INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich - Mathematischen
Gesamtfakultät
der Ruprecht - Karls - Universität
Heidelberg

vorgelegt von
Dipl.-Phys. Manuel Schneckenburger
aus München

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2013

„Entwicklung und Charakterisierung eines plasmonischen, nanodrahtbasierten Biosensors mit simultaner elektrochemischer Steuerung“

Gutachter:	**Prof. Dr.**	**Joachim P. Spatz**
	Prof. Dr.	**Rainer H. A. Fink**

„Suchen, das ist das Ausgehen von alten Beständen und

ein Findenwollen von bereits Bekanntem im Neuen.

Finden, das ist das völlig Neue.

Alle Wege sind offen und

was gefunden wird, ist unbekannt.

Es ist ein Wagnis, ein heiliges Abenteuer."

Pablo Picasso

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wird ein neuartiger Proteinsensor auf der Basis von Gold-Nanodrähten entwickelt.

Es werden hierfür antennenartig ausgerichtete Nanodrähte auf Goldoberflächen hergestellt. Die Nanodrähte werden anschließend hinsichtlich ihrer atomaren Struktur und chemischen Zusammensetzung analysiert. Dabei kann die einkristalline und defektarme Struktur der chemisch reinen Gold-Nanodrähte unter Verwendung eines Querschnittsverfahrens atomar aufgelöst werden.

Nachfolgend werden die elektrochemischen und optischen Eigenschaften der Nanodrahtoberflächen untersucht. Dabei kann verifiziert werden, dass nahezu alle Nanodrähte über das Substrat elektrisch kontaktiert sind. Ferner zeigt sich anhand optischer Transmissionsmessungen eine plasmonische Transversalmode, welche in Luft bei etwa $\lambda \approx 530$ nm liegt. Deren Brechungsindexsensitivität im physiologischen Bereich wird zu $S_M \approx 245$ nm/RIU bestimmt und anschließend zur zeitaufgelösten sowie konzentrationsabhängigen Proteindetektion genutzt.

Im abschließenden Kapitel wird die plasmonische Proteindetektion durch das simultane Anlegen eines elektrochemischen Potentials ergänzt. Es wird zunächst sichergestellt, dass die Position des plasmonischen Signals unter Verwendung eines Elektrodenpotentials reversibel gesteuert werden kann. Erste Proteinmessungen zeigen nachfolgend, dass mithilfe dieser optischen Messtechnik eine elektrochemisch induzierte Proteinanreicherung an der Nanodrahtoberfläche detektiert werden kann.

Dieses Konzept ist im Bereich der biomedizinischen Diagnostik als vielversprechend anzusehen, insbesondere im Hinblick auf ein verbessertes Detektionslimit von Proteinen, sowie für eine selektive Detektion unterschiedlich geladener Proteine.

Abstract

Within the framework of this thesis a novel protein sensor based on gold nanowires has been developed.

For this purpose nanowires in an antenna-like arrangement are fabricated on top of a gold surface. Subsequently the nanowires are analysed with regard to their atomic structure and chemical composition. Thereby, atomic resolution of the monocrystalline and low-defect structure of chemically pure gold nanowires can be achieved when using a cross-sectional procedure.

Consecutively, electrochemical and optical characteristics of the nanowire surfaces are investigated. Thereby one can verify electrical conductivity between the gold substrate and nearly all nanowires. Moreover, optical transmission measurements reveal a plasmonic transversal mode close to $\lambda \approx 530$ nm in air. The refractive index sensitivity is defined as $S_M \approx 245$ nm/RIU and is subsequently used for concentration dependent and time-resolved detection of proteins.

In the final section, the plasmonic detection of proteins is amended by an electrochemical potential applied simultaneously. Initially a reversible position control of the plasmonic signal is ensured using an electrode potential. Subsequently, first protein measurements proof that electrochemically induced protein accumulation can be detected by means of such an optical technique.

This concept is considered as promising in the field of biomedical diagnostics, in particular with respect to an improvement of the detection limit of proteins, as well as for a selective detection of proteins of various charges.

Inhaltsverzeichnis

1.) Einleitung **11**

2.) Methoden **18**

2.1 Bildgebende Verfahren *18*

2.1.1 Transmissionselektronenmikroskopie 18

2.1.2 Rasterelektronenmikroskopie 21

2.2 Analytische Verfahren *22*

2.2.1 Fokussierte Ionenstrahltechnik 22

2.2.2 Energiedispersive Röntgenspektroskopie 23

2.2.3 Elektronenbeugung 24

2.2.4 Transmissionsspektroskopie 26

2.2.5 Cyclovoltammetrie 27

2.3 Galvanische Abscheidung *28*

3.) Nanodrahtsynthese **31**

3.1 Einführung *31*

3.2 Materialien und Methoden *32*

3.2.1 Prinzip der Nanodrahtsynthese 32

3.2.2 Vorbereitung 32

3.2.3 Syntheseaufbau 33

3.2.4 Entfernung des Templats 34

3.3 Ergebnisse und Diskussion *35*

3.3.1 Strommessung 35

3.3.2 Bildgebung der Nanodrahtoberflächen 36

3.4 Zusammenfassung und Ausblick *37*

4.) Materialanalyse der Nanodrähte **39**

4.1 Einführung *39*

4.2 Materialien und Methoden *41*

4.2.1 Mechanische Probenpräparation 42

4.2.2 Probenpräparation mittels FIB 42

4.2.3 Diskussion der Präparationsmethoden 44

4.3 Ergebnisse und Diskussion *45*

4.3.1 Analyse in Seitenansicht 45

4.3.2 Analyse im Querschnitt 49

4.4 *Zusammenfassung und Ausblick* 51

5.) Elektrochemische Eigenschaften **52**

5.1 Einführung *52*

5.1.1 Elektrodenprozesse im cyclovoltammetrischen Experiment 52

5.1.2 Reversible und irreversible Systeme 53

5.1.3 pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials 55

5.2 Materialien und Methoden *56*

5.2.1 Elektroden und Elektrolyte 56

5.2.2 Messaufbau 57

5.3 Ergebnisse und Diskussion *58*

5.3.1 Reversibilität 58

5.3.2 Elektroaktivität 62

5.3.3 Elektrochemisches Arbeitsfenster 66

5.3.4 Optimierung der Substratdicke 68

5.4 Zusammenfassung und Ausblick *70*

6.) Optische und sensorische Eigenschaften **71**

6.1 Einführung *71*

6.1.1 Grundlagen der Oberflächenplasmonik 71

6.1.2 Stand der Technik: Nanoplasmonische Biosensoren 74

6.2 Materialien und Methoden *75*

6.3 Ergebnisse und Diskussion *76*

6.3.1 Winkel- und dichteabhängige Transmissionsmessungen 76

6.3.2 Optimierung der Nanodrahtlänge 79

6.3.3 Brechungsindexsensitivität 80

6.3.4 Plasmonische Proteindetektion 83

6.4 Zusammenfassung und Ausblick *84*

7.) Plasmonische, nanodrahtbasierte Sensorplattform mit simultaner elektrochemischer Steuerung **86**

7.1 Einführung *86*

7.2 Materialien und Methoden *90*

7.2.1 Messaufbau 90

7.2.2 Vorbereitung der Messung 92

7.2.3 Proteine 93

7.2.4 Gelelektrophorese 93

7.3 Ergebnisse und Diskussion *94*

7.3.1 Elektrochemische Steuerung der Plasmonenresonanz 94

7.3.2 Bestimmung der Proteinladung 96

7.3.3 Elektrochemisch gesteuerte Proteindetektion (geschaltete Spannung) 98

7.3.4 Elektrochemisch gesteuerte Proteindetektion (konstante Spannung) 100

7.4 Zusammenfassung und Ausblick *103*

8.) Literaturverzeichnis **105**

9.) Abbildungsverzeichnis **114**

10.) Abkürzungsverzeichnis **116**

11.) Publikationen **118**

12.) Danksagung **119**

13.) Eidesstattliche Erklärung **121**

1.) Einleitung

Gold-Nanostrukturen und die nach Graham [1] als Goldkolloide bekannten Strukturen besitzen spezielle Farbeffekte, welche bereits in der historischen Literatur eine bemerkenswerte Erwähnung fanden. So wird über deren antike Verwendung für die Herstellung von rubinrotem Glas und das Färben von Keramik berichtet [2]. Ein besonders berühmtes Beispiel stellt dafür der Kelch von Lycurgus (Abbildung1.1) dar, welcher im 5. oder 4. Jahrhundert vor Christus erschaffen wurde [3]. Aufgrund der heute als Plasmonenresonanz bekannten Eigenschaft von kolloidalem Gold erscheint der Kelch bei reflektiertem Licht in grüner Farbe (Abbildung 1.1a), wogegen er bei transmittiertem Licht in rubinroter Farbe (Abbildung 1.1b) auftritt. Dabei erfolgt die Bildung der Goldkolloide während einer Temperung des Glaskörpers, welcher Gold beinhaltet [4]. Ein tiefergehendes Verständnis dieses Synthesemechanismus kann unter Verwendung der Mößbauer-Spektroskopie erlangt werden [4].

Seit dem Mittelalter wurde nanostrukturiertes Gold zudem als ein medizinisches Wundermittel gepriesen. So berichtete der Philosoph und Mediziner Francisci Antonii im Jahre 1618 über die sagenhaft heilende Kraft von kolloidalen Goldsuspensionen gegenüber verschiedenen Krankheiten [5]. Ferner berichtete der deutsche Chemiker Johann Kunckels im Jahre 1676 von einer trinkbaren Goldlösung in pinker Farbe, welche eine heilende Kraft gegen verschiedene Krankheiten besitze [6]. Obwohl die Verifikation von deren medizinischer Heilkraft substantiell ausblieb, so sei festgehalten, dass diese Strukturen gerade heutzutage als vielversprechendes und faszinierendes Material für biomedizinische Anwendungen gepriesen werden [7]. Über die medizinischen Anwendungen hinaus wurde aus dem 18. Jahrhundert außerdem auch eine Färbung von Seide unter Verwendung von kolloidalem Gold überliefert [8].

Wachsendes wissenschaftliches Interesse an den optischen Eigenschaften von kolloidalem Gold erfolgte im Anschluss an die durch Michael Faraday im Jahre 1857 beschriebenen Untersuchungen [9, 10]. Dabei reduzierte Faraday kolloidales Gold aus einer wässrigen Tetrachloroauratlösung mit gelöstem Phosphor in Kohlenstoffdisulfid. Aus der dabei entstehenden rubinroten Färbung folgerte er, dass „fein verteiltes Gold“ entstanden sei [9].

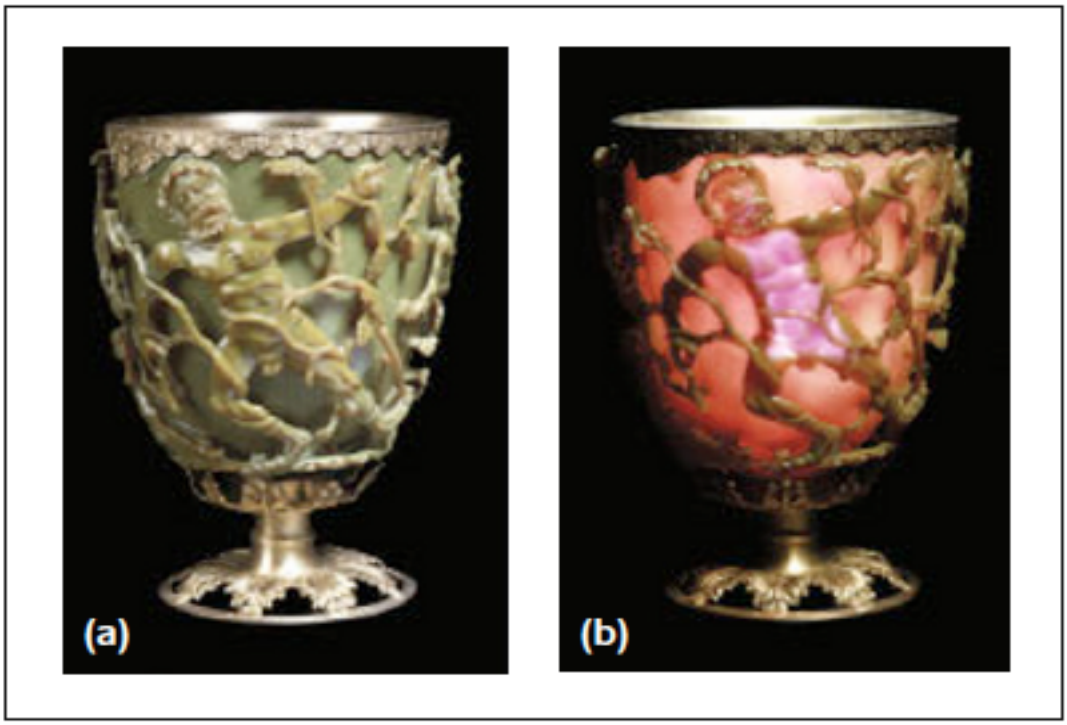

Abbildung 1.1: Der Kelch von Lycurgus. *Der Kelch von Lycurgus als antikes, römisches Relikt in (a) reflektiertem und (b) transmittiertem Licht. Der Kelch beinhaltet kolloidales Gold. Dieses weist Plasmonenresonanzeffekte auf, welche sich durch die charakteristisch (a) grüne Farbe in Reflexion beziehungsweise (b) rubinrote Farbe in Transmission bemerkbar machen [3].*

Als ein ganz wesentlicher wissenschaftlicher Impuls des 20. Jahrhunderts für die gezielte Herstellung, Bildgebung und Manipulation miniaturisierter Materialien wie beispielsweise Gold-Nanostrukturen ist Richard P. Feynmans berühmte Rede "There's plenty of room at the bottom" anzusehen [11], welche bis heute gerne als Gründungsschrift der Nanotechnologie angesehen wird. Darin inspirierte Feynman, Objekte auf einem winzigen Maßstab im Hinblick auf neue technische Anwendungen zu steuern und zu manipulieren. Ein entscheidender Vorreiter bei der Entwicklung nanotechnologischer Komponenten ist bis heute die Halbleiterindustrie. Es gelang ihr das Mooresche Gesetz - welches besagt, dass sich die Anzahl an Bauteilen auf einem Computerchip durch Miniaturisierung in etwa alle zwei Jahre verdoppelt - über mehrere Dekaden zu erfüllen.

Da die Fähigkeit des optischen Systems, kleinste Strukturen in den Photolack abzubilden, prinzipiell durch die verwendete Lichtwellenlänge und die Anzahl eingefangener Beugungsordnungen der Maske limitiert ist (vgl. Auflösungsvermögen nach Abbe [12]), ist eine zukünftige Einhaltung dieser Gesetzmäßigkeit als eher unwahrscheinlich einzuschätzen [13]. Aus diesem Grund hat sich für die Synthese, Analyse und Kontrolle nanotechnologischer Komponenten auch eine Vielzahl neuer Techniken etabliert, welche nicht dem optischen Beugungslimit unterliegen. An dieser Stelle sei

hierfür exemplarisch das Rasterkraftmikroskop genannt, unter dessen Verwendung die Oberflächentopographie einer Probe nanoskalar aufgelöst [14] und Materie auf atomarer Ebene kontrolliert werden kann [15].

Als Folge der zunehmenden Miniaturisierung sowie der Entwicklung neuartiger nanotechnologischer Methoden in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts konnten die bereits frühzeitlich durch ihre Farbeffekte bekannten Gold-Nanopartikel in einem Elektronenmikroskop dargestellt werden [16, 17]. Yu et al. [18] konnten anschließend die Synthese homogener Gold-Nanostäbchen identifizieren und deren Anwesenheit mit den unlängst bekannten Farbeffekten korrelieren. Diese Nanostäbchen sind in Abbildung 1.2 in Form einer transmissionselektronen-mikroskopischen (TEM) Aufnahme dargestellt. Sie besitzen eine nahezu ideal zylindrische Gestalt sowie ein Aspektverhältnis von 7,6. In der Zwischenzeit hat sich eine Vielzahl an Herstellungsmethoden von Gold-Nanodrähten (Au-NW) etabliert, weswegen eine wesentliche, aktuelle Herausforderung nun darin liegt, den hergestellten Strukturen neue Funktionen zuzuweisen, sowie deren innere Struktur und Zusammensetzung mit der entsprechenden Funktion zu korrelieren.

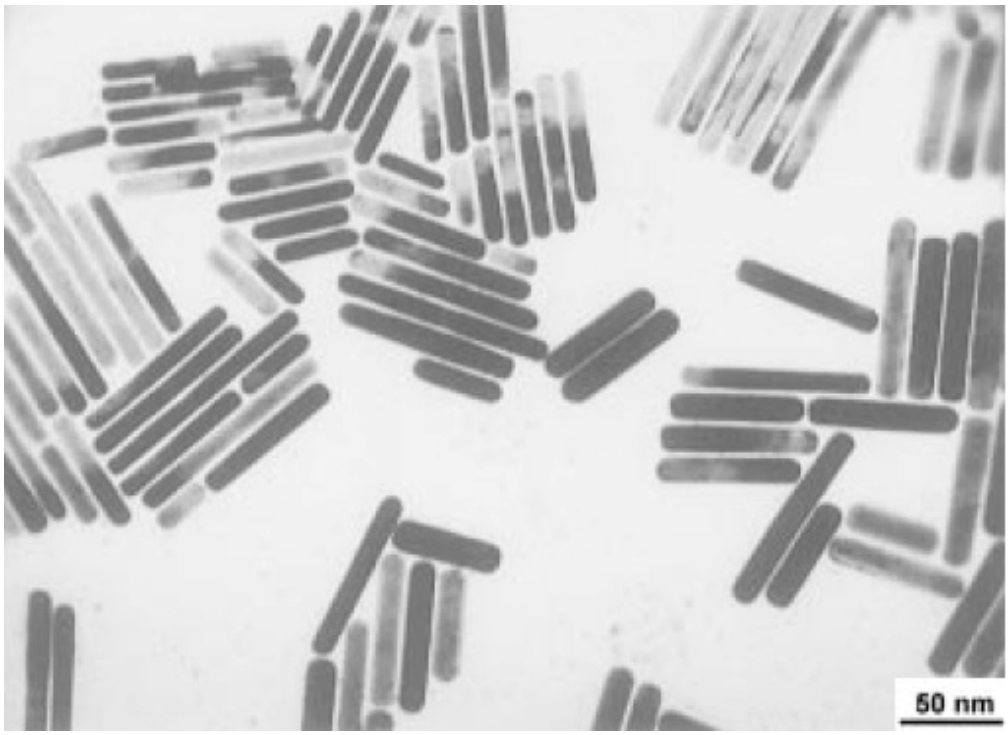

Abbildung 1.2: Nanodrähte im TEM. *Früher Nachweis einer elektrochemischen Synthese und Bildgebung (TEM) von Gold-Nanostäbchen [18]. Die Strukturen zeigen eine homogene Erscheinung sowie ein hohes Aspektverhältnis.*

Neue, vielversprechende Funktionen von Au-NW sind äußerst vielfältig. So gelten diese insbesondere in den Bereichen Optik, Elektronik und der interdisziplinären Forschung als hochattraktiv. Da einige molekulare Kopfgruppen amphiphiler Moleküle eine spezifische Affinität zu Goldoberflächen aufweisen, besitzen Au-NW ein großes Potential für auf selbstorganisierenden Monoschichten (SAM) basierende, molekularelektronische Bauteile sowie für Nanocomputer [19-22]. Aufgrund ihrer plasmonischen Eigenschaften können Au-NW außerdem als Wellenleiter fungieren, das heißt sie sind in der Lage, eine elektromagnetische Welle entlang eines Nanodrahtes zu führen [23-25]. So gelang Dickson et al. unter Verwendung von Au-NW mit einem Durchmesser von 20 nm eine gerichtete Wellenleitung über mehr als 10 µm zu realisieren, wobei die Ausdehnung der Mode auf den Nanodraht beschränkt blieb. Es ist daher denkbar, dass sich auf diese Weise zukünftig miniaturisierte, photonische Schaltkreise realisieren lassen [26]. Ferner können die plasmonischen Eigenschaften von Au-NW auch für ein Bauelement verwendet werden, welches in der Lage ist das Signal eines elektronischen Tunnelstroms in ein optisches Signal umzuwandeln [27]. Aufgrund des bioinerten Charakters von Goldoberflächen in physiologischer Umgebung werden die plasmonischen Effekte von Au-NW außerdem auch als vielversprechende Materialien für die Detektion von Biomolekülen angesehen [28]. Deren bioinerter Charakter wird, in Kombination mit deren effizienter elektrischen Leitfähigkeit, auch im Bereich der zellulären [29] und molekularen [30, 31] Bioelektronik ausgenutzt. Darüber hinaus werden Aktin basierte Au-NW verwendet, um eine Adenosintriphosphat (ATP) getriebene biologische Beweglichkeit von Nanoobjekten zu erlangen [32].

Wie vorstehend erwähnt, erfolgten zwar bereits biomolekulare Messungen unter der Verwendung der entweder plasmonischen oder elektrischen Eigenschaften von Au-NW, jedoch ist die simultane Nutzung beider Techniken für Gold-Nanostrukturen – insbesondere Au-NW – in Kombination mit biomolekularen Anwendungen größtenteils unbekannt. Eine prinzipielle Kombinationsfähigkeit von Elektrochemie und Plasmonik verschiedener Gold-Nanostrukturen konnte jedoch – in Abwesenheit biomolekularer Strukturen - vor kurzem nachgewiesen werden. So verglichen Sannomiya et al. [33] mittels Gold-Nanopartikeln (Au-NP) in reiner Elektrolytlösung ionische Adsorption unter Auswertung von sowohl plasmonischer, als auch elektrochemischer Signale. Ferner zeigten Dahlin et al. [34], dass sie Plasmonenresonanzeigenschaften von Gold-Nanoscheibchen und eines Gold-Nanolochfilms nutzen können, um elektrochemisch induzierte Kristallisationsprozesse der Nanostrukturen zu messen. Darüber hinaus wurde eine

reversible, elektrochemische Steuerung der Plasmonenresonanz in Au-NW von MacKenzie et al. [35] beschrieben. Auf der Basis von Au-NW kombinierten Huang et al. [36] erstmals in einer Messung Optik und Elektrochemie mit Proteinen. Sie verwendeten hierfür jedoch eine andere optische Technik, genauer gesagt eine Fluoreszenztechnik.

Eine erste biomolekulare Messung mit Gold-Nanostrukturen, welche eine kombinierte plasmonische und elektrochemische Methodik umfasste, erfolgte im Jahr 2012 unter Verwendung eines Gold-Nanolochfilms. Darin verwendeten Escobedo et al. [37] die plasmonischen Eigenschaften der Nanostruktur für die Detektion von Proteinen. Das simultan angelegte elektrochemische Potential diente dabei – in Kombination mit einem fluiden System unter Hochdruck - der Anreicherung von Proteinen im Detektionsregime und erhöhte die gemessenen Signale detektierter Proteine erheblich. Ein vergleichbares Konzept wird in der vorliegenden Arbeit auf der Basis von Au-NW verfolgt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, plasmonische und elektrochemische Eigenschaften von Au-NW für proteinsensorische Messungen zu kombinieren. Das zugehörige Konzept ist in Abbildung 1.3 dargestellt. Eine Probe, bestehend aus parallel angeordneten, senkrecht ausgerichteten und frei stehenden Au-NW, wird in einer elektrochemischen Flusszelle, welche zugleich als Probenhalter für eine optische Transmissionsmessung fungiert, fixiert und mit Licht aus dem gesamten sichtbaren Spektralbereich bestrahlt. Die elektrochemische Zelle ist mit einer Proteinlösung gefüllt, wobei die Proteinlösung unter Verwendung eines fluiden Pumpsystems ständig erneuert wird. Aufgrund der Plasmonenresonanzeffekte der Gold-Nanostrukturen können durch das Messen des transmittierten Lichts auf den Drähten adsorbierte Proteine detektiert werden. Das simultan zwischen Proteinlösung und Nanodrahtoberfläche angelegte elektrochemische Potential erzeugt ein zusätzlich auf die geladenen Proteine wirkendes, elektrischen Feld. Entsprechend der elektrischen Polung und der Proteinladung soll damit die Adsorption von Proteinen auf den Nanodrähten gesteuert werden. Eine erfolgreiche Realisierung dieses Sensors ist als vielversprechend anzusehen, da er einerseits das Detektionslimit einer Spezies verbessern kann, anderseits sich dazu eignet verschiedene Proteinspezies entsprechend ihrer durch die Wahl eines geeigneten pH-Wertes steuerbaren Ladung selektiv zu detektieren.

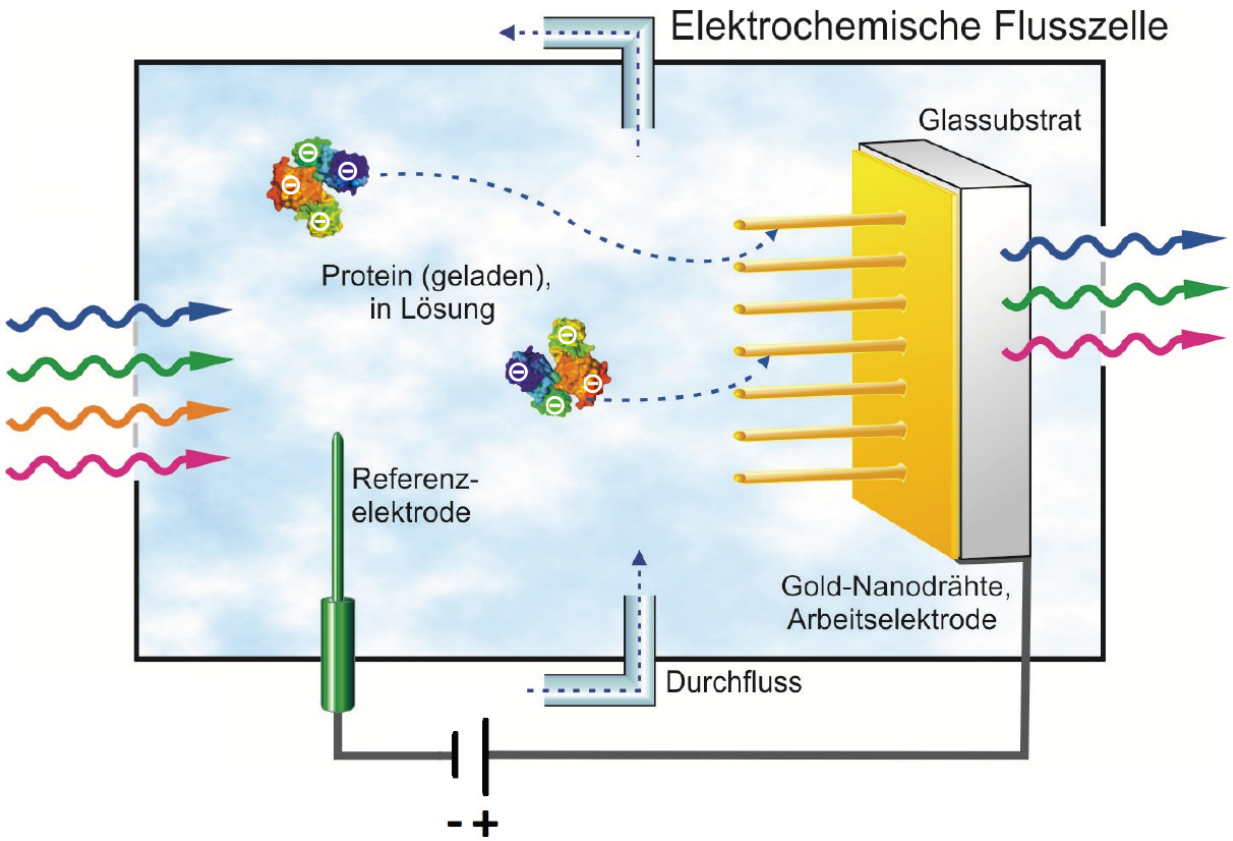

Abbildung 1.3: Schema eines plasmonisch-elektrochemischen Proteinsensors. *Unter Verwendung eines sichtbaren Lichtspektrums können auf den Nanodrähten anhaftende Proteine als Veränderung des plasmonischen Transmissionssignals identifiziert werden. Die Steuerung hinsichtlich der Neigung von Proteinen auf Nanodrähten zu adsorbieren erfolgt über das simultane Anlegen eines elektrochemischen Potentials. Unter Verwendung eines fluiden Pumpsystems findet ein permanenter Austausch der Proteinlösung statt.*

Gemäß des obig definierten Anspruchs teilt sich die vorliegende Arbeit in fünf wesentliche Einheiten auf, welche im Rahmen der folgenden Kapitel separat eingeführt, dargestellt und diskutiert werden. Nachdem die wichtigsten Methoden dieser Arbeit allgemein beschrieben worden sind (Kapitel2), wird in einem ersten Schritt die Synthese geeignet orientierter und ausgerichteter Nanodrahtoberflächen vorgestellt (Kapitel 3). Da davon auszugehen ist, dass die optischen und elektrochemischen Eigenschaften der synthetisierten Strukturen wesentlich von deren atomaren Struktur und Zusammensetzung abhängen, erfolgt in Kapitel 4 unter Verwendung einer neuartigen Analysetechnik eine Untersuchung der hergestellten Nanostrukturen. Im Hinblick auf eine anschließende elektrochemische Steuerung der Proteinadsorption werden in Kapitel 5 die elektrochemischen Eigenschaften der Phasengrenze zwischen Nanodrahtoberfläche und Elektrolytlösung untersucht. Die Untersuchung der Plasmonenresonanzeffekte der synthetisierten Au-NW und deren Anwendung als Proteinsensor erfolgt in Kapitel 6. Im abschließenden siebten Kapitel wird zunächst gezeigt, dass die Plasmonenresonanz der

Nanodrähte über das elektrochemische Potential reversibel gesteuert werden kann. Abschließend wird unter Verwendung zweier verschiedener Konzepte die Möglichkeit, die plasmonische Proteinsignalgebung elektrochemisch zu steuern, verifiziert.

2.) Methoden

2.1 Bildgebende Verfahren

Ernst Abbe definierte im Jahre 1873 [12] das Punktauflösungsvermögen eines optischen Mikroskops, welches, abgesehen von wenigen Ausnahmen [38-40], bis heute Gültigkeit besitzt. Demnach gilt:

$$\Delta d = \frac{\lambda}{NA} = \frac{\lambda}{n \times \sin\varphi},$$

wobei λ die Wellenlänge des verwendeten Licht, NA die sogenannte numerische Apertur, n der Brechungsindex des umgebenden Dielektrikums (z.B. Immersionsöl) und φ der Öffnungswinkel des Objektivs ist. Da für fast alle Dielekektika $1 < n < 4$ und $0 < |\sin\varphi| < 1$ gilt, entspricht das maximale Auflösungsvermögen nach Abbe in etwa der verwendeten optischen Wellenlänge. Es lässt sich daraus leicht ableiten, dass Nanostrukturen unter Verwendung von sichtbarem Licht nicht aufgelöst werden können und es demnach anderer Mikroskoptypen bedarf. Wie im Folgenden gezeigt wird, eignen sich hierfür aufgrund des Wellencharakters von Elektronen insbesondere Elektronenmikroskope.

2.1.1 Transmissionselektronenmikroskopie

Zwischen 1923-1927 entwickelte Louis de Broglie seine Theorie über den Wellencharakters von Materie [41, 42], wonach für Elektronen gilt:

$$\lambda_{Elektron} = \frac{h}{p} = \frac{h}{m_{Elektron} \times v_{Elektron}}.$$

Dabei entspricht $h = 6{,}63 \times 10^{-34}$ Js dem Planck'schen Wirkungsquantum, $m_{Elektron} = 9{,}11 \times 10^{-31}$ kg nichtrelativistisch der Elektronenmasse, sowie p und $v_{Elektron}$ Impuls und Geschwindigkeit des Elektrons.

Auf Basis dieser Erkenntnis entwickelten Max Knoll und Ernst Ruska (Abbildung 2.1) das erste Elektronenmikroskop [43], wofür Ruska 1986 den Nobelpreis für Physik erhielt. Das grundlegende Konzept eines TEM basiert auf dem Sachverhalt, dass die Elektronengeschwindigkeit in einem TEM über die angelegte Beschleunigungsspannung reguliert werden kann. Demnach gilt in nichtrelativistischer Näherung:

$$\frac{1}{2} \times m_{Elektron} \times v_{Elektron}^2 = e \times U \Leftrightarrow v_{Elektron} = \sqrt{\frac{2 \times e \times U}{m_{Elektron}}},$$

wobei $e = 1{,}60 \times 10^{-19}$ C der Elementarladung eines Elektrons und U der angelegten Beschleunigungsspannung entspricht. Nach Abbe wird demnach eine hohe Auflösung insbesondere für große Beschleunigungsspannungen erreicht. Eine Steigerung der Auflösung ist jedoch durch das Auftreten von Aberrationen der elektromagnetischen Linsen, sowie durch relativistische Effekte limitiert. Mithilfe neuster Korrekturen von Aberrationen kann derzeit eine Auflösung von $\Delta d \approx 50$ pm erreicht werden [44]. Demnach eignen sich TEM für die Auflösung von Nanostrukturen und deren atomarer Auflösung außerordentlich gut, sie benötigen jedoch hinreichend dünne Proben sowie eine verhältnismäßig aufwendige Probenpräparation.

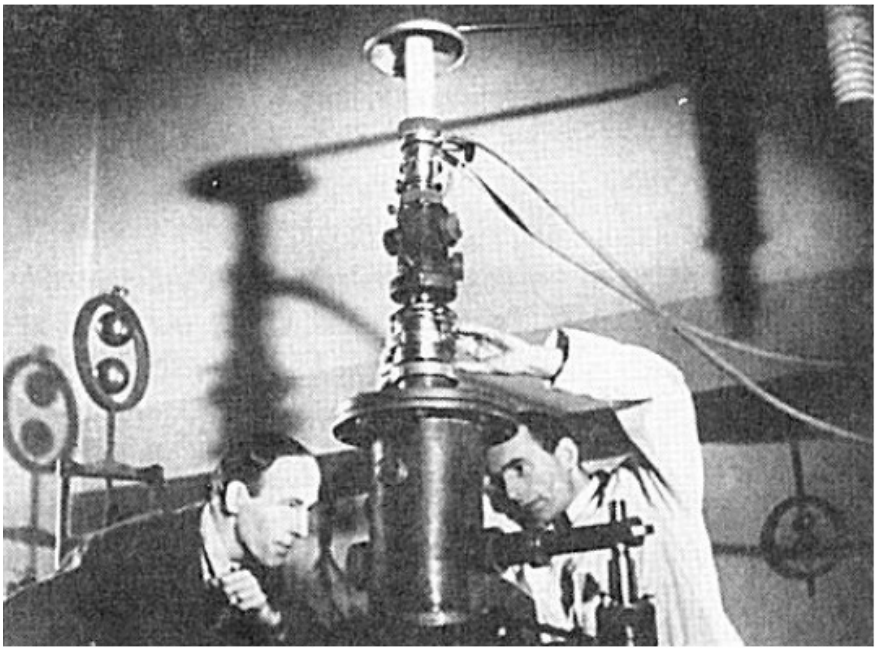

Abbildung 2.1: Historisches Bild TEM. *Historische Aufnahme von Ruska und Knoll beim Aufbau des ersten Elektronenmikroskops in den frühen 1930ern in Berlin [45].*

Abbildung 2.2a zeigt die prinzipielle Funktionsweise eines TEM. Aus einer Elektronenquelle (z.B. Lanthanhexaborid-Kathode oder Feldemissionsquelle) treten Elektronen aus und werden typischerweise mit einigen hundert Kiloelektronenvolt zur Anode hin beschleunigt. Das magnetische Linsensystem besteht, ähnlich dem eines optischen Mikroskops, aus einer Kondensorlinse, welche eine optimale Elektronenbeleuchtung des Objekts realisiert, einer Objektivlinse, welche aus dem bestrahlten Objekt ein Zwischenbild (Beugungsbild) abbildet und einer Projektionslinse, welche ein reales Bild erstellt. Dieses reale Bild ist für den Beobachter auf einem Leuchtschirm oder einer CCD-Kamera dargestellt. Analog zu einem optischen Mikroskop kann für die Erstellung eines Bildes der ungebeugte Strahl (Hellfeld) beziehungsweise der gebeugte Strahl (Dunkelfeld) ausgewählt werden. Abbildung 2.2b zeigt ein mithilfe eines TEM erzeugtes, hochaufgelöstes Bild einer Silizium (111) 7×7 Oberfläche.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden die TEMs Philips CM200 (bei 200 kV), JEOL 4000FX (bei 400 kV) und JEOL ARM 1250 (bei 1000 kV & 1250 kV) verwendet.

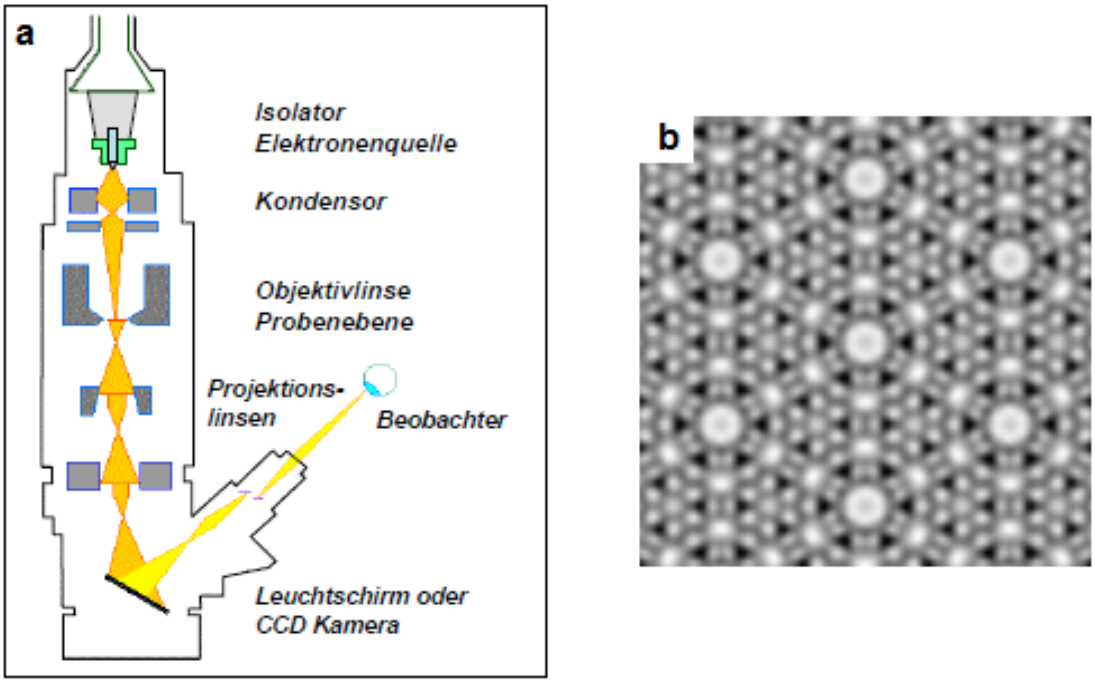

Abbildung 2.2: TEM-Prinzip und Hochauflösung. *a) Schematische Darstellung zur Funktionsweise eines TEM. b) Hochauflösende TEM-Aufnahme einer Silizium (111) 7×7 Oberfläche [46].*

2.1.2 Rasterelektronenmikroskopie

Wie das TEM basiert auch das Rasterelektronenmikroskop (SEM) auf dem elektronischen Wellencharakter. Aufgrund der geringeren Beschleunigungsspannung von typischerweise 1-30 keV besitzen SEM gegenüber TEM jedoch eine schlechtere Auflösung von typischerweise einigen wenigen Nanometern.

In einem SEM wird die Probe mit einem feinen Elektronenstrahl punktweise abgerastert. Dabei wechselwirkt der Strahl mit der jeweiligen Probentopographie und induziert so einen Streuprozess. Die auf der Seite des einfallenden Elektronenstrahls angebrachten Detektoren (siehe Abbildung 2.3) messen entweder die elastisch rückgestreuten Primärelektronen (BSE-Detektor) oder die durch einen inelastischen Wechselwirkungsprozess emittierten Sekundärelektronen (Inlense-Detektor oder SE2-Detektor).

Ein wesentlicher Vorteil eines SEM gegenüber eines TEM liegt darin begründet, dass durch die reflektierte Signaldetektion keine Präparation für metallische Probenoberflächen benötigt wird. Darüber hinaus besitzen SEM eine hohe Schärfentiefe, welche ein Beobachter als real dreidimensional wirkende, topographische Struktur wahrnimmt.

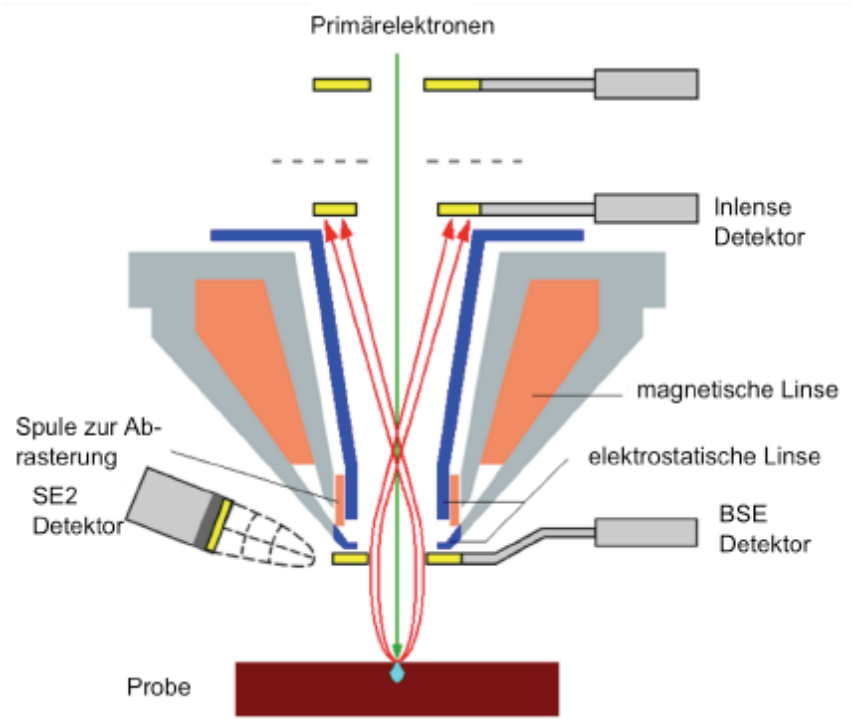

Abbildung 2.3: Aufbau eines SEM. *Schematischer Aufbau eines SEM und die geometrische Anordnung des Inlense-, SE2- und BSE-Detektors [47, 48].*

Im Rahmen dieser Arbeit findet ein Gemini 55 Ultra Elektronenmikroskop der Firma Carl Zeiss AG (Jena) Anwendung. Da der SE2-Detektor sehr gute probentopographische Informationen liefert, ist sein Gebrauch für die Abbildung vertikal ausgerichteter Au-NW als vielversprechend anzusehen. Im Rahmen dieser Arbeit wird er für alle SEM-Aufnahmen verwendet.

2.2 Analytische Verfahren

Im Rahmen dieser Arbeit werden verschiedene Methoden zur Untersuchung von Nanostrukturen genutzt. Dabei handelt es sich insbesondere um Techniken zur Analyse von Struktur und Zusammensetzung von Nanostrukturen, sowie um Methoden zur Bestimmung optischer und elektrochemischer Eigenschaften nanostrukturierter Oberflächen. Diese werden im Folgenden vorgestellt.

2.2.1 Fokussierte Ionenstrahltechnik

Die fokussierte Ionenstrahltechnik (FIB) wird für die Bildgebung und Bearbeitung einer Oberfläche im Nanometerbereich verwendet. Eine detaillierte Darstellung findet sich in [49].

Wegen der starken Ähnlichkeit im Aufbau zu einem SEM sei wiederum auf Abbildung 2.3 verwiesen. Ein fokussierter Strahl rastert die zu untersuchende Probe ab, deren Sekundärelektronen für die Bildgebung detektiert werden. Der wesentliche Unterschied zu einem SEM besteht jedoch darin, dass der Elektronenstrahl durch einen Ionenstrahl (häufig Galliumionen) ersetzt wird, wobei die Ionen mit 5-50 kV beschleunigt werden.

Die im Vergleich zu Elektronen deutlich schwereren Galliumionen besitzen bei gleicher Energie einen in etwa 370-fach höheren Impuls [50]. Wie in Abbildung 2.4a skizziert, können die auftreffenden Ionen bei Impulsübertrag Substratatome aus deren Matrix entfernen.

Abbildung 2.4b zeigt, wie mithilfe eines gezielten Materialabtrags ein Goldsubstrat nanostrukturiert werden kann. Als eines der wichtigsten Anwendungsgebiete für den FIB-

Materialabtrag ist die Probenpräparation fürs TEM zu nennen [51-53], insbesondere für Präparationen eines Probenquerschnitts [54, 55].

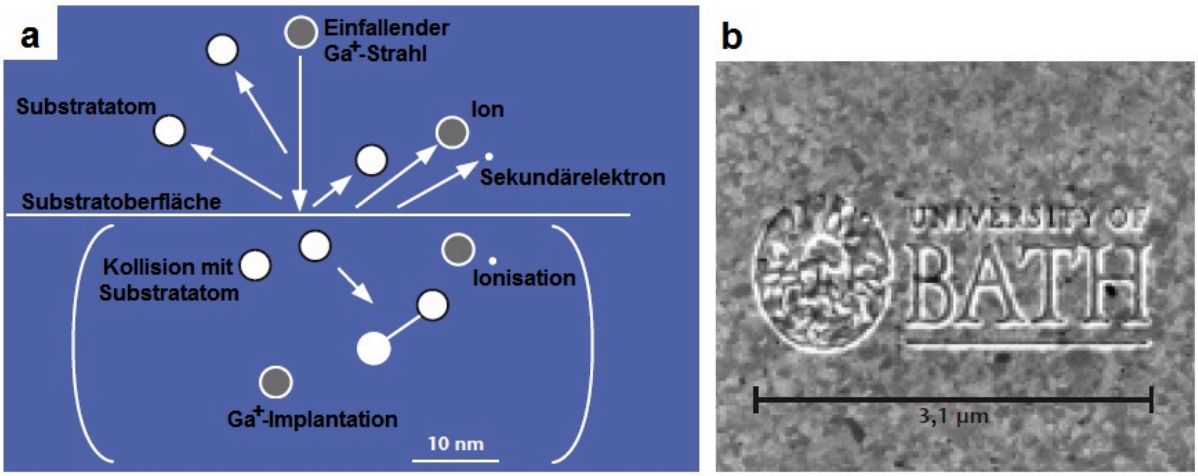

Abbildung 2.4: Materialabtragung mit FIB. *a) Wechselwirkung eines Galliumionenstrahls einer FIB-Einheit mit der Probenoberfläche. Die Stärke der Materialabtragung durch den fokussierten Ionenstrahl lässt sich über die angelegte Beschleunigungsspannung steuern. b) Bild eines Nanomusters in einem Goldsubstrat, welches durch FIB-Materialabtragung erzeugt worden ist [50].*

Im Rahmen dieser Arbeit wird eine Dual Beam Einheit (FEI Nanolab 600), bestehend aus einer bildgebenden SEM-Einheit und einer FIB-Einheit, für die Präparation von TEM-Proben bei einer Betriebsspannung von 30 kV verwendet.

2.2.2 Energiedispersive Röntgenspektroskopie

Als energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) wird ein Messverfahren bezeichnet, welches die elementare Zusammensetzung einer Probe mittels charakteristischer Röntgenstrahlung analysiert.

Treffen hochenergetische Elektronen einer TEM-Elektronenquelle (100-200 keV) auf eine Probe, so entsteht Röntgenstrahlung, welche sich unterscheiden lässt in sogenannte Bremsstrahlung und charakteristische Strahlung [56]. Während die Bremsstrahlung aufgrund des Abbremsens der Primärelektronen einen kontinuierlichen Hintergrund im Röntgenspektrum verursacht, resultiert das Herausschlagen der Sekundärelektronen aus den atomaren Orbitalen der Probe in charakteristischer Strahlung. Abbildung 2.5a zeigt das Zustandekommen dieser charakteristischen Strahlung schematisch. Der durch das Herausschlagen eines Elektrons aus einem

niederenergetischen Orbital freie Zustand wird durch ein Elektron eines höherenergetischen Orbitals aufgefüllt. Die dabei frei werdende Röntgenstrahlung entspricht der Energiedifferenz zwischen beiden Orbitalzuständen und ist elementspezifisch. Abbildung 2.5b zeigt ein charakteristisches Röntgenspektrum anhand einer Siliziumdioxid-Glasprobe. Es ergeben sich Linien für Silizium, Natrium, Aluminium und Kalium, wobei das nachfolgende Kürzel (K, L, M) die Schale spezifiziert, auf welcher durch das zuvor herausgeschlagene Elektron ein freier energetischer Zustand erzeugt worden ist.

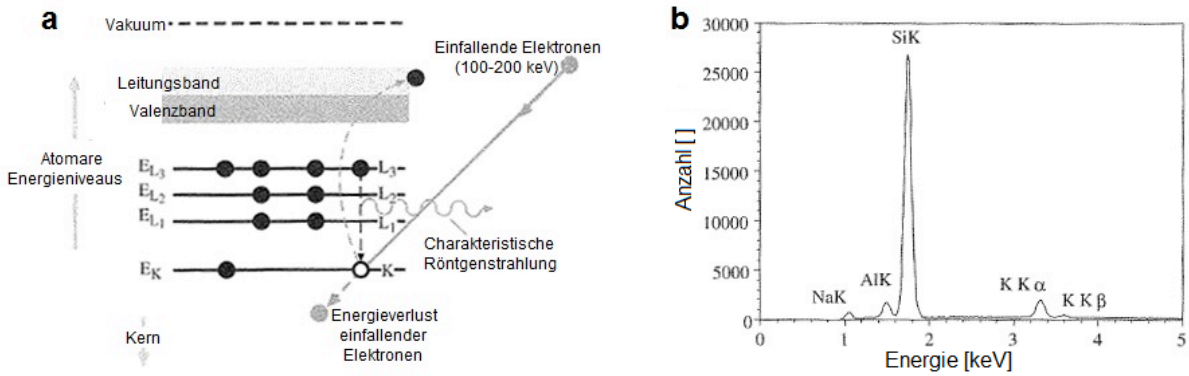

Abbildung 2.5: Schema charakteristischer Röntgenstrahlung. *a) Prinzip der Entstehung charakteristischer Röntgenstrahlung. Hochenenergetische Primärelektronen schlagen Elektronen aus niedrigen atomaren Energieniveaus heraus. Die Besetzung dieser frei gewordenen Zustände durch Elektronen höherer Schalen induziert Röntgenstrahlung charakteristischer Energie. b) Beispielhafte Anführung eines charakteristischen Röntgenspektrums einer Glasprobe aus Siliziumdioxid [45, 57].*

Im Rahmen dieser Arbeit werden EDX-Untersuchungen zur elementaren Zusammensetzung unter Verwendung des TEM Philips CM 200 bei 200 kV durchgeführt.

2.2.3 Elektronenbeugung

Eine sehr einfache Erklärung hinsichtlich der Entstehung von Beugungsreflexen an Kristallen präsentierten anfangs des 20. Jahrhunderts William Henry Bragg und dessen Sohn William Lawrence Bragg [58]. Zwar verwendeten diese ursprünglich Röntgenstrahlung, deren Erklärung lässt sich jedoch auch auf gebeugte Elektronenstrahlen anwenden.

Nach Bragg bilden die Atome eines idealen Einkristalls sogenannte Kristallebenen mit paralleler Ausrichtung und konstantem Abstand d (Abbildung 2.6). Bragg ging ferner

davon aus, dass der einfallende Strahl an jeder dieser ausgebildeten Kristallebenen partial spiegelnd reflektiert wird. Nach Bragg ergeben die spiegelnd gebeugten Elektronenstrahlen genau dann Beugungsreflexe, wenn diese entsprechend ihres Wellencharakters konstruktiv miteinander interferieren. Hierfür muss der Wegunterschied zweier Strahlen einem ganzzahligen Vielfachen der Wellenlänge entsprechen, sodass gilt:

$$2 \times d \times \sin\Theta = n \times \lambda, \text{ n } \varepsilon \text{ IN}.$$

Hierbei entspricht Θ dem Einfallswinkel zur Kristalloberfläche, n dem Brechungsindex des Kristalls und d dem Kristallebenenabstand.

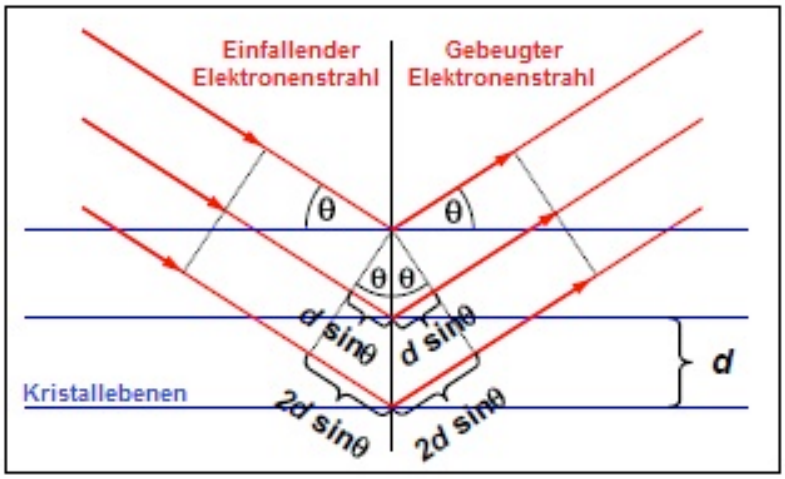

Abbildung 2.6: Schema Bragg-Reflexion. *Prinzipielles Zustandekommen eines Elektronen-Beugungsmusters nach Bragg [46].*

In Abbildung 2.7a ist ein punktförmiges Beugungsmuster einer einkristallinen Aluminiumprobe gezeigt. Wegen dessen einkristalliner Ordnung entspricht dieser Kristall der Bragg'schen Annahme eines konstanten Kristallebenenabstandes d. Hieraus ergibt sich das postulierte Punktmuster. In einer polykristallinen Probe sind einzelne Kristalliten gegeneinander verdreht. Aus der Vielzahl an Punktmustern einzelner Kristalliten ergibt sich ein Ringmuster, welches in Abbildung 2.7b exemplarisch für eine Goldstruktur dargestellt ist. Amorphe Strukturen ohne definierte Kristallebenen weisen demnach keinerlei Beugungsreflexe auf. Dies ist in Abbildung 2.7c anhand von amorphem Kohlenstoff dargestellt.

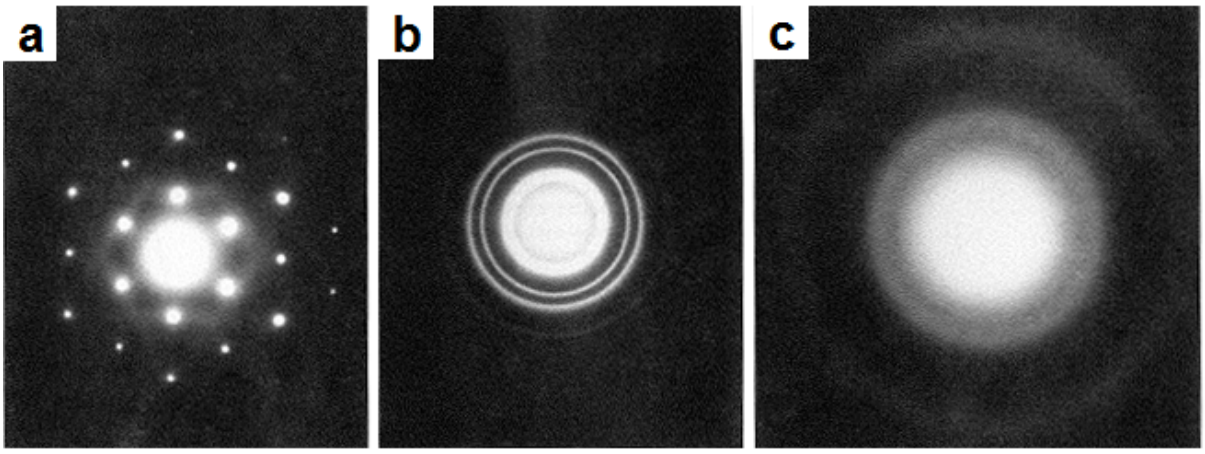

Abbildung 2.7: Escheinungsformen von Beugungsmustern. *Verschiedene Beugungsmustertypen entsprechender Materialien in einem konventionellen 100 kV TEM. a) Einkristallines Aluminium, b) Polykristallines Gold, c) Amorpher Kohlenstoff [45].*

Zusammenfassend lässt sich demnach sagen, dass sich aus dem Beugungsmuster eines Elektronenstahles Kenntnisse über eine mögliche Kristallinität der zu untersuchenden Probe gewinnen lassen. Für kristalline Strukturen lässt sich ferner aus dem Abstand der Beugungssignale der Kristallebenenabstand bestimmen und somit auf die Kristallorientierung rückschließen. Es sei an dieser Stelle für eine nähere Betrachtung der Beugung von Wellen an einem Kristallgitter auf die Beschreibung der Beugungsbedingung durch Laue hingewiesen [59].

Im Rahmen dieser Arbeit werden Beugungsbilder unter Verwendung des Elektronenstrahls eines TEMs (Philips CM 200, JEOL 4000FC & JEOL ARM 1250) auf Kristallinität und Kristallstruktur der jeweiligen Probe untersucht.

2.2.4 Transmissionsspektroskopie

Die Transmissionsspektroskopie wird für die Bestimmung der optischen, insbesondere plasmonischen Eigenschaften der im Rahmen dieser Arbeit fabrizierten Nanodrahtstrukturen angewandt. Dabei wird für jede gewünschte Wellenlänge sukzessiv die transmittierte Lichtintensität bestimmt und das zugehörige Spektrum aufgetragen. Im Rahmen dieser Arbeit werden zwei Spektrometer unterschiedlicher Spezifikationen verwendet:

OMT, Goniometer mit Reflexions-Transmissionseinheit:
Mithilfe dieser Spezialanfertigung kann das gesamte Transmissions- und Reflexionsspektrum mit variablem Einfallswinkel und im Wellenlängenbereich von 380nm - 1000nm gemessen werden. Das Spektrometer ist bislang nicht für Anwendungen in flüssiger Umgebung ausgestattet. Es wird ferner unpolarisiertes Licht verwendet. Im Rahmen dieser Arbeit findet es für die winkelabhängige Charakterisierung plasmonischer Eigenschaften der verwendeten Nanostrukturen Verwendung.

VARIAN, Cary 4000, UV-VIS-Spektrophotometer:
Mithilfe dieses Serientyps kann das gesamte Transmissionsspektrum bei konstantem Einfallswinkel und im Wellenlängenbereich von 190–900 nm gemessen werden. Dabei wird unpolarisiertes Licht verwendet. Wegen seiner leichten Handhabung in Kombination mit Küvetten und Flusszellen wird es für alle Messungen in flüssiger Umgebung genutzt, insbesondere auch für Proteinmessungen.

2.2.5 Cyclovoltammetrie

Die Cyclovoltammetrie (CV) wird aufgrund ihrer fingerabdruckartigen Wiedergabe der elektrochemischen Eigenschaften eines Redoxsystems – häufig bestehend aus einer metallischen Elektrode und einem Elektrolyten - auch als „elektrochemische Spektroskopie“ bezeichnet [60]. Diese sehr populäre, dynamische Messmethode liefert beispielsweise Informationen über Elektrokristallisationsphänomene [61, 62], Ladungstransferreaktionen zwischen nicht mischbaren Elektrolyten [63] und Adsorptionsprozessen [64, 65]. Sie fand erstmalig für das Studium der Sauerstoff – und Wasserstoffbelegung an Edelmetalloberflächen Verwendung [66].

Wie aus Abbildung 2.8a ersichtlich besteht eine CV-Messung üblicherweise aus einem an eine Arbeitselektrode (WE) angelegten, linear durchfahrenen Anregungspotential. Durch Wechsel der Abtastrichtung an den beiden Umkehrpunkten ergibt sich die für CV-Messungen charakteristische, zeitaufgelöste Dreiecksform des angelegten Elektrodenpotentials.

In Abbildung 2.8b ist der für eine CV-Messung typische Stromverlauf gezeigt. Der Gesamtstrom setzt sich in diesem Fall zusammen aus einem kapazitiven Hintergrundsignal, welches dem Ausbilden einer ionischen Doppelschicht entspricht, und charakteristischen

Extrema, welche einem Faraday'schen Prozess eines reversiblen Redoxpaars zuzuordnen sind. Diese gehen mit einem Elektronentransferprozess an der Grenzfläche zwischen Elektrode und Elektrolyt einher, bei welchem eine Substanz an der WE eine Änderung zwischen oxidiertem und reduziertem Zustand erfährt. So lassen sich beispielsweise anhand der Lage der extremalen Stromwerte im Schaubild vorliegende, redoxreaktive Substanzen identifizieren.

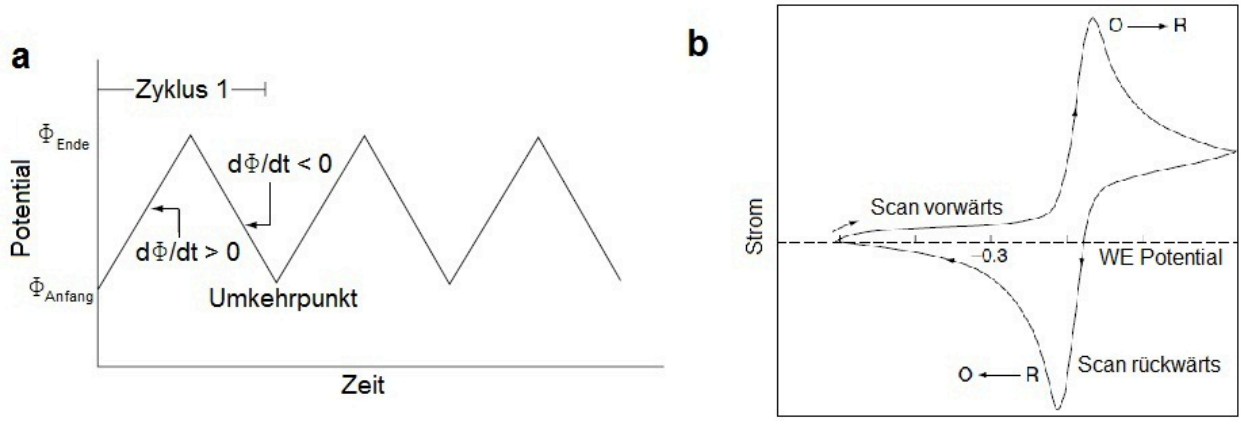

Abbildung 2.8: CV-Messprinzip. *a) Potential-Zeit-Anregungssignal eines CV-Experiments. b) Typisches Cyclovoltagramm eines reversiblen Redoxprozesses [nach 67].*

Im Rahmen dieser Arbeit wird für alle CV-Messungen der Metrohm Multi Autolab Potentiostat verwendet.

2.3 Galvanische Abscheidung

Metallische Oberflächenbeschichtungen besitzen eine über Jahrtausende währende Geschichte. So sind bereits aus dem 5. vorchristlichen Jahrtausend vergoldete Funde an Bulgariens Schwarzmeerküste datiert [68].

Die galvanische Abscheidung stellt unter diesen eine mögliche Beschichtungstechnik dar. Sie besitzt eine weit zurückreichende Geschichte. So wurde im Jahre 1936 ein früher Prototyp einer galvanotechnischen Apparatur bei Ausgrabungen in der Nähe von Bagdad gefunden. Es konnte festgestellt werden, dass diese aus der Zeit zwischen dem 1.Jahrhundert vor Christus und dem 1. Jahrhundert nach Christus stammt und vermutlich zum galvanischen Vergolden gedient haben muss [68].

Heute stellt die galvanische Abscheidung ein weit verbreitetes und wirtschaftlich bedeutendes Verfahren dar. Es findet Anwendung im Bereich der Mikroelektronik, beim

Schutz vor Korrosion sowie in der Schmuckindustrie. Eine Aufnahme von galvanisch vergoldetem Schmuck ist hierfür in Abbildung 2.9a beispielhaft dargestellt.

Abbildung 2.9: Galvanische Abscheidung. *a) Galvanische Vergoldung von Schmuck [69]; b) Schematische Darstellung einer kathodischen Galvanisierung anhand einer Kupferabscheidung aus einer Kupfersulfatlösung ($CuSO_4$) [70].*

Bei einer galvanischen Abscheidung zur Herstellung dünner Metallfilme werden die anfangs als gelöstes Salz in einer Elektrolytlösung vorliegenden Metallionen unter Einwirkung eines Elektrodenpotentials reduziert.

Abbildung 2.9b stellt den prinzipiellen Aufbau einer galvanischen Abscheidung anhand einer Kupfersulfatlösung ($CuSO_4$) und unter Verwendung von Kupferelektroden dar. Nach Anlegen an eine Gleichstromquelle erfolgen folgende Elektrodenprozesse:

Kathode (Reduktion): $Cu^{2+} + 2e^- \rightarrow Cu(s)$

Anode (Oxidation): $Cu(s) \rightarrow Cu^{2+} + 2e^-$

Die Kupferkationen werden an der Kathode reduziert, es findet eine Galvanisierung der Kupferkathode statt. Zur Bestimmung der abgeschiedenen Masse gilt nach Faraday [71]:

$$\Delta m = \frac{M \times Q}{n \times F},$$

wobei Δm und M die abgeschiedene beziehungsweise molare Masse der galvanisierten Spezies sind, n deren ionische Wertigkeit, Q die geflossene elektrische Ladung und F = 96485 C der Faraday-Konstante entspricht.

Im Rahmen dieser Arbeit werden Gold-Nanostrukturen unter Verwendung eines Gold-Elektrolyten (Conrad Electronics) und des Potentiostaten PL303-P Power Supply 30V 3A (Thurlby Thandar Instruments LTD., UK) auf einer Goldoberfläche bei einer angelegter Gleichspannung von U = -1,5 V hergestellt.

3.) Nanodrahtsynthese

In diesem Kapitel werden zunächst verschiedene Herstellungsverfahren von Au-NW skizziert und Anforderungen an ein geeignetes Verfahren diskutiert. Anschließend erfolgt eine detaillierte Beschreibung des gewählten Herstellungsverfahrens sowie eine Darstellung und Diskussion der erzielten Ergebnisse.

3.1 Einführung

Verschiedene Verfahren zur Herstellung von Au-NW sind derzeit verfügbar. Sie umfassen elektrolytische, stromlose und photochemische Abscheidung sowie chemische Gasphasenabscheidung (CVD) und Extrem-Ultraviolett-Lithographie (EUV) [72-76].

Es soll nun ein geeignetes Verfahren für die Realisierung eines nanoplasmonischen Proteinsensors mit simultaner elektrochemischer Steuerung definieren werden. Nachfolgend werden hierfür verschiedene Aspekte diskutiert. So sollen die Strukturen hinsichtlich einer elektrischen Ansteuerung elektrisch kontaktierbar sein. Ferner ist eine effektive Ankopplung von Proteinen bei einer möglichst großen Nanodraht-Elektrolyt-Grenzfläche wünschenswert, weswegen vertikal ausgerichtete, frei stehende sowie hochdichte Nanodrahtoberflächen als vorteilhaft anzusehen sind. Hinsichtlich einer einheitlichen plasmonischen Anregung der gesamten Nanodrahtoberfläche ist ferner darauf zu achten, dass die Strukturen eine homogen zylindrische Erscheinung besitzen und parallel orientiert sind. Des Weiteren ist für ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis plasmonischer Signale ein großflächiges und hochdichtes Fabrikationsverfahren erstrebenswert. Aus wirtschaftlichen Gesichtspunkten und im Hinblick auf industrielle Anwendungen kann zudem ein schnelles und großflächiges Verfahren als vorteilhaft angesehen werden.

Es ist davon auszugehen, dass eine elektrolytische Abscheidung unterstützt durch nanoporöse Template den oben genannten Anforderungen sehr gut gerecht wird. Unter diesen templatunterstützten Elektrolyseverfahren sind bereits Template aus anodisiertem Aluminiumoxid, selbstangeordneten Diblock-Copolymeren sowie Polycarbonatmembranen etabliert [72, 77-79]. Aufgrund der einfachen Handhabung und der Möglichkeit einkristalline Nanodrahtstrukturen zu erzeugen [80-82], werden im Rahmen dieser Arbeit Nanodrähte in Polycarbonattemplaten galvanisch abgeschieden. Die Bedeutung kristalliner Strukturen wird ferner in Kapitel 4.1 diskutiert.

3.2 Materialien und Methoden

3.2.1 Prinzip der Nanodrahtynthese

Das Verfahren zur Herstellung dieser Nanodrahtoberflächen entspricht im Wesentlichen dem in der Literatur beschriebenen Verfahren [79, 83]. Abbildung 3.1 zeigt dieses Verfahren schematisch. Nanoporöse Polycarbonattemplate und Glassubstrate werden mit einem dünnen Goldfilm mittels Bedampfung oder physikalischer Gasphasenabscheidung (PVD) beschichtet und anschließend in direkten Kontakt gebracht, woraus eine Formschablone für die galvanische Abscheidung entsteht. Unter Verwendung eines Goldelektrolyts und einer Gleichspannnung werden anschließend positiv geladene Goldionen in den Poren des kathodischen Goldsubstrats reduziert. Die abschließende Membranentfernung liefert frei stehende, vertikal ausgerichtete und parallel orientierte Nanodrähte.

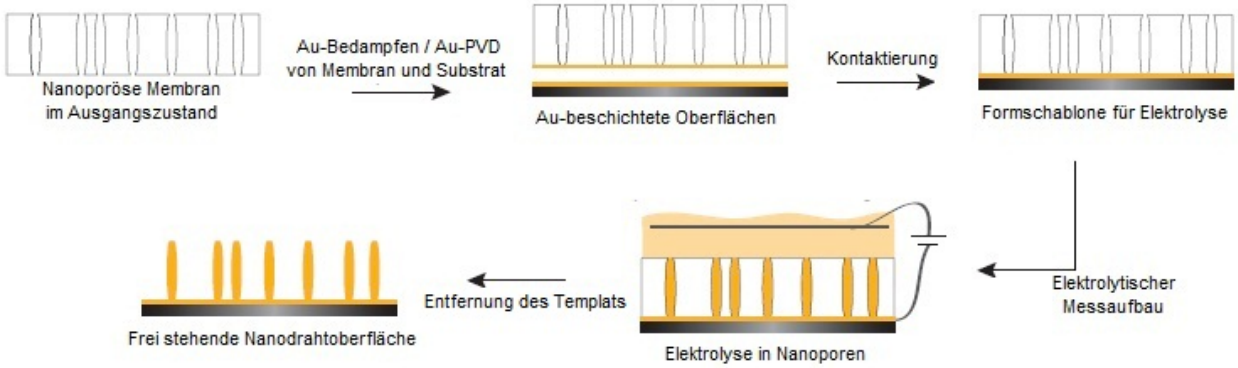

Abbildung 3.1: Herstellungsprinzip der Nanodrähte. *Prinzip der templatunterstützten, elektrolytischen Nanodrahtabscheidung. Eine nanoporöse Polycarbonatmembran sowie ein Substrat werden mit einem dünnen Goldfilm beschichtetet und anschließend in direkten Kontakt gebracht. Unter Verwendung eines Goldelektrolyten und einer Gleichstromspannung erfolgt eine Goldabscheidung in den Membranporen. Nach einer abschließenden Entfernung des Polycarbonattemplats ergibt sich eine frei stehende Nanodrahtoberfläche [nach 84].*

3.2.2 Vorbereitung

Als Substrate werden Deckgläser verwendet (24 × 24 mm, Carl Roth). Diese werden in Piranha-Lösung (H_2SO_4 : H_2O_2 = 3:1) für 60 min gereinigt und anschließend gespült (3 min Reinstwasser + Ultraschall, 2 Durchgänge). Anschließend werden die gereinigten Deckgläser entweder PVD-beschichtet (5 nm Ti Adhäsionsschicht + 10-250 nm Au) oder thermisch bedampft (5 nm Cr Adhäsionsschicht + 10-250 nm Au).

Polycarbonatmembranen werden kommerziell erworben (it4ip, Seneffe, Belgien). Die verwendeten Membranen besitzen eine Dicke von 25 µm und einen Porendurchmesser von 100 nm. Es werden niedrigdichte ($\rho = 10^6\ cm^{-2}$) und hochdichte ($\rho = 6 \times 10^8\ cm^{-2}$) Porentemplate verwendet. Die Polycarbonattemplate werden vor dem Gebrauch einseitig mit einem 20 nm Au-Film PVD-beschichtet beziehungsweise bedampft.

Das metallisch beschichtete Polycarbonattemplat wird vor der Verwendung für t = 120 s in einem Goldelektrolyt (Conrad Electronics) getränkt. Anschließend wird die nasse Membran auf der Goldoberfläche positioniert und unter Zuhilfenahme eines Pinsels anhaftend und flach auf der Goldoberfläche fixiert.

3.2.3 Syntheseaufbau

Abbildung 3.2a zeigt den prinzipiellen Aufbau der verwendeten elektrochemischen Zelle. Diese besteht aus einer quadratischen Basis aus Teflon, welche im Zentrum eine 25 × 25 mm Einkerbung für die Probenfixierung besitzt. Ein zylindrischer Hohlkörper aus Teflon kann mittels eines Saugrings auf diese Probenoberfläche gepresst werden, sodass sich das Probenzentrum (kreisförmiger Bereich mit Durchmesser d = 15 mm) im offen liegenden Bereich des Hohlkörpers befindet. Hierbei wird der Teflonzylinder über drei Halter aus Edelstahl fixiert.

Abbildung 3.2b zeigt den gesamten Aufbau unter Verwendung der elektrochemischen Zelle aus Abbildung 3.2a. Sie wird mit einem Goldelektrolyt (Conrad Electronics, Volumen $V \approx 7$ ml) aufgefüllt und mittels einer Platinanode elektrisch kontaktiert. Unter Verwendung eines Magnetrührers und eines Rührfisches (Frequenz $f \approx 4$ Hz) wird der Elektrolyt bei Rautemperatur bewegt.

Über einen dünnen, rechteckigen Streifen aus reinem Gold wird die Goldprobe mit dem kathodischen Anschluss elektrisch kontaktiert. Dieser Goldstreifen wird dabei von einem zylindrischen Pfropfen aus Edelstahl fixiert.

Der an den Potentiostat PL303-P Power Supply 30V 3A (Thurlby Thandar Instruments LTD., UK) angelegte Gleichspannung (U = -1,5 V) wird dabei über eine Computersoftware (LabView) geregelt.

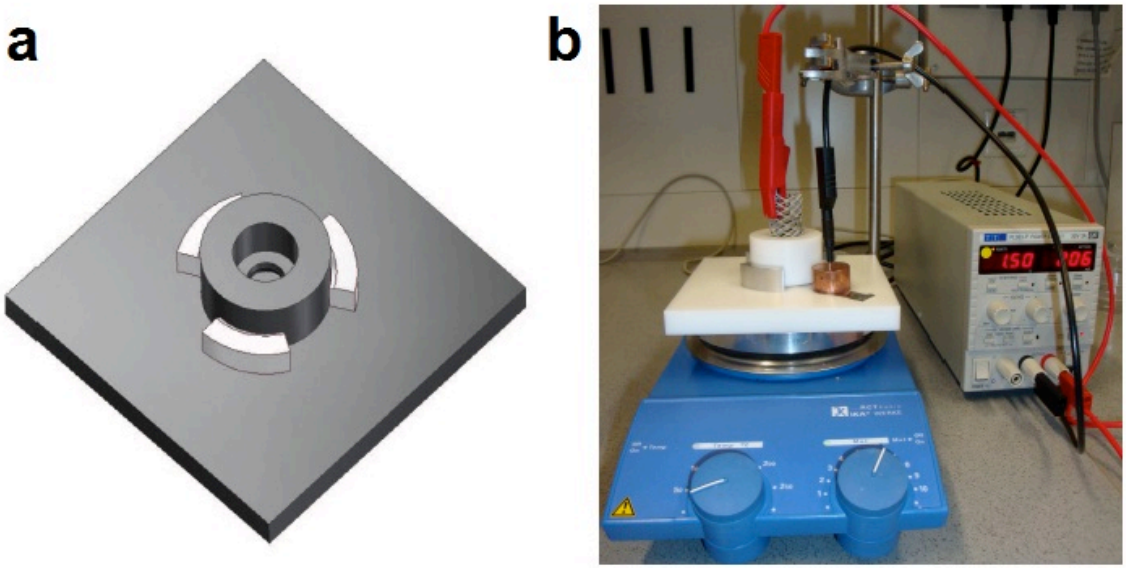

Abbildung 3.2: Setup für Nanodrahtsynthese. *a) Schema der verwendeten, elektrochemischen Zelle aus Teflon für die elektrolytische Nanodrahtsynthese. Mithilfe eines Saugrings wird die Au-Probe zwischen der rechteckigen Teflon-Basis und des aus Teflon bestehenden, zylindrischen Hohlkörpers fixiert. Letzterer wird dabei durch drei Edelstahlhalter (hell) auf der Teflon-Basis fixiert. b) Aufbau der elektrolytischen Synthese, bestehend aus einem Potentiostaten, einer anodischen (rot) Platinelektrode und einer kathodischen (schwarz) Au-Probe in Kontakt mit einer Au-Elektrolytlösung [84].*

3.2.4 Entfernung des Templats

Um freistehende Au-Nanodrahtoberflächen zu erzeugen, werden nun zunächst die Polycarbonattemplate in Dichlormethan (DCM, t = 60 min) aufgelöst. Anschließend werden Überreste von DCM mithilfe von Dimethylformamid (DMF) entfernt. DMF wird dann in einem Reinstwasserbad abgewaschen und die Goldstruktur in Umgebungsluft getrocknet.

Da sich zu diesem Zeitpunkt entsprechend der SEM-Bildgebung noch kleine, organische Überreste auf der Nanodrahtoberfläche befinden, erfolgt abschließend zur Entfernung von organischen Überresten eine Reinigung in einem chemischen Sauerstoffplasma (RIE Oxford Plasmalab, Oxford Instruments, t = 5 min, $f(O_2)$ = 40 sccm, P_{RF} = 50 W, P_{ICP} = 50 W, p = 80 mTorr, T = 20 °C).

3.3 Ergebnisse und Diskussion

3.3.1 Strommessung

Abbildung 3.3 stellt die zeitaufgelöste Stromkurve einer galvanischen Abscheidung (U = -1,5 V) niedrigdichter ($\rho = 10^6$ cm^{-2}) beziehungsweise hochdichter ($\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}) Nanodrahtoberflächen dar. Beide Stromkurven zeigen ein qualitativ ähnliches Verhalten: Nach einem hohen Anfangswert fallen beide Stromkurven innerhalb von circa t = 60 s auf einen konstanten Stromwert im Milliamperebereich ab. Im Falle hochdichter Nanoporen ist der Elektrolysestrom etwa um einen Faktor vier höher.

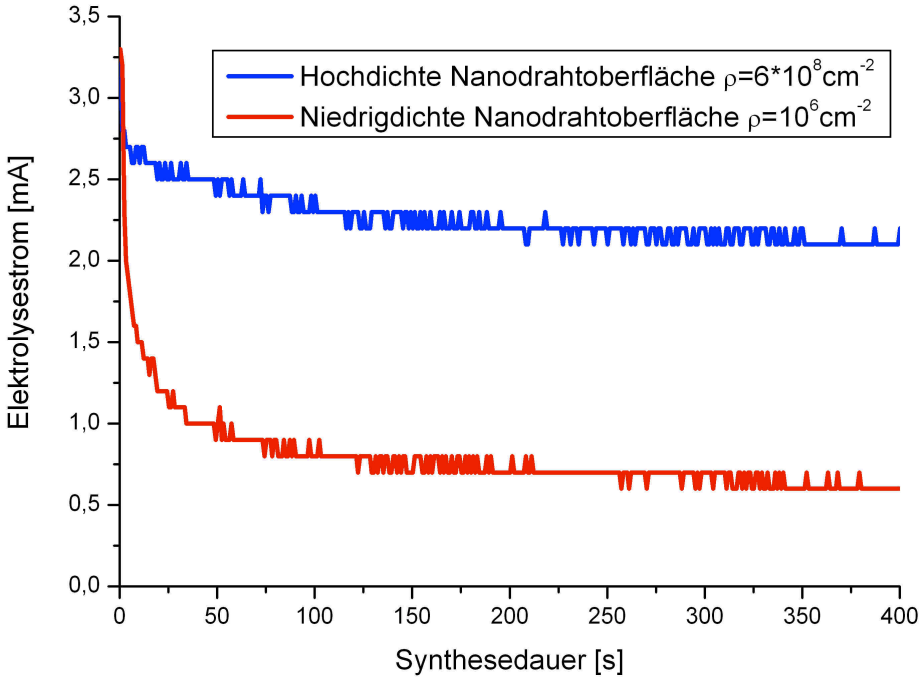

Abbildung 3.3: Abscheidestrom der Nanodrahtsynthese. *Vergleich der zeitaufgelösten, elektrolytischen Nanodrahtsynthese zwischen einer niedrigporösen ($\rho = 10^6$ cm^{-2}) und einer hochporösen ($\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}) Templatoberfläche, wobei das angelegte Elektrodenpotential einer konstanten Gleichspannung von U = -1,5 V entspricht.*

Die Kurvenform des in Abbildung 3.3 gezeigten Elektrolysestroms entspricht dem in [83] qualitativ beschriebenen Verhalten. Nach Einschalten der Gleichspannung ergibt sich zunächst ein scharfer Stromabfall, welcher dem kapazitiven Aufladen der durch Gouy und Chapman [85-87] beschriebenen Doppelschicht entspricht. Der anschließend konstante Stromfluss entspricht der Faraday'schen Reduktion der positiv geladenen Goldionen bei einer galvanischen Abscheidung. Der konstante Verlauf legt außerdem nahe, dass zwischen der Nanodrahtlänge und der Synthesedauer einer solchen galvanischen Nanodrahtabscheidung ein linearer Zusammenhang besteht. Dieses Verhalten kann unter

Verwendung von SEM-Aufnahmen unterschiedlicher Abscheidezeiten verifiziert werden, wodurch sich eine konstante Abscheiderate von in etwa $\langle r \rangle \approx 4{,}5$ nm/s für Synthesedauern $t > 100$ s ermitteln lässt. Ferner fällt der vierfach erhöhte Elektrolysestrom bei hochdichten Nanodrahtoberflächen gegenüber niedrigdichten Nanodrahtoberflächen auf, welcher sich durch die höhere, simultane Anzahl synthetisierender Nanoobjekte erklären lässt. Der Grund für einen lediglich vierfach höheren Stromfluss unter Verwendung einer 600-fach dichteren Porenstruktur kann im Rahmen dieser Arbeit nicht eindeutig geklärt werden. Ein Grund hierfür ist jedoch sicherlich, dass auch außerhalb der Nanoporen ein dünner Goldfilm zwischen Substrat und Templat abgeschieden wird, welcher anhand einer geringeren Lichttransmission mit bloßem Auge identifiziert werden kann.

3.3.2 Bildgebung der Nanodrahtoberflächen

SEM-Aufnahmen der galvanisch abgeschiedenen Au-NW-Oberflächen sind in Abbildung 3.4 dargestellt. Dabei zeigt Abbildung 3.4a die vergrößerte Ansicht eines einzelnen Nanodrahtes. Ferner sind entsprechend der Variation der Porendichte niedrigdichte (Abbildung 3.4b, $\rho = 10^6$ cm^{-2}) beziehungsweise hochdichte Nanodrahtoberflächen (Abbildung 3.4c-d, $\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}) dargestellt. Alle Aufnahmen werden mithilfe des Sekundärelektronendetektors SE2 bei 4 kV sowie unter einem Einfallswinkel von 45° aufgenommen.

Anhand von Abbildung 3.4a wird die homogene, zylindrische Gestalt und die geringe Oberflächenrauheit synthetisierter Strukturen sichtbar. Ferner ist hervorzuheben, dass die gewünschte vertikale Ausrichtung und parallele Anordnung nach Abbildung 3.4b-d für hochdichte und niedrigdichte Nanodrahtoberflächen substantiell gegeben ist. Lediglich zwischen den frei stehenden Nanodrahtspitzen zeigt sich im Fall hochdichter Nanodrahtoberflächen eine attraktive Wechselwirkung in Form einer Krümmung der Nanodrähte an ihrem freien Ende. Dieses Verhalten wird vermutlich durch die bei der H_2O-Trocknung der Probe in Umgebungsluft wirkenden Kapillarkräfte verursacht und lässt sich unter Umständen durch eine Ethanol-Trocknung in Umgebungsluft verringern. Eine Reduktion der Zusammenlegung von Nanodrahtspitzen kann sich möglicherweise positiv auf eine Schärfung des plasmonischen Signals auswirken. Die Entfernung des Templats

erfolgt selbst im Falle hochdichter Strukturen – soweit dies mithilfe der Auflösung eines SEM untersucht werden kann - nahezu ohne Rückstände.

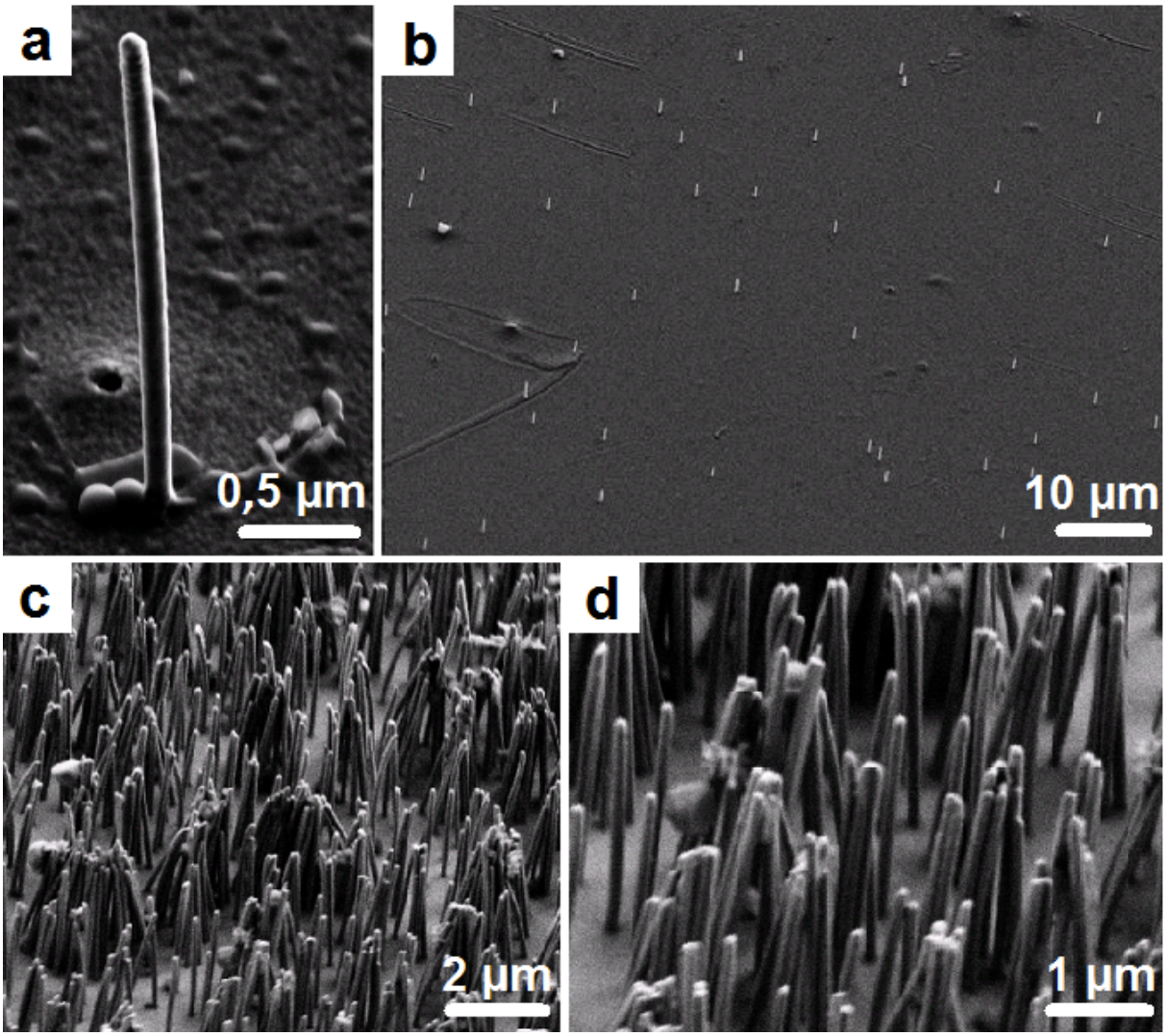

Abbildung 3.4: Nanodrahtoberflächen im SEM. *SEM-Aufnahmen von galvanisch abgeschiedenen Au-NW-Oberflächen unter Verwendung der beschriebenen Polycarbonat-Porentemplate. a) Einzelner Au-NW; b) niedrigdichte Au-NW-Oberfläche ($\rho = 10^6$ cm^{-2}); c-d) hochdichte Au-NW-Oberfläche ($\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}) [88].*

3.4 Zusammenfassung und Ausblick

Unter Verwendung von nanoporösen Polycarbonattemplaten unterschiedlicher Porendichte werden Au-NW-Oberflächen bei einer Gleichspannung von U = -1,5 V galvanisch abgeschieden. Nach anfänglichen Abweichungen fließt dabei ein konstanter Elektrolysestrom, mit dessen Hilfe eine als konstant angenommene, mittlere Syntheserate zu $\langle r \rangle \approx 4{,}5$ nm/s bestimmt werden kann.

Die fabrizierten Nanodrahtoberflächen können in einem SEM dargestellt werden. Dabei offenbaren die Au-NW eine homogene, zylindrische Gestalt und eine geringe Oberflächenrauheit. Sie besitzen ferner eine vertikale Ausrichtung sowie eine parallele Anordnung und weisen fast keine Rückstände des Templats auf.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die synthetisierten Strukturen den in Kapitel 3.1 dargestellten Anforderungen auf der Basis ihrer Makrostruktur ausgezeichnet entsprechen. Eine Analyse und Diskussion der Nanodrähte auf der Basis ihrer atomaren Struktur erfolgt in Kapitel 4.

4.) Materialanalyse der Nanodrähte

4.1 Einführung

Im angestrebten Sensorkonzept werden elektrische, elektrochemische und optische Eigenschaften der synthetisierten, metallischen Nanostrukturen ausgenutzt. Diese werden durch die atomare Struktur und die chemische Zusammensetzung der synthetisierten, metallischen Probe bedingt. So wurde beispielsweise gezeigt, dass der elektrische Widerstand einer metallischen Struktur von Korngrenzen und deren Oberflächen-morphologie abhängt [89-91]. Ferner konnte die Kristallinität von Nanopartikeln über ein elektrisches Feld kontrolliert werden [92].

Elektrochemisch induzierte Modifikationen in der atomaren Anordnung einer metallischen Kristalloberfläche konnten bereits sehr gut mithilfe der Rastertunnelmikroskopie [93, 94] oder Impedanzmessungen [95] untersucht werden. Des Weiteren wurde gezeigt, dass sich elektrochemische Methoden eignen, um die Kristallinität und Oberflächenmorphologie einer Metalloberfläche zu verändern [96-98]. Au-NW erfuhren so nach Einwirken von Elektronentransferreaktionen Modifikationen in ihrer oberflächennahen Kristallmorphologie und damit einhergehende Formveränderungen [98].

Auch für die optischen Eigenschaften konnte eine Abhängigkeit von der atomaren Struktur und Zusammensetzung eines Kristalls gezeigt werden. Anhand von Gold- und Silberproben ergaben sich optische Charakteristika, welche von der Kristallorientierung, Kristalldefekten wie beispielsweise Korngrenzen und dem Verschmutzungsgrad durch Fremdatome abhingen [99-101].

Einige unerwünschte Abweichungen von einem idealen Einkristall konnten unter Zuführen von Energie - zumeist in thermischer Form - zu einem gewissen Ausmaß eliminiert werden. So erhöhte sich die mittlere Korngröße nanokristalliner Proben durch ein vorheriges Tempern [102-105]. In bestimmten Fällen trat sogar ein sogenannter „spontaner“ Temperprozess bei Raumtemperatur auf [90, 91, 106].

Der Effekt von Korngrenzen auf die plasmonischen Eigenschaften von Au-NW wurde von Chen et al. [107] beschrieben. Hierbei wurde mittels TEM und Röntgenbeugung die optische Antwort und die mittlere Korngröße von polykristallinen, antennenartig ausgerichteten Au-NW vor und nach einer Temperbehandlung (200 °C und 400 °C) bestimmt. Dabei ging ein thermisch induziertes Wachstum der mittleren Korngröße mit zwei substantiellen Veränderungen der plasmonischen Eigenschaften einher. Einerseits

erhöhte sich durch ein Tempern die Intensität der plasmonischen Absorption, andererseits erfuhr die Resonanzwellenlänge eine Blauverschiebung. Beide Effekte, ein Drift der plasmonischen Resonanzwellenlänge sowie die schwächere plasmonische Intensität, legen nahe, dass eine weniger durch Korngrenzen geprägte, idealerweise einkristalline und defektfreie Nanodrahtstruktur für sensorische Anwendungen erstrebenswert ist.

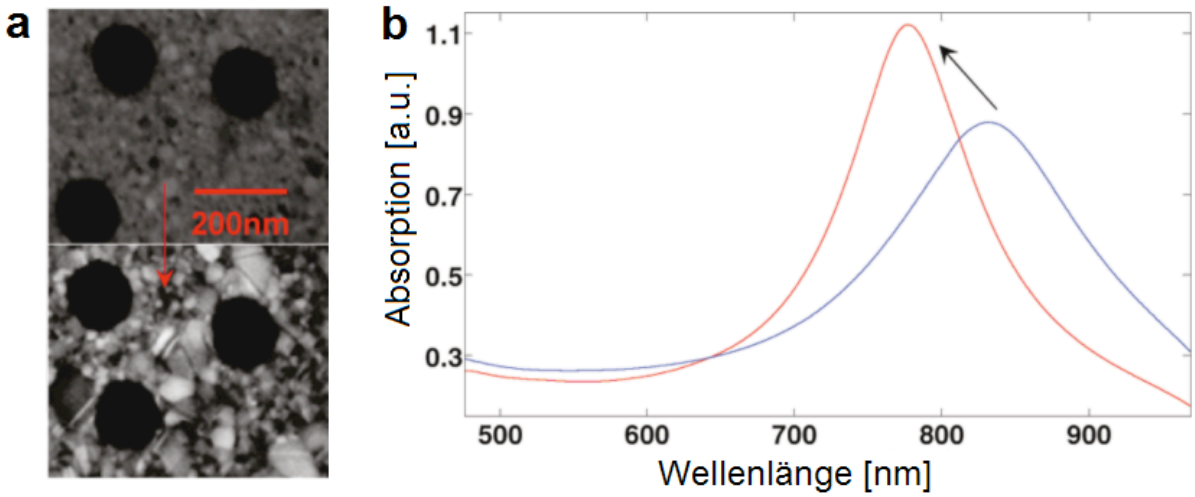

Abbildung 4.1: Einfluss Elektrodenpotential auf Plasmonenresonanz. *a) Gold-Nanolochfilme vor (oben) und nach (unten) Einwirkung eines elektrochemischen Potentials. b) Absorptionsspektrum der plasmonischen Nanolochfilme vor (blau) und nach (rot) Einwirkung eines elektrochemischen Potentials [nach 34].*

Dahlin et al. [34] (Abbildung 4.1) analysierten die plasmonischen Eigenschaften von Gold-Nanostrukturen unter Einwirkung eines elektrochemischen Potentials. Dieses Konzept entspricht im Wesensgehalt des im Rahmen dieser Arbeit zu realisierenden Konzepts. Gemäß der bekannten Literatur verwendeten Dahlin et al. ein kolloidales Lithographieverfahren zur Herstellung von Au-Nanoscheibchen [108] und Au-Nanolochfilmen [109-111]. Die fabrizierten Au-Nanolochfilme sind in Abbildung 4.1a vor (oberes Bild) und nach (unteres Bild) Einwirken eines elektrochemischen Potentials dargestellt. Es zeigt sich hieraus ein Wachstum der mittleren Kristallgröße durch ein Einwirken eines elektrischen Feldes. Wie aus Abbildung 4.1b ersichtlich, ergab sich nach Einwirkung eines elektrochemischen Potentials analog zu dem in [107] beschriebenen Temperprozess eine Blauverschiebung sowie eine plasmonische Absorption höherer Intensität. Aus der Korrelation dieser Messung mit Abbildung 4.1a konnte festgestellt werden, dass dieses Verhalten einem elektrochemisch induzierten Kristallisationsprozess der nanokristallinen Strukturen entspricht. Während diesem sogenannten „kalten

Tempern“ wächst demnach die Korngröße der Nanostrukturen, Schärfe und Position des Signals verändern sich.

Für die Realisierung eines plasmonischen, nanodrahtbasierten Proteinsensors mit simultaner, elektrochemischer Steuerung wird eine Verschiebung der plasmonischen Resonanz direkt mit der elektrochemisch gesteuerten Proteinadsorption korreliert. Um Proteinadsorption eindeutig auszulesen, ist eine zeitlich konstante optische Antwort der Nanodrähte in reiner Elektrolytlösung bei angelegtem Elektrodenpotential zwingend erforderlich.

Zwar ist zu erwarten, dass ein vorheriges Tempern polykristalliner Nanostrukturen den von Dahlin et al. als „kaltes Tempern“ beschriebenen Prozess zu einem gewissen Maße reduzieren kann, jedoch ist davon auszugehen, dass einkristalline, hochreine und defektarme Nanostrukturen der konstanten Resonanzwellenlänge bei angelegtem WE-Potential am besten gerecht werden. Wie bereits erwähnt konnten mittels elektrolytischer Abscheidung in Polycarbonatmembranen einkristalline Au-Nanodrahtstrukturen prinzipiell hergestellt werden [80-82]. Nachfolgend werden nun die in Kapitel 3 vorgestellten Au-Nanodrahtoberflächen mittels materialanalytischer Methoden auf Kristallinität, Reinheit und Defekte analysiert und somit deren prinzipielle Eignung für den zu entwickelnden Proteinsensor überprüft.

4.2 Materialien und Methoden

Die Charakterisierung der Nanodrähte erfolgt in einem TEM. Für die TEM-Bildgebung wird eine hinreichend dünne Probe benötigt ($d_{max} \approx 100$ nm), weswegen es einer Präparation der Proben bedarf. Im Folgenden werden die beiden im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Techniken zur Präparation der Nanodrähte auf TEM-Maschennetzchen vorgestellt. Dabei entspricht Herstellung und Reinigung der Nanodrahtoberflächen dem in Kapitel 3 vorgestellten Verfahren. Die Präparation erfolgt unter Verwendung niedrigdichter Nanodrahtoberflächen ($\rho = 10^6$ cm^{-2}), wobei deren mittlere Länge bei in etwa $l \approx 1{,}9$ µm liegt.

4.2.1 Mechanische Probenpräparation

Eine besonders einfache Präparationstechnik stellt die mechanische Extraktion dar. Hierbei wird ein mit Kohlenstoff bedampftes TEM-Kupfernetzchen (Abbildung 4.2a) parallel zur Substratoberfläche über das Substrat der vertikal ausgerichteten, frei stehenden Nanodrähte gezogen. Dabei erfolgt das Bewegen des Netzchens manuell und mithilfe einer feinen Pinzette. Durch die auf die Nanodrahtspitzen wirkende Scherkraft werden Nanodrähte aus der Nanodrahtoberfläche herausgelöst und auf dem Kupfernetzchen abgelegt. Die mittels TEM-Hellfeldbildgebung dunkel dargestellte Spitze eines solchen Au-NW ist in Abbildung 4.2b dargestellt.

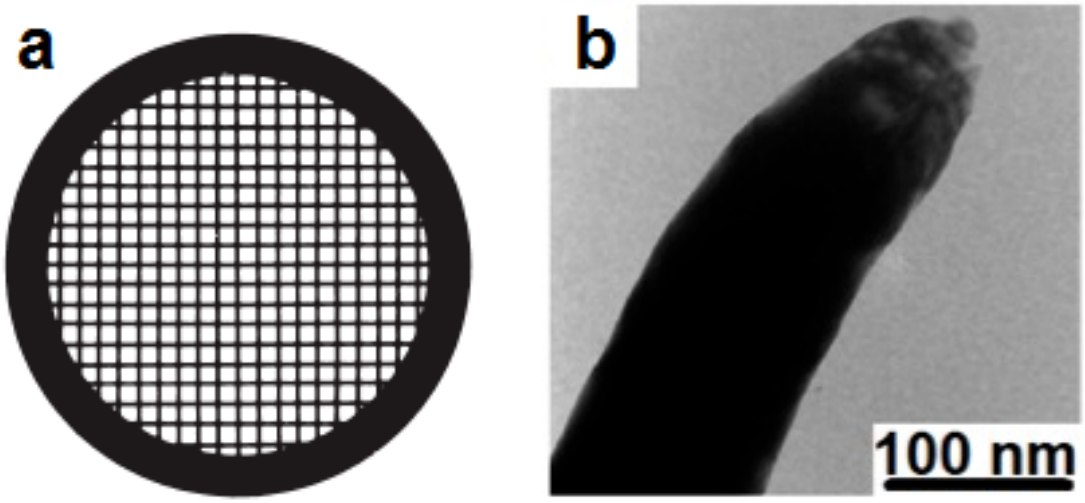

Abbildung 4.2: Mechanische TEM-Präparation. *a) Kupfer-Maschennetzchen (Maschengröße 100 × 100 µm²) als Probenträger für die TEM-Bildgebung. Durch mechanisches Ziehen des Netzchens über die Nanodrahtoberfläche werden Nanodrähte aus der Probenoberfläche extrahiert und in den Maschen des Netzchens abgelegt [112]. b) TEM-Hellfeldaufnahme eines Au-NW, welcher mithilfe mechanischer Extraktion auf dem Kupfernetzchen abgelegt worden ist [88].*

4.2.2 Präparation mittels FIB

Für die Probenpräparation wird ferner auf das in Kapitel 2.2.1 vorgestellte fokussierte Ionenstrahlverfahren zurückgegriffen. Hierbei wird der durch den fokussierten Ionenbeschuss induzierte Materialabtrag gezielt verwendet, um die synthetisierten Nanodrähte vollständig (Abbildung 4.3a) oder partiell (Abbildung 4.3b) aus der Probenoberfläche herauszulösen.

Die Extraktion eines Nanodrahtes beginnt mit der CVD-Beschichtung einer polykristallinen Schutzmaske aus Platin auf den ausgewählten Nanodraht. Diese schützt den gewünschten Nanodraht vor dem erodierenden Ionenstrahl und dient ferner als Markierung. Es zeigt sich, dass sich für die Präparation von Nanodrähten sowie deren Segmente insbesondere Drähte eignen, welche auf der Probenoberfläche liegen.

Unter Verwendung einer Betriebsspannung von U = 30 kV wird der beschleunigte Strahl an Galliumionen in die unmittelbare Umgebung der ausgewählten Nanodrahtstruktur fokussiert, sodass sich um die mittels der Platinmaske geschützte Probe eine doppelseitige, treppenförmig gefräste Tiefenstruktur ergibt. Die Formung einer solchen Struktur erfolgt unter Anwendung hoher Ionenströme von in etwa I = 3000 pA. Unter Verwendung niedrigerer Ströme ($I \approx 100$ pA) wird dieser Probenbereich anschließend soweit ausgedünnt, sodass lediglich geringfügige Reste der Platinmaske auf der Nanodrahtstruktur verbleiben, der Draht selbst durch den Ionenbeschuss aber nicht beeinträchtigt wird. Eine solche Struktur kann anschließend unter einem Neigungswinkel von 45° aus der Probenoberfläche herausgelöst und mittels einer an einem Mikromanipulator befestigten Glasfaser auf ein TEM-Netzchen transferiert werden. Ein mittels FIB auf einen TEM-Probenträger transferierter Nanodraht ist in Abbildung 4.3a dargestellt.

Unter Verwendung derselben Präparationstechnik kann auch ein Querschnittssegment eines solchen Nanodrahtes herausgeschnitten werden (Abbildung 4.3b). Hierbei erfolgt die Extraktion der gewünschten Probe durch ein abschließendes Herausputtern an zwei unterschiedlichen, parallel zueinander verlaufenden Schnittebenen (FIB-Ebenen), wobei jede dieser Schnittebenen orthogonal zur Zylinderachse des Nanodrahtes ausgerichtet ist. In Abbildung 4.3b ist eine TEM-Hellfeldaufnahme eines solchen Nanodrahtsegments bei einem Verkippungswinkel des Nanodrahtscheibchens gegenüber dem Primärelektronenstrahl von etwa 18° dargestellt. Im mikroskopischen Bild sind sowohl die dem Beobachter zugewandte Schneidefläche (FIB-Ebene 1), als auch Teile der ihm abgewandten Schneidefläche (FIB-Ebene 2) sichtbar.

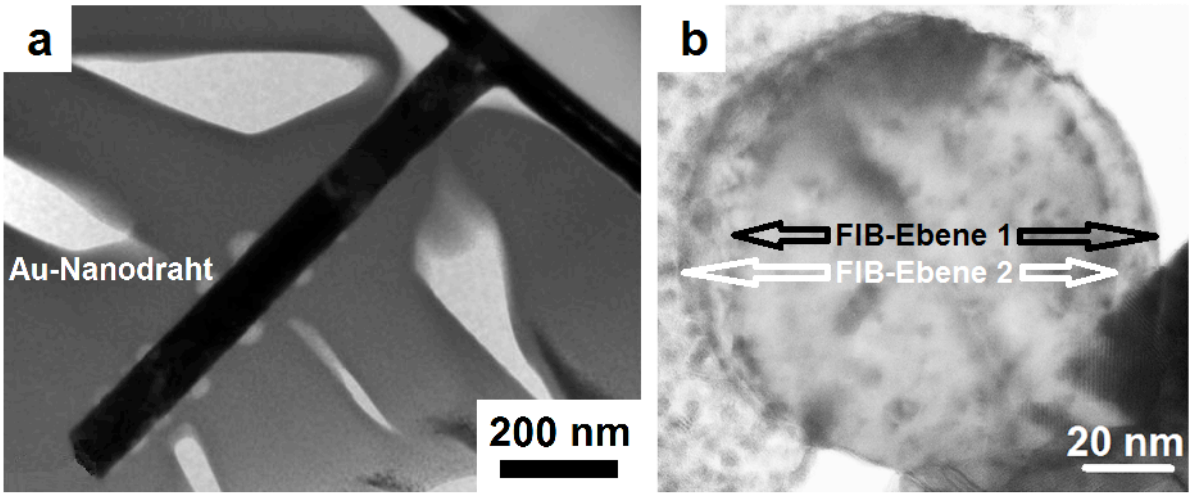

Abbildung 4.3: TEM-Aufnahmen FIB-präparierter Nanodrähte. *TEM-Aufnahmen eines unter Verwendung der fokussierten Ionenstrahltechnik präparierten a) Au-NW in Seitenansicht beziehungsweise b) Au-NW-Scheibchens im Querschnitt [88].*

4.2.3 Diskussion der Probenpräparation

Als ein wesentlicher Vorteil der mechanischen Extraktion ist das einfache Verfahren anzusehen, welches rasch und ohne Verwendung weiterer technischer Geräte durchführbar ist. Darüber hinaus kann es als vorteilhaft angesehen werden, dass hierfür keine zusätzlichen Dünnschichten oder Fremdatome auf die zu untersuchenden Nanodrähte aufgebracht werden müssen. Hingegen besteht der wesentliche Nachteil dieser Technik darin, dass mit der wirkenden Scherkraft während der Nanodrahtablösung eine morphologische Veränderung der Nanodrähte einhergeht [113]. Hierbei handelt es sich im Wesentlichen um eine Verbiegung der Nanodrahtspitzen. Unter Verwendung der TEM-Hellfeldbildgebung kann diese sichtbar gemacht werden (Abbildung 4.2b).

Anhand von Abbildung 4.3a zeigt sich, dass sich unter Verwendung der fokussierten Ionenstrahltechnik Nanodrähte für eine TEM-Untersuchung in Seitenansicht präparieren lassen, welche keinerlei Formveränderungen wie beispielsweise Verbiegungen aufweisen. An der Oberfläche des Nanodrahtes (dunkel) befinden sich jedoch einige wenige Relikte (hell), welche der Platin-Schutzmaske eines FIB-Verfahrens zuzuordnen sind. Ferner ist gemäß Kiener et al. [114] davon auszugehen, dass durch den Galliumionenbeschuss Punktdefekte im Bereich der Au-NW-Oberfläche implementiert werden.

Im Bezug auf eine materialanalytische Untersuchung eines Nanodrahtsegments unter Verwendung des fokussierten Ionenstrahls gemäß Abbildung 4.3b ergeben sich weitere Möglichkeiten. So beträgt die Dicke des Nanodrahtscheibchens circa z = 50-60 nm,

was gegenüber dem Nanodrahtdurchmesser (d = 100 nm) im Hinblick auf eine Hochauflösung der atomaren Struktur als vorteilhaft angesehen werden kann. Darüber hinaus kann es als Vorteil betrachtet werden, dass im Falle des Nanodrahtscheibchens die Richtung des bildgebenden Primärelektronenstrahls der Wachstumsrichtung des synthetisierten Nanodrahts entspricht. Wie nachfolgend diskutiert wird können in diesem Fall Informationen über dessen Wachstumsrichtung – und damit über den grundlegenden Mechanismus der Synthese – besonders einfach erlangt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich eine mechanische Extraktion insbesondere für die Untersuchung der chemischen Zusammensetzung eignet. Obwohl beim Beschuss mit Galliumionen auch Defekte in die Au-NW-Struktur implementiert werden, ist eine Probenpräparation unter Verwendung des fokussierten Ionenstrahls insbesondere für die Untersuchung der Kristallinität als vorteilhaft anzusehen. Für letztere können sich weitere Informationen bei der Untersuchung eines Nanodrahtsegments im Querschnitt ergeben.

4.3 Ergebnisse und Diskussion

4.3.1 Analyse in Seitenansicht

Die im Folgenden diskutierte Materialanalyse wird gemäß der in Kapitel 4.2.1 beschriebenen mechanischen Extraktion sowie der in Abbildung 4.3a dargestellten fokussierten Ionenstrahltechnik vorbereitet.

Wie in Kapitel 4.2.3 erörtert, erfolgt eine Untersuchung der chemischen Zusammensetzung eines Nanodrahtes unter Verwendung der in Kapitel 4.2.1 vorgestellten mechanischen Extraktion. Dabei wird jeweils ein Nanodraht mittels EDX und unter Nutzung einer hochenergetischen Elektronenquelle (U = 200 kV) untersucht.

In Abbildung 4.4 ist das EDX-Spektrum eines Au-NW dargestellt. Es ergeben sich verschiedene charakteristische Spektrallinien. Eine softwareunterstütze Auswertung der Spektrallinien ergibt, dass alle charakteristischen Energien mit einem elektronischen Übergang auf eine K-Schale, L-Schale oder M-Schale eines Gold-, Kupfer- oder Kohlenstoffatoms korrelieren. Zwar tritt auch eine zusätzliche Linie bei in etwa 6,3 keV auf, deren Existenz kann jedoch als Artefakt – als ein der CuKα-Linie zugehöriger, sogenannter „Escape-Peak“ – identifiziert werden [57]. Da die Kupfer- und Kohlenstoffsignale dem mit

Kohlenstoff bedampften TEM-Kupfernetzchen zugeordnet werden können, kann gefolgert werden, dass die Nanodrähte in ihrer chemischen Zusammensetzung als außerordentlich rein anzusehen sind.

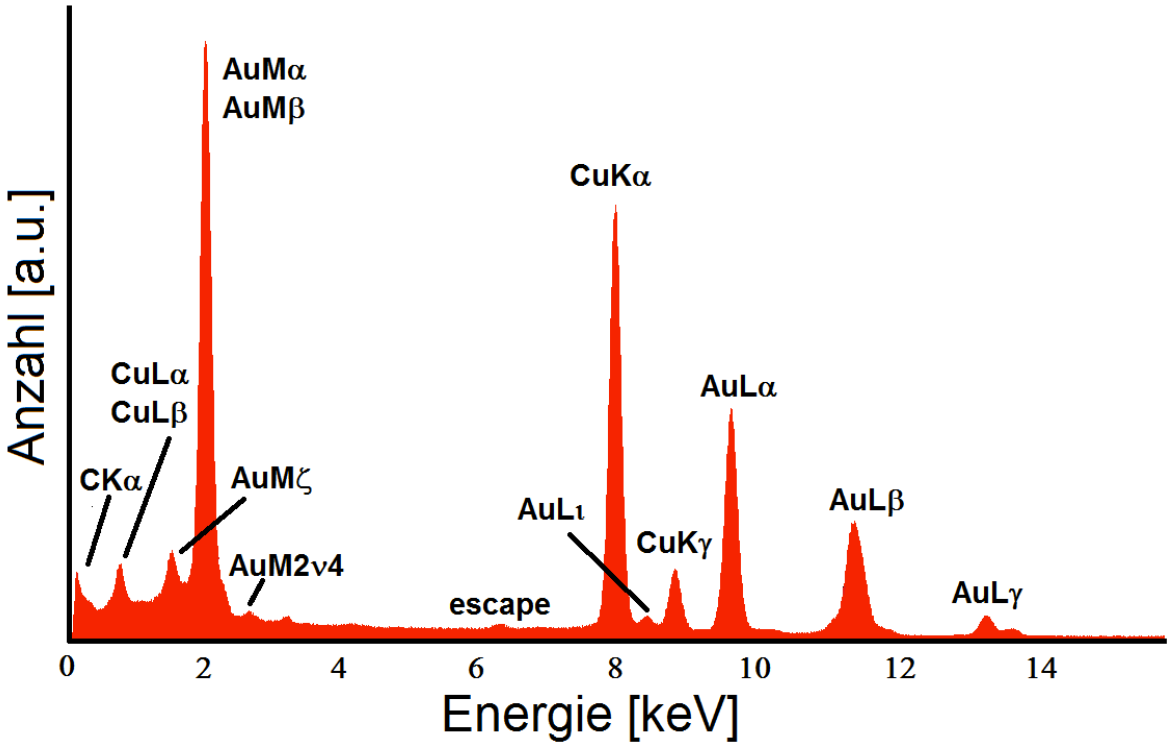

Abbildung 4.4: EDX-Spektrum eines Nanodrahtes. *EDX-Spektrum eines Au-NW, welcher mittels mechanischer Extraktion auf einem mit Kohlenstoff bedampften Kupfernetzchen positioniert worden ist [88].*

Eine Untersuchung der Kristallinität erfolgt für beide Präparationsverfahren. Hierbei werden hochenergetische Elektronen verwendet und das elektronische Beugungsmuster eines TEM-Zwischenbildes analysiert. Die Analyse eines mechanisch extrahierten Drahtes erfolgt unter Verwendung des Elektronenstrahls eines TEM Philips CM 200 bei einer Beschleunigungsspannung von 200 kV. Es wird mithilfe einer CCD-Kamera aufgenommen. Um ein Durchbrennen der CCD-Kamera zu verhindern, wird dabei die Intensität des ungebeugten Strahles durch das Einbringen eines Absorberplättchens im Strahlengang abgeschwächt. Für die Untersuchung des FIB-präparierten Nanodrahtes wird der Elektronenstrahl des TEM JEOL 4000FC bei einer Beschleunigungsspannung von 400 kV genutzt. Das Bild entsteht hierbei durch Belichten eines elektronensensitiven Dünnfilms mithilfe des Primärelektronenstrahls, wobei der Kristall als Belichtungsmaske fungiert und dementsprechend auf dem elektronensensitiven Dünnfilm abgebildet wird.

Die belichtete Struktur wird durch eine nachfolgende nasschemische Entwicklung sichtbar gemacht.

Abbildung 4.5a zeigt das Elektronenbeugungsmuster eines mechanisch extrahierten Nanodrahtes. Dabei entspricht der große, helle Lichtfleck nahe der Bildmitte dem ungebeugten Strahl. In Zentrum des ungebeugten Strahls ist ein schwarzes Absorberplättchen – angebracht mittels eines schwarzen, stabförmigen Objekts – sichtbar. Der ungebeugte Strahl ist von einem regelmäßigen Punktmuster umgeben. Die einzelnen Punkte erscheinen jedoch etwas unscharf aufgelöst. Mittels einer Analyse von Distanz und Richtung benachbarter Punktsignale eines jeden Lichtflecks zeigt sich, dass die dargestellte Kristallrichtung einer [011]-Richtung entspricht.

In Abbildung 4.5b ist das Elektronenbeugungsmuster eines FIB-präparierten Nanodrahtes dargestellt. Das Signal des ungebeugten Strahls ist von einem überlagerten Signal, bestehend aus einem regelmäßigen Punktmuster und einem Ringmuster, umgeben. Einzelne Punktsignale sind dabei scharf aufgelöst. Eine Analyse der Distanz und Richtung benachbarter Punktsignale ergibt, dass es sich bei der dargestellten Kristallrichtung wiederum um eine [011]-Richtung handelt.

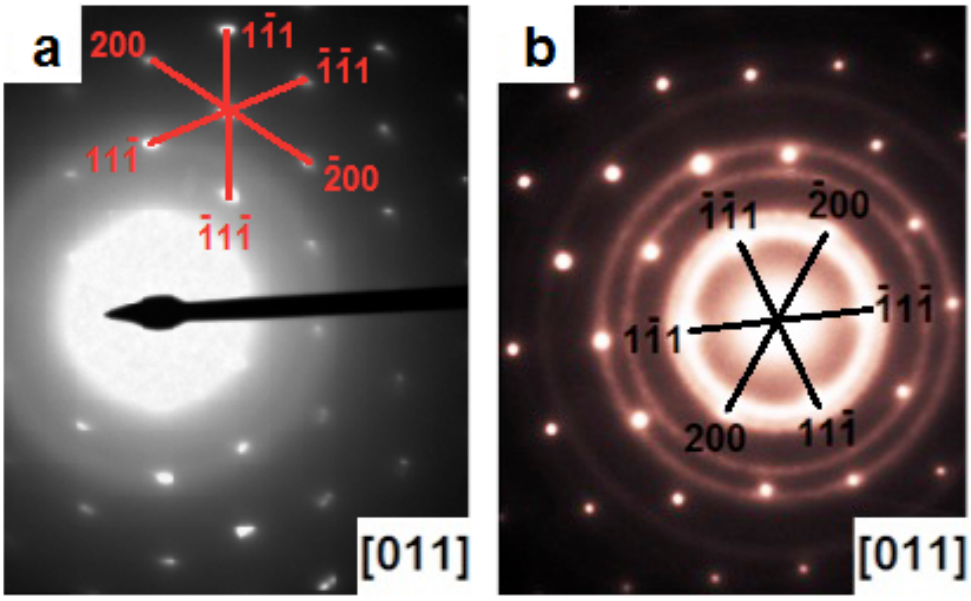

Abbildung 4.5: Elektronenbeugungsmuster eines Au-Nanodrahtes. *a) Präparation mittels mechanischer Extraktion. Das schwarze Absorberplättchen reduziert die vom ungebeugten Primärstrahl auf die CCD-Kamera fallende Strahlintensität. b) Präparation mittels FIB. Die dem Punktmuster überlagerten Ringmuster sind der polykristallinen Platin-Opferschicht des FIB-Prozesses zuzuordnen [88].*

Während Abbildung 4.5a ausschließlich Merkmale einer einkristallinen Struktur aufweist, zeigen sich in Abbildung 4.5b sowohl Merkmale einer einkristallinen, als auch einer polykristallinen Struktur. Im Vergleich mit dem Beugungsbild der mechanisch extrahierten Struktur aus Abbildung 4.5a kann der polykristalline Charakter aus Abbildung 4.5b dem speziellen FIB-Präparationsverfahren zugewiesen werden. Die dabei aufgesputterte, polykristalline Schutzmaske aus Platin hinterlässt auf einem präparierten Nanodraht die in Abbildung 4.3a dargestellten Relikte. Es zeigt sich ferner, dass das Beugungsbild einer FIB-präparierten Probe (Abbildung 3.5b) Punktsignale mit einer erheblich schärferen Kontur gegenüber eines mechanisch extrahierten Nanodrahtes (Abbildung 3.5a) aufweist. Als ein wesentlicher Grund hierfür kann angeführt werden, dass durch die während einer mechanischen Extraktion wirkenden Scherkräfte morphologische Veränderungen an der Nanodrahtstruktur induziert werden (Abbildung 4.2b), welche auf atomarer Ebene mit einer zunehmenden Abweichung von einem idealen Einkristall einhergehen.

Eine Analyse der Kristallhomogenität eines Nanodrahtes, sowie deren Oberflächenmorphologie erfolgt unter Verwendung der hochauflösenden Transmissions-elektronenmikroskopie (HRTEM) (JEOL ARM 1250) bei einer Beschleunigungsspannung von 1000 kV. Anhand der schärferen Punktsignale des zugehörigen Einkristalls im Falle FIB-präparierter Nanodrähte wird die Probenpräparation gemäß Abbildung 4.3a durchgeführt.

In Abbildung 4.6 sind hochaufgelöste Segmente eines Au-NW dargestellt. Dabei handelt es sich um den bereits in Abbildung 4.5b untersuchten Nanodraht. Während Abbildung 4.6a der Hochauflösung einer Nanodrahtoberfläche entspricht, wird in Abbildung 4.6b ein Segment aus dem Volumenbereichs eines Nanodrahtes dargestellt. Dabei entspricht die dunklere Kontur in Abbildung 4.6b gegenüber Abbildung 4.6a einer größeren Probendicke im Nanodrahtzentrum verglichen mit der Probendicke am Rand einer zylindrischen Struktur.

In beiden Fällen kann hierbei die Gitterebene {111} aufgelöst werden. Diese besteht jeweils aus einer sehr homogenen und defektarmen Struktur parallel ausgerichteter Kristallebenen. Darüber hinaus ergibt sich aus Abbildung 4.6a, dass die Nanodrahtoberfläche auch auf atomarer Skala eine außerordentlich glatte Oberflächenmorphologie besitzt. Sowohl die außerordentlich hohe Kristallhomogenität und defektarme Struktur, als auch die glatte Oberflächenmorphologie sind für den zu entwickelnden Biosensor gemäß Kapitel 4.1 als sehr vorteilhaft anzusehen.

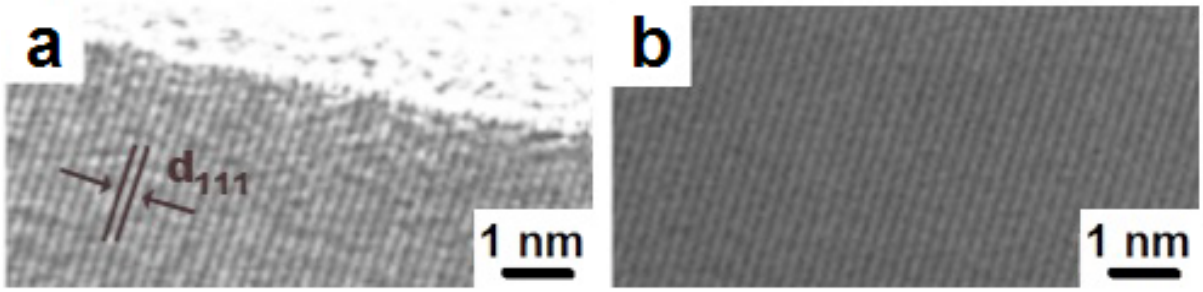

Abbildung 4.6: HRTEM-Aufnahme eines Nanodrahtes. *HRTEM-Aufnahme (U = 1000 kV) einer Au-NW-Struktur, welche mithilfe der fokussierten Ionenstrahltechnik extrahiert worden ist. a) Hochauflösung der d_{111}-Ebene an der Oberfläche eines Au-NW. b) Hochauflösung der d_{111}-Ebene aus dem Zentrum einer Au-NW-Struktur [88].*

4.3.2 Analyse im Querschnitt

Die im Folgenden diskutierte Materialanalyse erfolgt gemäß des in Abbildung 4.3b dargestellten und mithilfe des fokussierten Ionenstrahlverfahrens präparierten Nanodrahtscheibchens.

Die Wachstumsrichtung eines Nanodrahtes ist determiniert durch den Mechanismus der Phasenumwandlung während einer galvanischen Abscheidung in den Poren eines Templats. Im Falle einer Untersuchung in Seitenansicht kann diese nur dann bestimmt werden, wenn die Nanodrahtachse orthogonal zum Primärelektronenstrahl ausgerichtet ist. Eine kleine Verkippung des Nanodrahtes relativ zum Primärelektronenstrahl kann die Ermittlung einer falschen Wachstumsrichtung ergeben.

Für einen direkteren Zugang zu Bestimmung der Wachstumsrichtung wird diese unter Verwendung des in Abbildung 4.3b dargestellten Nanodrahtscheibchens durchgeführt. Dabei wird das Nanodrahtscheibchen entsprechend einer niedrig indizierten Zonenachsenbedingung orientiert, welche lediglich geringfügiges Verkippen der TEM-Probe zulässt. Für diese Untersuchung wird das JEOL ARM 1250 bei einer Beschleunigungsspannung von 1250 kV verwendet.

In Abbildung 4.7a ist das Elektronenbeugungsmuster des in Abbildung 4.3b dargestellten Au-Nanodrahtscheibchens in Wachstumsrichtung des Kristalls zu sehen. Es ergibt sich wiederum ein regelmäßiges Punktmuster mit scharfen Konturen. Jedoch beinhaltet Abbildung 4.7a auch Hintergrundsignale in Form von weiteren punktförmigen Beugungssignalen, welche wiederum von der aufgesputterten, polykristallinen Platin-Schutzmaske stammen. Mittels einer Analyse von Distanz und Richtung benachbarter

Punktsignale zeigt sich, dass die dargestellte Kristallrichtung - welche zugleich der Wachstumsrichtung des Nanodrahtes entspricht - eine [111]-Richtung ist. Diese Richtung ist für einen kubisch flächenzentrierten Gold-Einkristall in Abbildung 4.7b gekennzeichnet. Die Wachstumsrichtung des einkristallinen Nanodrahtes entspricht demnach der Raumdiagonalen eines kubisch flächenzentrierten Gitters. Dieses Ergebnis erfolgt in Übereinstimmung mit Wang et al. [82] und im Gegensatz zu Karim et al. [81], wobei beide die Wachstumsrichtung elektrolytisch abgeschiedene Au-NW in Seitenansicht, unter Verwendung der Röntgendiffraktion (XRD) und ohne FIB-Präparation bestimmt haben. Darüber hinaus zeigt sich anhand von Abbildung 4.7a, dass der Einkristall keine in elektrochemischen Keimwachstumsprozessen häufig vorliegenden Zwillingskristalle beinhaltet [80, 81].

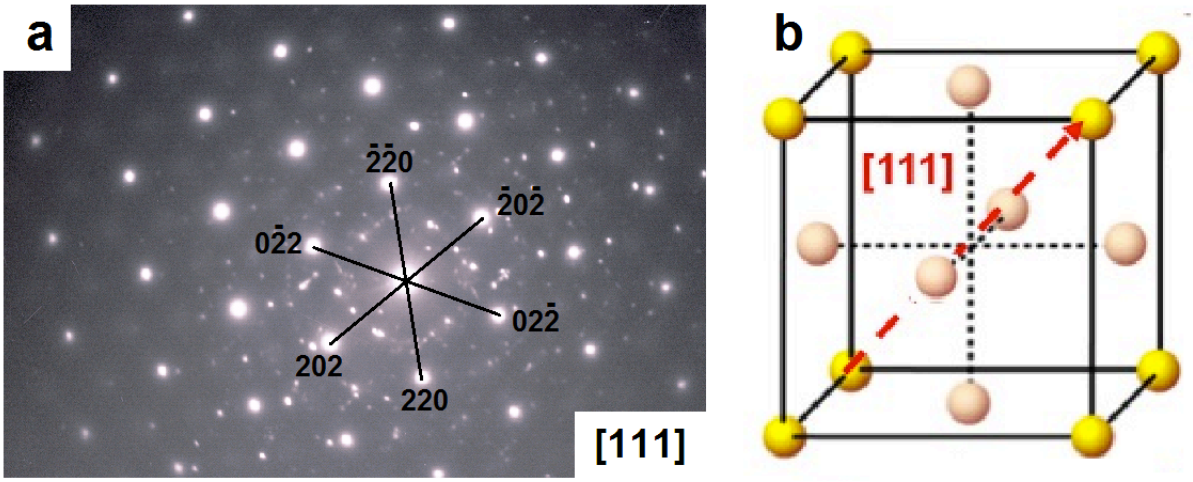

Abbildung 4.7: Wachstumsrichtung des Nanodrahtes. *a) Elektronenbeugungsmuster eines FIB-präparierten Au-Nanodrahtscheibchens in Wachstumsrichtung des Kristalls [88]. Hieraus lässt sich die [111]-Richtung unmittelbar als Wachstumsrichtung des Kristalls ermitteln, was der in b) eingezeichneten Diagonalen im kubisch flächenzentrierten Kristallgitter einer Goldstruktur entspricht [115].*

In Abbildung 4.8 ist eine HRTEM-Aufnahme des in Abbildung 4.3b dargestellten Au-NW-Scheibchens - aufgenommen entlang der [111]-Zonenachse - zu sehen. Es zeigt sich, dass im Falle des dünnen Nanodrahtscheibchens ein atomar aufgelöstes Gittermuster erzielt werden kann. Eine nähere Betrachtung dieser Aufnahme im Ortsraum offenbart eine einkristalline und äußerst defektarme Struktur des Au-NW. Darüber hinaus weist Abbildung 4.8 eine Nanodrahtstruktur ohne Korngrenzen nach.

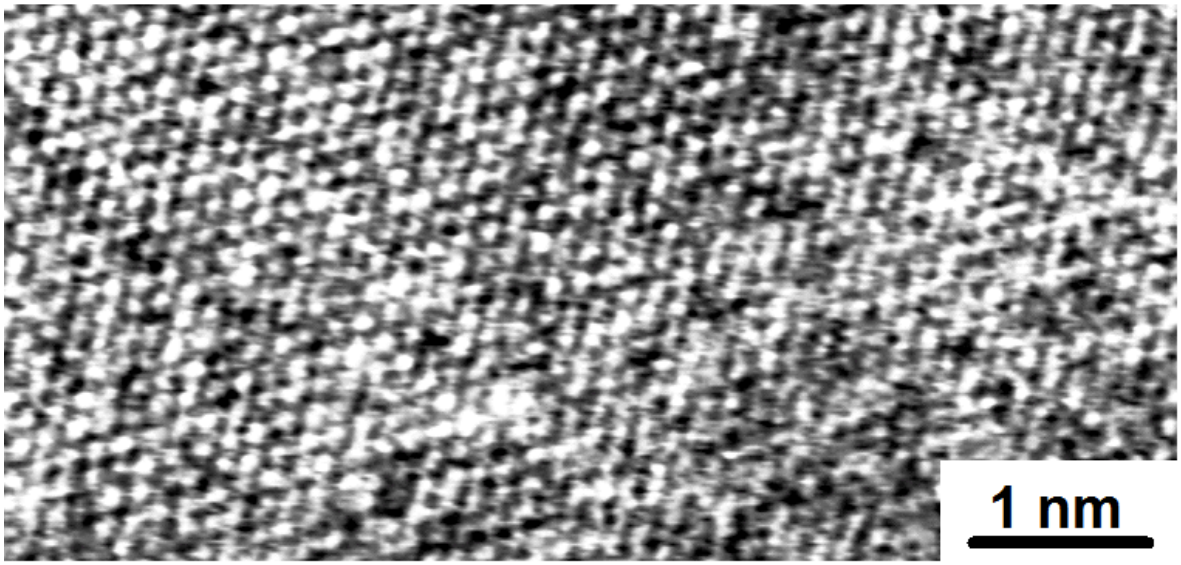

Abbildung 4.8: Atomare Auflösung eines Nanodrahtscheibchens. *Atomare Auflösung eines dünnen, FIB-präparierten Au-NW-Scheibchens unter Verwendung eines HRTEM (U = 1250 kV) [88].*

4.4 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieses Kapitels werden unter Verwendung eines mechanischen Extraktionsverfahrens sowie der fokussierten Ionenstrahltechnik erfolgreich Nanodrähte und Nanodrahtscheibchen für eine nachfolgende Analyse in einem TEM präpariert. Mittels Spektroskopie, Beugung und direkter Bildgebung können die ursprünglichen Au-NW als äußerst rein und einkristallin charakterisiert und ihren Kristallebenen eine hohe Homogenität attestiert werden. Darüber hinaus kann mittels einer Analyse eines Nanodrahtscheibchens im Querschnitt die Wachstumsrichtung einer Nanodrahtstruktur als [111]-Richtung identifiziert werden. Dies trägt zu einem grundsätzlichen Verständnis über die Materialeigenschaften bei, welche die optischen und elektronischen Eigenschaften eines Bauelements aus Nanodrähten beeinträchtigen. Die atomare Auflösung des dünnen Nanodrahtscheibchens offenbart ferner eine äußerst defektarme Nanodrahtstruktur.

5.) Elektrochemische Eigenschaften

5.1 Einführung

In Kapitel 2.2.5 wurde die CV als elektrochemische Charakterisierungsmethode bereits vorgestellt. Im Folgenden wird nun der Hintergrund einer solchen elektrochemischen Analyse dargestellt und die Interpretation cyclovoltammetrischer Messdaten diskutiert.

5.1.1 Elektrodenprozesse im cyclovoltammetrischen Experiment

Lange Zeit wurden Elektronentransferprozesse als rein thermodynamische Prozesse beschrieben, welche der nach Walter Nernst benannten Gleichung

$$\phi = \phi_0 + \frac{R \times T}{n \times F} \times \ln \frac{c_A(0,t)}{c_B(0,t)}$$

gehorchen [116]. Hierbei entspricht ϕ dem Elektrodenpotential, ϕ_0 dem Standardelektrodenpotential, R = 8,31447 J × mol^{-1}K^{-1} der universellen Gaskonstante, T der absoluten Temperatur, n der Äquivalentzahl, F = 96485,34 C × mol^{-1} der Faraday-Konstante und c_A beziehungsweise c_B der Konzentration einer redoxreaktiven Substanz im oxidierten beziehungsweise reduzierten Zustand. Eine solche statische Herangehensweise beschreibt Zusammenhänge zwischen Stromdichte, Elektrodenpotential und Konzentration, welche nach Änderung eines dieser Parameter hinreichend schnell eintreten.

Eine solche Betrachtung greift jedoch insofern zu kurz, als dass sie die endliche Geschwindigkeit eines Elektronentransferprozesses nicht berücksichtigt. Im einfachsten Fall besteht ein solcher Prozess aus einem Massentransport der reaktiven Spezies zur Grenzfläche, einem Elektronenübertrag an der Grenzfläche und einem Abtransport des Produkts in die Lösung, wobei die Kinetik eines solchen Prozesses immer durch den langsamsten Teilvorgang bestimmt wird. Dieser wird auch als reaktionslimitierender Schritt bezeichnet. Der Ladungstransfer an einer Elektrode-Elektrolyt-Phasengrenze wird dabei durch die Butler-Volmer-Gleichung beschrieben [117]:

$$j_A(o,t) = \frac{i}{n \times F \times A} = c_A(0,t) \times k_0 \times \exp(-\alpha \times \frac{n \times F}{R \times T} \times (\phi - \phi_0)) - c_B(0,t) \times k_0 \times \exp((1-\alpha) \times \frac{n \times F}{R \times T} \times (\phi - \phi_0)).$$

Dabei entspricht j_A dem Ladungsfluss der Spezies A an der Phasengrenze, k_0 der Standardgeschwindigkeitskonstante des Ladungsdurchtritts an der Phasengrenze und α wird als Durchtritts- oder Symmetriefaktor bezeichnet, wobei $0 < \alpha < 1$ gilt. Der Durchstrom hängt demnach von den Oberflächenkonzentrationen der Redoxpartner $c_i(0,t)$, der Standardgeschwindigkeitskonstante k_0 des Ladungsdurchtritts an der Phasengrenze, dem Durchtrittsfaktor α, der Elektrodenfläche A und dem Elektrodenpotential ϕ beziehungsweise Standardpotential ϕ_0 ab, wobei die Oberflächenkonzentrationen $c_i(0,t)$ vom angelegten Elektrodenpotential abhängen. Wegen deren Konzentrationsunterschied an der Phasengrenze gegenüber der übrigen Lösung hängen diese auch vom Massentransport ab. Für eine ruhende Flüssigkeit, welche eine hinreichend hohe elektrische Leitfähigkeit besitzt, ist der Massentransport ausschließlich diffusionskontrolliert und kann durch die Fick'schen Gesetze beschrieben werden:

1. Fick'sches Gesetz: $j_A(0,t) = -D_A \times (\frac{\partial c_A}{\partial x})_{x=0} = D_B \times (\frac{\partial c_B}{\partial x})_{x=0}$

2. Fick'sches Gesetz: $\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i \times \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}$, i = A,B.

Dabei entsprechen D_A und D_B den Diffusionskonstanten des Redoxpaares. Es zeigt sich, dass der messbare Strom allgemein von Ladungstransfer und Massentransport abhängt. Bei Betrachtung eines reversiblen beziehungsweise irreversiblen Grenzfalls kann dies jedoch nach Nicholson et al. [118] vereinfacht werden.

5.1.2 Reversible und irreversible Systeme

Basierend auf der in Kapitel 5.1.1 vorgestellten, allgemeinen Reaktionskinetik eines ausschließlich diffusionskontrollierten Massentransports wird nun deren reversibler und irreversibler Grenzfall betrachtet. Dabei werden Kriterien eingeführt, unter deren

Berücksichtigung elektrochemische Systeme auf ihre Reversibilität untersucht werden können. Reversible Metall-Elektrolyt-Systeme sind für Elektrodenanwendungen wünschenswert, da sie sich durch gute elektrische Eigenschaften kennzeichnen. So besitzen diese üblicherweise eine elektrisch gut kontaktierte Metalloberfläche ohne Beschädigungen des Metallfilms, sowie eine Metalloberfläche ohne Kontaminationen einer elektrisch isolierenden Substanz.

Reversible Systeme ($k_0 > 10^{-1}$ cm/s): Erste Experimente reversibler Elektrodenexperimente wurden von Randles [119] und Sevcik [120] durchgeführt. Im reversiblen Fall ist der Ladungstransfer hinreichend hoch, sodass an der Phasengrenze ein thermodynamisches Gleichgewicht existiert und die Nernst-Gleichung Gültigkeit erlangt. Es kann gezeigt werden, dass für ein reversibles Redoxpaar bei 25 °C die Randles-Sevcik Gleichung

$$i_{Peak} = 2,69 \times 10^5 \times n^{3/2} \times A \times c \times \sqrt{D \times \nu}$$

gilt, wobei i_{Peak} das Strommaximum, n die Anzahl der im Prozess übertragenen Elektronen, A die Elektrodenoberfläche, c die Konzentration, D die Diffusionskonstante und $\nu = \Delta\phi/\Delta t$ die Tastrate des Elektrodenpotentials darstellen. Die Proportionalität zwischen i_{Peak} und der Quadratwurzel der Tastrate ist charakteristisch für rein diffusiv ablaufende Redoxprozesse einer gelösten Substanz. Für reversible ablaufende Prozesse gilt:

$$\frac{i_{Peak,Ox}}{i_{Peak,\mathrm{Red}}} \cong 1.$$

Aufgrund der Gültigkeit der Nernst-Gleichung gilt für die Separation der extremalen Elektrodenpotentiale eines reversiblen Prozesses außerdem

$$\Delta\phi_{Peak} = \phi_{Peak,Ox} - \phi_{Peak,\mathrm{Red}} = \frac{59mV}{n},$$

wobei n der Anzahl übertragener Elektronen entspricht.

Irreversible Systeme ($k_0 < 10^{-5}$ cm/s): Die Theorie irreversibler Systeme geht auf Delahay [121] zurück. In diesem Fall ist der Ladungstransfer an der Phasengrenze hinreichend langsam, sodass der Stromfluss im Wesentlichen von der Ladungstransferreaktion kontrolliert wird. Da die Oberflächenkonzentrationen nicht im thermodynamischen Gleichgewicht sind, kann die Nernst-Gleichung hierfür nicht angewandt werden. Im Gegensatz zum reversiblen System besitzen die Stromsignale im irreversiblen System eine geringere Ausprägung sowie typischerweise sehr unterschiedliche Maximalwerte. Außerdem sind die maximalen Stromwerte im Vergleich zum reversiblen System deutlich stärker voneinander separiert. Die Position der Stromsignale ist abhängig von der Tastrate. Für einen vollständig irreversiblen Prozess gilt:

$$\phi_{Peak} = \phi_0 - \frac{R \times T}{\alpha \times n_a \times F} \times (0,78 - \ln \frac{k_0}{\sqrt{D}} + \ln(\frac{\alpha \times n_a \times F \times \nu}{R \times T})^{1/2}).$$

Hierbei entspricht α dem Durchtrittsfaktor, n_a der Anzahl der am Ladungstransfer beteiligten Elektronen, ν der Tastrate, k_0 der Standardgeschwindigkeitskonstante des heterogenen Ladungsdurchtritts, D der Diffusionskonstante und ϕ_0 dem Standardelektrodenpotential. Für das Strommaximum gilt in diesem Fall bei T = 25 °C:

$$i_{Peak} = 2,99 \times 10^5 \times n \times A \times c \times \sqrt{\alpha \times n_a \times D \times \nu}.$$

5.1.3 pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials

Im Kapitel 5.3 werden elektrochemische Charakterisierungsmessungen durchgeführt. Dabei wird die Goldoberfläche in wässriger Umgebung oxidiert und reduziert. Es besteht dabei folgendes Gleichgewicht:

$$AuOH(s) + H^+(g) + e^- \leftrightarrow Au(s) + H_2O(l).$$

Hierfür lässt sich das Massenwirkungsgesetz formulieren. Da für die feste Phase $c_{AuOH}(s) = 1$ und $c_{Au}(s) = 1$, sowie für die H_2O-Konzentration in wässriger Lösung $c_{H2O}(l) \approx 1$ gilt, ergibt sich das Massenwirkungsgesetz zu:

$$K_C = \frac{c(Au) \times c(H_2O)}{c(AuOH) \times c(H^+)} \cong \frac{1}{c(H^+)}.$$

Unter Verwendung des Standardelektrodenpotentials ϕ_0 von Gold kann die Nernst-Gleichung für eine Reduktion unter Standardbedingungen wie folgt formuliert werden:

$$\phi_{\mathrm{Re}d} = \phi_0 + \frac{0{,}059V}{n} \log \frac{1}{c(H^+)} = \phi_0 - 0{,}059V \times pH$$

Änderungen des pH-Wertes sind unabhängig vom Standardelektrodenpotential. Unter Standardbedingungen gilt demnach:

$$\Delta\phi_{\mathrm{Re}d}(\Delta pH) = \phi_{\mathrm{Re}d,pH1} - \phi_{\mathrm{Re}d,pH2} = 59mV \times \Delta pH$$

Es sei an dieser Stelle angemerkt, dass aus Gründen der Konvention lediglich die Formulierung für einen Reduktionsprozess dargestellt wird Für einen Oxidationsprozess ergibt sich jedoch ein identisches Ergebnis.

Änderungen des pH-Wertes der die Goldoberfläche umgebenden Elektrolytlösung bewirken bei Standardbedingungen demnach eine konstante Verschiebung um $\Delta pH = 59$ mV pro pH-Einheit. Dabei sind Oxidations- und Reduktionspotential umso geringer, je höher der pH-Wert des umgebenden Elektrolyten ist.

5.2 Materialien und Methoden

5.2.1 Elektroden und Elektrolyte

Für die Durchführung der elektrochemischen Charakterisierungsmessungen entsprechend Kapitel 2.2.5 wird ein aus drei Elektroden bestehender Messaufbau genutzt. Dieser umfasst eine Referenzelektrode (RE), eine Gegenelektrode (CE) sowie einer Arbeitselektrode (WE). Es wird hierfür eine konventionelle Ag/AgCl-Referenzelektrode, sowie eine selbstgebaute und mit vielen Wicklungen versehene CE aus Platin verwendet. Als WE werden Au-NW-Oberflächen (Kapitel 5.3.1-5.3.2) sowie flache, thermisch bedampfte Goldoberflächen

(Kapitel 5.3.2-5.3.4) unterschiedlicher Substratdicken verwendet. Dabei erfolgt die Herstellung und Reinigung der Au-NW-Oberflächen entsprechend des in Kapitel 3 beschriebenen Verfahrens.

Die elektrochemischen Untersuchungen erfolgen im Kontakt mit wässrigen Elektrolytlösungen. In Kapitel 5.3.1 wird hierfür das gelöste Redoxpaar Ferricyanid / Ferrocyanid ($c_{Ferro/Ferri}$ = 50 mM) in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) (pH = 7,4, c_{NaCl} = 140 mM) genutzt. In Kapitel 5.3.2 erfolgt eine elektrochemische Charakterisierungsmessung unter Verwendung einer wässrigen KOH-Lösung (c_{KOH} = 50 mM), wogegen die Messung in Kapitel 5.3.3 in reiner PBS-Lösung (pH = 7,4, c_{NaCl} = 140 mM) durchgeführt wird. In Kapitel 5.3.4 wird eine wässrige H_2SO_4-Lösung (c_{H2SO4} = 50 mM) genutzt.

5.2.2 Messaufbau

Die Proben werden anschließend gemäß der in Abbildung 5.1 dargestellten Weise eingebaut. Wie aus Abbildung 5.1a hervorgeht, besteht die hierfür verwendete elektrochemische Zelle im Wesentlichem aus einer Bodenfläche zur Auflage der Probe (linke Seite), sowie der eigentlichen Elektrolytkammer (rechte Seite). In die Bodenfläche aus Teflon wird zur flachen Auflage der rötlich farbigen Au-NW-Probe eine 25 × 25 mm Einkerbung mittig eingebracht. Ferner wird in die Bodenfläche eine kanalartige Einkerbung für die Kontaktierung durch einen Golddraht eingefräst. Durch das Aufbringen eines Goldrahmens wird dieser Kontakt stabilisiert. Für eine feste Verschraubung ist die teflonartige Auflagefläche auf einem Sockel aus Edelstahl aufgebracht. Die Plastikschrauben werden durch Öffnungen in der Bodenfläche hindurchgeführt.

Die eigentliche Elektrolytkammer (rechte Seite) besteht im Wesentlichen aus einem Glaskörper, sowie aus einem Aufsatz und Untersatz aus Teflon. Glas- und Teflonkörper werden mittels Einkerbungen ineinander geschraubt. Hierbei ermöglicht die Auflage eines dünnen Edelstahlrings auf den Untersatz eine bessere Verschraubung mit den Plastikschrauben der Bodenfläche. Eine kreisförmige Öffnung im Zentrum des Untersatzes ermöglicht den Zugang zur Probenoberfläche. Mithilfe eines darin integrierten Saugrings kann die Elektrolytkammer fest auf die Probe gepresst und ein anschließendes Lecken der Zelle verhindert werden. Ferner besitzt der Aufsatz der Elektrolytkammer Öffnungen, durch welche eine Ag/AgCl-RE (transparente Farbe), sowie eine mit vielen Wicklungen

versehene CE aus Platin (metallische Farbe) eingebracht werden kann. Durch die hohe Anzahl an Windungen wird dabei eine möglichst große Phasengrenze realisiert. Beide Elektroden können außerhalb der Elektrolytkammer elektrisch kontaktiert werden.

In Abbildung 5.1b ist ferner die mit einem Potentiostaten verbundene elektrochemische Zelle dargestellt. Dabei werden die beiden Zellsegmente aus Abbildung 5.1a schraubfest verschlossen. Anschließend werden WE (rot), CE (schwarz) und RE (blauschwarz) unter Verwendung von Krokodilklemmen elektrisch kontaktiert. Über den dargestellten Potentiostaten werden die angelegten elektrochemischen Potentiale gesteuert, reguliert und der zugehörige Stromfluss ausgelesen. Steuerung und Auslesen erfolgt über eine Computersoftware des Herstellers.

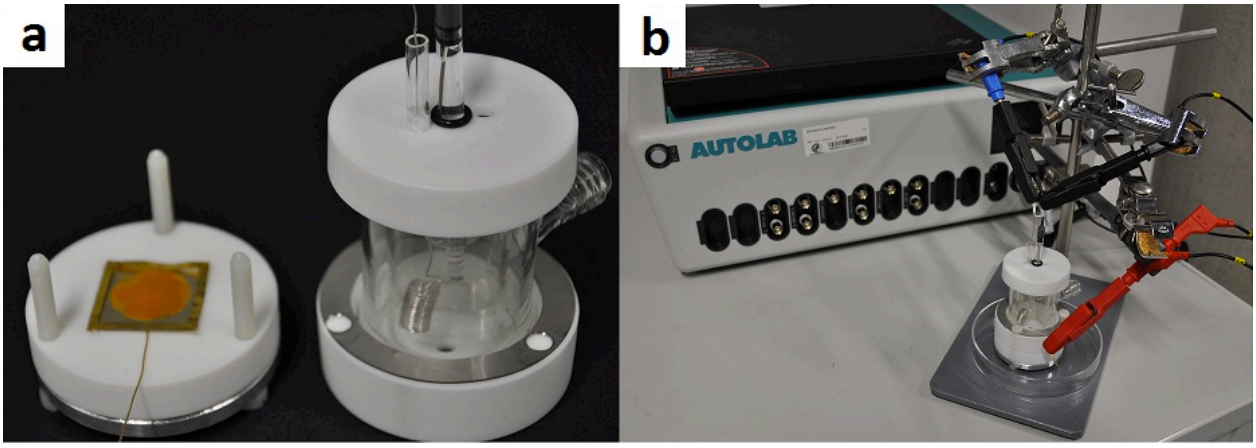

Abbildung 5.1: Messaufbau zur elektrochemischen Charakterisierung. *a) Linke Seite: Die Nanodrahtoberfläche (rötlich) wird auf der Bodenfläche über einen Golddraht und einen Goldrahmen elektrisch kontaktiert. Rechte Seite: Die auf die Nanodrahtoberfläche aufsetzbare Elektrolytkammer aus Glas und Teflon besitzt im Boden für den Probenkontakt eine kreisförmige Pore mit integriertem Saugring. Über Öffnungen im Aufsatz der Kammer wird je eine Pt-CE (metallisch) und eine Ag/AgCl-RE (transparent) angebracht. b) Nach Verschluss der Zelle werden WE, RE und CE an einen Potentiostaten angeschlossen.*

5.3 Ergebnisse und Diskussion

5.3.1 Reversibilität

Nachfolgend wird der Elektronenübertrag an der Phasengrenze zwischen einer hochdichten Nanodrahtoberfläche und einer physiologischen Elektrolytlösung auf Reversibilität entsprechend den in 5.1.2 vorgestellten Kriterien untersucht. Hierfür wird das Redoxpaar Ferricyanid / Ferrocyanid in PBS verwendet, dessen physikalisch-

chemische Eigenschaften bereits hinreichend untersucht wurden [122, 123] und dessen Elektronentransfermechanismus bereits für die elektrochemische Charakterisierung von Goldoberflächen [124] und eindimensionalen Nanostrukturen [125-129] Anwendung fand. Dieses Redoxpaar besitzt die prinzipielle Eignung für einen nahezu reversiblen Elektronentransferprozess und weist keine Komplikationen im Ablauf - wie beispielsweise weitere chemische Reaktionen - auf. Deren Redoxreaktion läuft wie folgt ab:

$$(Fe(CN)_6)^{3-} + e^- \leftrightarrow (Fe(CN)_6)^{4-}.$$

Ferricyanid **Ferrocyanid**

Eine CV-Messung wird für unterschiedliche Abtastraten zwischen ν_{min} = 5 mV/s und ν_{max} = 1000 mV/s innerhalb eines Fensters von -100 mV < ϕ_{WE} < +600 mV vs. Ag/AgCl durchgeführt. Dabei wird als Startbedingung ϕ_{WE} = -100 mV und $d\phi_{WE}/dt > 0$ gewählt. Eine Umkehrung der Abtastung ($d\phi_{WE}/dt < 0$) erfolgt bei ϕ_{WE} = +600 mV.

In Abbildung 5.2a werden die ersten drei CV-Zyklen eines Redoxprozesses an einer hochdichten Au-NW-Oberfläche bei einer Abtastrate von ν = 40 mV/s dargestellt. Es fallen dabei zwei prägende Charakteristika auf. So besteht die positive Abtastung ($d\phi_{WE}/dt > 0$) aus einem konstanten Anstieg des Stromwerts, sowie einem damit überlagerten, positiv definierten Stromsignal mit einem Maximum bei etwa $\phi_{WE,Ox} \approx$ 270 mV. Hingegen umfasst die negative Abtastung ($d\phi_{WE}/dt < 0$) einen konstanten Stromabfall und ein damit überlagertes, negativ definiertes Stromsignal mit einem Maximum bei etwa $\phi_{WE,Red} \approx$ 200 mV.

Eine quantitative Auswertung der beiden Stromsignale erfolgt unter Verwendung des zweiten CV-Zyklus. Hierfür wird der konstante Stromanstieg beziehungsweise Stromabfall linear extrapoliert und unter Verwendung der Extrapolationsgeraden die Höhe der Stromsignale i_{Ox} beziehungsweise i_{Red} bestimmt. Dabei ergeben sich Werte von i_{OX} = 35,39 µA und i_{Red} = 37,71 µA, sowie eine Separation der Stromsignale im Abstand von $\Delta\phi_{Redox} = \phi_{Ox} - \phi_{Red}$ = 70,9 mV. Der Quotient der Stromsignale kann hieraus zu

$$\frac{i_{Ox}}{i_{Red}} = \frac{35,39\mu A}{37,71\mu A} = 0,9385 \cong 1$$

bestimmt werden.

Die Höhe der Stromsignale i_{Ox} und i_{Red} - sowie deren Halbwertsbreite - hängen von der verwendeten Abtastrate ab. So nehmen im Falle eines ausschließlich diffusiv kontrollierten Massentransports die Werte von i_{Ox} und i_{Red} für ansteigende Tastraten ν gemäß Kapitel 5.1.2 zu, und zwar idealerweise proportional zur Quadratwurzel der Tastrate. In Abbildung 5.2b sind die Stromsignale i_{Ox} und i_{Red} verschiedener, gemäß Abbildung 5.2a durchgeführter Messungen als Funktion der Quadratwurzel der Tastrate ($\nu^{1/2}$) aufgetragen. Für höhere Tastraten ergeben sich dabei im gesamten Messbereich höhere Maximalwerte für i_{Ox} und i_{Red}.

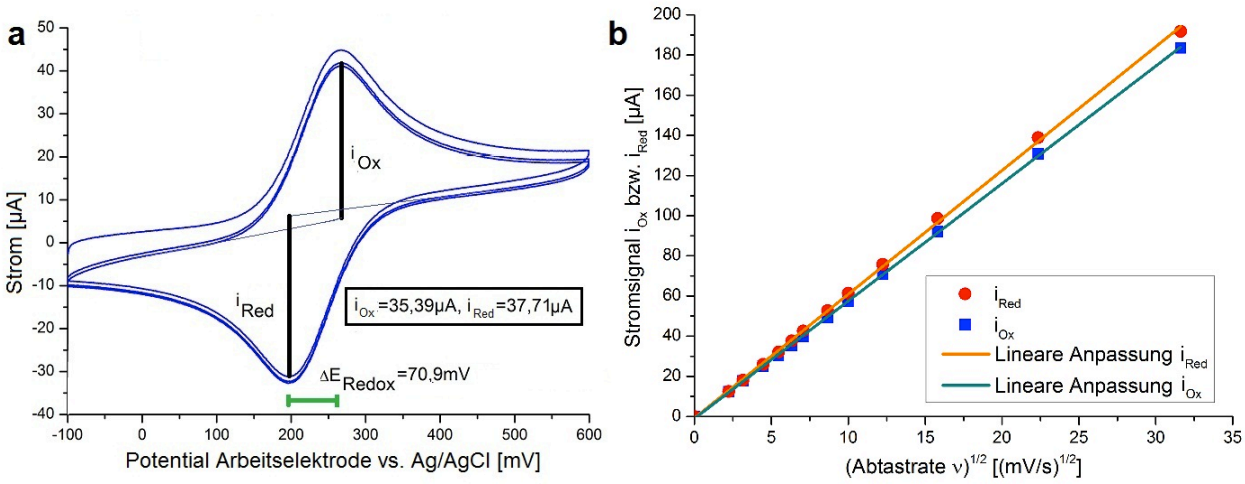

Abbildung 5.2: Reversibilitätsmessung der Nanoelektrodenoberfläche. *Untersuchung der Redoxreaktivität von Ferrocyanid / Ferricyanid (50mM) an einer Au-NW-Oberfläche. a) Cyclovoltagramm der Redoxreaktivität von Ferrocyanid / Ferricyanid bei einer Tastrate von ν = 40 mV/s. Es dient der analytischen Bestimmung von i_{Ox}, i_{Red} und ΔE_{Redox}. b) Auftragung der Strompeaks i_{Ox} und i_{Red} verschiedener Messungen als Funktion der Quadratwurzel der Tastrate.*

Eine quantitative Auswertung der beiden Messreihen erfolgt unter Verwendung von linearen Interpolationen. Dabei ergeben sich für die analytisch ermittelten Steigungen der linearen Anpassung von i_{Ox} und i_{Red} aus Abbildung 5.2b folgende Werte:

$$m_{Ox} = \frac{\Delta i_{Ox}}{\Delta\sqrt{\nu}} = 5{,}86132\frac{\mu A}{\sqrt{mV/s}} \pm 0{,}01806\frac{\mu A}{\sqrt{mV/s}}$$
$$m_{Red} = \frac{\Delta i_{Red}}{\Delta\sqrt{\nu}} = 6{,}17123\frac{\mu A}{\sqrt{mV/s}} \pm 0{,}04408\frac{\mu A}{\sqrt{mV/s}}.$$

Der in Abbildung 5.2a dargestellte CV-Zyklus entspricht dem zu erwartenden Verlauf. Während des vorwärts gerichteten Abtastens wird im Bereich eines linearen

Stromanstiegs zunächst $[Fe(CN)_6]^{4-}$ kapazitiv an der Nanoelektrodenoberfläche angereichert. Sobald das angelegte WE-Potential hinreichend positiv ist ($\phi_{WE} > +150$ mV), beginnt die Nanodrahtoberfläche als Oxidationsmittel zu agieren, welches Ferrocyanid gemäß $[Fe(CN)_6]^{4-} \rightarrow [Fe(CN)_6]^{3-} + e^-$ oxidiert und dabei selbst reduziert wird. Im CV-Diagramm ergibt sich somit ein positives Stromsignal. In Folge der Reaktion verschwindet die $[Fe(CN)_6]^{4-}$ Konzentration an der Nanoelektrodenoberfläche, weswegen das Stromsignal auf den konstanten Stromanstieg abfällt. Nach dem Wechsel der Abtastrichtung ins Negative ($d\phi_{WE}/dt < 0$) erfolgt eine Abschwächung der kapazitiven Akkumulation der $[Fe(CN)_6]^3$ Moleküle an der Nanoelektrodenoberfläche, welche mit einem linearen Abfall des gemessenen Stroms einhergeht. Ab einem WE-Potential von in etwa $\phi_{WE} \approx +350$ mV stellt die Nanoelektrodenoberfläche ein hinreichend starkes Reduktionsmittel dar, welches fähig ist $[Fe(CN)_6]^3$ gemäß $[Fe(CN)_6]^{3-} + e^- \rightarrow [Fe(CN)_6]^{4-}$ zu reduzieren. Im CV-Diagramm ergibt sich somit ein negatives Stromsignal. Der nachfolgende Stromabfall resultiert aus einem Mangel an $[Fe(CN)_6]^{3-}$ Molekülen an der Elektrodenoberfläche.

Der in Abbildung 5.2a ermittelte Abstand von $\Delta\phi_{Peak,Messung} = 70{,}9$ mV zwischen Oxidationssignal und Reduktionssignal liegt in der Nähe des theoretischen Werts für einen ideal reversiblen Einelektronenübergang ($\Delta\phi_{Peak,Theorie} = 59$ mV/n.) Er ist damit vergleichbar mit anderen, bekannten Ferrocyanid-Ferricyanid-Redoxsystemen [130-133]. Redoxsysteme, welche eine vergleichbare Separation der Stromsignale $\Delta\phi_{Peak}$ besitzen, werden als reversible oder quasireversible Systeme angesehen [132-135]. Es ergibt sich anhand von Abbildung 5.2a außerdem, dass mit $i_{Ox}/i_{Red} = 0{,}9385 \cong 1$ auch das zweite Kriterium eines reversiblen Systems für eine Tastrate von $\nu = 40$ mV/s erfüllt ist. Die Gültigkeit dieser Beziehung wird durch eine lineare Interpolation der Messreihen in Abbildung 5.2b im gesamten Messbereich (zwischen $\nu_{min} = 5$ mV/s und $\nu_{max} = 1000$ mV/s) untersucht. Anhand der Steigungen der angepassten Nullpunktsgeraden,

$$\frac{m_{Ox}}{m_{Red}} = \frac{5{,}86132 \frac{\mu A}{\sqrt{mV/s}}}{6{,}17123 \frac{\mu A}{\sqrt{mV/s}}} = 0{,}94978,$$

zeigt sich, dass dieses Kriterium im gesamten Messbereich in guter Näherung erfüllt ist. Die linearen Anpassungen aus Abbildung 5.2b verifizieren ferner, dass das Redoxsystem den

für einen ausschließlich diffusionskontrollierten Massentransport charakteristische, Zusammenhang, $i_{Ox,\mathrm{Red}} \propto \sqrt{v}$, sehr gut erfüllt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich unter der Verwendung eines für reversible Prozesse geeigneten Redoxpaares zeigen lässt, dass sich die fabrizierte Au-NW-Oberfläche für reversible Prozesse eignet. Dies ist als sehr vorteilhaft anzusehen, da solche Strukturen üblicherweise mit einer elektrisch gut kontaktierten Metalloberfläche ohne Beschädigungen des Metallfilms, sowie einer Metalloberfläche ohne Kontaminationen einer elektrisch isolierenden Substanz einhergehen. Ein solches Verhalten stimmt demnach mit den bildgebenden SEM-Aufnahmen aus Kapitel 3.3.2 überein. Eine elektrochemische Materialanalyse zur Untersuchung der nanoskopischen Au-NW-Oberflächenstruktur wird im folgenden Kapitel diskutiert.

5.3.2 Elektroaktivität

Ein wesentlicher Vorteil einer nanostrukturierten Elektrodenoberfläche besteht in der vergrößerten elektrochemischen Phasengrenze zwischen Metalloberfläche und Elektrolytlösung. Eine Vergrößerung der Phasengrenze ist in dieser Arbeit für hochdichte, frei stehende und vertikal ausgerichtete Nanoelektrodenoberflächen gegeben. In diesem Kapitel wird die nanoskopische Vergrößerung der Phasengrenze quantitativ analysiert. Hierdurch kann geklärt werden, ob eine vollständige elektrische Kontaktierung aller Au-NW gegeben ist.

Verschiedene Methoden eignen sich zur Größenmessung der elektroaktiven Phasengrenze. Diese umfassen einerseits kapazitive Methoden, wie beispielsweise die Impedanzspektroskopie, andererseits aber auch Ladungstransferprozesse unter Verwendung der CV [136]. Unter Verwendung von antennenartig ausgerichteten Au-NW-Oberflächen konnte das Vorliegen einer vergrößerten, elektroaktiven Phasengrenze mittels CV bereits qualitativ nachgewiesen werden [72]. Für eine quantitative Bestimmung der elektroaktiven Vergrößerung einer Phasengrenze mithilfe von Ladungstransferreaktionen eignen sich insbesondere immobilisierte Redoxsysteme. Ein solches Redoxsystem ist üblicherweise an die Oberfläche der festen Phase gebunden. Dabei handelt es sich häufig um Redoxprozesse der metallischen Elektrodenoberfläche [137-139].

Unter Verwendung von CV-Messungen an Au-NW-Oberflächen bestimmten Schröper et al. [136] die mittels verschiedener Redoxsysteme gemessene Vergrößerung der Phasengrenze gegenüber einer flachen Goldstruktur. Im Vergleich dazu ermittelten sie die reale Oberflächenvergrößerung anhand der mittels SEM-Aufnahmen bestimmten mittleren Länge und Durchmesser der Au-NW. Wie gezeigt wurde, stimmten die aus den CV-Experimenten ermittelten Werte mit den kalkulierten Werten genau dann in guter Näherung überein, wenn das Redoxsystem immobil war. So konnten gute Ergebnisse für redoxreaktives, immobilisiertes Zytochrom C und 6-(Ferrocenyl)hexanthiol erzielt werden. Darüber hinaus ergaben sich auch gute Resultate für die Nutzung der Redoxreaktivität von Au-NW-Oberflächen.

Um das Experiment möglichst einfach durchzuführen, wird im Rahmen des vorliegenden Experiments die Redoxreaktivität der Au-NW-Oberfläche gemäß

$$Au(s) + H_2O(l) \leftrightarrow AuOH(s) + H^+(g) + e^-$$

ausgenutzt. Hierfür werden CV-Messungen einer hochdichten Au-NW-Oberfläche ($\rho_2 = 6 \times 10^8$ cm^{-2}), sowie einer flachen Goldstruktur in wässriger KOH-Lösung bei einer Tastrate von $\nu = 10$ mV/s durchgeführt. Die Messungen erfolgen im Bereich -1000 mV < ϕ_{WE} < +700 mV. Als Startwert und Tastrichtung werden $\phi_{WE} = 0$ V beziehungsweise $d\phi_{WE}/dt > 0$ gewählt. Der Flächeninhalt, in welchem der Elektrolyt durch eine Öffnung in der Elektrolytkammer Zugang zur Metalloberfläche hat, beträgt 0,15 cm^2.

In Abbildung 5.3a sind die CV-Messungen der Au-NW-Oberfläche (rot) und der flachen Goldstruktur (grün) dargestellt. Es zeigt sich, dass beide Messungen bei positivem Abtasten ($d\phi_{WE}/dt > 0$) einen konstanten Stromanstieg bis $\phi_{WE} \approx +400$ mV aufweisen. Für $\phi_{WE} > +400$ mV ergibt sich in beiden Fällen ein positives Stromsignal, welches ein Maximum ausbildet und anschließend abfällt. Nach Wechsel der Tastrichtung ($d\phi_{WE}/dU < 0$) besteht zunächst ein konstanter Stromabfall bis in etwa $\phi_{WE} \approx +400$ mV. Für $\phi_{WE} < +400$ mV bildet sich in beiden Fällen ein negatives Stromsignal aus, welches jeweils bei in etwa $\phi_{WE} \approx +200$ mV einen Maximalwert erreicht und anschließend abklingt. Der wesentliche Unterschied zwischen beiden Messkurven besteht in der Größe des jeweiligen positiven beziehungsweise negativen Stromsignals. In beiden Fällen sind die Signale der Au-NW-Oberfläche erheblich größer.

Der konstante Stromanstieg beziehungsweise Stromabfall lässt sich durch einen kapazitiven Auflade- beziehungswiese Entladeprozess einer sich ausbildenden, diffusen Doppelschicht erklären [85-87, 140]. Dabei ist der kapazitive Strom idealerweise direkt proportional zur Tastrate. Das positive Stromsignal für $\phi_{WE} > +400$ mV und positives Abtasten entspricht einer Oxidation der Goldoberfläche, während das negative Stromsignal für $\phi_{WE} < +400$ mV und negatives Abtasten der Reduktion des oxidativen Zustands in den Ausgangszustand zuzuordnen ist. Für einen vollständigen Oxidations- oder Reduktionsprozess gilt für die nanostrukturierte Oberfläche beziehungsweise für die flache Referenzstruktur:

$$A_{Nano,Messung} \propto Q_{Nano,Messung} = \int I_{Nano,Messung}(t)\,dt = c \times \int I_{Nano,Messung}(U)\,dU$$

$$A_{Ref,Messung} \propto Q_{Ref,Messung} = \int I_{Ref,Messung}(t)\,dt = c \times \int I_{Ref,Messung}(U)\,dU$$

Dabei entspricht A_i dem Flächeninhalt einer Metall-Elektrolyt-Phasengrenze, Q_i der während der Oxidation beziehungsweise Reduktion geflossenen Ladung und c einer Konstanten. Der Flächeninhalt einer Metall-Elektrolyt-Phasengrenze ist demnach direkt proportional zum Flächeninhalt des jeweiligen Oxidations- beziehungsweise Reduktionssignal. So kann anhand von Abbildung 5.3a qualitativ gezeigt werden, dass die Phasengrenze der Au-NW-Oberfläche gegenüber der flachen Referenzstruktur um ein Vielfaches erhöht ist.

Der oben genannte Sachverhalt wird im Folgenden quantitativ analysiert. Hierfür wird nun analog zu [136] die reale Oberflächenvergrößerung der WE mit der erhöhten Elektroaktivität aus dem Ladungstransfer des Reduktionsprozesses verglichen. Für die Bestimmung der realen Oberflächenvergrößerung werden für die Nanodrahtdichte und deren Durchmesser die Herstellerdaten der nanoporösen Template, $\rho_{Nano} = 6 \times 10^8$ cm^{-2} und $r_{Nano} = 50$ nm, übernommen. Anhand von SEM-Aufnahmen wird ferner die mittlere Länge der hier synthetisierten Nanodrahtoberflächen (Synthesedauer t = 600 s) zu $\langle h_{Nano} \rangle = 2{,}75$ µm bestimmt. Die Nanodrähte werden zudem als ideale, frei stehende Zylinder angenommen.

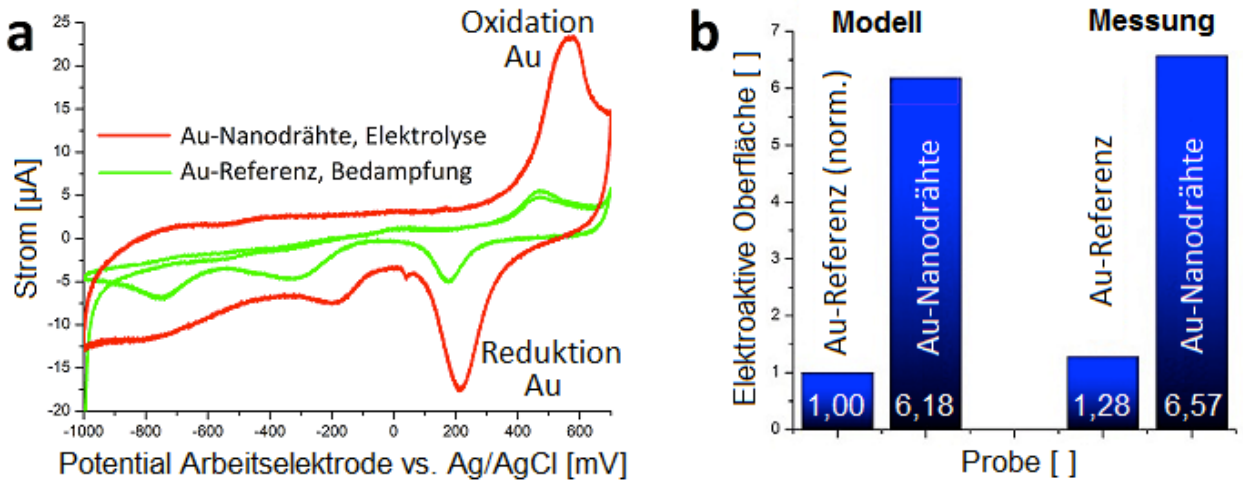

Abbildung 5.3: CV-Messung zur Elektroaktivität. *Elektrochemische Charakterisierung einer Au-Nanodrahtoberfläche und einer flachen Au-Referenzstruktur in wässriger KOH-Lösung (c_{KOH} = 50 mM) unter Verwendung einer Ag/AgCl-RE. a) CV-Messung (ν = 10 mV/s), welche die Oxidation und Reduktion der jeweiligen Goldoberfläche darstellt. b) Histogramm, welches die jeweilige elektroaktive Oberfläche aus Modell und CV-Messung vergleicht.*

In Abbildung 5.3b werden die rechnerisch ermittelten und mittels CV gemessenen Vergrößerungen der Phasengrenzen im Falle einer Au-NW-Oberfläche dargestellt. Im Falle einer ideal flachen Referenzprobe entspricht die Phasengrenze der Öffnung der Elektrolytkammer. Diese beträgt 0,15 cm². Gemäß [141] entspricht dies im Falle einer Gold (111)-Oberfläche einer Gesamtladung von Q = 33,3 µC. Für die weitere Betrachtung wird dieser Wert zu $A_{Ref,Modell}$ = 1,00 normiert. Der Flächeninhalt der Phasengrenze einer Au-NW-Oberfläche berechnet sich zu:

$$A_{Nano,Modell} = A_{Ref,Modell} \times (1 + 2 \times \pi \times r_{Nano} \times h_{Nano} \times \rho_{Nano}) = 6{,}18 \times A_{Ref,Modell}$$

Die Au-NW-Phasengrenze besitzt im Modell gegenüber einer flachen Referenzstruktur eine 6,18-fach vergrößerte Phasengrenze. Aus den Integralen über die Stromsignale der Reduktion (Abbildung 5.3a) wird nun jeweils die Gesamtladung ermittelt. Gemäß [141] ergibt sich für eine Gold (111)-Ebene hiernach $A_{Ref,Messung} \approx 1{,}28$, sowie $A_{Nano,Messung} \approx 6{,}57$ (Abbildung 5.3b).

Im Vergleich der Werte $A_{Ref,Modell}$ und $A_{Ref,Messung}$ fällt auf, dass der gemessene Wert gegenüber der idealen Oberfläche etwas erhöht ist. Dies lässt sich insofern erklären, als dass jede reale Oberfläche eine gewisse Oberflächenrauigkeit besitzt, welche den Flächeninhalt der Phasengrenze etwas erhöht. Des Weiteren fällt die gute Übereinstimmung von $A_{Nano,Modell}$ und $A_{Nano,Messung}$ auf. Hieraus lässt sich folgern, dass die

Anzahl der elektroaktiven Au-NW nahezu der Anzahl der galvanisch abgeschiedenen Au-NW entsprechen. Anhand dieser nanoskopischen Untersuchung zeigt sich somit, dass praktisch alle galvanisch abgeschiedenen Au-NW über das flache Goldsubstrat vollständig elektrisch kontaktiert sind.

5.3.3 Elektrochemisches Arbeitsfenster

Die exakte Position von Redoxpotentialen in wässriger Lösung hängt von verschiedenen Faktoren ab. Hierbei sind insbesondere Elektrodenmaterial, Druck, Temperatur, Ionenkonzentration und der pH-Wert der wässrigen Lösung zu nennen. Die pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials einer Goldoberfläche wird in Kapitel 5.1.3 diskutiert und beträgt $\Delta\phi$ = 59 mV pro pH-Einheit. Die thermodynamische Stabilität von Metall-Elektrolyt-Systemen kann ferner mithilfe der durch Marcel Pourbaix eingeführten, gleichnamigen Phasendiagramme beschrieben werden [142]. Der Spannungsbereich, in welchem bei Anlegen eines WE-Potentials keine Redoxprozesse – und somit keine elektrochemischen Veränderungen der Metall-Elektrolyt-Grenzfläche - auftreten, wird als elektrochemisches Arbeitsfenster bezeichnet.

Im Rahmen dieser Arbeit wird das Anlegen eines WE-Potentials in physiologischer Umgebung für die Steuerung des Verhaltens geladener Proteine verwendet. Im Hinblick auf diese Messungen soll nun das elektrochemische Arbeitsfenster unter identischen Messbedingungen definiert werden. Hierfür werden eine physiologische PBS-Lösung (c_{NaCl} = 140 mM, pH = 7,4), eine Ag/AgCl-RE und eine flache, bedampfte Gold-WE verwendet. Die Abtastrate beträgt ν = 50 mV/s, die CV-Messungen werden im Bereich -1,60 V < ϕ_{WE} < +1,25 V durchgeführt. Zu Beginn der Messung beträgt das WE-Potential ϕ_{WE} = 0 V, das Abtasten ist positiv ($d\phi_{WE}/dt > 0$).

In Abbildung 5.4 ist die zugehörige CV-Messung einer flachen Goldstruktur dargestellt. Während des positiven Abtastens ergibt sich zunächst bis etwa $\phi_{WE} \approx$ +0,75 V ein konstanter Stromanstieg. Für ϕ_{WE} > +0,75 V beginnt ein drastischer, positiver Stromanstieg. Nach dem Wechsel der Tastrichtung (ϕ_{WE} = 1,25 V) hin zu einer negativen Abtastung fällt der Strom zunächst wieder auf den Normalwert ab. Ab einem WE-Potential von in etwa $\phi_{WE} \approx$ +0,65 V setzt ein negativer Stromanstieg ein, welcher ein Maximum bei etwa $\phi_{WE} \approx$ 0,40 V erreicht, anschließend graduell abfällt und bei etwa $\phi_{WE} \approx$ -0,80 V einen

konstanten Normalwert erreicht. Bei $\phi_{WE} \approx -1{,}20$ V setzt zudem ein drastischer, negativer Stromanstieg ein.

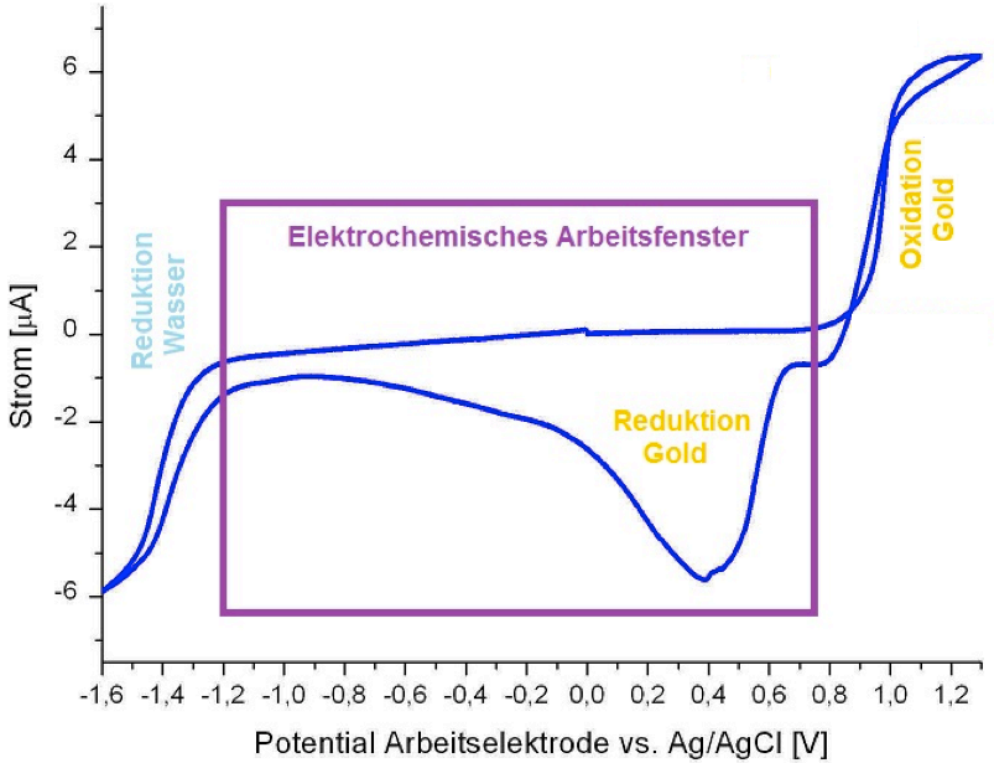

Abbildung 5.4: Elektrochemisches Arbeitsfenster. *Elektrochemisches Arbeitsfenster einer Au-WE (flach, bedampft) vs. Ag/AgCl-RE bei einem physiologischem pH-Wert von 7,4. Es ist durch die Oxidation der Goldoberfläche für $\phi_{WE} > +0{,}75$ V, sowie durch die Reduktion von Wasser für $\phi_{WE} < -1{,}20$ V definiert. Der Reduktionspeak der Goldoberfläche bezieht sich auf die Reduktion des oxidativen Zustands in den Ausgangszustand und tritt nur dann auf, wenn zuvor Gold oxidiert worden ist.*

Die gemessenen Stromsignale können den folgenden beiden Redoxreaktionen von Gold und Wasser zugeordnet werden:

$$Au + H_2O \leftrightarrow AuOH + H^+ + e^-$$

$$H_2 + 2OH^- \leftrightarrow 2H_2O + 2e^-$$

Reduzierte Form Oxidierte Form

Die gemessene Begrenzung des elektrochemischen Arbeitsfensters bei positiven WE-Potentialen kann mithilfe eines Pourbaix-Diagramms analysiert werden. Gemäß [143] entspricht es einer Oxidation der Goldoberfläche. Es zeigt sich ferner, dass das bei negativer Abtastung gemessene Stromsignal mit einem Maximum bei etwa $\phi_{WE} \approx +0{,}40$ V nur dann auftritt, wenn zuvor die Goldoberfläche oxidiert worden ist.

Dadurch lässt es sich der Reduktion von oxidiertem Gold in den Ausgangszustand zuordnen. Es muss daher für die Definition des elektrochemischen Arbeitsfensters nicht berücksichtigt werden. Die gemessene Begrenzung des elektrochemischen Arbeitsfensters bei negativen WE-Potentialen entspricht dem negativen Stromsignal bei etwa $\phi_{WE} \approx -1{,}25$ V und kann der Reduktion der wässrigen Lösung zugeordnet werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass innerhalb des Arbeitsfensters $-1{,}20\ V < \phi_{WE} < +0{,}75\ V$ eine elektrochemisch inerte Phasengrenze zwischen Nanoelektrodenoberfläche und physiologischem Elektrolyten existiert. Die Größe dieses Arbeitsfenster ist konstant, es sei an dieser Stelle jedoch angemerkt, dass es sich über eine Änderung des pH-Wertes entlang der Abszisse gemäß Kapitel 5.1.3 verschieben lässt. Die angegebenen Grenzwerte des WE-Potentials, $\phi_{WE,min} = -1{,}20$ V und $\phi_{WE,max} = +0{,}75$ V, entsprechen dabei den Werten, bei welchen ein maximales, elektrisches Feld in der Elektrolytlösung - bei zugleich elektrochemisch inerter Nanodraht-Elektrolyt-Phasengrenze - generiert werden kann. Die angegebenen Grenzwerte werden deshalb in Kapitel 7 für die elektrochemische gesteuerte Adsorption geladener Proteine verwendet.

5.3.4 Optimierung der Substratdicke

Im Folgenden wird die optimale Schichtdicke des auf dem Glassubstrat aufgedampften Goldfilms für simultane elektrochemische Messungen sowie Transmissionsmessungen ermittelt. Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, wird aus Gründen einer guten Adhäsion zwischen Goldfilm und Glassubstrat ein $z_{Cr} = 5$ nm dünner Chromfilm aufgebracht. Wegen dessen elektrochemisch unedlerem Charakter gegenüber Gold soll der aufgedampfte Goldfilm einerseits hinreichend dick sein, um Wechselwirkungen zwischen Chromfilm und dem verwendetem Elektrolyten in Form von Elektronentransferprozessen zu vermeiden. Andererseits soll der aufgedampfte Goldfilm für ein möglichst gutes Signal-Rausch-Verhältnis von optischen Transmissionsmessungen möglichst dünn sein.

Es werden CV-Messungen flacher, aufgedampfter Goldfilme unterschiedlicher Schichtdicke ($z_{Au1} = 10$ nm, $z_{Au2} = 20$ nm, $z_{Au3} = 40$ nm) durchgeführt. In allen Fällen befindet sich unter dem Goldfilm eine $z_{Cr} = 5$ nm dicke Adhäsionsschicht aus Chrom. Die Messungen erfolgen in wässriger H_2SO_4-Lösung, sowie bei einer Tastrate von $\nu = 100$ mV/s. Alle CV-Kurven werden dreifach gemessen, wobei sich identische Messkurven ergeben.

In Abbildung 5.5 sind die CV-Messungen unterschiedlicher Substratdicken dargestellt. Analog zu Abbildung 5.3-5.4 ergeben sich für alle Proben charakteristische Oxidations- und Reduktionssignale einer Goldoberfläche. Wegen des geringeren pH-Wertes gegenüber Abbildung 5.3-5.4 sind diese in Richtung höherer, positiver WE-Potentiale verschoben. Für z_{Au1} = 10 nm ergibt sich ferner ein zusätzliches Stromsignal während der negativen Abtastung ($d\phi_{WE}/dt < 0$), welches gegenüber dem Reduktionspotential von Gold um etwa $\Delta\phi$ = 230 mV in Richtung kleinerer WE-Potentiale verschoben ist. Im Vergleich von Form und Position dieses Stromsignals mit den cyclovoltammetrischen Gold- und Chromsignalen aus [144] zeigt sich, dass dieses Signal einem Reduktionprozess der Chromschicht zuzuordnen ist.

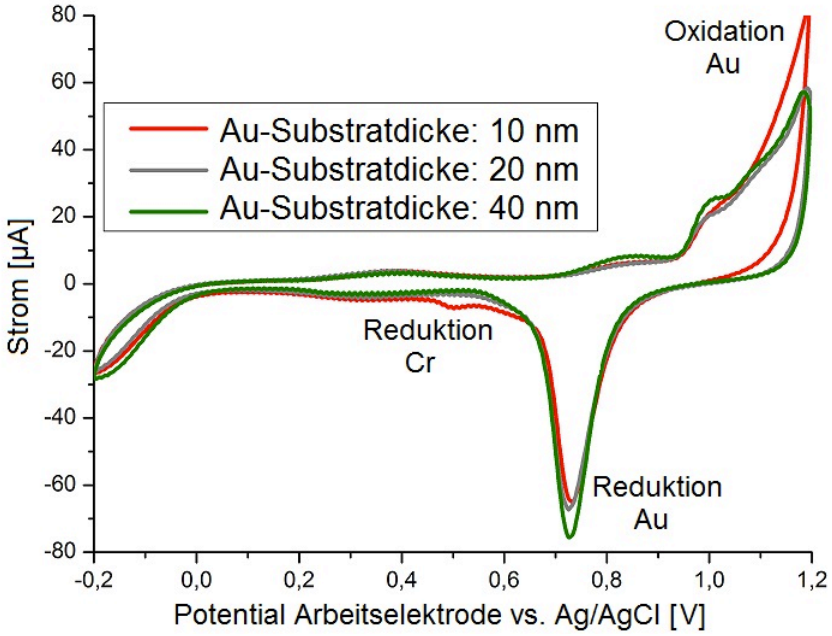

Abbildung 5.5: CV-Messung zur Optimierung der Substratdicke. *CV-Analyse von Goldfilmen unterschiedlicher Dicke auf einem 5 nm dicken Chromfilm. Die Analyse erfolgt in wässriger H_2SO_4-Lösung (50 mM). Für alle Filme ergeben sich charakteristische Oxidations- und Reduktionssignale der Goldstruktur. Für z_{Au1} = 10 nm ergibt sich ein zusätzliches Signal, welches nach [144] der darunter liegenden Chromschicht zugeordnet werden kann.*

Das zusätzliche Auftreten eines Reduktionspeaks der Chromschicht bei einer Substratdicke von z_1 = 10 nm gegenüber dickeren Schichten zeigt, dass hierbei eine unerwünschte Wechselwirkung zwischen Chromfilm und Elektrolyt stattfindet. Dementsprechend beträgt die dünnste der gemessen Substratdicken, bei welcher keine Chrom-Elektrolyt-Wechselwirkung auftritt, z_2 = 20 nm. Im Hinblick auf eine simultane Transmissionsmessung kann diese Schichtdicke als optimal angesehen werden. Sie wird

für die in Kapitel 7 vorgestellte, optische Proteindetektion mit simultaner elektrochemischer Steuerung verwendet.

5.4 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieses Kapitels werden zunächst grundlegende elektrochemische Eigenschaften der galvanisch auf einer bedampften Goldoberfläche abgeschiedenen Au-NW analysiert. Unter Verwendung eines gängigen Redoxprozesses zeigt sich dabei ein reversibles Verhalten, woraus sich folgern lässt, dass eine größtenteils unbeschädigte Metalloberfläche vorliegt und kaum Rückstände des isolierenden Templats existieren. Anschließend wird die Elektroaktivität der Au-NW-Oberfläche nanoskopisch unter Verwendung eines immobilen Redoxprozesses untersucht. Dabei wird der während eines Reduktionsprozesses erhöhte Ladungsfluss der Au-NW-Oberfläche gegenüber einer flachen Goldstruktur gemessen und zugleich aus einem Modell berechnet. Aus dem Vergleich der Ergebnisse lässt sich folgern, dass nahezu alle galvanisch abgeschiedenen Au-NW auf dem bedampften Substrat gut elektrisch kontaktiert sind. Demnach kann deren prinzipielle Eignung für sensorische Elektrodenprozesse gezeigt werden.

Nachfolgend werden die Au-NW-Oberflächen hinsichtlich einer optimalen sensorischen Nutzung untersucht. Dabei wird zunächst das elektrochemische Arbeitsfenster bestimmt, in welchem die Au-NW nach Anlegen eines WE-Potentials ein elektrochemisch inertes Verhalten aufweisen. Dieses ergibt sich zu $-1{,}20\ \mathrm{V} < \phi_{WE} < +0{,}75\ \mathrm{V}$. Da die elektrochemische Sensoroberfläche simultan für optische Transmissionsmessungen verwendet werden soll, wird zudem die minimale Substratdicke des aufgedampften Goldfilms bestimmt, bei welcher gerade noch keine Wechselwirkung zwischen Elektrolytlösung und dem darunterliegenden Chromfilm auftritt. Dabei ergibt sich die minimale Filmdicke zu $z_{min} = 20$ nm.

Die im Rahmen dieses Kapitels untersuchten und optimierten Elektrodencharakteristika werden in Kapitel 7 - in Kombination mit deren plasmonischen Eigenschaften - für die Proteindetektion angewandt. Zuvor werden im folgenden Kapitel die plasmonischen Eigenschaften fabrizierter Au-NW-Oberflächen untersucht und hinsichtlich ihrer sensorischen Anwendung optimiert.

6. Optische und sensorische Eigenschaften

Im folgenden Kapitel werden zunächst grundlegende Aspekte der Oberflächenplasmonik erörtert und ihre Nutzung für die Detektion von Biomolekülen beschrieben. Anschließend werden die plasmonischen Eigenschaften der fabrizierten Au-NW-Oberflächen diskutiert, optimiert und hinsichtlich ihrer Brechungsindexsensitivität charakterisiert. Abschließend wird diese für die zeitaufgelöste und konzentrationsabhängige Proteindetektion verwendet.

6.1 Einführung

6.1.1 Grundlagen der Oberflächenplasmonik

Bereits seit über 100 Jahren werden Metalle nach Paul Drude [145, 146] als quasifreie Elektronengase oder sogenannte Plasmen beschrieben, was darin begründet liegt, dass deren optische und elektronische Eigenschaften im Wesentlichen auf Schwankungen der Ladungsträgerdichte, induziert durch deren schwach gebundene Leitungselektronen, zurückgeführt werden können. Aufgrund ihrer Dispersionsrelation kommen für die Anregung durch Licht im sichtbaren oder nahinfraroten Bereich insbesondere Oberflächenplasmonen infrage. Oberflächenplasmonen werden unterschieden in sogenannte Oberflächenplasmon-Polaritonen (SPP), welche an der Oberfläche von dünnen, metallischen Filmen auftreten sowie lokalisierte Oberflächenplasmonen (LSP), welche in metallischen Nanostrukturen erscheinen. Während es sich bei den SPP um eine propagierende evaneszente Oberflächenwelle handelt, lassen sich die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten nichtpropagierenden LSP klassisch als Dipolschwingung beschreiben [147]. Wie aus Abbildung 6.1 ersichtlich, folgen die schwach gebunden Elektronen dem oszillierenden, elektrischen Feld einer Lichtwelle. Die kohärente elektronische Schwingung führt zur Aufladung der metallischen Nanostrukturoberfläche, woraus sich eine oszillierende Bewegung der Elektronenwolke ergibt.

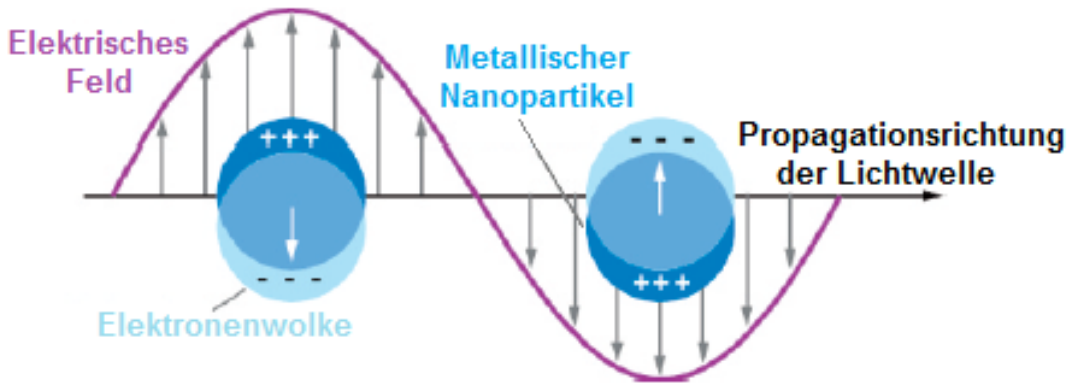

Abbildung 6.1: Prinzip der LSP-Anregung. *Schematische Darstellung der LSP-Resonanz eines metallischen Nanopartikels. Die schwach gebundenen Elektronen des metallischen Nanopartikels folgen dem oszillierenden elektrischen Feld einer spezifischen, propagierenden Lichtwelle. Die kohärente Schwingung dieser Leitungselektronen induziert eine Elektronenwolke, welche im Lichtspektrum als Resonanzeffekt erscheint [148].*

Den theoretischen Modellen entsprechend verursacht diese dipolartige Auslenkung den folgenden Extinktionskoeffizient [149, 150]:

$$k_{Extinktion} = \frac{18 \times \pi \times N \times V \times \varepsilon_h^{3/2}}{\lambda} \times \frac{\varepsilon_2}{(\varepsilon_1 + 2 \times \varepsilon_h)^2 + \varepsilon_2^2} \quad .$$

Hierbei entspricht λ der Lichtwellenlänge, ε_h der dielektrischen Konstante des umgebenden Mediums und $\varepsilon_m(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i \times \varepsilon_2(\omega)$ der komplexen, frequenzabhängigen Dielektrizitätsfunktion der metallischen Nanostruktur. Für kleine Werte von ε_2 oder ein schwach frequenzabhängiges ε_2 ergibt sich ein maximaler Extinktionskoeffizient $k_{Extinktion}$ für eine Frequenz ω, für welche gilt [151]:

$$\varepsilon_1(\omega) = -2 \times \varepsilon_h \quad .$$

Die LSP-Resonanzfrequenz hängt aufgrund der Größenabhängigkeit der dielektrischen Funktion auch von der Dimension der vorliegenden Nanostruktur ab. Für ein Edelmetall wie beispielsweise Gold setzt sich die dielektrische Funktion aus einem Beitrag der Schalenelektronen und einem Anteil der freien Leitungselektronen zusammen. Letzter lässt sich durch das Drude-Modell wie folgt beschreiben [150]:

$$\varepsilon_D(\omega) = 1 - \frac{\omega_P^2}{\omega^2 + i \times \gamma \times \omega} \, .$$

Dabei entspricht ω_P der Plasmafrequenz des Metalls und γ der elektronischen Dämpfungskonstante. Während die Dämpfungskonstante einer makroskopischen Metallstruktur im Wesentlichen von der Elektronen-Elektronen-Streuung und der Elektronen-Phononen-Streuung abhängt, trägt für metallische Nanostrukturen zusätzlich die elektronische Oberflächenstreuung an der Begrenzung der Nanostruktur zur Dämpfungskonstante bei. Hierbei ist der durch die Oberflächenstreuung verursachte Dämpfungsterm invers proportional zum Radius r der Nanostruktur. Darüber hinaus sei erwähnt, dass sich aufgrund einer Verformung der aus schwach gebundenen Elektronen bestehenden Ladungswolke eine weitere Abhängigkeit der Dielektrizitätsfunktion von der Größe der Nanostruktur ergibt [151].

Es sei an dieser Stelle kurz angemerkt, dass sich Metalle mit einer großen mittleren freien Weglänge wie Gold und Silber besonders gut mit dem Drude-Modell beschreiben lassen. Damit gehen experimentelle Messungen einher, wonach deren Nanostrukturen einen besonders starken LSP-Effekt aufweisen. Für praktische Anwendungen – insbesondere in elektrolytischer Umgebung - sind jedoch Silber-Nanostrukturen aufgrund ihrer oxidativen Reaktivität häufig ungeeignet.

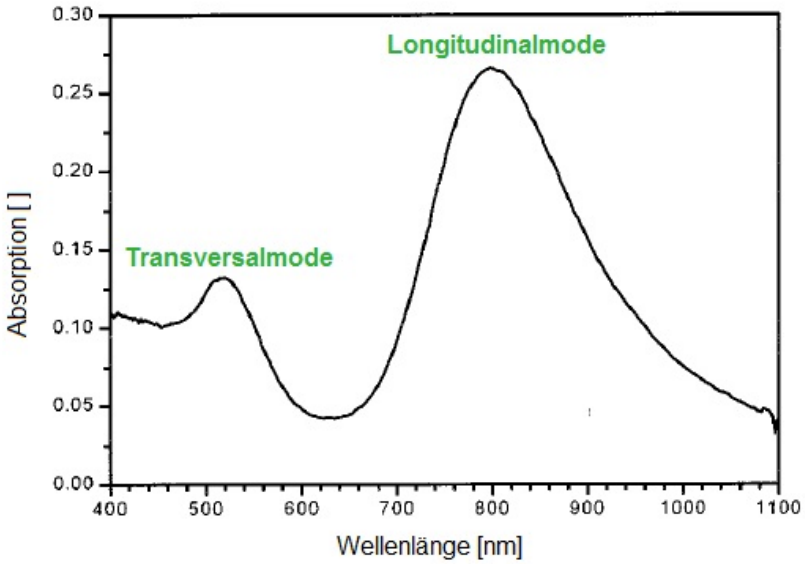

Abbildung 6.2: Absorptionsspektrum einer Lösung mit Au-Nanostäbchen. *Für einen mittleren Durchmesser von in etwa 30 nm und eine mittlere Länge der Au-NW von in etwa 120 nm ergeben sich in Lösung charakteristische Absorptionsbanden bei in etwa 520 nm und 800 nm [nach 154].*

Während kugelförmige, metallische Nanopartikel aus Symmetriegründen üblicherweise nur eine LSP-Resonanzwellenlänge im sichtbaren Spektralbereich (VIS) besitzen, weisen metallische Nanodrähte üblicherweise eine Longitudinalmode und eine Transversalmode auf. Dies ist in Abbildung 6.2 für Nanostäbchen aus Gold dargestellt. Für einen Lichteinfall entlang der Drahtachse und für Nanodrähte, deren Gestalt einer ideal zylindrischen Struktur nahekommt, fallen diese beiden Moden jedoch zusammen [152, 153]. Deren exakte Position hängt vom Material und den Größendimensionen der Nanostruktur ab, wobei die Transversal- beziehungsweise Longitudinalmode mit zunehmendem Durchmesser beziehungsweise Länge der Au-NW eine Verschiebung in Richtung höherer Resonanzwellenlängen erfährt [154-156]. Darüber hinaus hängen die Resonanzwellenlängen vom Einfallswinkel des Lichts [156] und vom Umgebungsmedium ab.

6.1.2 Stand der Technik: Nanoplasmonische Biosensoren

Das große Interesse an Oberflächenplasmonen im Bereich der biomedizinischen Diagnostik liegt insbesondere darin begründet, dass deren Resonanzwellenlänge äußerst sensitiv auf Brechungsindexänderungen an der Metalloberfläche reagiert [148, 157, 158]. So gilt im gesamten physiologischen Regime: $\Delta\lambda_{Resonanz}/\Delta n_{Oberfläche} > 0$.

Aufgrund der dynamischen Entwicklung der letzten Jahrzehnte in der Fabrikation von Nanostrukturen, gelten LSP-Biosensoren [148, 159, 160] derzeit als vielversprechende diagnostische Methode. Im Gegensatz zu gewöhnlichen SPP-Biosensoren, deren evaneszente Plasmonen über ein spezielles optisches Setup, häufig eingekoppelt über ein Prisma in Otto oder Kretschmann Konfiguration, angeregt werden, besitzen LSP-Biosensoren einen einfacheren optischen Aufbau sowie eine miniaturisierte sensorische Plattform [148, 161]. Trotz einer erheblich geringeren Brechungsindex-Sensitivität von in etwa 200 nm pro Brechungsindexeinheit (200 nm/RIU) gegenüber SPP-Sensoren können LSP-Biosensoren hinsichtlich der Detektion eines Analyten Ergebnisse vergleichbarer Qualität erzielen, sofern zwischen einem Analyten und der LSP-Nanostruktur eine hohe Affinität besteht. Dies liegt darin begründet, dass das sensitive Regime eines LSP-Sensors mit einer charakteristischen Abklinglänge von 5-15 nm erheblich kleiner ist als das sensitive Regime eines SPP-Sensors [162, 163], weswegen dieser sich besonders für die Detektion dünner, molekularer Adsorptionsfilme eignet. Der sensitive Detektionsbereich

eines SPP-Sensors hängt hingegen von der Stärke des exponentiellen Abfalls der an der Metall-Dielektrikum-Grenzfläche angeregten evaneszenten Welle ab. Die typische Größe des sensitiven Bereichs beträgt in diesem Fall etwa 200-300 nm und wird insbesondere von den Dielektrizitätszahlen des Metallfilms und des dielektrischen Mediums, sowie der verwendeten Lichtwellenlänge beeinträchtigt. Unter Verwendung der Fano-Resonanz [164] sowie von Metamaterialien [153] konnte vor kurzem die Brechungsindex-Sensitivität von Gold-Nanostrukturen sogar noch erheblich gesteigert und somit kleinere Analyten wie beispielsweise Biotin (244 Da) detektiert werden.

Zusätzlich zur ausgezeichneten Sensitivität von LSP-Sensoren kann mithilfe dieser Strukturen unter bestimmten Voraussetzungen auch eine proteinspezifische Detektion gelingen. Hierfür kann auf der Probenoberfläche ein Biomolekül immobilisiert werden, welches eine starke spezifische Affinität zum Analyten hat (Biotin-Streptavidin, Antikörper-Antigen) [159]. Unter Verwendung einer ähnlichen, auf Nanostrukturen basierenden Messtechnik konnte die Separation auch durch Unterschiede in der Größe der Proteine erfolgen [165].

LSP-Sensoren wurden darüber hinaus auch für die Ermittlung biomolekularer Abstände [166], für die Detektion molekularer Adsorption mithilfe der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie, sowie für die Identifikation der adsorbierten Spezies verwendet.

Im Folgenden werden die elektrolysierten und materialwissenschaftlich analysierten Gold-Nanodrahtoberflächen zunächst auf ihre plasmonischen Eigenschaften analysiert und optimiert. Nachfolgend wird deren Brechungsindex-Sensitivität quantitativ untersucht. Abschließend wird deren Verwendungsmöglichkeit für die Detektion von Proteinen anhand von Bovinem Serum Albumin (BSA) zeitaufgelöst und für verschiedene Proteinkonzentrationen nachgewiesen.

6.2 Materialien und Methoden

Es werden die in Kapitel 3 vorgestellten niedrigdichten ($\rho = 10^6$ cm^{-2}) und hochdichten ($\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}) Au-NW-Oberflächen verwendet. Die Abscheidezeit beträgt dabei 200-900 s. Optische Messungen werden in Transmission unter Verwendung der in Kapitel 2.2.5 vorgestellten Spektrometer OMT, Goniometer mit Reflexions-Transmissionseinheit

(Kapitel 6.3.1) und VARIAN, Vary 4000, UV-VIS-Spektrophotometer (Kapitel 6.3.2-6.3.4) durchgeführt. Die Messungen erfolgen in Luft, Wasser und Glycerin-Wasser-Gemischen.

6.3 Ergebnisse und Diskussion

6.3.1 Winkel- und dichteabhängige Transmissionsmessungen

Zunächst wird überprüft, ob die von uns hergestellten Au-NW-Strukturen die aus der Literatur für Au-Nanodrahtoberflächen bekannten longitudinalen und transversalen plasmonischen Moden aufweisen.

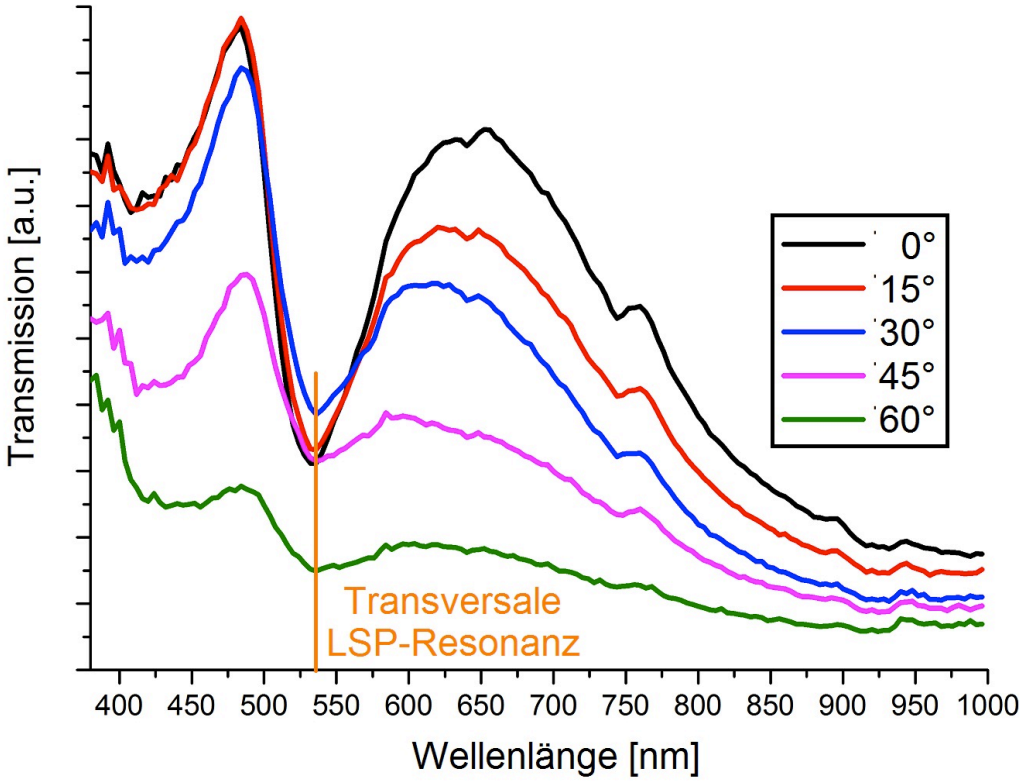

Abbildung 6.3: Winkelabhängiges Transmissionsspektrum. *Bei einer Messung in Luft ergibt sich ein charakteristischer Absorptionspeak bei $\lambda \approx 530$ nm, welcher insbesondere für kleine Einfallswinkel eine starke Ausprägung besitzt.*

Abbildung 6.3 stellt das Transmissionsspektrum einer solchen hochdichten Nanodrahtstruktur ($\rho = 6 \times 10^8\,cm^{-2}$) in Luft ($n = 1$) dar. Die mittlere Länge der Au-NW beträgt dabei in etwa 2,1 µm. Die Messungen werden im VIS und nahinfraroten Spektralbereich (NIR) für verschiedene Einfallswinkel durchgeführt. Dabei entspricht ein

Einfallswinkel von $\phi = 0°$ einer Propagationsrichtung parallel zur Nanodrahtausrichtung. Es wird das direkt gemessene Spektrum ohne Verwendung einer Referenz aufgetragen.

Zunächst fällt auf, dass sich die gesamte, durch die Probenoberfläche transmittierte Lichtmenge mit zunehmendem Kippwinkel wesentlich reduziert. Der Grund hierfür ist leicht einzusehen, denn aufgrund des hohen Aspektverhältnis der Au-NW (circa 21) erhöht sich mit zunehmender Verkippung der mit Au-NW bedeckte Oberflächenanteil drastisch, wodurch weniger Licht die Nanodrahtoberfläche ungestreut durchdringen kann. Analog zu [152-156, 167] lässt sich eine plasmonische Transversalmode im VIS ($\lambda_{\mathrm{Trans}} \approx 530$ nm) anregen, wobei diese insbesondere für kleine Einfallswinkel des eingestrahlten Lichts eine starke Ausprägung besitzt. Im Gegensatz zu [152-154] lässt sich keine Longitudinalmode im VIS, sowie im NIR bis 1000 nm klar identifizieren. Dies lässt sich jedoch dadurch erklären, dass die Länge der Au-NW dieser Messung mit etwa $\langle h \rangle = 2{,}1$ µm deutlich über den Werten der genannten Literaturstellen ($\langle h \rangle \approx 75$-380 nm) liegt. Dieses Verhalten ist ferner in Übereinstimmung mit anderen, bekannten optischen Messungen von Au-NW-Oberflächen, welche Nanodrahtlängen im Mikrometerbereich besitzen [156, 167]. Die scharfe Ausprägung der plasmonischen Transversalmode für kleine Winkel geht wiederum mit der erfolgreichen Strukturierung homogener, vertikal ausgerichteter und parallel angeordneter Au-NW-Oberflächen einher. Durch die Vermeidung einer Zusammenlegung einiger Au-NW-Spitzen – beispielsweise durch eine Trocknung in Ethanolumgebung (vgl. Kapitel 3.3.2) – ließe sich dies möglicherweise sogar noch weiter steigern. Wegen der scharfen Ausprägung der Transversalmode für kleine Winkel soll diese für alle weiteren Untersuchungen bei einem Einfallwinkel von $\phi = 0°$ analysiert werden.

Um zu verifizieren, dass die aus dem Transmissionsspektrum ermittelte plasmonische Transversalmode tatsächlich den Nanodrähten zuzuordnen ist, wird nun das Transmissionsverhalten zwischen einer flachen Goldreferenz, der in Abbildung 3.4b dargestellten niedrigdichten Nanodrahtstruktur ($\rho = 10^6$ cm^{-2}), sowie der in Abbildung 3.4c und Abbildung 3.4d dargestellten hochdichten Nanodrahtstruktur ($\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}), miteinander verglichen (Abbildung 6.4). Hierfür wird jeweils ein Deckglas mit einer 5 nm dicken Adhäsionsschicht aus Titan, sowie nachfolgend mit einem 50 nm dicken Goldfilm PVD-beschichtet und anschließend für die Messung beziehungsweise die galvanische Abscheidung verwendet. Da die Proben eine sehr unterschiedliche Lichtdurchlässigkeit aufweisen, wird die innerhalb des gemessenen Spektrums maximale Lichttransmission jeweils als Transmissionswert T = 100 definiert.

Wie sich zeigt weisen die flache Goldstruktur und die niedrigdichte Au-Nanodrahtoberfläche substantiell ein ähnliches Transmissionsspektrum auf. Beide besitzen ein für Gold in Transmission charakteristisches Maximum bei circa 500 nm, jedoch kein Minimum im VIS, welches einem plasmonischen Transversalpeak zugeordnet werden kann. Ein solches Verhalten der Au-NW-Oberfläche lässt sich durch die äußerst geringe Anzahl an anregbaren, plasmonischen Oszillatoren pro Flächeneinheit erklären. Im Vergleich dazu zeigt die hochdichte Nanodrahtoberfläche ein davon abweichendes Transmissionsverhalten. Dieses kennzeichnet sich im Wesentlichen durch zwei im Spektrum überlagerte Signale, wovon eines als klassisches Goldspektrum identifiziert werden kann, das andere gemäß Abbildung 6.3 als plasmonische Transversalmode bei $\lambda_{Trans} \approx 530$ nm. Da die niedrigdichte und die hochdichte Au-NW-Oberfläche einem identischen Herstellungsprozess unterliegen und sich lediglich durch die Dichte der Au-NW unterscheiden, kann nochmals eindeutig geklärt werden, dass das optische Resonanzsignal der LSP-Resonanz der Au-NW - und damit nicht dem sich darunter befindenden, flachen Chrom- und Goldfilmen - zuzuordnen ist.

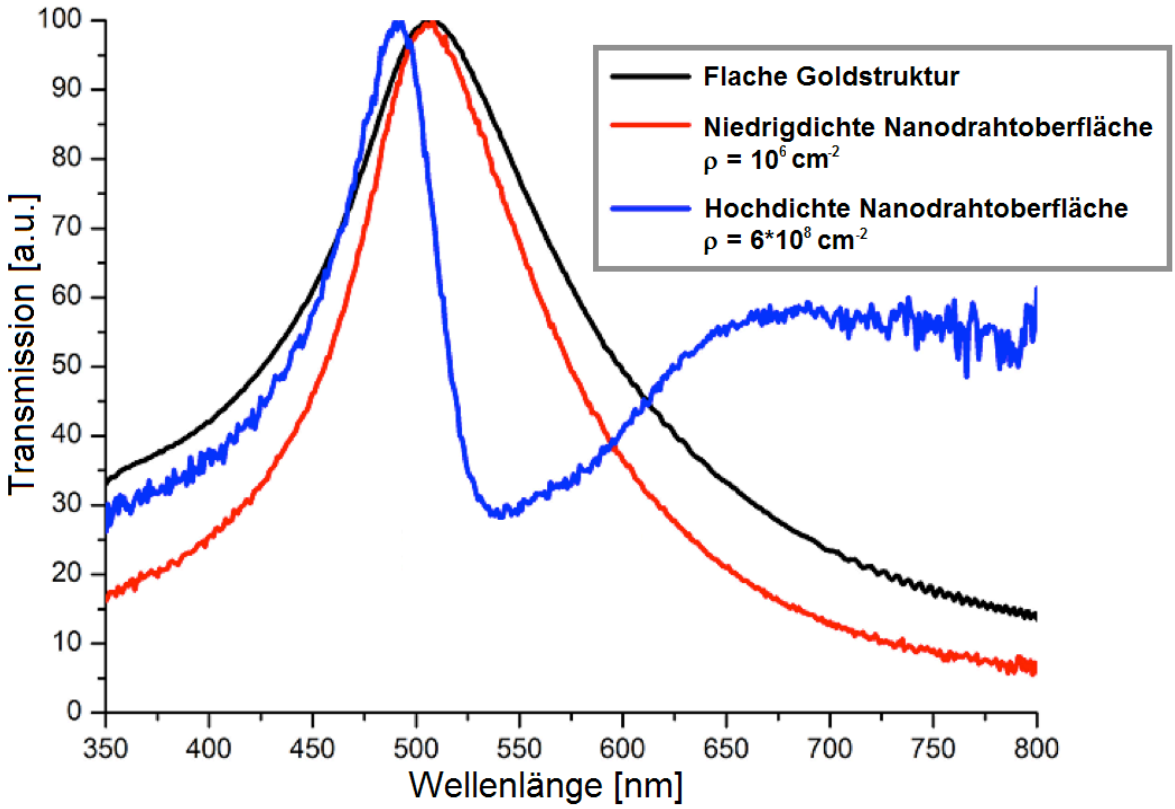

Abbildung 6.4: Transmissionsspektrum unterschiedlicher Nanodrahtdichten. *Transmissionsspektroskopischer Vergleich einer hochdichten Nanodrahtoberfläche ($\rho = 6 \times 10^8$ cm^{-2}), einer niedrigdichten Nanodrahtoberfläche ($\rho = 10^6$ cm^{-2}) und einer flachen Goldstruktur in Luft (Einfallswinkel $\phi = 0°$).*

6.3.2 Optimierung der Nanodrahtlänge

Hinsichtlich einer optimalen nanoplasmonischen Proteindetektion wird nun die Nanodrahtlänge entsprechend ihrer LSP-Anregung optimiert. Hierfür wird ein Glassubstrat mit einer 5 nm dicken Adhäsionsschicht aus Chrom, sowie nachfolgend mit einem 20 nm dicken Goldfilm bedampft. Anschließend erfolgt eine galvanische Abscheidung der Au-NW unter Verwendung von unterschiedlichen Synthesedauern. Es sei an dieser Stelle in Erinnerung gerufen, dass die mittlere Syntheserate näherungsweise konstant ist und in etwa <r> ≈ 4,5 nm/s beträgt.

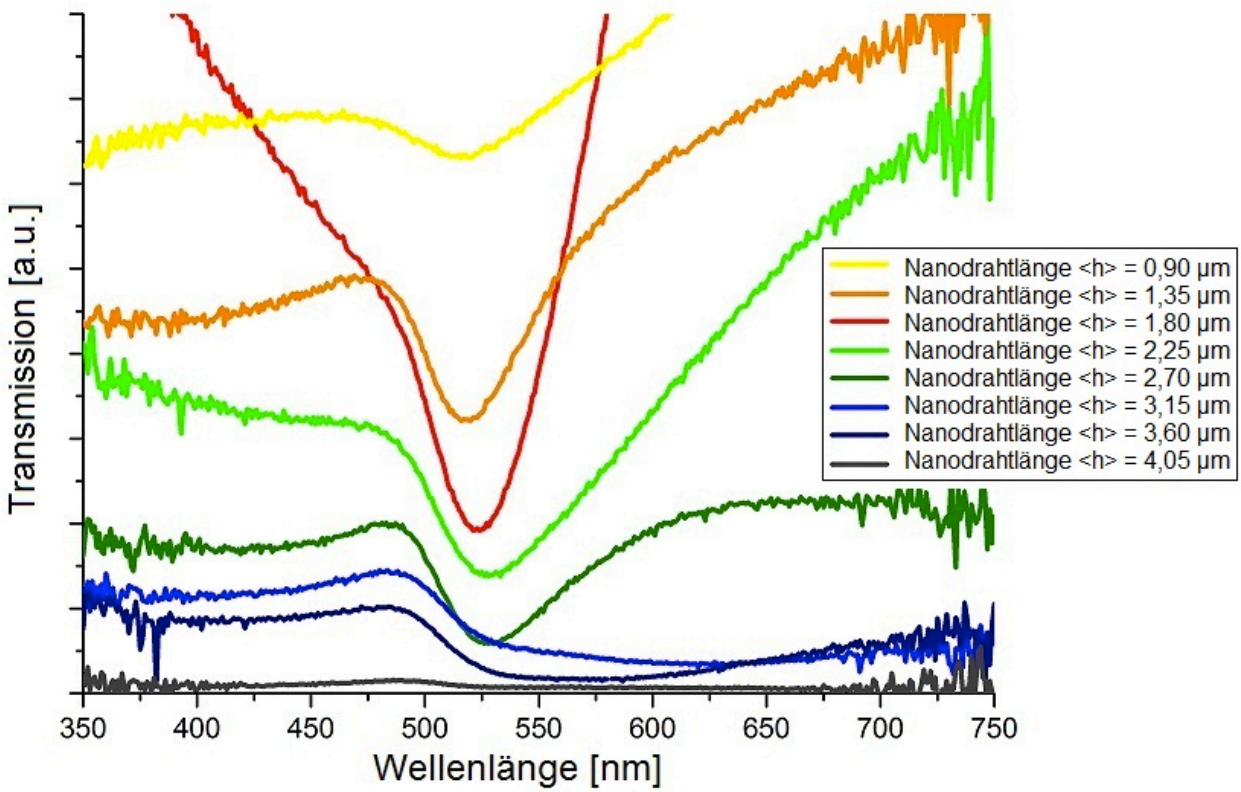

Abbildung 6.5: Transmissionsspektrum von Nanodrähten unterschiedlicher Länge. *Transmissionsspektrum von Au-Nanodrahtoberflächen unterschiedlicher Länge, wobei die Syntheserate <r> ≈ 4,5 nm/s beträgt. Es ergibt sich ein maximales Resonanzverhalten nahe einer Synthesedauer von 400 s, was in etwa einer mittleren Nanodrahtlänge von 1,9 µm entspricht.*

Abbildung 6.5 zeigt ein Transmissionspektrum hochdichter Nanodrahtoberflächen in Luft bei einem Lichteinfallswinkel von $\phi = 0°$. Die einzelnen Nanodrahtoberflächen unterscheiden sich in ihrer elektrolytischen Synthesedauer und somit in ihrer Nanodrahtlänge. Es lässt sich leicht erkennen, dass im Bereich zwischen 300-500 s - insbesondere nahe eines Wertes von t = 400 s (Länge l ≈ 1,9 µm) - sich das optimale plasmonische Verhalten ergibt. Da zudem eine bessere Reproduzierbarkeit der

Nanodrahtlänge für t > 400 s beobachtet wird, wird für alle weiteren Messungen eine Synthesedauer von 430 s verwendet, was einer Nanodrahtlänge von in etwa 2,1 µm entspricht.

6.3.3 Brechungsindexsensitivität

Nachdem die Au-NW-Strukturen hinsichtlich einer optimalen LSP-Anregung abgestimmt worden sind, werden diese nun hinsichtlich ihrer Brechungsindex-Sensitivität im physiologisch relevanten Bereich untersucht. Änderungen des mittleren Brechungsindex treten bei Adsorption von Proteinen auf der Nanodrahtoberfläche auf. Aus diesem Grund kann anhand dieser Messung überprüft werden, ob sich die Strukturen und der Messaufbau prinzipiell für eine Detektion von Proteinen eignen.

Wegen der guten Mischbarkeit von Glycerin mit Wasser sowie eines deutlich höheren Brechungsindex gegenüber Wasser (n_{Glyc} = 1,475) sind Glycerin-Wasser-Gemische mit unterschiedlichem Glycerinanteil ideal geeignet, um die Brechungsindexabhängigkeit der Resonanzwellenlänge im physiologisch relevanten Bereich zu modulieren.

Gemisch Glycerin-H_20	**Glycerin 0 %**	**Glycerin 20 %**	**Glycerin 40 %**	**Glycerin 60 %**	**Glycerin 80 %**
Brechungsindex [ ]	**1,333**	**1,354**	**1,377**	**1,400**	**1,426**

Abbildung 6.6: Brechungsindizes von Glycerin-Wasser-Gemischen. *Bestimmung der Brechungsindizes von Glycerin-Wasser-Gemischen unter Verwendung eines Abbe-Refraktometers. Alle relativen Angaben beziehen sich auf die Glycerinmenge in Gewichtsprozent.*

In Abbildung 6.6 ist die Korrelation zwischen dem Glycerinanteil eines Glycerin-Wasser-Gemischs und dem optischen Brechungsindex dargestellt. Dabei beziehen sich alle prozentualen Angaben auf den Glycerinanteil in Gewichtsprozent. Die verschiedenen Gemische werden in einem Abbe-Refraktometer auf ihren optischen Brechungsindex untersucht. Diese Korrelation dient der Bestimmung der Brechungsindexsensitivität.

Anschließend werden vier Proben jeweils mit verschiedenen Glycerin-Wasser-Gemischen in Kontakt gebracht und deren Transmissionsspektrum gemessen. Dabei erfolgt zunächst eine Messung in Reinstwasser. Anschließend werden Messungen in Glycerin-Wasser-Gemischen mit steigendem Glycerinanteil durchgeführt, wobei die entsprechende

Probe nach jeder Messung mit Reinstwasser gespült wird. Als Kontrollmessung wird abschließend wiederum jeweils eine Messung in Reinstwasser durchgeführt.

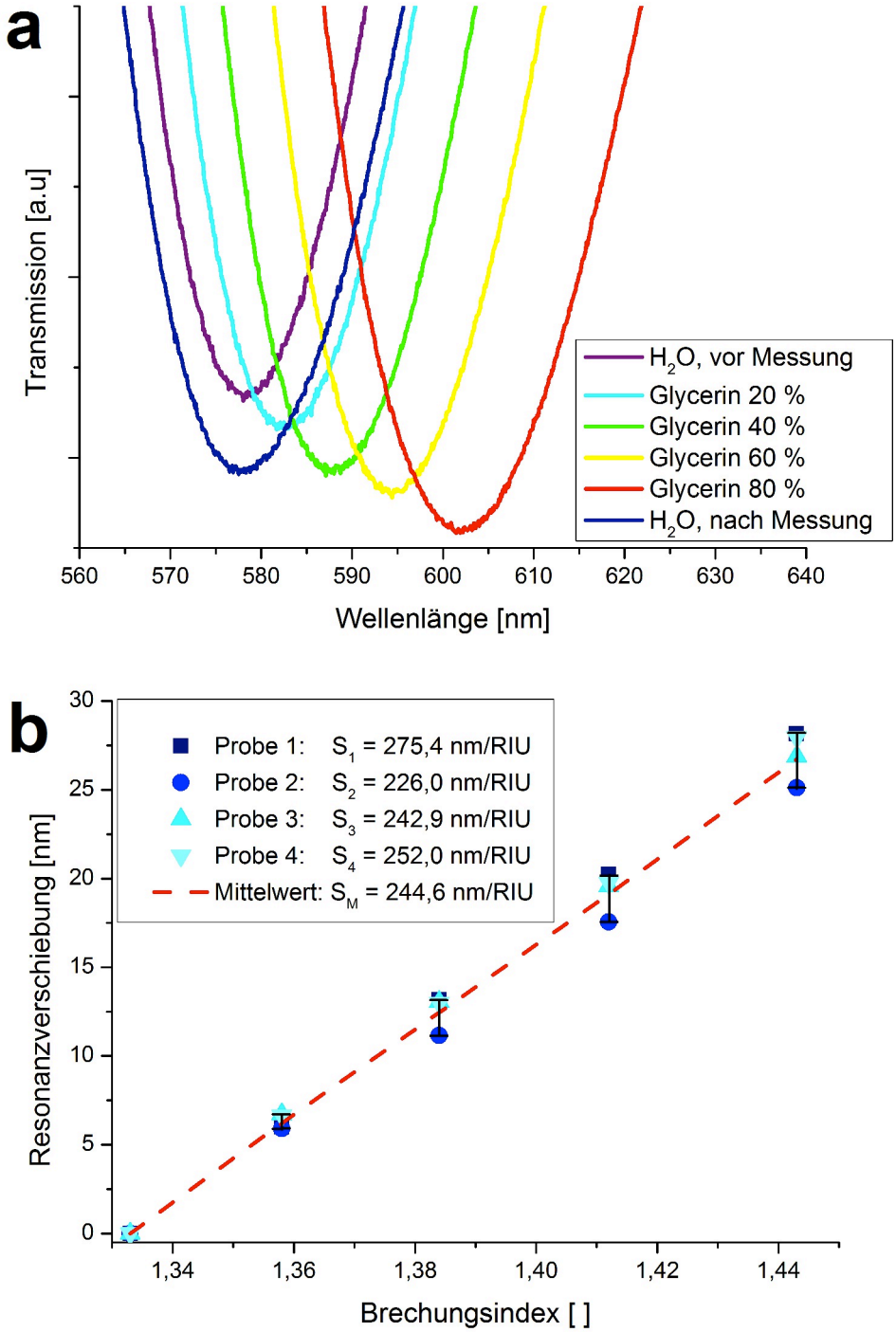

Abbildung 6.7: Brechungsindexsensitivität im physiologisch relevanten Bereich. *a) Transmissionsspektren einer Nanodrahtoberfläche in Glycerin-Wasser-Lösungen verschiedener Zusammensetzung (0-80 % (Gewicht) Glycerin). b) Bestimmung der Brechungsindexsensitivität anhand von vier Proben mithilfe linearer Interpolation der brechungsindexabhängigen Resonanzwellenlängen. Die mittlere Brechungsindexsensitivität ergibt sich daraus zu* S_M *= 244,6 nm/RIU.*

Abbildung 6.7a zeigt die sich für Reinstwasser und für verschiedene Glycerinanteile ergebenden Transmissionsspektren nahe der LSP-Transversalmode. Es zeigt sich, dass alle Resonanzkurven eine nahezu identische Form besitzen. Darüber hinaus ergibt sich eine monotone Rotverschiebung der transversalen LSP-Resonanz für steigende Glycerinanteile beziehungsweise steigende Brechungsindizes. Die Rotverschiebung geht mit einer leichten Reduktion der absolut detektierten Lichtintensität einher. Darüber hinaus stimmen die Resonanzwellenlängen in Reinstwasser vor und nach dem Kontakt mit den Glycerin-Wasser-Mischungen miteinander überein.

Die exakte Lage des Minimums wird für vier Proben, jeweils durch Interpolation einer Gaußkurve bestimmt. Dabei zeigt sich, dass sich das Resonanzverhalten der Messkurven durch eine Interpolation im Messbereich $\Delta\lambda_{Res} = \pm 5$ nm sehr gut beschreiben lässt. Deren exakte Verschiebung als Funktion des mithilfe der Abbe-Refraktometrie ermittelten Brechungsindex ist in Abbildung 6.7b aufgetragen. Es ergeben sich kaum Abweichungen zwischen den verschiedenen Proben. Ferner zeigt sich, dass die Brechungsindexsensitivität für kleine Brechungsindexänderungen innerhalb des physiologisch relevanten Bereichs in guter Näherung konstant ist. Mithilfe einer linearen Anpassung lassen sich die Brechungsindexsensitivität S_1, S_2, S_3 und S_4 der jeweiligen Probe bestimmen. Hieraus ergibt sich die mittlere Brechungsindexsensitivität zu $S_M = 244{,}6$ nm/RIU.

Anhand von Glycerin-Wasser-Gemischen lässt sich das erwartete Verhalten – eine Rotverschiebung für ansteigende Werte des optischen Brechungsindex – für alle Proben erfolgreich nachweisen (Abbildung 6.7a). Im Vergleich der zu Beginn und am Ende durchgeführten optischen Messung in Reinstwasser lässt sich zudem verifizieren, dass durch den Kontakt der Probenoberfläche mit der Lösung keine Veränderung der Resonanzwellenlänge λ_{Res} der Au-NW hervorgerufen wird. Anhand der geringen Unterschiede zwischen den Proben bei der anschließenden, quantitativen Auswertung (Abbildung 6.7b), sowie anhand der konstanten Brechungsindexsensitivität im gesamten Messbereich zeigt sich ferner die hohe Reproduzierbarkeit der Probenoberflächen und ihrer optischen Messung. Die mittlere Brechungsindexsensitivität von $S_M = 244{,}6$ nm/RIU stimmt dabei mit vergleichbaren Messungen aus der Literatur überein [168].

6.3.4 Plasmonische Proteindetektion

Die in Abbildung 6.8 verifizierte Brechungsindexsensitivität soll nun für die Detektion eines Testproteins verwendet werden. Aufgrund von Robustheit und der hohen Affinität zu Goldoberflächen wird hierfür BSA gewählt. Die Messung erfolgt jeweils zeitaufgelöst, in Transmission und bei Raumtemperatur. Zum Zeitpunkt t = 0 min wird die Nanodrahtoberfläche mit einer BSA-Lösung (c_{BSA} = 1 µM in PBS) in Kontakt gebracht. Um eine konstante Proteinkonzentration zu gewährleisten, wird die Proteinlösung während der gesamten Messung mit einer Durchflussrate von r = 250 µl/min ausgetauscht.

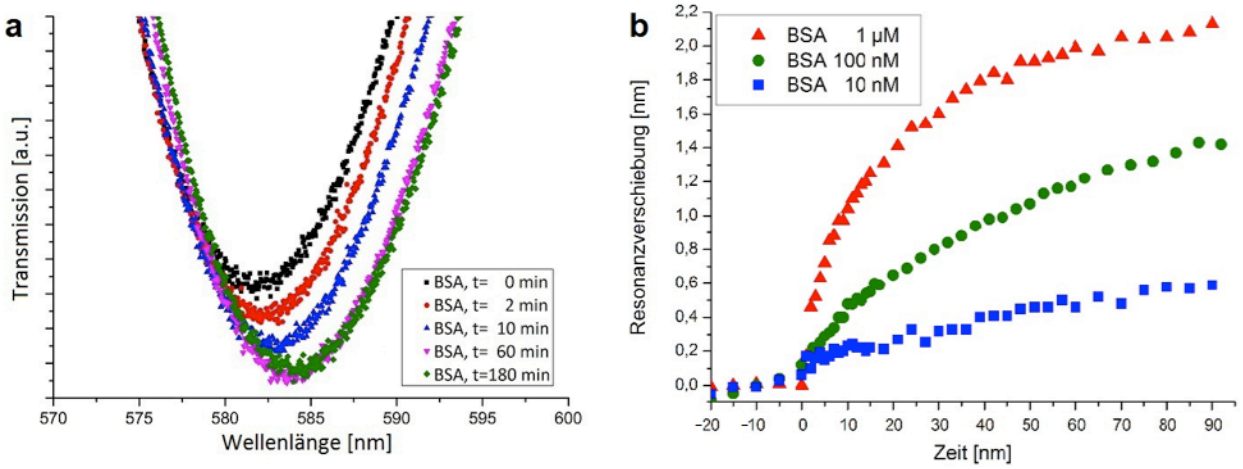

Abbildung 6.8: Plasmonischer, nanodrahtbasierter Proteinsensor. *a) Transmissionsspektren einer Au-NW-Oberfläche, umgeben von einer BSA-Lösung (c_{BSA} = 1 µM in PBS), zu verschiedenen Zeitpunkten. b) Konzentrationsabhängige Verschiebung der LSP-Resonanz einer BSA-Lösung als Funktion der Zeit.*

Abbildung 6.8a zeigt die Transmissionsspektren einer Au-Nanodrahtoberfläche in Kontakt mit der zuvor genannten BSA-Lösung zu verschiedenen Zeitpunkten. Es zeigt sich, dass die LSP-Resonanzkurve hier für kleine Zeiten (t < 10 min) eine rasche Rotverschiebung erfährt und für große Zeiten (t > 60 min) ein im Wesentlichen gesättigtes Verhalten aufweist. Diese Rotverschiebung entspricht der Adsorption von BSA-Proteinen auf den Au-NW. Ein vergleichbares Verhalten der zeitaufgelösten BSA-Detektion auf reinen [169-172] und modifizierten [171-174] Goldoberflächen konnte bereits unter Verwendung verschiedener Messtechniken beobachtet werden.

In Abbildung 6.8b ist die Änderung der plasmonischen Resonanzwellenlänge durch die oben genannte BSA-Lösung als Funktion der Zeit für verschiedene Proteinkonzentrationen dargestellt. Dabei wird eine PBS-Lösung zum Zeitpunkt t = 0 min durch eine BSA-Lösung entsprechender Konzentration (1 µM BSA, 100 nM BSA,

10 nM BSA; jeweils in PBS) ersetzt. Dabei ergibt sich das zeitaufgelöste Verhalten dadurch, dass für jeden Messpunkt aus Abbildung 6.8b die zugehörige Resonanzkurve durch eine Gaußkurve interpoliert wird.

Wie erwartet hängt die zeitaufgelöste Adsorption der BSA-Proteine stark von deren Konzentration ab. Ferner fällt auf, dass ein Sättigungszustand bei höherer Proteinkonzentration früher eintritt. Dies macht Sinn, da in diesem Fall eine vollständige Besetzung der Nanodrahtoberfläche durch eine BSA-Monoschicht früher eintritt und die BSA-BSA-Affinität für die Erzeugung dickerer Proteinschichten als deutlich geringer einzuschätzen ist als die BSA-Gold-Affinität. Die Dicke einer adsorbierten BSA-Monolage auf einer Goldoberfläche in Pufferlösung wurde von Tencer et al. [175] mithilfe eines Rasterkraftmikroskops (AFM) zu $d \approx 2$ nm bestimmt, wonach diese vollständig im Detektionsbereich des LSP-Sensors liegt.

Wie sich anhand von BSA-Proteinen zeigt, eignet sich die entwickelte Au-Nanodrahtplattform für die Detektion von Proteinen. Darüber hinaus lassen sich auf dieser Basis sogar Erkenntnisse über die zeitaufgelöste und konzentrationsabhängige Proteinadsorption gewinnen.

6.4 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieses Kapitels werden die optischen Eigenschaften der synthetisierten Nanodrahtoberfläche winkelabhängig und für verschiedene Nanodrahtdichten analysiert. Die Strukturen werden ferner hinsichtlich ihrer transversalen LSP-Signale optimiert. Hierbei ergeben sich beste plasmonische Signale unter einem senkrechten Einfallswinkel auf hochdichte Nanodrahtoberflächen, wobei die optimale Länge eines Nanodrahtes bei in etwa $l \approx 1{,}9$ µm liegt.

Darüber hinaus wird die Brechungsindexsensitivität der plasmonischen Resonanz $\lambda_{Res} = \lambda_{Res}(n)$ bestimmt, wobei sich eine Brechungsindexsensitivität von 244,6 nm/RIU ergibt. Deren monotone Brechungsindexabhängigkeit wird für die zeitaufgelöste und konzentrationsabhängige Detektion von Proteinen genutzt, wobei sich aufgrund des hervorragenden Signal-Rausch-Verhältnis geringe Schwankungen der zeitaufgelösten Resonanzverschiebung ergeben.

Die fabrizierten, nanostrukturierten Oberflächen eignen sich, um Protein-adsorptionsprozesse auf der Nanodrahtoberfläche mittels Plasmonenresonanzeffekten

sehr akkurat zu messen. Wie in Kapitel 5 diskutiert, besitzen sie ferner sehr gute elektrochemische Eigenschaften – insbesondere auch in physiologischer Lösung – und eignen sich, um elektrochemische Prozesse auf molekularer Ebene zu induzieren. Auf der Basis dieser Erkenntnisse ist eine Kombination beider Techniken als vielversprechend anzusehen. Im folgenden siebten Kapitel wird daher das Konzept einer elektrochemisch beeinträchtigen Proteinadsorption entsprechend der jeweiligen Elektrodenpolarität und Proteinladung vorgestellt.

7.) Plasmonische, nanodrahtbasierte Sensorplattform mit simultaner elektrochemischer Steuerung

Dieses Kapitel stellt zunächst das zu realisierende Sensorkonzept in den Kontext proteinsensorischer Entwicklungen. Dabei liegt der Fokus auf optischen Proteinsensoren mit simultaner elektrochemischer Steuerung. Hieraus werden insbesondere diejenigen Konzepte vorgestellt, welche die Eigenschaften von Nanostrukturen ausnutzen. Im Anschluss daran wird der verwendete Messaufbau vorgestellt und die verwendeten Proteinlösungen genannt. Vor der Durchführung von Proteinmessungen wird zunächst untersucht, ob die Plasmonenresonanzwellenlänge der Nanodrahtoberfläche in physiologischer Umgebung durch das Anlegen eines Elektrodenpotentials reversibel gesteuert werden kann. Nach einer Analyse der Proteinladung wird abschließend die elektrochemische Beeinträchtigung der Proteinadsorption - gemessen durch die Verschiebung der Resonanzwellenlänge - unter Verwendung zweier verschiedener Konzepte analysiert.

7.1 Einführung

Da markerfreie Proteinsensoren nicht auf Reporterelemente wie Fluorophore oder radioaktive Substanzen angewiesen sind und somit Analyten besser in ihrem ursprünglichen Zustand beibehalten werden können, sind diese Proteinsensoren im Bereich der medizinischen Diagnostik höchst erstrebenswert. Die Vielfalt verschiedener markerfreier Proteinsensoren ist gewaltig und kann im Rahmen dieser Arbeit nicht vollständig dargelegt werden. So seien an dieser Stelle beispielhaft magnetische, thermische, akustische, sowie auf Schwingfedern und Quarzkristall-Mikrowaagen basierende Proteinsensoren genannt [176-180]. Darüber hinaus wurden auch eine Vielzahl an elektrochemischen Proteinsensoren realisiert [181, 182]. Eine Detektion von Proteinen erfolgte dabei in vielen Fällen auf der Basis der CV-Technik [183, 184], der Impedanzspektroskopie [185-188], sowie kapazitiv auf der Basis von Feldeffekttransistoren [189, 190]. Ein Überblick über die Vielfalt optischer, markerfreier Biosensoren wurde durch Gauglitz [191] gegeben. Unter den vorgestellten Sensoren gelten insbesondere die refraktometrischen Messtechniken, wie beispielsweise Interferometrie [192] oder Plasmonenresonanz [157, 158, 193], als vielversprechend, da bei diesen Techniken der Brechungsindex eines grenzflächigen Dünnfilms, bestehend aus

adsorbierten Proteinen, gemessen wird. Mithilfe dieser Techniken konnten bereits hervorragende Resultate hinsichtlich Brechungsindexsensitivität und Detektionslimit erzielt werden [158, 163]. Für eine detaillierte Diskussion der Plasmonenresonanz sei ferner auf die Kapitel 6.1.1 und 6.1.2 verwiesen.

Die Kombination aus Plasmonik und Elektrochemie wurde bislang insbesondere für die Anregung von SPP-Signalen in flachen, metallischen Strukturen untersucht. So wurden die simultan gemessene elektrochemische und plasmonische Proteindetektion hinsichtlich eines höheren Informationsgehalts miteinander korreliert [194-197]. Im Hinblick auf das im Rahmen dieser Arbeit zu entwickelnde Sensorkonzept sind jedoch insbesondere diejenigen Kombinationen interessant, bei welchen die durch biomolekulare Adsorption induzierte, plasmonische Signaländerung eine elektrochemische Beeinträchtigung aufweist. Ein elektrochemisch kontrolliertes Adsorptionsverhalten von Proteinen ist als vielversprechend anzusehen, da durch Proteinakkumulation einerseits eine Verbesserung des Detektionslimits zu erwarten ist, andererseits aber auch eine Selektion sowie eine spezifische Detektion eines entsprechend geladenen Proteintyps möglich erscheint. Eine elektrochemische Steuerung unter Verwendung von SPP-Signalen gelang beispielsweise für die Hybridisierung von DNA [198, 199], sowie für die Antikörper-Antigen-Bindung [200]. Darüber hinaus konnte die Ablösung von BSA- und IgG-Proteinen von einer Goldoberfläche elektrochemisch induziert werden [201].

Systeme, bei welchen eine elektrochemisch gesteuerte Proteinadsorption an Nanostrukturen eine optische Signaländerung aufweist, wurden bislang wenig untersucht. Eine erste Analyse erfolgte durch Huang unter Verwendung von Au-NW, jedoch mittels eines Fluoreszenzmarkers [36]. Mithilfe des Fluoreszenzmarkers wurde dabei anhand einer Modulation der emittierten Lichtintensität Änderungen des Abstandes zwischen Au-NW und dem verwendeten Fluoreszenzmolekül detektiert. Es wurden dabei Thrombin bindende Aptamere an den Nanodrähten immobilisiert und mit einer Proteinlösung in Kontakt gebracht, welche biotinyliertes Thrombin und einen Streptavidin-Fluorophor-Komplex beinhaltete, sodass sich an den Nanodrähten ein Komplex, bestehend aus einem Aptamer, einem biotinyliertem Thrombin und einem Streptavidin-Fluorophor-Komplex ausbildete. Dieser war negativ geladen und wurde nach Anlegen eines WE-Potentials an einen Au-NW von der Elektrodenoberfläche abgelöst, wodurch eine Abnahme des Fluoreszenzsignals induziert wurde. Nach Anlegen eines positiven WE-Potentials wurde der biomolekulare Komplex wieder an die Au-NW-Oberfläche angebunden, wodurch wiederum das anfängliche Fluoreszenzsignal sichtbar wurde. Das System konnte demnach

als reversibel charakterisiert werden. Über zwei weitere, kombinierte und markerfreie Systeme wurde jüngst berichtet. Diese werden im Folgenden vorgestellt.

Chen et al. [202] berichteten über einen kombinierten, nanotechnologischen Proteinsensor unter Verwendung einer mit einem dünnen Kohlenstofffilm bedeckten, nanoporösen Siliziumstruktur. Unter Verwendung eines pH-Werts von pH = 6,7 wurden dabei positiv geladene Lysozyme bei Anlegen eines negativen WE-Potentials in den Nanoporen akkumuliert (Abbildung 7.1a). Hierbei wurde die Änderung des mittleren Brechungsindex in den Poren interferometrisch detektiert. In Abbildung 7.1b ist eine zeitaufgelöste Messung einer Lysozymlösung (obere Spur) gegenüber einer reinen Pufferlösung (untere Spur) dargestellt. Dabei erfolgte der Proteinkontakt der oberen Spur bei t = 0 min. Für beide Messungen wurden in festen Abständen identische, negative WE-Potentiale angelegt und anschließend wieder in den Ausgangszustand rückgeführt. Wie sich anhand von Abbildung 7.1b zeigt, ergaben sich dabei im Fall der Lysozymlösung große optische und reversible Signale, deren Ausprägung mit zunehmendem WE-Potential anstieg. Hingegen ergaben sich in reiner Pufferlösung vernachlässigbar kleine Signale.

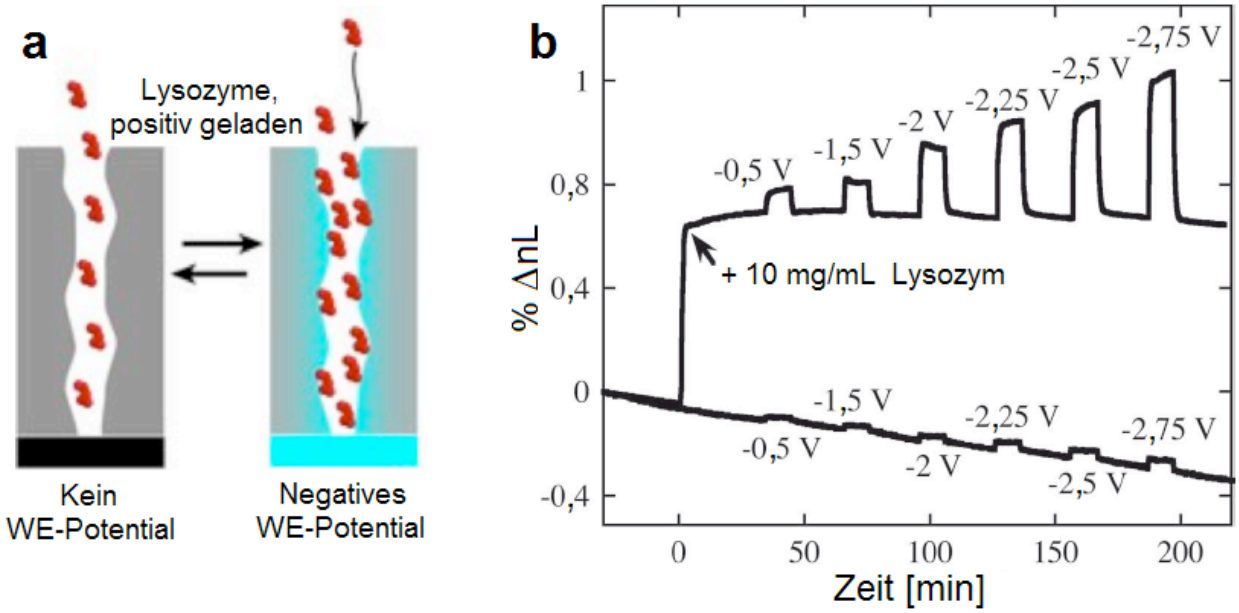

Abbildung 7.1: Proteinanreicherung in nanoporösem Silizium. *a) Schematische Darstellung einer elektrochemisch induzierten Proteinanreicherung im Detektionsbereich eines nanotechnologischen Sensors. Nach Anlegen eines negativen WE-Potentials an die nanoporöse Siliziumstruktur wurden positiv geladene Proteine an der nanostrukturierten Elektrode akkumuliert. b) Interferometrische Messung einer elektrochemischen Lysozymanreicherung (obere Kurve). Als Referenz (untere Kurve) diente eine reine Pufferlösung [nach 202].*

Ein weiterer kombinierter, nanotechnologischer Proteinsensor wurde von Escobedo et al. vorgestellt [37] (Abbildung 7.2). Hierbei verwendeten sie die Plasmonenresonanz eines Gold-Nanolochfilms. Das Anlegen eines elektrochemischen Potentials erfolgte zwischen den beiden durch den Nanolochfilm räumlich getrennten Elektrolytreservoirs. Die bei einem physiologischen pH-Wert negativ geladenen BSA-Proteine (Analyt) erfuhren entsprechend der in Abbildung 7.2 dargestellten Polung eine elektrophoretische Kraft und wurden in das obige Reservoir transportiert. Zugleich erfuhren Sie eine Kraft entsprechend der Flussrichtung. Das simultane Einwirken beider Effekte führte dazu, dass die Proteine an der Oberfläche der nach oben gewandten Seite des Lochfilms angereichert wurden. Diese Akkumulation wurde als Änderung der Oberflächenplasmonenresonanz (SPR) in Transmission detektiert. Es sei an dieser Stelle angemerkt, dass hierbei eine bis zu 100-fache Proteinanreicherung in weniger als t = 1 min erzielt wurde, wodurch das Detektionslimit um zwei Größenordnungen verbessert werden konnte [37].

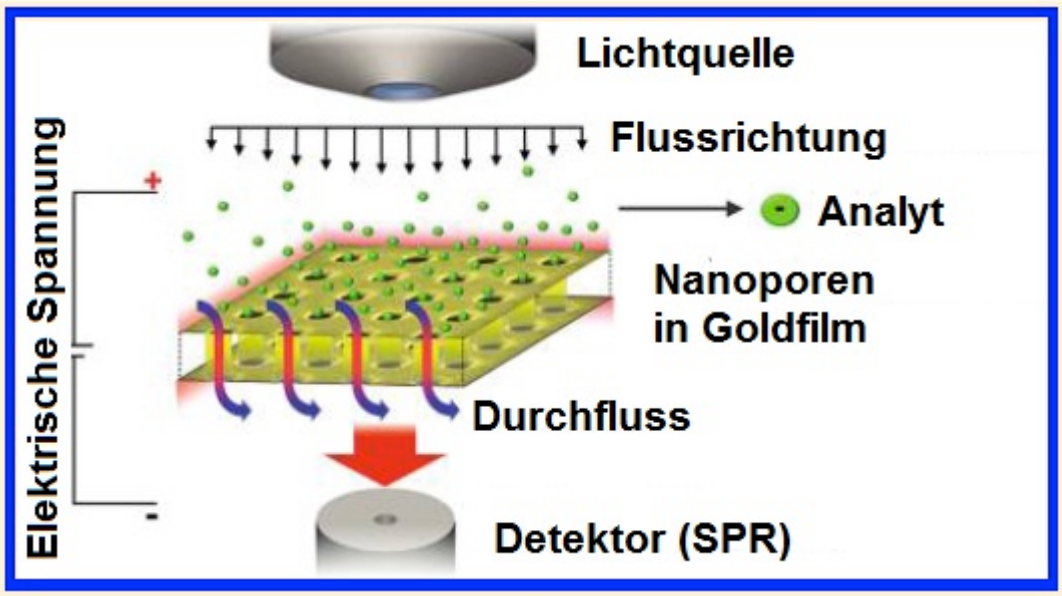

Abbildung 7.2: Proteinanreicherung an Gold-Nanolochfilm. *Schematische Darstellung einer elektrochemisch induzierten Proteinanreicherung im Detektionsbereich eines nanotechnologischen Sensors. Aus der kombinierten Anwendung einer elektrochemischen Potentialdifferenz und eines Flussgradienten erfolgte eine Proteinakkumulation an der Oberfläche eines Gold-Nanolochfilms. Die damit einhergehende Änderung des mittleren Brechungsindex wurde als SPR-Signal in Transmission gemessen [nach 37].*

Das Konzept des zu entwickelnden LSP-Proteinsensors auf Nanodrahtbasis mit simultaner, elektrochemischer Steuerung ist bereits in Abbildung 1.3 dargestellt worden. Bevor die entsprechenden Proteinmessungen vorgestellt werden, soll zunächst auf den Messaufbau eines solchen Systems eingegangen werden.

7.2 Materialien und Methoden

7.2.1 Messaufbau

Gemäß Abbildung 1.3 werden in diesem Kapitel drei technische Apparaturen simultan verwendet: ein Flusssystem, ein Transmissionsspektrometer und ein Potentiostat. Innerhalb einer elektrochemischen Flusszelle werden diese Systeme zusammengeführt.

Das Flusssystem besteht aus zwei Pumpen (Harvard Apparatus, PHD 2000 Infusion), welche jeweils unter Verwendung einer Injektionsspritze (V = 50 ml) genutzt werden. Dabei werden alle Messungen bei einer konstanten Flussrate von r = 250 µl/min betrieben. Eine fluide Verbindung zwischen den Injektionsspritzen und der elektrochemischen Flusszelle erfolgt mittels Plastikschläuchen (Verbindungslänge $l \approx 140$ cm), welche einen kreisförmigen Querschnitt und einen Innendurchmesser von d = 1,59 mm besitzen. Ein kurzes Verbindungsstück (Länge $l \approx 7$ cm, Außendurchmesser d = 1,59 mm) aus Polyetherketon (PEEK) erleichtert einen leckfreien Schraubkontakt zur Flusszelle mittels PEEK-Schrauben. Innerhalb des schlauchförmigen Verbindungstücks befindet sich ein Regelungsschalter, über welchen die in die Flusszelle gepumpte Lösung definiert wird. Ein solches Schalten kann nach Wechsel einer Injektionsspritze das Eindringen von Luftbläschen in die elektrochemische Flusszelle verhindern.

Eine transmissionsspektrometrische Untersuchung erfolgt mithilfe des VARIAN, Cary 4000, UV-VIS-Spektrophotometer, wobei unpolarisiertes Licht verwendet wird. Dabei wird das System derart arrangiert, dass sich im optischen Strahlengang lediglich die zu untersuchende Probe, die Proteinlösung innerhalb der Zelle, sowie ein die Flusszelle begrenzendes Glasplättchen befindet. Die Analyse erfolgt in einem Spektralbereich zwischen λ = 560-620 nm, die Schrittbreite wird dabei zu $\Delta\lambda$ = 0,05 nm beziehungsweise $\Delta\lambda$ = 0,10 nm gewählt.

Eine elektrochemische Steuerung erfolgt mithilfe des Potentiostats Metrohm Multi Autolab. Dabei werden Gleichspannungen innerhalb des elektrochemischen Arbeitsfensters (Kapitel 5.1.5) angelegt. Die verwendeten Elektroden sind in Abbildung 7.3 (linke Seite) dargestellt. Dabei handelt es sich um eine leckfreie Ag/AgCl-RE des Typs Harvard Apparatus LF-1-25, 1 mm OD, sowie um eine ringförmige, maschennetzartige Eigenbau-CE aus Platin. Als WE wird die Gold-Nanodrahtoberfläche aus Abbildung 7.3 (rechte Seite) selbst verwendet. Diese wird über einen reinen Golddraht (Länge $l \approx 7$ cm, Durchmesser d = 0,5 mm) und einen quadratischen Rahmenkörper (Innenkantenlänge

l = 21 mm, Außenkantenlänge l = 26 mm, Dicke d = 0,1 mm) aus reinem Gold elektrisch kontaktiert.

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendete elektrochemische Zelle wurde abteilungsintern (Dr. Diego Pallarola, Max-Planck-Institut für Intelligente Systeme, 2012) entworfen. Gemäß Abbildung 7.3 besteht die elektrochemische Flusszelle aus zwei Teilen, jede davon besteht aus Plexiglas. Der auf der linken Seite abgebildete Teil besitzt im Zentrum eine Elektrolytkammer, welche durch einen kreisförmigen Saugring (Innendurchmesser d = 10 mm) abgegrenzt wird. Diese Elektrolytkammer wird auf der dem Beobachter abgewandten Seite durch ein Deckglas begrenzt. Einfluss und Ausfluss des fluiden Systems werden mithilfe eines in der Zelle integrierten Kanals (Länge l = 27 mm, Durchmesser d = 0,80 mm) mit der Elektrolytkammer verbunden. Weitere, seitlich angebrachte Öffnungen dienen der Einführung der RE und CE in die elektrochemische Flusszelle. Der auf der rechten Seite in Abbildung 7.3 dargestellte Teil der Flusszelle besitzt im Zentrum eine Einkerbung (24 mm × 24 mm × 0,3 mm) als Auflagefläche für die Au-NW-Oberfläche, sowie eine kanalförmige Einkerbung für die elektrische Kontaktierung mittels eines Golddrahtes. Beide Teile der Flusszelle umfassen ferner je vier Steckverschlüsse sowie sechs lochförmige Schraubverschlüsse für einen anschließenden Zusammenschluss beider Teile der Flusszelle.

Ein Verschluss der elektrochemischen Flusszelle erfolgt, wie in Abbildung 7.3 dargestellt, nach Einführung der Probenoberfläche, des Goldkontakts, des Saugrings, der Elektroden, sowie der fluiden Anschlüsse in die jeweiligen Teile der Flusszelle. Hierfür wird der in Abbildung 7.3 auf der linken Seite dargestellte Zellbereich gegenüber der Abbildung um 180° entlang einer Drehachse parallel zu den fluiden Zuleitungen gedreht, sodass sich der Saugring auf der nun dem Beobachter abgewandten Seite befindet. Anschließend wird der Saugring des linken Zellsegments zentral auf die Nanodrahtoberfläche des rechten Zellsegments gepresst und abschließend unter Verwendung von sechs Schrauben leckfrei verschlossen. Die elektrochemische Flusszelle kann nun im Transmissionsspektrometer positioniert werden.

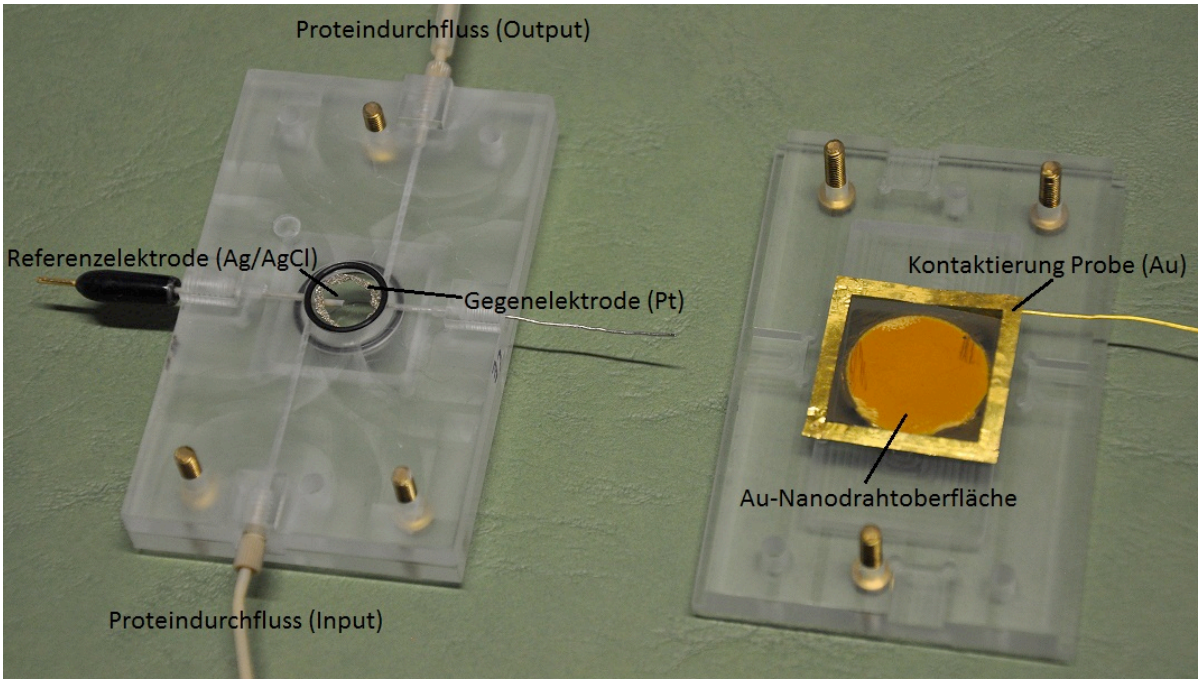

Abbildung 7.3: Aufbau einer elektrochemischen Flusszelle für Transmissionsmessungen. *Innerhalb des ringförmigen Areals eines Saugrings (linke Seite, schwarz) befindet sich eine Messkammer zur Auffüllung mit einer Elektrolytlösung. Sie umfasst ferner eine RE (Ag/AgCl), sowie eine CE (Pt) und ist in der im Bild dem Beobachter abgewandten Seite durch ein dünnes Glasscheibchen begrenzt. Über zwei dünne Kanäle wird ein Austausch der Proteinlösung gewährleistet. Die als WE fungierende Nanodrahtoberfläche (rechte Seite) wird mittels eines Goldrahmens und eines Golddrahtes elektrisch kontaktiert. Um einen vollständigen Abschluss der Messkammer zu realisieren, wird die linke Seite der Zelle um 180° gedreht, sodass sich der Saugring auf der dem Beobachter abgewandten Seite befindet. Der Saugring (linke Seite) wird anschließend auf die Probe (rechte Seite) gepresst und mithilfe von sechs Schrauben aus Edelstahl leckfrei verschlossen.*

7.2.2 Vorbereitung der Messung

Nach Kontaktierung und Positionierung der Zelle wird diese zunächst unter hohem Durchfluss (r = 5000 µl/min) mit PBS (pH = 7,4, c_{NaCl} = 140 mM) gespült. Dies dient einerseits einer zusätzlichen Reinigung von Zelle und Probenoberfläche, andererseits können so unter simultaner Anwendung leichter Stöße letzte Luftbläschen aus der Elektrolytkammer entweichen. Nachdem alle Luftbläschen aus dem optischen Strahlengang der Flusszelle entfernt worden sind, werden bei konstant hohem Durchfluss so lange LSP-Spektren aufgenommen, bis eine stabile LSP-Resonanz erreicht wird.

Im Anschluss daran hat sich eine elektrochemische Reinigung als hilfreich erwiesen. Diese dient der oxidativen Entfernung organischer Kontaminationen unmittelbar vor der Durchführung einer Messung. Dabei werden jeweils sechs CV-Schleifen

(ν = 50 mV/s) innerhalb des elektrochemischen Arbeitsfensters (-1200 mV < ϕ_{WE} < +700 mV) in PBS durchfahren und im Anschluss daran das Transmissionsspektrum der LSP-Resonanz gemessen. Dieser Prozess wird so lange wiederholt, bis das LSP-Signal und die CV-Messung stabil sind. Anhand von SEM-Aufnahmen zeigen sich hierdurch keine Veränderungen der Goldoberfläche.

Abschließend wird eine Proteinlösung unter Hochdruck (r = 5000 µl/min) in die Flusszelle gepumpt. Sobald die Proteine in die Zelle gelangen, wird die Messung bei einer konstanten Flussrate von r = 250 µl/min gestartet.

7.2.3 Proteine

Als Proteine werden BSA (Albumine bovine Fraction V, Serva, Heidelberg) und Lysozyme aus Hühnereiweiß (Jena Bioscience, Jena) verwendet. Gemäß der Herstellerinformation besitzen diese einen isoelektrischen Punkt von pIE_{BSA} = 4,5-5,0 und $pIE_{Lysozym}$ = 10,5-11,5. Diese werden in PBS-Lösung (pH = 7,4) gelöst. Die Ionenstärke der Lösung beträgt dabei c_{NaCl} = 10 mM (Kapitel 7.3.3) beziehungsweise c_{NaCl} = 140 mM (Kapitel 7.3.4).

7.2.4 Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese dient der Bestimmung des isoelektrischen Punktes einer Proteinlösung und damit der Ladungspolarität von Proteinen bei konstantem pH-Wert. Im Rahmen dieser Arbeit wird hierfür die sogenannte Nichtgleichgewicht-pH-Gelelektrophorese (NEPHGE) verwendet, da hiermit auch eine Auflösung in basischer Umgebung gelingt. Hinsichtlich der Funktionsweise dieser Technik sei hierbei auf die Literatur verwiesen [203, 204]. Das hier verwendete NEPHGE-System wurde kommerziell erworben (Serva Elektrophoresis GmbH, Heidelberg). Es besteht im Wesentlichen aus einer Leistungseinheit (Power Supply: Blue Power 500), einer Gelkammer (Hoefer SE 260) sowie einem Laufgel (SERVA Gel™ IEF3-10). Hierbei wird ein Probenpuffer (Serva Elektrophoresis, Cat. No.: 42537), ein Anodenpuffer (40 mM DL- Glutaminsäure, Sigma Aldrich) und ein Kathodenpuffer (20 mM NaOH) verwendet.

Das Laufen der Proteine (BSA und Lysozym) erfolgt zunächst für t_1 = 60 min bei U_1 = 100 V, anschließend für t_2 = 20 min bei U_2 = 200 V und abschließend für t_3 = 90 min bei

U_3 = 150 V. Diese Methode dient in unserem Fall der Verifikation der Ladungsverhältnisse des jeweiligen Proteins bei einem physiologischen pH-Wert von pH = 7,4.

7.3 Ergebnisse und Diskussion

7.3.1 Elektrochemische Steuerung der Plasmonenresonanz

Eine erste LSP-Messung mit simultaner elektrochemischer Steuerung erfolgt in reiner Pufferlösung, das heißt ohne die Beigabe von Proteinen. Hierbei wird die LSP-Erwiderung der Nanodrähte auf das Einwirken eines elektrochemischen Feldes untersucht.

Ein Überblick über die Effekte, welche das LSP-Signal nach Anlegen eines elektrochemischen Potentials beeinträchtigen, wurde durch Dahlin et al. gegeben [205]. Demnach werden für einkristalline und defektarme Gold-Nanodrahtoberflächen in wässriger Lösung und in Abwesenheit von Elektronentransferprozessen im Wesentlichen Beeinträchtigungen erwartet, welche Änderungen der Elektronendichte im metallischen Plasma sowie Änderungen der Ionenverteilung in der Elektrolytlösung zuzuordnen sind.

Ein zeitaufgelöstes LSP-Resonanzsignal einer Au-NW Oberfläche unter elektrochemischer Beeinträchtigung ist in Abbildung 7.4 dargestellt. Analog zu MacKenzie et al. [35] erfolgen hierbei in konstanten Zeitintervallen (Δt = 10 min) Änderungen des WE-Potentials gegenüber der verwendeten Ag/AgCl-RE, wobei deren Einfluss auf die LSP-Resonanz zeitaufgelöst und simultan in Zeitabständen von 60 s gemessen wird. Die Messung erfolgt dabei in einer PBS-Lösung (pH = 7,4, c_{NaCl} = 140 mM). Es werden WE-Potentiale beider Polaritäten innerhalb des elektrochemischen Arbeitsfensters an die Nanodrähte angelegt (ϕ_{WE} = ±500 mV). Hinsichtlich einer Überprüfung auf Reversibilität dieses Prozesses wird jeweils vor und nach Anlegen des WE-Potentials das LSP-Signal einer Nullspannung gemessen. Die Messung wird in drei aufeinanderfolgenden Durchgängen ausgeführt, wobei sich identische Messergebnisse ergeben. In Abbildung 7.4 ist lediglich der erste Durchgang dargestellt.

Im Bezug auf Abbildung 7.4 können wichtige Sachverhalte hinsichtlich des plasmonisch-elektochemischen Verhaltens einer Nanodraht-Elektrolyt-Schnittstelle ausgelesen werden. So zeigt sich anhand der abrupten Änderungen des optischen Signals nach Schalten des Elektrodenpotentials, dass die Nanodraht-Elektrolyt-Schnittstelle eine sehr schnelle optische Erwiderung auf elektrochemische Signale besitzt, sodass sie mit den

im Rahmen dieser Messung verwendeten Zeitabständen von 60 s nicht aufgelöst werden kann. Es wird ferner ersichtlich, dass die LSP-Resonanz nach Anlegen eines positiven Potentials (ϕ_{WE} = +500 mV) eine Rotverschiebung erfährt, wogegen die LSP-Resonanz nach Anlegen eines negativen Potentials (ϕ_{WE} = -500 mV) blauverschoben wird. Darüber hinaus zeigt sich im Gegensatz zu [34], dass nach Anlegen eines WE-Potentials beliebiger Polarität kein Drift der LSP-Spur auftritt und dass die LSP-Resonanz vor und nach Anlegen eines WE-Potentials beliebiger Polarität identisch ist.

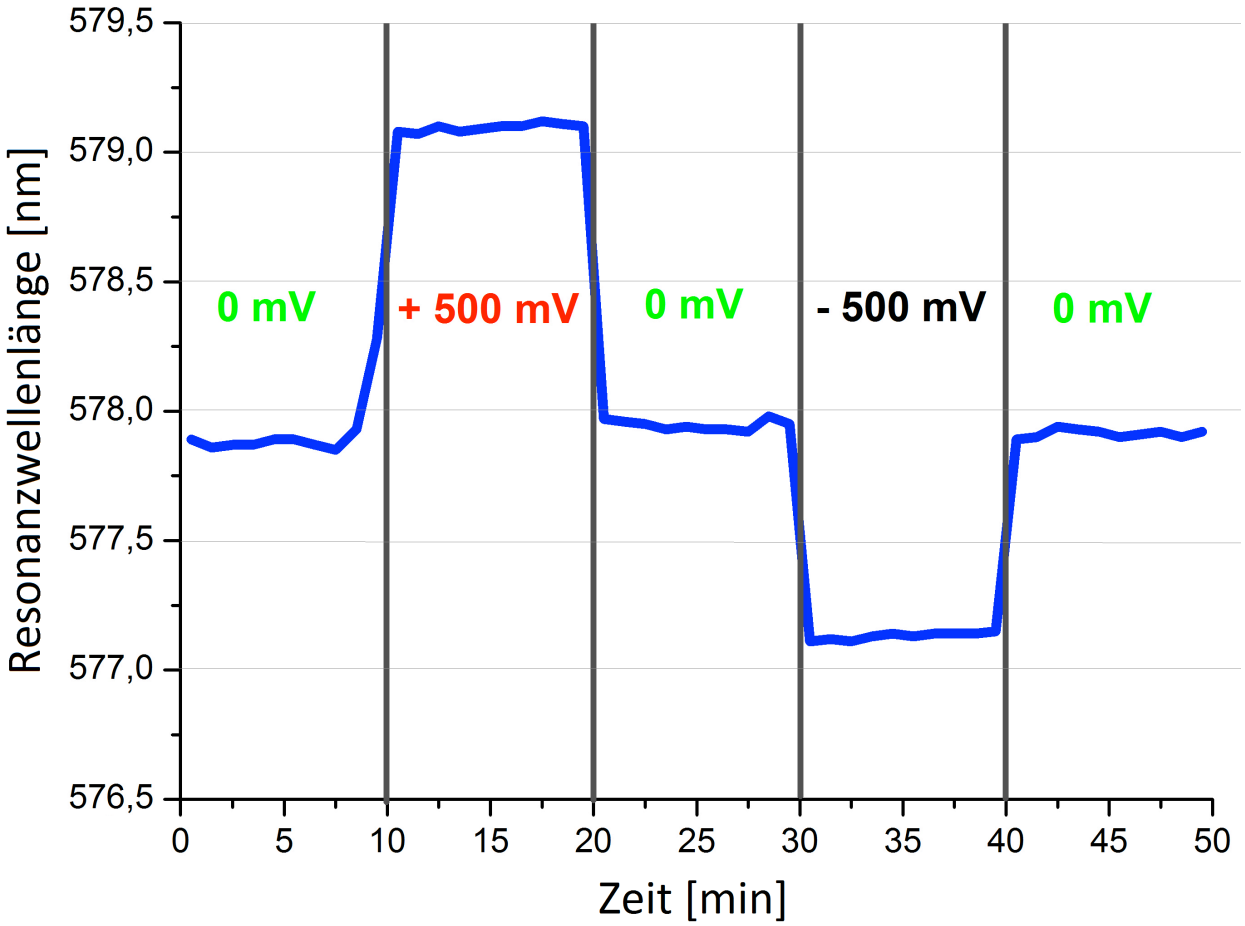

Abbildung 7.4: Elektrochemisch gesteuerte LSP-Resonanz. *Zeitaufgelöste LSP-Resonanz einer elektrochemisch beeinträchtigten Au-NW-Oberfläche in PBS-Lösung. Die PBS-Lösung besitzt einen pH-Wert von pH = 7,4 sowie eine Ionenstärke von* c_{NaCl} *= 140 mM. Veränderungen im an die WE angelegten elektrochemischen Potential induzieren schnelle und reversible Verschiebungen der Resonanzwellenlänge. Bei angelegtem, konstanten WE-Potential ist die LSP-Resonanz stabil.*

Die Ursache einer LSP-Signalverschiebung nach Änderung des WE-Potentials wurde durch Mac Kenzie et al. unter Berücksichtigung ionischer und molekularer Polarisierbarkeiten beschrieben [35, 206]. Bei Anlegen eines positiven WE-Potentials verdrängen demnach Chloridionen hoher ionischer Polarisierbarkeit (Cl^-; 3,65 A^3) Wassermoleküle an den Nanodrahtoberflächen und induzieren demnach eine Rotverschiebung. Hingegen erfolgt bei Anlegen eines negativen Potentials eine Verdrängung von Wassermolekülen durch Natriumionen niedriger ionischer Polarisierbarkeit (Na^+; 0,086 A^3), was zu einer Blauverschiebung des LSP-Signals führt.

Aus der konstanten LSP-Resonanz des Nullpotentials vor und nach Anlegen eines WE-Potentials beliebiger Polarität, sowie aus der driftfreien LSP-Spur nach Anlegen eines Potentials beliebiger Polarität lässt sich schlussfolgern, dass es sich hierbei um ein auch nach mehreren Durchläufen reversibles System handelt. Reversibilität ist als notwendige Voraussetzung für die Proteindetektion mithilfe eines solchen Systems anzusehen, da in diesem Fall alle Änderungen in der LSP-Resonanz der Phasengrenze zwischen Nanodrähten und physiologischem Elektrolyten - und nicht der inneren Nanodrahtstruktur - zuzuordnen sind.

7.3.2 Bestimmung der Proteinladung

Die Bestimmung der isoelektrischen Punkte verwendeter Proteinlösungen – und damit der Bestimmung der Proteinladung bei physiologischem pH-Wert – erfolgt unter Verwendung des in Kapitel 7.2.4 dargestellten NEPHGE-Verfahrens. Abbildung 7.5 zeigt die Aufnahme des Elektrophoresegels einer Lysozym- und BSA-Lösung gegenüber einem Referenzsystem. Hiernach ergibt sich für den isoelektrischen Punkt der Lysozymlösung: $9{,}5 < pIE_{Lysozym} < 10{,}7$. Ferner gilt für den isoelektrischen Punkt der verwendeten BSA-Lösung: $4{,}5 < pIE_{BSA} < 5{,}2$. Es kann zudem zu Beginn der Messung beobachtet werden, dass die Proteine bei einem physiologischen pH-Wert einer entgegengesetzten, elektrophoretischen Bewegung folgen.

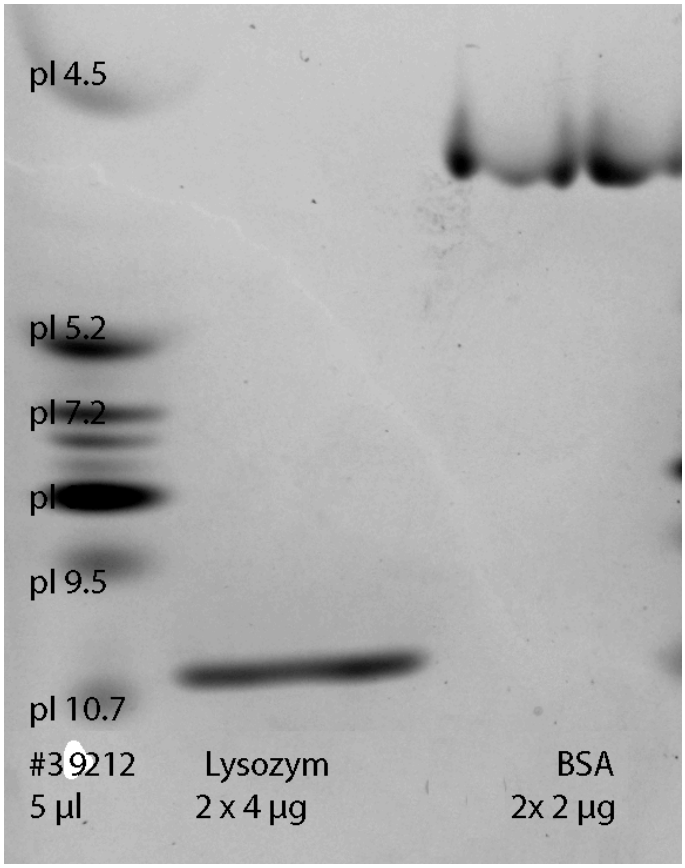

Abbildung 7.5: Gelelektrophorese mit BSA und Lysozym. *Nichtgleichgewichts-pH-Gelelektrophorese (NEPHGE) zur Auflösung des isoelektrischen Punktes der im Folgenden verwendeten Proteinlösungen von Lysozym ($pIE_{Lysozym} \approx 10{,}5$) und BSA ($pIE_{BSA} \approx 4{,}7$). Bei einem physiologischen pH-Wert von pH = 7,4 zeigt sich eine positive Gesamtladung der Lysozyme und eine negative Gesamtladung von BSA.*

Die mittels NEPHGE gemessenen isoelektrischen Punkte der Proteinlösungen stimmen mit den Herstellerangaben überein. Es zeigt sich, dass beide Proteinspezies eine elektrische Neutralität bei einem pH-Wert erreichen, welcher sich in großer Distanz zu den in diesem Kapitel verwendeten physiologischen pH-Wert (pH = 7,4) befindet. Anhand der elektrophoretischen Bewegung bei physiologischem pH-Wert lässt sich folgern, dass sich die Proteine in einem entgegengesetzten Ladungszustand befinden. Dieser entspricht im Fall der BSA-Proteine einer negativen Gesamtladung. Für Lysozyme besteht hingegen der Zustand einer positiven Gesamtladung.

7.3.3 Elektrochemisch gesteuerte Proteindetektion (geschaltete Spannung)

In den folgenden beiden Kapiteln wird nun die in 7.3.1 studierte elektrochemische Steuerung der Nanodrahtoberfläche genutzt, um die Proteinakkumulation an der Sensoroberfläche mithilfe der lokalisierten Plasmonenresonanz zu detektieren. Hierfür werden zwei verschiedene Ansätze verwendet.

Als Machbarkeitsnachweis werden zunächst verschiedene WE-Potentiale während einer Messung an derselben Probe angelegt. Hierdurch können eine einheitliche Brechungsindexsensitivität sowie identische Prozessbedingungen sichergestellt werden. Jedoch treten, wie in Abbildung 7.4 dargestellt, durch Modifikationen im lokalen Brechungsindex induzierte LSP-Signaländerungen bei Schalten des WE-Potentials nicht nur durch Proteinadsorption, sondern auch durch eine Änderung der Ionenverteilung an der Phasengrenze auf. Die Proteindetektion ist demnach in diesem Fall eine große Herausforderung, denn es müssen Proteinsignale und ionische Signale voneinander unterschieden werden. Im Bezug auf das vorliegende Konzept wird die ionische Signalgebung und die Signalgebung durch Proteine dahingehend entkoppelt, dass ein durch Veränderungen des Arbeitspotentials induziertes ionisches Signal nur zugelassen wird, solange sich keine Proteine in der Pufferlösung befinden.

Die LSP-Spur einer zeitaufgelösten Proteindetektion unter Verwendung dieses Ansatzes ist in Abbildung 7.6 dargestellt. Hierbei wird eine hochkonzentrierte Lösung negativ geladener BSA-Proteine (c_{BSA} = 500 µM) in PBS (pH = 7,4, c_{NaCl} = 10 mM) sowie eine reine PBS-Pufferlösung (pH = 7,4, c_{NaCl} = 10 mM) verwendet. In Feld A wird zunächst die LSP-Resonanz in reiner Pufferlösung bei einem negativen WE-Potential (ϕ_{WE} = -1200 mV) stabil gehalten. Bei t = 20 min wird die reine Pufferlösung durch eine hochkonzentrierte BSA-Lösung ersetzt. In Feld B ergibt sich nachfolgend eine Signalverschiebung der LSP-Resonanz um in etwa $\Delta\lambda \approx 8$ nm, welche zunächst schnell erfolgt und anschließend in Sättigung übergeht. Bei konstantem WE-Potential wird die BSA-Lösung anschließend durch eine Pufferlösung ersetzt, ohne dass ein merklicher Abfall des LSP-Signals erscheint (Feld C, $\Delta\lambda$ < 0,5 nm). Zum Zeitpunkt t = 190 min wird nach Stabilisation des LSP-Signals in reiner Pufferlösung das WE-Potential von ϕ_{WE} = -1200 mV auf ϕ_{WE} = +700 mV geschaltet. Die Änderung des Elektrodenpotentials induziert eine Modifikation der Ionenverteilung an der Phasengrenze, wodurch in Feld D ein Anstieg der LSP-Resonanz analog zu Abbildung 7.4 ersichtlich ist. Nachdem ein Sättigungszustand der ionischen Signalgebung erreicht ist, wird die Pufferlösung bei konstant positivem Elektrodenpotential wiederum durch eine BSA-Lösung ersetzt (t = 320 min). Dadurch ergibt sich zusätzlich zu dem in Feld A

dargestellten Proteinsignal ein weiteres Proteinsignal in Feld E, wobei letzteres elektrochemisch induziert wird.

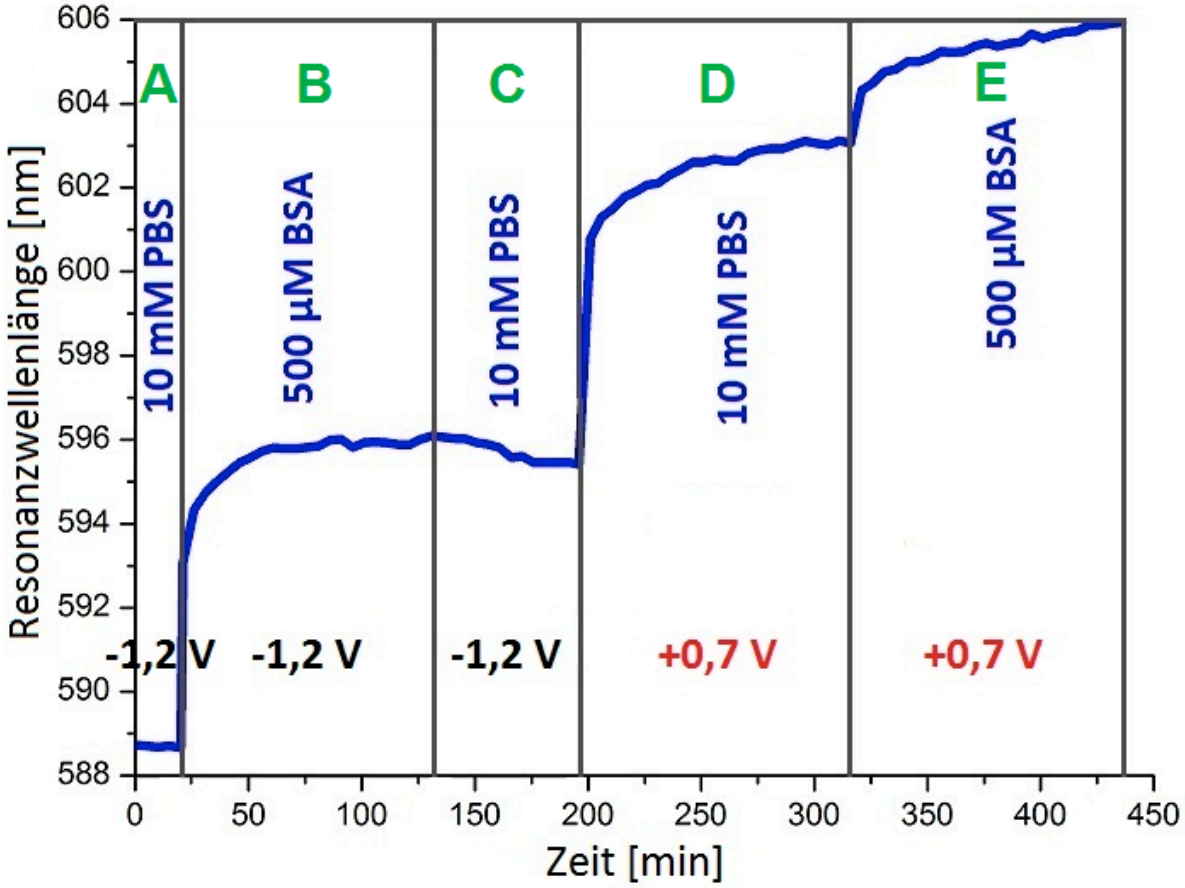

Abbildung 7.6: BSA-Detektion bei geschalteter Spannung. *Zeitaufgelöste LSP-Resonanz einer elektrochemisch beeinträchtigten Au-NW-Oberfläche in physiologischer Umgebung (pH = 7,4) zur Detektion von BSA. Änderungen der physiologischen Lösung zwischen 10 mM PBS beziehungsweise 500 µM BSA in 10 mM PBS erfolgen ausschließlich bei konstantem Potential der WE vs. Ag/AgCl-RE. Ein Schalten des elektrochemischen Potentials erfolgt in reiner PBS-Lösung.*

Die wesentliche Aussagekraft besteht in dem in den Feldern A, B, und E dargestellten Sachverhalt. Negativ geladene BSA-Proteine verursachen bei Einwirkung eines repulsiven Elektrodenpotentials eine Signalverschiebung von circa $\Delta\lambda_{Repulsiv} \approx 8$ nm, welcher anschließend in einen Sättigungszustand übergeht (Feld B). Es können jedoch weitere Proteine an der Nanodrahtoberfläche akkumuliert und mittels eines LSP-Signals gemessen werden, sofern das repulsiv einwirkende Elektrodenpotential in ein attraktiv einwirkendes Elektrodenpotential übergeht. Dies ist in Feld E dargestellt, das hierbei zusätzlich induzierte LSP-Proteinsignal beträgt in etwa $\Delta\lambda \approx 4$ nm. Im Falle eines attraktiven Elektrodenpotentials ergibt sich somit ein gesamtes Proteinsignal von in etwa

$\Delta\lambda_{Attraktiv} \approx 8$ nm + 4 nm = 12 nm. Es lässt sich demnach ableiten, dass ein simultan angelegtes elektrochemisches Potential geeigneter Polarität eine plasmonische, nanodrahtbasierte Proteindetektion auf geeignete Weise steuern beziehungsweise verstärken kann. Feld C und D werden hierbei der Entkopplung von Ionensignal und Proteinsignal gerecht. Ionische LSP-Signale gehen immer mit Änderungen des WE-Potentials einher. Um diese von Proteinsignalen unterscheiden zu können, wird die Proteinlösung zunächst durch eine proteinfreie Ionenlösung ersetzt (Feld C), das anschließende Schalten des Elektrodenpotential (Figur D) erfolgt demnach in proteinfreier Lösung. Dem zugehörigen LSP-Signal kann somit ein ionischer Ursprung zugeordnet werden. Dabei sei angemerkt, dass die für BSA-Proteine bekannte, irreversible Adsorption auf Goldoberflächen ausgenutzt wird [173, 174]. Dieser Charakter wird in Feld C sichtbar, wobei nach Austausch der Proteinlösung durch eine Pufferlösung eine konstante LSP-Resonanz erreicht wird.

7.3.4 Elektrochemisch gesteuerte Proteindetektion (konstante Spannung)

Im Folgenden werden unter Verwendung der LSP-Resonanzen Messungen zur elektrochemisch gesteuerten zeitaufgelösten Proteinadsorption durchgeführt. Hierfür wird die durch Proteinadsorption induzierte LSP-Resonanzverschiebung zeitaufgelöst bei jeweils konstantem WE-Potential gemessen. Die zeitaufgelöste Adsorption bei verschiedenen WE-Potentialen wird dabei verglichen, wobei jede dieser Messungen auf einer anderen, jedoch identisch hergestellten Nanodrahtoberfläche durchgeführt wird. Aufgrund des konstanten Elektrodenpotentials treten keine ionischen Signale auf, die Resonanzverschiebung kann deswegen eindeutig der Proteinadsorption zugeordnet werden.

In Abbildung 7.7 und Abbildung 7.8 ist die zeitaufgelöste Adsorption negativ geladener BSA-Proteine beziehungsweise positiv geladener Lysozyme in PBS-Lösung ($c_{BSA,Lysozym}$ = 1 µM, c_{NaCl} = 140 mM, pH = 7,4) für verschiedene WE-Potentiale dargestellt. In allen Fällen wird die Resonanzwellenlänge zunächst (t = 0-20 min) bei jeweils angelegtem Elektrodenpotential gemessen und jeweils der Mittelwert der LSP-Resonanz als Nulllinie definiert. Demnach entspricht die Nulllinie allgemein jeweils einer unterschiedlichen Resonanzwellenlänge. Bei t = 20 min wird jeweils die reine Pufferlösung durch eine Proteinlösung ausgetauscht und die Proteinadsorption über insgesamt Δt = 90 min

(t = 20-110 min) zeitaufgelöst gemessen.

Wie aus Abbildung 7.7 hervorgeht läuft die zeitaufgelöste Adsorption negativ geladener BSA-Proteine unter Verwendung eines attraktiven WE-Potentials (ϕ_{WE} = +500 mV) schneller ab als ohne WE-Potential, wogegen sie unter Verwendung eines repulsiven WE-Potentials (ϕ_{WE} = -500 mV) langsamer abläuft.

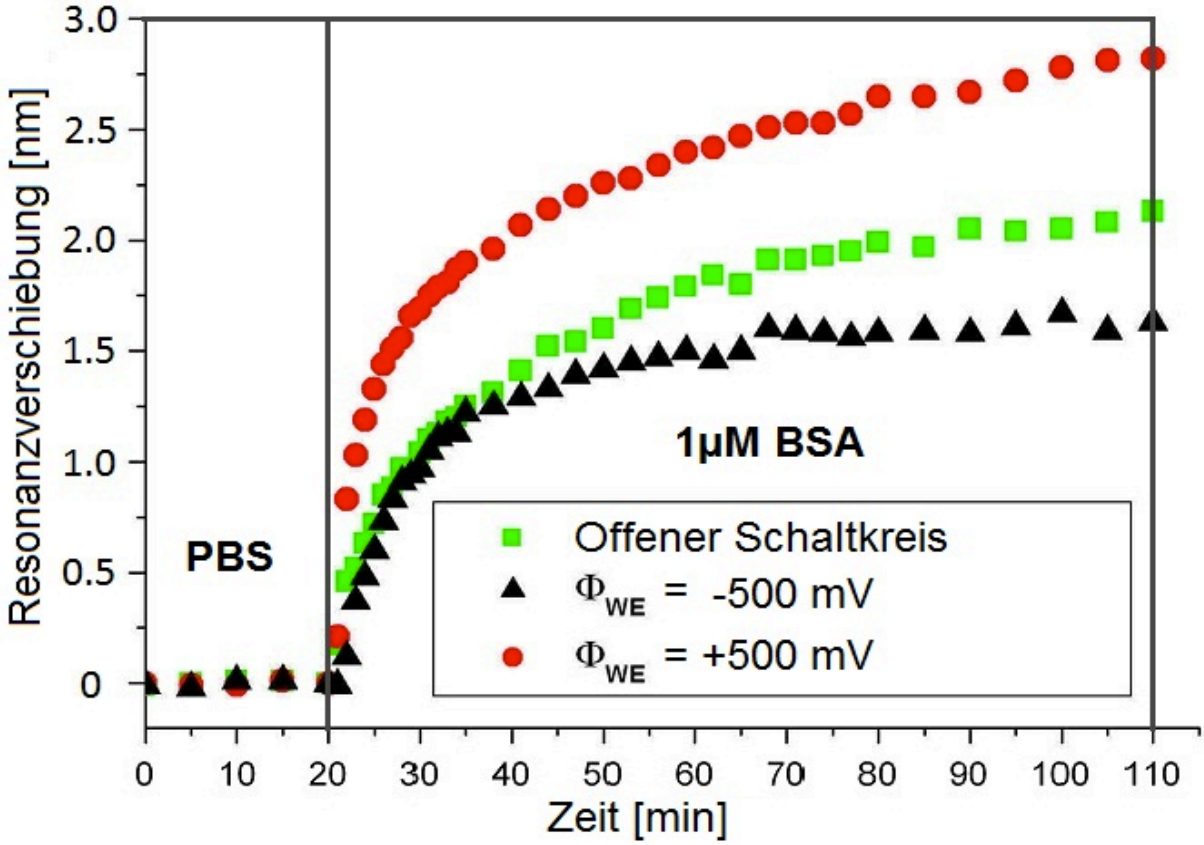

Abbildung 7.7: BSA-Detektion bei konstanter Spannung. *Zeitliche Auflösung der Resonanzwellenlänge einer Au-NW-Oberfläche aufgrund von BSA-Adsorption (c_{BSA} = 1 µM). Die zeitaufgelöste Adsorption der in PBS (pH = 7,4, c_{NaCl} = 140 mM) negativ geladenen BSA-Proteine lässt sich durch das Anlegen eines Elektrodenpotentials steuern.*

Ein ähnliches Bild ergibt sich in Abbildung 7.8 für positiv geladene Lysozyme. Wiederum läuft die zeitaufgelöste Adsorption im Falle eines attraktiven Elektrodenpotentials schneller ab als die eines offenen Schaltkreises, wobei in diesem Fall das attraktive Potential einem negativen WE-Potential (ϕ_{WE} = -500 mV) entspricht. Für ein repulsives WE-Potential (ϕ_{WE} = +500 mV) ergibt sich eine Adsorption, welche langsamer abläuft als die eines offenen Schaltkreises.

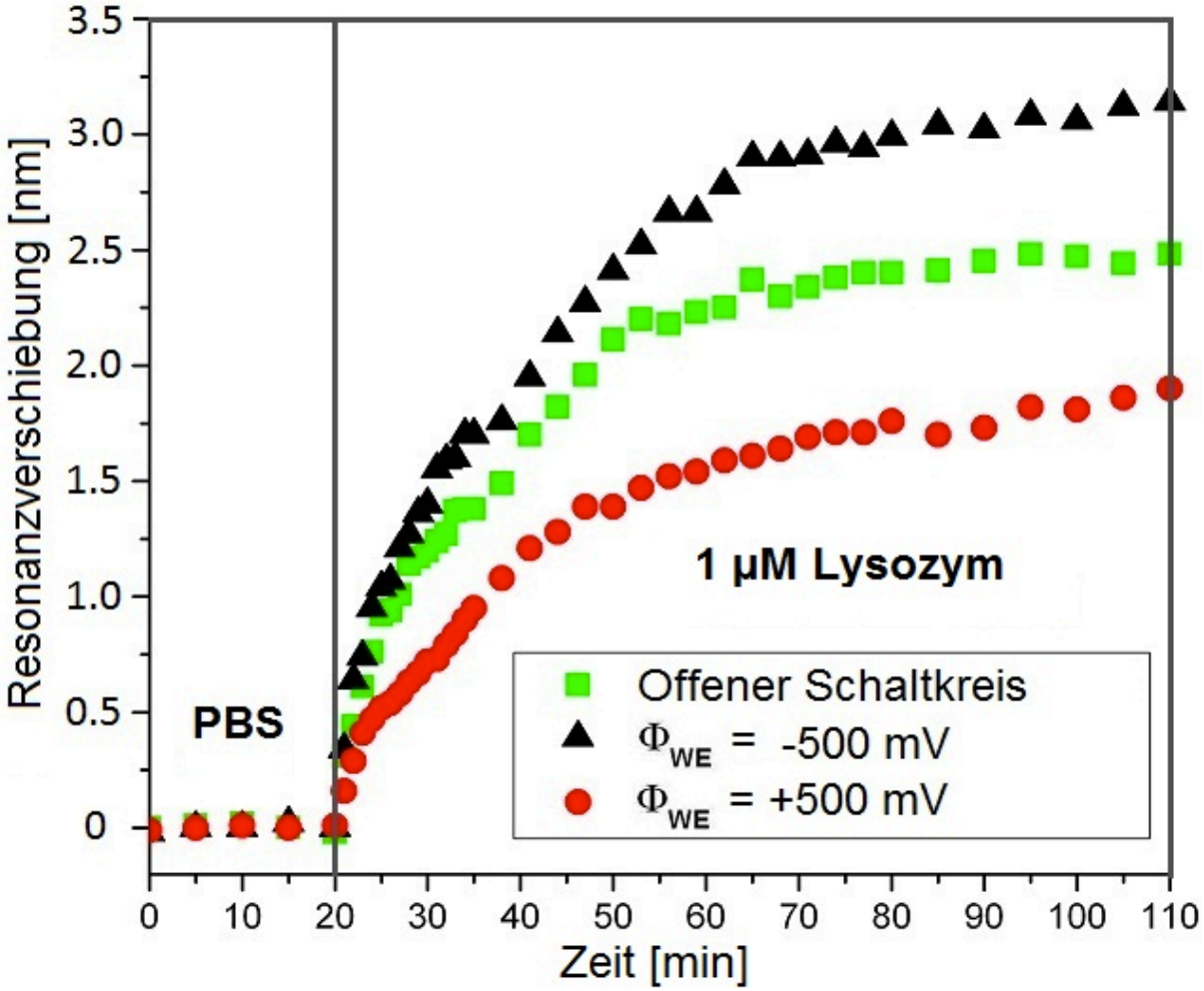

Abbildung 7.8: Lysozym-Detektion bei konstanter Spannung. *Zeitliche Auflösung der Resonanzwellenlänge einer Au-NW-Oberfläche aufgrund von Lysozym-Adsorption (c_{Lyso} = 1 µM). Die zeitaufgelöste Adsorption der in PBS (pH = 7,4, c_{NaCl} = 140 mM) positiv geladenen Lysozyme lässt sich durch das Anlegen eines Elektrodenpotentials steuern.*

Abbildung 7.7 und Abbildung 7.8 zeigen, dass mittels LSP-Resonanz die zeitaufgelöste Adsorption geladener und elektrochemisch beeinträchtigter Proteine gemessen werden kann. Darüber hinaus stimmen die Ergebnisse negativ geladener BSA-Proteine und positiv geladener Lysozyme miteinander und mit den Ergebnissen aus Abbildung 7.6 überein. Als wesentlicher Vorteil eines Ansatzes mit konstantem WE-Potential kann der Sachverhalt angesehen werden, dass keine ionische Signalgebung auftritt und somit jegliche LSP-Resonanzverschiebung der Proteinadsorption zuzuordnen ist. Jedoch werden hierbei keine Varianzen der Brechungsindexsensitivität zwischen verschiedenen Nanodrahtoberflächen und der Messbedingungen berücksichtigt. Die elektrochemisch gesteuerte LSP-Detektion einer unspezifischen Proteinadsorption mittels Au-NW verläuft nicht reversibel.

7.4 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der zeitaufgelösten LSP-Messungen mit simultan angelegtem Elektrodenpotential kann nachgewiesen werden, dass die plasmonische Resonanz von Au-NW-Oberflächen durch das Anlegen eines elektrochemischen Potentials in physiologischer Elektrolytlösung reversibel steuerbar ist. Diese Erkenntnis wird fortan für die optische Detektion einer elektrochemisch gesteuerten Proteinadsorption ausgenutzt. Unter Verwendung eines elektrochemischen Potentials wird mittels zweier unterschiedlicher Vorgehensweisen gezeigt, dass ein elektrisches Feld die durch Proteinadsorption induzierte LSP-Signalverschiebung gezielt beeinträchtigen kann. Dieses gesteuerte Verhalten kann sowohl für eine Änderung des Sättigungszustandes, als auch für eine zeitaufgelöste Proteinadsorption detektiert werden.

Eine solche gezielte Beeinträchtigung kann proteinsensorische Messungen in zweierlei Hinsichten verbessern. Gegenüber einem offenen Schaltkreis können beim Anlegen eines attraktiven Elektrodenpotentials Proteine an der Nanodrahtoberfläche angereichert werden. Hierdurch könnte das Detektionslimit verbessert werden. Darüber hinaus kann ein Anlegen eines elektrochemischen Potentials zukünftig möglicherweise auch dazu dienen, Proteine unterschiedlicher Ladung selektiv voneinander zu unterscheiden. Dieser Ansatz gilt insbesondere als vielversprechend, da sich die Ladung unterschiedlicher Proteine über den pH-Wert einer Pufferlösung steuern lässt. Für zwei Proteinspezies, deren isoelektrischer Punkt hinreichend weit voneinander entfernt ist, kann demnach ein pH-Wert genau so gewählt werden, dass deren Ladung eine entgegengesetzte Polarität besitzt.

In Kombination mit der Verwendung eines elektrochemischen Potentials kann eine Proteinselektion durch Immobilisierung von Biomolekülen, welche eine starke spezifische Affinität zum Analyten aufweisen, auf der nanostrukturierten Sensoroberfläche ergänzt werden [159]. Hierbei sei beispielsweise an eine Biotin-Streptavidin-Bindung, eine Bindung von Antikörper und Antigen oder der Hybridisierung einer doppelsträngigen DNA gedacht. Eine Immobilisierung solcher Zielproteine und Biomoleküle auf der nanostruktureierten Sensoroberfläche kann beispielsweise unter Verwendung einer SAM oder über einen verbindenden Biolinker erfolgen [159, 201, 207, 208]. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit die Brechungsindexsensitivität des nanostrukturierten, plasmonisch-elektrochemischen Sensors um ein Vielfaches zu erhöhen, indem hinsichtlich der Anregung und Messung des durch Proteinadsorption induzierten plasmonischen Signals von einer Konfiguration in Transmission zu einer Anordnung unter

Totalreflexionsbedingungen übergegangen wird [153].

8.) Literaturverzeichnis

[1]: T. H. Graham, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1861**, *151*, 183

[2]: M. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293

[3]: I. Freestone, N. Meeks, M. Sax, C. Higgitt, *Gold Bull.* **2007**, *40*, 270

[4]: F. E. Wagner, S. Haslbeck, L. Stievano, S. Calogero, Q. A. Pankhurst, K. P. Martinek, *Nature* **2000**, *407*, 691

[5]: F. Antonii, *Panacea Aurea-Auro Potabile*, Bibliopolio Frobeniano, Hamburg, 1618

[6]: J. Kunckels, *Nuetliche Observationes, Anmerkungen von Auro, Argento Potabili*, Schutzens, Hamburg, 1676

[7]: D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3280

[8]: Mrs. Fulhame, *An essay on combustion with a view to a ne wart of dying and painting*, J. Cooper, London, 1794

[9]: M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1857**, *147*, 145

[10]: P. P. Edwards, J. M. Thomas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5480

[11]: R. P. Feynman, *There's plenty of room at the bottom*, Californian Institute of Technology, 1959

[12]: E. Abbe, *Archiv für mikroskopische Anatomie* **1873**, *9*, 413

[13]: S. E. Thompson, S. Parthasarathy, *Mater. Today* **2006**, *9*, 20

[14]: G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930

[15]: M. Ternes, C. P. Lutz, C. F. Hirjibehedin, F. J. Giessibl, A. J. Heinrich, *Science* **2008**, *319*, 1066

[16]: J. M. Thomas, *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1517

[17]: M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, *7*, 801

[18]: Y. Yu, S. Cheng, C. Lee, C. R. C. Wang, *Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 6661

[19]: J. K. N. Mbindyo, T. E. Mallouk, J. B. Mattzela, I. Kratochvilova, B. Razavi, T. N. Jackson, T. S. Mayer, *JACS* **2002**, *124*, 4020

[20]: C. Joachim, J. K. Gimzewski, A. Aviram, *Nature* **2000**, *408*, 541

[21]: M. A. Reed, J. Chen, A. M. Rawlett, D. W. Price, J. M. Tour, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 3735

[22]: J. M. Tour, L. Cheng, D. P. Nackashi, Y. Yao, A. K. Flatt, S. K. S. Angelo, T. E. Mallouk, P. D. Franzon, *JACS* **2003**, *125*, 13279

[23]: R. M. Dickson, L. A. Lyon, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 6095

[24]: J. Weeber, A. Dereux, *Phys. Rev. B* **1999**, *60*, 9061

[25]: J. R. Krenn, B. Lamprecht, H. Ditlbacher, G. Schider, M. Salerno, A. Leitner, F. R. Ausenegg, *Europhys. Lett.* **2002**, *60*, 663

[26]: J. Pendry, *Science* **1999**, *285*, 1687

[27]: P. Bharadwaj, A. Bouhelier, L. Novotny, *Phys. Rev. Lett.* **2011**, *106*, 226802

[28]: P. K. Sudeep, S. T. S. Joseph, K. G. Thomas, *JACS* **2005**, *127*, 6516

[29]: W. Ryu, S. Bai, J. S. Park, Z. Huang, J. Moseley, T. Fabian, R. J. Fasching, A. R. Grossmann, F. B. Prinz, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 1137

[30]: X. Zhang, D. Li, L. Bourgeois, H. Wang, P. A. Webley, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 436

[31]: S. Cherevko, C. Chung. *Sens. Act. B* **2009**, *142*, 216

[32]: F. Patolsky, Y. Weizmann, I. Willner, *Nature Mat.* **2004**, *3*, 692

[33]: T. Sannomiya, H. Dermutz, C. Hafner, J. Vörös, A. B. Dahlin, *Langmuir* **2010**, *26*, 7619

[34]: A. B. Dahlin, T. Sannomiya, R. Zahn, G. A. Sotiriou, J. Vörös, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 1337

[35]: R. MacKenzie, C. Fraschina, T. Sannomiya, V. Auzelyte, J. Vörös, *Sensors* **2010**, *10*, 9808

[36]: S. Huang, Y. Chen, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 2829

[37]: C. Escobedo, A. G. Brolo, R. Gordon, D. Sinton, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 1592

[38]: S. W. Hell, J. Wichmann, *Optics Lett.* **1994**, *19*, 780

[39]: T. A. Klar, S. W. Hell, *Optics Lett.* **1999**, *24*, 954

[40]: E. Rittweger, K. Y. Han, S. E. Irvine, C. Eggeling, S. W. Hell, *Nature Photonics* **2009**, *3*, 144

[41]: L. de Broglie, *Recherches sur la theorie des quanta*, Dissertation, Paris, 1924

[42]: L. de Broglie, *The wave nature oft the electron*, Nobel Lecture, 1929

[43]: M. Knoll, E. Ruska, *Das Elektronenmikroskop*, Mitteilung aus dem Hochspannungslaboratorium der Technischen Universität Berlin, Berlin, 1932

[44]: K. Takayanagi, Y. Oshima, T. Tanaka, Y. Tanihshiro, H. Sawada, F. Hosokawa, T. Tomita, T. Kaneyama, Y. Kondo, *JEOL news* **2010**, *45*, 2

[45]: D. B. Williams, C. B. Carter, *Transmission electron microscopy: a textbook for materials science*; Plenum press, New York, 1996

[46]: R. Gross, A. Marx, *Festkörperphysik*; Vorlesungsskriptum Technische Universität München, München, 2004

[47]: *Handbuch SmartSEM*, Carl Zeiss Jena AG, 2004

[48]: C. Morhard, *Herstellung effektiver Medien mittels mizellarer Blockpolymer Nanolithographie*; Dissertation, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 2010

[49]: L. A. Giannuzzi, *Introduction to focused ion beams*; Springer Verlag, Berlin, 2005

[50]: *www.fei.com/uploadedFiles/Documents/Content/2006_06_FIB_Overview_pb.pdf; Zugriff am 06.09.2012*

[51]: M. H. F. Overwijk, F. C. van den Heuvel, C. W. T. Bulle-Lieuwma, *J. Vac. Sci. Tech. B* **1993**, *11*, 2021

[52]: L. A. Giannuzzi, F. A. Stevie, *Micron* **1999**, *30*, 197

[53]: J. Li, T. Malis, S. Dionne, *Mater. Charact.* **2006**, *57*, 64

[54]: T. Ishitani, T. Yaguchi, *Microscopy research and technique* **1996**, *35*, 320

[55]: R. M. Langford, A. K. Petford-Long, *J. Vac. Sci. Tech A* **2001**, *19*, 2186

[56]: D. Meschede, *Gerthsen Physik*; 23. Ed.; Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 2005

[57]: D. B. Williams, C. B. Carter, *Transmission electron microscopy: spectrometry*; Plenum press, New York, 1996

[58]: W. H. Bragg, W. L. Bragg, *X rays and crystal structure;* G. Bell Verlag, London, 1918

[59]: N. W. Ashcroft, D. N. Mermin, *Festkörperphysik*; 2. Ed.; Oldenbourg Wissenschaftsverlag, München, 2005

[60]: J. Heinze, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 823

[61]: V. Enkelmann, B. S. Morra, C. Kröhnke, G. Wegner, J. Heinze, *Chem. Phys.* **1982**, *66*, 303

[62]: S. Fletcher, C. S. Halliday, D. Gates, M. Westcott, T. Lwin, G. Nelson, *J. Electroanal. Chem.* **1983**, *159*, 267

[63]: J. Koryta, P. Vanysek, *Adv. Electrochem. Electrochem. Eng.* **1981**, *12*, 113

[64]: E. Laviron, J. Electroanal. Chem. **1974**, *52*, 395

[65]: P. N. Ross, J. Electrochem. Soc. **1979**, *126*, 67

[66]: F. Will, C. Knorr, *Z. Elektrochem.* **1960**, *64*, 258

[67]: J. Wang, *Analytical electrochemistry*; 3.Ed.; John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2006

[68]: H. Bachmann, G. Bachmann, *Chemie in unserer Zeit* **2004**, *23*, 46

[69]: *www.gesmspa.com//img/gold-plating_03.jpg; Zugriff am 08.11.2012*

[70]: C. Mortimer, U. Müller, *Chemie. Das Basiswissen der Chemie.;* 8. Ed.; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2003

[71]: R. G. Ehl, A. J. Ihde, *J. Chem. Educ.* **1954**, *31*, 226

[72]: P. Forrer, F. Schlottig, H. Siegenthaler, M. Textor, *J. of Appl. Electrochem.* **2000**, *30*, 533

[73]: M. Wirtz, C. R. Martin, *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 455

[74]: W. Zhao, J. Zhu, H. Chen, *J. Cryst. Growth* **2003**, *258*, 176

[75]: H. Araki, A. Fukuoka, Y. Sakamoto, S. Ingaki, N. Sugimoto, Y. Fukushima, M. Ichikawa, *J. Mol. Catalysis A: Chem.* **2003**, *199*, 95

[76]: V. Auzelyte, H. H. Solak, Y. Ekinci, R. MacKenzie, J. Vörös, S. Olliges, R. Spolanek, *Microel. Eng.* **2008**, *85*, 1131

[77]: T. Thurn-Albrecht, J. Schotter, G. A. Kästle, N. Emley, T. Shibauchi, L. Kruisin-Elbaum, K. Guarini, C. T. Black, M. T. Tuominen, T. P. Russel, *Science* **2000**, *290*, 2126

[78]: C. R. Martin, *Science* **1994**, *266*, 1961

[79]: C. Schönenberger, B. M. I. van der Zande, L. G. J. Fokkink, M. Henny, C. Schmid, M. Krüger, A. Bachtold, R. Huber, H. Birk, U. Staufer, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 5497

[80]: M. Tian, J. Wang, J. Kurtz, T. E. Mallouk, M. H. W. Chan, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 919

[81]: S. Karim, M. E. Toimil-Molares, F. Maurer, G. Miehe, W. Ensinger, J. Liu, T. W. Cornelius, R. Neumann, *Appl. Phys. A* **2006**, *84*, 403

[82]: H. Wang, C. Shieh, H. Chen, W. Shiu, B. Russo, G. Cao, *Nanotechnology* **2006**, *17*, 2689

[83]: S. Kumar, R. Kumar, S. Kumar, S. K. Chkarvarti, *Curr. Sci.* **2004**, *87*, 642

[84]: A. Sauter, *Entwicklung eines Elektroden-Arrays zur Nutzung der Membranspannung eukaryotischer Zellen als Grundlage für einen biologischen Stromgenerator*; Diplomarbeit, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 2010

[85]: G. Gouy, *Comt. Rend.* **1909**, *149*, 654

[86]: G. Gouy, *J. Phys.* **1910**, *9*, 457

[87]: D. L. Chapman, *Phil. Mag.* **1913**, *25*, 475

[88]: M. Schneckenburger, M. Kelsch, P. A. Van Aken, G. Richter, J. P. Spatz, A. Rustom, *Small* **2012**, 8, 3396

[89]: N. Artunc, Z. Z. Öztürk, *J. Phys.: Condens. Matter* **1993**, *5*, 559

[90]: S. Lagrange, S. H. Brongersma, M. Judelwicz, A. Saerens, I. Vervoort, E. Richard, R. Palmans, K. Maex, *Microel. Eng.* **2000**, *50*, 449

[91]: M. Stangl, J. Acker, V. Dittel, W. Gruner, V. Hoffmann, K. Wetzig, *Microel. Eng.* **2005**, *82*, 189

[92]: S. Vemury, S. E. Pratsinis, L. Kibbey, J. Mater. Research 1997, 12, 1031

[93]: D. Kolb, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1162

[94]: X. Gao, G. J. Edens, A. Hamelin, M. J. Weaver, *Surf. Sci.* **1994**, *318*, 1

[95]: D. Eberhardt, E. Santos, W. Schmickler, *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *419*, 23

[96]: H. S. O. Chan, P. K. H. Ho, L. Zhou, N. Luo, S. C. Ng, S. F. Y. Li, *Langmuir* **1996**, *12*, 2580

[97]: C. L. Perdriel, A. J. Arvia, M. Ipohorski, *J. Elecroanal. Chem.* **1986**, *215*, 317

[98]: C. Novo, P. Mulvaney, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 520

[99]: A. Tadjeddine, D. M. Kolb, R. Kötz, *Surf. Sci.* **1980**, *101*, 277

[100]: D. E. Aspnes, E. Kinsbron, D. D. Bacon, *Phys. Rev. B* **1980**, *21*, 3290

[101]: M. Theye, *Phys. Rev. B* **1970**, *2*, 3060

[102]: H. Q. Li, F. Ebrahimi, *Acta Mater.* **2003**, *51*, 3905

[103]: T. Inami, S. Okuda, H. Maeta, H. Ohtsuka, *Materials Transactions* **1998**, *39*, 1029

[104]: S. Okuda, F. Tang, *NanoStructured Materials* **1995**, *6*, 585

[105]: D. Porath, O. Millo, J. I. Gersten, *J. Vac. Sci. Technol. B* **1996**, *14*, 30

[106]: M. Stangl, M. Militzer, J. Appl. Phys. **2008**, *103*, 113521-1

[107]: K. Chen, V. P. Drachev, J. D. Borneman, A. V. Kildishev, V. M. Shalaev, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 916

[108]: P. Hanarp, M. Kall, D. S. Sutherland, *J. Phys. Chem. B.* 2003, 107, 5768

[109]: M. P. Jonsson, A. B. Dahlin, P. Jonsson, F. Hook, *Biointerphases* **2008**, *3*, Fd30

[110]: A. B. Dahlin, J. O. Tegenfeldt, F. Hook, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 4416

[111]: J. Prikulis, P. Hanarp, L. Olofsson, D. Sutherland, M. Kall, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1003

[112]: *http://www.plano-em.de/; Zugriff am 06.09.2012*

[113]: G. Richter, *Script. Mater.* **2010**, *63*, 933

[114]: D. Kiener, C. Motz, M. Rester, M. Jenko, G. Dehm **2007**, *459*, 262

[115]: *http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=5147, Zugriff am 06.09.2012*

[116]: W. Nernst, *Z. physik. Chem.* **1889**, *4*, 129

[117]: K. J. Vetter, *Elektrochemische Kinetik*; Springer, Berlin, 1961

[118]: R. S. Nicholson, I. Shain, *Anal. Chem.* **1964**, *36*, 706

[119]: J. E. B. Randles, *Trans. Faraday Soc.* **1948**, *44*, 327

[120]: A. Sevcik, *Collection Czechoslov. Chem. Communs.* **1948**, *13*, 349

[121]: P. J. Delahay, *JACS* **1953**, *75*,1190

[122]: P. A. Rock, *J. Phys. Chem.* **1966**, *70*, 576

[123]: S. J. Konopka, B. McDuffie, *Anal. Chem.* **1970**, *42,* 1741

[124]: J. Oslonovitch, Y. Li, C. Donner, K. Krischer, *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *541*, 163

[125]: F. Valentini, A. Amine, S. Orlanducci, M. L. Terranova, G. Palleschi, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 5413

[126]: C. Beriet, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.* **1993**, *361*, 93

[127]: N. S. Lawrence, R. P. Deo, J. Wang, *Electroanal.* **2005**, *17*, 65

[128]: M. Pumera, A. Merkoci, S. Alegret, Sens. Act. **2006**, *113*, 617

[129]: G. Mo, J. Ye, W. Zhang, *Electrochim. Act.* **2009**, *55*, 511

[130]: A. J. Bergren, M. D. Porter, *J. Electroanal. Chem.* **2006**, *591*, 189

[131]: J. Kulys, J. Gorton, E. Dominguez, J. Emneus, H. Jarskog, *J. Electroanal. Chem.* **1994**, *372*, 49

[132]: V. N. Goral, N. V. Zaytseva, A. J. Baeumner, *Lab Chip* **2006**, *6*, 414

[133]: M. M. Radhi, W. T. Tan, M. Z. B. Ab Rahman, A. Bin Kassim, *J. Chem. Eng. Japan* **2010**, *43*, 927

[134]: A. Salimi, E. Sharifi, A. Noorbakhsh, S. Soltanian, *Electrochem. Commun.* **2006**, *8*, 1499

[135]: S. Wang, T. Chen, Z. Zhang, X. Shen, Z. Lu, D. Pang, K. Wong, *Langmuir* **2005**, *21*, 9260

[136]: F. Schröper, D. Brüggemann, Y. Mourzina, B. Wolfrum, A. Offenhäuser, D. Mayer, *Electrochim. Acta* **2008**, *53*, 6265

[137]: U. Oesch, J. Janata, *Electrochim. Acta* **1983**, *28*, 1237

[138]: M. F. Vela, R. C. Salvarezza, A. J. Arvia, *Electrochim. Acta* **1990**, *35*, 117

[139]: M. C. Leopold, J. A. Black, E. F. Bowden, *Langmuir* **2002**, *18*, 978

[140]: O. Stern, *Z. Electrochem*. **1924**, *30*, 508

[141]: H. Angerstein-Kozlowska, B. E. Conway, A. Hamelin, L. Stoicoviciu, *Electrochim. Acta* **1986**, *31*, 1051

[142]: M. Pourbaix, *Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions;* National Association of Corrosion Engineers, 1974

[143]: M. J. Nicol, *Gold Bull.* **1980**, *13*, 105

[144]: W. Jin, M. S. Moats, S. Zheng, H. Du, Y. Zhang, J. D. Miller, *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 8311

[145]: P. Drude, *Annalen der Physik* **1900**, *306*, 566

[146]: P. Drude, *Annalen der Physik* **1900**, *308*, 369

[147]: M. Born, E. Wolf, *Principles of optics*; 10. Ed.; Pergamon press, Oxford, 1998

[148]: M. E. Stewart, C. R. Anderton, L. B. Thompson, J. Maria, S. K. Gray, J. A. Rogers, R. G. Nuzzo, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 494

[149]: K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 668

[150]: U. Kreibig, M. Vollmer, *Optical properties of metal clusters*; Springer series in material science 25, Springer, Berlin, 1995

[151]: P. N. Prasad, *Nanophotonics*; John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2004

[152]: R. Atkinson, W. R. Hendren, G. A. Wurtz, W. Dickson, A. V. Zayats, P. Evans, R. J. Pollard, *Phys. Rev. B* **2006**, *73*, 235402

[153]: A. V. Kabashin, P. Evans, S. Pastovsky, W. Hendren, G. A. Wurtz, R. Atkinson, R. Pollard, V. A. Podolskiy, A. V. Zayats, *Nature Mat.* **2009**, *8*, 867

[154]: S. Link, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 8410

[155]: Y. Han, R. M. Corn, *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 1601

[156]: H. Yao, J. Duan, D. Mo, H. Y. Günel, Y. Chen, J. Liu, T. Schäpers, *J. Appl. Phys.* **2011**, *110*, 094301

[157]: J. Homola, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, *377*, 528

[158]: J. Homola, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 462

[159]: K. M. Mayer, J. H. Hafner, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3828

[160]: C. Sönnichsen, B. M. Reinhard, J. Liphardt, A. P. Alivisatos, *Nature Biotech.* **2005**, 23, 741

[161]: J. N. Anker, W. P. Hall, O. Lyandres, N. C. Shah, J. Zhao, R. P. Van Duyne, *Nature Mat.* **2008**, *7*, 442

[162]: A. J. Haes, R. P. Van Duyne, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 920

[163]: L. S. Jung, C. T. Campbell, T. M. Chinowsky, M. N. Mar, S. S. Yee, *Langmuir* **1998**, *14*, 5636

[164]: N. Verellen, P. Van Dorpe, C. Huang, K. Lodewijks, G. A. E. Vandenbosch, L. Lagae, V. V. Moshchalkov, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 391

[165]: C. Pacholski, M. Sartor, M. J. Sailor, F. Cunin, G. M. Miskelly, *JACS* **2005**, *127*, 11636

[166]: G. L. Liu, Y. Yin, S. Kunchakarra, B. Mukherjee, D. Gerion, S. D. Jett, D. G. Bear, J. W. Gray, A. P. Alivisatos, L. P. Lee, F. F. Chen, *Nature Nanotech.* **2006**, *1*, 47

[167]: G. M. Sando, A. D. Berry, P. M. Campbell, A. P. Baronavski, J. C. Owrutsky, *Plasmonics* **2007**, *2*, 23

[168]: M. D. Malinsky, K. L. Kelly, G. C. Schatz, R. P. Van Duyne, *JACS* **2001**, *123*, 1471

[169]: R. M. A. Azzam, P. G. Rigby, J. A. Krueger, *Phys. Med. Biol.* **1977**, *22*, 422

[170]: C. Kößlinger, E. Uttenthaler, S. Drost, F. Aberl, H. Wolf, G. Brink, A. Stanglmaier, E. Sackmann, *Sens. Act.* **1995**, *24*, 107

[171]: Q. Xie, Y. Zhang, M. Xu, Z. Li, Y. Yuan, S. Yao, *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *478*, 1

[172]: H. Ogi, Y. Fukunishi, H. Nagai, K. Okamoto, M. Hirao, M. Nishiyama, *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 3148

[173]: V. Silin, H. Weetall, D. J. Vanderah, *J. Coll. Int. Sci.* **1997**, *185*, 94

[174]: Y. Huang, V. K. Gupta, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 2264

[175]: M. Tencer, R. Charbonneau, N. Lahoud, P. Berini, *Appl. Surf. Sci.* **2007**, *253*, 9209

[176]: Y. R. Chemla, H. L. Grossmann, Y. Poon, R. McDermott, R. Stevens, M. D. Alper, J. Clarke, *PNAS* **2000**, *97*, 14268

[177]: K. Ramanathan, B. Danielsson, *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16*, 417

[178]: K. Länge, B. E. Rapp, M. Rapp, *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *391*, 1509

[179]: K. S. Hwang, S. Lee, S. K. Kim, J. H. Lee, T. S. Kim, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2009**, *2*, 77

[180]: A. Janshoff, H. Galla, C. Steinem, *Angew. Chem.* **2000**, *39*, 4004

[181]: D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, E. Reimhult, *Sensors* **2008**, *8*, 1400

[182]: M. Vestergaard, K. Kerman, E. Tamiya, *Sensors* **2007**, *7*, 3442

[183]: E. D. Goluch, B. Wolfrum, P. S. Singh, M. A. G. Zevenbergen, S. G. Lemay, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *394*, 447

[184]: M. K. Zachek, J. Park, P. Takmakov, R. M. Wightman, G. S. McCarty, *Analyst* **2010**, *135*, 1556

[185]: F. Lisdat, D. Schäfer, *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *391*, 1555

[186]: J. S. Daniels, N. Pourmand, *Electroanal.* **2007**, *19*, 1239

[187]: Y. Hou, S. Helali, A. Zhang, N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet, J. Minic, T. Gorojankina, M. Persuy, E. Pajot-Augy, R. Salesse, F. Bessueille, J. Samitier, A. Errachid, V. Akimov, L. Reggiani, C. Pennetta, E. Alfinito, *Biosens. Bioelectron.* **2006**, *21*, 1393

[188]: K. V. Singh, A. M. Whited, Y. Ragineni, T. W. Barrett, J. King, R. Solanki, *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *397*, 1493

[189]: M. S. Makowski, A. Invanisevic, *Small* **2011**, *7*, 1863

[190]: G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W. U. Wang, C. M. Lieber, *Nature Nanotech.* **2005**, *23*, 1294

[191]: G. Gauglitz, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *381*, 141

[192]: V. S. Lin, K. Motesharei, K. S. Dancil, M. J. Sailor, M. R. Ghadiri, *Science* **1997**, *278*, 840

[193]: B. Liedberg, C. Nylander, I. Lundstrom, *Sens. Act.* **1983**, *4*, 299

[194]: F. Garay, G. Kisiel, A. Fang, E. Lindner, *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *397*, 1873

[195]: M. Frasconi, D. Deriu, A. D'Annibale, F. Mazzei, *Nanotechnology* **2009**, *20*, 505501

[196]: H. Tang, Q. Wang, Q. Xie, Y. Zhang, L. Tian, S. Yao, *Biosens. Bioelelectron.* **2007**, *23*, 668

[197]: A. Baba, P. Taranekar, R. R. Ponnapati, W. Knoll, R. C. Advincula, *Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2*, 2347

[198]: R. J. Heaton, A. W. Peterson, R. M. Georgiadis, *PNAS* **2001**, *98*, 3701

[199]: C. Gurtner, C. F. Edman, R. E. Formosa, M. J. Heller, *JACS* **2000**, *122*, 8589

[200]: E. Brod, S. Nimri, B. Turner, U. Sivan, *Sens. Act. B* **2008**, *128*, 560

[201]: S. Balasubramanian, A. Revzin, A. Simonian, *Electroanal.* **2006**, *18*, 1885

[202]: M. Y. Chen, M. D. Klunk, V. M. Diep, M. J. Sailor, *Adv. Mat.* **2011**, *23*, 4537

[203]: P. Z. O`Farrell, H. M. Goodman, P. H. O`Farrell, *Cell* **1977**, *12*, 1133

[204]: M. J. Dunn, *Electrophoresis: Proteins*; Bios Scientific Publishers, Oxford, UK, 1993

[205]: A. B. Dahlin, B. Dielacher, P. Rajendran, K. Sugihara, T. Sannomiya, M. Zenobi-Wong, J. Vörös, *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *402*, 1773

[206]: D. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics;* 88th Ed.; CRC: Sacramento, CA, USA, 2007

[207]: L. Bertilsson, B. Liedberg, *Langmuir* **1993**, *9*, 141

[208]: S. Löfas, *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 829

9.) Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Der Kelch von Lycurgus. 12
Abbildung 1.2: Nanodrähte im TEM. 13
Abbildung 1.3: Schema eines plasmonisch-elektrochemischen Proteinsensors. 16

Abbildung 2.1: Historisches Bild TEM. 19
Abbildung 2.2: TEM-Prinzip und Hochauflösung. 20
Abbildung 2.3: Aufbau eines SEM. 21
Abbildung 2.4: Materialabtragung mit FIB. 23
Abbildung 2.5: Schema charakteristischer Röntgenstrahlung. 24
Abbildung 2.6: Schema Bragg-Reflexion. 25
Abbildung 2.7: Escheinungsformen von Beugungsmustern. 26
Abbildung 2.8: CV-Messprinzip. 28
Abbildung 2.9: Galvanische Abscheidung. 29

Abbildung 3.1: Herstellungsprinzip der Nanodrähte. 32
Abbildung 3.2: Setup für Nanodrahtsynthese. 34
Abbildung 3.3: Abscheidestrom der Nanodrahtsynthese. 35
Abbildung 3.4: Nanodrahtoberflächen im SEM. 37

Abbildung 4.1: Einfluss Elektrodenpotential auf Plasmonenresonanz. 40
Abbildung 4.2: Mechanische TEM-Präparation. 42
Abbildung 4.3: TEM-Aufnahmen FIB-präparierter Nanodrähte. 44
Abbildung 4.4: EDX-Spektrum eines Nanodrahtes. 46
Abbildung 4.5: Elektronenbeugungsmuster eines Au-Nanodrahtes. 47
Abbildung 4.6: HRTEM-Aufnahme eines Nanodrahtes. 49
Abbildung 4.7: Wachstumsrichtung des Nanodrahtes. 50
Abbildung 4.8: Atomare Auflösung eines Nanodrahtscheibchens. 51

Abbildung 5.1: Messaufbau zur elektrochemischen Charakterisierung. 58
Abbildung 5.2: Reversibilitätsmessung der Nanoelektrodenoberfläche. 60
Abbildung 5.3: CV-Messung zur Elektroaktivität. 65
Abbildung 5.4: Elektrochemisches Arbeitsfenster. 67
Abbildung 5.5: CV-Messung zur Optimierung der Substratdicke. 69

Abbildung 6.1: Prinzip der LSP-Anregung. 72
Abbildung 6.2: Absorptionsspektrum einer Lösung mit Au-Nanostäbchen. 73
Abbildung 6.3: Winkelabhängiges Transmissionsspektrum. 76
Abbildung 6.4: Transmissionsspektrum unterschiedlicher Nanodrahtdichten. 78
Abbildung 6.5: Transmissionsspektrum von Nanodrähten unterschiedlicher Länge. 79
Abbildung 6.6: Brechungsindizes von Glycerin-Wasser-Gemischen. 80
Abbildung 6.7: Brechungsindexsensitivität im physiologischen relevanten Bereich. 81
Abbildung 6.8: Plasmonischer, nanodrahtbasierter Proteinsensor. 83

Abbildung 7.1: Proteinanreicherung in nanoporösem Silizium. 88
Abbildung 7.2: Proteinanreicherung an Gold-Nanolochfilm. 89
Abbildung 7.3: Aufbau einer elektrochemischen Flusszelle für Transmissionsmessungen 92
Abbildung 7.4: Elektrochemisch gesteuerte LSP-Resonanz. 95
Abbildung 7.5: Gelelektrophorese mit BSA und Lysozym. 97
Abbildung 7.6: BSA-Detektion bei geschalteter Spannung. 99
Abbildung 7.7: BSA-Detektion bei konstanter Spannung. 101
Abbildung 7.8: Lysozym-Detektion bei konstanter Spannung. 102

10.) Abkürzungsverzeichnis

AFM	Rasterkraftmikroskop (Atomic force microscope)
ATP	Adenosintriphosphat (Adenosine triphosphate)
Au-NP	Gold-Nanopartikel (Gold nanoparticle)
Au-NW	Gold-Nanodrähte (Gold nanowires)
BSA	Bovines Serum Albumin (Bovine serum albumin)
CCD	Ladungsgekoppeltes Bauelement (Charge-coupled device)
CE	Gegenelektrode (Counter electrode)
CV	Cyclovoltammetrie (Cyclic voltammetry)
CVD	Chemische Gasphasenabscheidung (Chemical vapour deposition)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Deoxyribonucleic acid)
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (Energy-dispersive X-ray spectroscopy)
EUV	Extrem-Ultraviolett-Lithographie (Extreme ultraviolet lithography)
FIB	Fokussierte Ionenstrahltechnik (Focused ion beam technique)
HRTEM	Hochauflösendes Transmissionselektronenmikroskop (High-resolution transmission electron microscope)
IgG	Immunglobulin G (Immunoglobulin G)
LSP	Lokalisiertes Oberflächenplasmon (Localized surface plasmon)

NEPHGE	Nichtgleichgewicht-pH-Gelelektrophorese (Nonequilibrium pH Gel Electrophoresis)
NIR	Nahinfraroter Spektralbereich (Near-infrared spectral range)
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (Phosphate buffered saline)
PEEK	Polyetherketon (Polyether ketone)
PVD	Physikalische Gasphasenabscheidung (Physical vapour deposition)
RE	Referenzelektrode (Reference electrode)
RIU	Brechungsindexeinheit (Refractive index unit)
SAM	Selbstorganisierende Monoschicht (Self-assembled monolayer)
SEM	Rasterelektronenmikroskop (Scanning electron microscope)
SPP	Oberflächenplasmon-Polariton (Surface plasmon polariton)
SPR	Oberflächenplasmonenresonanz (Surface plasmon resonance)
TEM	Transmissionselektronenmikroskop (Transmission electron microscope)
VIS	Sichtbarer Spektralbereich (Visible spectral range)
WE	Arbeitselektrode (Working electrode)
XRD	Röntgendiffraktion (X-ray diffraction)

11.) Publikationen

M. Schneckenburger, M.Kelsch, P. A. van Aken, G. Richter, J. P. Spatz, A. Rustom: *Cross-sectional characterization of electrodeposited, monocrystalline Au nanowires in parallel arrangement*, *Small* **2012**, 8, 3396

M. Schneckenburger, D. Pallarola, C. Pacholski, J. P. Spatz: *Development and characterisation of a plasmonic, nanowire-based protein sensing platform with simultaneous electrochemical control*, in Vorbereitung

12.) Danksagung

Ich möchte mich herzlichst bei all denjenigen bedanken, die zum Erstellen dieser Arbeit beigetragen haben.

In erster Linie gilt mein Dank Prof. Joachim Spatz. Es war mir eine große Freude und Ehre, unter solch hervorragenden Rahmenbedingungen meine Dissertation anfertigen zu dürfen! Ferner habe ich sein mir entgegengebrachtes Vertrauen, die inspirierenden, wissenschaftlichen Diskussionen sowie seine stets offene Tür für Anliegen aller Art jederzeit außerordentlich zu schätzen gewusst.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Prof. Rainer Fink sehr herzlich für die Übernahme des Zweitgutachtens. Ebenfalls gilt mein Dank Prof. Ulrich Schwarz und Prof. Rüdiger Klingeler für die Bereitschaft als Prüfer zu fungieren.

Mein großer Dank gilt insbesondere auch Dr. Claudia Pacholski. Ihrem außerordentlich hohen Engagement sowie ihrem realistischen Blick auf wissenschaftliche Prozesse ist es ganz wesentlich zu verdanken, dass diese Arbeit nun in dieser Form fertig gestellt werden kann. Ferner habe ich von Ihrer fokussierten Arbeitsweise sehr viel lernen können.

Für Ihre tolle Unterstützung im Bereich der Materialanalyse sowie der Elektrochemie möchte ich mich ferner bei Dr. Gunther Richter und Dr. Diego Pallarola bedanken. Unsere zahlreichen Diskussionen habe ich jederzeit als absolut hilfreich, die Arbeitsatmosphäre als sehr angenehm empfunden.

Für Ihre technische Unterstützung möchte ich mich insbesondere bei Marion Kelsch, Ulrike Eigenthaler, Reinhart Völker, Ingrid Schofron, Yvonne Link, Christine Mollenhauer und Ioanis Grigoridis bedanken. Von Ihrem Arbeitseinsatz und ihrem langjährigem Know-how konnte diese Arbeit sehr profitieren.

Bedanken möchte ich mich auch sehr herzlich bei Frau Pfeilmeier und Frau Hess für die zuverlässige Unterstützung bei administrativen Angelegenheiten. Ferner gebührt mein Dank Dr. Moyu Watari für die Unterstützung bei EDV-Problemen aller Art.

Bei Dr. Marcus Abel bedanke ich für seine Unterstützung im Bereich der Nanodrahtsynthese. Ferner möchte ich mich bei Dr. Stefan Quint für die zahlreichen hilfreichen Diskussionen und bei Dr. Günter Majer für die Korrekturvorschläge zur Erstellung dieser Arbeit bedanken.

Hinsichlich ihrer hilfreichen Ratschläge zur Erstellung der Publikation möchte ich mich ferner bei Prof. Peter van Aken und Dr. Nina Grunze bedanken.

Allen weiteren Mitgliedern der Abteilung Spatz danke ich für die sehr gute

Zusammenarbeit, die angenehme Arbeitsatmosphäre sowie die gemeinsame, schöne Zeit. Ich habe mich in der Arbeitsgruppe sehr wohl gefühlt und werde die Zeit in Stuttgart in sehr guter Erinnerung behalten.

Meinen Eltern möchte ich für Ihre Unterstützung in jeglicher Hinsicht danken. Ohne Euch wäre weder mein Diplom, noch meine Promotion in dieser Form zustande gekommen.

Dir, liebe Aida, gilt mein unschätzbarer Dank für sehr vieles.

13.) Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorgelegte Dissertation selbst verfasst und mich keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Stuttgart, den 5. Dezember 2012 ……..... Manuel Schneckenburger