; Laschewsky, A.; Hettrich, C.; Wischerhoff, E. Inverse Opale Aus Responsiven Hydrogelen Für Die Detektion von Makromolekülen. *Angew. Chemie* **2015**, *127* (22), 6741–6745.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem direkten Betreuer an der Technischen Hochschule Wildau, Prof. Fred Lisdat, für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, für die Überlassung des sehr interessanten Projektes, seine intensive Unterstützung, Ideen und Kritik. Die Möglichkeit zur Teilnahme an internationalen Konferenzen im In- und Ausland habe ich sehr geschätzt.

Auch Prof. Burkhardt Schulz von der Universität Potsdam gilt mein besonderer Dank für die Betreuung dieser Arbeit, die Begutachtung und Unterstützung in der Schreibphase.

Diese Arbeit wäre nicht ohne die Kooperationspartner möglich. Prof. André Laschewsky, Dr. Wischerhoff und Dr. Buller von der Universität Potsdam bzw. Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung danke ich für die Bereitstellung der Polymere. Die Zusammenarbeit mit diesen drei Herren hat mir sehr viel Spaß bereitet und war obendrauf stets sehr kooperativ – es gab in den ganzen Jahren der Kooperation keine einzige Mail, die nicht innerhalb eines Tages beantwortet wurde! Ebenso danke ich Dr. Walter Stöcklein, Dr. Henry Memczak vom Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie sowie Dr. Hinrichs vom Leibnitz-Institut für Analytische Wissenschaften für deren Mitarbeit im Projekt.

Den (ehemaligen) Kollegen und mittlerweile Freunden danke ich ebenso für die tollen, lustigen Jahre – Andreas Kapp, Anke Renger, Carolin Nietzold, Christoph Wettstein, Daniel Schäfer, David Sarauli, Dmitri Ciornii, Gero Göbel, Julia Kartschemnik, Johannes Gladisch, Kai Stieger, Karsten Kleo, Marc Riedel, Michael Hubberten, Sven Feifel. Jens Kuhlmeiy und Johannes Gladisch speziellen Dank für das Korrekturlesen.

Meinen Praktikanten/Bachelorstudentinnen, Ramona Gericke, Tanita Rogalla und Robert Brunner, danke ich für die Mitarbeit am Projekt.

Natürlich ein spezielles Dankeschön an meine Eltern, Brüder, Freude ☺

Artur Fandrich

November 2016

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Weder diese noch eine andere Arbeit wurde von mir an einer anderen Universität oder Hochschule zum Zwecke der Einleitung eines Promotionsverfahrens vorgelegt.

Potsdam, den

Artur Fandrich