

Elektromanipulation einzelner Polyelektrolytmoleküle

Dissertation an der Fakultät für Physik
der Ludwigs-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von

Claudia Friedsam
aus Passau

München, 20. November 2003

Erster Gutachter:

Zweiter Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung:

Prof. Dr. Hermann Gaub

Prof. Dr. Joachim Rädler

19. Dezember 2003

Zusammenfassung

Grundlegend für die Entwicklung molekularer Werkzeuge ist es, Kontrolle über das Verhalten einzelner Moleküle zu erlangen. Ein Beispiel dafür ist das gezieltes An- und Abkoppeln einzelner Moleküle an Oberflächen, das eine Basis für eine Vielzahl von Anwendungen bietet. Im Rahmen dieser Arbeit wurde unter Verwendung der AFM- Einzelmolekülkraftspektroskopie untersucht, wie und unter welchen Umständen einzelne Polyelektrolytmoleküle an funktionalisierte oder unfunktionalisierte Oberflächen binden und es wurden Ansätze entwickelt, wie dieses Bindungsverhalten beeinflusst werden kann:

- Abhängig von den experimentellen Rahmenbedingungen und der Dissoziationskonstante der untersuchten Bindungen, kann die angelegte Krafrate einen Einfluß auf die gemessene Abrisskraft haben. Ist dies der Fall, muss eine differenzierte Analyse der gemessenen Daten erfolgen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden neue Ansätze entwickelt, die eine effiziente und aussagekräftige Datenanalyse über das gesamte Spektrum an messbaren Wechselwirkungen ermöglichen.
- Aufgrund ihrer vielfältigen Anwendungsmöglichkeit ist die Polyelektrolytadsorption an feste Substrate im Blickpunkt des Interesses, sowohl im akademischen als auch im industriellen Bereich. Bei der Adsorption von Polyelektrolytmolekülen an Oberflächen sind viele verschiedene Arten von nichtkovalenten Wechselwirkungen beteiligt. Auf der Basis von kraftspektroskopischen Untersuchungen auf unterschiedlichen Substraten wurden erstmals Ansätze entwickelt, die es erlauben, verschiedenste Arten von Wechselwirkungen zu identifizieren und zu charakterisieren.
- Extern angelegte elektrische Felder bieten eine Möglichkeit, direkt auf einzelne geladene Moleküle Einfluss zu nehmen. Um dieses Konzept zu realisieren, wurde ein entsprechender Aufbau entwickelt, der eine Kombination von Elektrochemie und Kraftspektroskopie ermöglicht. Es konnte gezeigt werden, dass die Bindungsstärke von Polyelektrolyten an leitfähige Substrate über anziehende Potenziale verstärkt und über abstoßende Potenziale erniedrigt werden kann. Beim Anschalten anziehender Potenziale konnten individuelle Polyelektrolytmoleküle auch über größere Entfernungen eingefangen werden. Mittels an- und abstoßender Spannungspulse konnte erstmals gezeigt werden, dass einzelne Polyelektrolytmoleküle wiederholt an- und abgekoppelt werden können.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	EXPERIMENTELLE METHODEN UND MATERIALIEN.....	3
2.1	AFM-BASIERTE EINZELMOLEKÜLDESORPTIONSMESSUNGEN	3
2.2	KOMBINATION VON KRAFTSPEKTROSKOPIE UND ELEKTROCHEMIE.....	5
2.3	SPITZENFUNKTIONALISIERUNG	7
3	THEORETISCHE BETRACHTUNGEN.....	9
3.1	POLYELEKTROLYTE	9
3.2	ADSORPTION AN OBERFLÄCHEN	11
3.2.1	<i>Elektrostatische Beiträge</i>	12
3.2.2	<i>Van-der-Waals Wechselwirkungen</i>	16
3.2.3	<i>Hydrophobe Beiträge</i>	17
3.2.4	<i>Koordinative Bindungen</i>	19
3.3	ASPEKTE DER ELEKTROCHEMIE	20
3.3.1	<i>Elektrodenprozesse</i>	20
3.3.2	<i>Die elektrische Doppelschicht</i>	22
3.3.3	<i>Spezifische Adsorption an der Elektrode</i>	24
3.4	DYNAMISCHE KRAFTSPEKTROSKOPIE	26
4	MODELLRECHNUNGEN UND VORÜBERLEGUNGEN ZUR DATENAUSWERTUNG.....	30
4.1	MESSBARKEIT DER RATENABHÄNGIGKEIT – REVERSIBLE UND IRREVERSIBLE PROZESSE	30
4.2	DATENANALYSE FÜR NICHTGLEICHGEWICHTSMESSUNGEN	32
4.2.1	<i>Monte-Carlo-Simulationen</i>	32
4.2.2	<i>Datenanalyse</i>	34
4.2.3	<i>Ergebnisse für die Monte-Carlo-Daten</i>	36
4.2.4	<i>Anwendung auf experimentell ermittelte Daten</i>	41
4.2.5	<i>Bewertung und Ausblick</i>	44
4.3	DATENANALYSE FÜR GLEICHGEWICHTSMESSUNGEN	44
5	IDENTIFIKATION VON VERSCHIEDENEN ARTEN VON WECHSELWIRKUNGEN	47
5.1	ELEKTROSTATISCHE WECHSELWIRKUNGEN.....	47
5.1.1	<i>Messungen mit Polyacrylsäure auf Kalzit</i>	47
5.1.2	<i>Messungen mit Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium</i>	50
5.2	DER EINFLUSS DES LÖSUNGSMITTELS	53
5.3	KOORDINATIVE WECHSELWIRKUNGEN	60
5.4	INTERMOLEKULARE WECHSELWIRKUNGEN	67
5.5	ÜBERGANG VOM GLEICHGEWICHT ZUM NICHTGLEICHGEWICHT	71
6	MANIPULATION DER POLYELEKTROLYTADSORPTION ÜBER EXTERN ANGELEGTE ELEKTRISCHE POTENTIALE.....	78
6.1	ADSORPTION VON POLYACRYLSÄURE AUF GOLD	78
6.2	MODULATION DER BINDUNGSSTÄRKE.....	81
6.3	EINFANGEN VON MOLEKÜLEN	85
6.4	AN- UND ABKOPPELN VON MOLEKÜLEN.....	88
7	AUSBLICK.....	93
	LITERATURVERZEICHNIS	95

1 Einleitung

Polyelektrolyte bilden die Grundlage zahlreicher industrieller Prozesse und Produkte [1-3]. Sie finden z. B. Einsatz als Wasserabsorber in Babywindeln, als Papierhärter, Farbstoff oder als Trägermolekül im Kopierprozess. Gleichzeitig lassen sich auch eine Reihe von fundamentalen biologischen Baustoffen und funktionalen Einheiten in die Familie der Polyelektrolyte einordnen, zu nennen sind dabei v. a. DNA und Polypeptide. Sowohl im Bereich der Materialwissenschaft und industriellen Fertigung als auch im biologischen Bereich kommt dabei der Polyelektrolytadsorption an Grenzschichten eine herausragende Bedeutung zu [4-8]. Das Interesse an Polyelektrolytmolekülen reicht bis in die Anfänge der Polymerwissenschaften zurück [9]. Nichtsdestotrotz gehören sie nach wie vor zu den am wenigsten verstandenen makromolekularen Systemen [10], weshalb sie auch heute noch im Blickpunkt des Interesses aktueller Forschung stehen. So stellt sowohl die Entwicklung der theoretischen Grundlagen [11-20], als auch die experimentelle Untersuchung der fundamentalen Wechselwirkungen inter- und intramolekularer Art [21-31], ein dynamisches und sich schnell fortentwickelndes Gebiet der Wissenschaft dar.

Die experimentelle Untersuchung von Polymeren hat mit der in den letzten Jahrzehnten fortschreitenden Entwicklung zahlreicher Einzelmolekülmessmethoden eine neue Dimension erfahren. Anders als bei Ensemblesmessverfahren, wie z. B. Oberflächenplasmonenspektroskopie [32,33] oder Kalorimetrie [34,35], bei denen viele Details durch Mittelung verloren gehen, können damit spezifische Eigenschaften einzelner Moleküle untersucht werden, was ein differenziertes Studium von Prozessen auf molekularer Ebene ermöglicht. Neben Entwicklungen wie der optischen Falle [36], optischer Nahfeldmikroskopie (SNOM) [37], Einzelmolekülfluoreszenztechniken [38] und biomembranbasierten Messmethoden [39] sind dabei speziell die Rastersondentechniken [40-42] hervorzuheben. Für die Untersuchung biologischer Materialien hat sich insbesondere das Rasterkraftmikroskop (Atomic Force Microscope, AFM) bewährt, da es problemlos Untersuchungen im flüssigen Medium unter physiologischen Bedingungen erlaubt. Ursprünglich zum Abbilden auf der Nanometerskala eingesetzt [43-47], hat sich die AFM-Technik mittlerweile in viele Richtungen weiterentwickelt. Eine frühe Variante stellt die AFM-basierte Kraftspektroskopie [48] dar. Das AFM wird aber mittlerweile auch vermehrt zur Nanostrukturierung und –manipulation eingesetzt [49-51] und kann prinzipiell auch als Auslesegerät für Datenspeicher verwendet werden [52,53].

Die Vielseitigkeit AFM-basierter Techniken macht sie auch zu einer interessanten Untersuchungsmethode in der Polyelektrolytforschung. So kann durch kraftspektroskopische Untersuchungen ein fundamentales Verständnis der elastischen Eigenschaften von Polyelektrolytmolekülen abhängig von verschiedenen Umweltbedingungen gewonnen werden [30]. Einzelmolekülkraftspektroskopie eignet sich aber auch zur Untersuchung der Polyelektrolytadsorption an funktionalisierten und unfunktionalisierten Oberflächen [29-31]. Diese Technik erlaubt es, ein differenziertes Verständnis der verschiedenen Wechselwirkungsbeiträge auf der Ebene einzelner Moleküle zu erhalten, was sowohl im Hinblick auf die zahlreichen Anwendungsmöglichkeiten von Polyelektrolyten, als auch im Rahmen theoretischer Betrachtungen gewinnbringend eingesetzt werden kann.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die AFM-basierte Untersuchung der Polyelektrolytadsorption unter drei verschiedenen Aspekten weiterentwickelt. Die Charakterisierung einzelner Wechselwirkungsbeiträge wurde auch auf Nichtcoulombbeiträge ausgedehnt und es wurden Ansätze entwickelt, die qualitative Rückschlüsse über die der Polyelektrolytadsorption zugrunde liegende Potentiallandschaft erlauben. Daneben wurden Möglichkeiten aufgezeigt, wie Polyelektrolytmoleküle als molekulare Sonden zur lokalen Charakterisierung von Oberflächen und zur Abbildung von dynamischen Oberflächenprozessen eingesetzt werden können. Schließlich wurde gezeigt, wie über den Einsatz attraktiver und repulsiver Spannungspulse das An- und Abkoppeln einzelner Polyelektrolytmoleküle an leitende Substrate bewerkstelligt werden kann. Damit wurde die Perspektive eröffnet, Polyelektrolytmoleküle auch als funktionelle Einheiten in der Nanotechnologie zu etablieren, einem Gebiet, das mittlerweile, im Zuge der immer weiter fortschreitenden Miniaturisierung, eine herausragende Bedeutung erlangt hat. Mit dem entwickelten Prinzip lassen sich möglicherweise neben der Herstellung von Datenspeichern oder kleiner funktionaler Aggregate, wie z. B. DNA-Chips, auch noch zahlreiche andere Anwendungen realisieren. Denkbar wären z. B. eine molekulare Werkzeugkiste, ein molekularer Schalter oder die Antriebseinheit eines Motors auf molekularer Ebene.

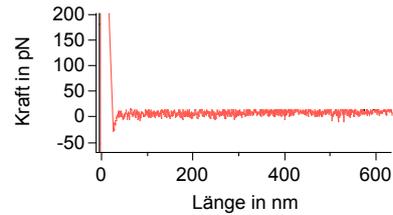
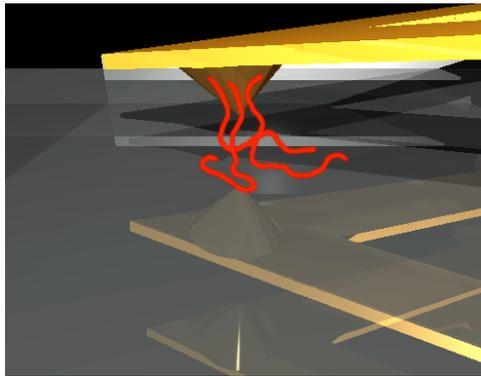
Die Perspektive der AFM-basierten Desorptionsmessungen ist also nicht nur im Hinblick auf die experimentelle Untersuchung und Charakterisierung sondern auch im Rahmen der Manipulation in vielfältiger Hinsicht erweiterbar. Es ist damit zu erwarten, dass sie ihren Stellenwert in dem dynamisch wachsenden Gebiet der Polyelektrolytforschung und -anwendung weiter ausbauen wird.

2 Experimentelle Methoden und Materialien

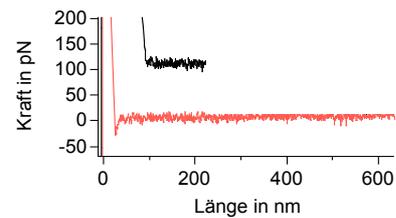
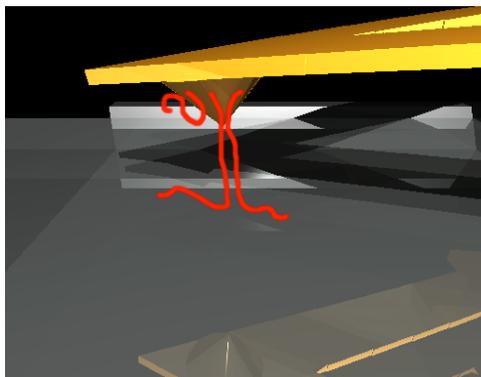
2.1 AFM-basierte Einzelmoleküldesorptionsmessungen

Das Kraftspektroskop, das eine Weiterentwicklung des 1986 von Binnig und Rohrer vorgestellten Rasterkraftmikroskop (AFM, Atomic Force Microscope) [40] darstellt, hat sich in den letzten Jahren zu einer ausgesprochen bedeutenden und weit verbreiteten experimentellen Technik entwickelt. Es dient zur Detektion intra- und intermolekularer Kräfte im pN-nN-Bereich. Kraftsensor ist dabei eine mikroskopisch kleine Blattfeder mit hinreichend großer Sensitivität, an der eine nanoskopisch kleine Spitze angebracht ist. Zwischen dieser Spitze und der gegenüberliegenden Unterlage können einzelne Moleküle eingespannt werden. Über ein Piezostellelement kann der Abstand zwischen Spitze und Unterlage reguliert werden, so dass letztendlich die auf die Blattfeder ausgeübte Kraft in Abhängigkeit vom Abstand zwischen Spitze und Unterlage vermessen wird. Das Funktionsprinzip ist ausführlich im Anhang (Anhang, 1.1) erklärt. Die Kraftspektroskopie hat innerhalb kurzer Zeit das Verständnis von intra- und intermolekularen Wechselwirkungen in vielfältiger Hinsicht erweitert. Dabei konnte eine Vielzahl von verschiedenen Wechselwirkungen identifiziert und charakterisiert werden, angefangen von entropischen Beiträgen, die Kräfte im Bereich weniger pN induzieren [54], über Rezeptor-Ligand Systeme deren Bindungskräfte im Bereich von etwa 100 pN [55-57] liegen, bis hin zu kovalenten Bindungen [58], die Haltekräfte im nN-Bereich aufweisen. Darüber hinaus konnte eine Vielzahl an dynamischen Prozessen studiert und charakterisiert werden, wie z. B. durch mechanische Streckung induzierte Konformationsänderungen in DNA [59] und Polyzuckern [48,60] oder lichtinduzierte Konformationsänderungen in Azobenzeneinheiten [61,62].

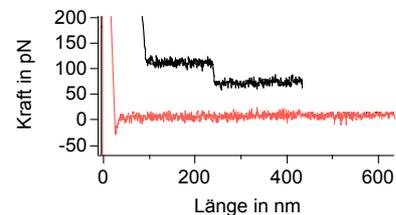
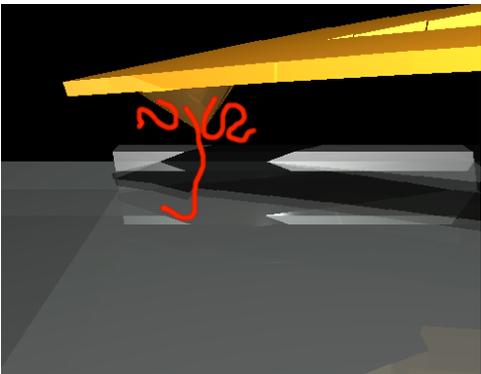
Kürzlich wurde auch die Desorption einzelner Polyelektrolytmoleküle von Festkörpersubstraten Gegenstand der Einzelmolekülkraftspektroskopie [29-31]. Abbildung 2.1. zeigt den Aufbau und den Ablauf eines solchen Desorptionsexperimentes. Die Moleküle werden kovalent an die Spitze der AFM-Blattfeder gebunden. Die Messung findet in Wasser statt, in dem ein bestimmtes Salz, z. B. NaCl gelöst ist und dessen pH-Wert (durch Zugabe von HCl und NaOH) auf einen definierten Wert eingestellt wird. Die Spitze wird nun an das gegenüberliegende Festkörpersubstrat angenähert. Sobald sie mit diesem in Kontakt kommt, können ein-



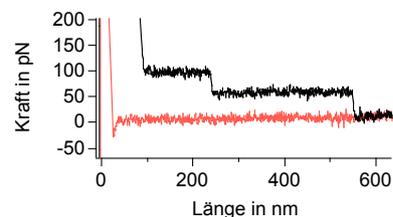
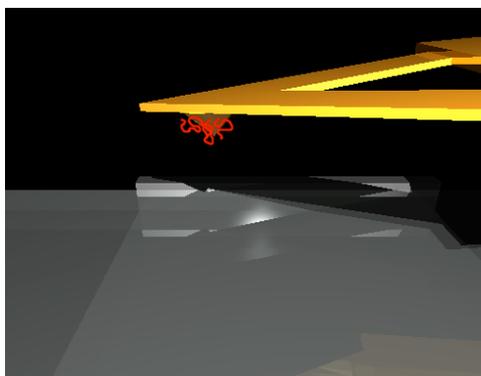
- a *Die AFM-Spitze wird an das Substrat angenähert. Sobald die Spitze die Oberfläche berührt, adsorbieren die Polymere an das Substrat. In der Kraftkurve markiert ein negativer Kraftwert den Kontakt mit der Unterlage.*



- b *Die Spitze wird daraufhin wieder von der Oberfläche wegbewegt. In der Kraftkurve erscheint zunächst ein hoher Kraftpeak, der einer Art von „unspezifischen Adsorption“ zugerechnet wird. Daran schließt sich ein spezifischer Kraftbeitrag an, der hier der Desorption zweier einzelner Polymere entspricht.*



- c *Da die beiden Moleküle unterschiedlich lang sind, wird zuerst das kürzere von beiden vollständig desorbiert. In der Kraftkurve erscheint eine Stufe und man beobachtet im Folgenden die Desorption eines einzelnen Moleküls.*



- d *Wenn das letzte Molekül vollständig desorbiert ist, sinkt die Kraft wieder auf das Nullniveau und ein neuer Adsorptions-Desorptionszyklus kann gestartet werden.*

Abbildung 2.1: Ablauf eines Desorptionsexperimentes.

zelne Polyelektrolytmoleküle an die Oberfläche adsorbieren. Beim erneuten Wegfahren von der Oberfläche kann dann deren kraftinduzierte Desorption beobachtet werden. In den Kraft-Abstands-Kurven werden meistens ein oder mehrere Plateaus eines bestimmten Kraftniveaus beobachtet, die den Desorptionsprozess von einem oder mehreren Molekülen widerspiegeln¹. Um eine signifikante statistische Analyse zu ermöglichen, werden eine Vielzahl von solchen Desorptionskurven aufgenommen, meist einige hundert für bestimmte Umweltbedingungen und einige tausend oder zehntausend im gesamten Experiment, in dem für gewöhnlich mehrfach Parameter verändert werden.

2.2 Kombination von Kraftspektroskopie und Elektrochemie

Ein Trend, der tendenziell zunimmt, ist die Kombination des AFMs mit anderen experimentellen Techniken, die dessen Anwendungsbereich erweitern und differenziertere Messungen ermöglichen. Beispiele hierfür sind die Kombination von Kraftspektroskopie und Optik [61, 62], die eine Untersuchung von lichtinduzierten Konformationsänderungen an Azobenzeneinheiten möglich machte und die Kombination von AFM und SECM, die topographische Untersuchungen simultan zu elektrochemischen Prozessen erlaubt [63-65].

Ziel dieser Arbeit war es, in einfacher Art und Weise ein Elektrodensystem in den AFM-Aufbau zu integrieren, das eine definierte Variation des Oberflächenpotentials leitender Substrate ermöglicht. Da bei Makroelektroden mit großen Strömen zu rechnen ist, muss auf ein Dreielektrodensystem, bestehend aus Arbeits-, Bezugs- und Hilfselektrode, zurückgegriffen werden, das über einen Potentiostaten angesteuert wird. Zentrale Fragestellung ist also, wie sich ein solches Dreielektrodensystem in den AFM-Aufbau integrieren lässt. Die einfachste Realisierung, die zunächst auch Verwendung fand, ist in Abbildung 2.2 dargestellt. Die Arbeitselektrode wird durch die leitende Oberfläche repräsentiert, von der die Polyelektrolytmoleküle im Experiment desorbiert werden. Als Referenzelektrode wird eine Ag/AgCl-Elektrode verwendet, die in der Zuleitung der AFM-Fluidzelle platziert ist und als Hilfselektrode dient die goldbeschichtete AFM-Spitze mitsamt ihrer Halterung. Vorteil dieses Aufbaus ist, dass die nach herkömmlichen Verfahren goldbedampften oder platinbesputterten Glasobjektträger als Arbeitselektroden verwendet werden können, da die Metallelektrode in dieser Geometrie eine geschlossene Fläche darstellt (zur genaueren Erläuterung siehe Anhang, 3.4). Wesentlicher Nachteil ist jedoch, dass zwischen der Arbeitselektrode und der AFM-Spitze

¹ Das zustande kommen dieser Plateaus wird ausführlich in Abschnitt 5.3. diskutiert.

Ströme fließen. Dieser Effekt kann in manchen Fällen zwar erwünscht sein, er hat jedoch auch zur Folge, dass das Potential an der AFM-Spitze relativ undefiniert ist.

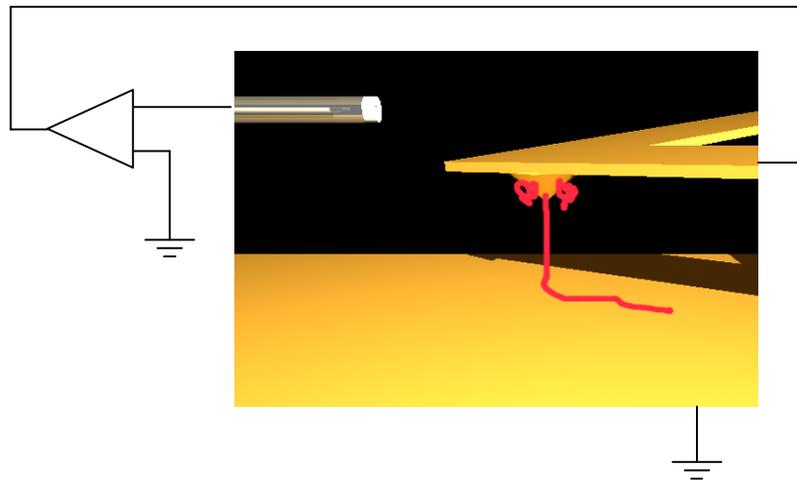


Abbildung 2.2.:

Aufbau eines Dreielektrodensystems unter Einbeziehung einer AFM-Spitze. Die AFM-Spitze dient dabei als Hilfselektrode, die Referenzelektrode wird durch eine in der Zuleitung der Fluidzelle platzierte Ag/AgCl-Elektrode repräsentiert, gegen die das Potential des leitenden Metallsubstrates eingestellt wird.

Nachdem einige technische Probleme beim Herstellen ausreichend stabiler Elektroden gelöst werden konnten, wurde deshalb im weiteren Verlauf der Messungen zunehmend der in Abbildung 2.3 dargestellte alternative Aufbau verwendet. Bei diesem ist die AFM-Spitze nicht kontaktiert und als Hilfselektrode dient eine zweite Gold- oder Platinelektrode auf der Unterlage. In diesem Aufbau fließen die Ströme zwischen den beiden Metallelektroden auf dem Glasobjektträger und die Potentialdifferenz zwischen der AFM-Spitze und dem Metallsubstrat

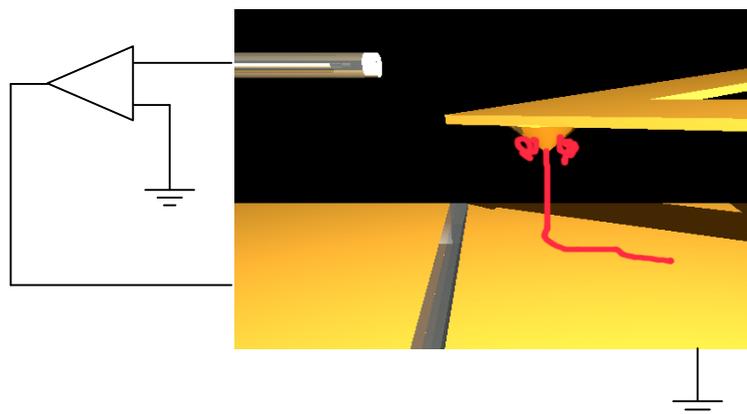


Abbildung 2.3.:

Aufbau eines Dreielektrodensystems ohne Einbeziehung der AFM-Spitze. Arbeits- und Hilfselektrode sind durch Metallelektroden auf dem Substrat repräsentiert. Die Referenzelektrode wurde wiederum in der Zuleitung der Fluidzelle platziert.

ist wohldefiniert. Folglich konnte der Zusammenhang zwischen Adsorptionsverhalten der Moleküle und dem modulierten Oberflächenpotentials des Substrates mit diesem Aufbau in präziserer Art und Weise dargestellt werden, als es mit dem ersten vorgestellten Aufbau der Fall war.

2.3 Spitzenfunktionalisierung

Zitate wie „Single Molecules are 100% pure“² und „Single Molecules are 99% trash“³ zeigen, dass die Meinungen über die Qualität und Präzision von Einzelmolekülexperimenten weit auseinander reichen. Beide Zitate charakterisieren jedoch auch sehr zutreffend die Randbedingungen der Einzelmolekülkraftspektroskopie. Ein Faktor, der wesentlich mitentscheidet, ob die Ergebnisse einer Messung an einzelnen Molekülen hochpräzise oder eher heterogen und undurchsichtig sind, ist die Qualität der untersuchten Probe. Probenpräparation ist damit eines der wichtigsten und schwierigsten Probleme, die sich im Rahmen von kraftspektroskopischen Messungen stellen. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn es um die Funktionalisierung der Spitze geht, da man in diesem Fall nur eingeschränkte Analysemöglichkeiten hat und man Inhomogenitäten nicht im Experiment einfach durch Verschieben des Substrates „umfahren“ kann.

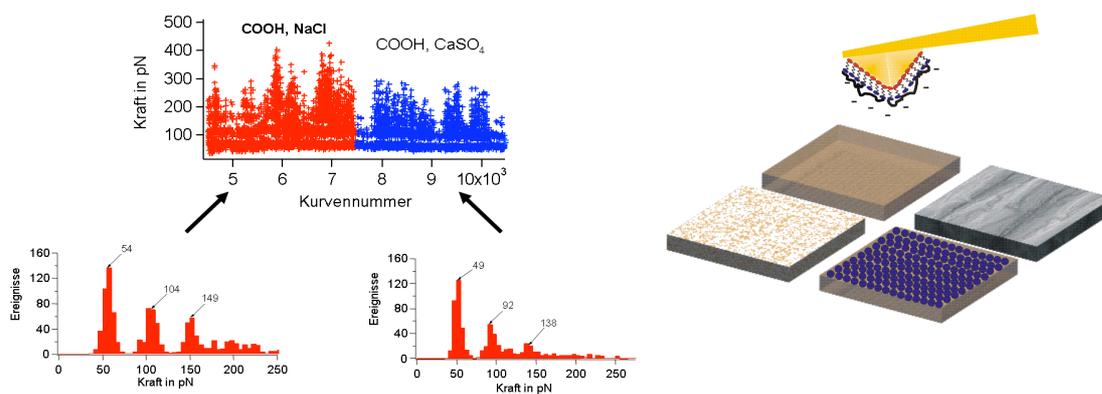


Abbildung 2.4.: Vorteile von Langzeitmessungen (exemplarisch).

- Durch die Vermeidung von Kalibrierungsfehlern können auch kleine Änderungen in der Desorptionskraft detektiert und unterschiedlichen Umweltbedingungen zugeordnet werden.
- Verschiedene Substrate können mit ein und derselben Spitze charakterisiert werden, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse entscheidend erhöht.

² Urs Wild

³ Kazuhiko Kinoshita

Neben der Homogenität ist auch die Langzeitstabilität der Probe für Desorptionsmessungen ein wichtiger Punkt, da nur so eine aussagekräftige Statistik gewonnen werden kann und die Vergleichbarkeit der Messungen unter verschiedenen Umweltbedingungen erheblich gesteigert wird, wenn die Messungen mit ein und derselben Probe durchgeführt werden (siehe Abbildung 2.4, Anhang, 2). Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine thiolbasierte Spitzenfunktionalisierung entwickelt, die eine hinreichende Langzeitstabilität gewährleistet und auf die deshalb wiederholt zurückgegriffen wurde. In Abbildung 2.5 sind die einzelnen Präparationschritte für den Fall der Polyacrylsäure dargestellt (Details siehe Anhang, 1.4).

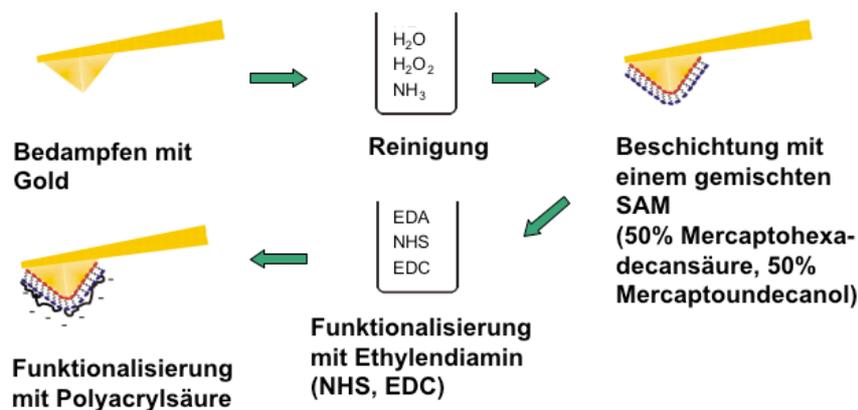


Abbildung 2.5: Funktionalisierung der Spitze für den Fall der Polyacrylsäure.

Über die oben vorgestellte Thiolchemie konnten sowohl Polymere mit Carboxylgruppen als funktionellen Gruppen als auch solche mit Amingruppen kovalent an die Spitze angebunden werden. Einen Überblick über die verwendeten Moleküle gibt Abbildung 2.6⁴.

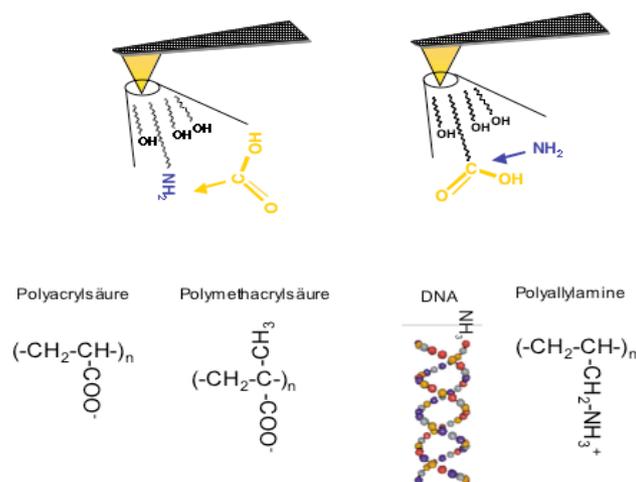


Abbildung 2.9.: Überblick über die verwendeten Moleküle und ihre Anbindung an die Spitze.

⁴ Die hier verwendete DNA wurde von Angelika Kardinal über PCR gefertigt.

3 Theoretische Betrachtungen

Polyelektrolyte sind Polymere aus Monomeren mit ionisierbaren Gruppen. Damit verfügen sie in polaren Lösungsmitteln über eine erhebliche Anzahl an geladenen funktionellen Gruppen die von Gegenionen umgeben sind. Um ihren spezifischen Eigenschaften gerecht zu werden, wird zunächst in Kapitel 3.1 ihr Verhalten in Lösung skizziert, um dann in Kapitel 3.2. auf die Grundlagen der Polyelektrolytadsorption einzugehen. In Kapitel 3.3. werden die wichtigsten elektrochemischen Vorgänge beschrieben, die Beachtung finden müssen, wenn externe elektrische Felder angelegt werden. Im letzten Abschnitt geht es um Kraftspektroskopie im Nichtgleichgewicht, was wesentlich ist im Hinblick auf Dateninterpretation und Datenanalyse.

3.1 Polyelektrolyte

Polyelektrolyte sind Makromoleküle aus Monomeren mit ionisierbaren Gruppen. Man unterscheidet zwischen kationischen, anionischen und amphiphilen Polyelektrolyten sowie zwischen starken und schwachen Polyelektrolyten. Bei schwachen Polyelektrolyten lässt sich der Anteil an geladenen Monomeren über den pH der umgebenden Lösung beeinflussen, starke Polyelektrolyte sind dagegen stets bis zu ihrem maximal möglichen Wert aufgeladen; die Ladungsdichte ρ kann dabei einzig über den Anteil an neutralen Monomeren in der Polymerkette eingestellt werden. Neben den kurzreichweitigen Wechselwirkungen, die das Verhalten ungeladener Polymere bestimmen, wie van der Waals-Wechselwirkungen oder sterische Repulsion, tritt bei Polyelektrolyten noch die langreichweitige Coulombwechselwirkung hinzu. Das hat zum einen zur Folge, dass die mathematische Behandlung der Polyelektrolyte ungleich komplizierter ist, bedingt aber auch, dass sich deren makroskopische Materialeigenschaften wie z. B. Löslichkeit, Quellverhalten, Härte oder Viskosität gravierend verändern. Darin wiederum sind die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten der Polyelektrolyte begründet [2].

Die Anzahl der geladenen Monomere bestimmt die Ladungsdichte ρ eines Polyelektrolytmoleküls. Für schwache Polyelektrolyte kann sie beschrieben werden durch den Dissoziationsgrad α , der gegeben ist durch [66]:

$$\alpha = \frac{1}{1 + 10^{\text{p}K_s - \text{pH}}} \quad (3.1)$$

pK_a ist bestimmt durch $pK_a = -\log_{10} K_a$, wobei K_a die Dissoziationskonstante des Polyelektrolyten beschreibt.

Der Abstand d zwischen zwei Ladungen im Polymer kann einen gewissen kritischen Abstand nicht unterschreiten: Wenn die elektrostatische Abstoßung V^{el} zwischen den Ladungen die thermische Energie $k_B T$ der Gegenionen in der Lösung übersteigt, kondensieren Gegenionen an die Ladungen und zwar so lange, bis

$$V^{el}(d) = \frac{q^2}{4\epsilon\epsilon_0 d} = k_B T \quad (3.2)$$

erfüllt ist. q ist dabei die Ladung der Monomere, ϵ ist die Dielektrizitätskonstante des umgebenden Lösungsmittels (Für Wasser: $\epsilon \approx 80$) ϵ_0 ist die elektrische Feldkonstante, d ist der Abstand zwischen zwei geladenen Monomeren, k_B ist die Boltzmannkonstante und T ist die Temperatur. Für d folgt daraus unmittelbar:

$$d = l_B = \frac{q^2}{4\epsilon\epsilon_0 k_B T} \quad (3.3)$$

Diese charakteristische Länge wird Bjerrumlänge genannt. Das Phänomen der Gegenionenkondensation ist als Manning-Kondensation [67,68] bekannt. Sie hat zur Folge, dass sich die effektive Ladungsdichte des Polyelektrolytmoleküls auf $\lambda = l_B^{-1}$ reduziert.

Polyelektrolyte in Lösung können nur im Zusammenhang mit den Ionen gesehen werden, die die elektrostatische Wechselwirkung beträchtlich abschirmen. Eine Abschätzung für die Reichweite des elektrischen Potentials stellt die Debyesche Abschirmlänge λ^{-1} dar, die gegeben ist durch [69]:

$$\lambda^{-1} = \sqrt{\frac{\epsilon}{4\epsilon_0 k_B T} \sum_i n_i q_i^2} \quad (3.4)$$

Dabei sind die n_i die Ladungskonzentration der Ladungen q_i . Für einen Abstand $z > \lambda^{-1}$ ist das elektrostatische Potential abgeschirmt und kann durch

$$V^{el}(z) = \frac{1}{z} e^{\frac{z}{\lambda}} \quad (3.5)$$

angenähert werden.

Die Coulomb-Abstoßung zwischen den geladenen Segmenten begünstigt eine gestreckte Konformation des Polyelektrolytmoleküls und bewirkt so eine Versteifung desselbigen. Ausgehend vom Modell der semi-flexiblen Kette tragen Odijk [70], Skolnik und Fixman [71] dieser Tatsache durch einen zusätzlichen elektrostatischen Beitrag l_p^{el} zur Persistenzlänge Rechnung:

$$l_p^{OSF} = l_p + l_p^{el} \quad (3.6)$$

Der elektrostatische Beitrag ist dabei gegeben durch:

$$l_p^{el} = l_B \frac{\lambda^2}{4} \quad (3.7)$$

bzw. durch:

$$l_p^{el} = \frac{\lambda^2}{4} l_B \quad (3.8)$$

wenn Manning-Kondensation auftritt.

Für sehr steife Polyelektrolytketten konnte teils eine gute Übereinstimmung zwischen der OSF-Theorie und experimentellen Ergebnissen gefunden werden. Speziell für den Fall semi-flexibler Ketten unter Zug ergaben sich jedoch gravierende Abweichungen. Dies ist v. a. darauf zurückzuführen, dass das Konzept einer statischen Persistenzlänge nicht haltbar ist, wenn äußere Kräfte auf das Polyelektrolytmolekül einwirken. Netz [72] entwickelte eine Theorie, die das elastische Verhalten eines einzelnen geladenen Polymers unter Einwirkung großer Kräfte F beschreibt (vgl. Anhang, 4.4), die sich sehr gut mit den Ergebnissen aus AFM-Experimenten in Übereinstimmung bringen ließ [30,73,74].

3.2 Adsorption an Oberflächen

Polymere adsorbieren spontan aus der Lösung an eine Oberfläche, wenn die Wechselwirkung zwischen Oberfläche und Polymer günstiger ist als diejenige zwischen Polymer und Lösung.

Umgekehrt kann es sich jedoch auch von einer Oberfläche lösen, wenn es in der Lösung günstigere Bedingungen vorfindet. Das Adsorptionsverhalten ist dabei bestimmt durch den Wettkampf zwischen einem attraktiven Oberflächenpotential $\varphi(z)$ und einer entropischen Repulsion F_{rep} , die versucht die Entropie zu maximieren und die Polymere damit in Lösung hält. Das Oberflächenpotential kann sich aus vielen verschiedenen Anteilen zusammensetzen. Hier sollen exemplarisch einige nicht-kovalente Beiträge diskutiert werden.

3.2.1 Elektrostatische Beiträge

3.2.1.1 Wechselwirkung mit einer geladenen Oberfläche

Die wichtigen Größen, die zur Beschreibung elektrostatischer Wechselwirkungen zwischen Polyelektrolytmolekülen und geladenen Oberflächen herangezogen werden müssen, sind die Linienladungsdichte des Polymers, die Oberflächenladungsdichte des Substrats, die Salzkonzentration in der Lösung und in manchen Fällen der pH der Lösung. Die repulsive Wechselwirkung zwischen einzelnen geladenen Monomeren versteift die Kette und begünstigt damit die Adsorption an Oberflächen, da der Entropieverlust, der damit einhergeht im Vergleich zu nichtgeladenen Ketten geringer ist. Drei Teile eines adsorbierten Polymers werden unterschieden: „trains“ werden diejenigen Teile der Kette genannt, die an die Unterlage gebunden sind, während „loops“ nichtgebundene Teile zwischen gebundenen Teilen der Kette repräsentieren. „Tails“ sind nicht adsorbierte oder freie Kettenenden.

Die Rolle des Salzes wird durch die Poisson-Boltzmann-Gleichung bestimmt. Diese stellt einen mean-field-Ansatz [66,75,76] dar, der die lokale Ionenkonzentration $\varrho_M(r)$ über eine Boltzmann-Verteilung bestimmt:

$$\varrho_M(r) = c_0 e q e^{-\frac{q\varphi(r)}{k_B T}} \quad (3.9)$$

q ist dabei die Wertigkeit der Ionen, e ist die Elementarladung, c_0 ist die Salzkonzentration in Lösung und $\varphi(r)$ ist das elektrostatische Oberflächenpotential des Substrats. Wenn man diese Gleichung mit der Poisson-Gleichung kombiniert, dann erhält man die Poisson-Boltzmann-Gleichung:

$$\psi(r) = \frac{\psi(r)}{\psi} = \frac{c_0 e q}{\psi} e^{-\frac{q\psi(r)}{k_B T}} \quad (3.10)$$

Diese Gleichung ist nur für den Fall einer planaren geladenen Wand exakt lösbar. Das asymptotische Verhalten gegeben durch [77]:

$$\frac{e\psi(r)}{k_B T} = \begin{cases} \frac{2}{\kappa} e^{-\kappa r} & \text{für } \kappa r \gg 1 \\ 2 \ln \frac{\kappa r}{2} + 2 \ln \frac{r}{\kappa} + \frac{r}{\kappa} & \text{für } \kappa r \ll 1 \text{ und } r \ll \kappa^{-1} \end{cases} \quad (3.11)$$

κ steht dabei für die Gouy-Chapman Länge. Diese entspricht dem Abstand eines einzelnen Ions von einer geladenen Wand der Ladungsdichte σ , bei dem dessen Wechselwirkung mit der Wand der thermischen Energie $k_B T$ entspricht und ist gegeben durch [76]:

$$\kappa = \frac{2k_B T \sigma b}{e^2 \psi} \quad (3.12)$$

3.2.1.2 Gültigkeit der Debye-Hückel-Näherung

Der erste Grenzfall in (3.28) beschreibt das Debye-Hückel Regime, in dem die Abschirmlänge so klein ist, dass nichtlineare Effekte vernachlässigt werden können. Dieses Ergebnis erhält man auch, wenn man die Poisson-Boltzmann-Gleichung linearisiert, was auf die Debye-Hückel-Gleichung führt [77]:

$$\psi(r) = \psi^2(r) \quad (3.13)$$

Diese Näherung ist zulässig, wenn das elektrostatische Potential, das auf eine Elementarladung wirkt kleiner ist als $k_B T$, das heißt für $e q \psi(r) / k_B T \ll 1$. Dies trifft für einen weiten Bereich der Salzkonzentrationen unterhalb des Manning-Limits [78] und Oberflächenpotentialen von weniger als 25 mV zu. Der zweite Grenzbereich ist das Gouy-Chapman Regime, in dem die Debye-Hückel-Näherung in unmittelbarer Nähe zur Grenzschicht zusammenbricht.

Für zweiwertige oder dreiwertige Ionen und einer Oberflächenladungsdichte über 1 nm^{-1} ist der Grenzfall starker Kopplung erreicht, der nicht in der Poisson-Boltzmann Gleichung be-

rücksichtigt wird. Dieser Grenzfall wurde durch die Feldtheorie beschrieben [79] und führt, ähnlich wie die Debye-Hückel-Näherung, zu einem exponentiellen Dichteprofil, jedoch mit einem unterschiedlichen Dichtekontaktwert.

3.2.1.3 Ladungsregulierungsmechanismen

Der unter 3.1. eingeführte Dissoziationsgrad α im Polyelektrolyten, der die Ladungsdichte bestimmt, kann bei gegebenem pH deutlich vom Dissoziationsgrad einzelner Monomere in Lösung abweichen. Der Grund dafür ist die elektrostatische Abstoßung zwischen den einzelnen Monomeren, die bewirkt, dass die Zahl der geladenen Gruppen im Polymer effektiv reduziert wird. Aber auch gegenüber dielektrischen Grenzschichten kann die Ladungsdichte eines Polyelektrolyten bedingt durch dessen Wechselwirkung mit Spiegelladungen stark verändert werden. Im Folgenden soll kurz eine von Netz [66] entwickelte Theorie vorgestellt werden, die diese Art von Ladungsregulierung beschreibt.

Die elektrostatische Energie zwischen zwei Einheitsladungen in Lösung in Abhängigkeit vom Abstand r ist in der Debye-Hückel-Näherung gegeben durch:

$$\frac{V_{\text{DH}}}{k_{\text{B}}T} = \frac{l_{\text{B}}e^{\alpha z}}{r} \quad (3.14)$$

In Anwesenheit einer dielektrischen Grenzschicht, kann nur in zwei Fällen eine geschlossene Lösung berechnet werden [80], nämlich im Falle eines metallischen Substrates, für das $\epsilon = \infty$ gilt und für $\epsilon = 0$, das als Näherung für Substrate mit sehr niedriger Dielektrizitätszahl angesetzt werden kann. Für zwei Einheitsladungen, die sich an den Orten \mathbf{r} und \mathbf{r}' im Abstand z und z' von der Grenzschicht befinden, erhält man dann:

$$\frac{V_{\text{DH}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')}{k_{\text{B}}T} = v_{\text{DH}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = l_{\text{B}} \frac{e^{\alpha z} e^{\alpha z'}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \mp l_{\text{B}} \frac{e^{\alpha z} \sqrt{(r - r')^2 + 4zz'}}{\sqrt{(r - r')^2 + 4zz'}} \quad (3.15)$$

Nahe der Oberfläche ist der zweite Term von derselben Größenordnung wie der erste. Für ein metallisches Substrat, für das das Minuszeichen gilt, verschwindet dort die Wechselwirkung, während sie sich für $\epsilon = 0$ verdoppelt.

Die ionische Selbstenergie, die die Wechselwirkung einer Ladung mit ihrer eigenen Spiegelladung beschreibt, umfasst den Energiegewinn/-verlust, der sich ergibt, wenn man eine ionische Ladung in Lösung abgibt und zum Ort z bewegt. Sie ist gegeben durch:

$$\frac{V_{\text{DH}}^{\text{selbst}}}{k_B T} = v_{\text{DH}}^{\text{selbst}} = \frac{1}{2} v_{\text{DH}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}' = \mathbf{r}) = \frac{q_B^2}{2} \mp 1_B \frac{e^{\frac{2z}{D}}}{4z} \quad (3.16)$$

Dabei wurde die divergente Coulomb-Selbstenergie abgezogen. Man sieht, dass Ladungen von metallischen Oberflächen angezogen (Minuszeichen in Gleichung 3.19) und von Oberflächen mit niedriger Dielektrizitätszahl abgestoßen werden (Pluszeichen in Gleichung 3.19).

Konformationsfreiheitsgrade des Polymers seien im Folgenden ausgeschlossen. Man nimmt an, dass das Polymer eine gerade Linie darstellt. Diese Annahme ist näherungsweise richtig für sehr steife und/oder stark adsorbierte Polymere. Die Monomerzahl sei N , der Abstand zwischen zwei dissoziierbaren Gruppen, die eine Säure darstellen sollen, sei a und der Abstand des Polymers von der dielektrischen Grenzschicht sei D . Die Zustandsdichte für einwertige Monomere ist gegeben durch:

$$Z = \sum_{\{s_i\}=0,1} \exp \left[\sum_i s_i \sum_{i>j} s_j v_{\text{DH}}(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j) \right] \quad (3.17)$$

s_i ist dabei eine Spinvariable vom Wert 0 oder 1, die angibt, ob das i -te Monomer geladen ist oder nicht. Das chemische Potential μ ist gegeben durch:

$$\mu = \mu^0 + 2.303(pH - pK_a) + v_{\text{DH}}^{\text{selbst}}(D) \mp \frac{1_B}{2} \quad (3.18)$$

Der erste Term repräsentiert dabei die freie Energie der Dissoziation, der zweite Term ist die elektrostatische Wechselwirkung zwischen dem geladenen Monomer und dem Substrat und der letzte Term ist die Selbstenergie des abgegebenen Protons. Aus der Zustandsdichte lassen sich die freie Energie pro Monomer und der Anteil der geladenen Monomere bestimmen:

$$\frac{F}{k_B T} = \mu - \frac{\ln(Z)}{N} \quad (3.19)$$

$$\bar{\sigma} = \bar{\sigma} \frac{1}{N} \frac{\partial Z}{\partial \bar{\sigma}} \quad (3.20)$$

Die Berechnung der Zustandssumme für große Monomerzahlen ist sehr aufwendig. Qualitativ kann jedoch festgehalten werden: In Lösung gilt: ist die Debyelänge von der Größenordnung der Monomerlänge a , dann wird die elektrostatische Abstoßung irrelevant und die Dissoziationskonstante kann durch (3.1) angenähert werden. Nimmt die Salzkonzentration jedoch ab, dann nimmt auch die Ladungsdichte des Polymers ab. Für Debyelängen, die größer oder gleich der Polymerlänge sind, ergeben sich keine größeren Änderungen mehr. Gegenüber einer Oberfläche mit sehr kleiner Dielektrizitätszahl nimmt das Polymermolekül einen komplett ungeladenen Zustand an, was auf die starke Abstoßung durch die Spiegelladung zurückzuführen ist. Die elektrostatische Wechselwirkung ist deshalb beim Annähern an die Oberfläche repulsiv und nimmt im Kontakt mit dieser den Wert 0 an, da das Polymer keine Ladung mehr trägt. In unmittelbarer Nähe zu einer Metalloberfläche lädt sich ein Polyelektrolytmolekül dagegen maximal auf, was in der starken Anziehung durch die Spiegelladung begründet ist. Das Polymer erfährt in der Nähe und im Kontakt mit der Oberfläche eine anziehende Wechselwirkung. Grob gesprochen lässt sich zusammenfassen: Gegenüber einer Oberfläche mit niedriger Dielektrizitätszahl wird auch ein starker Polyelektrolyt schwach und umgekehrt wird gegenüber einer Metalloberfläche auch ein schwacher Polyelektrolyt stark.

3.2.2 Van-der-Waals Wechselwirkungen

Auf sehr kurzen Distanzen werden van-der-Waals Wechselwirkungen relevant. Sie existieren in allen Systemen und ihre Wechselwirkungsenergie ist proportional zu r^{-6} bei kleinen und mittleren Distanzen (von 1 Å bis zu mehreren nm) [81]. Man unterscheidet dabei drei Beiträge [69,76]:

- Keesom-Wechselwirkung (Dipol-Orientierungskraft): Darunter versteht man die Boltzmann-gemittelte Wechselwirkung zwischen zwei permanenten Dipolen.

$$E^{DD} = \bar{\sigma} \frac{2}{3} \frac{1}{k_B T} \frac{\mathbf{p}_1 \mathbf{p}_2^2}{16 \bar{\sigma}^2 \bar{\epsilon}^2} \frac{1}{r^6} \quad (3.21)$$

- wobei $\mathbf{p}_{1,2}$ die Dipolmomente der beiden Moleküle und r den Abstand der Dipole voneinander bezeichnet.

- Debye-Induktions-Kraft: Das ist die Wechselwirkung zwischen einem permanenten und einem induzierten Dipol:

$$E^{\text{Ind}} = \frac{\alpha_p p_2^2}{8\pi^2 \epsilon_0^2 r^6} \quad (3.22)$$

wobei α_p für die Polarisierbarkeit des dipollosen Moleküls steht.

- London-Kraft (Dispersionskraft): Dies ist die Kraft zwischen zwei induzierten Dipolen. Sie wirkt zwischen allen Atomen und Molekülen. Dieser Beitrag ist eine Art von quantenmechanischer Polarisationskraft. Die London-Kraft ist der wichtigste Beitrag zur Van-der-Waals Wechselwirkung und wird über die London-Gleichung beschrieben:

$$E^{\text{Disp}} = \frac{2}{3} \frac{\alpha_p \alpha_{p2}}{16\pi^2 \epsilon_0^2} \frac{I_1 I_2}{I_1 + I_2} \frac{1}{r^6} \quad (3.23)$$

$I_{1,2}$ sind dabei die Ionisationsenergien der beiden Teilchen.

Hamaker [82] zeigte, dass die attraktive van-der-Waals Kraft direkt proportional zu einer Konstanten A_H ist, die seitdem als Hamaker-Konstante bekannt ist und die nur von der Art des Materials abhängt.

3.2.3 Hydrophobe Beiträge

3.2.3.1 Natur der Wechselwirkung

Um die Natur hydrophober Wechselwirkungen verstehen zu können, muss zunächst auf die Struktur von Wasser eingegangen werden. Wasser hat viele interessante und anomale Eigenschaften, zu erwähnen sind dabei z. B. das Dichtemaximum bei 4° C oder die Tatsache, dass die Dielektrizitätskonstante ϵ beim Gefrieren zunimmt. Die Ursache dieser Anomalien ist in der besonderen Struktur des Wassers zu suchen, die durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken (H-Brücken) zwischen H- und O-Atomen unterschiedlicher Wassermoleküle bestimmt wird. H-Brücken sind gerichtete Bindungen elektrostatischer Natur mit einer Bindungsenergie von 10 bis 40 kJ/mol, die auch in einem nichtpolaren Medium auftreten können [69]. Die starke Tendenz von Wasser-Molekülen, H-Brücken zu bilden, bestimmt ihre Wech-

selwirkung mit anderen Molekülen. Bringt man Moleküle in Wasser, die nicht in der Lage sind, H-Brücken auszubilden, so veranlasst dies die Wassermoleküle dazu, sich derart umzuordnen, dass sie die Zahl der H-Brücken maximieren können. Sie bilden dabei eine Art Käfig um die Moleküle herum. Dies stellt jedoch einen Übergang in einen geordneteren Zustand dar, der entropisch sehr ungünstig ist. Deshalb sind Moleküle, die keine H-Brücken ausbilden können, wie z. B. Kohlenwasserstoffe in Wasser sehr unlöslich und man beobachtet in diesem Fall eine starke Anziehung zwischen den Molekülen, die man als hydrophobe Wechselwirkung bezeichnet [69].

3.2.3.2 Zusammenhang mit der Oberflächenenergie von oberflächenaktiven Substanzen

Bis heute gibt es nur wenige Messdaten zur Quantifizierung von hydrophoben Wechselwirkung und aufgrund der Komplexität der Wechselwirkung auch kaum theoretische Ansätze zu deren Beschreibung. Man weiß lediglich, dass sie stark von der Oberfläche der in Wasser gebrachten Moleküle abhängen. Israelachvilli und Pashley [83] haben auf der Basis von experimentellen Ergebnissen vorgeschlagen, die Stärke der hydrophoben Wechselwirkung (für kleine Moleküle) folgendermaßen abzuschätzen:

$$\Delta G \approx \Delta \sigma d \text{ kJmol}^{-1} \quad (3.24)$$

Für oberflächenaktive Substanzen kann der Beitrag der hydrophoben Wechselwirkung jedoch auch über die Oberflächenenergie der Moleküle abgeschätzt werden.

Ursprung der Oberflächenenergie ist die Tatsache, dass der Energiezustand der Moleküle, die in der Oberfläche angeordnet sind, ein anderer ist, als der Energiezustand der Moleküle in der Volumenphase. Man muss also entweder Arbeit leisten, um die Moleküle von der Volumenphase auf die Oberfläche zu bringen oder es wird Energie frei.

Thermodynamisch lässt sich die Grenzflächenenergie einer kondensierten Phase folgendermaßen bestimmen [84]: Die freie Enthalpie der kondensierten Phase an der Grenzschicht ist eine Funktion der Temperatur T , des Druckes p und der Oberfläche A der Grenzschicht:

$$G = f(T, p, A) \quad (3.25)$$

Das totale Differential der freien Enthalpie lässt sich dann schreiben als:

$$dG = \left[\frac{\partial G}{\partial T} \right]_{p,A} dT + \left[\frac{\partial G}{\partial p} \right]_{T,A} dp + \left[\frac{\partial G}{\partial A} \right]_{p,T} dA \quad (3.26)$$

Unter isothermen und isobaren Bedingungen gilt:

$$dG = \left[\frac{\partial G}{\partial A} \right]_{p,T} dA = \gamma dA \quad (3.27)$$

γ bezeichnet dabei die Oberflächenenergie pro Einheitsfläche, die auch Oberflächenspannung genannt wird.

Misst man nun, z. B. in einem Filmwaagenexperiment die Änderung der Oberflächenspannung von Wasser durch eine oberflächenaktive Substanz an der Luft-Wasser-Grenzfläche, so erhält man ein Maß für die Oberflächenenergie dieser Substanz gegenüber einer hydrophoben Grenzschicht.

3.2.4 Koordinative Bindungen

Die auf koordinativen Bindungen basierenden Komplex-Verbindungen sind in der Chemie schon seit mehreren Jahrhunderten bekannt, ältestes Beispiel ist wahrscheinlich das Berlinerblau, das 1704 zufällig von Diesbach entdeckt wurde. Obwohl die Zahl der bekannten Verbindungen in der Folgezeit rasch anwuchs, blieb die Struktur und Natur der zu Grunde liegenden Bindung für lange Zeit rätselhaft. Erst die bahnbrechenden Arbeiten von Alfred Werner [85], der dafür 1913 den Nobelpreis erhielt, brachten Licht ins Dunkel. Mittlerweile existieren zahlreiche theoretische Erklärungsansätze. Im Rahmen dieser Arbeit soll jedoch nur das Valenz-Struktur-Modell [86,87], das auf Linus Pauling zurückgeht, vorgestellt werden. Ihm zufolge versteht man die Komplexbildung als Reaktion einer Lewis-Säure mit einer Lewis-Base unter Ausbildung einer koordinativen Bindung. Der Lewis-Säure stellt dabei der Ligand dar, während als Lewis-Base ein Metall-Atom oder -Ion in Erscheinung tritt. Aus der Hybridisierung kann man dabei auf die Geometrie schließen, wie an folgendem Beispiel erläutert werden soll:

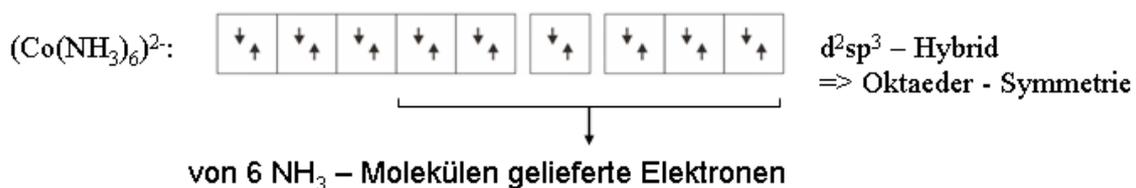
Man betrachte die Komplexverbindung $(\text{Co}(\text{NH}_3)_6)^{2+}$. Co^{3+} ist ein sechsfach koordinierendes diamagnetisches d^6 -Ion:



Bevor es die koordinative Bindung eingeht, geht es in einen angeregten Zustand über:



Die Liganden können dann die unbesetzten d-Orbitale benutzen:



Dieser Komplex besitzt weniger ungepaarte Elektronen als das zentrale Ion im Grundzustand. Man bezeichnet ihn daher low-spin- oder inner-orbital-Komplex. Daneben gibt es Komplexe, bei denen die Elektronenkonfiguration des unkomplexierten Zentralatoms erhalten bleibt, die man high-spin- oder outer-orbital-Komplexe nennt.

Das Valenz-Struktur-Modell stellt eine sehr einfache Erklärung für viele Phänomene der Komplexbindung dar, sie unterliegt aber auch sehr engen Grenzen. Auf weiterführende Theorien wie die Ligandenfeld-Theorie oder die Molekülorbitaltheorie soll jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter eingegangen werden.

3.3 Aspekte der Elektrochemie

3.3.1 Elektrodenprozesse

Eine Elektrodenreaktion ist ein heterogener Prozess, der mit dem Transport von Elektronen zwischen zwei Phasen einhergeht. Eine dieser Phasen ist i. d. R. ein Elektrolyt, in dem die Ladung durch die Bewegung von Ionen transportiert wird, die andere ist ein leitender Festkörper, der als Elektrode dient.

Wird an die Elektrode ein Potential angelegt, das negativer ist als deren Gleichgewichtspotential, so wird die Energie der ElektrodenElektronen erhöht. Ist deren Energie hoch genug, so können sie freie Zustände einer Spezies besetzen, die sich im Elektrolyten befindet. Im Verlauf dieses Elektrodenprozesses, der kathodisch genannt wird, wird eine Spezies im Elektrolyten reduziert [88]:



Durch Konvention [89] wird festgelegt, dass der zu einem kathodischen Prozess gehörende Strom ein negatives Vorzeichen haben soll.

Wird die Energie der ElektrodenElektronen jedoch durch ein positives Potential abgesenkt, so kann es dazu kommen, dass Elektronen einer Spezies im Elektrolyten ein günstigeres Energieniveau auf der Elektrode finden und dieses besetzen. Dieser Ladungstransfer ist ein anodischer Prozess in dessen Verlauf eine Spezies im Elektrolyten oxidiert wird:



Die Fähigkeit eines Redoxpaares O/R, Elektronen abzugeben oder aufzunehmen wird durch das Standardredoxpotential E^0 beschrieben, das ein Maß für die Änderung der freien Energie, ΔG^0 , die mit der Redoxreaktion einhergeht, darstellt [88, 90]:

$$\Delta G^0 = -nFE^0 \quad (3.28)$$

n ist dabei die Anzahl der transferierten Elektronen und F ist die Faraday-Konstante. Das Standardredoxpotential E^0 spiegelt die Stabilität des reduzierten bzw. oxidierten Zustandes wider: ein guter Elektronendonator besitzt ein negativeres Standardredoxpotential als ein guter Elektronenakzeptor.

Die fundamentale Gleichung, die Redoxreaktionen bestimmt, ist die Nernst-Gleichung:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_O}{a_R} \quad (3.29)$$

Diese Gleichung ist definiert auf der Basis der Aktivitäten der oxidierten und der reduzierten Form a_O und a_R . R ist dabei die Gaskonstante. Viel gebräuchlicher ist eine Form der Nernst-

Gleichung, die sich auf die Konzentrationen von O und R in der Lösung c_O und c_R bezieht, mit dem zugehörigen Redoxpotential E^0 :

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{c_O}{c_R} \quad (3.30)$$

Elektrodenprozesse, bei denen es zum Ladungstransfer an der Elektrode kommt, werden auch Faradayesche Prozesse genannt. Daneben gibt es auch noch eine Reihe anderer Vorgänge, bei denen kein Elektronenübergang stattfindet und die deshalb Nicht-Faradayesche Prozesse genannt werden.

3.3.2 Die elektrische Doppelschicht

Der im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Adsorptionsvorgänge finden am Grenzübergang Elektrode-Lösungsmittel statt. Im Hinblick darauf ist es wichtig, die Struktur dieser Grenzschicht einer genaueren Betrachtung zu unterziehen.

Das einfachste Modell ist auf Helmholtz zurückzuführen, der die Elektrode-Lösungsmittel Grenzschicht als Kondensator betrachtete [84, 90]. Die Überschussladung der Elektronen auf der Elektrode wird dabei durch Elektrolytionen entgegengesetzter Ladung neutralisiert. Die Kapazität C_d dieses Kondensators kann einfach berechnet werden zu:

$$C_H = \frac{\epsilon b}{d} \quad (3.31)$$

wobei ϵ die Dielektrizitätskonstante des Mediums d die Dicke der Schicht repräsentiert. Wesentliche Schwäche dieses Modells ist die Tatsache, dass die Kapazität eine Konstante darstellt, die unabhängig von der Salzkonzentration in Lösung und dem Potential der Elektrode ist, was sich experimentell nicht bestätigen lässt. Die Gouy-Chapman-Theorie basiert dagegen auf dem Raumladungsmodell der diffusen Doppelschicht. Deren Potentialverlauf kann als Lösung der Poisson-Boltzmann-Gleichung bestimmt werden (siehe Abschnitt 3.2.1.1). Die Kapazität der Doppelschicht berechnet sich gemäß [90]:

$$C_D = \frac{2z^2 e^2 n \epsilon_0}{k_B T} \cosh \left(\frac{ze \psi_0}{2k_B T} \right) \quad (3.32)$$

z bezeichnet dabei die Wertigkeit der Ionen in Lösung, n deren Konzentration und ψ_0 das Oberflächenpotential.

Stern kombinierte die Vorstellungen von Helmholtz und Gouy-Chapman, indem er ein Modell annahm, dass aus zwei Schichten besteht, nämlich der starren Helmholtzschicht, an die sich eine diffuse Doppelschicht anschließt. Neben den elektrostatischen Kräften, die die Struktur der diffusen Doppelschicht festlegen, besteht damit auch noch die Möglichkeit der Adsorption durch kurzreichweitige Kräfte. Der Potentialverlauf setzt sich dann zusammen aus einem linearen Anteil, an den sich ein exponentieller Verlauf anschließt. Die Kapazität lässt sich dementsprechend durch eine Hintereinanderschaltung von zwei Kondensatoren beschreiben [90]:

$$\frac{1}{C_d} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_D} \quad (3.33)$$

Doch auch dieses Modell konnte die realen Gegebenheiten nur unzureichend beschreiben. Grahame fand heraus, dass insbesondere Anionen aber auch Kationen spezifisch in der Helmholtzschicht absorbiert sein können, Bockris berücksichtigt zusätzlich die Existenz von Wasserschichten in der inneren Helmholtzschicht [84]. Die gesamte Grenzschicht lässt sich damit in folgende Gebiete unterteilen: Die innerste Schicht, die sogenannte innerste Helmholtzfläche (inner Helmholtz plane, IHP) enthält Lösungsmittelmoleküle und spezifisch adsorbierte Moleküle oder Ionen, deren Mittelpunkte in einem Abstand x_1 lokalisiert sind. Solvatisierte Ionen können sich nur bis auf eine Distanz x_2 annähern, die die äußere Helmholtzfläche (outer Helmholtzplane, OHP) markiert. Daran schließt sich die sog. diffuse Doppelschicht an, die sich aus unspezifisch adsorbierten Ionen zusammensetzt. Die letzten beiden Modellvorstellungen und deren Auswirkungen auf den Potentialverlauf sind in Abbildung 3.1 dargestellt. Insbesondere das letzte von Bockris vorgeschlagene Modell konnte sich gut mit den experimentellen Befunden in Einklang bringen lassen.

Die Konsequenzen dieser elektrischen Doppelschicht für Elektronentransferreaktionen sind vielfältig, es soll hier nur exemplarisch auf die zwei wichtigsten hingewiesen werden. Zum einen muss bedacht werden, dass sich unspezifisch adsorbierte Ionen nur bis an die äußere

Helmholtzebene annähern können und damit nur ein abgeschwächtes Potential erfahren. Zum anderen muss bedacht werden, dass beim Anlegen eines Potentials zunächst einmal ein Strom

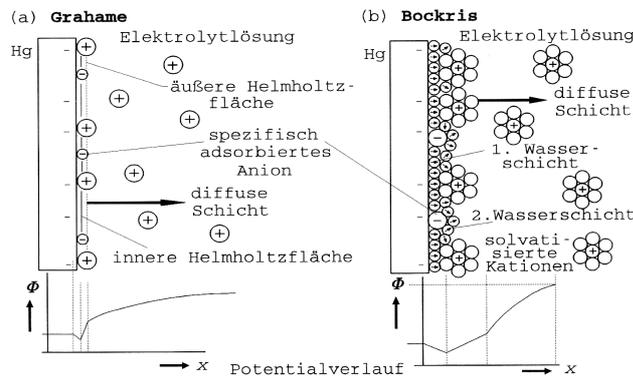


Abbildung 3.1: Modell der Doppelschicht nach Grahame und nach Bockris (aus [103]).

fließt, der den durch die Grenzschicht Elektrode-Lösungsmittel repräsentierten Kondensator auflädt. Folglich kann die Existenz der elektrischen Doppelschicht nicht ohne weiteres ignoriert werden. Nachdem die Dicke der elektrischen Doppelschicht aber umgekehrt proportional zur Konzentration des Elektrolyten ist, können die mit der Doppelschicht einhergehenden Effekte bei hohen Elektrolytkonzentrationen abgeschwächt werden. Die Ausbildung der Doppelschicht kann als Diffusionsprozess verstanden werden, so dass die Zeit die dafür benötigt wird durch

$$\tau = \frac{\delta^2}{2D} \quad (3.34)$$

abgeschätzt werden kann, wobei D die Diffusionskonstante der Ionen in Lösung repräsentiert. Durch eine hohe Salzkonzentration kann damit auch die Zeit verkürzt werden, in der der Ladestrom fließt.

3.3.3 Spezifische Adsorption an der Elektrode

Die Beziehung zwischen dem auf einer Elektrode adsorbierten Anteil einer Substanz i pro Einheitsfläche, der Konzentration dieser Substanz in Lösung und dem elektrischen Zustand des Systems bei der Temperatur T wird durch eine Adsorptionsisotherme beschrieben. Diese ist bestimmt durch die Bedingung der Gleichheit der elektrochemischen Potentiale der adsorbierten Teilchen (A) und der Teilchen in Lösung (b) [90]:

$$\bar{\mu}_i^A = \bar{\mu}_i^b \quad (3.35) \quad \text{oder} \quad \bar{\mu}_i^{0,A} + RT \ln c_i^A = \bar{\mu}_i^{0,b} + RT \ln c_i^b \quad (3.36)$$

wobei $\bar{\mu}_i^0$ jeweils das Standardpotential bezeichnet und c_i die jeweilige Konzentration. Die freie Energie der Adsorption ist definiert durch:

$$\bar{G}^0 = \bar{\mu}_i^{0,A} - \bar{\mu}_i^{0,b} \quad (3.37)$$

damit ergibt sich:

$$c_i^A = c_i^b e^{\frac{\bar{G}^0}{RT}} = \bar{a}_i^b \quad (3.38)$$

Dies ist die allgemeine Form einer Adsorptionsisotherme. Eine Reihe an spezifischen Adsorptionsisothermen sind gebräuchlich, die jeweils auf unterschiedlichen Annahmen basieren. Exemplarisch sollen hier zwei von ihnen kurz vorgestellt werden.

Der Langmuir-Isotherme liegen die Annahmen zu Grunde, dass a) keine Wechselwirkungen zwischen den auf der Elektrode adsorbierten Teilchen existieren, b) die Oberfläche nicht heterogen ist und c) der Bedeckungsgrad θ auf der Elektrode bei hohen Konzentrationen der adsorbierenden Spezies in Lösung in Sättigung geht. Die Langmuir-Isotherme ist beschrieben durch [90]:

$$\frac{\theta}{1-\theta} = \bar{a}_i^b c_i^b \quad (3.39)$$

Die Frumkin-Isotherme stellt eine Erweiterung der Langmuir-Isotherme dar. Sie berücksichtigt auch Wechselwirkungen zwischen den adsorbierten Teilchen durch einen Wechselwirkungsparameter g [84,90]:

$$\bar{a}_i^b c_i^b = \frac{\theta}{1-\theta} e^{\theta^2 g} \quad (3.40)$$

Daneben gibt es noch eine Reihe weiterer Isothermen, auf die im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht eingegangen werden soll.

3.4 Dynamische Kraftspektroskopie

Der erste Ansatz, der Bindungen unter Krafeinwirkungen beschreibt, geht auf Bell [91] zurück, der als erster darauf hinwies, dass die Lebensdauer einer Bindung ein statistischer Prozess ist und durch mechanische Belastung verkürzt werden kann. Später wurde von Evans u. a. eine sehr detaillierte Theorie herausgearbeitet [92-95], die durch zahlreiche experimentelle Befunde gestützt wurde [57,58,60,96-102] und wegweisend für weiterführende Arbeiten war [103-112]. Vor diesem Hintergrund hat sich die dynamische Kraftspektroskopie als eine Standardmethode etabliert, die das Potential hat Einblick in die Potentiallandschaften zu gewähren, die molekularen Bindungen zu Grunde liegen. Im Folgenden soll ein kurzer Abriss gegeben werden, der die wichtigsten Aspekte dieser Theorie herausarbeitet. Die relevanten Größen dazu sind in Abbildung 3.2 illustriert.

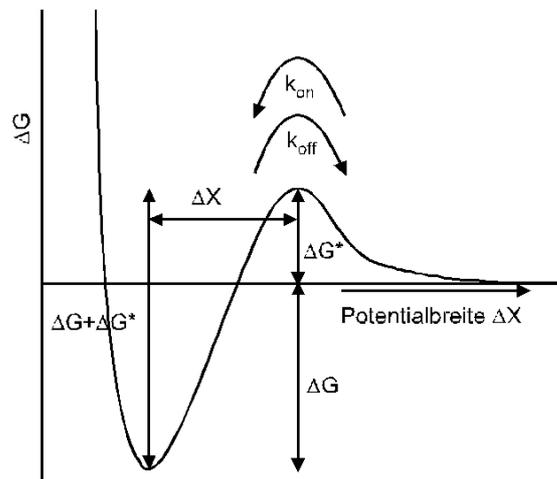


Abbildung 3.2: Illustration der relevanten Größen

Dazu wird zunächst die Dissoziation einer chemischen Bindung ohne Einwirkung einer äußeren Kraft betrachtet. Diese kann über das Van't Hoff-Arrhenius-Gesetz [113,114] beschrieben werden:

$$k_{\text{off}} = k_{\text{on}} \cdot e^{-\frac{\Delta G}{k_B T}} \quad (3.41)$$

k_{off} ist dabei die Dissoziationskonstante, ΔG ist die freie Energie und k_{on} entspricht der Frequenz, mit der der Bindungspartner den Versuch unternimmt aus dem Potentialminimum zu ent-

kommen und so die Bindung zu lösen. Sie ist also mit der Beweglichkeit der an der Bindung beteiligten Komponenten verknüpft.

Die Dissoziationsrate kann zur Beschreibung der Zerfallswahrscheinlichkeit herangezogen werden:

$$\frac{dP_K}{dt} = -\lambda(t) \cdot P_K \quad (3.42)$$

Die Überlebenswahrscheinlichkeit des Komplexes P_K hängt unmittelbar mit der Zerfallswahrscheinlichkeit P_D zusammen:

$$P_D = 1 - P_K \quad (3.43)$$

Daraus ergibt sich für die Zerfallswahrscheinlichkeit zum Zeitpunkt t im Zeitintervall dt :

$$dP_D = P_D \cdot \lambda(t) \cdot dt = (1 - P_K) \cdot \lambda(t) \cdot dt \quad (3.44)$$

Diese Gleichung kann integriert werden zu:

$$P_D(T) = 1 - e^{-\int_0^T \lambda(t) dt} \quad (3.45)$$

Man hat damit einen Ausdruck für die Zerfallswahrscheinlichkeit ohne Einwirkung äußerer Kräfte gefunden.

Gängige Methoden zur Untersuchung der Bindungscharakteristik liefern zwar die gesuchten Energien und Konstanten, erlauben jedoch meistens keine Aussagen hinsichtlich der Form des jeweiligen Potentials, wohingegen das Anlegen einer äußeren Kraft Einfluß auf den jeweiligen Potentialverlauf nimmt und damit einen Zugang zu dieser Fragestellung darstellt.

Durch das Anlegen einer Kraft wird die Potentialbarriere verringert und damit die Form des Potentials verändert. Damit verändern sich auch die Zerfallswahrscheinlichkeit und die Lebensdauer bzw. die Dissoziationskonstante. Sofern die Kraft nicht ortsabhängig ist und eine umkehrbar eindeutige Funktion der Zeit darstellt, kann die Zeit in Gleichung (3.45) durch die Kraft substituiert werden und man erhält eine kraftabhängige Zerfallswahrscheinlichkeit:

$$\frac{dP_D}{dF}(F) = \lambda(F) \cdot \frac{1}{\dot{F}} \cdot e^{-\int_0^F \lambda(F) \frac{1}{\dot{F}} dF} \quad (3.46)$$

Die Kramers-Theorie [115, 116], die zur Beschreibung der Bindungsdissoziation in Flüssigkeiten herangezogen werden muss, liefert einen Ausdruck für die kraftabhängige Dissoziationsrate:

$$\Gamma(F) = \Gamma \cdot e^{-\frac{\Delta U}{k_B T}} = \frac{\Gamma_{\min} \cdot \Gamma_{\max}}{2\Gamma} \cdot e^{-\frac{\Delta U(F)}{k_B T}} \quad (3.47)$$

Dabei sind Γ_{\min} und Γ_{\max} die Wurzeln der Krümmung des Potentials an dessen Maximum und Minimum; das Produkt aus beiden entspricht der ungedämpften Oszillationsfrequenz. Γ ist die Dämpfung, die aus Viskosität und Reibung resultiert und eine Reduktion der Oszillationsfrequenz auf die gedämpfte Frequenz Γ bewirkt. Eine Voraussetzung für die Gültigkeit der Kramers Relation ist, daß $\Gamma \gg \Gamma_{\max}$. $\Delta U(F)$ entspricht der durch die Krafteinwirkung verringerten Potentialbarriere:

$$\Delta U(F) = U[x_{\max}(F)] - U[x_{\min}(F)] - F \cdot [x_{\max}(F) - x_{\min}(F)] \quad (3.48)$$

Vorrausgesetzt, daß sich der Ort des Maximums und des Minimums nicht ändern, kann dieser Ausdruck durch $\Delta U - F \cdot x$ ersetzt werden. Die Kramers Relation läßt sich dann auch folgendermaßen beschreiben:

$$\Gamma(F) = \frac{\Gamma_{\min} \cdot \Gamma_{\max}}{2\Gamma} \cdot e^{-\frac{(\Delta U - F \cdot x)}{k_B T}} = k_{off}^* \cdot e^{-\frac{F \cdot x}{k_B T}} \quad (3.49)$$

wobei

$$k_{off}^* = \frac{\Gamma_{\min} \cdot \Gamma_{\max}}{2\Gamma} \cdot e^{-\frac{\Delta U}{k_B T}} \quad (3.50)$$

dem kräftefreien Fall und damit der natürlichen off-Rate k_{off}^* des Systems entspricht.

Handelt es sich um ein Potential mit zusätzlichen inneren Barrieren, so nimmt die off-Rate einen für den jeweiligen Kraftbereich charakteristischen Wert an: Bei kleinen Kräften ist die äußerste Barriere im Abstand x_1 relevant. Sobald jedoch die äußere Barriere durch die angelegte Kraft soweit abgesenkt wird, daß sie genauso groß wie die innere ist, wird das Verhalten der Bindung von der inneren Barriere dominiert und die effektive Breite des Potentials reduziert sich zu x_2 , entsprechend verändert sich auch die off-Rate.

Setzt man nun die Kramers Relation in Gleichung (3.46) ein, so erhält man für die Wahrscheinlichkeitsdichte:

$$\frac{dP_D}{dF}(F) = k_{off}^* \cdot e^{-\frac{F \cdot \Delta x}{k_B T}} \cdot \frac{1}{\dot{F}} \cdot e^{-\int_0^F \frac{F \cdot \Delta x}{k_B T} \frac{1}{f} df} \quad (3.51)$$

Aus dem Maximum dieser Verteilung kann man auf die Abrißkraft F^* schließen. Dieses läßt sich durch Ableitung nach dF finden:

$$\frac{d}{dF} \left(\frac{dP_D}{dF}(F) \right) = 0 \quad (3.52)$$

Unter der Annahme, dass die Kraftladungsrate unabhängig von der Kraft ist, ergibt sich daraus für F^* :

$$F^* (\dot{F}) = \frac{k_B \cdot T}{\Delta x} \cdot \ln \left(\frac{\dot{F}}{k_{off}^*} \cdot \frac{\Delta x}{k_B \cdot T} \right) \quad (3.53)$$

Diese Gleichung beschreibt eine Gerade, aus der sich die Breite und die natürliche off-Rate bestimmen lassen:

$$\Delta x = \frac{k_B \cdot T}{m} \quad (3.54)$$

$$k_{off}^* = \frac{\dot{F}(F=0) \cdot \Delta x}{k_B T} \quad (3.55)$$

m ist dabei die Steigung der Gerade.

4 Modellrechnungen und Vorüberlegungen zur Datenauswertung

4.1 Messbarkeit der Ratenabhängigkeit – Reversible und irreversible Prozesse

Wie bereits in Kapitel 3.5. gezeigt wurde, hängen die unter Zugspannung gemessenen Abrisskräfte einzelner molekularer Bindungen von der angelegten Krafrate ab. Ob sich diese Ratenabhängigkeit jedoch beobachten lässt, hängt von den experimentellen Rahmenbedingungen und der Dissoziationsrate der untersuchten Bindung ab. Entscheidend ist dabei, ob die Ziehzeit t , die im Experiment benötigt wird, um den Abrisspunkt der Bindung zu erreichen etwa in derselben Größenordnung liegt, wie die mittlere Lebensdauer τ der Bindung. Ist dies der Fall, findet die Messung im Nicht-Gleichgewicht statt und das Abreißen der Bindung ist ein irreversibler Prozess. Eine typische Kraftkurve dafür ist in 4.1. a) gezeigt. Man beobachtet die Dehnung des Polymerspacers bis zu dem Kraftwert, an dem der Bindungsbruch stattfindet. In Desorptionsexperimenten misst man üblicherweise statt der eben diskutierten Abrisskurven Desorptionsplateaus. Zwei Gründe können für das Zustandekommen dieser Plateaus angeführt werden: Zum einen hat man in diesem Fall nicht nur eine Bindungsstelle am Ende des Polymers, sondern viele Bindungsstellen in Serie. Verkleinert man den Abstand dieser Bindungsstellen sukzessive, so überlagern sich die einzelnen Abrisse zunehmend, bis man sie irgendwann nicht mehr auflösen kann, was zur Plateauform führt. Dieser Prozess ist in Abb. 4.1. b) illustriert. Das Desorbieren des Moleküls ist in diesem Fall ebenfalls ein irreversibler Prozess. Die Desorptionskräfte sind ratenabhängig und die zugehörigen Histogramme sind nicht gaussförmig. Ein anderer Grund für das Auftreten von Plateaus ist kinetisch bedingt. Für den Fall einer sehr großen Dissoziationsrate kann die Zuggeschwindigkeit zu klein sein, um eine Ratenabhängigkeit zu beobachten. Die Bindung geht von alleine auf, bevor eine signifikante Kraft an sie angelegt werden kann. In diesem Fall ist die gemessene Abrisskraft beliebig nahe bei Null. Da die Bindungen der Polyelektrolyte an die jeweiligen Substrate meistens nicht nur hohe Dissoziationsraten, sondern auch hohe Bindungsraten aufweisen, öffnet und schließen sich die beteiligten Bindungen viele Male während des Abziehens vom Substrat, was zur Folge hat, dass die gemessene Desorptionskraft einen Wert größer als Null annimmt. Man misst in diesem Fall eine konstante ratenunabhängige Gleichgewichtskraft, so lange, bis das Polymer komplett von der Oberfläche abgezogen ist. Die Desorption des Polymers ist in

diesem Fall ein reversibler Prozess. Man kann auf dem Plateau vor und zurückfahren, ähnlich wie auf der Dehnkurve eines Polymerspacers, der ebenfalls ein reversibler Prozess zugrunde liegt. Die gemessenen Desorptionskräfte sind in diesem Fall ratenunabhängig und die zugehörigen Kraftverteilungen sind gaussförmig.

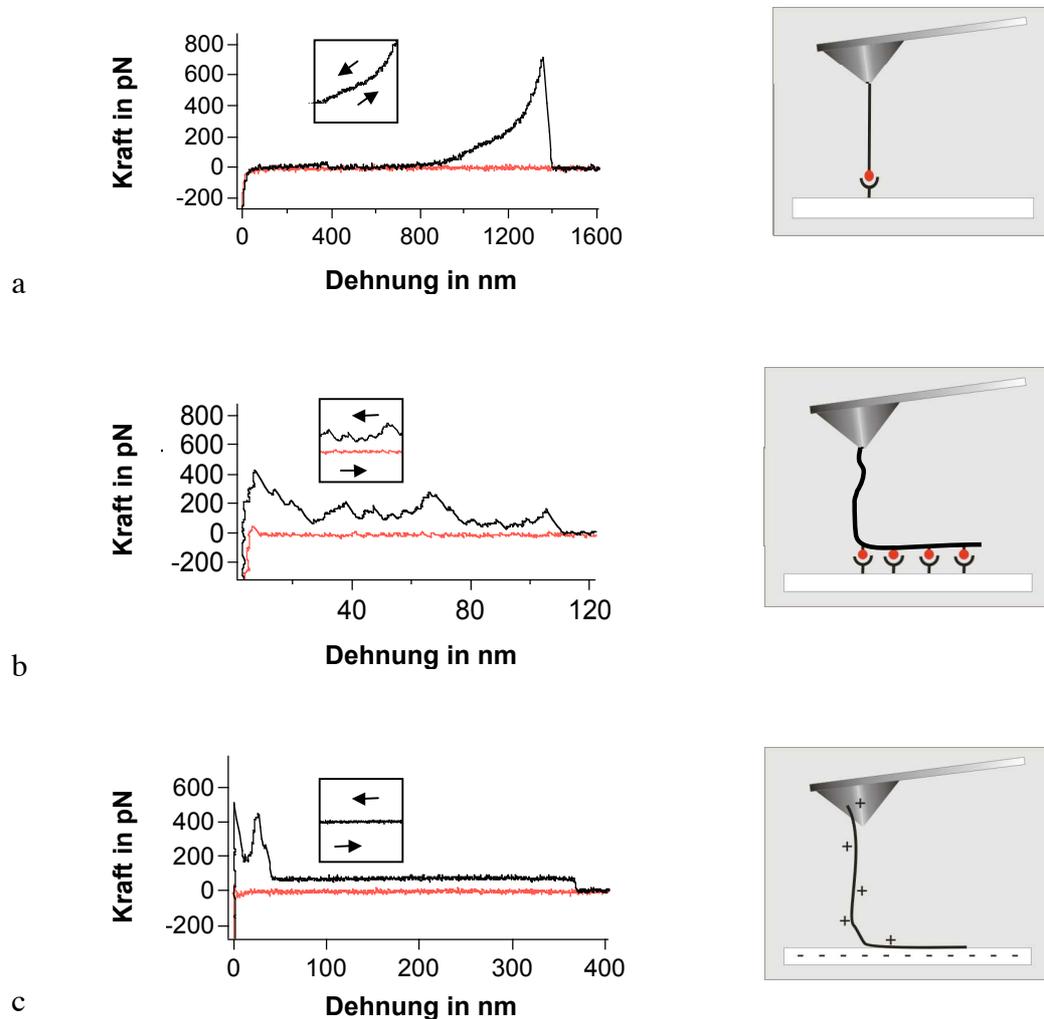


Abbildung 4.1.: Verschiedene Formen von Kraft-Abstandskurven und ihre Erklärung. Die Insets zeigen reversible und irreversible Prozesse

- Abriss einer spezifischen Bindung an einem Polymerspacer in einem Nicht-Gleichgewichtsprozess. Die Bindung bleibt bis zum Abrisspunkt intakt, weshalb die Dehnung des Polymerspacers beobachtet werden kann. Der Bindungsbruch ist ein irreversibler Prozess, wohingegen die Dehnung des Polymerspacers einen reversiblen Prozess darstellt: auf der Polymerkurve kann vor und zurück gefahren werden, ohne dass eine Hysterese auftritt, da die Relaxation des Polymers auf einer genügend schnellen Zeitskala stattfindet.
- Abreißen von mehreren Bindungen in Serie in einem Nicht-Gleichgewichtsprozess. Wenn der Abstand zwischen den einzelnen Bindungen zunehmend kleiner wird, kann das Abreißen der einzelnen Bindungen immer schlechter aufgelöst werden, bis schließlich Plateauform erreicht wird. Das Abreißen der Bindungen ist ein Nichtgleichgewichtsprozess: Die Bindungen können sich nur dann wieder ausbilden, wenn man die Spitze erneut auf die Oberfläche aufsetzt.
- Abreißen von mehreren Bindungen in Serie in einem Gleichgewichtsprozess. Die einzelnen Bindungen dissoziieren und reassoziieren auf einer deutlich schnelleren Zeitskala als der Ziehprozess stattfindet. Deshalb kann das Strecken des Polymerspacers auch nicht mehr beobachtet werden. Stattdessen beobachtet man ein Desorptionsplateau dessen Höhe die Gleichgewichts Adsorptions-/Desorptionskraft widerspiegelt, die man aufwenden muss, um das Polymer Segment für Segment von der Oberfläche abziehen. Die Desorption des Polymers ist ein reversibler Prozess: es ist möglich, sich auf der Kurve vor und zurück zu bewegen, ohne dass eine Hysterese auftritt.

4.2 Datenanalyse für Nichtgleichgewichtsmessungen

In den Fällen, in denen eine Ratenabhängigkeit beobachtet wird, kann die Lebensdauer einer Bindung beträchtlich durch externe Kräfte reduziert werden. Dies ist für viele Bindungen in biologischen Systemen der Fall, weshalb sich die dynamische Kraftspektroskopie speziell in diesem Bereich als eine Standardmethode etabliert hat, die detaillierte Informationen über die Potentiallandschaften liefert diesen Bindungen zugrunde liegt. Viele der gängigen experimentellen Methoden verwenden Polymerspacer, die sich zwischen der untersuchten Bindung und dem Kraftsensor befinden. Diese Polymerspacer können als nichtlineare zusätzliche Federn betrachtet werden. Wenn das Polymer also weicher ist, als der Kraftsensor, dann erfährt die Bindung auch bei konstanter Zuggeschwindigkeit eine nicht-konstante Kraftladungsrate. Der Effekt einer solchen weichen molekularen Feder wurde theoretisch in ausführlicher Art und Weise von Evans behandelt [117]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Monte-Carlo-Simulation programmiert, um den Einfluß des Polymerspacers zu illustrieren. Zusätzlich wurde eine Fitfunktion entwickelt, die diesem Problem Rechnung trägt und deren Effizienz mit herkömmlichen Auswertemethoden verglichen wurde. Insgesamt konnte damit die Kluft zwischen Datenanalyse und experimentellen Gegebenheiten signifikant verkleinert werden.

4.2.1 Monte-Carlo-Simulationen

Um den Einfluss des Polymerspacers zu illustrieren und um einen Satz an Modelldaten zu generieren, anhand deren verschiedene Auswertemethoden getestet werden können, wurde eine Monte-Carlo-Simulation entwickelt, die Schritt für Schritt an die experimentellen Gegebenheiten angepasst wurde. Alle drei Arten von Monte-Carlo-Simulationen die dazu entwickelt wurden basieren dabei auf demselben Prinzip: Anhand von Gleichung (3.42) wird die Wahrscheinlichkeit eines Bindungsbruch im Zeitintervall Δt ermittelt:

$$\Delta N_D = \Delta N_B = \Delta \Gamma(t) \cdot \Delta t = \Delta \Gamma(F(t)) \cdot \Delta t = k_{\text{off}}^* \cdot e^{-\frac{F \Delta x}{k_B T}} \cdot \Delta t \quad (4.1)$$

Diese Wahrscheinlichkeit wird mit einer Zufallszahl zwischen 0 und 1 verglichen. Sobald die Zufallszahl kleiner ist als ΔN_D , wird die zugehörige Kraft als Abrisskraft notiert und die nächste Iteration gestartet. k_{off}^* und Δx sind die Eingabewerte der Simulation; das Ergebnis ist eine Verteilung der davon abhängigen Abrisskräfte $F(t)$.

Im einfachsten Fall wird eine lineare Abhängigkeit der Kraft von der Zeit angenommen. In der Simulation wird dazu eine Kraft eingeführt, die linear ansteigt mit der Distanz zwischen dem Kraftsensor und der gegenüberliegenden Oberfläche, die sich ihrerseits mit der Geschwindigkeit v voneinander entfernen. $F(t)$ ist dann gegeben durch:

$$F(t) = \frac{dF}{dz} \cdot v \cdot t \quad \text{mit} \quad \frac{dF}{dz} = \text{konst.}, v = \text{konst.} \quad (4.2)$$

In der zweiten Simulation wurde ein Polymerspacer konstanter Länge eingeführt. Dessen elastisches Verhalten wird durch Gleichung A.18 beschrieben⁵. Für unsere Berechnungen muss jedoch auch noch die Auslenkung des Kraftsensors berücksichtigt werden, was über einen zusätzlichen additiven Term geschieht:

$$z(F) = N_M \cdot \left[\frac{L_2}{e^{\frac{G_{12}}{k_B T}} + 1} + \frac{L_1}{e^{\frac{G_{12}}{k_B T}} + 1} \coth \left(\frac{F \cdot L_K}{k_B T} \right) + N_M \cdot \frac{F}{K_M} + \frac{F}{k} \right] \quad (4.3)$$

Anhand dieser Relation können wir $F(t(z))$ und $\dot{F}(t(z)) = (dF/dz) \cdot v$ mit $t(z) = z/v$ bestimmen. Mittels dieser Simulation kann zunächst der Einfluss der elastischen Eigenschaften des Polymerspacers auf die Verteilungen der Abrisskräfte und der zugehörigen Kraft-Ladungsraten illustriert werden.

Unter realistischen experimentellen Gegebenheiten zeigen die Polymerspacer jedoch eine Längenverteilung, die durch Polymerfits an die experimentell ermittelten Kraft-Abstandskurven bestimmt werden kann. Die Monte-Carlo-Simulation wurde deshalb noch einmal erweitert, um dieser Tatsache gerecht zu werden, und zwar derart, dass sie auf einer gegebenen Monomerverteilung für die Polymerspacer operieren kann. Dazu wurde die Simulation für jede in dieser Verteilung auftauchende Monomerzahl durchgeführt, wobei die Zahl der Iterationen durch die Häufigkeit gegeben ist, mit der die jeweilige Monomerzahl in der Verteilung auftritt. Wenn alle Monomerzahlen berücksichtigt wurden, werden die ermittelten Daten in den jeweiligen Histogrammen zusammengefasst. Im Rahmen dieser Arbeit wurde diese Art von Simulation für eine schmale Gaussverteilung und eine Gleichverteilung durchgeführt, die zwei Extreme für die Spacerlängenverteilung repräsentieren. Prinzipiell kann die Simulation auf allen denkbaren experimentell ermittelten Spacerlängenverteilungen operieren

⁵ In der Zwischenzeit gibt es realistischere Polymermodelle [118-120] (siehe Anhang, 4.4)

und ist damit im Hinblick auf diesen Aspekt ideal an die experimentellen Gegebenheiten angepasst.

4.2.2 Datenanalyse

Jede Simulation wurde 10 Mal für jeweils 10 verschiedene Ziehgeschwindigkeiten durchgeführt, die ausgehend von 100 nm/s in Schritten von 100nm/s bis auf 1000 nm/s erhöht wurde. Damit wurden 10 verschiedene $(F^*, \ln(\dot{F}))$ Verteilungen für die Eingabewerte $\Delta x = 0,3$ nm und $k_{\text{off}}^* = 0.05$ s⁻¹ bestimmt. Insgesamt wurde diese Prozedur für alle drei Simulationen fünf mal durchgeführt. Die daraus resultierenden Verteilungen wurden mit drei verschiedenen Datenanalyseverfahren ausgewertet, die auf ihre Fähigkeit hin getestet wurden, die Eingabewerte k_{off}^* und Δx der Monte-Carlo-Simulationen zu reproduzieren.

In Methode 1 werden alle Datenpaare, die jeweils für die 10 Geschwindigkeiten bestimmt wurden in ein Kraft über $\ln(\dot{F})$ Diagramm eingetragen und linearisiert. Dieses Vorgehen ist in Abbildung 4.2 a illustriert. Basierend auf dieser Linearisierung können gemäß Gleichung (3.54) und (3.55) k_{off}^* und Δx bestimmt werden.

Methode 2 bestimmt die Maxima der Abrisskraftverteilungen und der zugehörigen Kraftladungsratenverteilungen für die 10 Geschwindigkeiten, die in einer Simulationssequenz durchlaufen werden. Allein diese 10 Datenpaare werden dann in ein Kraft – $\ln(\dot{F})$ -Diagramm eingetragen und linearisiert. Der Rest der Analyse verläuft analog zu Methode 1.

Methode 3 (Abb. 4.2 c) nähert die Verteilungen der Abrisskräfte und ihrer Kraftladungsraten durch eine speziell dafür entwickelte Fit-Funktion an, die k_{off}^* und Δx als Fit-Parameter verwendet. Die Werte die sich dafür aus dem besten Fit an die Verteilungen ergeben, werden für alle 10 Geschwindigkeiten bestimmt und dann arithmetisch gemittelt. Die zugehörige Fit-Funktion wird folgendermaßen bestimmt:

Im Fall der linearen Krafterampe kann die damit verbundene konstante Kraftladungsrate \dot{F} direkt verwendet werden, um die Wahrscheinlichkeitsdichte für die Abrisskräfte über Gleichung (3.46) zu bestimmen. Die Kraftladungsrate ist konstant für jede simulierte Zuggeschwindigkeit, weshalb man dafür keine eigene Fit-Funktion benötigt.

Im Fall des Polymerspacers konstanter Länge wird jeder Kraft eine zugehörige Kraftladungsrate \dot{F} zugeordnet, die über die Polymerfitkurve bestimmt wird. Daraus ergibt sich eine Funktion $\dot{F}(F)$ die verwendet werden kann, um die Wahrscheinlichkeitsdichte gemäß Gleichung (3.46) zu bestimmen. Diese Wahrscheinlichkeitsdichte der Kraft kann in eine Wahrscheinlichkeitsdichte für die Kraftladungsraten übersetzt werden, indem die zu den jeweiligen

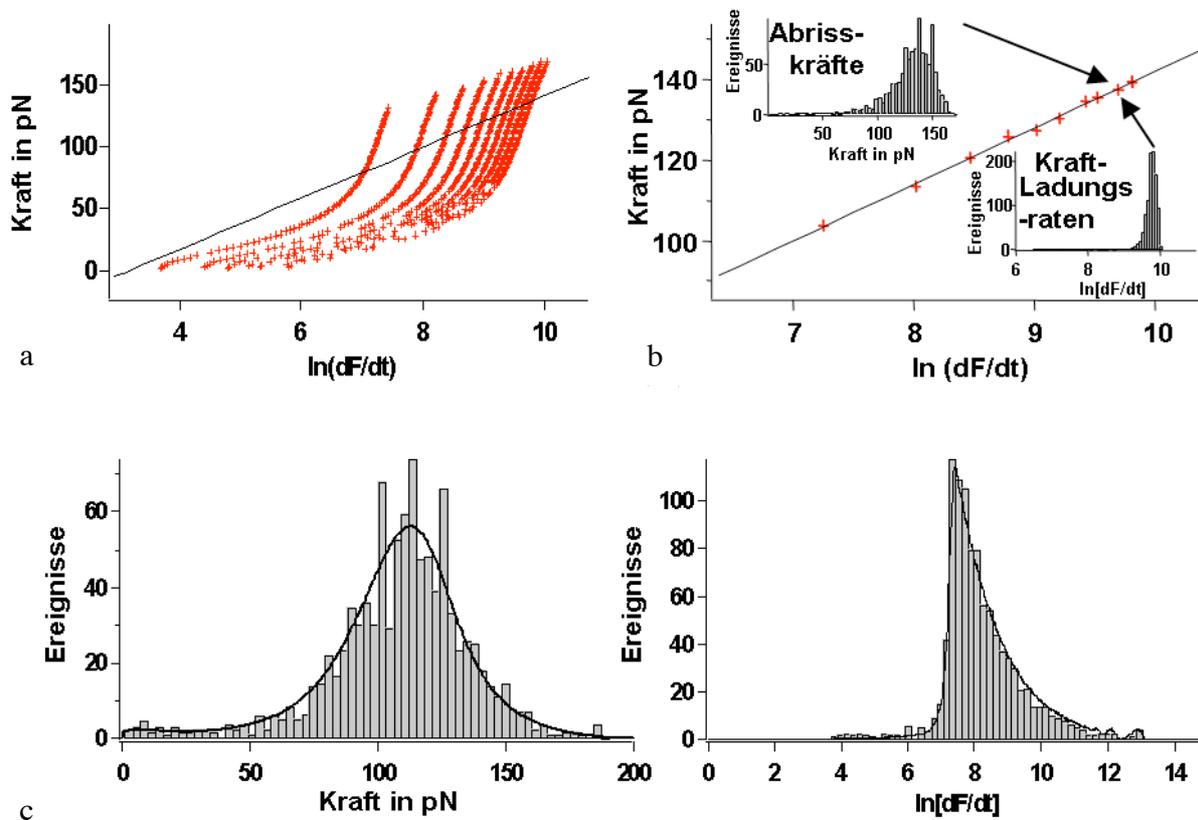


Abbildung 4.2: Illustration der drei beschriebenen Methoden.

- Methode 1: Alle von der Simulation gelieferten Daten werden in ein Diagramm eingetragen und linearisiert.
- Methode 2: Nur die wahrscheinlichsten Abrisskräfte und ihre Kraftladungs-raten werden in das Diagramm eingetragen und linearisiert.
- Methode 3: Die Verteilungen der wahrscheinlichsten Abrisskräfte und ihrer Kraftladungs-raten werden mit ihrer Wahrscheinlichkeitsdichte angefüllt. Die Dissoziationsrate und die Potentialbreite werden dabei als Fitparameter der bestmöglichen Fitfunktion bestimmt.

Kräften gehörenden Kraftladungs-raten mit der Wahrscheinlichkeit gewichtet werden, mit der die Kraft auftritt. Diese Wahrscheinlichkeit lässt sich aus der zuvor ermittelten Wahrscheinlichkeitsdichte für die Kräfte bestimmen.

Im Falle der Spacerlängenverteilung für die Polymerspacer wird die Wahrscheinlichkeitsdichte für jede Spacerlänge nach dem oben beschriebenen Verfahren berechnet und mit ihrer Häufigkeit in der Spacerlängenverteilung gewichtet. Alle so bestimmten Wahrscheinlichkeitsdichte-Kurven für die einzelnen Spacerlängen werden schließlich aufaddiert und die resultierende Kurve wird normiert, um die endgültige Wahrscheinlichkeitsdichte zu bestimmen. Um die Fit-Funktion für die zugehörigen Kraftladungs-raten zu bestimmen, müssen die Wahrscheinlichkeitsdichten der Kräfte für die einzelnen Spacerlängen wiederum in Wahrschein-

lichkeitsdichten für die Kraftladungsrate übersetzt werden. Die so gewonnenen Wahrscheinlichkeitsdichten werden für alle auftretenden Spacerlängen aufaddiert und die daraus resultierende Funktion wird letztendlich normiert.

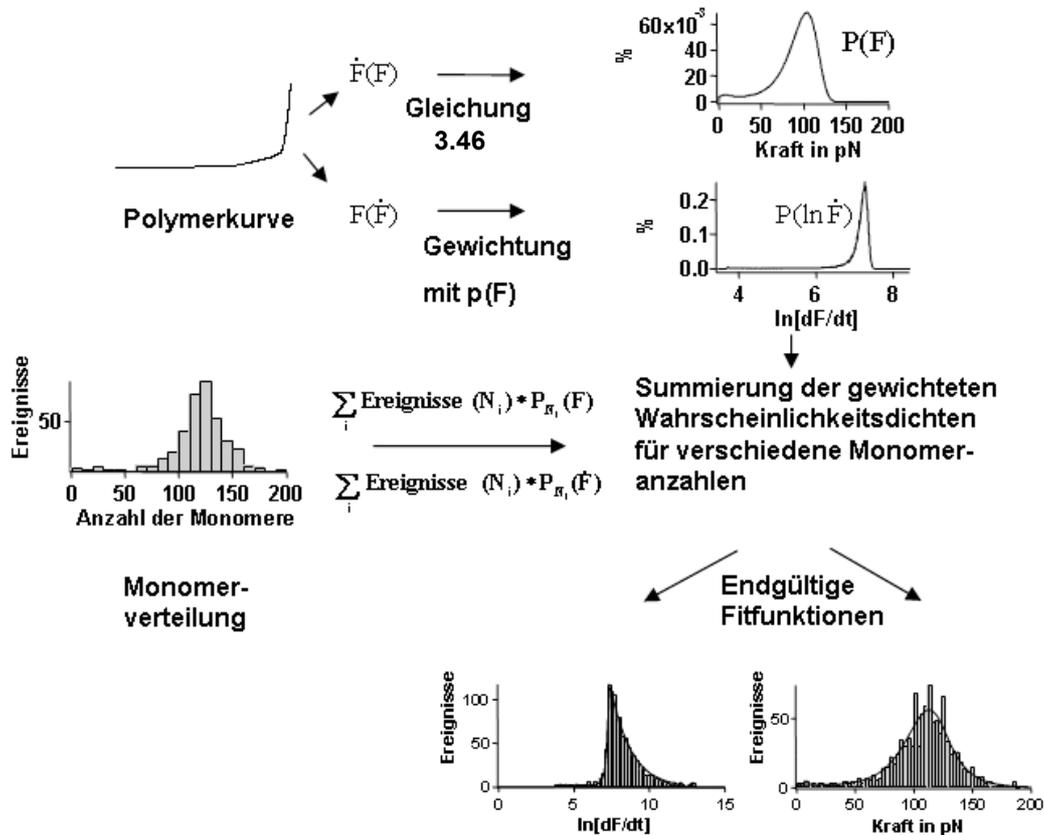


Abbildung 4.3.: Konstruktion der Fitfunktion.

Der obere Teil des Diagramms zeigt, wie die Wahrscheinlichkeitsdichten der Abrisskräfte und ihrer Kraftladungsrate im Fall eines Polymerspacers konstanter Länge bestimmt werden: über die Polymerkurve wird jeder Kraft eine Kraftladungsrate zugeordnet. Über diese Beziehung kann die Wahrscheinlichkeitsdichte der Abrisskräfte aus Gleichung 3.46 berechnet werden. Die Wahrscheinlichkeitsdichte für die Kraftladungsrate ist lediglich eine „Übersetzung“ der Wahrscheinlichkeitsdichte für die Abrisskräfte: Wiederum wird jeder Abrisskraft über die Polymerkurve eine Kraftladungsrate zugeordnet. Deren Wahrscheinlichkeit entspricht dann der Wahrscheinlichkeit der zugehörigen Abrisskraft, bestimmt durch die Wahrscheinlichkeitsdichte für die Abrisskräfte. Im unteren Teil des Diagramms wird gezeigt, wie diese einzelnen Wahrscheinlichkeitsdichten überlagert werden, wenn die Polymerspacer eine Längenverteilung zeigen: Die einzelnen Wahrscheinlichkeitsdichten werden zusätzlich mit der Häufigkeit der zugehörigen Monomeranzahl gewichtet und aufaddiert. Die so bestimmten Gesamtwahrscheinlichkeitsdichten werden schließlich im letzten Schritt normiert.

4.2.3 Ergebnisse für die Monte-Carlo-Daten

In Abb. 4.4 sind die verschiedenen Wahrscheinlichkeitsdichten der Abrisskräfte und ihrer Kraftladungsrate für die verschiedenen Monte-Carlo-Simulationen aufgezeichnet. Die Wahrscheinlichkeitsdichte für die Abrisskräfte im Falle des Polymerspacers konstanter Länge ist

leicht verbreitert gegenüber dem Fall der linearen Kraframpe. Der Unterschied zwischen den Funktionen für den Polymerspacer konstanter Länge und der schmalen Gaußverteilung der Spacerlängen ist so klein, dass er in dieser Darstellung nicht aufgelöst werden kann, wohingegen die Wahrscheinlichkeitsdichte für den Fall der Gleichverteilung signifikant von den anderen Wahrscheinlichkeitsdichten abweicht: Sie ist wesentlich breiter und die wahrscheinlichste Abrisskraft ist zu höheren Werten hin verschoben. Darüberhinaus hat die Funktion für diesen Fall eine symmetrische Gestalt. Sie hat die charakteristische Gestalt einer Extremwertverteilung komplett verloren. Die zugehörigen Wahrscheinlichkeitsdichten für die Kraftladungsrate spiegeln diese Befunde wieder. Während sich für die Fälle der konstanten Spacerlänge und die Gaußverteilung für die Spacerlängen die hinzukommenden Kraftladungsrate eng um die konstante Kraftladungsrate der linearen Kraframpe verteilen, resultiert die Gleichverteilung in einer sehr breiten Kraftladungsrateverteilung. Die sehr hohen auftretenden Kraftladungsrate verschieben das Maximum in der Wahrscheinlichkeitsdichte hin zu höheren Werten. Die Überlagerung der sehr unterschiedlichen Wahrscheinlichkeitsdichten für die einzelnen Spacerlängen bewirkt letztendlich die Verbreiterung der endgültigen Wahrscheinlichkeitsdichte für die Abrisskräfte und resultiert in deren symmetrischer Form.

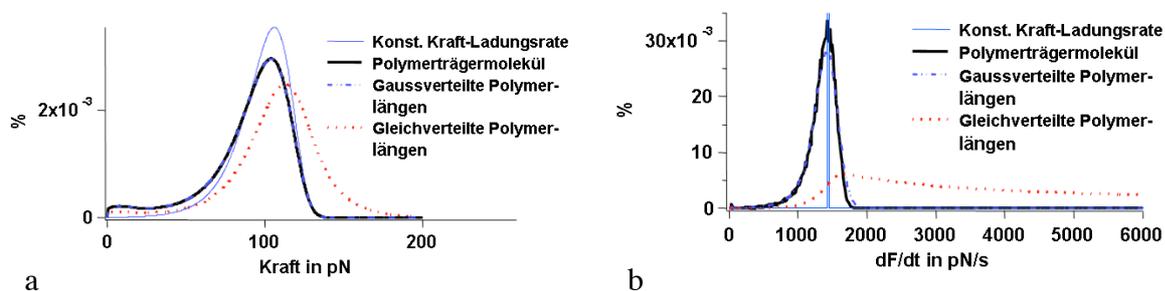


Abbildung 4.4.: Wahrscheinlichkeitsdichten der Abrisskräfte (a) und Kraftladungsrate (b) für die vier verschiedenen Arten von Simulationen. Die Eingabewerte waren in allen Fällen $k_{\text{off}}^* = 0.05 \text{ s}^{-1}$ und $\square x = 3 \text{ \AA}$. Die Geschwindigkeit des Kraftsensors war 100 nm/s . Die lineare Kraframpe hatte eine Steigung von 14 pN/nm . Als Polymerspacer wurde ein Polyethylenmolekül verwendet (Fitparameter: $L_1 = 2,8 \text{ \AA}$, $L_2 = 3,58 \text{ \AA}$, $\square G_{12} = 40 \text{ eV}$, $L_K = 7 \text{ \AA}$, $K_M = 150 \text{ N/m}$, $k = 0,01 \text{ N/m}$ [121, 122]). Die Parameter der Gausschen Längenverteilung waren $\bar{N} = 150$ und $\square_N = 10$. Die Gleichverteilung reichte von 1 bis 150 Monomere.

In Abbildung 4.5 sind die Abrisskräfte aus einer Sequenz von Simulationen gegen den Logarithmus der zugehörigen Krafrate für jeden Typ von Monte-Carlo-Simulation aufgetragen. Im Falle der linearen Kraframpe entsprechen den zehn simulierten Ziehgeschwindigkeiten 10 diskrete Kraftladungsrate. Für jede dieser Kraftladungsrate verteilen sich die zugehörigen Abrisskräfte gemäß ihrer Wahrscheinlichkeitsverteilung. Wenn ein Polymerspacer eingeführt wird, ergeben sich verschiedene Kraftladungsrate für eine Zuggeschwindigkeit. Zu jeder dieser auftretenden Kraftladungsrate gehört genau eine mögliche Abrisskraft. Deshalb liegen

die Datenpunkte auf einer Kurve, die die elastischen Eigenschaften des Polymerespacers widerspiegelt. Wenn die Polymerespacer eine enge Gaußverteilung um die zuvor konstante Spacerlänge aufweisen, liegen die Datenpunkte eng gestreut um die ursprüngliche Kurve, da alle auftretenden Polymerdehnkurven relativ ähnlich sind. Im Falle der Gleichverteilung ergeben sich jeweils 150 sehr unterschiedliche Kurven für die zehn verschiedenen Ziehgeschwindigkeiten. Als Ergebnis erhält man eine relativ kontinuierliche Verteilung der Datenpunkte, die nur noch an den Rändern der gesamten Verteilung die Gestalt der begrenzenden Kurven zugehörig zu 150 bzw. 1 Monomer zeigt.

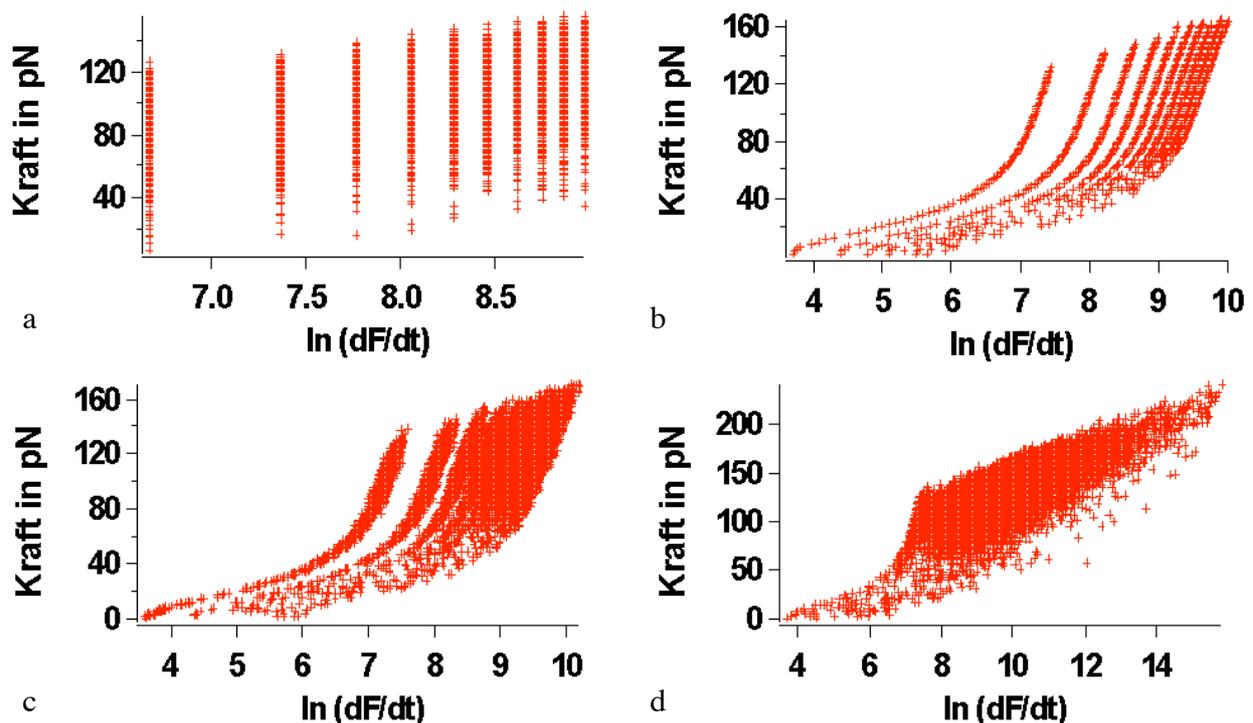


Abbildung 4.5: Verteilung der Monte-Carlo Daten in einem Kraft über \ln (Kraftladungsrate)-Diagramm. Die Eingabewerte waren wiederum $k_{off}^* = 0.05 \text{ s}^{-1}$ und $\Delta x = 3 \text{ \AA}$.

- Konstante Kraftladungsrate von 14 pN/nm .
- Polyethylenglycolspacer mit $N_M = 150$ Monomere.
- Gaußsche Spacerlängenverteilung mit $\bar{N} = 150$ und $\Delta N = 10$
- Gleichverteilung der Spacerlängen von 1 bis 150 Monomere.

In Abb. 4.6 sind die Ergebnisse für die drei diskutierten Analysemethoden jeweils angewandt auf die vier verschiedenen Monte-Carlo-Simulationen gezeigt. Methode 1 liefert nur im Fall der linearen Kraftrampe zufrieden stellende Ergebnisse: Die Potentialbreiten können mit einer Abweichung von $\pm 3\%$ bestimmt werden, wohingegen die Werte für die Dissoziationsraten alle zu hoch sind: sie weichen etwa um einen Faktor 2 von den Eingabewerten der Monte-

Carlo-Simulation ab. Dies kann folgendermaßen erklärt werden: Gleichung 3.53 ist hergeleitet unter der Voraussetzung 3.52. Deshalb ist es notwendig für die Linearisierung die wahrscheinlichsten Abrisskräfte und deren Kraftladungsrate heranzuziehen. Wenn hingegen alle Daten linearisiert werden, verbindet die resultierende Gerade lediglich die Mittelwerte der Verteilungen für die einzelnen Geschwindigkeiten statt der wahrscheinlichsten Abrisskräfte. Die Gerade wird dadurch nach unten verschoben, da die Mittelwerte niedriger sind als die Maxima in der Wahrscheinlichkeitsdichte, was zur Folge hat, dass die auf diese Art und Weise bestimmten Dissoziationskonstanten systematisch zu hoch sind. Wendet man diese Methode für den Fall der konstanten Spacerlänge an, so liegen die Abweichungen für die Potentialbreite etwa bei 30%, während die Dissoziationskonstanten etwa um 1,5 Größenordnungen falsch sind. Der Grund für diese riesigen Abweichungen ist, dass die möglichen Datenpaare (F, \dot{F}) für eine bestimmte Ziehgeschwindigkeit durch den Polymerspacer festgelegt wird und die zu einer bestimmten Kraftladungsrate gehörende Kraft im allgemeinen weder mit der wahrscheinlichsten Abrisskraft, noch mit dem Mittelwert der Kräfteverteilung übereinstimmt. Die Linearisierung aller Punkte basiert also mehrheitlich auf Punkten, für die Gleichung 3.53 nicht gilt und führt damit zu signifikant abweichenden Ergebnissen. Die Verhältnisse sind etwa dieselben für den Fall der gaussverteilten Spacerlängen. Für die gleichverteilten Spacerlängen werden die Ergebnisse jedoch wieder besser: für die Potentialbreite beträgt die Abweichung etwa 15 % und für die Dissoziationsrate nicht ganz eine Größenordnung. Das kann darauf zurück geführt werden, dass für die auftretenden Ladungsrate außerhalb der Randbereiche viele Kraftwerte angenommen werden können, womit die Situation die sich für die lineare Kraframpe ergibt angenähert wird.

Methode 2, die Bedingung 3.52 berücksichtigt, ist die gängigste Auswertemethode im Bereich der dynamischen Kraftspektroskopie. Sie liefert Werte für k_{off}^* und $\square x$, die die Eingabewerte gut approximieren: Die Abweichung für die Potentialbreite beträgt maximal 15 %, die Dissoziationsrate ist bis auf einen Faktors 2 bestimmt. Die Abweichungen können leicht erklärt werden, wenn man berücksichtigt, dass Gleichung (3.53) unter der Bedingung abgeleitet wurde, dass die Kraftladungsrate \dot{F} unabhängig von der Kraft ist. Dies ist äußerst fraglich für den hier betrachteten Fall, in dem jede Kraftladungsrate über die Polymerkurve einer Abrisskraft zugeordnet wird. Gleichung 3.53 stellt von daher nur eine relativ grobe Näherung für unser Problem dar und es ist nicht verwunderlich, dass Abweichungen auftreten.

Methode 3 basiert auf Gleichung 3.46, die unabhängig von dieser Bedingung ist und damit das Problem am besten annähert. Darauf ist zurückzuführen, dass die Ergebnisse entschei-

dend besser werden: Die Abweichungen für die Potentialbreite können auf etwa 3 % reduziert werden und die für die Dissoziationsrate auf etwa 25%. Daraus kann gefolgert werden, dass diese Methode den besten Ansatz repräsentiert um experimentelle Daten präzise auszuwerten.

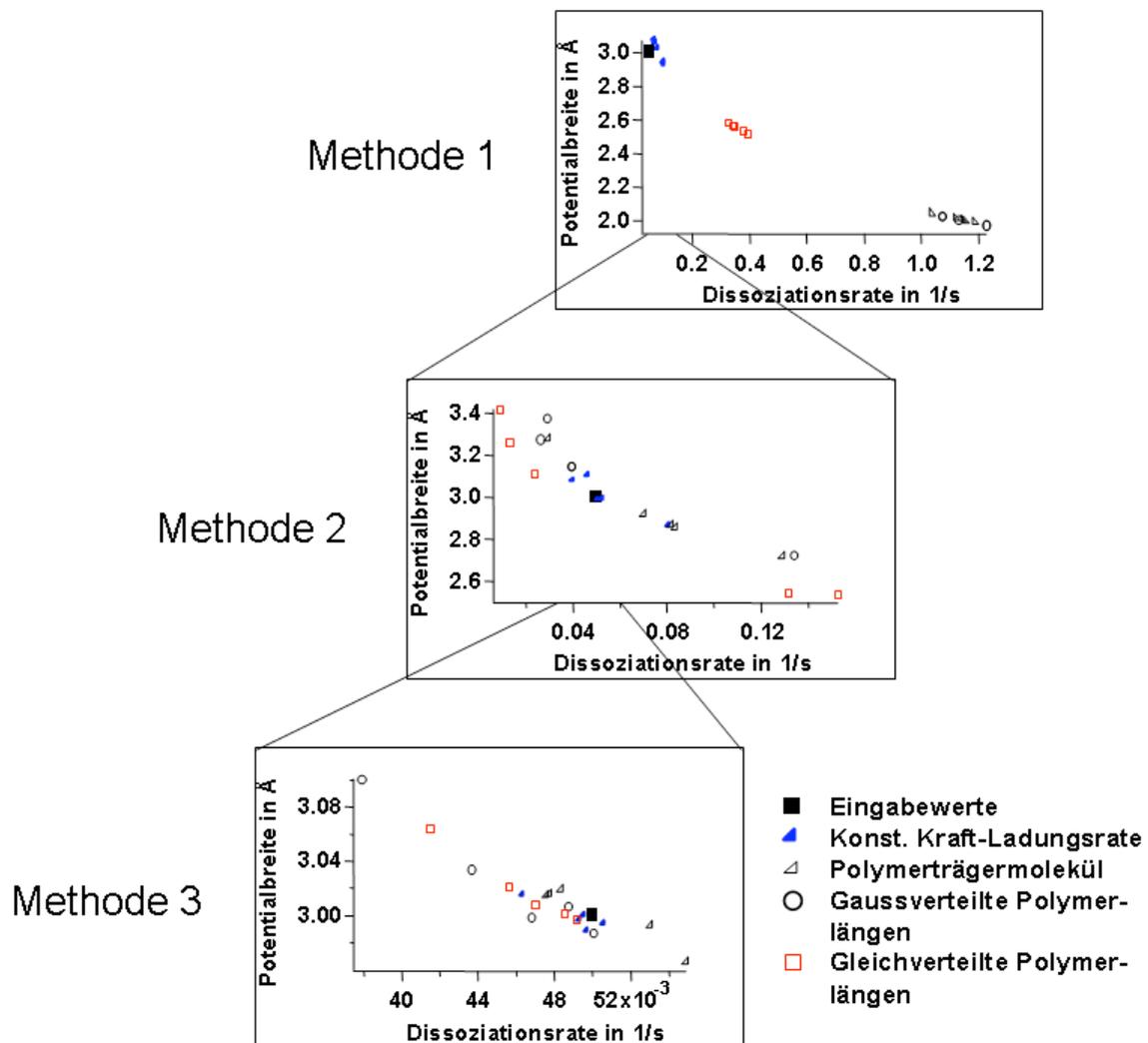


Abbildung 4.6: Ergebnisse für die drei getesteten Analysemethoden. Jede von ihnen wurde auf die Ergebnisse der vier verschiedenen Monte-Carlo Simulationen (siehe Abb. 4.5.) angewendet. In der Darstellung werden die Abweichungen von oben nach unten hin immer kleiner. Methode 3 konnte damit als die präziseste der getesteten Analysemethoden identifiziert werden.

4.2.4 Anwendung auf experimentell ermittelte Daten

Um die Anwendbarkeit der Methode auf experimentelle Daten zu überprüfen wurde eine Reihe von AFM-Experimenten analysiert, denen Affinitätsmessungen von Aptameren an menschliche IgE-Antikörper zu Grunde lagen⁶.

Die AFM-Spitze wurde dazu über einen Polymerspacer mit einem Aptamer funktionalisiert. Der Antikörper wurde auf dieselbe Art und Weise auf dem Substrat verankert. Der Aufbau ist in Abb. 4.7 dargestellt.

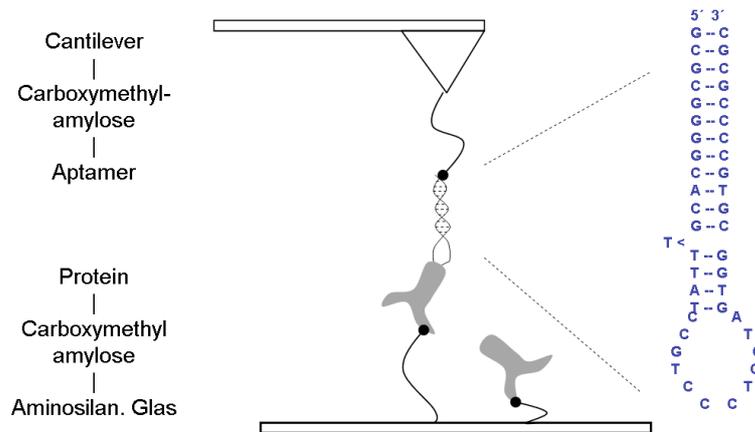


Abbildung 4.7: Aufbau des AFM-Experimentes.

Cantilever und Glasplättchen wurden zunächst mit einem Aminosilan silanisiert, an das Carboxymethylamylose gebunden wurde. An diese wurde dann, im Fall der AFM-Spitze Aptamere und im Fall des Glasplättchens, menschliches Ig-E gebunden. Nachdem alle anderen Bindungen kovalent und damit um etwa eine Größenordnung stärker sind, misst man im Experiment die Abrisskraft für die Aptamer-Ig-E-Bindung.

Ein Beispiel für ein gemessenes Abrisskräftehistogramm und deren zugehörige Ladungsraten ist in Abb. 4.8 gezeigt.

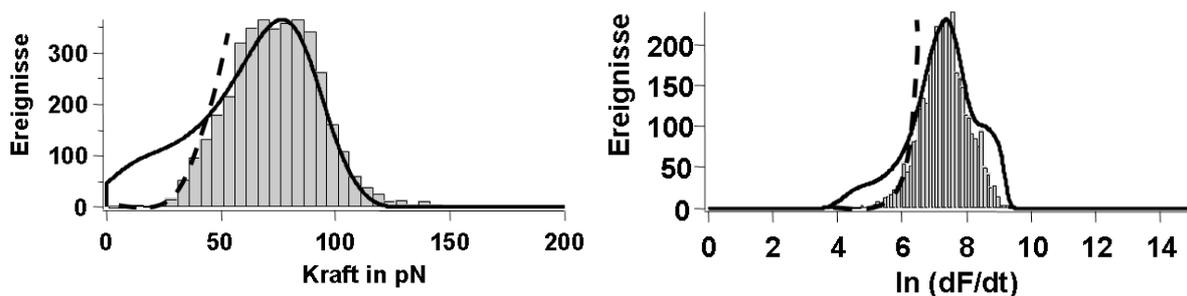


Abbildung 4.8.: Beispiel einer experimentell bestimmten Abrisskräfteverteilung und der zugehörigen Ladungsraten, die mit der entwickelten Funktion gefittet werden konnten. Fitparameters waren $k_{off}^* = 3.3 \text{ s}^{-1}$ und $\Delta x = 0.22 \text{ \AA}$. Die gestrichelte Linie stellt eine schematische Darstellung der Abschneidefunktion des verwendeten Instrumentes dar und trennt damit den experimentell zugänglichen Bereich von dem experimentell unzugänglichen Bereich ab.

⁶ Die Daten wurden von Ferdinand Kühner gemessen [123]

Die meisten der untersuchten Verteilungen für die Abrisskräfte und Kraftladungsraten konnten durch die entwickelten Fitfunktionen konsistent gefittet werden und lieferten Werte zwischen 0.17 s^{-1} und 0.3 s^{-1} für die Dissoziationsraten bzw. zwischen 0.28 nm und 0.35 nm für die Potentialbreiten.

Wenn die Spacerlängenverteilungen diskrete Peaks zeigen, können verschiedenen Längenbereiche verschiedene Abrisskraftbereiche bzw. Kraftladungsbereiche zugeordnet werden. Abb. 4.9 zeigt wie die dadurch bestimmten Beiträge sich überlagern zu den Gesamtverteilungen, die mit Werten von 3.3 \AA für die Potentialbreite und 0.22 s^{-1} für die Dissoziationskonstante gefittet werden können.

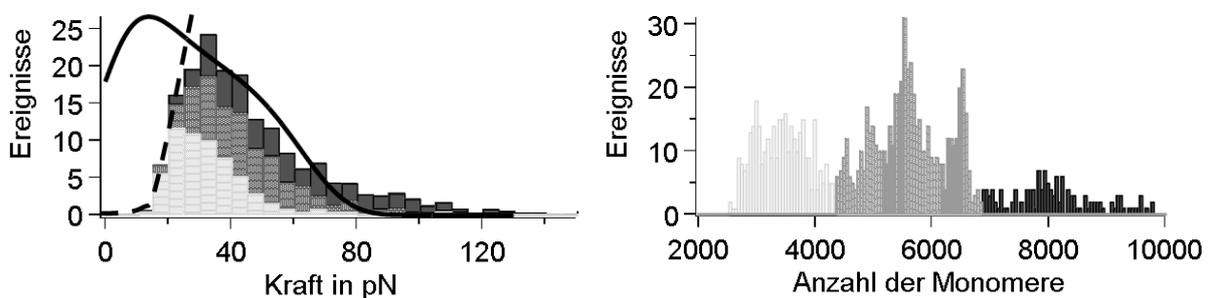


Abbildung 4.9: Beiträge der verschiedenen Spacerlängenregime zur Gesamtverteilung der gemessenen Abrisskräfte die mit den Fitparametern $k_{\text{off}}^* = 3.3 \text{ s}^{-1}$ und $\Delta x = 0.22 \text{ \AA}$ gefittet wurde. Die gestrichelte Linie repräsentiert die Abschneidefunktion des Instrumentes.

In einigen Fällen war es nicht möglich, die Verteilungen für die Abrisskräfte und die Kraftladungsrate mit demselben Satz an Fitparametern zu fitten. Durch die getrennte Analyse der verschiedenen Längenbereiche der Polymerspacer war es für das in Abb. 4.10 gezeigte Beispiel jedoch möglich, die Verteilungen für die längsten Polymerspacer konsistent mit Werten von 0.35 nm für die Potentialbreite und 0.22 s^{-1} für die Dissoziationsrate zu fitten. Basierend auf diesem Wissen konnte dann die Störung die in den anderen Längenbereichen überlagert war isoliert werden und ihrerseits mit Werten von 0.7 nm und $2.5 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ angefitet werden. Diese Werte würden z. B. zur unspezifischen Adsorption eines Proteins passen. Die entwickelte Analysemethode erlaubt es damit auch in einigen Fällen, verschiedene Beiträge in einer Messung zu separieren und getrennt zu analysieren.

Abb. 4.11 zeigt ein Beispiel, bei dem die Messdaten mit einer sehr niedrigen Geschwindigkeit ermittelt wurden. Der Versuch, die resultierenden Verteilungen als Ganzes mit denselben Fitparametern anzufitten, scheitert. Beide Verteilungen können jedoch konsistent und in Übereinstimmung zu den anderen Ergebnissen angefitet werden (Parameter 0.29 nm und 0.2 s^{-1}) wenn nur die Teile der Kraftverteilung betrachtet werden, die deutlich über der Auflösungsgrenze des verwendeten Instrumentes (etwa 40 pN) liegen, und analog für die Kraftladungs-

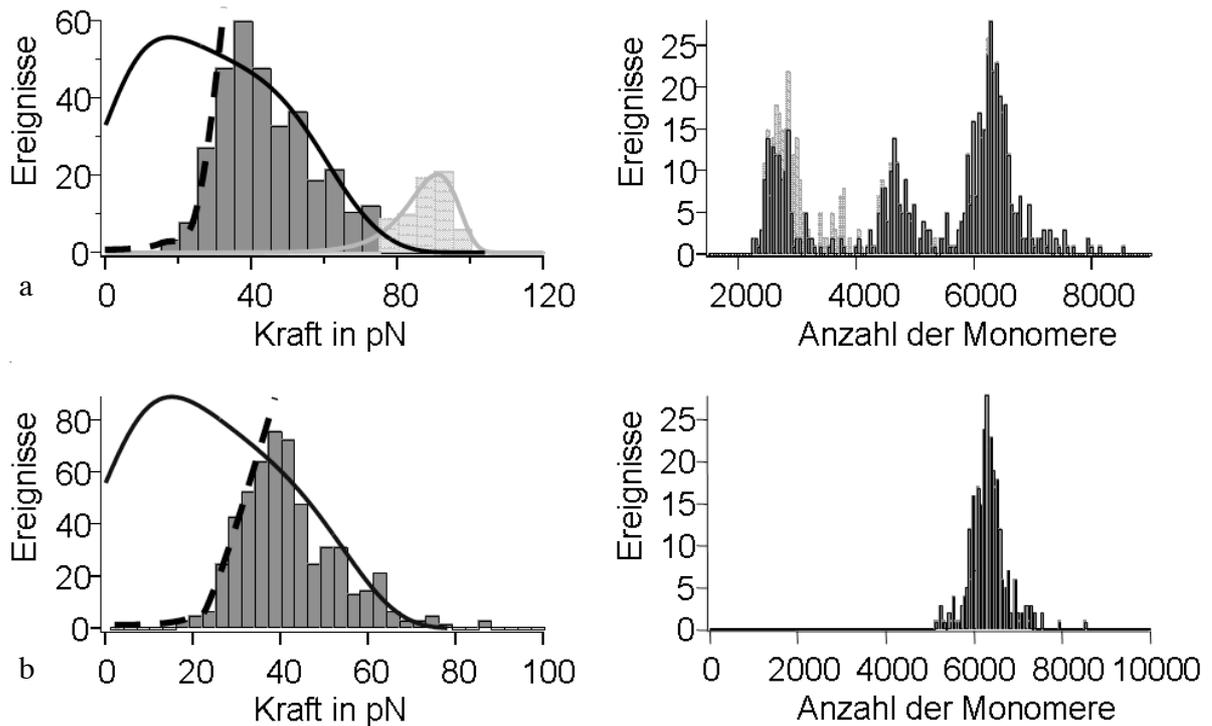


Abbildung 4.10: Beispiel in dem ein nicht-spezifischer Beitrag identifiziert und separiert werden konnte.

- Histogramm der Abrisskräfte und Monomerverteilung. Es ist nicht möglich, die gesamte Verteilung der Abrisskräfte zu fitten. Die Verteilung kann nur mit zwei Fitfunktionen mit unterschiedlichen Fitparametern gefittet werden ($k_{\text{off}}^* = 0.22 \text{ s}^{-1}$ und $\Delta x = 3.5 \text{ \AA}$ im niedrigen Kraftbereich und $k_{\text{off}}^* = 2.5 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ und $\Delta x = 7 \text{ \AA}$ im höheren Kraftbereich)*
- Die Monomerverteilung in a) zeigt, dass die Störung bevorzugt für kurze Abrisslängen auftritt. Betrachtet man nur die Abrisskräfte, die zu den langen Abrisslängen gehören, dann kann die Verteilung der Abrisskräfte wieder als Ganzes mit einer Fitfunktion gefittet werden (Fitparameter wie oben)*

raten auch nur die Werte berücksichtigt werden, die zu höheren Kräften gehören. Damit können also prinzipiell auch Verteilungen analysiert werden, die für die Messung in weiten Teilen nicht zugänglich sind.

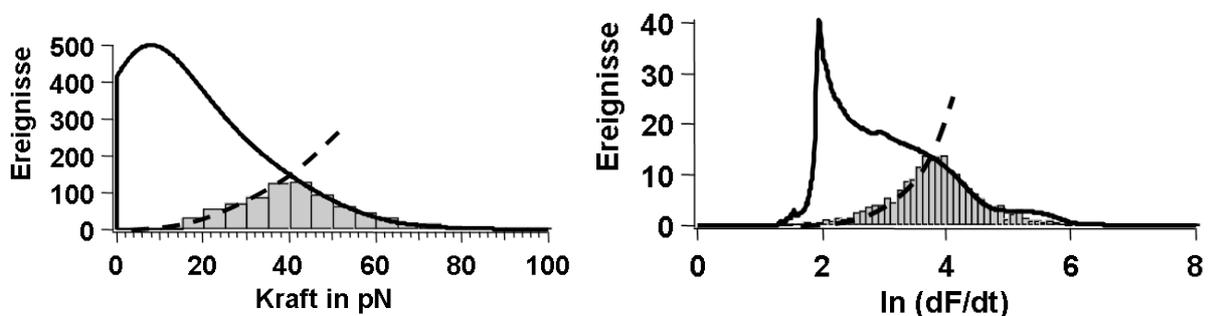


Abbildung 4.11: Beispiel, bei dem der größere Teil der Verteilung im experimentell unzugänglichen Bereich liegt. Wenn nur die Kraftwerte oberhalb von 40 pN betrachtet werden, dann können die Verteilungen mit den Fitparametern $k_{\text{off}}^* = 0.2 \text{ s}^{-1}$ and $\Delta x = 2.9 \text{ \AA}$ gefittet werden

4.2.5 Bewertung und Ausblick

Die Anwendung der vorgestellten Analysemethode führt zu sehr überzeugenden und präzisen Ergebnissen und liefert detaillierte Informationen zu den betrachteten Experimenten. Sie kann in manchen Fällen dazu verwendet werden Störungen zu identifizieren und zu separieren und bietet auch eine Perspektive zur Datenanalyse an der Auflösungsgrenze. Ein weiterer wesentlicher Vorteil ist, dass Experimentatoren nicht nur detailliertere Informationen über die Ergebnisse und Rahmenbedingungen ihrer Experimente gewinnen, sondern mit der Datenanalyse prinzipiell sofort mit dem ersten Experiment beginnen können, während geläufigere Methoden voraussetzen, dass bereits aussagekräftige Experimente mit mehreren Zuggeschwindigkeiten durchgeführt wurden, bevor überhaupt mit der ersten Analyse begonnen werden kann. Die Methode kann noch in einigen Punkten verbessert werden, z. B. können ihr verschiedene theoretische Modelle zu Grunde gelegt werden, um die Fits gegebenenfalls durch Variation des Modells noch besser an die experimentellen Daten anzupassen. Auch die Datenanalyse an der Auflösungsgrenze könnte durch Kombination mit anderen Methoden zuverlässiger gemacht werden.

4.3 Datenanalyse für Gleichgewichtsmessungen

Die meisten AFM - Desorptionsmessungen von Polyelektrolyten finden bedingt durch die zu langsame Ziehgeschwindigkeit im thermischen Gleichgewicht statt, eine Ratenabhängigkeit für die einzelnen Bindungen lässt sich unter diesen Umständen nicht feststellen. Man findet dann auch nicht mehr Polymerdehnkurven und Abrisse im herkömmlichen Sinne sondern stattdessen Desorptionsplateaus konstanter Höhe, anhand deren sich die Gleichgewichts-Adsorptions-Desorptionskraft bestimmen lässt. Ein Beispiel dafür zeigt Abb. 4.12: Die letzte Stufe repräsentiert in den meisten Fällen die Desorption eines einzelnen Polymerstranges vom Substrat. Der Höhe dieses Plateaus entspricht die Desorptionskraft die man aufwenden muss, um ein einzelnes Polymerelement Segment für Segment vom Substrat zu desorbieren. Häufig findet man noch weitere Plateaus auf höherem Kraftniveau, die die parallele Desorption von zwei oder mehreren Polymersträngen vom Substrat darstellt. Die Höhen aller gefundenen Plateaus werden für einen Satz von Kraft-Abstands-Kurven, die unter definierten Umweltbedingungen aufgenommen wurden in einem Histogramm gesammelt.

Sie resultieren für gewöhnlich in schmalen Gaußverteilungen, anhand derer sich die mittleren

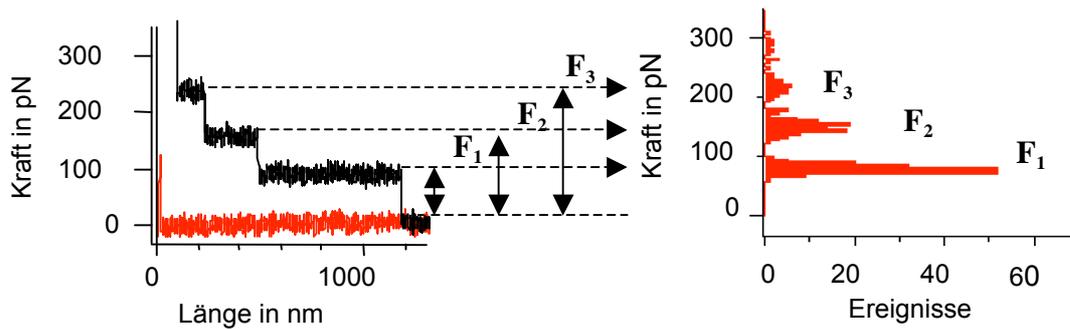


Abbildung 4.12: Bestimmung der Desorptionskräfte. Die Höhen der einzelnen Desorptionsplateaus werden in einem Histogramm gesammelt. Man erkennt deutlich mehrere Peaks in der Kraftverteilung. Der erste Peak entspricht dabei der Desorption eines einzelnen Polymerstrangs. Die höheren Peaks dagegen entsprechen der parallelen Desorption von zwei oder mehr Polymersträngen.

Desorptionskräfte für Einzel- und Mehrfach-Desorptionsereignisse bestimmen lassen. Diese Mittelwerte können für variierte Umweltbedingungen über einen Gaußfit bestimmt und zueinander in Beziehung gesetzt werden, z. B. können die mittleren Desorptionskräfte, die auf demselben Substrat für verschiedene Salzkonzentrationen ermittelt wurden gegen die zugehörige Debyesche Abschirmlänge aufgetragen werden, um so elektrostatische Beiträge zu identifizieren (vgl. Kapitel 5.1.). Dieser Prozess ist in Abb. 4.13 aufgezeigt.

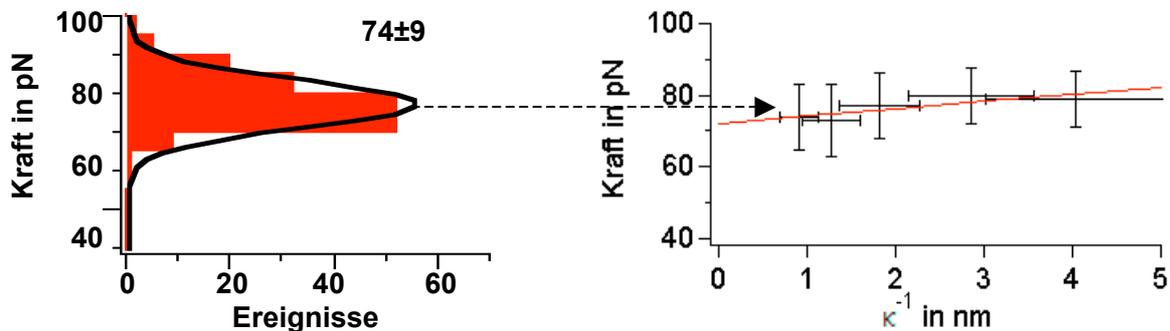


Abbildung 4.13: Auswertung der Peaks im Desorptionskräftehistogramm. Die mittleren Desorptionskräfte werden über einen Gaußfit bestimmt. Wurden z. B. die Desorptionskräfte für verschiedene Salzkonzentrationen gemessen, so kann man die mittleren Desorptionskräfte gegen die zugehörige Debyelänge auftragen, um elektrostatische Beiträge zu identifizieren und zu charakterisieren.

Trägt man in einem 3D-Plot Länge, Kraft und Kurvennummer gegeneinander auf, so kann man Kräfte mit Längen korrelieren und dynamische Prozesse illustrieren, da die Kurvennummer der aufgezeichneten Kurven ein Äquivalent zur Zeit ist. Abb. 4.14 zeigt ein Beispiel für einen Imageplot, bei dem die Kurvennummer in y-Richtung und die Länge in x-Richtung aufgetragen. Die dritte Dimension, die Kraft, ist in einer Farbskala kodiert. Anhand dieser Darstellungen kann präzise aufgezeigt werden, wann welche Moleküle einzeln auftreten und wann und wie sie parallel auf der Unterlage adsorbieren.

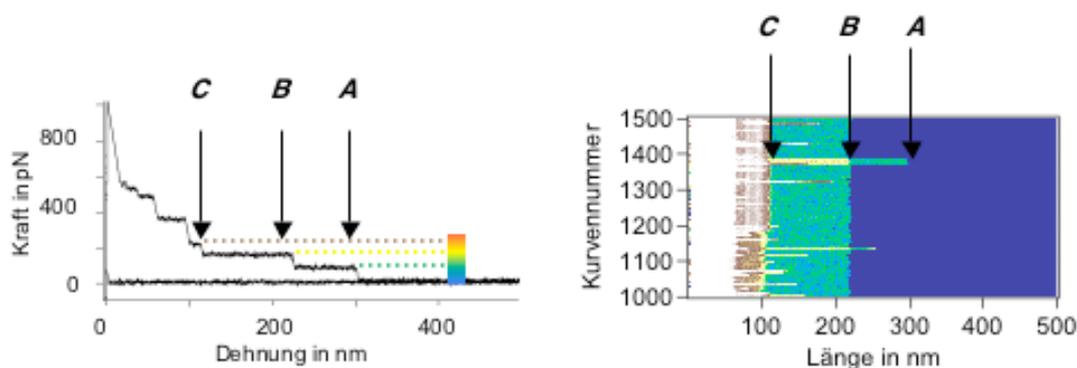


Abbildung 4.14: 3D-Plot der gemessenen Kraft-Abstandskurven. Die Länge wird dabei gegen die Kurvennummer aufgetragen, die Kraft ist in einer Farbskala kodiert. Man kann in dieser Darstellung sehr schön die Desorption einzelner individueller Moleküle erkennen.

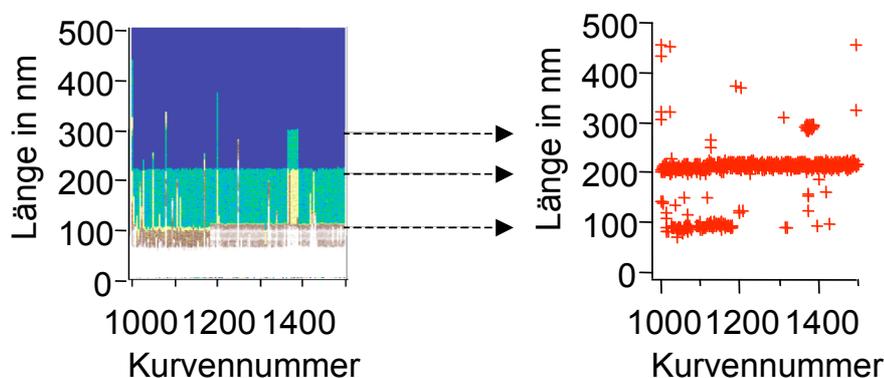


Abbildung 4.15: Auftragung der Plateaulängen gegen ihre Kurvennummer. In diesem Fall werden nur die Kanten des 3D-Plots berücksichtigt und die Kraftdimension wird weggelassen, um die Lesbarkeit der Darstellung zu verbessern.

Diese Darstellungen sind jedoch nur dann gut lesbar, wenn die Moleküle „im Block“ auftreten, d. h., wenn man viele Male hintereinander dasselbe Moleküle desorbiert. Hat man viele verschiedene Moleküle, die von Kurve zu Kurve abwechselnd desorbieren, kann es vorteilhafter sein, wenn man die Desorptionslängen separat gegen ihre Kurvennummer aufträgt, also nur die Kanten der Desorptionsplateaus extrahiert. Das Zustandekommen einer solchen Darstellung ist in Abbildung 4.15 dargestellt. Dynamische Prozesse, die die Längen betreffen können in einer solchen Darstellung in gut lesbarer Weise dargestellt werden, man verliert jedoch die Zuordnung zu den Desorptionskräften. Welche Art der Darstellung letztendlich vorteilhafter ist, muss im Einzelfall entschieden werden.

5 Identifikation von verschiedenen Arten von Wechselwirkungen

5.1 Elektrostatische Wechselwirkungen

Naheliegender ist es, bei der Adsorption von Polyelektrolyten an geladene Substrate elektrostatische Wechselwirkungen zu vermuten. Sofern die Voraussetzungen für die Gültigkeit der Debye-Hückel-Theorie gegeben sind, zeigen elektrostatische Wechselwirkungen gemäß Gleichung (5.1) eine lineare Abhängigkeit von der Oberflächenladung, der Ladungsdichte des Polyelektrolyten und der Salzkonzentration in der Lösung. Sie sind damit einfach zu identifizieren und charakterisieren. Vorangehende Messungen von Jöstl, Hugel und Großholz mit Polyvinylaminen [30,31] haben diese Aspekte bereits sehr klar herausgestellt. Die Untersuchung von elektrostatischen Wechselwirkungen bietet daher einen sehr guten Ansatzpunkt, um neue Moleküle zu charakterisieren. Deshalb wurden mit Polyacrylsäure zunächst Messungen an den bereits bekannten, negativ geladenen Oberflächen, Kalzit und Mica durchgeführt. Auf dem stärker negativ geladenen Mica konnte mit einwertigen Ionen in Lösung keine Adsorption beobachtet werden. Mit zweiwertigen Ionen in Lösung ergeben sich Besonderheiten, auf die im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht eingegangen wird. Zusätzlich wurde mit ammoniumsilanisierendem Silizium auch auf einer positiv geladenen Oberfläche gemessen, womit neben dem repulsiven Fall auch eine attraktive Wechselwirkung untersucht werden konnte.

5.1.1 Messungen mit Polyacrylsäure auf Kalzit

Kalzit ist eine der kristallinen Formen von Kalziumcarbonat. Vorhergehende Messungen mit Polyvinylamin von Jöstl [31] ergaben, dass diese Oberfläche schwach negativ geladen ist, mit einer Oberflächenladungsdichte von $\approx -0.02 \text{ nm}^{-2}$. Für die im Folgenden vorgestellten Messungen mit der negativ geladenen Polyacrylsäure wurde ein Kalzit – Einkristall verwendet⁷ und es wurde die NaCl-Konzentration in Lösung bei pH 6 schrittweise erhöht (5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM und 100 mM). Da Kalzit sich bei höherem pH verstärkt auflöst, wurde auf eine pH-Variation an dieser Stelle verzichtet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.1 dargestellt. Die Abbildungen 5.1 a und 5.1 b zeigen jeweils eine exemplarische Kraft-Abstandskurve und ein Desorptionskräftehistogramm, beides gemessen mit einer NaCl-Konzentration von 50 mM. Die Kraftabstandskurve zeigt die sukzessive Desorption zweier

⁷ Bereitgestellt von Dr. Uwe Barz vom Institut für Mineralogie, LMU München.

Polyacrylsäuremoleküle unterschiedlicher Länge, was bei dieser Salzkonzentration sehr häufig beobachtet werden konnte. Im Desorptionskräftehistogramm lassen sich dementsprechend zwei Peaks unterscheiden, die der Desorption von einem bzw. von zwei Polyacrylsäuremolekülen von der Kalzitoberfläche entsprechen. Typischerweise beobachtet man für dieses System erst bei höheren NaCl-Konzentrationen (> 25 mM) Mehrfachereignisse, was einen ersten Hinweis dafür liefert, dass tatsächlich eine repulsive elektrostatische Wechselwirkung vorhanden ist, die der Adsorption der Polyelektrolytmoleküle auf dem Substrat entgegenwirkt. In diesem Fall würde man erwarten, dass die Wahrscheinlichkeit, Desorptionsereignisse zu beobachten mit zunehmender Salzkonzentration zunimmt, da die repulsive Wechselwirkung dann mehr und mehr abgeschirmt wird.

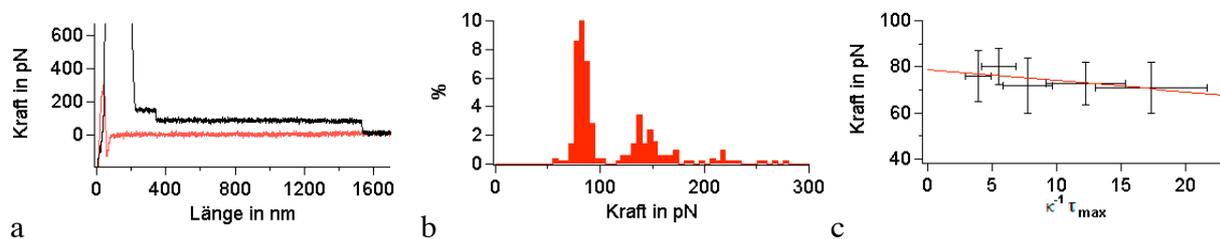


Abbildung 5.1: Messungen auf Kalzit.

- Typische Kraft-Abstandskurve, aufgenommen mit 50 mM NaCl in Lösung mit zwei Desorptionsplateaus, die die Desorption von zwei Polyacrylsäuremolekülen unterschiedlicher Länge beschreibt.
- Histogramm für die Desorptionskräfte mit zwei klar erkennbaren Peaks (50 mM NaCl in Lösung).
- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen $\kappa^{-1} \cdot r_{\max}$.

Unter der Annahme, dass die elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Polymermolekülen und der Oberfläche durch das Debye-Hückel-Potential gegeben ist, kann man daraus den Coulomb-Anteil der Desorptionskraft bestimmen [30]:

$$F_{\text{des}}^{\text{el}} = (4 \epsilon_0 \epsilon_B k_B T) \frac{1}{r} \quad (5.1)$$

Für gewöhnlich treten neben dem Coulomb-Anteil noch andere Beiträge zur Desorptionskraft auf, die in erster Näherung in einem konstanten Term F_0 zusammengefasst werden können. Als Gesamtdesorptionskraft ergibt sich damit:

$$F_{\text{des}} = F_0 + (4 \epsilon_0 \epsilon_B k_B T) \frac{1}{r} \quad (5.2)$$

Man erwartet deshalb eine lineare Abhängigkeit der Desorptionskraft von der Bjerrumlänge l_B , die in Wasser 0,71 nm beträgt, der Debyeschen Abschirmlänge κ^{-1} , der Ladungsdichte σ des Moleküls und der Oberflächenladungsdichte Σ . Variiert man κ^{-1} , so erhält man eine Gerade, aus deren Steigung sich bei bekanntem σ die Oberflächenladungsdichte Σ bestimmen ließe. Tatsächlich hängt die Ladungsdichte eines Polyelektrolyten jedoch von zahlreichen Faktoren ab (pH-Wert der Lösung, Lösungsmittel, Belegungsdichte an der AFM-Spitze u. v. m.) und kann für die hier betrachteten experimentellen Gegebenheiten schwer bestimmt werden. Berücksichtigt man jedoch, dass σ durch $\sigma = \alpha \cdot \sigma_{\max}$ gegeben ist, wobei α den Dissoziationsgrad des Polyelektrolyten darstellt, dann lässt sich ein quantitativer Wert für $\kappa^{-1} \cdot \alpha$ ermitteln. In Abbildung 5.1 c wurden dazu die für die verschiedenen Salzkonzentrationen ermittelten mittleren Desorptionskräfte gegen $\kappa^{-1} \cdot \alpha_{\max}$ ($\alpha_{\max} = 4 \text{ nm}^{-1}$ für Polyacrylsäure) aufgetragen. Es ergibt sich eine leicht fallende Gerade, die zunächst belegt, dass es sich um eine repulsive Wechselwirkung handelt. Wertet man ihre Steigung aus, so ergibt sich $\kappa^{-1} \cdot \alpha = 0,008 \text{ nm}^{-2}$. Vergleicht man diesen Wert mit dem für Polyvinylamin gemessenen, so lässt sich unter der Annahme, dass die Oberflächenladung von Kalzit unabhängig von dem darauf adsorbierten Polyelektrolyten ist, folgern, dass der Dissoziationsgrad von Polyvinylamine für dieses spezielle Experiment etwa 2,5mal so groß ist, wie der Dissoziationsgrad von Polyacrylsäure. Diese Differenz könnte durch Ladungsregulierungsmechanismen erklärt werden, die das Dissoziationsgleichgewicht der protonierbaren Gruppen der Polyelektrolytmoleküle beeinträchtigen (vgl. Abschnitt 3.2.1.3.). Die attraktive Wechselwirkung zwischen Polyvinylamine und Kalzit würde dann die Protonierung der Amingruppen begünstigen während die repulsive Wechselwirkung zwischen Polyacrylsäure und Kalzit der Deprotonierung der COOH-Gruppen entgegenwirkt. Letzteres ist in Abbildung 5.2 dargestellt.

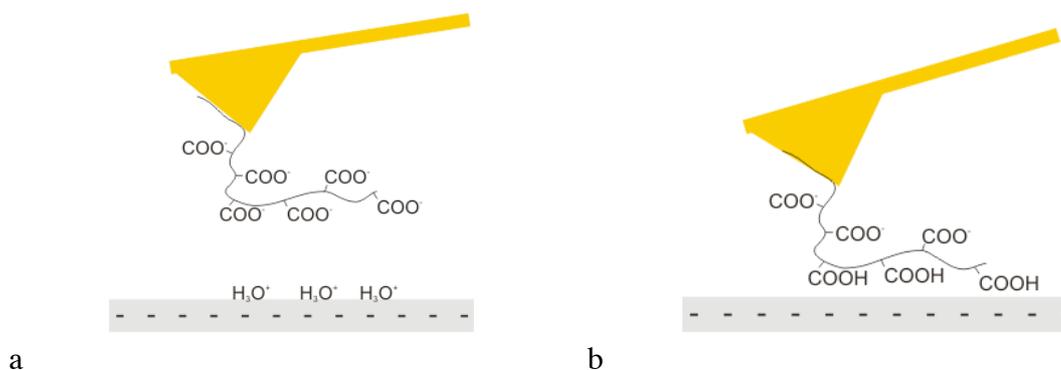


Abbildung 5.2: Negativ geladenes Polymer gegenüber negativ geladener Oberfläche.

- In einiger Entfernung ist von der Oberfläche ist das Polymer negativ geladen. In der Nähe der negativ geladenen Oberfläche befinden sich u. a. auch vermehrt Protonen.
- In der Nähe der negativ geladenen Oberfläche wird die elektrostatische Abstoßung groß genug, um den Übergang von Protonen an das Polymer zu bewirken. Der scheinbare pK_a -Wert scheint dadurch verschoben

Nimmt man für Polyvinylamin einen Dissoziationsgrad von 1 an, so lässt sich $\beta=0.4$ als Obergrenze für Polyacrylsäure angeben. Da der pK_a -Wert von Polyacrylsäure in Lösung bei ca. 6,5 [66,124] liegt, ist dies ein durchaus realistischer Wert.

5.1.2 Messungen mit Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium

Um neben der repulsiven auch eine attraktive elektrostatische Wechselwirkung nachzuweisen, wurden Messungen mit Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium⁸ durchgeführt. Da tertiäre Amine verwendet wurden, trägt diese Oberfläche eine permanente, pH-unabhängige, positive Ladung [125].

Die im Folgenden exemplarisch vorgestellten Daten entstammen einer kontinuierlichen Messreihe mit ein und derselben AFM-Spitze. Damit konnten Schwankungen, die auf unterschiedliche Probenpräparationen und Federeichungen zurückgeführt werden können vermieden werden, was die Vergleichbarkeit der unter verschiedenen Umweltbedingungen aufgenommenen Messdaten entscheidend verbessert. Zunächst wurde wiederum die NaCl-Konzentration in Lösung (5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM und 200 mM) bei pH 6 variiert. Im Anschluss daran wurden bei einer NaCl-Konzentration von 100 mM Messungen mit verschiedenen pH-Werten durchgeführt (pH 3 bis pH 11, variiert in Schritten von 1). Die Ergebnisse für diesen Teil der Messung sind in Abbildung 5.3 dargestellt. Dem Desorptionskräftehistogramm kann entnommen werden, dass mit wesentlich größerer Häufigkeit Desorptionsereignisse beobachtet werden, als im Fall des Kalzits. Dementsprechend treten auch wesentlich häufiger Mehrfachereignisse auf. Dies ist bereits ein Hinweis auf eine attraktive elektrostatische Wechselwirkung, die die Adsorption der Polyelektrolytmoleküle begünstigt.

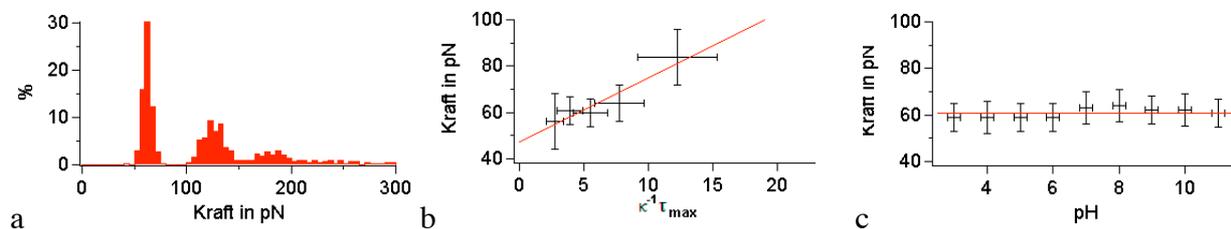


Abbildung 5.3: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium mit NaCl in Lösung.

- a) Desorptionskräftehistogramm (50 mM NaCl in Lösung)
- b) Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen $\kappa^{-1} \cdot \tau_{max}$
- c) Mittlere Desorptionskräfte bei variierten pH (100 mM NaCl in Lösung)

⁸ Diese Oberflächen wurden von Dr. Ulrich Jonas, MPI Mainz gefertigt [125].

In Abbildung 5.3 b sind diese mittleren Desorptionskräfte gegen $\lambda^{-1} \cdot \lambda_{\max}$ ($\lambda_{\max} = 4 \text{ nm}^{-1}$, s.o.) aufgetragen⁹. Die Desorptionskraft steigt linear mit der Debyelänge, was eine attraktive elektrostatische Wechselwirkung zwischen Polymer und Substrat beschreibt. Aus der Steigung der Ausgleichsgeraden ergibt sich $\lambda \cdot \lambda = 0,08 \text{ nm}^2$. Da der Dissoziationsgrad unbekannt ist, lässt sich λ nicht direkt bestimmen. Nimmt man jedoch an, dass die Polyacrylsäuremoleküle über einen Ladungsregulierungsmechanismus maximal aufgeladen sind (vgl. Polyvinylamin auf Kalzit, Abschnitt 5.1.1), dann ergibt sich $\lambda = 0,08 \text{ nm}^2$. Die Ergebnisse für die pH-Variation auf ammoniumsilanisiertem Silizium (Abbildung 5.3 c) stützen diese Annahme zusätzlich: über den gesamten durchlaufenen pH-Bereich ergeben sich keine signifikanten Änderungen in der Desorptionskraft, obwohl die Ladungsdichte der Polyacrylsäuremoleküle und damit auch die Stärke der elektrostatischen Wechselwirkung mit zunehmendem pH steigen sollte. Dies kann jedoch erklärt werden, wenn man annimmt, dass der Polyelektrolyt gegenüber der positiv geladenen Oberfläche bereits bei niedrigem pH seine volle Ladungsdichte annimmt, was bedingt, dass die Stärke der elektrostatischen Wechselwirkung über den gesamten pH-Bereich konstant bleibt.

Ein weiterer interessanter Befund im Zusammenhang mit diesen Messungen ist in den Abbildungen 5.4 und 5.5 dargestellt: für niedrige NaCl-Konzentrationen konnten „Adsorptions-Plateaus“ beobachtet werden. Damit ist das Phänomen gemeint, dass beim Annähern der Spitze an die Probe Moleküle aus einiger Entfernung an die Probe adsorbieren, noch bevor die Spitze die Probe berührt. Abbildung 5.5 a zeigt ein Beispiel für ein solches Adsorptions-Plateau. Diese Plateaus wurden separat zu den Desorptionsplateaus der Rückfahrkurven ausgewertet. Sie konnten bei Salzkonzentrationen von 5 mM, 10 mM und 25 mM beobachtet werden. Ihre Häufigkeit, ihre Länge und ihre Höhe nehmen mit zunehmender Salzkonzentration ab (Abbildung 5.5 b, c und Abbildung 5.4). Abbildung 5.4 zeigt die Histogramme für die beobachteten Adsorptionskräfte gemeinsam mit den Histogrammen der zugehörigen Desorptionskräfte. Man sieht, dass die Adsorptionskräfte bei wesentlich geringeren Werten liegen als

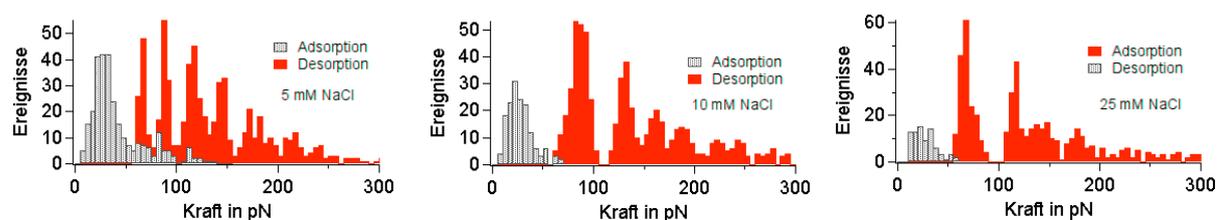


Abbildung 5.4: Adsorptions- und Desorptionskräftehistogramme für Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium bei verschiedenen Salzkonzentrationen.

⁹ Da sich bei 5 mM Störungen ergaben, wurden die Messdaten bei dieser Konzentration nicht für die Auswertung herangezogen.

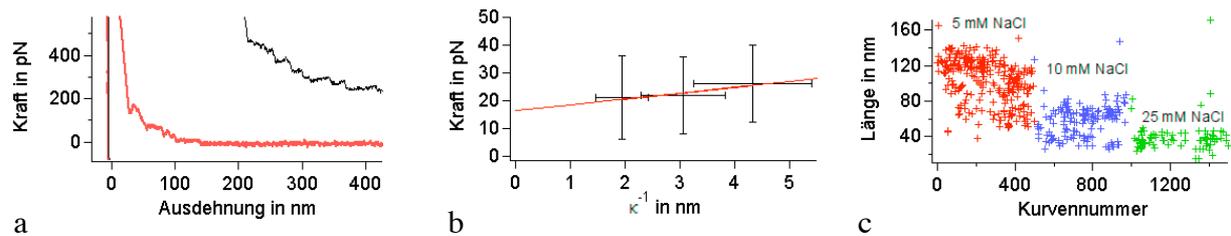


Abbildung 5.5: Messergebnisse für Adsorptionsplateaus von Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium.

- Kraft-Abstandskurve mit Adsorptionsplateau (5 mM NaCl in Lösung).
- Mittlere Adsorptionskräfte aufgetragen gegen κ^{-1} .
- Adsorptionslängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer.

die Desorptionskräfte. Dieser Befund ist zunächst einmal überraschend. Da die für die Desorptionskräfte ermittelten Histogramme schmale Gaußverteilungen und keine Extremwertverteilungen darstellen, kann davon ausgegangen werden, dass die Desorptionsmessungen im Gleichgewicht stattgefunden haben (siehe Abschnitt 4.1.1) und die Desorption somit einen reversiblen Prozess beschreibt. Folglich würde man erwarten, dass Adsorptions- und Desorptionskräfte gleich groß sind, was hier aber nicht der Fall ist. Eine mögliche Erklärung wäre, dass das Oberflächenpotential des Substrates ein zweites lokales Minimum besitzt, das in größerer Entfernung lokalisiert ist. Die Desorptionsplateaus würden dann einen anderen Gleichgewichtszustand beschreiben als die Adsorptionsplateaus, der erst beim Eindringen in das Substrat erreicht wird.

Im Anschluss an die Messungen mit NaCl wurden Messungen mit CaCl_2 für die Konzentrationen 50 μM , 100 μM , 500 μM , 1 mM, 5 mM und 10 mM durchgeführt¹⁰. Daraufhin wurde mit verschiedenen CaSO_4 -Konzentrationen in Lösung¹¹ (50 μM , 100 μM , 500 μM , 1 mM, 5 mM, jeweils bei pH 6) gemessen und im Anschluss daran wurde der pH-Wert der Lösung von 3 bis 9 in Schritten von eins bei einer konstanten CaSO_4 -Konzentration von 5 mM variiert. Die Ergebnisse dieses Teils der Messreihe sind in Abbildung 5.6 dargestellt. Interessant ist, dass die Kräfte hier unabhängig von der Salzkonzentration sind, was auf einen Nicht-Coulomb dominierten Adsorptionsprozess hindeutet. Sowohl für CaCl_2 als auch für CaSO_4 kann keine signifikante Abhängigkeit von der Salzkonzentration festgestellt werden. Dies kann z. B. darin begründet sein, dass die Debye-Hückel Näherung für zweiwertige Ionen nicht

¹⁰ Der Grund warum die Konzentrationen hier und im Folgenden für zweiwertige Kationen allgemein so niedrig gehalten wurden ist, dass ab einer Konzentration von etwa 10 mM Störungen auftreten, die die AFM-Messungen in nicht unerheblichem Maße beeinträchtigen.

¹¹ Beim Übergang von CaCl_2 zu CaSO_4 wurde die Probe mehrfach mit einer EDTA-haltigen Lösung gespült, um möglicherweise an die Polyacrylsäuremoleküle gebundene Ca-Ionen zu entfernen um so möglichst den ursprünglichen Zustand der AFM-Spitze wiederherzustellen.

mehr gültig ist (vgl. Abschnitt 3.2.1.2). Eine andere Erklärung basiert auf der Tatsache, dass Ca-Ionen an die Carboxygruppen der Polyacrylsäuremoleküle binden [126-129] und z. T. deren Ladung neutralisieren, was zur Folge hat, dass die elektrostatischen Beiträge abgeschwächt werden. Auch für CaSO_4 konnte keine Abhängigkeit der Desorptionskraft vom pH der Lösung gefunden werden. Dies besagt aber im Prinzip nur, dass der Ladungszustand des Polymers pH-unabhängig ist. Inwieweit die Polyelektrolytmoleküle bedingt durch Ladungsregulierung über den gesamten pH-Bereich maximal geladen sind oder ob die Polyelektrolytmoleküle, bedingt durch Kalzium neutralisiert wurden kann jedoch nicht entschieden werden. Interessant ist, dass die Desorptionskraft beim Übergang von CaCl_2 zu CaSO_4 abrupt um 10 pN sinkt. Diese Änderung in der Desorptionskraft, die mit dem Wechsel des Anions einhergeht, ist schwer zu deuten. Unter der Annahme, dass die Anionen fest an das Substrat gebunden sind, könnten sich die energetischen Verhältnisse im Falle des CaCl_2 günstiger darstellen, weil in diesem Fall mehr Teilchen in die Lösung freigesetzt werden, wenn der Polyelektrolyt an die Oberfläche

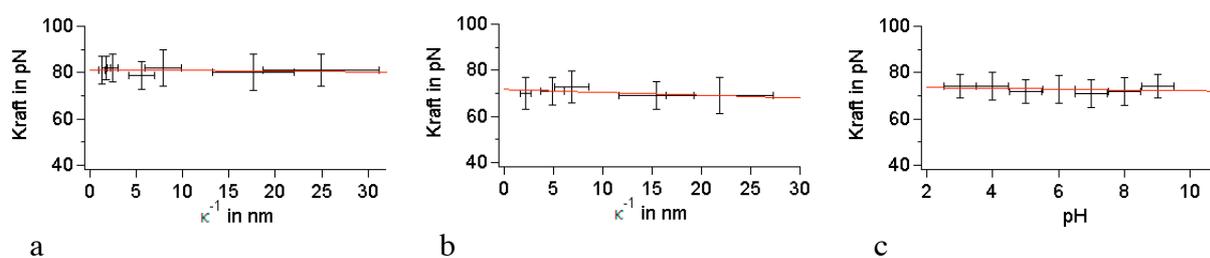


Abbildung 5.6: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf ammoniumsilanisiertem Silizium mit CaCl_2 und CaSO_4 in Lösung.

- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen κ^{-1} für CaCl_2 .
- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen κ^{-1} für CaSO_4 .
- Mittlere Desorptionskräfte bei variierten pH (5 mM CaSO_4 in Lösung)

bindet, was die Gesamtentropie des Systems erhöht. Diese Annahme ist jedoch höchst spekulativ und das Phänomen kann mit Sicherheit nur dann eine zuverlässige Deutung erfahren, wenn weitere Messungen, mit anderen Ionen, anderen Polyelektrolyten und anderen Substraten folgen, um mehr über den Ursprung und die Rahmenbedingungen dieses Effektes zu erfahren.

5.2 Der Einfluss des Lösungsmittels

Um mehr über das Auftreten und den Ursprung von Nicht-Coulomb Wechselwirkungen zu erfahren wurden systematisch Desorptionsmessungen von Polyacrylsäure auf Self-Assembled

Monolayern (SAMs) gemacht. Die Monolayer hatten dabei COOH bzw. OH bzw. CH₃ als Kopfgruppe, die damit eine potentiell geladene, eine polarisierbare und eine hydrophobe Oberfläche repräsentieren. Die Messungen wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von NaCl (5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM) und CaSO₄ (50 μM, 100 μM, 500 μM, 1 mM, 5 mM) bei pH 6 durchgeführt. Für beide Salze wurde zudem der pH variiert. Um die unmittelbare Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurden die Messungen, bei denen die Salzkonzentration variiert wurde für beide Salze und alle drei SAMs mit ein und derselben AFM-Spitze durchgeführt. Auch die Messungen, bei denen der pH variiert wurde, wurden jeweils mit derselben AFM-Spitze gemacht.

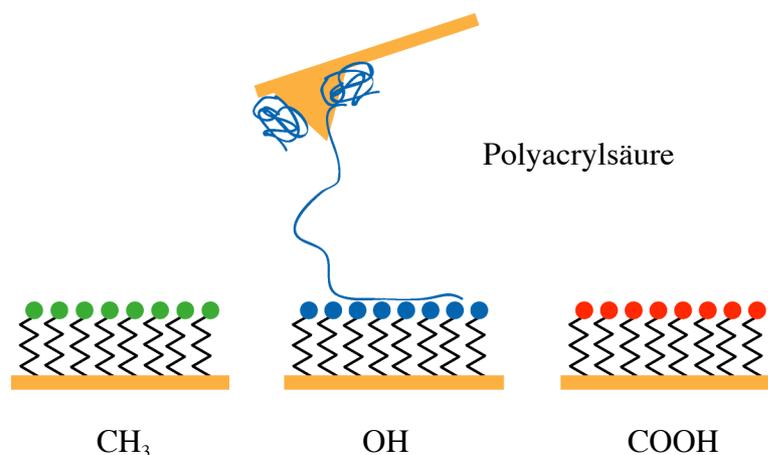


Abbildung 5.7: Versuchsaufbau für die SAM-Messungen mit Polyacrylsäure.

Die Ergebnisse für die Messungen mit variierten Salzkonzentrationen sind in den Abbildungen 5.8, 5.9 und 5.10 dargestellt. In Abb. 5.8 sieht man typische Kraftkurven für alle drei SAMs. Im Falle des CH₃-terminierten SAMs beobachtet man relativ kurze Plateaus, Mehrfachereignisse treten selten auf. Für den OH-SAM werden die Plateaus länger und man beobachtet hin und wieder auch mehrere Stufen. Die längsten Plateaus beobachtet man auf dem COOH-SAM. Das Auftreten von zahlreichen Stufen markiert hier den Regelfall.

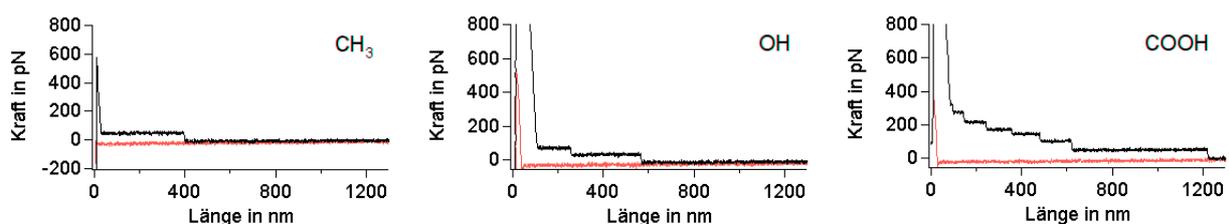


Abbildung 5.8: Repräsentative Kraft-Abstandskurven gemessen mit Polyacrylsäure auf den drei verschiedenen SAMs.

Die anhand der Kraftkurven festgemachten Trends lassen sich auch in den zugehörigen Histogrammen für die Desorptionskräfte wieder finden (Abbildung 5.9): Für den CH₃-SAM lässt sich nur ein Peak identifizieren, für den OH-SAM wenigstens zwei und für den COOH-SAM wenigstens drei. Zusätzlich lässt sich ersehen, dass die Zahl der Ereignisse von links nach rechts abnimmt und zwar sowohl für einzelnen Peaks separat als auch für die Gesamtheit der beobachteten Desorptionsereignisse.

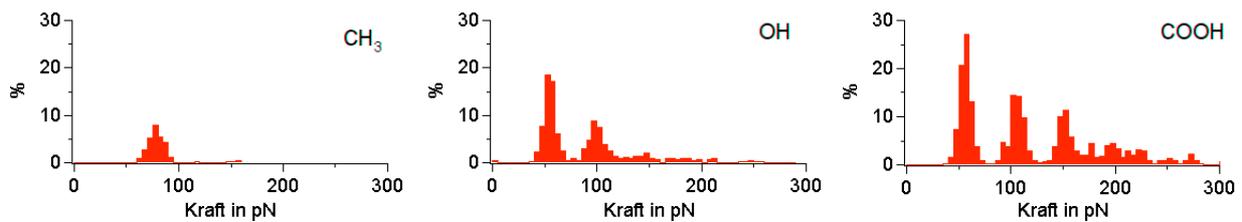


Abbildung 5.9: Repräsentative Desorptionskräftehistogramme gemessen mit Polyacrylsäure auf den drei verschiedenen SAMs.

Abbildung 5.10 a zeigt alle gefundenen Plateaulängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummern und illustriert gleichzeitig den Ablauf des Experiments: Eingangs wird mit NaCl in Lösung auf dem CH₃-SAM, daraufhin wird mit demselben Ion auf dem OH-SAM und schließlich auf dem COOH-SAM gemessen. Nach Abschluß der NaCl-Messungen wird das Salz gegen CaSO₄ ausgetauscht und die Messungen auf den drei SAMs werden in umgekehrter Reihenfolge durchgeführt¹². Man sieht, dass sich auf dem CH₃-SAM nur vergleichsweise kurze Plateaus finden lassen. Bei den Messungen auf dem OH-SAM tauchen auch längere Pla-

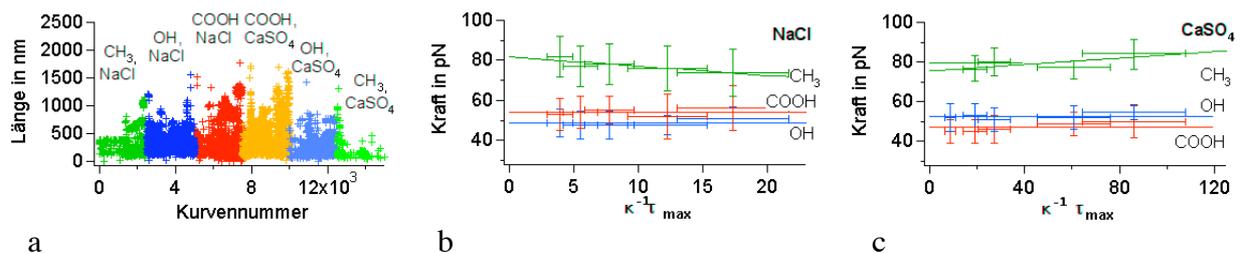


Abbildung 5.10: Überblick über die Messergebnisse für Polyacrylsäure auf den drei verschiedenen SAMs mit verschiedenen Konzentrationen von NaCl und CaSO₄ in Lösung.

- Adsorptionslängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer.
- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen $\kappa^{-1} \cdot \tau_{\max}$ für NaCl.
- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen $\kappa^{-1} \cdot \tau_{\max}$ für CaSO₄.

¹² Vor jedem Wechsel des Substrats wird die Spitze gründlich mit einer Lösung gespült, die 1 mM EDTA und Spuren von NaCl enthält, um möglicherweise an die Polyacrylsäure gebundene Ca-Ionen zu entfernen und so damit den Ausgangszustand der AFM-Spitze wiederherzustellen, bevor die Messungen auf dem neuen Substrat erneut mit der niedrigsten Ca-Konzentration begonnen werden.

teaus auf und im Falle des COOH-SAMs wurden Plateaulängen von über einem μm gefunden. Da die Messungen mit ein und derselben Spitze gemacht wurden, lassen sich die Plateaulängen unmittelbar vergleichen. Man sieht auch, dass dieser Längeneffekt reversibel und unabhängig von den Ionen in Lösung ist.

In Abbildung 5.10 b und c sind die auf den drei SAMs gemessenen mittleren Desorptionskräfte einzelner Moleküle mit unterschiedlichen NaCl bzw. CaSO_4 -Konzentrationen in Lösung gegen $\Gamma^{-1} \cdot \Gamma_{\text{max}}$ aufgetragen. Für den Fall des COOH- und des OH-SAMs konnte für beide Ionen keine signifikante Abhängigkeit von der Salzkonzentration festgestellt werden. Die mittleren Desorptionskräfte liegen für diese beiden SAMs relativ nahe beisammen. Im Fall von NaCl liegen die Desorptionskräfte für den COOH-SAM etwas höher als für den OH-SAM, mit CaSO_4 in Lösung dreht sich das Verhältnis um. Für den CH_3 -SAM steigt die Desorptionskraft mit der Debyelänge mit NaCl in Lösung. Aus der Steigung der Ausgleichsgeraden ergibt sich $\Gamma \cdot \Gamma = -0,01 \text{ nm}^{-2}$. Das negative Vorzeichen der Oberflächenladung korrespondiert mit $\Delta\phi$ -Potential-Messungen, die von Schweiss et al. [130] durchgeführt wurden. Diese ermittelten für einen Oktadecanthiol-Monolayer bei pH 6 und mit 3 mM KCl in Lösung ein Potential von $\approx -30 \text{ mV}$. Zwischen Oberflächenpotential $\Delta\phi_0$ und dem elektrostatischen Beitrag zur Desorptionskraft F_{el} besteht folgender Zusammenhang:

$$\Delta\phi_0 = \frac{F_{\text{el}}}{\Gamma} = (4\Gamma_B k_B T) \Gamma \Gamma^{-1} \quad (5.3)$$

Sind also $\Delta\phi_0$ und F_{el} bekannt, so lässt sich daraus die Ladungsdichte Γ des Polyelektrolyten ermitteln. Nimmt man an dass die Kettenlänge des SAMs nicht maßgeblich ist und sich Messungen mit KCl gut mit Messungen mit NaCl in Lösung vergleichen lassen, so kann man als Abschätzung für das Oberflächenpotential den oben angeführten aus $\Delta\phi$ -Potentialmessungen bestimmten Wert für $\Delta\phi_0$ heranziehen. Über die Ausgleichsgerade für den CH_3 -SAM in Abbildung 5.9 b lässt sich ein der Salzkonzentration von 3 mM entsprechender Kraftwert $F_{\text{des}} \approx 71 \text{ pN}$ bestimmen. Berücksichtigt man, dass der F_0 -Beitrag zur Desorptionskraft bei etwa 81 pN liegt, so ergibt sich daraus $F_{\text{el}} \approx -10 \text{ pN}$. Setzt man diese Werte in Gleichung (5.3) ein, so ergibt sich daraus ein Ladungsdichte von $\Gamma \approx 0,3 \text{ nm}^{-1}$. Diese entspricht einem Dissoziationsgrad von $\alpha \approx 0,08$ der Polyacrylsäuremoleküle. Dieser Wert ist deutlich kleiner als der im Rahmen der Kalzit-Messungen abgeschätzte. Dies könnte damit begründet sein, dass die Polyacrylsäuremoleküle auf der hier verwendeten AFM-Spitze dichter gepackt sind, als im Falle des Kalzits, was den pK_a -Wert zu höheren Werten verschieben kann. Es könnte aber auch hier wieder

eine Art von Ladungsregulierung auftreten, bedingt durch die repulsive elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Polyacrylsäuremolekülen und dem CH₃-SAM und/oder die niedrige Dielektrizitätskonstante des CH₃-SAMs (vgl. Abschnitt 3.2.1.3). Beim Übergang von NaCl zu CaSO₄ ergibt sich eine mit der Debyelänge leicht ansteigende Desorptionskraft, was eine attraktive elektrostatische Wechselwirkung indiziert. Dies könnte sich daraus ergeben, dass Ca-Ionen an die Polyacrylsäuremoleküle binden und diese umladen. Die positive Ladung dabei von Ca-Ionen herühren, die an nur eine Carboxygruppe der Polyacrylsäure binden und die die noch vorhandene negative Ladung (leicht) überkompensieren.

Im Vergleich zu den beiden anderen SAMs fällt auf, dass der nicht-elektrostatische Beitrag zur Desorptionskraft für den CH₃-SAM einen signifikant höheren Wert annimmt. Ein Aspekt der zur Erklärung dessen in Betracht gezogen werden kann und der sich gleichzeitig mit den anderen experimentellen Befunden in Einklang bringen lässt, ist die Qualität des Lösungsmittels an der SAM-Wasser Grenzfläche. Nimmt man an, dass das Lösungsmittel an der Grenzfläche CH₃-SAM-Wasser schlecht ist, dann ist es verständlich, dass selten Adsorption und noch seltener Mehrfachadsorption auftritt, da die Moleküle erst einmal diese Barriere passieren müssen, bevor sie auf dem SAM adsorbieren können. Berücksichtigt man weiter, dass die Moleküle an der Spitze erst einmal von dieser desorbieren müssen, um auf der gegenüberliegenden Seite zu adsorbieren, wird auch klar, warum man nur kürzere Desorptionsplateaus findet: Desorption von der Spitze ist für lange Moleküle wesentlich unwahrscheinlicher als für kurze, d. h., dass zunächst die kürzeren Moleküle von der Spitze desorbieren und die Barriere passieren, um an der gegenüberliegenden Oberfläche zu adsorbieren. Ist das Molekül dagegen an der SAM-Oberfläche adsorbiert, so ist die Desorption im Falle des schlechten Lösungsmittels erschwert, da das Molekül erst wieder die durch die SAM-Wasser-Grenzfläche repräsentierte Barriere passieren muss. Das würde erklären, warum die Desorptionskräfte im Falle des CH₃-SAMs höher sind als auf den anderen SAMs und steht zudem mit im Einklang mit anderen Arbeiten, die sich mit der Struktur des Wassers an der SAM-Wasser Grenzfläche befassen [131-134]. Um den Aspekt des Lösungsmittels genauer herauszuarbeiten, wurden Filmwaagenexperimente durchgeführt¹³, um die Oberflächenenergie von Polyacrylsäure an der Wasser-Luft Grenzfläche zu ermitteln. Es ergab sich ein Wert von $30 \cdot 10^{-3} \text{ J/m}^2$. Die Oberflächenenergie kann folgendermaßen genutzt werden um den Beitrag zur Desorptionskraft abzuschätzen, der sich aus der Lösungsmittelqualität ergibt:

¹³ Diese Messungen wurden von H. E. Gaub durchgeführt.

$$E = \frac{F_{des} \cdot a}{b \cdot a} = \frac{F_{des}}{b} \quad (5.4)$$

a bezeichnet dabei die Länge eines Polymermonomers, b dessen Breite. E beschreibt die Oberflächenenergie eines Monomers. Sie kann mit der ermittelten Oberflächenenergie gleichgesetzt werden. Nimmt man für die Monomerbreite b einen Wert von 5 Å an, so kann man den relevanten Kraftbeitrag abschätzen:

$$F_{des} = \frac{30 \cdot 10^{-3} \text{ J}}{\text{m}^2} \cdot b = 15 \text{ pN} \quad (5.5)$$

Dies ist in guter Übereinstimmung mit der experimentell ermittelten Differenz zwischen dem CH₃-SAM und den anderen beiden SAMs, die zwischen 15 und 20 pN liegt überein.

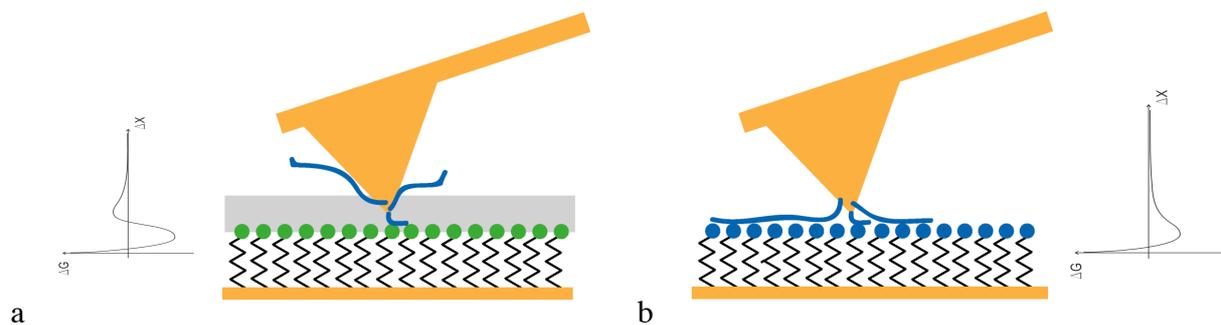


Abbildung 5.11: Adsorption der Polyacrylsäuremoleküle an der SAM-Wasser Grenzfläche.

- Ein schlechtes Lösungsmittel an der Grenzfläche generiert eine Blockade, der die längeren Moleküle ausweichen können und die deshalb vorrangig von den kürzeren Molekülen durchquert wird. In der Potentiallandschaft führt dies zu einer kinetischen Barriere und die Potentialtiefe erhöht sich.
- Ist das Lösungsmittel gut, können die Moleküle ungehindert auf dem SAM adsorbieren.

In Abbildung 5.12 sind die mittleren Desorptionskräfte einzelner Polyacrylsäureketten für eine NaCl Konzentration von 100 mM und variiertem pH-Wert der Lösung für alle drei SAMs aufgetragen. In allen drei Fällen lässt sich keine signifikante pH-Abhängigkeit der mittleren Desorptionskraft erkennen.

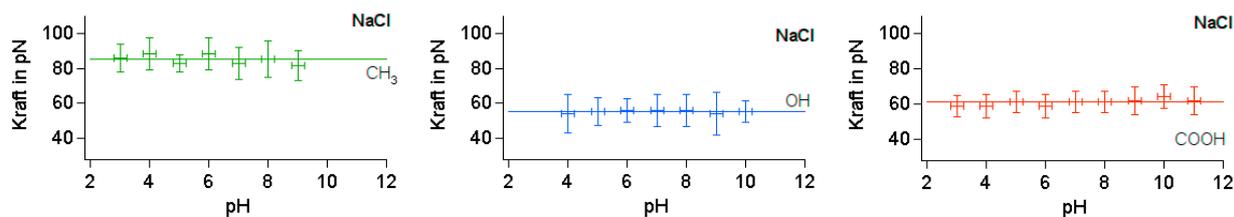


Abbildung 5.12: Mittlere Desorptionskräfte für Polyacrylsäure gemessen auf den drei verschiedenen SAMs bei variierendem pH, 100 mM NaCl in Lösung.

In Abb. 5.13 sind die Ergebnisse für eine Konzentration von 5 mM CaSO_4 und verschiedene pH-Werten dargestellt. Für CH_3 und OH lässt sich auch in diesem Fall keine signifikante pH-Abhängigkeit erkennen, für COOH tritt jedoch in der Desorptionskraft bei pH 8 ein Sprung nach oben von ca. 20 pN auf.

Die pH-Unabhängigkeit der Desorptionskraft für alle drei SAMs mit NaCl in Lösung und für den OH- und den COOH-SAM mit CaSO_4 in Lösung ist für sich genommen ein überraschender Befund. Speziell für den COOH-SAM, der dissoziierbare Kopfgruppen enthält, würde man eine deutliche Abnahme der Desorptionskraft bei höheren pH-Werten vermuten. Eine

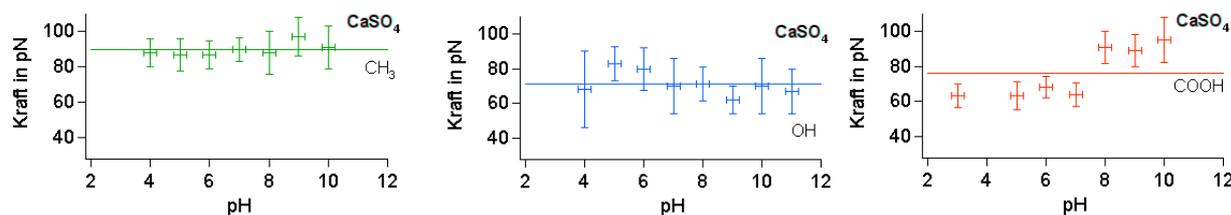


Abbildung 5.13: Mittlere Desorptionskräfte für Polyacrylsäure gemessen auf den drei verschiedenen SAMs bei variierendem pH, 5 mM CaSO_4 in Lösung.

mögliche Erklärung könnte auch hier wieder sein, dass eine Art von Ladungsregulierung auftritt, die den scheinbaren pK_a des COOH-SAMs und der Polyacrylsäure zu höheren Werten verschiebt. Plausibler erscheint der für den COOH-SAM mit CaSO_4 in Lösung beobachtete Sprung der Desorptionskraft hin zu höheren Werten bei pH 8. Dies könnte zum Beispiel durch Salzbrücken zwischen den COO^- -Gruppen der Polyacrylsäure und den COO^- -Gruppen des Substrates erklärt werden, was konsistent wäre mit den vorangegangenen Messungen auf dem CH_3 -SAM und dem ammoniumsilanisierten Silizium, die ebenfalls angedeutet haben, dass Ca-Ionen an die Polyacrylsäuremoleküle binden. Der Sprung bei pH 8 könnte den pK_a -Wert des COOH-SAMs markieren, der eine verstärkte Dissoziation der Carboxylgruppen

auf dem COOH-SAM anzeigt, womit eine Verbrückung der SAM-Moleküle mit den Polyacrylsäuremolekülen möglich wird.

Tauscht man das wässrige Lösungsmittel gegen Ethanol aus, so verschwindet die Adsorption fast vollständig. Geht man wieder zurück zu Wasser, so tritt die Adsorption wieder mit derselben Stärke auf wie bisher. In Abb. sind Kraft-Abstands-Kurven gezeigt, die das reversible „Ab- und wieder Anschalten“ der Wechselwirkung über das Lösungsmittel dokumentieren. In Abbildung 5.14 sind die in Ethanol gefundenen mittleren Desorptionskräfte denen in

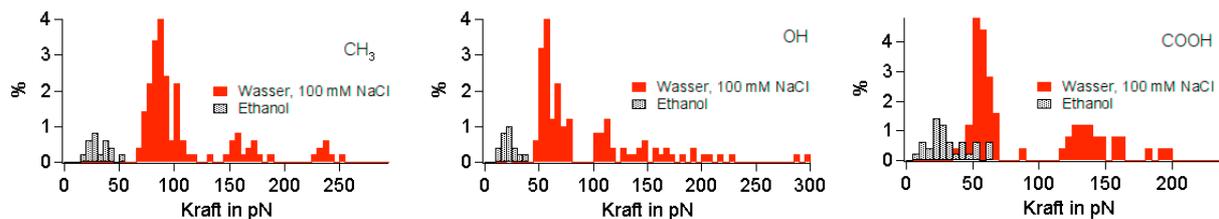


Abbildung 5.14: Desorptionskräftehistogramme für Polyacrylsäure gemessen auf den drei SAMs mit Ethanol bzw. Wasser mit 100 mM NaCl in Lösung.

Wasser mit einer NaCl-Konzentration von 100 mM für alle drei SAMs in einem Histogramm vergleichend gegenüber gestellt.

Das radikale Absinken der Desorptionskraft in Ethanol stellt einen weiteren Lösungsmittelfekt dar. Dieser Befund könnte ein Hinweis darauf sein, dass die wesentlichsten Beiträge zur Desorptionskraft hydrophoben Ursprungs sind, da diese in Ethanol verschwinden, während andere Wechselwirkungen wie van-der-Waals oder H-Brücken sich in Ethanol genauso wie in Wasser ausbilden können. Andere Arbeiten, stützen diesen Befund, die die Adsorption von Polyallylamin auf SAMs vorwiegend hydrophoben Beiträgen zuschreiben, die über das Kohlenstoffrückgrat des Polymers vermittelt werden [135]. Insgesamt muss aber bedacht werden, dass sich mit dem Wechsel des Lösungsmittels sehr viele Rahmenbedingungen der Adsorption verändern, weshalb weitergehende Messungen erforderlich wären, um diesen Effekt zu erklären.

5.3 Koordinative Wechselwirkungen

Amine sind im nichtprotonierten Zustand in der Lage, koordinative Bindungen mit Metallen einzugehen. Um einen Zugang zu dieser Art von Wechselwirkung zu finden wurden deshalb Messungen mit Polyallylamin auf Gold durchgeführt. In Abbildung 5.15 ist die Ausbildung

der Komplexbindung illustriert und es werden Möglichkeiten aufgezeigt, wie die Komplexbindung nachgewiesen werden könnte.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden nur die Auswirkungen einer pH-Änderung untersucht. Um die Rahmenbedingungen für das Auftreten dieser Wechselwirkung besser herauszuarbeiten und eine Abgrenzung von elektrostatischen Beiträgen zu erzielen wurden diese Messungen mit unterschiedlichen Ionen, nämlich NaCl, Na₂SO₄, MgCl und MgSO₄ durchgeführt für die jeweils die Salzkonzentrationen in Lösung bei pH 6 und der pH bei konstanter Salzkonzentration variiert wurden.

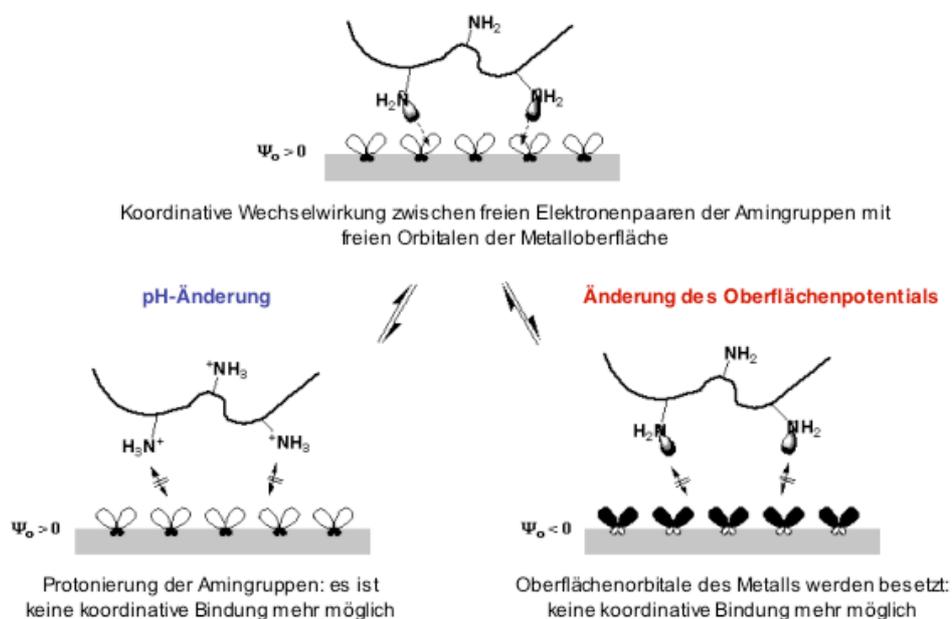


Abbildung 5.15: Ausbildung von koordinativen Bindungen zwischen Aminen und einer Goldoberfläche und Möglichkeiten, die koordinative Wechselwirkung „auszuschalten“.

Im folgenden sind exemplarisch die Ergebnisse einer Messreihe mit Polyallylamin auf Gold dargestellt, die wiederum mit ein und derselben AFM-Spitze durchgeführt wurden um eine unmittelbare Vergleichbarkeit zu gewährleisten und der folgender Ablauf zu Grunde liegt: Zunächst wurde die Konzentration von NaCl variiert (5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM und 100 mM) und im Anschluß daran wurde bei einer konstanten NaCl Konzentration von 100 mM der pH-Wert von 3 bis 10 variiert. Daraufhin wurde analog dazu eine Messreihe mit Na₂SO₄ in Lösung durchgeführt. Im Anschluss daran wurde das Salz gegen MgSO₄ ausgetauscht, wobei mit den Konzentrationen 0.05 mM, 0.1 mM, 0.5 mM, 1 mM und 5 mM gemes-

sen wurde. Mit der höchsten Konzentration von 5 mM wurde wiederum der pH von 3 bis 10 variiert. Abschließend wurden noch Messungen mit MgCl_2 gemacht, die demselben Ablaufschema folgen wie die Messungen mit MgSO_4 .

In Abbildung 5.16 sind die für die verschiedenen Konzentrationen der vier Salze bestimmten mittleren Desorptionskräfte gegen ihre Debyelänge aufgetragen. Im Falle von NaCl , MgSO_4 und MgCl_2 sinkt die Kraft mit der Debyelänge ganz leicht ab, für Na_2SO_4 steigt sie dagegen an.

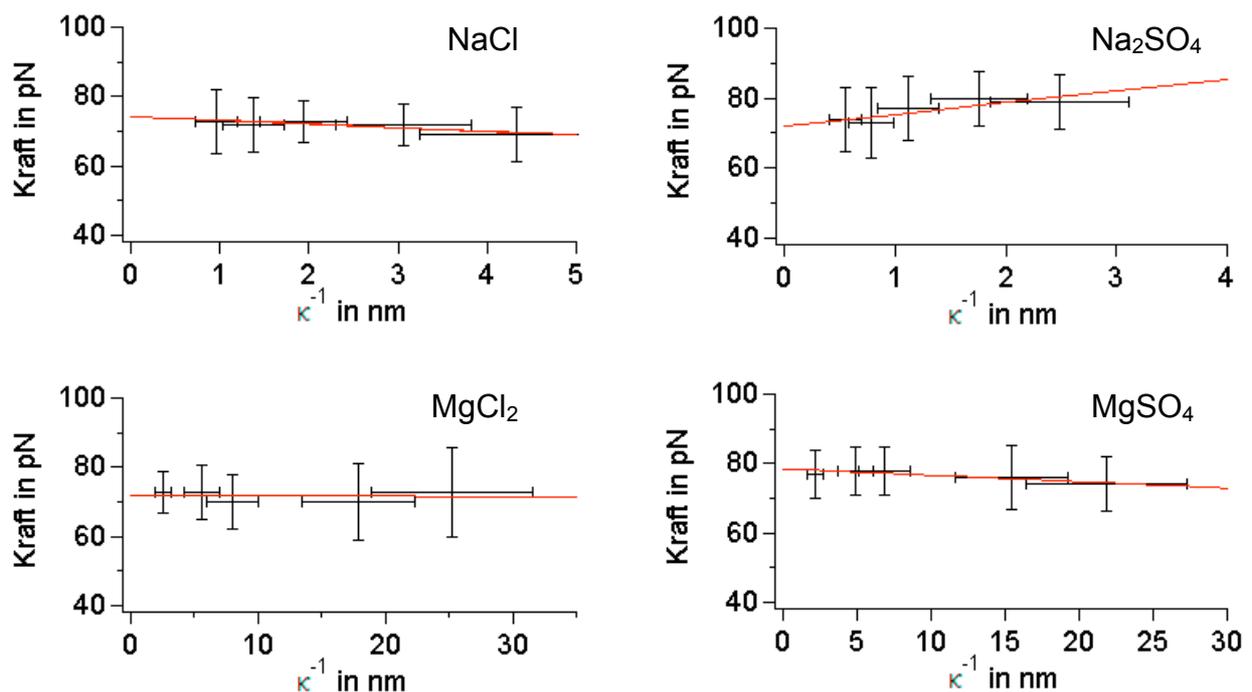


Abbildung 5.16: Desorptionskräfte von Polyallylamine auf Gold aufgetragen gegen κ^{-1} für verschiedene Salze in Lösung.

Ein interessanter Effekt zeichnet sich ab, wenn man die Ergebnisse für die Chloride und die Ergebnisse für die Sulfate jeweils zusammenfasst (Abbildung 5.17): Im Falle der Chloride bleibt die mittlere Desorptionskraft über den ganzen Bereich der betrachteten Salzkonzentrationen konstant. Für die Sulfate kann man dagegen in dieser zusammenfassenden Darstellung einen mit der Salzkonzentration leicht ansteigenden, einen (sehr schmalen) konstanten Bereich und einen mit bei höherer Salzkonzentration abfallenden Bereich unterscheiden. Dies gibt einen deutlichen Hinweis darauf, dass sich die Sulfat-Ionen auf der Goldoberfläche ablagern und das Oberflächenpotential hin zu leicht negativen Werten verschieben was speziell für zweiwertige Ionen ein bekannter Effekt ist [136-138]. Bei niedrigen Salzkonzentrationen lagern sich die Sulfat-Ionen nach und nach auf der Goldunterlage ab, generieren dabei eine in ihrer Stärke wachsende anziehende Wechselwirkung zwischen Polyallylamin und der Ober-

fläche. In dem Konzentrationsbereich, in dem die Goldunterlage komplett mit Sulfationen abgesättigt ist, bleibt die Desorptionskraft annähernd konstant. Danach setzt Abschirmung der anziehenden Wechselwirkung durch die hinzukommenden Ionen ein, die dazu führt, dass die Desorptionskraft wieder sinkt.

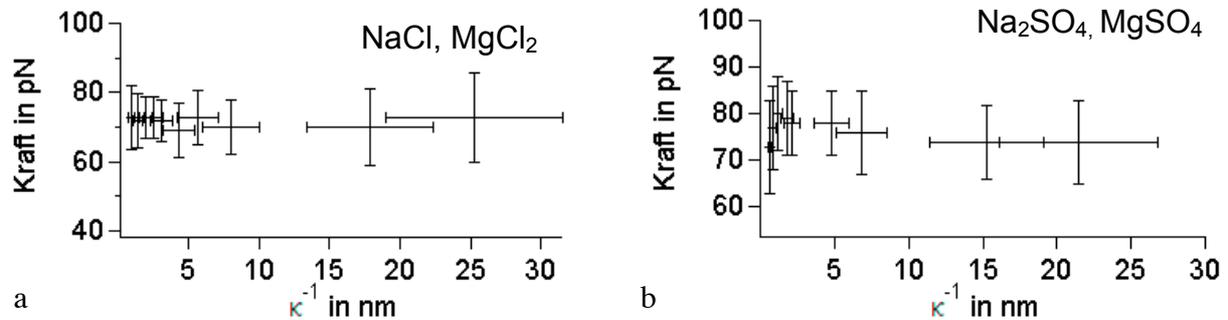


Abbildung 5.17: Desorptionskräfte von Polyallylamine auf Gold aufgetragen gegen κ^{-1} für Chloride und Sulfate.

Um aus den gewonnenen Messdaten eine Isotherme zu gewinnen, kann man folgende Abschätzung machen: Geht man von größeren zu kleineren Werten für die Debyesche Abschirmlänge, so steigt die Adsorptionskraft zunächst bis zu einem Maximalwert von ca. 80 pN an. Diesen Maximalwert kann man einem maximalen Bedeckungsgrad, der in erster Näherung zu 1 angenommen werde, zuordnen. Bei kleineren Abschirmlängen schliesst sich ein Bereich an, in dem die Kraftwerte wieder fallen. Nimmt man an, dass die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Polymer und Oberfläche allein durch die Sulfationen bestimmt ist¹⁴, dann lässt sich der Schnittpunkt mit der y-Achse (ca. 67 pN), der einen Zustand ohne elektrostatische Wechselwirkungen repräsentiert einem Bedeckungsgrad von 0 zuordnen. Der elektrostatische Beitrag der Sulfationen lässt sich damit zu

$$F_{\text{des}}^{\text{el}} = 13\text{pN} \cdot \kappa \quad (5.6)$$

abschätzen, wenn man annimmt, dass der elektrostatische Kraftbeitrag linear mit der Zahl der adsorbierten Sulfationen steigt. Man kann damit den gemessenen Kraftunterschieden einen Bedeckungsgrad κ zuordnen. Trägt man $\kappa/(1-\kappa)$ gegen die Sulfationenkonzentration c_i^b auf, so

¹⁴ Dies ist üblicherweise nicht der Fall. Vernachlässigt wurde hier sowohl das Oberflächenpotential von Gold, als auch der anderer möglicher Adsorbate, wie z. B. Wasserdipole. Ebenfalls außer Betracht gelassen wurde die Möglichkeit, dass Sulfationen auch an die Polyallylaminketten binden könnten, was zusätzliche repulsive elektrostatische Beiträge zur Folge hätte. Die hier gemachte Näherung muss von daher als sehr grob angenommen werden.

erhält man gemäß Gleichung 3.39 eine Langmuir-Isotherme, die einen linearen Zusammenhang beschreibt. Das Ergebnis ist in Abbildung 5.18 a dargestellt. Die Frumkin-Isotherme (Gleichung 3.40) lässt sich einfach auswerten, indem man sie umformt zu:

$$\ln \frac{\theta}{(1-\theta)c_i^b} = \ln \theta_i + 2g\theta \quad (5.7)$$

Sie beschreibt dann ebenfalls einen linearen Zusammenhang, wenn man $\ln(\theta/(1-\theta)c_i^b)$ gegen θ aufträgt, anhand dessen sich die Adsorptionsenergie und die Wechselwirkungsenergie der adsorbierten Ionen ermitteln lassen. Das Ergebnis ist in Abbildung 5.18 b dargestellt.

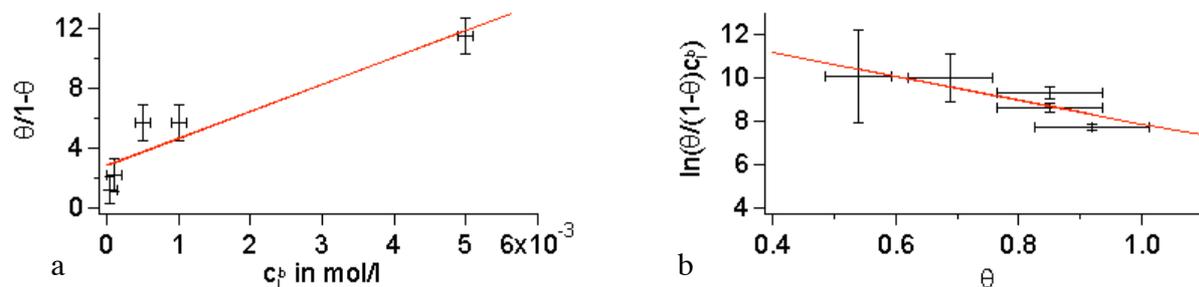


Abbildung 5.18: Aus 5.17 b gewonnene Adsorptionsisothermen

- a) Langmuir-Isotherme
- b) Frumkin-Isotherme

Aus der Steigung der Langmuir-Isotherme lässt sich die Adsorptionenthalpie der Sulfationen zu $7.49 RT$ bestimmen, was ungefähr $18,7 \text{ kJ/mol}$ entspricht. Die Frumkin-Isotherme berücksichtigt Wechselwirkungen zwischen den adsorbierten Ionen. Die negative Steigung besagt zunächst, dass die Wechselwirkungsenergie zwischen den Sulfationen repulsiver Natur ist, was man vernünftigerweise für die zweifach negativ geladenen Ionen auch erwarten würde. Für den Wechselwirkungsparameter g ergibt sich ein Wert von $2,7$. Die Adsorptionsenergie ist mit $13,35 RT$ ($35,4 \text{ kJ/mol}$) etwa doppelt so groß wie der für die Langmuir-Isotherme bestimmte Wert.

Die hier gemachte Abschätzung ist sehr grob und zeigt eher exemplarisch, wie eine Analyse aussehen könnte, wenn detailliertere Informationen über den Bedeckungsgrad und den mit der Sulfatbedeckung einhergehenden elektrostatischen Kraftbeitrag bekannt wären. Nichtsdestotrotz liegen die mittels der beiden Adsorptionsisothermen ermittelten Adsorptionsenergien in einem durchaus vernünftigen Bereich.

Auch bei den Messungen mit variiertem pH-Wert zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen Chloriden und Sulfaten (Abbildung 5.19):

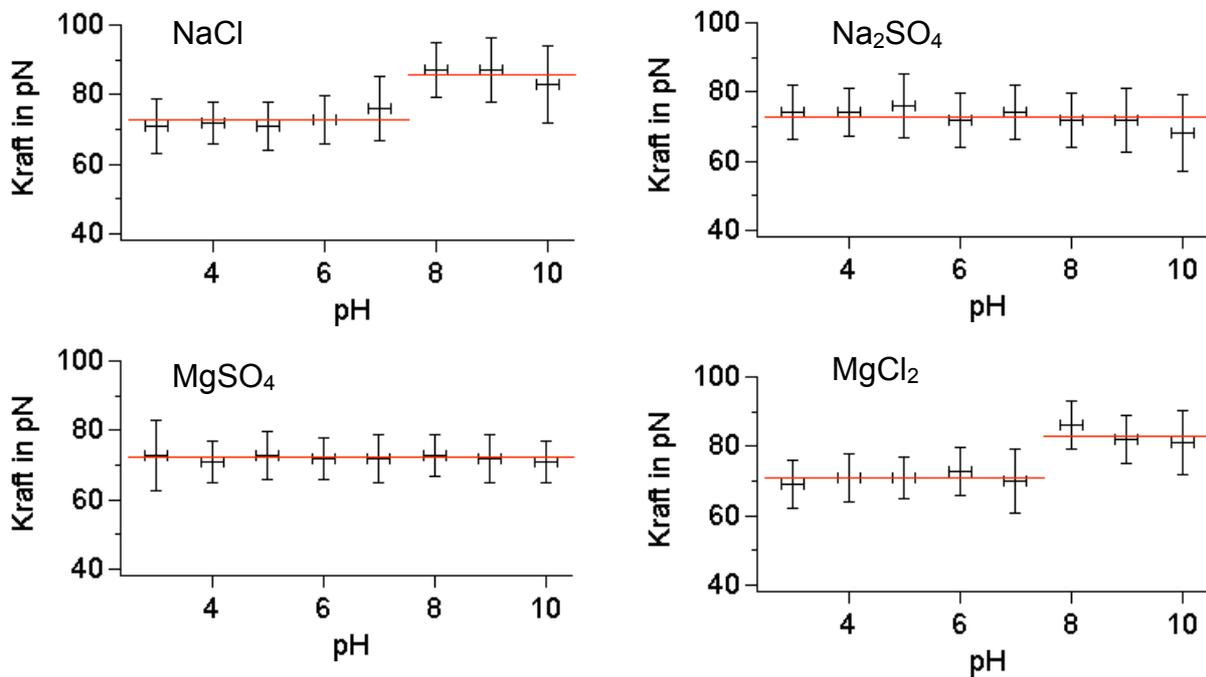


Abbildung 5.19: Desorptionskräfte von Polyallylamine auf Gold bei variiertem pH für verschiedene Salze konstanter Konzentration in Lösung (100 mM NaCl, 100 mM Na₂SO₄, 5 mM MgSO₄, 5 mM MgCl₂).

Im Falle von NaCl bleibt die Desorptionskraft zunächst mit wachsendem pH konstant, bis sich beim Wechsel von pH 7 zu pH 8 ein Sprung von ca. 13 pN ergibt. Für die pH-Messungen mit Na₂SO₄ findet man eine konstante Desorptionskraft. Der Sprung bei pH 8 ist verschwunden. Zu demselben Ergebnis kommt man im Fall des MgSO₄. Misst man im Anschluss daran mit MgCl₂, so taucht der Sprung wieder an derselben Stelle und mit voller Stärke auf. Anhand der zuvor vorgenommenen Messungen mit verschiedener Salzkonzentration kann abgeschätzt werden, dass sich die Adsorptionskraft durch Elimination der elektrostatischen Wechselwirkung (im Fall der Chloride) nur bis zu einem Wert bis zu ca. 74 pN steigern lässt. Die beobachtete Kraftzunahme bei pH 8 liegt jedoch entscheidend höher und muss eine andere Ursache haben, wofür nahe liegend die für hohen pH erwarteten koordinativen Wechselwirkungen zwischen Polyallylamin und Gold in Frage kommen. Theoretische Arbeiten von Bilic [139,140] et al. ergeben für die Bindung einer Aminogruppe an eine Au (111)-Oberfläche eine Bindungsstärke von ca. 34 kJ/mol. Über

$$F_{\text{des}}^{\text{koord}} = \frac{34 \text{ kJ/mol} \cdot N_{\text{A}}}{a} \quad (5.8)$$

lässt sich der Kraftbeitrag pro Monomerlänge a abschätzen, wobei N_A die Avogadrokonstante repräsentiert. Für eine Monomerlänge von 0,25 nm ergibt sich damit ein Kraftbeitrag von 225 pN, was etwa das 17-fache des gemessenen Wertes darstellt. Folgende Aspekte könnten herangezogen werden, um diese Differenz zu erklären: Zum einen muss berücksichtigt werden, dass der berechnete Wert für die Bindungsstärke für Vakuum gilt, in Lösung kann die Bindungsstärke von diesem Wert erheblich abweichen. Weiter wird in dem hier beschriebenen Desorptionsexperiment lediglich der Unterschied der Bindungsstärke für den Übergang von $-\text{NH}_3^+$ nach $-\text{NH}_2$ gemessen, der nicht zwingend dem oben angegebenen Wert für die Bindungsstärke der koordinativen Bindung entsprechen muss. Bedenkt man weiterhin, dass eine koordinative Bindung gerichtet ist und sich nur mit einer ganz bestimmten Geometrie der beteiligten Moleküle ausbildet, dann muss nicht erwartet werden, dass sich auch alle möglichen Komplexbindungen wirklichlich ausbilden, wenn die Amine an einem Polymer gebunden sind, dass die Beweglichkeit der Amine einschränkt. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung 5.20 illustriert.

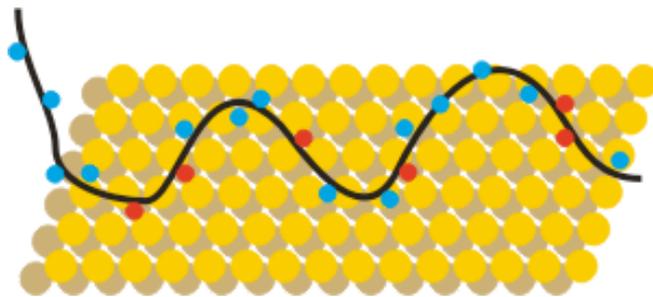


Abbildung 5.20: Polyallylamine auf einer Goldoberfläche. Die Konformation des Polymers bedingt, dass nur ein Bruchteil der Amingruppen (rot) an den möglichen Bindungsstellen in die richtige Geometrie findet, so dass nur ein Bruchteil der koordinativen Bindungen ausgebildet werden kann.

Dieser Effekt wird weiter verstärkt durch Unregelmäßigkeiten und Verunreinigungen der Goldoberfläche. Nimmt man an, dass die oben angeführte Abschätzung eine Obergrenze für den zu erwarteten zusätzlichen Kraftbeitrag darstellt, so würde dies bedeuten, dass mindestens jede 17. Amingruppe eine koordinative Bindung ausbildet, was einen durchaus realistischen Wert darstellt.

Die Tatsache, dass kein Sprung im Beisein von Sulfaten beobachtet werden kann bedeutet, dass sich diese Art von Wechselwirkung auf der sulfatbedeckten Oberfläche nicht ausbilden kann. Nimmt man den oben anhand der Frumkin-Isotherme bestimmten Wert von 35,4 kJ/mol als grobe Abschätzung für die Adsorptionsenergie der Sulfationen auf der Goldoberfläche, dann kann man daraus folgern, dass die Adsorptionsenergien für die Sulfationen und die koordinativen Wechselwirkungen von derselben Größenordnung sind, was erklären würde, warum man für den Fall der Sulfationen letztendlich keine koordinativen Bindungen mehr

beobachtet, wenn man die oben diskutierten Rahmenbedingungen für deren Ausbildung mitberücksichtigt. Dies wird gestützt durch Messungen von Futamata, der über ATR-IR-Spektroskopie zeigen konnte, dass Bipyridine im Beisein von Sulfaten nicht unmittelbar an die Goldoberfläche binden, sondern erst in der zweiten Schicht über ihre Stickstoffatome bzw. NH^+ -Gruppen (je nach pH) an die Sulfationen adsorbieren [141].

In keiner der vier Messungen mit variiert Salzkonzentration konnte die in Abschnitt 3.2.1.3 für Metalle vorhergesagte über Spiegelladungen vermittelte attraktive Wechselwirkung nachgewiesen werden. Im Falle der Sulfate kann dies einfach dadurch erklärt werden, dass die Polymere erst in der zweiten Schicht adsorbieren und die Bedingung $\square \bullet$ nicht gegeben ist. Die Tatsache, dass diese Wechselwirkung auch im Falle der Chloride nicht beobachtet werden kann, deutet darauf hin, dass auch hier Ionenadsorption stattfindet. Hinweise dafür lassen sich ebenfalls in anderen Arbeiten finden [90,141,142]. Wertet man die hier vorgestellten Messungen unter diesem Aspekt aus, so kann gefolgert werden, dass die Chloride zwar möglicherweise an die Goldoberfläche adsorbieren, diese jedoch nicht umladen, da für verschiedene Salzkonzentrationen keine signifikanten Änderungen in der Desorptionskraft beobachtet werden können (Abbildungen 5.17, 5.18). Die Tatsache, dass sich anders als im Fall der Sulfate, koordinative Bindungen ausbilden können (Abbildung 5.19), würde dann bedeuten, dass die Chlorid-Ionen weniger fest an die Goldoberfläche gebunden sind als die Sulfat-Ionen und sich deshalb leichter verdrängen lassen.

Insgesamt kann gesagt werden, dass die Tatsache, dass prinzipiell Adsorptionsprozesse beobachtet werden können, die Möglichkeiten der Polymeradsorption als Analysemethode um einen neuen Aspekt erweitert hat. Es bleibt jedoch zu erforschen, in welchem Rahmen sich der Anwendungsbereich der Methode erstreckt, was eine Anregung zu weitergehenden Messungen darstellt. Dasselbe gilt auch für den Aspekt der koordinativen Wechselwirkungen. Hier geht es vor allem darum, weitere Beispiele zu identifizieren, die dann zum Vergleich herangezogen werden können.

5.4 Intermolekulare Wechselwirkungen

In den Desorptionskräftehistogrammen bestimmter Systeme können wiederholt in den Mehrfachpeaks gegenüber dem entsprechenden mehrfachen des Einfachpeaks stark reduzierte Kraftwerte beobachtet werden.

Exemplarisch soll dieser Effekt hier für das System DNA-Mica mit MgSO_4 in Lösung diskutiert werden. Die über PCR hergestellte DNA hat eine definierte Länge von 360 nm mit nur

einer Bindungsstelle zur AFM-Spitze an einem Ende der Kette. Deshalb sollten die Polymere an der Spitze keine Loops bilden und je nach ihrer Anbindungsstelle in ihrer vollen Länge oder in einer aufgrund der Spitzengeometrie reduzierten Länge (wenn die Moleküle an der Flanke der Spitze angebunden sind) für die Adsorption zur Verfügung stehen. Mica ist ein atomar flaches Substrat, das unmittelbar vor dem Experiment gespalten wird und damit in sehr sauberem Zustand in das Experiment eingebracht wird. Insgesamt ist dieses Experiment damit sehr klar definiert und damit als Modellsystem zum Studium des oben beschriebenen Effektes in besonderem Maße geeignet.

Erwartungsgemäß war es bei diesem System besonders einfach, die Desorption einzelner individueller Moleküle zu studieren. Abbildung 5.21 zeigt ein 3D-Bild bei dem auf der x-Achse die Länge des Moleküls und auf der y-Achse die Kurvennummer aufgetragen sind. Die Kraft ist über die Farbe kodiert (siehe Kapitel 4.3).

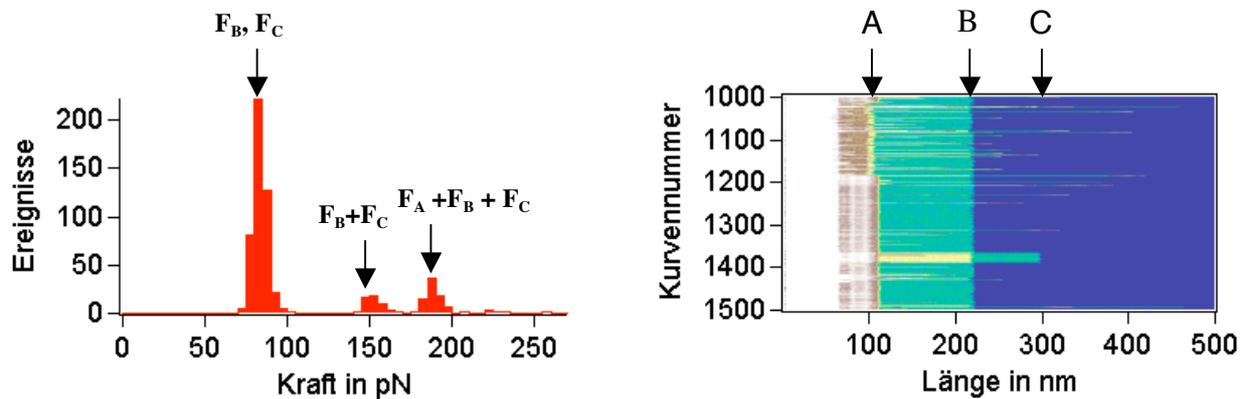


Abbildung 5.21: Desorptionskräftehistogramm und 3D-Plot für DNA gemessen auf Mica mit 1 mM $MgSO_4$ in Lösung.

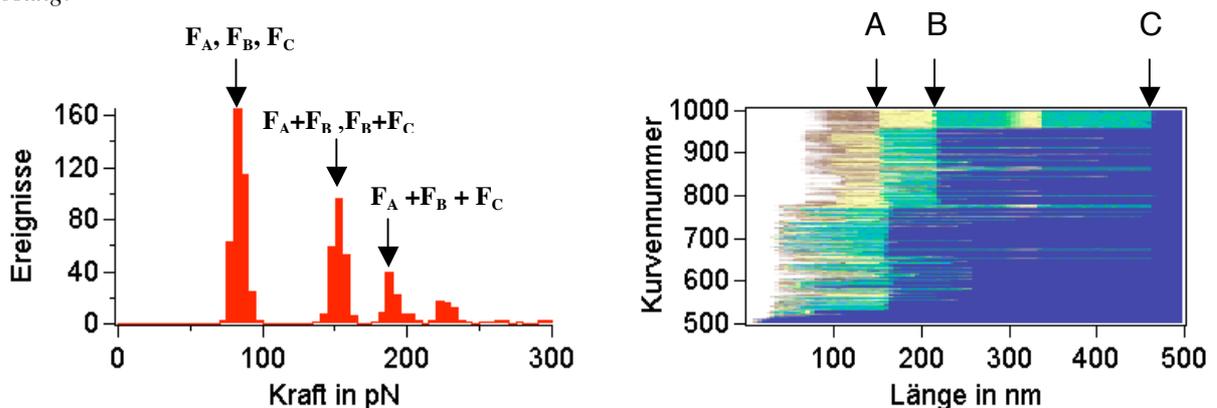


Abbildung 5.22: Desorptionskräftehistogramm und 3D-Plot für DNA gemessen auf Mica mit 0,5 mM $MgSO_4$ in Lösung.

Die verwendete Farbskala reichte dabei von 0-500 pN, die genaue Zuordnung zu Kraftwerten lässt sich der beigefügten Legende entnehmen, grob gesagt entspricht blau dem Nullniveau, grün dem ersten Peak im Histogramm der Desorptionskräfte, gelb dem zweiten Peak, braun

dem dritten Peak und weiß allen darüber liegenden Kraftwerten. Aus der Abbildung kann man entnehmen, dass man während der dargestellten 500 Kurven im wesentlichen zwei verschiedene Moleküle desorbiert, nämlich ein kürzeres (B) mit einer Länge von 230 nm und ein längeres (C) von 300 nm, das im oberen Drittel auftaucht und parallel zu dem anderen desorbiert wird. Der Bereich in dem die Moleküle sich überlagern, ist gelb und entspricht damit dem Kraftbereich des zweiten Peaks im Histogramm der Desorptionskräfte.

In Abbildung 5.22 ist ein Satz von 500 Kraftkurven gezeigt, in dem man neben der Überlagerung von zwei auch die Überlagerung von drei Molekülen beobachten kann, die sich über die Farbskala dem dritten Peak im zugehörigen Desorptionskräftehistogramm zuordnen lässt. Neben den Überlagerungen gibt es in beiden Darstellungen auch Bereiche finden, in denen die beteiligten Moleküle einzeln desorbiert werden. In diesem Fall liegen sie alle in dem Kraftbereich, der zum ersten Peak im zugehörigen Desorptionskräftehistogramm gehört.

Insgesamt lässt sich also folgern: Die jeweiligen Peaks in den Desorptionskräftehistogrammen lassen sich eindeutig der Desorption von einem, zwei, drei usw. Molekülen zuordnen. Werden die Moleküle einzeln desorbiert, so liegen die Desorptionskräfte alle im selben Kraftbereich, gleiches gilt auch, wenn man die Desorptionskräfte für Überlagerung von mehreren Molekülen miteinander vergleicht. Werden zwei Moleküle parallel desorbiert, so ist die zugehörige Desorptionskraft ungleich der Summe der Einzeldesorptionskräfte der beiden Moleküle. Die Differenz beträgt etwa 20 pN. Im Fall von drei Ketten, die parallel desorbiert werden ist die Differenz zur Summe der drei Einzelkräfte mit ca. 70 pN noch ausgeprägter. Diese Reduktion der Desorptionskräfte könnte durch Wechselwirkungen der einzelnen Ketten miteinander be-

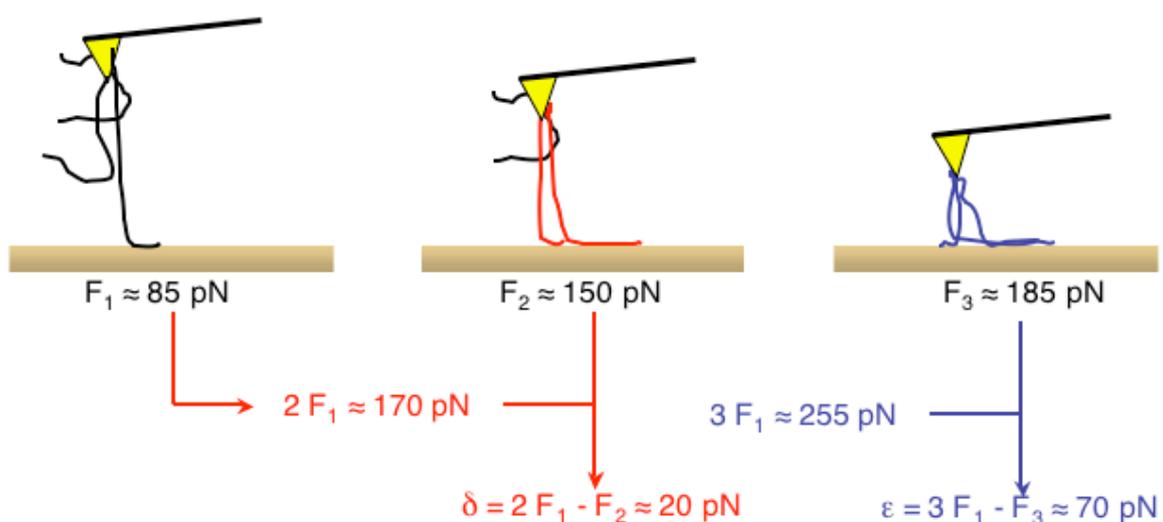


Abbildung 5.23: Auswertung der beobachteten Desorptionskräfte zur Abschätzung der beteiligten Wechselwirkungsenergien.

dingt sein. Im Falle von zwei parallel desorbierten Ketten kann dabei eine Wechselwirkung zwischen zwei DNA-Molekülen auftreten, die die Desorptionskraft reduziert und damit die Differenz von 20 pN erklären könnte. Im Falle von drei Ketten, sind drei derartige intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Ketten möglich, was die Differenz von ca. 70 pN erklären könnte. Diese Wechselwirkung zwischen den Ketten könnte durch Mg-Ionen vermittelt werden, die die DNA-Moleküle verbinden können [143-147].

Derartig reduzierte Desorptionskräfte im Fall der Mehrfachadsorption findet man auch für zahlreiche andere Systeme mit mehrwertigen Ionen in Lösung, z. B. für Polyacrylsäure desorbiert von Glass mit CaSO_4 in Lösung (Kapitel 5.5) oder wie bereits oben beschrieben für Polyacrylsäure desorbiert von aminofunktionalisierten Silizium mit CaCl_2 oder CaSO_4 (Kapitel 5.1.2) in Lösung.

Es kann jedoch nicht gesagt werden, dass diese Wechselwirkungen immer auftauchen, wenn mehrwertige Ionen in Lösung sind, auch wenn die untersuchten Moleküle über diese Ionen vernetzt werden können. Ein Gegenbeispiel ist in Abbildung 5.24 a gezeigt, bei dem mit Polymethacrylsäure auf einem OH-SAM mit CaSO_4 in Lösung gemessen wurde und bei dem keine Kraftreduktion der Mehrfachereignisse beobachtet werden konnte.

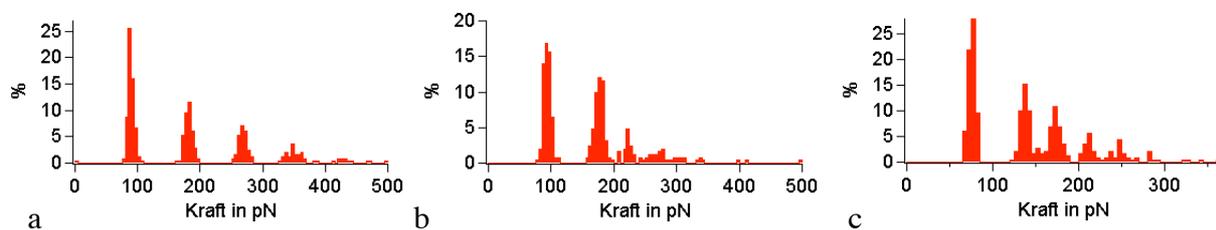


Abbildung 5.24: Weitere Beispiele von Desorptionshistogrammen für:

- Polymethacrylsäure auf einem OH-SAM, mit CaSO_4 in Lösung, bei dem keine kraftreduzierten Mehrfachpeaks gefunden wurden.
- Polymethacrylsäure auf einem CH_3 -SAM mit NaCl in Lösung mit kraftreduzierten Mehrfachpeaks.
- Polyallylamine auf Gold mit kraftreduzierten Mehrfachpeaks.

Andererseits ist es auch nicht so, dass man nur mit zweiwertigen Ionen in Lösung reduzierte Mehrfachpeaks für die Desorptionskräfte findet, in manchen Fällen konnten sie auch mit NaCl in Lösung beobachtet werden, z. B. bei Messungen mit Polymethacrylsäure auf einem CH_3 -SAM oder Polyallylamine auf Gold (Abbildung 5.24 b und c). Weiterführende Studien wären also von Nöten, um herauszufinden, um welche Arten von Wechselwirkungen es sich handelt und unter welchen Umständen sie beobachtet werden können.

5.5 Übergang vom Gleichgewicht zum Nichtgleichgewicht

Misst man mit Polyacrylsäure und NaCl in Lösung auf Glas oder Gold, so findet man anders als in allen anderen hier vorgestellten Beispielen Abrisse und nur in seltenen Ausnahmefällen gehäuft Desorptionsplateaus. Dies zeigt, dass Desorptionsmessungen mit Polyelektrolyten nicht ausnahmslos im thermischen Gleichgewicht stattfinden, sondern dass man in manchen Fällen auch Ungleichgewichtsbedingungen vorfindet. Da dies ein sehr interessantes Phänomen ist, wurden ausführliche Messungen mit Polyacrylsäure auf Glas und Gold analog zu den bisher vorgestellten (variierte NaCl-Konzentration bei neutralem pH und variiertes pH bei konstanter Salzkonzentration) durchgeführt.

In Abbildung 5.25 sind exemplarisch drei Kraftkurven von Polyacrylsäure auf Gold für 5 mM, 10 mM und 100 mM NaCl bei pH 6 gezeigt, die für die jeweilige Salzkonzentration als repräsentativ angesehen werden können. Die Kraftabstandskurve für 5 mM NaCl zeigt sehr viele kurze Abrissstrukturen, die kurz aufeinanderfolgen. Diese sind auch in der Kraftabstandskurve für 10 mM NaCl vorhanden, im Anschluss daran kommen aber gehäuft sehr lange glatte Polymerdehnkurven. Bei 100 mM NaCl beobachtet man fast ausschließlich sehr glatte Kurven, die jedoch generell kürzer sind als im Fall von 10 mM NaCl.

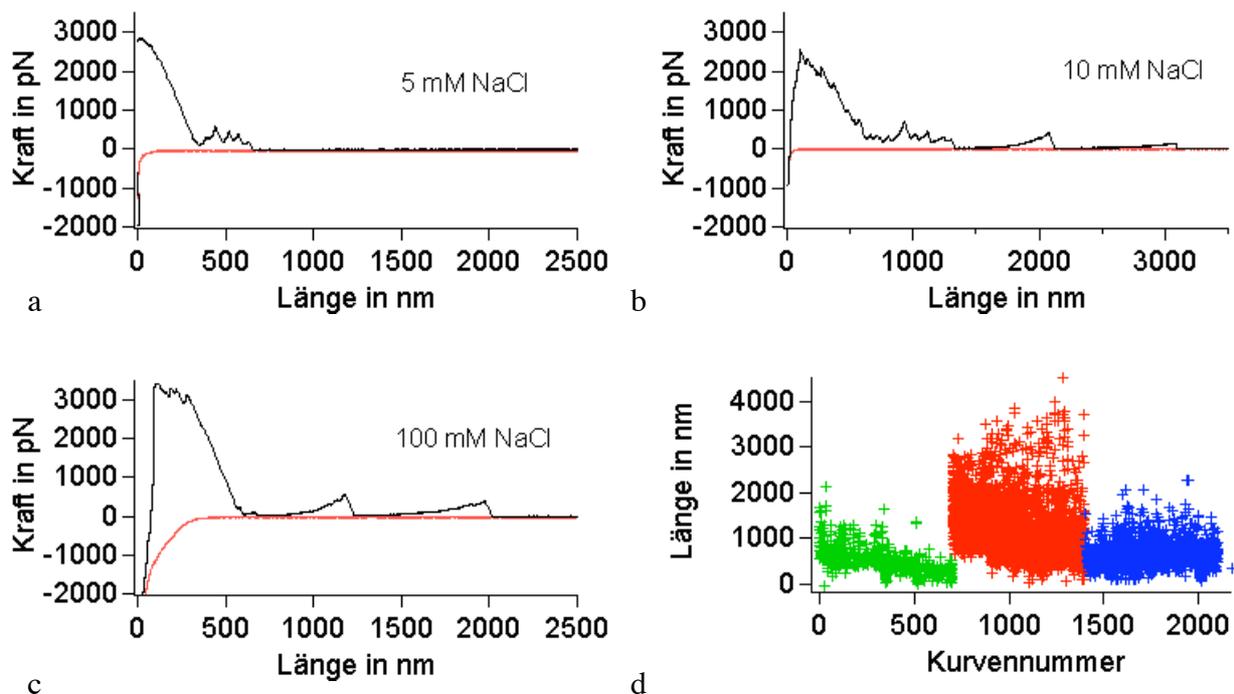


Abbildung 5.25: Messungen mit Polyacrylsäure auf Gold mit NaCl in Lösung.

- a) - c) Repräsentative Kraft-Abstandskurven für verschiedene Salzkonzentrationen.
 d) Abrisslängen, aufgetragen gegen ihre Kurvennummer für verschiedene NaCl-Konzentrationen (0-750: 5 mM NaCl, 750-1250: 10 mM NaCl, 1250-2000: 100 mM NaCl.)

In Abbildung 5.25 d sind die Abrisslängen gegen ihre Kurvennummer aufgetragen. Deutlich lässt sich erkennen, dass beim Wechsel von 5 mM zu 10 mM NaCl neben den kurzen Abrissen, die man für eine Salzkonzentration von 5 mM ausschließlich beobachtet, abrupt auch sehr lange Abrisslängen auftreten. Für 100 mM werden die maximalen Abrisslängen dann wieder kürzer. Interessant ist, dass die Übergänge sehr scharf sind. Der Wechsel des Lösungsmittels wirkt wie ein Schalter für die beobachteten maximalen Abrisslängen.

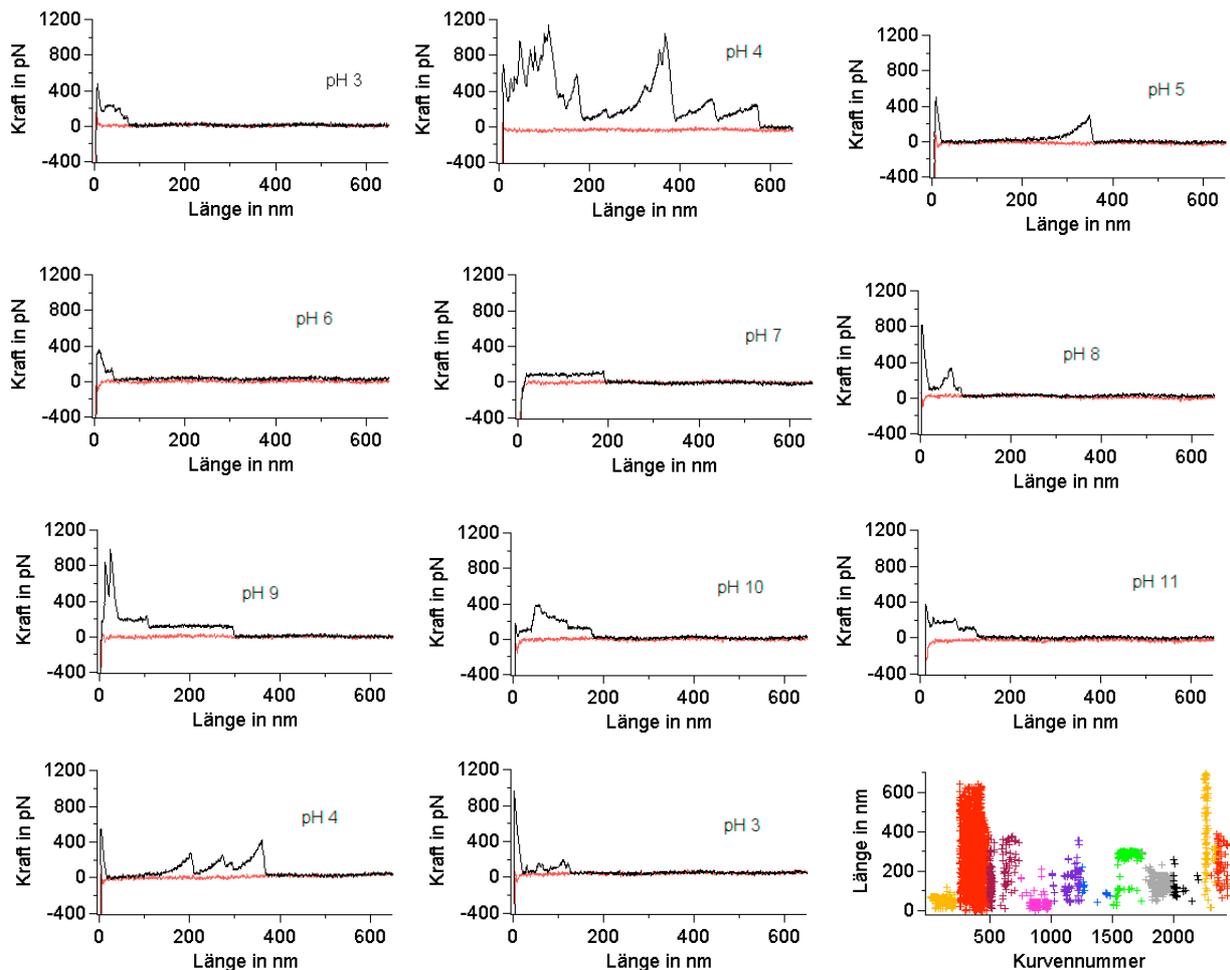


Abbildung 5.26: Repräsentative Kraftabstandskurven für Polyacrylsäure gemessen auf Gold bei variiertem pH und konstanter NaCl-Konzentration (5 mM) und Diagramm der Abriss-/Plateaulängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer. Die Anordnung der Kraft-Abstandskurven spiegelt die Abfolge des Experimentes wider. Von pH 3 bis pH 11 wurden zunächst 250 Kurven pro pH-Wert aufgenommen. Danach (ab Kurve 2250) wurden noch einmal je 100 Kurven für pH 4 und pH 3 aufgenommen, um die Reversibilität des Prozesses zu prüfen.

In Abbildung 5.26 sind wiederum repräsentativ Kraftkurven gezeigt, die den Verlauf einer Messung mit Polyacrylsäure auf Gold und variiertem pH (von pH 3-10 und im Anschluss daran wieder mit pH 4 und 3, jeweils mit 5 mM NaCl in Lösung) illustrieren. Man sieht für pH 3-5 ein ähnliches Verhalten wie für die zuvor diskutierten Messungen mit variiertem Salzkonzentration. Ab pH 6 tauchen überraschenderweise Desorptionsplateaus auf, die zunächst sehr selten sind, mit steigendem pH jedoch gehäuft werden. Um die Reversibilität dieses

Übergangs vom Ungleichgewicht ins Gleichgewicht zu überprüfen, wurden nach pH 11 noch einmal Messungen mit pH 4 und pH 3 gemacht, bei denen wieder Kurven mit Abrissen beobachtet wurden, die den eingangs gemessenen sehr ähnlich waren. Die Abriß- bzw. Plateaulängen wurden wiederum gegen ihre Kurvennummer aufgetragen. Das Ergebnis ist ebenfalls in Abbildung 5.26 gezeigt. Passend zu der Form der Kraftkurven kann bei pH 3-5 ein ähnliches Schaltverhalten beobachtet werden wie für die Messungen mit variiert Salzkonzentration. Die Plateaulängen werden tendentiell mit zunehmendem pH-Wert länger. Deutlich erkennbar ist nach pH 11 das „Umschalten“ auf pH 3: Die Polymere werden wieder bis zu der bei pH 4 beobachteten Maximallänge abgezogen. Bei den anschließenden Messungen mit pH 3 werden die Abrisse wieder kürzer. Das deutet darauf hin, dass der beobachtete Prozess prinzipiell reversibel ist.

In Abbildung 5.27 sind Kraftkurven für eine Messung mit Polyacrylsäure auf Glas mit variiert NaCl-Konzentration gezeigt, die analog zur oben gezeigten Messung auf Gold durchgeführt wurde. Im Prinzip können sehr ähnliche Phänomene beobachtet werden. Man findet wieder für 5 mM und 10 mM NaCl im vorderen Bereich kleine Abrissstrukturen, die im Fall von 10 mM von sehr glatten langen Polymerkurven begleitet werden. Für 100 mM findet man wiederum fast ausschliesslich glatte Polymerkurven, deren Länge i. allg. kürzer ist als für 10

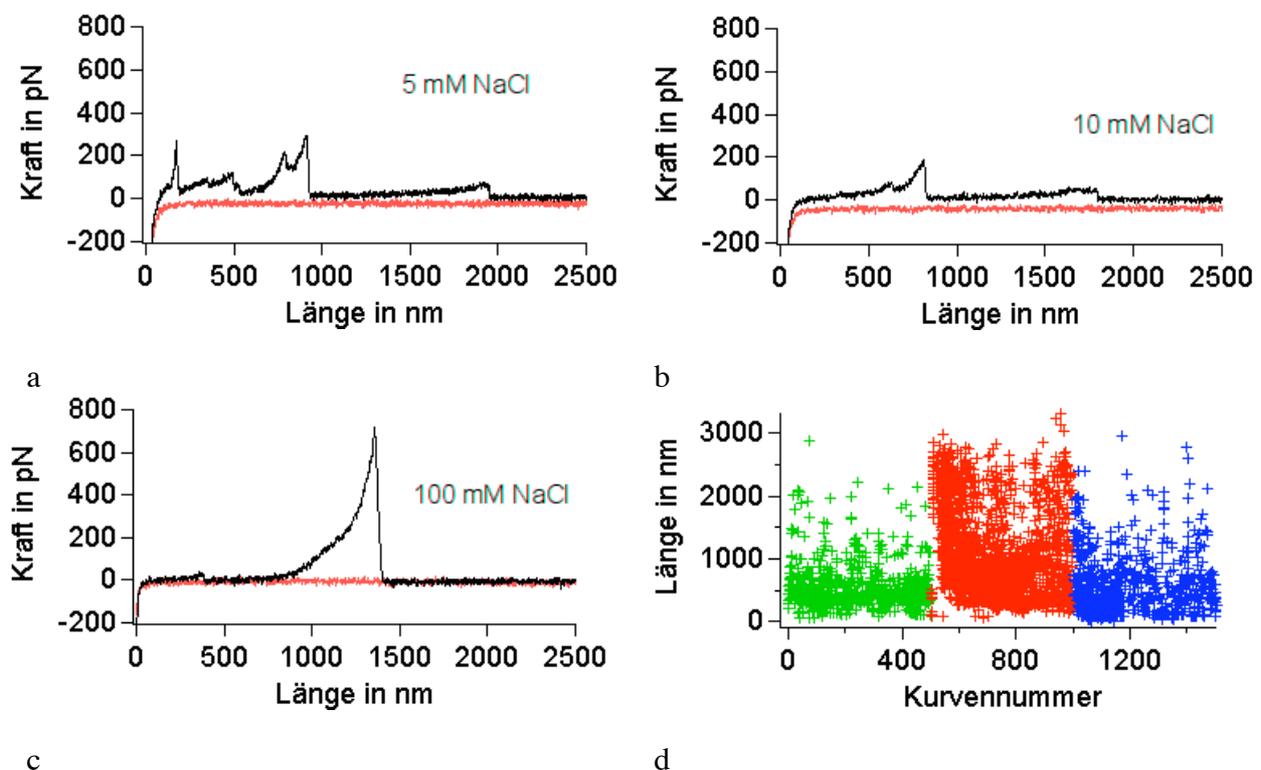


Abbildung 5.27: Messungen mit Polyacrylsäure auf Glas mit NaCl in Lösung.

a) - c) Repräsentative Kraft-Abstandskurven für verschiedene Salzkonzentrationen.

e) Abrisslängen, aufgetragen gegen ihre Kurvennummer für verschiedene NaCl-Konzentrationen (0-500: 5 mM NaCl, 500-1000: 10 mM NaCl, 1000-1500: 100 mM NaCl.)

mM NaCl. Die Darstellung der Abrisslängen gegen ihre Kurvennummer zeigt ein ähnliches Schaltverhalten wie für Gold, wenngleich nicht ganz so ausgeprägt.

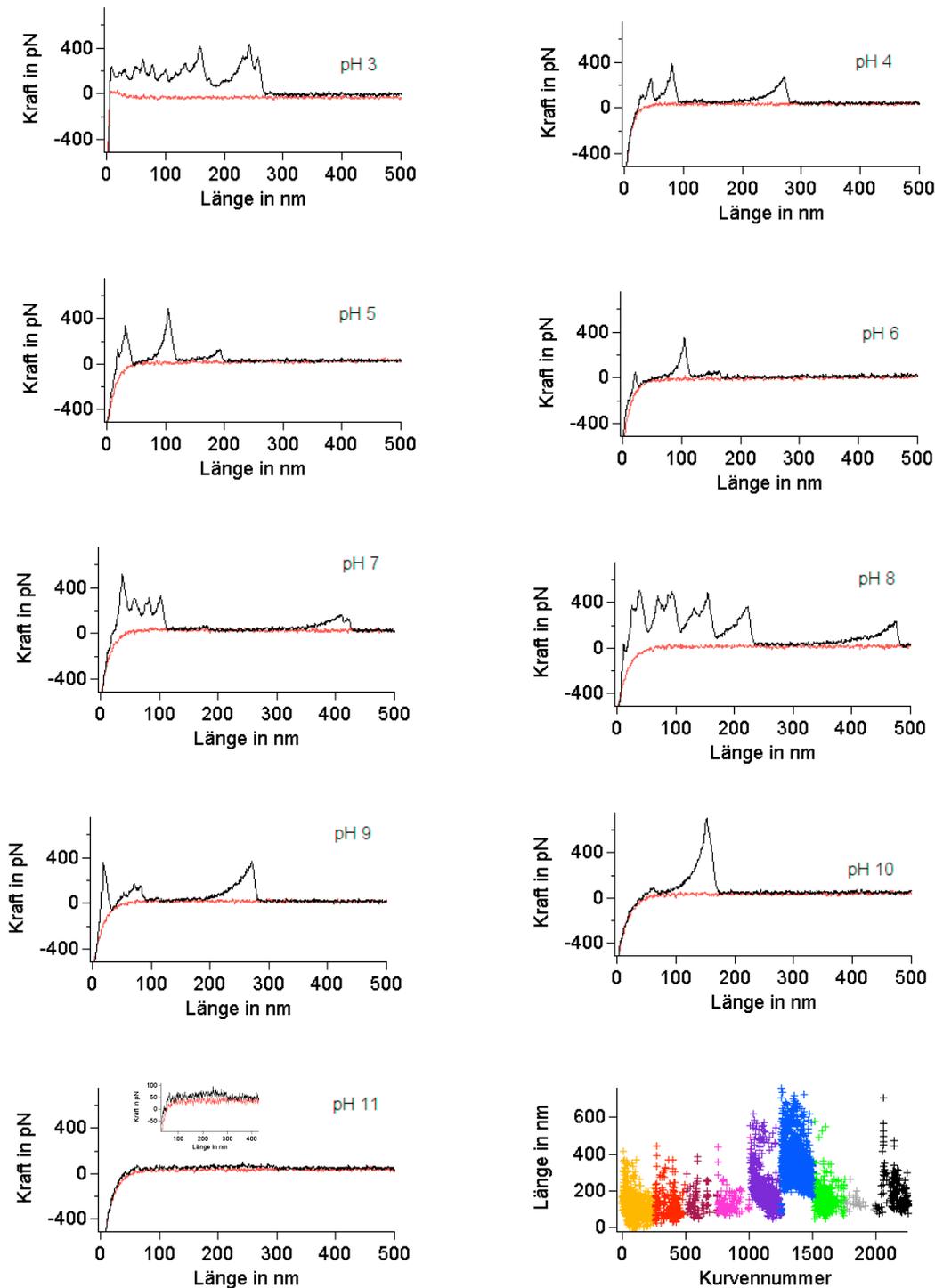


Abbildung 5.28: Repräsentative Kraftabstandskurven für Polyacrylsäure gemessen auf Glass bei variiertem pH und konstanter NaCl-Konzentration (5 mM) und Diagramm der Abriss-/Plateaulängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer. Die Anordnung der Kraft-Abstandskurven spiegelt die Abfolge des Experimentes wider. Das Inset in der letzten Kraftkurve enthält eine Vergrößerung des gemessenen Desorptionsplateaus, das in der normalen Darstellung kaum zu erkennen ist. Für jeden pH-Wert wurden jeweils 250 Kurven aufgenommen.

In Abbildung 5.28 ist der Verlauf einer variierten pH-Messung bei einer konstanten Salzkonzentration von 5 mM für das eben diskutierte System anhand von exemplarischen Kraftkurven dargestellt. Im Prinzip kann man ähnliche Effekte beobachten, wie im Fall von Gold, die jedoch bei höheren pH-Werten eintreten. Dies wird besonders deutlich anhand des Diagramms, bei dem die gefundenen Längen über die Kurvennummer aufgetragen sind. Die Abrisskurven werden tendenziell mit steigendem pH glatter, das mehrfach beobachtete kurzfristige Umschalten zu längeren Längen spielt sich hier aber erst im pH-Bereich zwischen 7 und 9 ab. Erst bei pH 11 lassen sich Plateaus beobachten, deren Kraftwerte, analog zu den Abrissen, bei deutlich niedrigeren Werten liegen als für Gold. Insgesamt kann man sagen, dass sich für beide Substrate auffällige Gemeinsamkeiten finden lassen. Es sei aber auch der Vollständigkeit halber erwähnt, dass sich speziell für diese Messungen große Schwankungen ergeben, was die genauen Konzentrations bzw. pH-Werte für die beobachteten Längen- und Gleichgewichts-Ungleichgewichtsübergänge ergeben. Es ist von daher sinnvoll, sich auf eine eher qualitative Beschreibung der Effekte zu beschränken. Auch ist es eher schwierig, eine adäquate Interpretation für das beobachtete Verhalten zu finden.

Im Falle der Konzentrationsvariation von NaCl könnte das Umschalten in den Längen mit einer Konformationsänderung der Polyacrylsäuremoleküle [124, 148] in Wasser erklärt werden. Die Löslichkeit von Polyacrylsäure in Wasser wird über die COO^- -Gruppen vermittelt. Sind keine oder nur Bruchteile der COOH -Gruppen dissoziiert so ist Polyacrylsäure nur schlecht in Wasser löslich. Na-Ionen bilden Salze mit den COOH -Gruppen, die dazu dissoziieren, womit sich die Löslichkeit des Polymers verbessert. Die Kraftabstandskurven für 5 mM könnten zu relativ ungelösten Polyacrylsäuremolekülen gehören. Bei 10 mM treten daneben auch besser gelöste Moleküle auf, die glatter und länger erscheinen. Bei noch höheren NaCl-Konzentrationen beobachtet man fast ausschließlich gut gelöste Polymere, die Abrisslängen

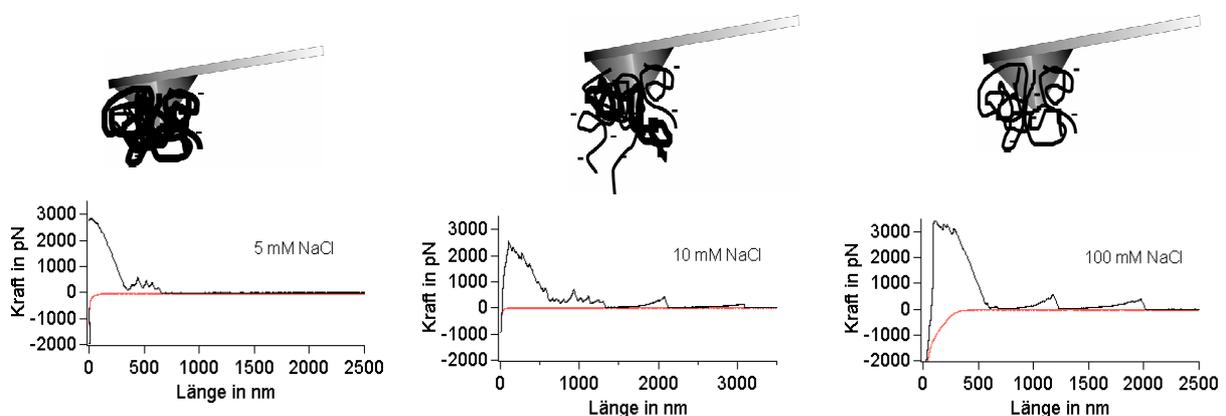


Abbildung 5.29: Zusammenhang zwischen Polymerlöslichkeit und Kurvenform der Kraft-Abstandskurven.

werden jedoch kürzer. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass bei höherer Salzkonzentration Abschirmung zwischen den Ladungen eintritt, die es dem Polymer erlaubt, eine geknäueltere Konformation einzunehmen. In dieser Konformation ist es weniger wahrscheinlich, dass man das Polymer an seinem Endpunkt aufgreift, als einem gestreckteren Zustand, der von einigen Molekülen für 10 mM NaCl angenommen wird. Abbildung 5.29 illustriert die eben diskutierten Zusammenhänge.

Diese Erklärung würde prinzipiell auch zu den Messungen mit variiertem pH passen – hier würde die Löslichkeit des Moleküls durch die zunehmende Deprotonierung der COOH-Gruppen verbessert, sie vermag jedoch keine Erklärung für den Übergang zum Gleichgewicht zu geben.

Ein Übergang vom Ungleichgewicht zum Gleichgewicht kann ebenfalls beobachtet werden, wenn man NaCl gegen CaSO_4 austauscht. Dies trifft sowohl für Glas als auch für Gold zu. Die Messungen auf Gold werden in Kapitel 6.1. noch eingehender diskutiert, die Messungen

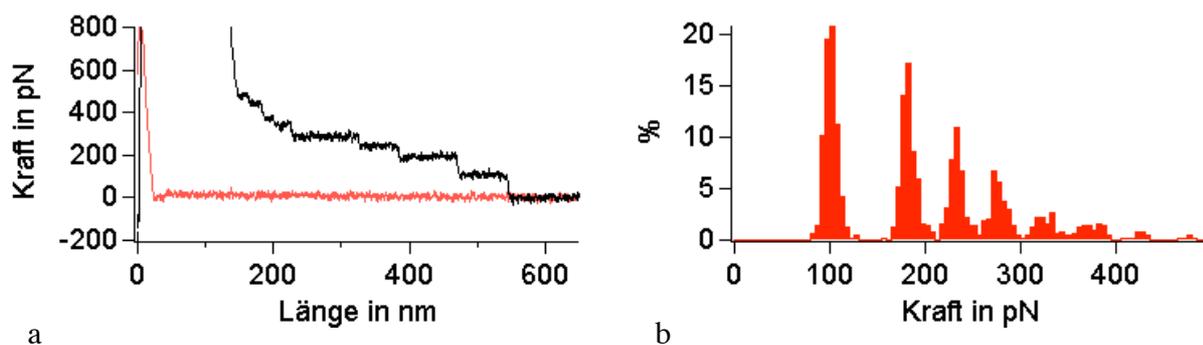


Abbildung 5.30: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf Glas mit CaSO_4 in Lösung.

- Typische Kraftabstandskurve (5 mM CaSO_4 in Lösung).
- Desorptionskräftehistogramm (5 mM CaSO_4 in Lösung).

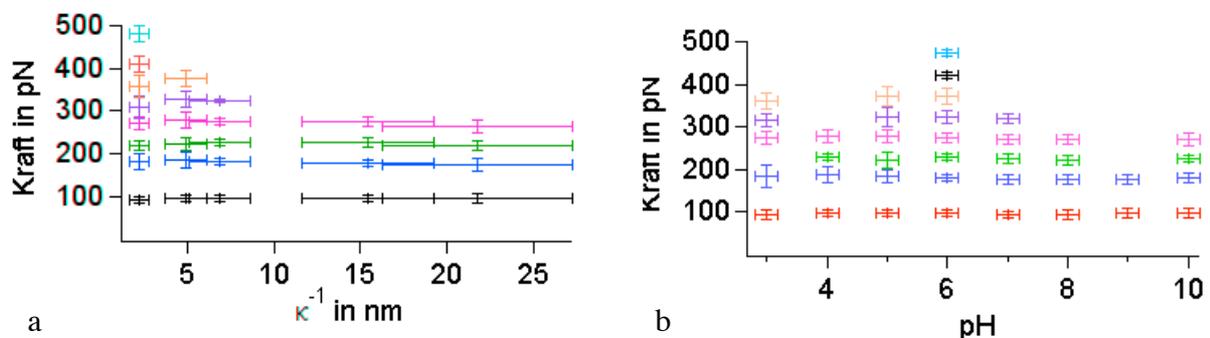


Abbildung 5.31: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf Glas mit CaSO_4 in Lösung.

- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen κ^{-1} .
- Mittlere Desorptionskräfte bei variierten pH (5 mM CaSO_4 in Lösung)

auf Glas sollen hier exemplarisch vorgestellt werden. Die CaSO_4 -Konzentration wurde dabei variiert ($50 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$, $500 \mu\text{M}$, 1 mM und 5 mM) und es wurden wiederum Messungen mit verschiedenen pH-Werten durchgeführt.

Eine typische Kraftabstandskurve und ein typisches Histogramm sind in Abbildung 5.30 gezeigt. Auffällig für diese Messung ist, dass man extrem viele Stufen in den Kraftabstandskurven findet und dementsprechend viele Peaks in den Histogrammen für die Desorptionskräfte. Die höheren Peaks sind dabei in ihren Kräften gegenüber den zugehörigen Vielfachen der Einfachpeaks ausnahmslos zu niedrigeren Kräften verschoben, was durch die in Kapitel 5.4 diskutierten intermolekularen Wechselwirkungen erklärt werden kann. Die Desorptionskräfte hängen weder von der Salzkonzentration noch vom pH ab, wie Abbildung 5.31 zeigt. Die Desorptionslängen sind im Verlauf der gesamten Messung konstant.

Der Übergang ins Gleichgewicht ist wiederum nicht einfach zu erklären. Er könnte dadurch bedingt sein, dass Kalziumionen die an die Polyacrylsäuremoleküle binden und so wiederum deren Löslichkeit verbessern. Es könnte aber auch sein, dass sich Kalzium auf der Oberfläche ablagert und der Übergang dadurch bedingt ist. Einen Hinweis auf abgelagertes Kalzium liefert die Tatsache, dass in diesem System extrem viele Mehrfachereignisse beobachtet werden konnten, die bei gegenüber dem jeweiligen Vielfachen des Einfachereignisses stark reduzierte Kraftwerte aufweisen. Dies könnte ähnlich wie in dem unter 5.4 diskutierten Beispiel durch Wechselwirkungen zwischen den Polymersträngen erklärt werden, die in diesem Fall über Kalziumionen [126-129] vermittelt werden.

6 Manipulation der Polyelektrolytadsorption über extern angelegte elektrische Potentiale

In Kapitel 5.1. wurde gezeigt, dass sich auf geladenen Substraten elektrostatische Wechselwirkungen sowohl attraktiver als auch repulsiver Art identifizieren und charakterisieren lassen. Diese hängen linear von der Oberflächenladungsdichte, der Polymerladungsdichte und der Salzkonzentration in Lösung ab. In Kapitel 5.1. wurde auf die Möglichkeit eingegangen, die Stärke der elektrostatischen Wechselwirkung über die Salzkonzentration zu modulieren. Dies ist in Abbildung 6.1 dargestellt.

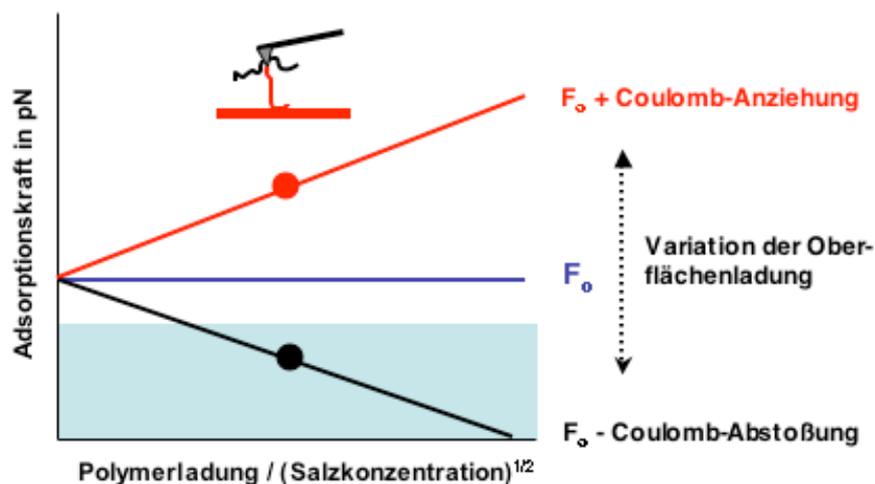


Abbildung 6.1: Modulation des elektrostatischen Beitrags zur Adsorptionskraft über Polymerladung, Salzkonzentration und Oberflächenladung.

Diese Variation ist zum einen unkomfortabel, weil sie mit dem Austausch des Lösungsmittels verbunden ist und zum anderen ist sie gewissen Einschränkungen unterworfen. So kommt man z. B. nie von einer attraktiven zu einer repulsiven Wechselwirkung und umgekehrt. Ausgangspunkt dieses Kapitels ist also zunächst die Fragestellung inwieweit sich eine Variation der Adsorptionskraft auf einer Metalloberfläche durch Anlegen eines externen Potentials, das das Oberflächenpotential des Metalls verändert variieren lässt.

6.1 Adsorption von Polyacrylsäure auf Gold

Die Manipulation der Polyelektrolytadsorption über extern angelegte elektrische Felder erfordert zunächst ein leitendes Substrat, auf dem die Polyelektrolyte adsorbieren können. Als Modellsystem wurde zunächst Polyacrylsäure auf Gold ausgewählt, da dies das bis dahin am

besten charakterisierte System darstellte. Aus früheren Messungen war bereits bekannt, dass man mit NaCl im Ungleichgewicht misst und mit CaSO_4 ein Übergang ins Gleichgewicht herbeigeführt werden kann (siehe Kapitel 5.5.). Deshalb wurde in allen folgenden Manipulationsexperimenten CaSO_4 als Leitsalz verwendet. Im folgenden soll zunächst einmal das Verhalten des Systems Polyacrylsäure – Gold mit CaSO_4 in Lösung ohne angelegtes Potential dargestellt werden, bevor in den darauf folgenden Kapiteln auf die Möglichkeiten zur Manipulation über extern angelegte Potentiale eingegangen wird.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.2 dargestellt. Abbildung 6.2 a zeigt ein typisches Desorptionskräftehistogramm. Die einzelnen Peaks sind klar definiert und man beobachtet mit großer Häufigkeit Desorptionsereignisse.

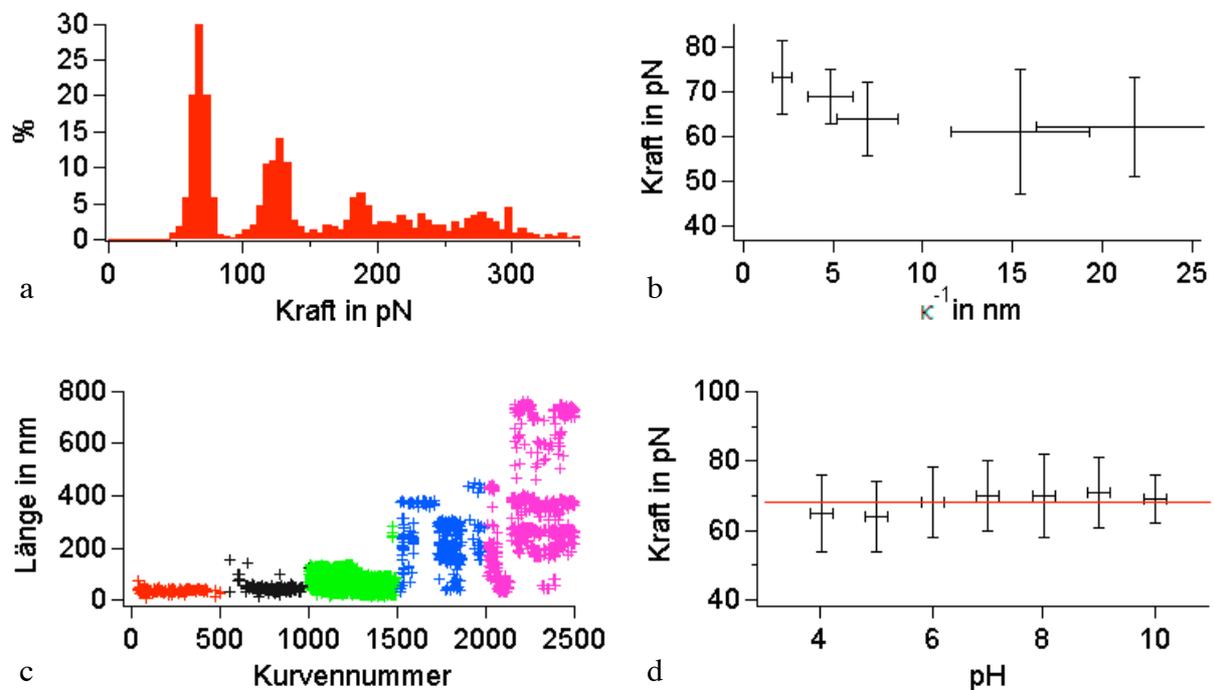


Abbildung 6.2: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf Gold.

- Histogramm für die Desorptionskräfte. (5 mM CaSO_4 in Lösung).
- Mittlere Desorptionskräfte aufgetragen gegen κ^{-1} .
- Desorptionslängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer (0-500: 50 μM CaSO_4 , 500- 1000: 100 μM CaSO_4 , 1000-1500: 500 μM CaSO_4 , 1500-2000: 1 mM CaSO_4 , 2000-2500 5 mM CaSO_4).
- Mittlere Desorptionskräfte bei variiertem pH, 5 mM CaSO_4 in Lösung.

In Abbildung 6.2. b sind die für verschiedene Salzkonzentrationen (50 μM , 100 μM , 500 μM , 1 mM, 5 mM) gemessenen mittleren Desorptionskräfte einzelner Moleküle gegen die zugehörige Debyelänge dargestellt. Nach einer kurzen Phase, in der die Desorptionskraft konstant bleibt ist ein Anstieg in der Kraft zu erkennen, der die Abschirmung einer abstoßenden Wechselwirkung indiziert. Dieser Befund passt sehr gut zu den an anderer Stelle beschriebenen

Ergebnissen für die Desorption von Polyallylamin von Gold (Kap. 5.3) mit Sulfationen in Lösung, anhand derer ein Ablagerungsprozess für die Sulfationen auf der Goldoberfläche postuliert wurde. Die Daten in Abbildung 6.2 b könnten einen Übergang von dem abgesättigten Zustand in den Bereich beschreiben, in dem Abschirmung eintritt. Die repulsive Art der Wechselwirkung stützt zudem die These, dass das Oberflächenpotential der Goldunterlage sich durch die Sulfationen zu negativen Werten verschiebt.

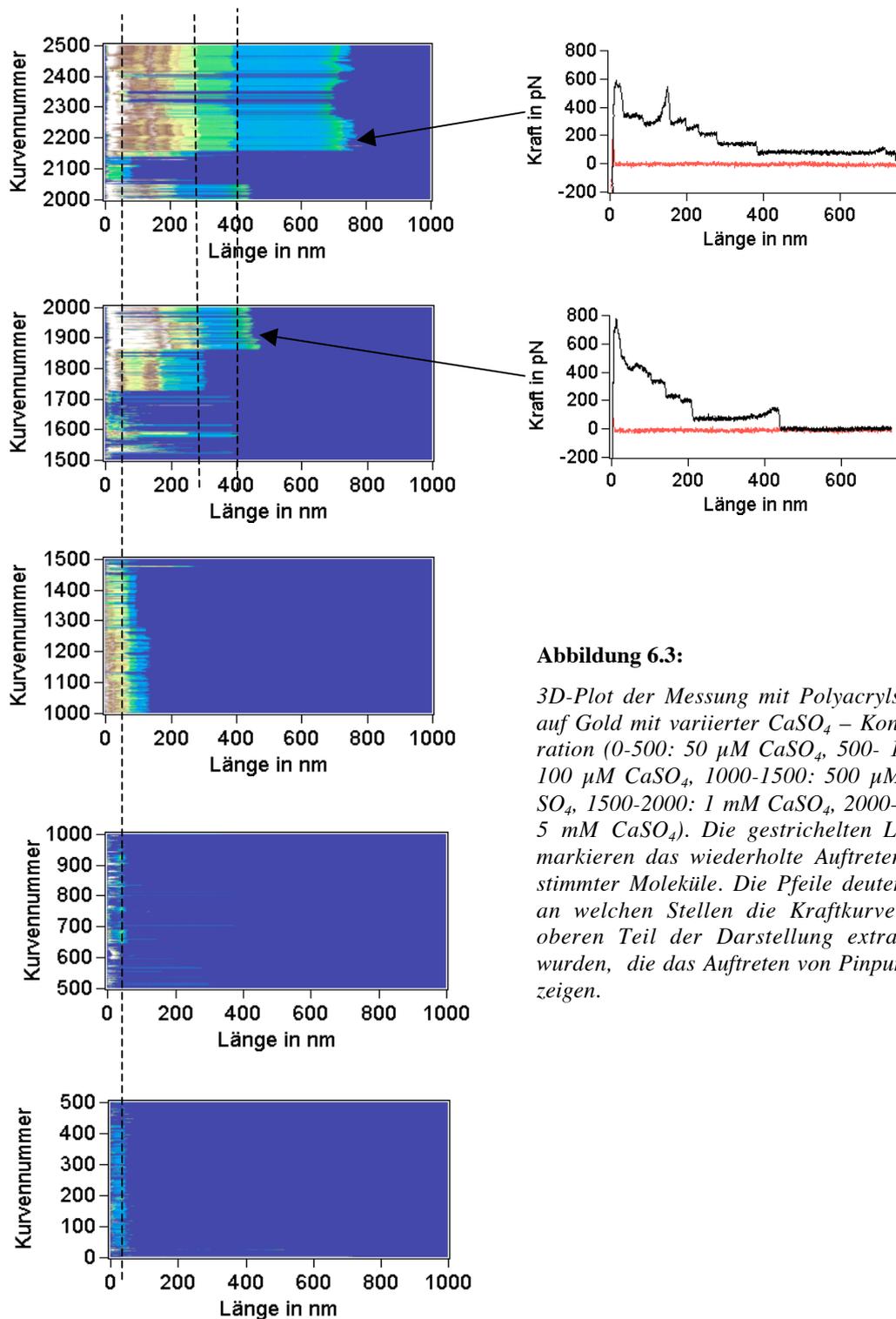


Abbildung 6.3:

3D-Plot der Messung mit Polyacrylsäure auf Gold mit variiertem CaSO_4 -Konzentration (0-500: $50 \mu\text{M CaSO}_4$, 500-1000: $100 \mu\text{M CaSO}_4$, 1000-1500: $500 \mu\text{M CaSO}_4$, 1500-2000: 1mM CaSO_4 , 2000-2500 5mM CaSO_4). Die gestrichelten Linien markieren das wiederholte Auftreten bestimmter Moleküle. Die Pfeile deuten an, an welchen Stellen die Kraftkurven im oberen Teil der Darstellung extrahiert wurden, die das Auftreten von Pinpunkten zeigen.

Ein weiterer interessanter Befund dieser Messung ist, dass mit zunehmender Salzkonzentration vermehrt auch die Desorption von längeren Polyacrylsäuremolekülen beobachtet werden kann, wie sich anhand von Abbildung 6.2 c ersehen lässt. Analog zu den in Kapitel 5 dokumentierten Erfahrungen können zwei mögliche Erklärungsansätze herangezogen werden: Dies könnte einerseits dadurch begründet werden dass die repulsive Art der Wechselwirkung eine Art Barriere darstellt, die für kürzere Moleküle einfacher zu überwinden ist, ähnlich zu den Effekten, die für Calcit und die verschiedenen SAMs diskutiert wurden (Kapitel 5.1.1 und 5.2.). Über die wachsende Ionenkonzentration wird diese Barriere nach und nach abgebaut, so dass auch längere Moleküle von der Spitze de- und an der Unterlage adsorbieren können. Andererseits könnten die Ca-Ionen aber auch die Löslichkeit der Polyacrylsäuremoleküle verbessern ähnlich zu den über NaCl oder pH-Änderungen induzierten Effekten (vgl. Kapitel 5.5), was gleichzeitig eine Erklärung für den mit CaSO_4 (im Vergleich zu NaCl bei pH 6, vergleiche Kapitel 5.4) einhergehenden Übergang zum Gleichgewicht liefern könnte. In Abbildung 6.3 ist der Verlauf des Experimentes nocheinmal in Form eines 3D-Plots (vgl. Kapitel 4.3 und 5.4) illustriert. Ein Befund, der im Folgenden noch sehr wichtig sein wird ist, dass man individuelle Moleküle im Verlauf des Experimentes wiederholt beobachten kann. Außerdem sieht man, dass mitunter auch Abrisse am Ende oder innerhalb eines Plateaus auftreten, die indizieren, dass es Pinpunkte auf der Unterlage gibt, an denen das Molekül gedehnt wird. Dies deutet auf Inhomogenitäten oder Verunreinigungen auf der Goldoberfläche hin.

In Abbildung 6.2 d sind die Ergebnisse für variierten pH bei einer Salzkonzentration von 5 mM dargestellt. Analog zu den Messungen mit Polyallylamin lässt sich auch hier keine Abhängigkeit der Desorptionskraft vom pH-Wert der Lösung feststellen. Dies deutet darauf hin, dass der Polyelektrolyt über Ladungsregulierungsmechanismen voll aufgeladen ist.

Die experimentellen Befunde dieses Abschnittes gaben dazu Anlaß, dass die meisten der im folgenden diskutierten Messungen bei pH 6 und einer CaSO_4 Konzentration von 5 mM durchgeführt wurden, um für das Experiment optimale Bedingungen einzustellen.

6.2 Modulation der Bindungsstärke

Als erster Versuch zur Manipulation der Polyelektrolytadsorption wurde versucht, die Bindungsstärke der Polymermoleküle an das Substrat über ein an die Goldoberfläche angelegtes externes Potential, zu variieren. Dazu wurde in den hier vorgestellten Messungen zunächst mit dem in Kapitel 3 eingangs vorgestellten Aufbau gearbeitet, bei dem der AFM-Cantilever

als Gegenelektrode eingesetzt wird, da in diesem Fall die Goldunterlage in derselben Weise wie bisher gereinigt werden konnte und sich die damit gewonnenen Ergebnisse besser zu den bis dahin gewonnenen Ergebnissen ohne angelegtes Potential in Beziehung setzen lassen. Ein weiteres Kriterium war die größere Langzeitstabilität der Goldelektroden in diesem Aufbau, die für statistische Messungen wesentlich ist.

In Abbildung 6.4 sind die Ergebnisse einer Messung dargestellt, die für zwei verschiedene extern angelegte Potentiale (150 mV und -150 mV) mit Polyacrylsäure auf Gold und einer CaSO_4 -Konzentration von 5 mM in Lösung gewonnen wurden, dargestellt.

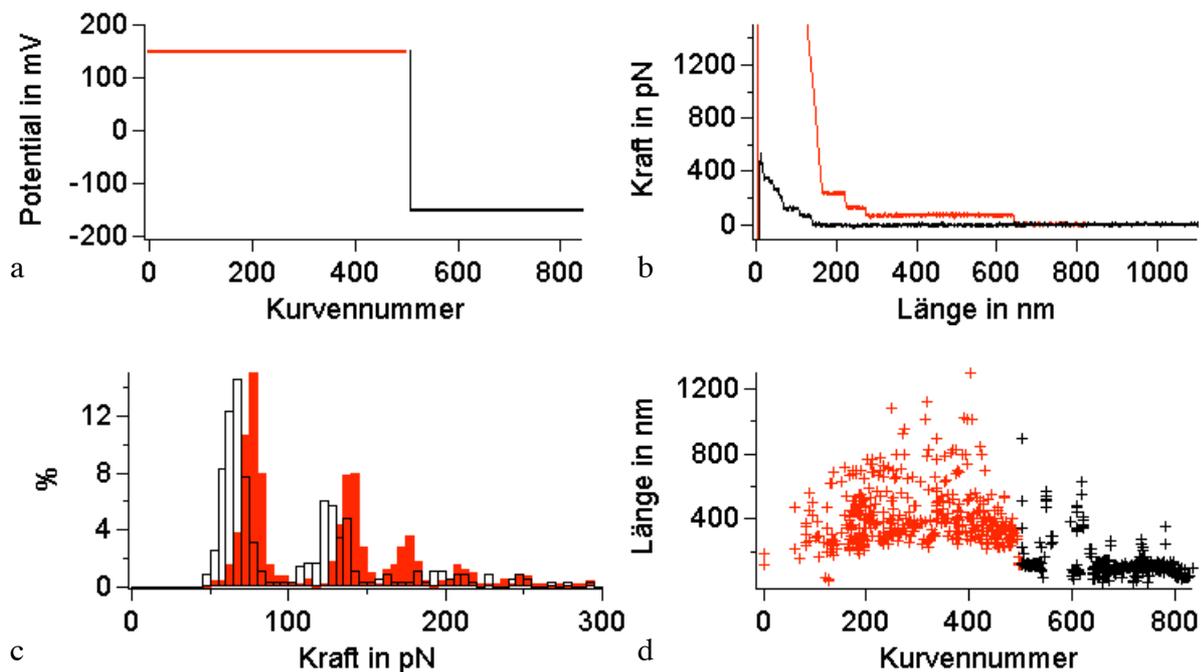


Abbildung 6.4: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf Gold für zwei verschiedene extern angelegte Potentiale.

- Potentialverlauf aufgetragen gegen die Kurvennummer
- Repräsentative Kraft-Abstandskurven für die beiden Potentiale (rot: +150 mV, schwarz: -150 mV).
- Desorptionskräftehistogramme für die beiden Potentiale (rot: +150 mV, schwarz: -150 mV).
- Plateaulängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer (rot: +150 mV, schwarz: -150 mV).

Anhand der Kraftkurven Abbildung 6.4 b lassen sich bereits deutliche Unterschiede erkennen: Legt man ein negatives Potential an, so ist die unspezifische Wechselwirkung zwischen Spitze und Unterlage klein und die beobachteten Desorptionsplateaus sind kurz. Im Falle des anziehenden Potentials ist die unspezifische Wechselwirkung groß und es lassen sich gehäuft lange Desorptionsplateaus finden. Betrachtet man die zugehörigen Histogramme der Desorptionskräfte so kann man auch für die Höhe der Desorptionskraft einen Unterschied von ca. 10 pN finden (Abbildung 6.4 c). In Abbildung 6.4 d sind die Längen der gefundenen Desorpti-

onsplateaus gegen ihre Kurvennummer aufgetragen. Man sieht, dass die langen Plateaus schlagartig beim Umschalten auf das negative Potential verschwinden. Die Potentialänderung wirkt demnach wie ein Schalter in der Plateaulänge.

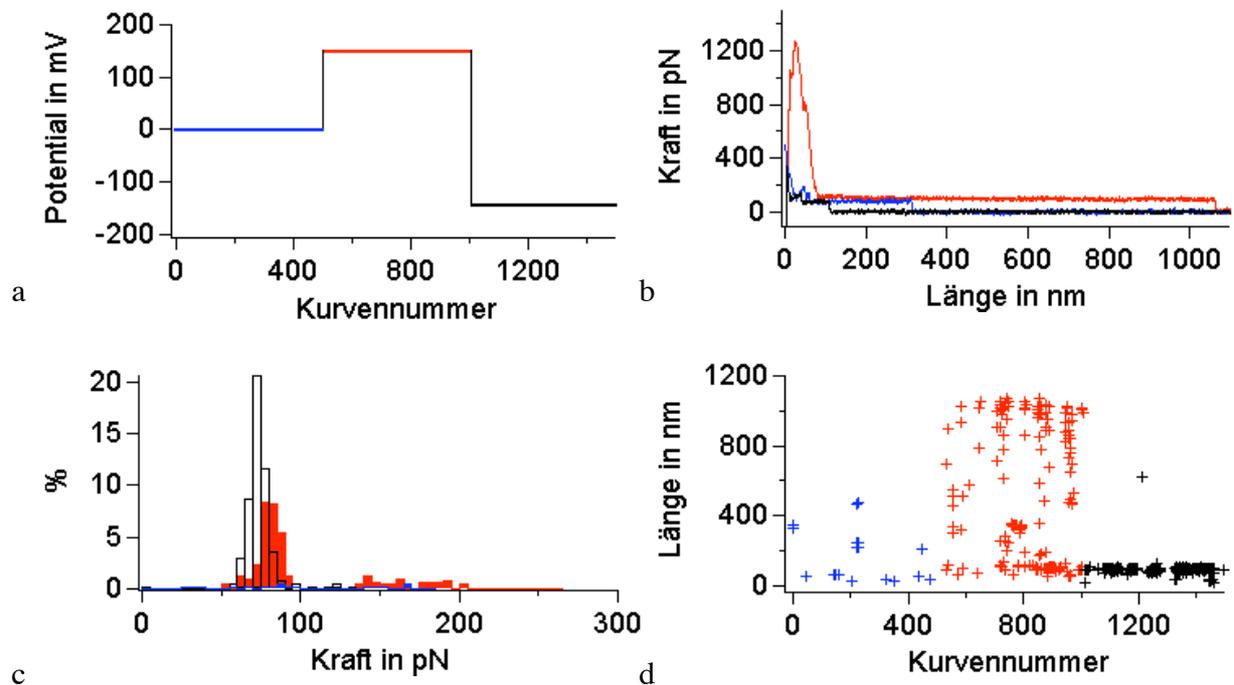


Abbildung 6.5: Messergebnisse für Polyacrylsäure auf Gold für zwei verschiedene extern angelegte Potentiale.

- Potentialverlauf aufgetragen gegen die Kurvennummer
- Repräsentative Kraft-Abstandskurven für die verschiedenen Potentiale (blau: 0 V, rot: +150 mV, schwarz: -150 mV).
- Desorptionskräftehistogramme für die verschiedenen Potentiale (blau: 0 V, rot: +150 mV, schwarz: -150 mV).
- Plateaulängen aufgetragen gegen ihre Kurvennummer (blau: 0V, rot: +150 mV, schwarz: -150 mV).

Um diesen Längeneffekt noch deutlicher herauszustellen, wurden zusätzlich Messungen mit Polymethacrylsäure durchgeführt, die in längerer Form als Polyacrylsäure kommerziell erhältlich ist, womit die beobachteten Längendifferenzen noch drastischer ausfallen können. Da für Polymethacrylsäure keine geeigneten Referenzwerte vorhanden waren wurde zunächst ohne angelegtes Potential und im Anschluß daran mit denselben Werten wie für Polyacrylsäure jeweils mit einer CaSO_4 -Konzentration von 5 mM gemessen. Die Ergebnisse dafür sind in Abbildung 6.5 dargestellt.

Man sieht wieder deutliche Unterschiede in den Kraftkurven für das positive und das negative angelegte Potential, bezüglich der Höhe der unspezifischen Adsorption und der Plateaulänge. Die bei 0 V gemessene Kurve passt sich gut zwischen die beiden anderen ein. In den zugehörigen Histogrammen für die Desorptionskräfte lässt sich wiederum eine leichte Variation der Desorptionskraft für die beiden angelegten Potentiale erkennen, die mit ca. 5 pN noch kleiner

ausfällt als im Fall der Messung mit Polyacrylsäure. Der Umschalteffekt in der Länge tritt jedoch hier noch viel deutlicher zu Tage: während sich die Plateaulängen für das negative Potential um die 100 nm herum konzentrieren, lassen sich im Fall des positiven Potentials gehäuft lange Plateaus von bis zu 1 μm Länge beobachten. Die Variation umspannt also hier eine Größenordnung.

Dieser Effekt lässt sich gut vor dem Hintergrund der in Kap. 6.1. vorgestellten Messungen mit variiertes Salzkonzentration (ohne angelegtes Potential) verstehen: Dort konnte beobachtet werden, dass für niedrige Salzkonzentration, das heißt für eine stärker repulsiv wirkende Wechselwirkung, ausschließlich kurze Moleküle auf der Oberfläche adsorbieren. Wurde die effektive repulsive Wechselwirkung durch die erhöhte Salzkonzentration abgeschwächt, so konnten auch längere Moleküle auf der Oberfläche adsorbieren. Hier wurde die repulsive Wechselwirkung über das negative Potential verstärkt, so dass es wiederum nur kurzen Molekülen möglich war, auf der Unterlage zu adsorbieren, in Analogie zu den Messungen mit niedrigerer Salzkonzentration. Außerdem muss beachtet werden, dass die AFM-Spitze als Gegenelektrode fungiert und die Polyacrylsäuremoleküle damit in den Stromfluss eingebettet sind, was den hier beobachteten Effekt entscheidend verstärken kann.

Der Zusammenhang zwischen dem Oberflächenpotential und dem elektrostatischen Beitrag zur Desorptionskraft ist gegeben durch:

$$\Delta F_0 = \frac{F_{el}}{\Delta} = (4\sigma_B k_B T) \Delta \Delta^2 \quad (6.1)$$

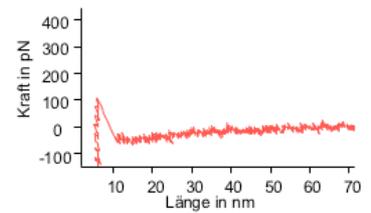
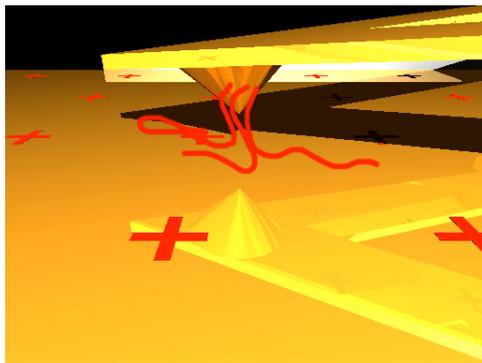
Nimmt man an, dass die Polyelektrolytmoleküle über einen Ladungsregulierungsmechanismus voll aufgeladen sind und die Ladungsdichte damit $\approx 4 \text{ nm}^{-1}$, so kann man abschätzen, dass sich für eine Modulation des Oberflächenpotentials von $\pm 150 \text{ mV}$ die Desorptionskraft um ca. $\pm 96 \text{ pN}$ verschiebt. Dieser Wert ist erheblich größer als die experimentell ermittelten Werte von $\pm 7 \text{ pN}$ für Polyacrylsäure und $\pm 4 \text{ pN}$ für Polymethacrylsäure. Die Abweichungen können z. B. durch Verunreinigungen und Inhomogenitäten auf der Goldoberfläche oder Kalibrierungsungenauigkeiten des Kraftsensors erklärt werden. Zu beachten ist, dass die Sulfationen in Lösung an die Goldelektrode adsorbieren und die Goldelektrode umladen können (vgl. Kapitel 5.3). Zu erwarten ist, dass die Sulfationen bei positivem angelegtem Potential verstärkt an die Unterlage adsorbieren können und negative Ladung dorthin transportieren, während bei negativerem Potential eher weniger Sulfationen adsorbieren und von diesen damit auch weniger negative Ladung auf die Oberfläche transportiert wird. Dieser Effekt kann

die Differenz zwischen den angelegten Potentialen stark reduzieren, was den geringen Unterschied zwischen den gemessenen Desorptionskräften erklären könnte. Neben den Sulfationen muss auch der Einfluss von adsorbierten Wassermolekülen in Betracht gezogen werden, die sich bei größeren angelegten Potentialen verstärkt ausrichten, was ebenfalls die effektive Stärke des Oberflächenpotentials beeinflusst (vgl. Abbildung 3.1). Schließlich sollte nicht vergessen werden, dass die AFM-Spitze als Gegenelektrode fungiert, was die Messergebnisse zusätzlich verfälschen kann.

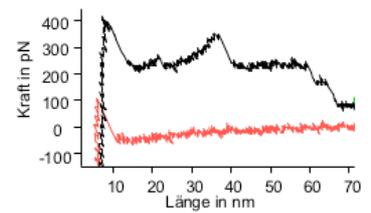
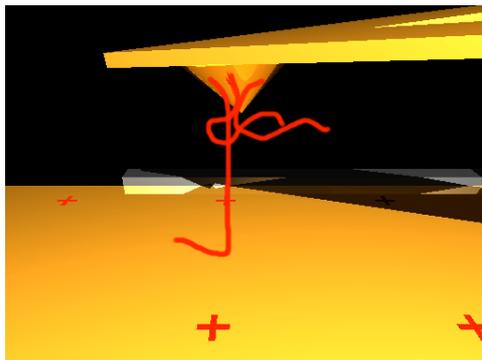
6.3 Einfangen von Molekülen

Die Beobachtung, dass man über attraktive externe Potentiale längere Moleküle dazu motivieren kann, auf der Leiteroberfläche zu adsorbieren, die man sonst unter den gegebenen Umweltbedingungen nicht beobachtet, wirft die Frage auf, ob man über anziehende Potentiale nicht auch Moleküle dazu bewegen kann aus einer gewissen Distanz an die gegenüberliegende Oberfläche zu adsorbieren.

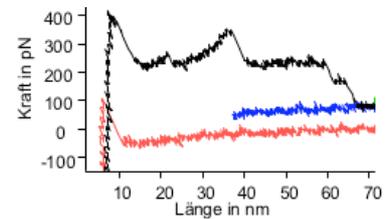
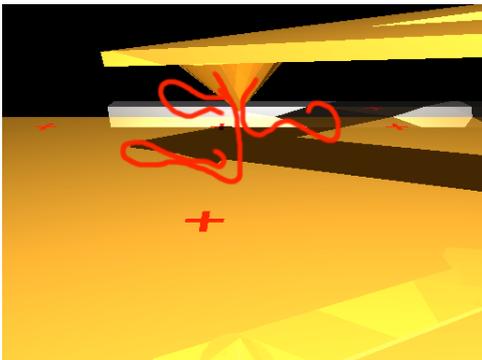
Um Aufschluss über diesen Sachverhalt zu erlangen, wurde eine „zyklische Messung“ entworfen, die mit zweiten in Kapitel 2 vorgestellten Aufbau, bei dem der Cantilever unkontaktiert ist, durchgeführt wurde, und die folgendermaßen abläuft: Zuerst nähert man sich an die Probe an, ohne dass ein externes Potential angeschaltet ist. Wenn die Spitze die Probe berührt, wird ein positives Potential angeschaltet und die Spitze wird wieder weggefahren. Man erhält damit einen Überblick, welche Moleküle bei dem attraktiven Potential gerade an der Oberfläche adsorbieren. Sobald man sich soweit entfernt hat, dass man die Desorption eines oder mehrerer Moleküle beobachten konnte, schaltet man das Potential auf einen niedrigeren Wert, so dass später eine Potentialdifferenz generiert werden kann, nähert sich wieder an die Probe an und schaltet das Potential wieder auf den ursprünglichen Wert hoch. Beim Zurückfahren erkennt man am Kraftniveau, ob man ein Molekül eingefangen hat und wenn ja kann man, wenn man dieses wieder vollständig desorbiert über die Länge auch entscheiden, welches man eingefangen hat. Ein solcher Prozess, an dem drei verschiedene Moleküle beteiligt sind, ist in Abbildung 6.6 illustriert. Es handelt sich dabei um Polymethacrylsäuremoleküle gegenüber einer Goldoberfläche mit 5 mM CaSO_4 in Lösung. Beim Hinfahren wird es den Molekülen ermöglicht an der Oberfläche zu adsorbieren. Beim Wegfahren mit einem Potential von 150 mV kann man nacheinander die Desorption von allen drei Molekülen beobachten. Die zwei kürzeren werden dabei vollständig desorbiert, das Längste nicht: auf dem letzten



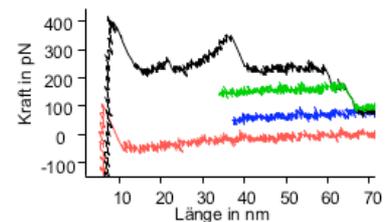
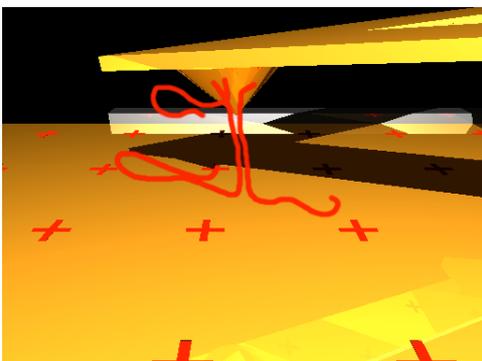
- a Die AFM-Spitze wird an das Substrat angenähert. Sobald die Spitze die Oberfläche berührt wird ein anziehendes Potential von +150 mV angelegt.



- b Beim Wegfahren der Spitze beobachtet man zunächst unspezifische Beiträge und im Anschluss daran die aufeinanderfolgende Desorption zweier Moleküle.



- c Auf dem Kraftniveau eines einzelnen Moleküls wird das Potential auf 50 mV heruntergeschaltet und man nähert sich wieder bis auf einen Abstand von 40 nm an die Oberfläche an (blaue Kurve).



- d Beim Erneuten Umschalten auf 150 mV springt ein Molekül auf die Oberfläche. Desorbiert man dieses Molekül erneut, so kann man entscheiden, dass es das längere der beiden Moleküle war (grüne Kurve).

Abbildung 6.6: Ablauf einer zyklischen Desorptionsmessung, bei der über attraktive Potentiale Moleküle eingefangen werden. (Polymethacrylsäure auf Gold, 5 mM CaSO_4 in Lösung, pH 6)

Plateau wird angehalten. Dort wird dann das Potential auf 50 mV heruntergeschaltet und man nähert sich wieder der Probe an bis in einen Bereich, in dem theoretisch die zwei eben abgezogenen Moleküle wieder die gegenüberliegende Oberfläche erreichen können. Dann wird das Potential wieder auf 150 mV geschaltet und man beobachtet, dass ein Molekül aus einer Distanz von ca. 40 nm an die Oberfläche adsorbiert. Beim Wegfahren kann man erkennen, dass es sich um das längere der beiden Moleküle handelte. In Abbildung 6.7 sind weitere Beispiele dokumentiert die das „Springen“ von Molekülen auf eine gegenüberliegende Goldoberfläche, angeregt durch anziehende externe Potentiale, dokumentieren. Interessant ist u. a. dass man auch vermeintlich unspezifische Teile der Kurve beim Schalten auf das höhere Potential wieder reproduzieren kann (mittlere Kurve).

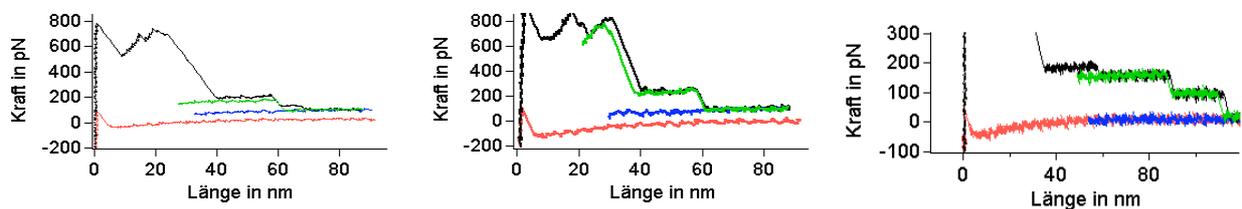


Abbildung 6.7: Weitere Beispiele, die das Einfangen von Molekülen über extern angelegte attraktive Potentiale dokumentieren (Versuchsbedingungen wie oben).

Abbildung 6.8 zeigt Beispiele, in denen Moleküle an die Oberfläche adsorbieren, die in den vorangehenden Kraft-Abstandskurven nicht beobachtet werden konnten. Angeregt durch das anziehende Potential adsorbiert ein Molekül an die Goldoberfläche und es taucht spontan ein Desorptionsplateau in einem Bereich auf, in dem zuvor kein Molekül beobachtet werden konnte.

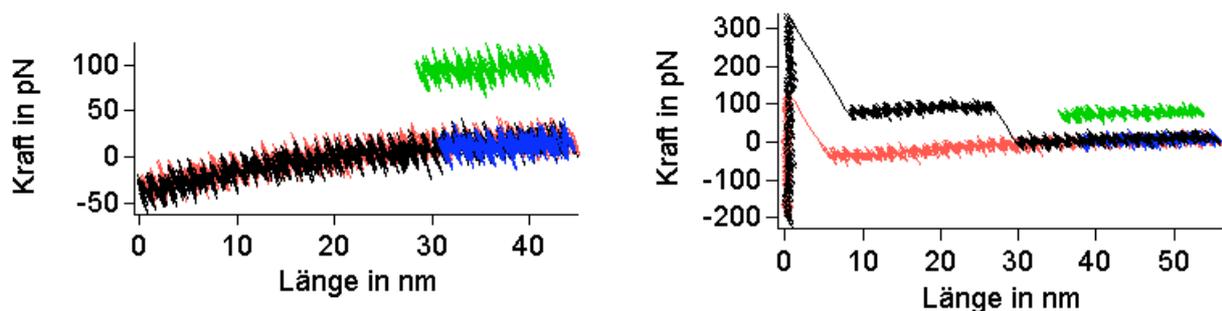


Abbildung 6.8: Beispiel, bei denen Plateau beim Umschalten wie aus dem Nichts auftauchen (Versuchsbedingungen wie oben).

Beim Umschalten des Feldes ordnet sich die Doppelschicht an der Goldelektrode um und das Feld ist für einen kurzen Augenblick für die Moleküle an der Spitze „sichtbar“ und die Moleküle werden dann durch das attraktive Feld auf die Goldelektrode gezogen. Zwei Effekte sind

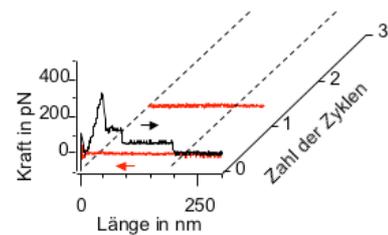
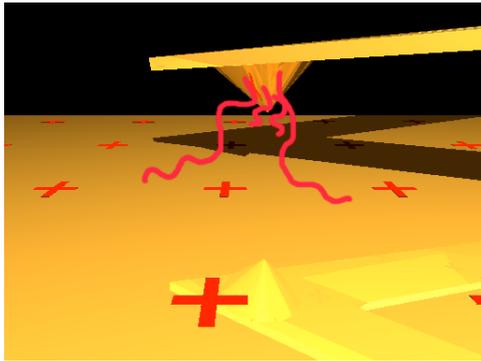
dabei wesentlich: Zum einen wird das Polymer von der Goldelektrode angezogen, zum anderen werden die Gegenionen, die sonst die Ladungen des Polymers abschirmen von der Elektrode weggedrängt. Dadurch vergrößert sich die Abstoßung zwischen den Monomersegmenten und das Polymer geht in eine gestrecktere Konformation über, womit sich sein Abstand zur Elektrode ebenfalls verkleinert. Diese Interpretation steht im Einklang mit experimentellen und theoretischen Arbeiten, die das Aufrichten und Strecken von Molekülen unter dem Einfluß elektrischer Felder beschreiben [149, 150]. Außerdem lässt sich das hier beschriebene Experiment auch gut mit Elektrophoresetechniken vergleichen. Die angelegten Felder sind zwar ein bis zwei Größenordnungen kleiner als die in der Elektrophorese üblichen, dafür muss das Polymer auch nur eine vergleichsweise kleine Distanz überwinden.

Anders als beim normalen Aufsetzen der Spitze auf die Unterlage, bei der man für gewöhnlich erst einmal sehr viele Moleküle parallel adsorbiert, hat diese Methode den Vorteil, dass man über das anziehende elektrische Feld kontrolliert einzelne Moleküle auf die Oberfläche transportieren kann, ohne diese zu berühren. Dies impliziert zum Beispiel ein Anwendungspotential im Hinblick auf Nanostrukturierung. Sind die Moleküle nämlich nur schwach an der Spitze adsorbiert, so könnten mit dieser Methode gezielt Moleküle auf eine Unterlage gezogen werden, die dann mechanisch wieder ausgelesen werden können.

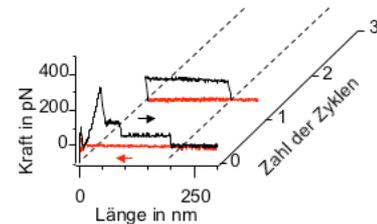
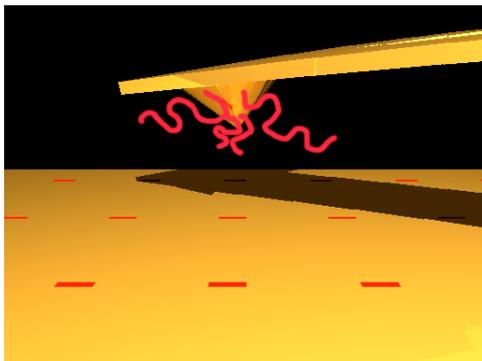
6.4 An- und Abkoppeln von Molekülen

Eine natürliche Erweiterung zu dem eben vorgestellten Prinzip, wäre das Abkoppeln geladener Polymere von einer leitenden Unterlage. Im Rahmen der bisher vorgestellten Messungen hat sich ergeben, dass es für gewöhnlich nicht praktikabel ist, alleine durch das Anlegen eines repulsiven externen Feldes Moleküle von der Unterlage zu desorbieren.

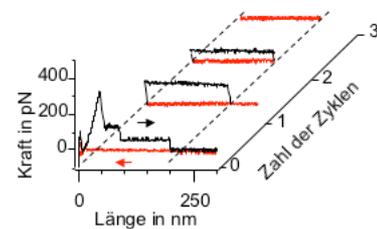
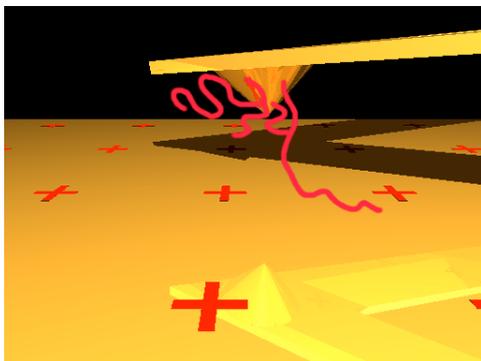
Die Ergebnisse des letzten Abschnittes lassen vermuten, dass für das Ankoppeln der Moleküle das Einschalten des Feldes den entscheidenden Moment darstellt, während dem das Molekül den Einfluss des Feldes auch noch über die große Distanz wahrnehmen kann. Dies legt den Schluss nahe, dass die Effizienz des Ankoppelns gesteigert werden kann, wenn statt einer Gleichspannung attraktive Spannungspulse eingesetzt werden würden. Auf experimentellem Wege wurde versucht herauszufinden, ob durch den Einsatz repulsiver Spannungspulse auch das Abkoppeln von Molekülen bewerkstelligt werden kann. Im Folgenden sind die Ergebnisse der dazu durchgeführten Experimente dargestellt, wobei vor allem auf den Fall des Abkoppelns fokussiert wird. Auch für diese Messungen wurde die AFM-Spitze nicht kontaktiert. Da



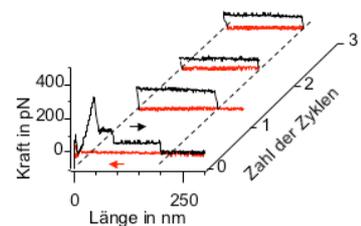
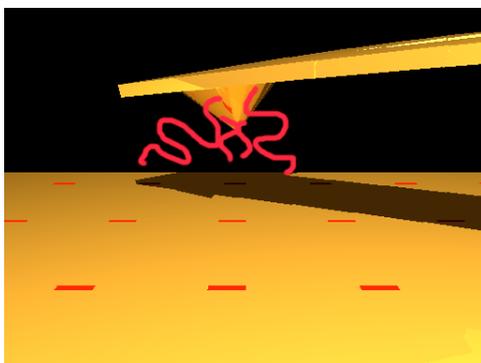
- a Zunächst wird wiederum eine Desorptionskurve aufgenommen, um die Kraftniveaus, die der Desorption von einem oder mehreren Molekülen entsprechen festzulegen. Danach nähert man sich wieder bis auf ca. 30 nm an die Oberfläche an. Über fünf attraktive Spannungspulse werden Moleküle angekoppelt. (+ 150 mV, Frequenz 1kHz)



- b Beim erneuten Wegfahren erkennt man, dass zwei Moleküle angekoppelt haben. Diese werden in einiger Entfernung von der Oberfläche über fünf repulsive Pulse wieder abgekoppelt. (+ 150 mV, Frequenz 1kHz)



- c Dieser Ankopplungs- Abkopplungs-Zyklus konnte noch zweimal unter denselben Versuchsbedingungen wiederholt werden.



- d Beim Herausfahren erkennt man, dass sowohl bei Zyklus 2 als auch bei Zyklus 3 jeweils ein einzelnes Molekül angekoppelt wurde, das beide Male auch wieder erfolgreich abgekoppelt werden konnte.

Abbildung 6.9: Beispiel eines An- und Abkopplungszyklus, der zweimal wiederholt werden konnte. Gemessen mit Polyacrylsäure auf Platin, 5 mM CaSO_4 in Lösung, pH 6.

sich die ohnehin labilen Goldelektroden durch das Einsetzen von Spannungspulsen auf einer noch kürzeren Zeitskala auflösten, wurde zunächst eine Platinelektrode verwendet. Die Messungen wurden mit Polyacrylsäure mit 5 mM CaSO_4 in Lösung, bei pH 6 durchgeführt. In Abbildung 6.9 ist der Ablauf einer Messung dokumentiert, in deren Verlauf wiederholt Moleküle über attraktive und repulsive Spannungspulse an- und wieder abgekoppelt werden konnten: Zunächst wurde wieder eine Desorptionskurve aufgenommen (ohne angelegte Potentiale), anhand derer die Kraftniveaus identifiziert werden können, die zur Desorption von einem oder mehreren Molekülen gehören. Danach nähert man sich wieder bis auf ca. 30 nm an. Über eine kurze Folge von attraktiven Spannungspulsen, die im gezeigten Beispiel eine Stärke von +150 mV und eine Frequenz von 1kHz hatten, können Moleküle angekoppelt werden. Beim erneuten Wegfahren von der Probe kann ausgelesen werden, ob und wenn ja wie viele Moleküle angekoppelt haben. In einigem Abstand von der Probe werden diese durch eine kurze Folge von repulsiven Spannungspulsen (-150 mV, 1kHz) wieder abgekoppelt, womit man wieder auf das Nullniveau der Kraft zurückkehrt. Im gezeigten Beispiel konnten im ersten Zyklus zwei Moleküle angekoppelt und wieder abgekoppelt werden und in den zwei Folgezyklen konnte das An- und Abkoppeln für ein einzelnes Molekül wiederholt werden.

Unter hohem experimentellen Aufwand konnte das wiederholte An- und Abkoppeln von Molekülen auch auf einer Goldelektrode gezeigt werden. Gemessen wurde wiederum mit Polyacrylsäure mit 5 mM CaSO_4 in Lösung bei pH 6, die experimentelle Vorgehensweise war dieselbe wie in dem oben diskutierten Beispiel für Platin. Ein Beispiel, in dem ein Molekül insgesamt drei mal an und wieder abgekoppelt werden konnte, ist in Abbildung 6.10 gezeigt.

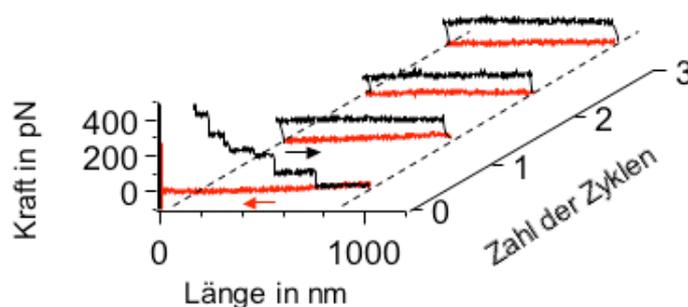


Abbildung 6.10: Wiederholtes An- und Abkoppeln eines einzelnen Polyacrylsäuremoleküls auf Gold, unter denselben experimentellen Gegebenheiten wie in Abbildung 6.9.

Insgesamt lässt sich also folgern dass es trotz einiger technischer Schwierigkeiten prinzipiell möglich ist, einzelne Moleküle über elektrische Felder an eine gegenüberliegende leitende

Oberfläche anzukoppeln und auch wieder abzukoppeln. Das Prinzip wurde zunächst mit Polyacrylsäuremolekülen auf unterschiedlichen Elektrodenmaterialien demonstriert. Während das Ankoppeln erklärbar erscheint, ist es demgegenüber schwierig, den Mechanismus des Abkoppelns zu verstehen.

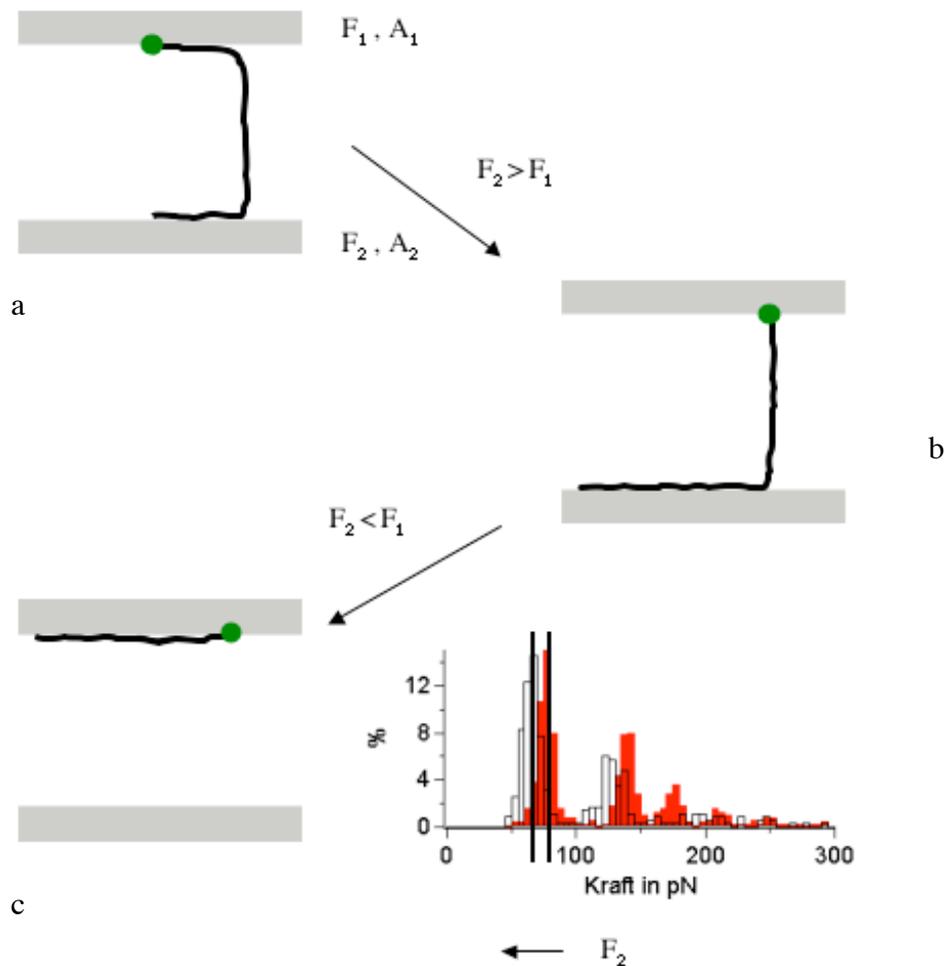


Abbildung 6.11: „Umsorption“ eines Polymers.

- Betrachtet sei ein Polymer zwischen zwei Oberflächen A_1 und A_2 , das an A_1 befestigt ist und an die beiden Oberflächen mit Kräften von F_1 bzw. F_2 bindet. Im AFM-Experiment ist die Oberfläche A_1 gegeben durch die SAM-Oberfläche an der AFM-Spitze und A_2 durch das leitende Substrat.
- Gilt $F_2 > F_1$, dann desorbiert das Polymer von A_1 und adsorbiert an A_2 .
- Wird F_2 über ein repulsives elektrisches Potential soweit herabgesetzt, dass $F_2 < F_1$ gilt, so findet eine „Umsorption“ statt: Da die Oberfläche A_1 jetzt attraktiver für das Polymer erscheint, desorbiert es von A_2 und adsorbiert auf A_1 .

In Kapitel 6.2. wurde zwar gezeigt, dass die Bindungsstärke der Polyacrylsäuremoleküle an ein Goldsubstrat durch Anlegen eines repulsiven Potentials verringert werden kann, jedoch war der Effekt für sich genommen viel zu klein, um die Desorption eines Polymers herbeizuführen. Dennoch könnte die Kraftmodulation ausreichen, wenn man berücksichtigt, dass das Polymer genauso auf dem OH-terminierten SAM an der Spitze adsorbieren kann. In Kapitel

5.2 wurde gezeigt, dass die Desorptionskraft von Polyacrylsäure auf einem OH-terminierten SAM mit CaSO_4 in Lösung etwa 50-60 pN beträgt. Die Desorptionskraft von Polyacrylsäure auf Gold liegt zwischen 70-80 pN und kann über ein repulsives externes Potential um 5-10 pN abgesenkt werden. Berücksichtigt man weiter, dass die Kraftverteilungen eine bestimmte Breite haben (≈ 10 pN) und die Metalloberflächen im allgemeinen sehr inhomogen ist, dann ist es durchaus möglich, dass durch das repulsive Potential die Bindungskraft an das Metallsubstrat soweit abgesenkt wird, dass sie kleiner wird, als die Bindungskraft an den OH-SAM. Das Polymer wird dann nach dem Prinzip die stärkere Bindung zieht die schwächere vom Metallsubstrat desorbiert und an der AFM-Spitze adsorbiert. Dieser Prozeß ist in Abbildung 6.11 dargestellt.

Die Rolle der Spannungspulse bleibt dabei jedoch zunächst im Unklaren. Möglich wäre, dass sich die Potentialverhältnisse an der Oberfläche mit jedem Spannungspuls der eine Umlagerung der adsorbierten Moleküle mit sich bringen kann leicht verändern und sich damit die Wahrscheinlichkeit erhöht, eine ausreichende Absenkung der Desorptionskraft zu erzielen. Denkbar wäre aber auch, dass das Adsorptions-/Desorptionsgleichgewicht des Polymers durch die Pulse gestört wird und dies der Desorption Vorschub leistet.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde gezeigt, dass es prinzipiell möglich ist, einzelne Moleküle unter dem Einfluss elektrischer Felder an leitende Substrate an- und wieder abzukoppeln. Die nähere Beleuchtung der Ursachen für das An- und Abkoppeln der Polymermoleküle und die Identifikation der idealen experimentellen Rahmenbedingungen werden jedoch Gegenstand der künftigen experimentellen Arbeit sein. Prinzipiell ist die hier vorgestellte Methode nicht auf eine bestimmte Art von Polyelektrolyt festgelegt. Gelingt es, die experimentelle Durchführbarkeit zu verbessern und den Anwendungsbereich zu erweitern, so eröffnet die vorgestellte Methode ein weites Gebiet an denkbaren Anwendungen (vgl. Kapitel 7).

7 Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Wege aufgezeigt, wie die Polyelektrolytadsorption auf Festkörperoberflächen untersucht und manipuliert werden kann. Es wurden Methoden vorgestellt, wie über die Variation von Umweltbedingungen verschiedene Beiträge zur Polyelektrolytadsorption identifiziert und charakterisiert werden können und wie aus den gewonnenen Ergebnissen qualitative Aussagen über die Potentiallandschaft gewonnen. Dieser Themenkomplex bietet viel Raum für Erweiterung. So können die Messungen problemlos auf andere Systeme ausgedehnt werden, interessant wären z. B. auch auf Polyelektrolyt-Multischichten, die einen interessanten Anwendungsfall der Polyelektrolytadsorption darstellen. Über die Variation weiterer Umweltparameter können die gewonnenen Ergebnisse weiter präzisiert werden. Interessant wäre es, die Desorptionskraft nicht nur bei vertikalem Ziehen zu messen, sondern auch bei Variations der anderen beiden Raumrichtungen. In diesem Fall kann die Mobilität der Polyelektrolytmoleküle auf der Unterlage getestet werden und es könnte damit u. U. auch gelingen, neben den bisher qualitativ gemachten Aussagen über das Adsorptionspotential auch quantitative zu ermöglichen.

Das in Kapitel 6 vorgestellte Manipulationsverfahren könnte im Rahmen zahlreicher Anwendungen eingesetzt werden. Denkbar wären Ansätze zur Nanostrukturierung, was v. a. im Hinblick auf DNA-Chips oder Datenspeicher interessant wäre. Möglicherweise könnte die vorgestellte Technik jedoch auch beim Aufbau einer molekularen Werkzeugkiste (in Verbindung mit Enzymen), Antriebseinheiten für molekulare Motoren oder molekulare Transportsysteme zum Einsatz kommen.

Mit den vorgestellten Aufbauten können Elektrochemie und Kraftspektroskopie kombiniert werden. Auch hier ist noch viel Raum für Erweiterung. Was z. B. in weiterführenden Messungen versucht werden kann ist ein elektrochemisches Öffnen von stärkeren Bindungen, wie Komplexbindungen oder S-Au-Bindungen. Weiter bietet sich an, die Elastizität der Polyelektrolytmoleküle durch Oxidation oder Reduktion der Ionen in Lösung zu reversibel zu verändern. Einige Ionen können elektrochemisch auch an Oberflächen abgeschieden und wieder freigesetzt werden, was als Ansatzpunkt für einen Schaltmechanismus verwendet werden kann. Außerdem ist es auch möglich, den pH-Wert elektrochemisch zu verändern. Damit ist es möglich, das Verhalten von den Systemen zu „schalten“, die auf pH-Wertänderungen reagieren. Interessant wäre in diesem Zusammenhang insbesondere, die in Abschnitt 5. 5. vorgestellten reversiblen Gleichgewicht-Nichtgleichgewichtsübergänge zu kontrollieren.

Die eben aufgeführten Vorschläge stellen nur einen kleinen Ausschnitt an denkbaren Erweiterungsmöglichkeiten dar. Mit ihren vielversprechenden Perspektiven ist zu erwarten, dass die kraftspektroskopische Untersuchung und Manipulation von Polymeren auch weiterhin von großem Interesse für künftige Forschungsarbeiten bleiben wird.

Literaturverzeichnis

- [1] F.Oosawa, 1971 *Polyelectrolytes*, Dekker: New York
- [2] H. Dautzenberg, W. Jaeger, B. P. J. Kötz, C. Seidel, D. Stscherbind 1994 *Polyelectrolytes: Formation, characterization and application* Hanser Publishers: Munich, Vienna, New York
- [3] S. Förster, M. Schmidt, 1995, *Polyelectrolyte-Solutions*, Adv. Polym. Sci. 120, 50
- [4] T. Matsumoto, Y. Adachi, 1998, *Effect of Ionic Strength on the Initial Dynamics of Flocculation of Polystyrene Latex with Polyelectrolyte*, J. Colloid Interface Sci. 204, 328-335
- [5] S Mann, 1988, *Molecular recognition in biomineralization*, Nature 332, 119-124
- [6] S. Mann, J. Webb, R. J. P. Williams, 1989, *Biomineralization: Chemical and biochemical perspectives*, VCH Weinheim
- [7] L. Addadi, S. Weiner, 1992, *Control and design principles in biological mineralization* Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 31, 153-169
- [8] L. Qi, H. Cölfen, M. Antonietti, 2000, *Morphosynthese von Bariumsulfat-Kristallen mit Hilfe von doppelhydrophilen Blockcopolymeren*, Angew. Chem. 112, 617-621
- [9] C. Tanford, 1961, *Physical Chemistry of Macromolecules*, Wiley, New York
- [10] K. S. Schmitz, 1994, *Macro-ion Characterization*, American Chemical Society, Washington
- [11] A. Shafir, D. Andelman, R. R. Netz, 2003, *Adsorption and depletion of polyelectrolytes from charged surfaces*, J. Chem. Phys. 119 (4), 2355-2362
- [12] R. R. Netz, H. Orland, 1999, *Variational Theory for a Single Polyelectrolyte Chain*, The European Physical J. B 8, 81-98
- [13] R. R. Netz, J.-F. Joanny 1999, *Complexation between a Semiflexible Polyelectrolyte and an Oppositely Charged Sphere*, Macromolecules 32 9026-9040
- [14] M. Muthukumar, 1987, *Adsorption of a polyelectrolyte chain to a charged surface*, J. Chem. Phys. 86 (12), 7230-7235
- [15] A. V. Dobryin, A. Deshkovski, M. Rubinstein, 2001, *Adsorption of Polyelectrolytes at Oppositely Charged Surfaces*, Macromolecules 34, 3421-3436
- [16] A. R. Khokhlov, K. A. Khachaturian, 1982, *On the theory of Weakly Charged Surfaces*, Polymer 23, 1742
- [17] R. R. Netz, D. Andelman, 2000, *Adsorbed and Grafted Polymers at Equilibrium*, Marcel Dekker, Inc., New York
- [18] J.-F. Joanny, M. Castelnovo, R. R. Netz, 2000, *Adsorption of charged polymers*, J. Phys: Condens. Matter 12, A1-A7
- [19] J.-L. Barrat, J.-F. Joanny, 1993, *Persistence Length of Polyelectrolyte Chains*, Europhys. Lett. 24, 333-338
- [20] C. Y. Kong, M. Muthukumar, 1998, *Monte Carlo study of adsorption of a polyelectrolyte onto charged surfaces*, J. Chem.Phys. 109 (4), 1522-1527
- [21] J. Y. Wong, J. Majewsky, M. Seitz, C. K. Park, J. N. Israelachvili, G. S. Smith, 1999, *Polymer-Cushioned Bilayers. I. A Structural Study of Various Preparation Methods Using Neutron Reflectometry*, Biophys. J. 77, 1445-1457
- [22] J. Schmitt, T. Grünwald, K. Kjaer, P. Pershan, G. Decher, M. Lösche, 1993, *The internal structure of layer-by-layer adsorbed polyelectrolyte multilayer films: a neutron and x-ray reflectivity study*, Macromolecules 26, 7058-7063

- [23] J. Rädler, I. Koltover, T. Salditt, C. R. Safinya 1997, *Structure of DNA-Cationic Liposome Complexes: DNA Intercalation in Multilamellar Membranes in Distinct Interhelical Packing Regimes*, Science 275, 810-814
- [24] P. G. Hartley, P. J. Scales, 1998, *Electrostatic Properties of Polyelectrolyte Modified Surfaces Studied by Direct Force Measurements*, Langmuir 14 6948-6955
- [25] F. Caruso, D. N. Furlong, K. Ariga, I. Ichinose, T. Kunitake, 1998, *Characterization of polyelectrolyte-protein multilayer films by atomic force microscopy, scanning electron microscopy, and Fourier transform infrared reflection-absorption spectroscopy* Langmuir 14 4559-4565
- [26] H. Clausen-Schauman, H. E. Gaub, 1999, *DNA adsorption to laterally structured charged lipid membranes*, Langmuir 15, 8246-8251
- [27] S. A. Sukhishvili, A. Dhinojwala, S. Granick, 1999, *How Polyelectrolyte Adsorption Depends on History: A Combined Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Attenuated Total Reflection and Surface Forces Study*, Langmuir 15 (24), 8474-8482
- [28] Y. Kamiyama, J. Israelachvili, 1992, *Effect of pH and Salt on the Adsorption and Interactions of an Amphoteric Polyelectrolyte*, Macromolecules 25, 5081-5088
- [29] X. Châtelier, T. J. Senden, J. M. di Meglio, 1998, *Detachment of a single polyelectrolyte chain adsorbed on a charged surface*, Europhys. Lett. 41 (3), 303-308
- [30] T. Hugel, M. Grosholz, H. Clausen-Schaumann, A. Pfau, H. E. Gaub, M. Seitz, 2001, *Elasticity of single polyelectrolyte chains and their desorption from solid supports studied by AFM based single molecule force spectroscopy*, Macromolecules 34, 1039-1047
- [31] M. Seitz, C. Friedsam, W. Jöstl, T. Hugel, H. E. Gaub, 2003, *Probing Solid Surfaces with Single Polymers*, ChemPhysChem 4, 986-990
- [32] R. P. H. Kooyman, H. Kolkman, J. Gent, J. Greve, 1988, *Surface plasmon resonance immunosensors: sensitivity considerations*, Anal. Chem. Acta 213, 35-45
- [33] S. Löfas, M. Malnqvist, I. Rönnerberg, W. Stenberg, B. Liedberg, I. Lundström, 1991, *Bioanalysis with surface plasmon resonance*, Sensors and Actuators B 5, 79-84
- [34] J. G. Duguid, V. A. Bloomfield, J. M. Benevides, G. H. Thomas Jr., 1996, *DNA melting investigated by differential scanning calorimetry and Raman spectroscopy* Biophys. J. 71, 3350-3360
- [35] S. Sharma, S. Bharadwaj, A. Surolia, S. K. Podder, 1998, *Evaluation of the stoichiometry and energetics of carbohydrate binding to Ricinus communis agglutinin: a calorimetric study*, Biochem. J. 333, 539-543
- [36] A. Kishino, T. Yanagida, 1988, *Force measurements by micromanipulation of a single actin filament by glass needles*, Nature 334 74-76
- [37] S. Weiss, 1999, *Fluorescence Spectroscopy of Single Biomolecules*, Science 283, 1676-1683
- [38] S. Kawata (ed.), 2001, *Near-Field Optics and Surface Plasmon Polaritons*, Topics in Applied Physics, Springer, Berlin
- [39] E. Evans, K. Ritchie, R. Merkel, 1995, *Sensitive force technique to probe molecular adhesion and structural linkages at biological interfaces*, Biophys. J. 68 2580-2587
- [40] G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, 1986, *Atomic force microscope*, Phys. Rev. Lett., 56, 930
- [41] G. Binnig, H. Rohrer, 1987, *Scanning Tunneling Microscopy – from birth to adolescence*, Rev. Mod. Phys., 59, 615-625
- [42] K. D. Jandt, 1998, *Developments and perspectives of scanning probe microscopy (SPM) on organic materials systems*, Mat. Sci. and Eng. R21, 5-6, 221-295

- [43] F. Ohnesorge, G. Binnig, 1993, *True atomic resolution by AFM via repulsive and attractive forces*, Science 260, 1451
- [44] R. W. Tillmann, M. Radmacher, H. E. Gaub, 1992, *Surface structure of hydrated amorphous silicon oxide at 3 Å resolution by Scanning force microscope*, Appl. Phys. Lett. 60, 3111
- [45] M. Ludwig, W. Dettmann, H. E. Gaub, 1997, *Atomic Force Imaging Contrast Based on Molecular Recognition*, Biophys. J. 72, 445
- [46] S. Manne, J. P. Cleveland, H. E. Gaub, G. D. Stucky, P. K. Hansma, 1994, *Direct Visualization of Surfactant Hemicelles by Force Microscopy of the Electrical Double Layer*, Langmuir 10, 4409
- [47] C. Möller, M. Allen, V. Elings, A. Engel, D. Müller, 1999, *Tapping-Mode Atomic Force Microscopy Produces Faithful High-Resolution Images of Protein Surfaces*, Biophys. J. 77, 1150
- [48] M. Rief, F. Oesterhelt, B. Heymann and H. E. Gaub, 1997, *Single molecule force spectroscopy on polysaccharides by AFM*, Science 275, 1295-1298
- [49] M. Wendel, H. Lorenz, J. P. Kotthaus, 1995, *Sharpened electron beam deposited tips for high resolution atomic force microscopy and imaging*, Appl. Phys. Lett. 67, 3732-3734
- [50] M. Wendel, S. Kühn, H. Lorenz, J. P. Kotthaus, 1994, *Nanolithographie with an atomic force microscope for integrated fabrication of quantum electronic devices*, Appl. Phys. Lett. 65, 1775-1777
- [51] M. Rauner, 1999, *Alles geritzt!*, Phys. Bl. 10, 14
- [52] P. Vettiger, M. Despont, U. Drechsler, U. Urig, W. Aberle, M. Lutwyche, H. Rothuizen, R. Stutz, R. Widmer, G. Binnig, 2000, *The "Millipede"-- More than one thousand tips for future AFM data storage*, IBM Journal of Research and Development, 44(3):323--340
- [53] P. Vettinger, 2000, *Millipede: Probing the Future*, Europhysics News Vol. 31 No. 1
- [54] H. Clausen-Schaumann, M. Seitz, R. Krautbauer, H. E. Gaub, 2000, *Force spectroscopy with single bio-molecules*, Curr. Opin. Chem. Biol. 4, 524-530
- [55] E. L. Florin, V. T. Moy, H. E. Gaub, 1994, *Adhesive forces between individual ligand-receptor pairs*, Science 264, 415-417
- [56] U. Dammer, M. Hegner, D. Anselmetti, P. Wagner, M. Dreier, W. Huber, H.-J. Güntherodt, 1996, *Specific antigen/antibody interactions measured by atomic force microscopy*, Biophys. J. 70 2437-2441
- [57] P. Hinterdorfer, W. Baumgartner, H. J. Gruber, K. Schilcher, H. Schindler, 1996, *Detection of localization of individual antibody-antigen recognition events by atomic force microscopy*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 3477-3481
- [58] M. Grandbois, M. Beyer, M. Rief, H. Clausen-Schaumann, H. E. Gaub, 1999, *How Strong is a Covalent Bond*, Science 283, 1727-1730
- [59] Hauke Clausen-Schaumann, Matthias Rief, Carolin Tolksdorf, and Hermann E. Gaub, 2000, *Mechanical Stability of Single DNA Molecules*, Biophys. J. 78(4), 1997-2007
- [60] P. E. Marszalek, A. F. Oberhauser, Y. P. Pang, J. M. Fernandez, 1998, *Polysaccharide elasticity governed by chair-boat transitions of the glucopyranose ring*, Nature 396, 661-664
- [61] T. Hugel, N. B. Holland, A. Cattani, L. Moroder, M. Seitz, H. E. Gaub, 2002, *Single Molecule Opto-Mechanical Cycle*, Science 296, 1103

- [62] N. B. Holland, T. Hugel, G. Neuert, D. Oesterhelt, L. Moroder, M. Seitz, H.E. Gaub, 2003, *Single Molecule Force Spectroscopy of Azobenzene Polymers: Switching Elasticity of Single Photochromic Macromolecules*, *Macromolecules* 36, 2015-2023
- [63] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, 2000, *Combined Scanning Electrochemical-Atomic Force Microscope*, *Anal. Chem.* 72, 276-285
- [64] C. E. Jones, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, 2000, *In Situ Observation of the Surface Processes Involved in Dissolution from the (010) Surface of Potassium Ferrocyanide Trihydrate in Aqueous Solution Using an Integrated Electrochemical-Atomic Force Microscope*, *J. Phys. Chem. B* 104, 2351-2359
- [65] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, 2001, *Noncontact Electrochemical Imaging with Combined Scanning Electrochemical Atomic Force Microscopy*, *Anal. Chem.* 73, 550
- [66] R. R. Netz, 2003, *Charge regulation of weak polyelectrolytes at low- and high dielectric-constant substrates*, *J. Phys.: Cond. Matter* 15, S239-S244
- [67] G. S. Manning, 1969, *Limiting Laws and Counterion Condensation in Polyelectrolyte Solutions I. Colligative Properties*, *J. Chem. Phys.* 51, 924-933
- [68] G. S. Manning, J. Ray, 1998, *Counterion condensation theory revisited*, *J. Biomol. Struct. Dyn.* 16, 461-476
- [69] J. N. Israelachvili, 1992, *Intermolecular and surface forces*, Academic Press: New York
- [70] T. Odijk, 1977, *Polyelectrolytes near the rod limit*, *J. Polym. Sci.* 15, 477-483
- [71] J. Skolnick, M. Fixman, 1977, *Electrostatic persistence length of a wormlike polyelectrolyte*, *Macromolecules* 10, 944-948
- [72] R. R. Netz, 2001, *Strongly Stretched Semiflexible Extensible Polyelectrolytes and DNA*, *Macromolecules* 34, 7522-7529
- [73] C. Ortiz, G. Hadziioanou, 1999, *Entropic Elasticity of Single Polymer Chains of Poly(methacrylic acid) Measured by Atomic Force Microscopy*, *Macromolecules* 32, 780-787
- [74] H. Li, B. Liu, X. Zhang, C. Gao, J. Shen, G. Zou, 1999, *Single-Molecule Force Spectroscopy on Poly(acrylic acid) by AFM*, *Langmuir* 15, 2120-2124
- [75] R. R. Netz, D. Andelman, 2003, *Neutral and Charged Polymers at Interfaces*, *Physics Reports* 380, 1-95
- [76] T. Hugel, 2002, *Towards Synthetic Molecular Motors Interfaced by AFM*, Doktorarbeit an der LMU München
- [77] R. R. Netz, J.-F. Joanny, 1998, *Complexation Behaviour of Polyampholytes and Charged Objects*, *Macromolecules* 31, 5123-5141
- [78] R. R. Netz, J.-F. Joanny, 1999, *Adsorption of Semiflexible Polyelectrolytes on Charged Planar Surfaces: Charge Compensation, Charge Reversal and Multilayer Formation*, *Macromolecules* 32, 9013-9025
- [79] A. G. Moreira, R. R. Netz, 2000, *Strong-coupling theory for counter-ion distributions*, *Europhysics Letter* 52, 705-711
- [80] R. R. Netz, 1999, *Debye-Hückel theory for interfacial geometries*, *Phys. Rev. E* 60, 3174-3182
- [81] L. Bergström, 1997, *Hamaker Constants of Inorganic Materials*, *Adv. Colloid Interface Sci.* 70, 125-169
- [82] H. C. Hamaker, 1937, *The London-Van der Waals Attraction between Spherical Particles*, *Physica* 4, 1058-1072
- [83] J. N. Israelachvili, R. M. Pashley, 1982, *The hydrophobic interaction is long range, decaying exponentially with distance*, *Nature* 300, 341-342
- [84] H.-D. Dörfler, 1994, *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, VCH, Weinheim

- [85] A. Werner, 1893, *Beitrag zur Konstitution anorganischer Verbindungen*, Z. Anorg. Chem. 3, 267-330
- [86] L. Pauling, 1976, *Die Natur der chemischen Bindung*, Verlag Chemie, Weinheim
- [87] J. E. Huhey, 1988, *Anorganische Chemie*, Walter de Gruyter, Berlin-New York
- [88] M. Kudera, 1996, Diplomarbeit an der LMU München
- [89] Reports on the IUPAC Convention of Electrochemistry, 1982, *Electrochim. Acta* 27, 629
- [90] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 1980, John Wiley & Sons
- [91] G. I. Bell, 1978, *Models for the specific adhesion of cells to cells*, *Science* 200 618-627
- [92] E. Evans, D. Berk, A. Leung, 1991, *Detachment of agglutinin-bonded red blood cells. I. Forces to rupture molecular-point attachments*, *Biophys. J.* 59 838-848
- [93] E. Evans, K. Ritchie, 1997, *Dynamic Strength of Molecular Adhesion Bonds*, *Biophys. J.* 72 1541-1555
- [94] S. Israilev, S. Stepaniants, M. Balsera, Y. Ono, K. Schulten, 1997, *Molecular Dynamics Study of Unbinding of the Avidin-Biotin Complex*, *Biophysical Journal* 72 1568-1581
- [95] H. Grubmüller, B. Heymann, P. Tavan, 1996, *Ligand binding: molecular mechanics calculation of the streptavidin-biotin rupture force*, *Science* 271 997-999
- [96] M. Rief, J. Pascual, M. Saraste, H. E. Gaub, 1999, *Single Molecule Force Spectroscopy of Spectrin Repeats*, *J. Mol. Biol.* 286, 553-561
- [97] R. Merkel, P. Nassoy, A. Leung, K. Ritchie, E. Evans, 1999, *Energy landscapes of receptor-ligand bonds explored with dynamic force spectroscopy*, *Nature* 397 50-53
- [98] T. Strunz, K. Oroszlan, R. Shafer, H.-J. Guntherodt, 1999, *Dynamic force spectroscopy of single DNA molecules*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 11277-82
- [99] E. Evans, F. Ludwig, 2000, *Dynamic Strength of molecular anchoring and material cohesion in fluid biomembranes*, *Phys. Condens. Matter* 12 A 315-320
- [100] D. Krüger, H. Fuchs, R. Rousseau, D. Marx, M. Parrinello, 2002, *Pulling monatomic gold wires with single molecules: An Ab Initio Simulation*, *Phys. Rev. Lett.* 89 186402-(1-4)
- [101] J.-F. Allemand, D. Bensimon, L. Jullien, A. Bensimon, V. Croquette, 1997, *pH-dependent Specific Binding and Combing of DNA*, *Biophys. J.* 73 2064-2070
- [102] N. H. Thomson, M. Fritz, M. Radmacher, C. F. Schmidt, P.K. Hansma, 1996, *Protein tracking and observation of protein motion using atomic force microscopy*, *Biophysical J.* 70 (5), 2421-2431
- [103] E. Evans, 2001, *Probing the relation between force-lifetime and chemistry in single molecular bonds*, *Annu.Rev.Biomol.Struct.* 30 105-128
- [104] E. Evans, 1999, *Looking inside molecular bonds at biological interfaces with dynamic force spectroscopy*, *Biophysical Chemistry* 82 83-97
- [105] E. Evans, 1998, *Energy landscapes of biomolecular adhesion and receptor anchoring at interfaces explored with dynamic force spectroscopy*, *Faraday Discuss.* 111 1-16
- [106] B. Heymann, H. Grubmüller, 2000, *Dynamic Force Spectroscopy of Molecular Adhesion Bonds*, *Phys. Rev. Letters* 84 6126-6129

- [107] B. Heymann, H. Grubmüller, 2001, *Molecular Dynamics Force Probe Simulations of Antibody/Antigen Unbinding: Entropic Control and Nonadditivity of Unbinding Forces*, *Biophys. J.* 81 1295-1313
- [108] B. Heymann, H. Grubmüller, 1999, *AN0w/DNP-hapten unbinding forces studied by molecular dynamics atomic force microscopy simulations*, *Chem. Phys. Lett.* 303 1-9
- [109] M. Balsera, S. Stepaniants, S. Israilev, Y. Oono, K. J. Schulten, 1997, *Reconstructing potential energy functions from simulated force-induced unbinding processes*, *Biophys. J.* 73 1281-1287
- [110] S. Boresch, M. Karplus, 1995, *The meaning of component analysis: Decomposition of the free energy in terms of specific interactions*, *J. Mol. Biol.* 254, 801-807
- [111] J. Shillcock, U. Seifert, 1998, *Escape from a metastable well under a time-ramped force*, *Phys. Rev. E* 57 7301-7304
- [112] U. Seifert, 2000, *Rupture of Multiple Parallel Molecular Bonds under Dynamic Loading*, *Phys. Rev. Lett.* 84, 2750-2753
- [113] S. A. Arrhenius, 1889, *On the Reaction Velocity of the Inversion of Cane Sugar by Acids*, *Z.Phys.Chem. (Leipzig)* 4, 226
- [114] Van't Hoff, J.H., 1884, *Etudes de Dynamiques Chimiques* (F. Muller and Co., Amsterdam), p.114
- [115] H. A. Kramers, 1940, *Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions*, *Physica (Utrecht)* 7 284
- [116] P. Hänggi, P. Talkner, M. Borkovec, 1990, *Reaction-rate theory: fifty years after Kramers*, *Reviews of Modern Physics*, Vol. 62, No.2
- [117] E. Evans, K. Ritchie, 1999, *Dynamic Strength of Molecular Adhesion Bonds*, *Biophys. J.* 76 2439-2447
- [118] L. Livadaru, R. R. Netz, H. J. Kreuzer, 2002, *Stretching Response of Discrete Semiflexible Polymers*, *Macromolecules*, submitted
- [119] R. R. Netz, D. Andelman, 2002, *Polyelectrolytes in Solution and at Surfaces*, *Encyclopedia of Electrochemistry*, M. Urbakh and E. Giladi, eds., Wiley-VCH
- [120] C. Fleck, R. R. Netz, H. H. von Grünberg, 2002, *Poisson-Boltzmann theory for membranes with mobile charged lipids and the pH-dependent interaction of a DNA molecule with a membrane*, *Biophys. J.* 82, 76
- [121] F. Oesterhelt, M. Rief, H.E. Gaub, 1999, *Single molecule force spectroscopy by AFM indicates helical structure of Poly(ethylene-glycol) in water*, *New J. of Phys.* 1 6.1-6.11
- [122] H. Tadokoro, 1990, *Structure of Crystalline Polymers* (Malabar: Krieger)
- [123] Ferdinand Kühner, 2003, *Affinitätsmessungen zwischen Aptameren und Proteinen mit Hilfe eines Kraftmikroskops (AFM)*, Diplomarbeit an der LMU München
- [124] E. P. K. Currie, A. B. Sival, G. J. Fleer, M. A. Cohen Stuart, 2000, *Polyacrylic Acid Brushes: Surface Pressure and Salt-Induced Swelling*, *Langmuir* 16, 8324-8333
- [125] U. Jonas, A. del Campo, C. Krüger, G. Glasser, D. Boos, 2002, *Colloidal assemblies on patterned silane layers*, *PNAS* 99, 5034-5039
- [126] T. Abraham, A. Kumpulainen, Z. Xu, M. Rutland, P. M. Claesson, J. Masliyeh, 2001, *Polyelectrolyte-Mediated Interaction between Similarly Charged Surfaces: Role of Divalent Counter Ions in Tuning Surface Forces*, *Langmuir* 17, 8321-8327
- [127] B. Hribar, V. Vlachy, 1997, *Evidence of Electrostatic Attraction between Equally Charged Macroions Induced by Divalent Counterions*, *J. Phys. Chem. B* 101, 3457-3459

- [128] I. Sabbagh, M. Delsanti, 2000, *Solubility of highly charged anionic polyelectrolytes in presence of multivalent cations: Specific interaction effect*, Eur. Phys. J. E 1, 75-86
- [129] R. O. Porasso, J. C. Benegas, M. A. G. T. van den Hoop, 1999, *Chemical and Electrostatic Association of Various Metal Ions by Poly(acrylic acid) and Poly(methacrylic acid) As Studied by Potentiometry*, J. Phys. Chem. B 103, 2361-236
- [130] R. Schweiss, P. B. Welzel, C. Werner, W. Knoll, 2001, *Dissociation of Surface Functional Groups and Preferential Adsorption of Ions on Self-Assembled Monolayers Assessed by Streaming Potential and Streaming Current Measurements*, Langmuir 17, 4304-4311
- [131] S. I. Mamatkulov, P. K. Khabibullaev, R. R. Netz, 2003, *Water at Hydrophobic Substrates: Curvature, Pressure and Temperature Effects*, submitted
- [132] D. Schwendel, T. Hayashi, R. Dahint, A. Pertsin, M. Grunze, R. Steitz, F. Schreiber, 2003, *Interaction of water with Self-Assembled Monolayers: Neutron Reflectivity Measurements of the Water Density in the Interface Region*, Langmuir 19 (6), 2284-2293
- [133] Y.-H. M. Chan, R. Schweiss, C. Werner, M. Grunze, 2003, *Electrokinetic Characterization of Oligo- and Poly(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers on Gold and Glass Surfaces*, Langmuir 19 (18), 7380-7385
- [134] S. Herrwerth, W. Eck, S. Reinhardt, M. Grunze, 2003, *Factors that Determine the Protein Resistance of Oligoether Self-Assembled Monolayers – Internal Hydrophilicity, and Lateral Packing Density*, J. Am. Soc., 125 (31), 9359-9366
- [135] S. L. Clark, P. T. Hammond, 2000, *The role of Secondary Interactions in Selective Electrostatic Multilayer Deposition*, Langmuir 16, 10206-10214
- [136] R. J. Hunter, *Foundations of Colloid Science*, 1986, Oxford University Press, Oxford
- [137] A. Kolics, A. Wieckowski, 2001, *Adsorption of Bisulfate and Sulfate Anions on a Pt (111) Electrode*, J. Phys. Chem. B 105, 2588-2595
- [138] M. Futamata, 2000, *Coadsorbed state of uracil, water and sulfate species on the gold electrode surface*, Chemical Physics Letters 317, 304-309
- [139] A. Bilic, J. R. Reimers, N. S. Hush, J. Hafner, 2002, *Adsorption of ammonia on the gold (111) surface*, J. of Chem. Phys. 116, 8981-8987
- [140] N. A. Lambropoulos, J. R. Reimers, 2002, *Binding to gold (0): Accurate computational methods with application to AuNH₃*, J. Chem. Phys. 116, 10277-10286
- [141] M. Futamata, 2001, *Adsorbed State of 4,4'-BiPy and BiPyH₂²⁺ on Au (111) Electrode*, J. Phys. Chem. B 105, 6933-6942
- [142] J. Wang, A. J. Bard, 2001, *Direct Atomic Force Microscope Determination of Surface Charge at the Gold/Electrolyte Interface – The Inadequacy of Classical GCS Theory in Describing the Double-Layer Charge Distribution*, J. Phys. Chem. B 105, 5217-5222
- [143] N. Korolev, A. P. Lyubartsev, A. Rupprecht, L. Nordenskiöld, 1999, *Competitive Binding of Mg²⁺, Ca²⁺, Na⁺ and K⁺ Ions to DNA in Oriented DNA Fibers: Experimental and Monte-Carlo Simulation Results*, Biophys. J. 77 (5), 2736-2749
- [144] R. Ahmad, H. Arakawa, H. A. Tajmir-Riahi, 2003, *A Comparative Study of DNA Complexation with Mg(II) and Ca(II) in Aqueous Solution: Major and Minor Grooves Bindings*, Biophys. J. 84 (4), 2460-2466
- [145] R. W. Wilson, D. C. Rau, V. A. Bloomfield, 1980, *Comparison of polyelectrolyte theories of the binding of cations to DNA*, Biophys. J. 30 (4), 317-325
- [146] Y. Burak, G. Ariel, D. Andelman, 2003, *Onset of DNA Aggregation in Presence of Monovalent and Multivalent Counterions*, Biophys. J. 85 (4), 2100-2110

- [147] N. Korolev, A. P. Lyubartsev, L. Nordenskiöld, A. Laaksonen, 2001, *Spermine: an „invisible“ component in the crystals of B-DN grand canonical Monte Carlo and molecular dynamics simulations study*, J. Mol. Biol. 308 (5), 907-917
- [148] N. Korolev, L. Nordenskiöld, 2000, *Influence of Alkali Cation Nature on Structural Transitions and Reactions of Biopolyelectrolytes*, Biomacromol. 1, 648-655
- [149] R. R. Netz, 2003, *Nonequilibrium Unfolding of Polyelectrolyte Condensates in Electric Fields*, Phys. Rev. Lett. 90 (12) 128104-1-128104-4
- [150] S. O. Kelley, J. K. Barton, N. M. Jackson, L. D. McPherson, A. B. Potter, E. M. Spain, M. J. Allen, M. G. Hill, 1998, *Orienting DNA Helices on Gold Using Applied Electric Fields*, Langmuir 14 (24), 6781-676
- [151] J. P. Cleveland, S. Manne, D. Bocek, P. K. Hansma, 1993, *A nondestructive method for determining the spring constant of cantilevers for scanning force microscopy*, Rev. Sci. Instrum. 64, 403-405
- [152] H.-J. Butt, M. Jaschke, 1995, *Calculation of thermal noise in atomic force microscopy*, Nanotechnology 6, 1-7
- [153] M. Grossholz, *Kraftmikroskopuntersuchungen der Adsorptionskräfte von Polyelektrolyten auf geladenen Oberflächen*, Diplomarbeit an der LMU München
- [154] G. Nelles, H. Schönherr, M. Jaschke, H. Wolf, M. Schaub, J. Küther, W. Tremel, E. Bamberg, H. Ringsdorf, H.-J. Butt, 1998, *Two-Dimensional Structure of Disulfides and Thiols on Gold(111)*, Langmuir 14, 808-815
- [155] H. Beyer, W. Walther, 1991, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag, Stuttgart
- [156] W. Dettmann, M. Grandbois, S. André, M. Benoit, A. Wehle, H. Kaltner, H.-J. Gabius, H. E. Gaub, *Differences in Zero-Force and Force driven Kinetics from b-Galactoside specific Proteins*, Archives of Biochemistry and Biophysics 2000, 383(2), 157
- [157] Claudia M. Kacher, Ingrid K. Weiss, Russell J. Stewart, Christoph F. Schmidt, Paul K. Hansma, M. Radmacher, M. Fritz, 2000, *Imaging Microtubules, Kinesin Decorated Microtubules Using Tapping Mode Atomic Force Microscopy in Fluids*, Europ. Biophys. J. 28, 611-620
- [158] F. Oesterhelt, D. Oesterhelt, M. Pfeiffer, A. Engel, H. E. Gaub, D. Müller, 2000, *Unfolding Pathways of Individual Bacteriorhodopsins*, Science, 288, 143-146
- [159] M. Hegner, P. Wagner and G. Semenza, 1993, *Immobilizing DNA on gold via thiol modification for atomic force microscopy imaging in buffer solutions*, FEBS Lett., 336, 452-456
- [160] M. Conti, Y. Bustanji, G. Falini, P. Ferruti, S. Stefoni, B. Samorì, 2001, *The desorption process of macromolecules adsorbed on interfaces: the force spectroscopy approach*, ChemPhysChem 2(10), 610-613
- [161] C. D. Frisbie, L. F. Rozsnyai, A. Noy, M. S. Wrighton, C. M. Lieber, 1994, *Functional Group Imaging by Chemical Force Microscopy*, Science, 265, 2071-2073
- [162] D. V. Vezenov, A. Noy, L. F. Rozsnyai, C. M. Lieber, 1997, *Force Titrations and Ionization State Sensitive Imaging of Functional Groups in Aqueous Solutions by Chemical Force Microscopy*, J. Am. Chem. Soc. 119, 2006-2015
- [163] A. Noy, D. V. Vezenov, C. M. Lieber, 1997, *Chemical force microscopy*, Ann. Rev. Mat. Sci. 27, 381-421
- [164] R. C. Thomas, P. Tangyonyong, J. E. Houston, T. A. Michalske, R. M. Crooks, 1994, *Chemically Sensitive Interfacial Force Microscopy: Contact Potential Measurements of Self-Assembling Monolayer Films*, J. Phys. Chem. 98, 4493-4495
- [165] T. Nakagawa, K. Ogawa, T. Kurumizawa, S. Ozaki, 1993, *Discriminating Molecular Length of Chemically Adsorbed Molecules Using an Atomic Force Microscopy*

- cope Having a Tip Covered with Sensor Molecules (An Atomic Force Microscope Having Chemical Sensing Function)*, Jpn. Appl. Phys. 32, L294-L296
- [166] R. G. Nuzzo, D. L. Allara, 1983, *Adsorption of Bifunctional Organic Disulfides on Gold Surfaces*, J. Am. Chem. Soc., 105, 4481-4483
- [167] L. H. Dubois, R. G. Nuzzo, 1992, *Synthesis, structure, and properties of model organic surfaces*, Annu. Rev. Phys. Chem. 43, 437-462
- [168] G. M. Whitesides, P. E. Laibinis, 1990, *Wet chemical approaches to the characterization of organic surfaces: self-assembled monolayers, wetting, and the physical-organic chemistry of the solid-liquid interface*, Langmuir 6, 87-96
- [169] A. Ulman, 1996, *Formation of Self-Assembled Monolayers*, Chem. Rev. 96, 1533-1554
- [170] A. Barrat, P. Silberzan, L. Bourdieu, D. Chatenay, 1992, *How are the wetting properties of silanated surfaces affected by their structure? An atomic-force microscopy study*, Europhys. Lett. 20, 633
- [171] P. Silberzan, L. Léger, D. Ausserré, J. J. Benattar, 1991, *Silanation of silica surfaces. A new method of constructing pure or mixed monolayers*, Langmuir 7, 1647
- [172] C. T. Tripp, M. L. Hair, 1992, *An Infrared Study of the Reaction of Octadecyltrichlorosilane with Silica*, Langmuir 8, 1120-1126
- [173] D. L. Angst, G. W. Simmons, 1991, *Moisture absorption characteristics of organosiloxane self-assembled monolayers*, Langmuir 7, 2236-2241
- [174] M. Rief, 1997, *Kraftspektroskopie an einzelnen Molekülen*, Doktorarbeit an der LMU München
- [175] P. J. Flory, 1988, *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, München: Hanser
- [176] M. Rief, M. Gautel, F. Oesterhelt, J.M. Fernandez, H.E. Gaub, 1997, *Reversible Unfolding of individual titin Ig-domains by AFM*, Science 275 1295-1298
- [177] S. B. Smith, Y. Cui, C. Bustamante, 1996, *Overstretching B-DNA- The Elastic Response of Individual dsDNA and ssDNA Molecule* Science 271, 795-798
- [178] P. Cluzel, A. Lebrun, C. Heller, R. Lavery, J-L Vivoy, D. Chateny, F. Caron, 1996, *DNA: an extensible molecule*, Science 271 792-794
- [179] M. Rief, J.M. Fernandez, H.E. Gaub, 1998, *Elastically Coupled Two-Level-Systems as a Modell for Biopolymer Extensibility*, Phys. Rev. Lett. 81, 4764-4767
- [180] P. J. Flory, 1953, *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University, Ithaca
- [181] O. Kratky, G. Porod, 1949, *Röntgenuntersuchungen gelöster Fadenmoleküle*, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 68, 1106-1123
- [182] H. Clausen-Schaumann, 2000, *Adressierung und Strukturierung von Biomolekülen auf der Nanometerskala*, Doktorarbeit an der LMU München
- [183] L. D. Landau, E. M. Lifschitz, 1991, *Lehrbuch der theoretischen Physik, vol. 7*, 7 ed. Berlin: Akademie Verlag
- [184] M. Doi, S. F. Edwards, 1995, *The Theorie of Polymer Dynamics*, Oxford: Clarendon Press
- [185] J. F. Marko, E. D. Siggia, 1995, *Stretching DNA*, Macromolecules 28, 8759-8770
- [186] C. Bustamante, J. F. Marko, E. D. Siggia, S. Smith, 1994, *Entropic Elasticity of \square -Phage DNA*, Science 265, 1599-1600

Anhang

Inhaltsverzeichnis

1	GRUNDLAGEN DER KRAFTSPEKTROSKOPIE.....	2
1.1	FUNKTIONSPRINZIP.....	2
1.2	EICHUNG DER FEDERKONSTANTEN.....	3
1.3	KRAFT-ABSTANDSKURVEN.....	4
1.4	PRÄPARATION DER AFM - SPITZEN UND DER OBERFLÄCHEN.....	6
1.4.1	<i>Silanisierung von Glasoberflächen</i>	6
1.4.2	<i>SAMs auf Goldoberflächen</i>	7
1.4.3	<i>Aktivesterchemie</i>	8
1.4.4	<i>Protokolle für die Präparation der Spitzen und Proben</i>	10
2	VORTEILE UND PROBLEME VON LANGZEITMESSUNGEN.....	12
2.1	SILANBASIERTE SPITZENFUNKTIONALISIERUNG.....	14
2.2	THIOLBASIERTE SPITZENFUNKTIONALISIERUNG.....	15
3	ELEKTROCHEMISCHE MESSUNGEN.....	18
3.1	ELEKTRONENTRANSFER.....	18
3.2	ZYKLISCHE VOLTAMETRIE.....	19
3.3	FAKTOREN, DIE DIE REAKTIONSRATE AN DER ELEKTRODE BEEINFLUSSEN.....	20
3.4	HERSTELLUNG DER ELEKTRODEN.....	21
3.5	CHARAKTERISIERUNG DER ELEKTRODEN.....	22
4	POLYMERMODELLE.....	23
4.1	DIE FREI VERBUNDENE KETTE (FJC-MODELL).....	23
4.2	EINFLUSS DES LÖSUNGSMITTELS.....	26
4.3	DIE SEMIFLEXIBLE KETTE (WLC-MODELL).....	26
4.4	WEITERENTWICKLUNGEN DER VORGESTELLTEN POLYMERMODELLE.....	28
5	VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN.....	29

Anhang

1 Grundlagen der Kraftspektroskopie

1.1 Funktionsprinzip

Das Kraftspektroskop misst nach folgendem Prinzip (Abbildung A.1): Zwischen einer an der Blattfeder angebrachten mit atomaren Dimensionen vergleichbaren Spitze und einem Substrat können die Moleküle eingespannt werden, die den Gegenstand der experimentellen Untersuchungen darstellen. Über ein Piezostellelement kann der Abstand zwischen Blattfeder und Substrat mit nm-Präzision variiert werden. Dabei auftretende mechanische Wechselwirkungen werden über die Spitze in eine Auslenkung der Blattfeder übersetzt. Wird die Blattfeder z. B. auf das Substrat gedrückt, so wird sie nach oben ausgelenkt. Ist hingegen ein Molekül zwischen der Spitze der Blattfeder und dem Substrat eingespannt, so wird dieses beim Wegfahren vom Substrat gestreckt und übt eine Kraft auf die Blattfeder aus, die dadurch nach unten ausgelenkt wird.

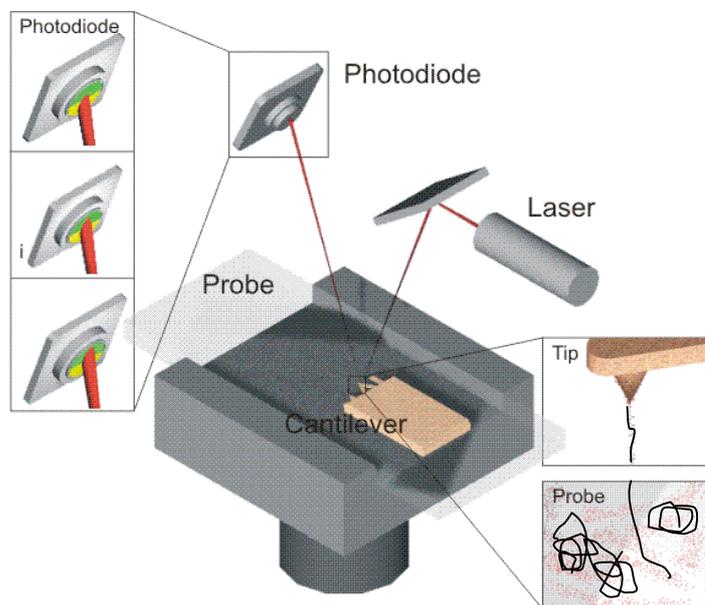


Abbildung A.1: Funktionsprinzip der Kraftspektroskopie.

Die Auslenkung der Blattfeder wird durch einen von der Rückseite reflektierten Laserstrahl vergrößert, der seinerseits auf eine positionsempfindliche Zweisegment-Photodiode trifft. Im Ruhezustand (Auslenkung = 0) ist die Differenz zwischen den beiden Segmenten der Photodiode gleich Null. Wird die Feder dagegen ausgelenkt, so nimmt das Differenzsignal einen Wert ungleich Null an, der für kleine Auslenkungen proportional zur Federauslenkung ist und bei Kenntnis der Federkonstanten k in einen Kraftwert umgerechnet werden kann. Im Folgenden wird erklärt, wie dies erreicht wird.

1.2 Eichung der Federkonstanten

Die Eichung der Blattfeder wurde über die Methode des thermischen Rauschens [151, 152] vorgenommen, welche einen vergleichsweise präzisen Wert der Federkonstante liefert und bequem vor oder nach dem eigentlichen Experiment durchgeführt werden kann.

Die Bewegung der unbelasteten Feder ist näherungsweise auf eine Raumrichtung beschränkt. Die von den Moleküle in der Umgebung an die Feder übertragene Energie übersetzt sich somit im Wesentlichen in eine lineare Bewegung der Feder in z -Richtung. Aus dem Gleichverteilungssatz der Thermodynamik folgt:

$$\frac{k_B * T}{2} = \frac{k}{2} * \langle x^2 \rangle \quad (\text{A.1})$$

Als Unbekannte soll in dieser Gleichung die Federkonstante k ermittelt werden. Die Temperatur T kann als bekannt angenommen werden; das mittlere Auslenkungsquadrat $\langle x^2 \rangle$ kann aus der Fouriertransformierten des Frequenzspektrums der Blattfeder bestimmt werden, welche sich folgendermaßen berechnet:

$$\frac{1}{T} * \tilde{x}(\omega) * \tilde{x}^*(\omega) \quad (\text{A.2})$$

Dabei ist T die Zeitdauer, in der das Spektrum aufgenommen wurde und $\tilde{x}(\omega)$ die Fouriertransformierte von $x(t)$.

Für $T \rightarrow \infty$ gilt:

$$\langle x^2 \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T \dot{x}(\tau) * \dot{x}^*(\tau) d\tau \quad (\text{A.3})$$

woraus sich $\langle x^2 \rangle$ berechnen läßt.

Die folgende Abbildung zeigt das Powerspektrum einer AFM- Blattfeder. Bei der Aufnahme eines solchen Spektrums ist besonders darauf zu achten, dass die Feder weit entfernt von der Probe frei schwingen kann und Störungen etwa durch das Rauschen laufender Geräte oder Umgebungslärm möglichst gering gehalten werden.

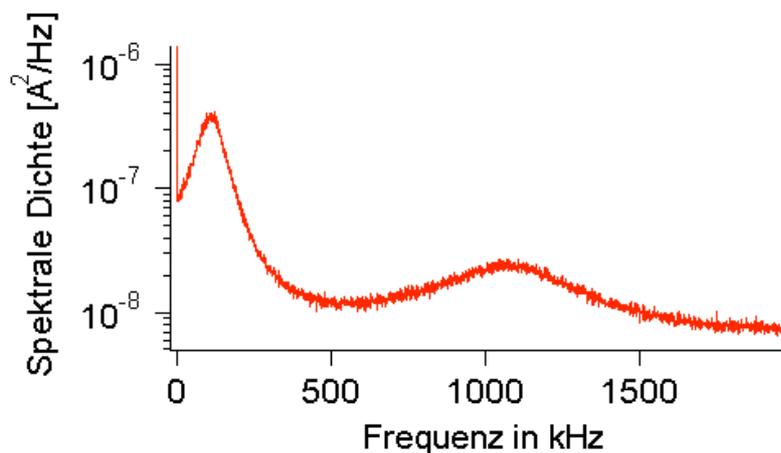


Abbildung A.2: Powerspektrum einer AFM-Blattfeder.

Hat man $\langle x^2 \rangle$ bestimmt und berücksichtigt man ferner, dass man nicht die Auslenkung der Blattfeder, sondern bedingt durch die verwendete Lichtzeigermethode deren Verbiegung misst, dann lässt sich k bestimmen aus [152]:

$$k = 0,8 \frac{k_B T}{\langle x^2 \rangle} \quad (\text{A.4})$$

1.3 Kraft-Abstandskurven

In Abbildung A.3 ist eine Messkurve gezeigt, wie sie unmittelbar im Experiment aufgenommen wurde. Das Diagramm zeigt das aufgenommene Diodensignal aufgetragen über dem Piezofahrweg. Beim Annähern an die Probe (1) erfährt die Feder abgesehen vom hydrody-

namischen Widerstand keine Auslenkung. Der gebogene Teil in der Kurve (2) spiegelt die Weichheit und Dicke der Probe wider; bei weiterem Eindringen wird die Feder nach oben gedrückt, was im Diagramm einer negativen Auslenkung entspricht.

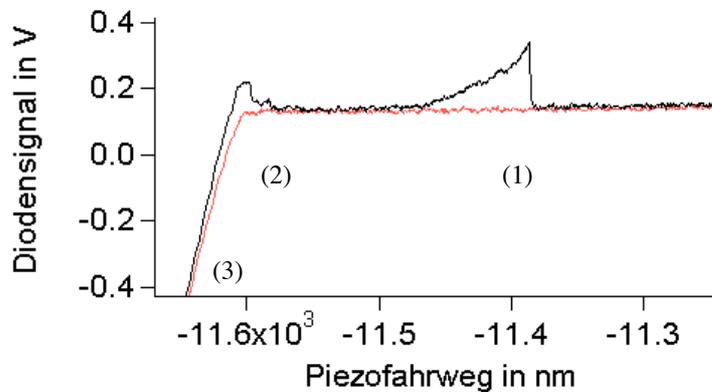


Abbildung A.3: Diodensignal aufgetragen gegen Piezofahrweg (Rohdaten).

Im linearen Teil der Eindrückung ändert sich der Abstand Spitze-Probe nicht mehr, die Feder wird also praktisch aus der Ruhelage ausgelenkt. Die Steigung der Geraden gibt damit an, wieviele mV Diodensignal wievielen Å Auslenkung entsprechen. Um den tatsächlichen Abstand a zwischen Spitze und Probe zu ermitteln, muss man vom Piezofahrweg z die Auslenkung der Feder abziehen:

$$a = z - s \cdot ph_{a-b} \quad (\text{A.5})$$

s ist dabei die Steigung der Eindrückkurve und ph_{a-b} repräsentiert das Photodiodensignal in V. Die gemessene Kraft ergibt sich aus $F = k \cdot x = ph_{a-b} \cdot k/s$. Bei Kenntnis der Federkonstanten k lässt sich damit die Diodensignal-Piezofahrweg-Kurve in eine Kraft-Abstands-Kurve umrechnen (Abbildung A.4).

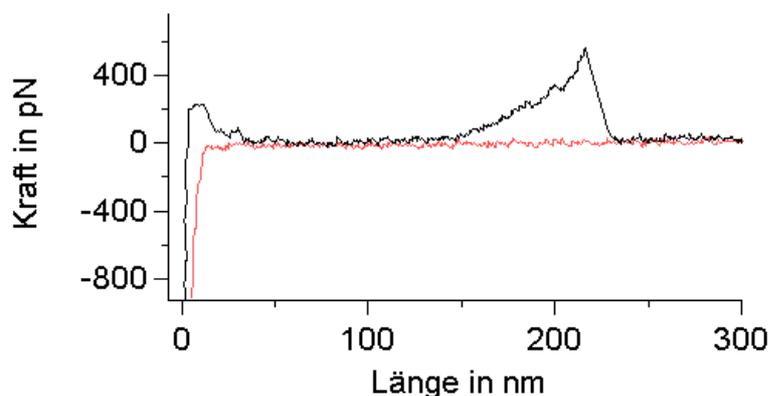


Abbildung A. 4: Kraft-Abstandskurve.

1.4 Präparation der AFM - Spitzen und der Oberflächen

1.4.1 Silanisierung von Glasoberflächen

Da die meisten Polymere nicht unmittelbar an Glas binden, ist es notwendig, ein Bindeglied zwischen diesen beiden Komponenten zu finden, daß eine kovalente Kopplung der Polymere an die Spitze bzw. die Unterlage ermöglicht. Beliebte Koppler dieser Art stellen Silane dar, die am einen Ende hydrolysierbare Gruppen besitzen, die die Bindung an die OH-Gruppen des Glases vermitteln und die am anderen Ende einen organischen Rest unterschiedlichster Art tragen können, der die Bindung an das Polymer bewerkstelligt.

Der Vorgang des Silanisierens soll im Folgenden exemplarisch anhand von N-[3-(Trimethoxysilyl)propyl]diethylentriamin (Abbildung A.5) dargestellt werden [153]. Dieses Silan trägt als hydrolysierbare Gruppen drei Methoxygruppen und bindet über das Amin an das jeweilige Polymer.

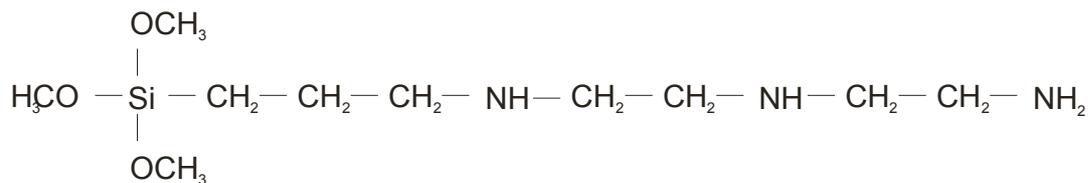
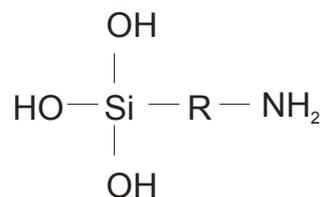
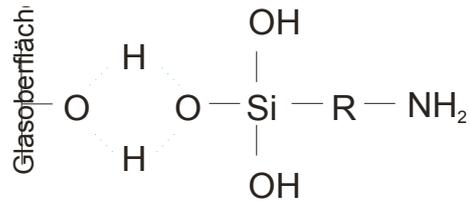


Abbildung A.5: Struktur von N-[3-[Trimethoxysilyl]propyl]diethylentriamin

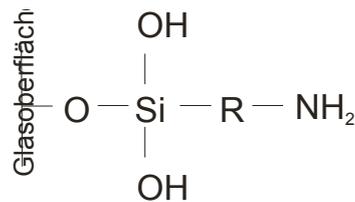
Die Bindung an das Glas läuft dabei nach folgendem Schema ab: In einem ersten Schritt werden die Methoxygruppen hydrolysiert:



Daraufhin kann sich das Silan unter Ausbildung von Wasserstoffbrücken an der Glasoberfläche anlagern:



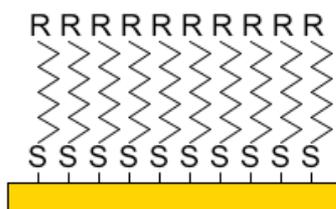
Bei Energiezufuhr (heizen) bindet das Silan schließlich unter Wasserabspaltung an das Glas:



Die verwendeten Silane besitzen eine gewisse Tendenz zur Polymerisation und bilden ein ausgedehntes Netzwerk auf der Unterlage, was dem System jedoch auch den Vorteil größerer Stabilität bietet. Nachteil ist, dass sich durch die Silanpolymere Störungen im Experiment ergeben können.

1.4.2 SAMs auf Goldoberflächen

Alkanthiole verfügen über die Eigenschaft auf Goldoberflächen hochgeordnete selbstorganisierende Monoschichten (self-assembled monolayers, SAMs) zu bilden [154]. Die Struktur der SAMs ist das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels verschiedener Wechselwirkungen, als wichtigste sind zu nennen die Bindung der Thiolgruppe an das Substrat, die intermolekulare Wechselwirkung zwischen den Alkanketten (van der Waals und hydrophobe Wechselwirkungen) und die thermisch induzierte Bewegung der Kopfgruppen. In Abbildung A.6 ist die Struktur eines solchen SAMs skizziert.



R = CH₃, OH, COOH, NH₃, ...

Abbildung A.6: Struktur eines aus Alkanthiolen gebildeten SAMs

SAM zeichnen sich durch eine hohe mechanische Stabilität aus. Die Bindungsenergie an das Substrat beträgt ca. 120 kJ/mol [154] und garantiert eine hinreichende Langzeitstabilität. Da die Kopfgruppe variiert werden kann, sind sie außerdem sehr vielseitig verwendbar. Ein weiterer Vorteil ist, dass SAMs in Wasser eine kristalline Struktur bilden, was hilfreich ist, wenn der Einfluss der sehr schmutzanfälligen Goldunterlage minimiert werden soll.

Zu beachten ist, dass die Kettenlänge ein wichtiger Faktor für die Ausbildung einer stabilen geordneten Struktur ist. Bei sehr kurzen Thiolen wie z. B. Mercaptoethylamin kann es zu ungeordneten, partiell instabilen Strukturen kommen, während längererkettige Alkane von zehn oder mehr Kohlenstoffatomen in der Kette unkompliziert zu handhaben sind und mit einer hohen Erfolgsquote zu einer geordneten Struktur führen. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung A.7 dargestellt.

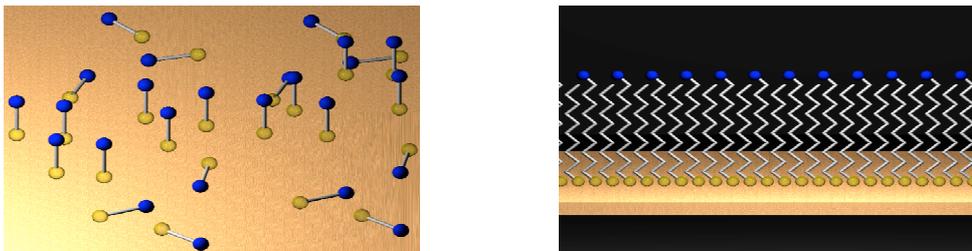


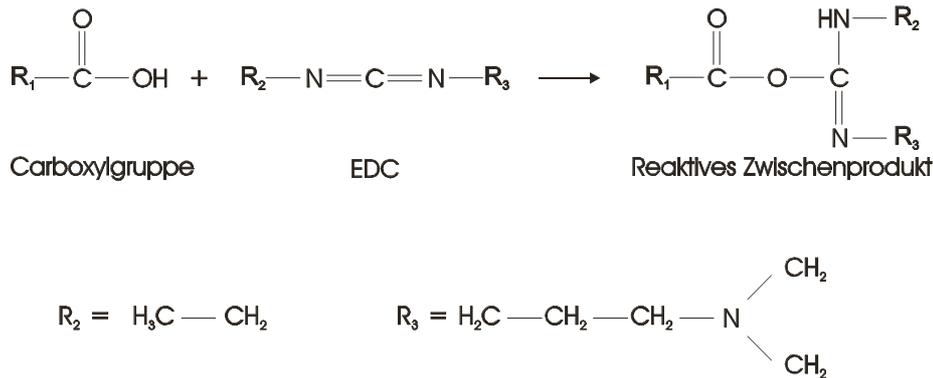
Abbildung A.7: Zusammenhang zwischen der Kettenlänge der Alkanthiole und der Struktur der SAMs

- a) Bei Verwendung von sehr kurzen Kohlenstoffketten kann es passieren, dass die Moleküle sich ungeordnet an die Goldoberfläche anlagern.
- b) Ab ca. 10 Kohlenstoffatomen in der Kette ist die Wahrscheinlichkeit, dass sich eine geordnete Struktur ausbildet sehr hoch.

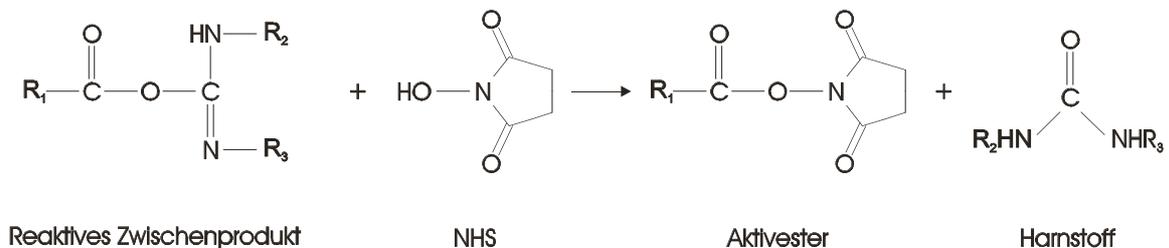
1.4.3 Aktivesterchemie

Der Zusammenbau der verwendeten Systeme wurde in den meisten Fällen über Peptidbindungen gebildet aus einer Carboxylgruppe und einer Aminogruppe bewerkstelligt.

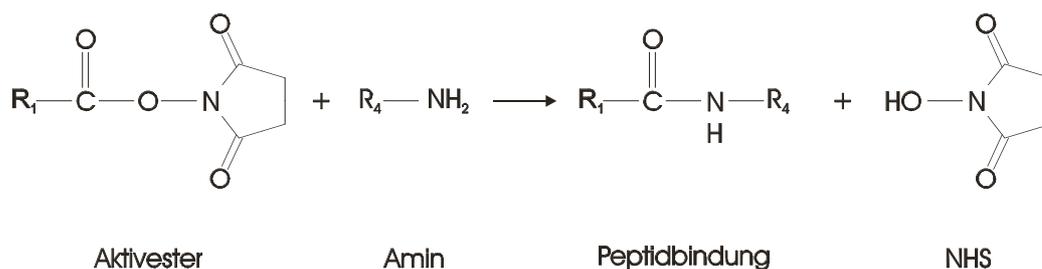
Dies ist jedoch eine Reaktion, die nicht ohne weiteres spontan abläuft; vielmehr muß die Carboxylgruppe in ein aktiviertes Derivat übergeführt werden. Dies geschieht standardmäßig unter Verwendung von N-ethyl-N'-(dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) (155) und läuft nach folgendem Schema ab:



Das dabei entstehende Acylisoharnstoffderivat ist jedoch in wäßriger Lösung höchst instabil (Halbwertszeit < 1min) da es extrem hydrolyseanfällig (153) ist. Deshalb stabilisiert man es durch Reaktion mit N-Hydroxysuccinimid (NHS) zu einem Aktivester:



Als Nebenprodukt entsteht dabei Harnstoff. Der Aktivester kann nun mit einem primären Amin unter Freisetzung von Hydroxysuccinimid eine kovalente Amidbindung eingehen:



Durch die Aktivesterbildung wird das reaktive Zwischenprodukt zwar beträchtlich stabiler, doch auch hier tritt Hydrolyse als Konkurrenzreaktion auf. Die Hydrolyserate kann jedoch über Temperatur und pH beeinflusst werden: sie nimmt bei höherer Temperatur und alkalischerem pH-Wert zu. Andererseits muß berücksichtigt werden, daß die Reaktion mit dem Amin eine deprotonierte Aminogruppe und damit einen alkalischeren pH-Wert erfordert. Als optimale Lösung erwies sich ein physiologischer pH-Wert von 7,4, eingestellt über PBS : Die

Halbwertszeit für den NHS-Ester liegt bei einigen Stunden (153), die Reaktionszeit mit dem Amin beträgt einige Minuten.

1.4.4 Protokolle für die Präparation der Spitzen und Proben

1.4.4.1 Silanbasierte Spitzenfunktionalisierung

Funktionalisierung mit Polyvinylamin:

Dazu wurde die Spitze für ca. 30s in (3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilan gegeben, anschließend in Toluene und Wasser gewaschen und für ca. 30 min bei 80° C in den Ofen gegeben. Daraufhin wurde die Spitze für 10 min in eine Lösung mit Polyvinylamin gegeben (10 mg/ml) und anschließen über Nacht in einer 5%igen Ammoniaklösung gelagert, um die überschüssigen Epoxygruppen abzusättigen.

Funktionalisierung mit Polyacrylsäure

Die Spitze wurde in diesem Fall für 30 min bei 90° C in eine Lösung von N-[3-(Trimethoxysilyl)propyl]diethylentriamin gegeben, anschließend in Ethanol und Wasser gewaschen und nocheinmal für 15 min bei 110° in den Ofen gegeben. Anschließend wurden die Spitzen für 30 min in eine Lösung von Polyacrylsäure (5 mg) in PBS (1ml) gegeben, die 10 µl einer Stammlösung aus 1 ml PBS mit 3 mg NHS und 15 mg EDC enthielt und im Anschluss daran in PBS gewaschen und für einige Stunden in einer 1mM Lösung von EDTA gelagert, die Spuren von NaCl enthielt, um zweiwertige Ionen einzufangen, die möglicherweise während der Präparation an die Polyacrylsäure gebunden haben könnten.

1.4.4.2 Thiolbasierte Spitzenfunktionalisierung

Präparation der SAMs:

Zunächst wurden die AFM-Spitzen in einer Hochvakuumanlage goldbedampft (100 Å CrNi als Haftvermittler, dann 300-400 Å Gold). Vor der Beschichtung mit den SAMs wurden die Spitzen in einer Lösung aus Wasser, Ammoniak (30 %) und Wasserstoffperoxid (30%) (5:1:1, Vorsicht: sehr ätzend!) für ca 1-2 Stunden im Ofen bei 70° gereinigt. Daraufhin wurden sie in Milli-Q Wasser gewaschen und sofort für ca. 24 Stunden in eine Lösung von 100 ml Ethanol (puriss. 98%) gegeben, die 0,5 mM Mercaptoundecanol und 0,5 mM Mercaptohexadecansäu-

re enthielt. Als Ergebnis sollte die Spitze mit einem 1:1 SAM aus OH- und COOH-terminierten Alkanketten beschichtet sein.

Funktionalisierung mit Polyallylamin:

Unmittelbar im Anschluss an die SAM-Funktionalisierung wurden die Spitzen für 30 min in eine Lösung aus Polyallylamin (6 μ l of a 20% Polyallylaminlösung) in PBS (1ml) gegeben, die 10 μ l einer Stammlösung aus 1 ml PBS mit 3 mg NHS und 15 mg EDC enthielt. Im Anschluss daran wurde die Spitze gründlich in PBS gewaschen und nach Möglichkeit sofort im Experiment verwendet.

Funktionalisierung mit DNA:

Unmittelbar im Anschluss an die SAM-Funktionalisierung wurden die Spitzen für ca. 24 Stunden in einer Lösung aus DNA (1 μ l aus einer Lösung mit 100 μ g/ml einer 1 kB langen Titin-DNA) in PBS (10 μ l aus einer Stammlösung aus 1 ml PBS mit 3 mg NHS und 15 mg EDC) gelagert. Im Anschluss daran wurde die Spitze gründlich in PBS gewaschen und sofort im Experiment verwendet.

Funktionalisierung mit Polyacrylsäure:

Um die Spitzen mit Polyacrylsäure zu funktionalisieren, muss noch ein zusätzlicher Präparationsschritt eingeführt werden, da die COOH-Gruppen des SAMs an der Spitze zunächst in Amingruppen konvertiert werden müssen, die dann an die COOH-Gruppen der Polyacrylsäure anbinden können. Dazu wurden die SAM-beschichteten Spitzen für ca. 24 h in eine Lösung aus 200 ml Ethylendiamine, 22 mg NHS, 50 mg EDC und 900 ml PBS gegeben. Danach wurden die Spitzen für 30 min in eine Lösung von Polyacrylsäure (5 mg) in PBS (1ml) gegeben, die 10 μ l einer Stammlösung aus 1 ml PBS mit 3 mg NHS und 15 mg EDC enthielt und im Anschluss daran in PBS gewaschen und für einige Stunden in einer 1mM Lösung von EDTA gelagert, die Spuren von NaCl enthielt, um zweiwertige Ionen einzufangen, die möglicherweise während der Präparation an die Polyacrylsäure gebunden haben könnten.

1.4.4.3 Präparation der Oberflächen

- Kalzit wurde vor dem Experiment gespalten und gründlich mit Milli-Q-Wasser gewaschen.

- Die SAMs auf den Oberflächen wurden analog zu den SAMs auf den Spitzen hergestellt, wobei jeweils 1 mM des jeweiligen Alkanthiols in Lösung gegeben wurde.
- Gold wurde jeweils unmittelbar vor dem Experiment gereinigt, nach der unter A.1.4.4.2. angegebenen Prozedur oder elektrochemisch in 0.5 M H₂SO₄ gereinigt, Platin wurde analog behandelt.
- Mica wurde unmittelbar vor dem Experiment gespalten
- Glass wurde in Ethanol mit KOH gesättigt für ca. 15 min im Ultraschallbad gereinigt.

2 Vorteile und Probleme von Langzeitmessungen

Wichtig für statistische Messungen ist neben der Homogenität auch die Langzeitstabilität der Probe, da sich nur so hinreichend viele Datenpunkte gewinnen lassen, um eine aussagekräftige Datenanalyse zu ermöglichen. Dies ist insbesondere auch ein wichtiger Punkt für die Messungen, die im Rahmen dieser Arbeit getätigt wurden, die darauf abzielen, mittlere Desorptionskräfte unter unterschiedlichen Umweltbedingungen zu bestimmen, was eine Vielzahl an Datenpunkten erfordert.

Wenn es möglich ist, viele Messungen mit ein und derselben Spitze zu bewerkstelligen, können Veränderungen *in situ* erfasst werden und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird erheblich gesteigert, da Abweichungen, die auf unterschiedliche Probenpräparationen zurückzuführen sind damit eliminiert werden. Dies ist einerseits ein wesentlicher Vorteil, wenn es um die Messung von Kräften geht, da hier z. T. Abweichungen, die sich aus der Kalibrierung der Spitzen ergeben vermieden werden können. Andererseits ist dies jedoch noch viel wesentlicher, wenn es um die Vermessung von Längen geht: Da der Großteil der untersuchten Polymere eine Vielzahl an möglichen Bindungsstellen hat, die kovalente Bindungen an die Spitze eingehen können, binden die Moleküle i. allg. von Präparation zu Präparation sehr unterschiedlich. Die Verteilung der Längen der freien Enden, die im Experiment auftritt, kann dabei sehr unterschiedlich sein. Damit wird es äußerst schwierig, Längenänderungen, die mit der Änderung von Umweltbedingungen einhergehen von Längenänderungen zu trennen, die von den unterschiedlichen Probenpräparationen herrühren, wenn die Messungen separat mit unterschiedlichen Spitzen durchgeführt werden müssen.

Einen Überblick über die wichtigsten Schwierigkeiten, die Langzeitmessungen entgegenstehen können gibt Abbildung A.8.

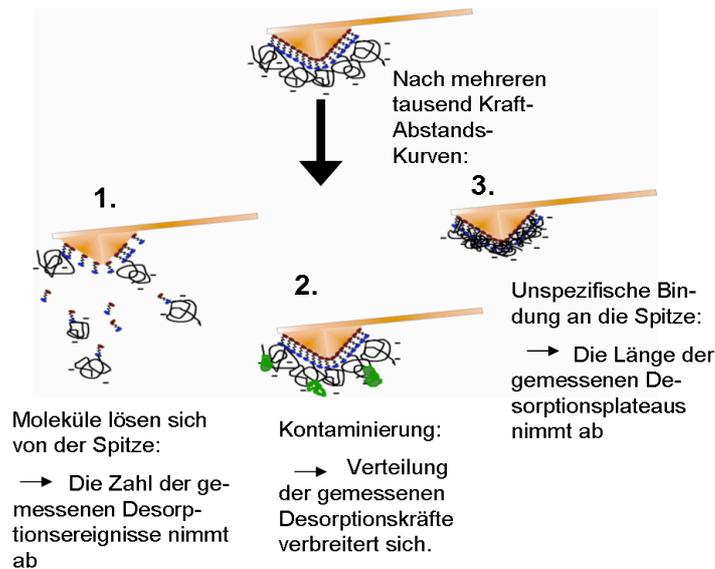


Abbildung A.8.:

Probleme in Verbindung mit Langzeitmessungen und ihre Auswirkungen auf die Messergebnisse in Desorptionsexperimenten

Zunächst muss sichergestellt werden, dass die Moleküle auch wirklich kovalent an der Spitze angebunden sind. Anderenfalls könnten sie sich im Verlauf der Messung ablösen, was sich in der Messung durch eine Verringerung der Bindungsereignisse bemerkbar macht. Häufig kommt es vor, dass Verunreinigungen entweder von vornherein vorhanden sind oder sich während der Messung einstellen, was dazu führt, dass sich die Verteilung der gewonnenen Datenpunkte verbreitert. Was vor allem zu beachten ist, ist die Tatsache, dass die Polymere während der Messung unspezifisch an die Spitze anbinden können. Dem wird insbesondere dadurch Vorschub geleistet, dass die Spitze wiederholt auf das Substrat gepresst wird. In den Messdaten schlägt sich dies u. a. durch eine Reduktion der Polymerlänge nieder. Anhand der Analyse der Messdaten kann also auch eine Aussage über die Stabilität des betrachteten Systems gemacht werden. Zu beachten ist jedoch, dass die hier aufgeführten Beobachtungen lediglich Ausschlusskriterien für die angeführten Degradierungsszenarien sind und nicht umgekehrt aus einer dieser Beobachtungen auf einen bestimmten Degradierungsvorgang geschlossen werden kann. Typischerweise sind die in Desorptionsexperimenten gefundenen Kräfte etwa eine Größenordnung kleiner, als die Bindungskräfte kovalenter Bindungen. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass die kovalenten Bindungen im Polymerrückgrat während der gesamten Messung intakt bleiben. Folglich sollten auch die gefundenen maximalen Desorptionslängen für definierte Umweltbedingungen konstant bleiben, sofern keine Moleküle von der Spitze desorbieren oder im Verlauf des Experimentes unspezifisch an diese gebunden werden. Die Verteilungen der gemessenen Desorptionskräfte sind für die meisten Umweltbedingungen schmale Gaussverteilungen, weshalb auch Verunreinigungen, die diese

Verteilungen verfälschen, klar erkannt werden können. Desorptionsexperimente im Rahmen von AFM-Experimenten sind damit an sich eine geeignete Methode, um die oben aufgeführten Degradierungsszenarien auszuschließen und damit die Langzeitstabilität von Polymerbeschichtungen zu nachzuweisen.

Im Folgenden werden verschiedene Strategien diskutiert, die diesen Degradierungseffekten wirksam entgegenzutreten sollen. Ihre Funktionalität wird, wie oben vorgeschlagen im Rahmen eines Langzeitdesorptionsexperimentes überprüft.

2.1 Silanbasierte Spitzenfunktionalisierung

Ein sehr geläufiger Ansatz, der eine kovalente Anbindung von Polymermolekülen an die AFM-Spitze ermöglicht, ist die Silanisierung der Siliziumnitridoberfläche der Spitze [58, 156, 157, 30, 31]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit zwei verschiedenen Silanen, einem Amino- und einem Epoxysilan gearbeitet, die auf die kovalente Ankopplung der Polymere über COOH- bzw. NH₂-Gruppen abzielen. In beiden Fällen konnte die Funktionalisierung zwar erfolgreich durchgeführt werden, es ließen sich jedoch häufiger Charakteristika von Degradierungseffekten beobachten. Ein Beispiel dafür ist in Abbildung A.9 gezeigt.

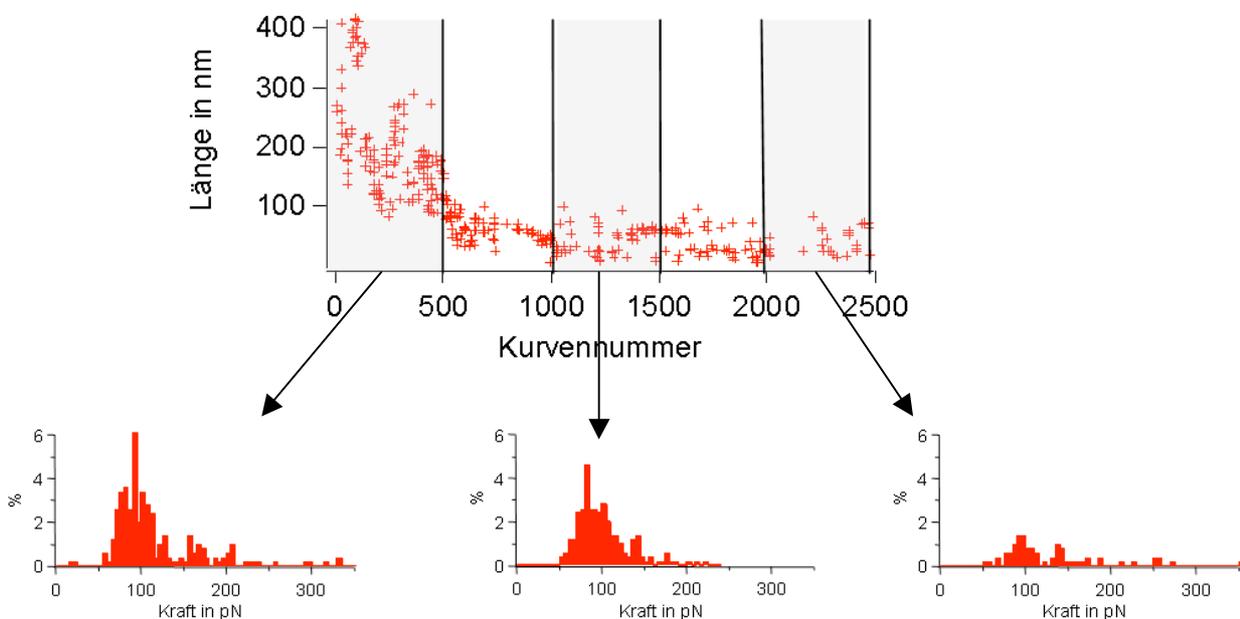


Abbildung A.9:

Ergebnisse eines Desorptionsexperimentes mit Polyvinylamine auf Gold und NaCl in Lösung, bei dem die AFM-Spitzenfunktionalisierung über Silanchemie bewerkstelligt wurde. Wie im oberen Bild zu sehen ist, nimmt die maximale Plateaulänge im Verlauf des Experimentes exponentiell ab. Im unteren Teil des Bildes sind exemplarisch drei Histogramme für die Desorptionskräfte gezeigt, die zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen wurden. Man sieht, dass die Zahl der Desorptionsereignisse im Zeitverlauf abnimmt und die Histogramme zunehmend undefinierter werden.

Die beobachteten Längen der Desorptionsplateaus sind dort gegen ihre Kurvennummer aufgetragen. Außerdem werden exemplarisch drei Histogramme für die Desorptionskräfte gezeigt, die auf einem Satz von 500 aufgenommenen Daten basieren. Die Messdaten stammen aus einer Desorptionsmessung von Polyvinylamin auf Gold, das an eine epoxysilanisierte Spitze angebunden wurde. Wie sich der Darstellung entnehmen lässt, nimmt die Länge der in der Messung erscheinenden Polymerstränge exponentiell ab. Die Histogramme der zugehörigen Desorptionskräfte werden zunehmend undefinierter. Insbesondere nimmt die Zahl der Desorptionsereignisse drastisch ab, was nach ca. 2500 Kurven das Ende einer aussagekräftigen Messung markiert.

Die Gründe für diese Degradierungserscheinungen sind schwer auszumachen. Es ist eher unwahrscheinlich, dass die Abnahme der Ereignisse dadurch begründet ist, dass die Moleküle von der Spitze desorbieren, da Silanchemie i. allg. zu stabilen kovalenten Bindungen führt und u. a. auch in den Experimenten erfolgreich eingesetzt wurde, in denen die Bindungsstärke von kovalenten Bindungen bestimmt wurde [58]. Kontaminierung könnte eine Rolle spielen, weil die Gaußverteilungen der Desorptionskräfte von Anfang an relativ breit sind und sich im Verlauf der Messung weiter verbreitern. Noch wahrscheinlicher ist es jedoch, dass die Moleküle im Verlauf des Experimentes vermehrt unspezifische Bindungen mit der Spitze eingehen, was mitunter den beobachteten Abfall der maximalen Plateaulängen erklären würde. Dieses Problem könnte darauf zurückgeführt werden, dass es nicht gelungen ist, einen dichtgepackten Silanmonolayer auf die Spitze aufzubringen. Freie Stellen an Siliziumnitrid bieten einen idealen Anknüpfungspunkt für unspezifische Bindungen, was sowohl die unspezifische Bindung des untersuchten Polymers an die Spitze als auch eine Kontaminierung derselben begünstigt.

2.2 Thiolbasierte Spitzenfunktionalisierung

Einen alternativer Ansatz zur Silanchemie stellt die Spitzenfunktionalisierung über S-Au-Bindungen dar [61, 62, 158-165]. Speziell, um dem oben aufgeführten Problem der zunehmenden unspezifischen Bindung der Polymere an die Spitze zu begegnen, wurde dabei keine direkte Anbindung an die Spitze versucht, sondern es wurde zunächst ein alkylthiol-basierter Self-assembled Monolayer (SAM) auf die Spitze aufgebracht, an den schließlich die Moleküle angebunden wurden. Die freien Kopfgruppen des Monolayers können so gewählt werden, dass der Monolayer selbst nur in geringem Maße eine unspezifische Bindung der Poly-

mere vermittelt. Die dichte Packung des Monolayers vermindert außerdem das noch viel gravierendere Problem einer unspezifischen Bindung der Polymere an die goldbedampfte Spitze. Bekanntermaßen ist es wesentlich einfacher, einen definierten Monolayer über Alkanthiole [166-168] herzustellen, als über Silane [169-173]. Wesentliche Gründe dafür sind, dass Silane polymerisieren können und auf der bindenden Oberfläche weniger mobil sind, so dass Defekte nicht so leicht ausheilen können, wie das bei den hochmobilen Alkanthiolen der Fall ist, die so mit wesentlich höherer Wahrscheinlichkeit in ihre ideale Konformation finden, als dies bei Silanen der Fall ist. Mit den so funktionalisierten Spitzen konnte die Langzeitstabilität der Polymerbeschichtung erheblich gesteigert werden. Die Abbildungen A.10 und A.11 zeigen die Ergebnisse einer Messreihe über 16,000 Kurven, die mit Polyallylamine auf SAMs mit verschiedenen Kopfgruppen und NaCl in Lösung durchgeführt wurde. Dabei wurden die Umweltbedingungen wiederholt variiert, um eine Allgemeingültigkeit der Stabilitätsanalyse zu gewährleisten. Der Ablauf der Messung gestaltete sich dabei folgendermaßen: Für den OH- und für den CH₃-terminierten SAM wurde jeweils zuerst die NaCl-Konzentration schrittweise erhöht (5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM und 100 mM) bei pH 6 und im Anschluss daran wurde der pH der Lösung in Schritten von 1 von 4 bis 11 erhöht, bei einer konstanten NaCl-Konzentration von 100 mM. Für jede Variation der Umweltbedingungen wurde ein Satz von 500 Desorptionskurven aufgezeichnet. Für den COOH-SAM wurde lediglich die NaCl-Konzentration erhöht (analog zu den anderen beiden SAMs) und es wurde bei der höchsten Salzkonzentration von 100 mM eine längere Messung über 2000 Kurven durchgeführt. In Abbildung A.10 sind die Längen aller gemessenen Desorptionsplateaus gegen ihre Kurvennummer aufgetragen.

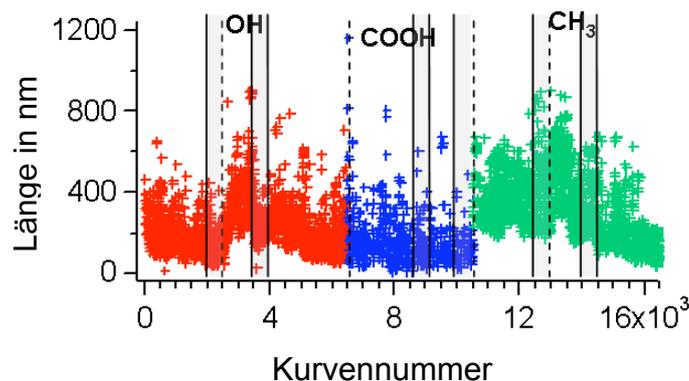


Abbildung A.10: Längen der Desorptionsplateaus aufgetragen gegen ihre Kurvennummer. Die gestrichelten Linien markieren den Anfang einer pH-Variation oder den Wechsel des Substrates. Die grau hinterlegten Bereiche kennzeichnen Teile der Messreihe, die für das jeweilige Substrat unter denselben Umweltbedingungen durchgeführt wurden. Die dafür gefundenen Plateaulängen lassen sich jeweils gut reproduzieren. Im Verlauf der gesamten Messung lassen sich lange Desorptionsplateaus finden; eine signifikante Längendegradierung konnte nicht ausgemacht werden.

Die gestrichelten Linien markieren dabei den Beginn einer Messreihe mit variiertem pH oder den Wechsel des Substrats. Während der gesamten Messung lässt sich kein wesentliches Anzeichen von Degradierung erkennen. Bis zum Schluss lässt sich die Desorption langer Polymere beobachten, womit sich ein signifikanter Grad an störender unspezifischer Bindung ausschließen lässt. Lediglich in den Bereichen, in denen der pH variiert wurde lässt sich ein systematisches Abnehmen der maximalen Plateaulängen ausmachen. Da aber nach der Abnahme der Plateaulängen auf dem OH-SAM wieder lange Desorptionsplateaus auftreten und die pH-Variation für den CH₃-SAM denselben Effekt bewirkt, kann davon ausgegangen werden, dass es sich nicht um eine Degradierungserscheinung handelt, sondern um eine spezifische Reaktion der Polyelektrolyte auf den veränderten pH der Lösung.

Abbildung A.11 zeigt exemplarisch Histogramme der beobachteten Desorptionskräfte, die aus den Messkurven der grau hinterlegten Bereichen in Abbildung A.10 extrahiert wurden.

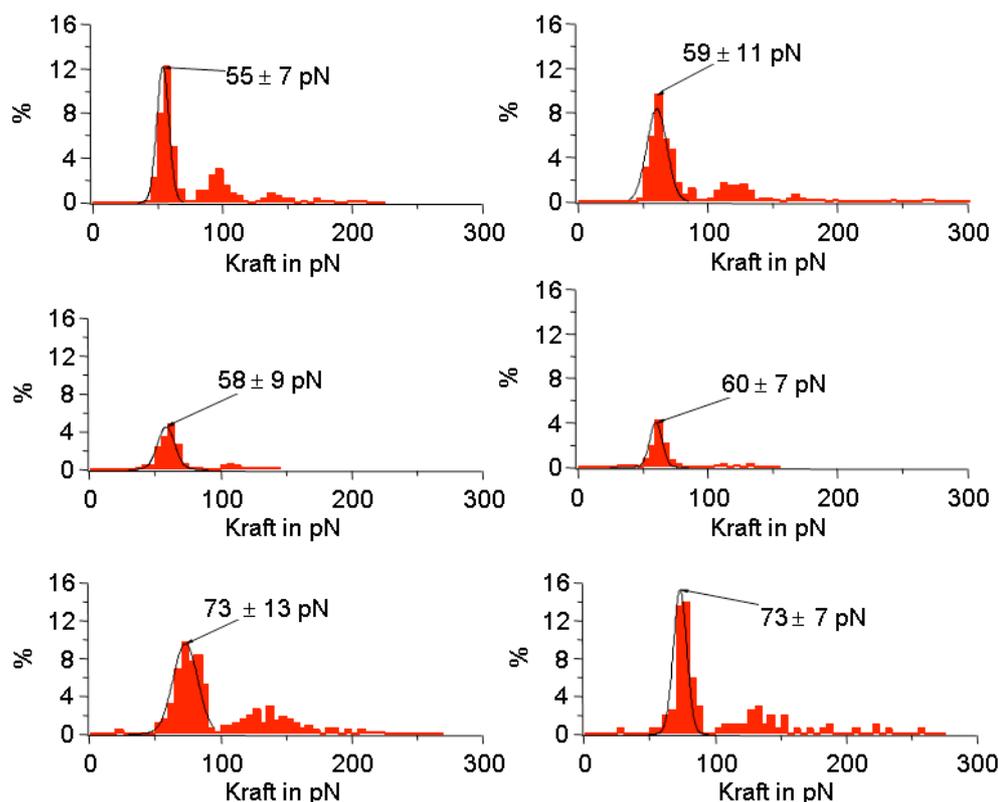


Abbildung A.11.:

Histogramme für die Desorptionskräfte auf den drei Substraten, die jeweils unter denselben Umweltbedingungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten gemessen wurden. In allen drei Fällen konnten die Ergebnisse jeweils gut reproduziert werden. Die Histogramme waren wohldefiniert und die Anzahl der Ereignisse ermöglichte auch nach 16,000 Kurven noch eine aussagekräftige Datenanalyse.

Dabei sind für jedes Substrat jeweils zwei Histogramme gegenübergestellt, deren Datenpunkte zu verschiedenen Zeitpunkten, aber jeweils unter denselben Umweltbedingungen aufgenommen wurden. Im Falle des OH- und des CH₃-SAMs handelt es sich dabei um zyklische Messungen, die nach mehreren Veränderungen der Umweltbedingungen (pH-Änderungen bei konstanter NaCl-Konzentration) wieder zu den Ausgangsbedingungen (pH 6) zurückkehren. Mit dem COOH-SAM dagegen wurden Messungen unter konstanten Bedingungen durchgeführt und die Histogramme am Anfang und am Ende dieses Messblocks betrachtet. Die Histogramme für die Desorptionskräfte bleiben wohldefiniert, was zeigt, dass Verunreinigungen kein ernsthaftes Problem darstellen. In allen drei Fällen ließen sich die Ergebnisse gut reproduzieren. Außerdem bleibt auch die Zahl der Desorptionsereignisse auf einem Niveau, das auch nach 16,000 Kraft-Abstands-Kurven noch eine aussagekräftige statistische Analyse erlaubt. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die in diesem Abschnitt diskutierte Spitzenfunktionalisierung eine ausreichende Langzeitstabilität gewährleistet, weshalb für die im Rahmen dieser Arbeit getätigten Messungen wiederholt darauf zurückgegriffen wurde.

3 Elektrochemische Messungen

3.1 Elektronentransfer

Betrachtet sei eine Elektrodenanferreaktion der Art $O + ne \rightleftharpoons R$ für die Spezies O und R mit den Anfangskonzentrationen c_O und c_R . Wenn kein Strom durch die Zelle fließt, erreicht das Potential auf der Arbeitselektrode einen Gleichgewichtswert E_e an, für den die Nernst-Gleichung gilt [88]:

$$E_e = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{c_O^S}{c_R^S} \quad (\text{A.6})$$

c_O^S und c_R^S sind dabei die Konzentrationen der oxidierten und der reduzierten Form an der Oberfläche der Elektrode. Diese sind gleich der Konzentration von O und R in der Lösung, wenn kein Nettostrom durch die Zelle fließt. Die Reduktion von O und die Oxidation von R laufen demnach mit derselben Rate ab [88]:

$$-I_f = I_b = I_0 \quad (\text{A.7})$$

I_f und I_b sind die partiellen Stromdichten der Vorwärts- und der Rückwärtsreaktion, während I_0 Austauschstromdichte genannt wird.

Wenn das Potential der Arbeitselektrode verändert wird, dann müssen sich die Konzentrationen von O und S ändern, damit die Nernst-Gleichung wieder erfüllt wird. Dazu wird entweder ein Oxidations- oder ein Reduktionsstrom benötigt. Die Netto-Stromdichte ist gegeben durch:

$$I = I_f + I_b \quad (\text{A.8})$$

Sie kann beschrieben werden durch die Butler-Volmer Gleichung [88, 90]:

$$I = I_0 \left[e^{\frac{\alpha_A n F}{RT} (E_e - E^0)} - e^{\frac{\alpha_C n F}{RT} (E_e - E^0)} \right] \quad (\text{A.9})$$

α_A und α_C bezeichnen dabei die Transferkoeffizienten für kathodische und anodische Reaktionen.

3.2 Zyklische Voltametrie

Zyklische Voltametrie ist die am weitesten verbreitete elektrochemische Messmethode. Allgemein versteht man darunter eine Messung, bei der ein elektrisches Potential an einer Elektrode zyklisch mit einer definierten Scanrate ν zwischen zwei Potentiallimits E_1 und E_2 hin- und hergefahren wird, wobei man zeitgleich dazu den Stromverlauf zwischen zwei Elektroden misst. Die aufgenommene Kurve, bei der der gemessene Strom gegen die durchfahrene Spannung aufgetragen wird, bezeichnet man als Voltammogramm.

Die elektrische Doppelschicht an der Arbeitselektrode kann wie bereits beschrieben als Kondensator der Kapazität C_w betrachtet werden, der während der Messung aufgeladen wird. Der zugehörige Ladestrom kann durch folgende Gleichung beschrieben werden [88, 90]:

$$i_C = \nu C_w + \frac{\nu E_1}{R_s} C_w e^{-\frac{t}{R_s C_w}} \quad (\text{A.10})$$

R_s stellt dabei den Widerstand der Elektrolytlösung dar, t repräsentiert den Zeitverlauf. Der zweite Term stellt dabei einen mit der Zeit abklingenden Teil des Ladestroms dar, der auf sich

auf den nach einer gewissen Zeit auf den konstanten Wert $\square C_w$ einstellt und den Hintergrund der Strommessung darstellt.

Die wichtigen Größen, die über ein Voltammogramm bestimmt werden sind die Höhen der Ströme kathodischer und anodischer Peaks, i_{pc} und i_{pa} und die zugehörigen Potentiale E_{pc} und E_{pa} . Man unterscheidet in diesem Zusammenhang reversible, quasi-reversible und irreversible Prozesse.

Der Peak-Strom, i_p , eines diffusionskontrollierten reversiblen Prozesses ist definiert über die Randles-Sevcik Gleichung für den Rückwärtsscan des ersten Zyklus:

$$i_p = 26,9 A \sqrt{n^3 D_o \square C_o} \quad (\text{A.11})$$

n ist dabei die Zahl der transferierten Elektronen, A ist die Elektrodenoberfläche, D_o ist der Diffusionskoeffizient der oxidierten Spezies und C_o deren Konzentration in der Lösung. Bei reversiblen Prozessen beträgt der Abstand zweier zusammengehöriger Peaks $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} \approx 59\text{mV}/n$. Das formale Redoxpotential $E^{O'}$ ist definiert über den Mittelwert der beiden Peakpotentiale:

$$E^{O'} = \frac{E_{pa} \square E_{pc}}{2} \quad (\text{A.12})$$

Für irreversible Prozesse und quasi-reversible Prozesse ist die Elektronentransferrate langsamer. Es wird kein der Nernst-Gleichung entsprechendes Verhalten beobachtet und die Form des Voltammogramms ist gegenüber reversiblen Prozessen verändert. Der Abstand zwischen zwei Peaks hängt von der Scanrate ab und die Abhängigkeit des Peakstroms von der Scanrate unterscheidet sich von der, die durch das Randles-Sevcik Gesetz beschrieben wird.

3.3 Faktoren, die die Reaktionsrate an der Elektrode beeinflussen

Die Elektrodenreaktionsrate wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst, die Oxidation oder Reduktion einer Spezies in Lösung beeinträchtigen können [90]:

- 1) Massentransport: Die Rate, mit der die Spezies in der Lösung transportiert wird. Man unterscheidet dabei drei Formen des Massentransports, nämlich:

- Migration: Darunter versteht man die Bewegung einer geladenen Spezies in einem Potentialgradienten. Wenn der Elektrolyt jedoch im starken Überschuss vorhanden ist, kann dieser Effekt ausgeschaltet werden, weil dann der Ladungstransport eher über den Elektrolyten, als über die elektroaktive Spezies erfolgt.
 - Diffusion: Das ist die Bewegung einer Spezies, die durch einen Konzentrationsgradienten verursacht wird. Sie tritt immer dann auf, wenn eine chemische Veränderung an einer Oberfläche eintritt.
 - Konvektion: Damit ist eine Bewegung gemeint, die durch hydrodynamische Kräfte oder mechanischen Transport bedingt ist. Im Rahmen eines elektrochemischen Experimentes, bei dem die Lösung nicht gerührt wird und die Temperatur konstant gehalten wird, kann deren Einfluss jedoch vernachlässigt werden.
- 2) Elektronentransferrate an der Elektrode
 - 3) Mit dem Elektronentransfer einhergehende chemische Reaktionen
 - 4) Oberflächenprozesse wie Adsorption, Desorption oder Elektrodessorption

3.4 Herstellung der Elektroden

Da sich das hydrophobe Gold i. allg. nur schlecht auf das hydrophile Glas aufdampfen lässt, greift man für gewöhnlich auf Haftvermittler wie CrNi oder WTi zurück, die zuerst auf den Glasobjektträger aufgedampft werden, bevor man dann die Goldschicht aufdampft. Legt man an eine solche Elektrode eine Spannung an, so bildet sich zwischen der Haftvermittlerschicht und der Goldschicht eine galvanische Zelle und der Haftvermittler löst sich vom Glas ab, womit auch der Goldfilm den Kontakt zum Glasobjektträger verliert und letztendlich frei in der Lösung schwimmt. Im zweiten in Kapitel 2 vorgestellten Aufbau befindet sich ein Spalt zwischen Arbeits- und Gegenelektrode, durch den der verwendete Haftvermittler, CrNi, problemlos austreten kann, was die Auflösung der beiden Goldelektroden zur Folge hat. Das Problem konnte gelöst werden, indem der Glasobjektträger zunächst mit einem hydrophoben Organosilan funktionalisiert wurde, der den Kontakt zwischen Glas und Gold vermittelt und den Vorteil hat, elektrochemisch inert zu sein. Dazu wurde das Glas zunächst im Ultraschallbad gereinigt (1 mal in Milli-Q-Wasser mit 3% Hellmanex, zwei mal in Milli-Q-Wasser, jeweils für 15 min) und im Ofen getrocknet. Dann wurde es für 20 min bei 100° in eine Lösung von N-[3-(Trimethoxysilyl)propyl]diethylentriamin gegeben, danach zuerst mit Wasser und dann mit Ethanol gewaschen, nochmals für ca. 15 min bei 100° in den Ofen gegeben und da-

nach sofort für den Aufdampfprozess verwendet, bei dem eine mindestens $1 \mu\text{m}$ dicke Goldschicht aufgebracht wurde.

3.5 Charakterisierung der Elektroden

Zyklische Voltametrie ist eine sehr beliebte Analysetechnik, wenn es darum geht, Redoxvorgänge zu studieren. Dabei wird ein Potential am Elektroden-Lösungsmittel Übergang angelegt, das kontinuierlich variiert wird. Zeitgleich wird der resultierende Strom gemessen. Das so gewonnene Strom-Spannungs-Diagramm, das Voltammogramm zeichnet sich durch Stromspitzen bei bestimmten Spannungen aus, bei denen Redoxvorgänge ausgelöst werden.

Die Elektrode, an der die elektrochemischen Prozesse beobachtet werden sollen, wird dabei Arbeitselektrode genannt. Das Potential an dieser wird gegen eine Referenzelektrode gemessen, die in der Lage sein muss, ein konstantes Potential aufrecht zu erhalten, auch dann, wenn sie von Strömen im Bereich von μA durchflossen wird. Die bekanntesten Referenzelektroden sind dabei die Standardwasserstoffelektrode (standard hydrogen electrode SHE) und die Kalomelektrode (saturated calomel electrode SCE). Häufig werden aber auch Ag/AgCl- oder Platinelektroden verwendet. Immer dann, wenn größere Ströme fließen empfiehlt sich der Einsatz eines Potentiostats, dessen Aufgabe es ist, das Potential zwischen Arbeits- und Referenzelektrode konstant zu halten. Er leistet dies unter Verwendung einer dritten Elektrode, der sogenannten Gegenelektrode. Die Ströme fließen dabei ausschließlich zwischen Arbeits- und Gegenelektrode und werden konsequent von der Referenzelektrode ferngehalten.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden keine umfangreicheren elektrochemischen Messungen vorgenommen. Lediglich zur Charakterisierung und Reinigung (in $0,5 \text{ M}$ Schwefelsäure) der verwendeten Elektroden wurden Voltammogramme aufgenommen.

In Abbildung A.12 ist exemplarisch ein Voltammogramm für Gold mit CaSO_4 in Lösung dargestellt. Da der Elektrolyt elektrochemisch inert ist, erwartet man eigentlich keinerlei Peaks im Histogramm. Da sich jedoch ein Oxid auf der Elektrode ablagert, beobachtet man trotzdem kleinere Peaks, die dadurch bedingt sind. Beim wiederholten Durchfahren der Spannungsrampe werden die Voltammogramme regelmäßiger, was ein Indiz für die gesteigerte Sauberkeit der Elektroden ist.

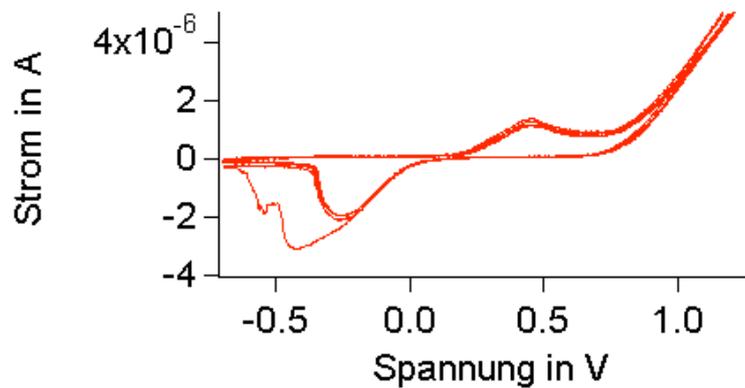


Abbildung A.12: Zyklisches Voltamogramm einer Goldelektrode mit 5 mM CaSO_4 in Lösung.

4 Polymermodelle

4.1 Die frei verbundene Kette (FJC-Modell)

Der freie Zustand eines Polymermoleküls ist dadurch bestimmt, daß es versucht seine Entropie zu maximieren, d. h., es nimmt einen Zustand ein, der ihm eine maximale Anzahl an möglichen Konformationen gestattet. Deshalb liegen Polymere i. allg. in der Form statistischer Knäuel mit einer jeweils charakteristischen Ausdehnung vor. Um das Molekül ausgehend von dieser Form zu strecken, und es damit in einen Zustand höherer Ordnung zu bringen, muß von außen Energie zugeführt werden, z. B. in Form einer mechanischen Kraft. Dieser rein entropische Beitrag dominiert das Verhalten des Moleküls im niedrigen Kraftbereich, wo eine Dehnbarkeit des Polymers noch nicht zu Tage tritt.

Da das Problem große Ähnlichkeit zu einem Random-Walk oder Diffusionsprozessen hat, ist es nahe liegend, dessen statistische Methoden heranzuziehen [174].

Im Modell der freien Kette (Freely-jointed-chain- oder FJC-Modell) [175] betrachtet man das Polymer als eine Kette von N unabhängigen Segmenten der Länge l und wählt dementsprechend deren Bindungsvektoren \mathbf{l}_i als unabhängige Koordinaten.

Die Kraft, die aufzuwenden ist, um die geknäuelte Kette auf einen bestimmten End-zu-End-Abstand R zu bringen ergibt sich aus:

$$F(R) = k_B T \frac{\partial \ln Z_R}{\partial R} \quad (\text{A.13})$$

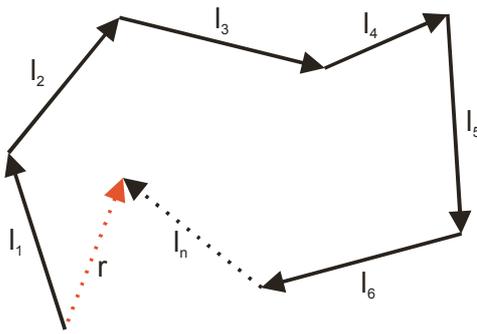


Abbildung A.13: Das Modell der freien Kette

Da es jedoch auch für den einfachen Fall der frei verbundenen Kette nicht möglich ist, einen analytischen Ausdruck für die Zustandssumme Z_R zu bestimmen, muss auf Z_F zurückgegriffen werden, dass folgendermaßen bestimmt werden kann:

$$Z_F = \int_{l_1} \dots \int_{l_N} e^{-\frac{F \cdot R \cdot E(l_1, \dots, l_N)}{k_B T}} dl_1 \dots dl_N \quad (\text{A.14})$$

l_1 bis l_N bezeichnen dabei die freien Koordinaten der N Segmente $E(l_1, \dots, l_N)$ den zugehörigen Energiezustand. Der mittlere End-zu-End-Abstand ergibt sich dann aus aus:

$$R = k_B T \frac{\partial \ln Z_F}{\partial F} \quad (\text{A.15})$$

daraus läßt sich der mittlere End-zu-End-Abstand berechnen:

$$R = N \cdot l \cdot \frac{\coth\left(\frac{F \cdot l}{k_B \cdot T}\right) - \frac{k_B \cdot T}{F \cdot l}}{2} = N \cdot l \cdot L\left(\frac{F \cdot l}{k_B T}\right) \quad (\text{A.16})$$

wobei L die Langevinfunktion $\coth(x) - 1/x$ darstellt; l entspricht der Monomerlänge. Die Kraft in z -Richtung ergibt sich dann aus der Umkehrfunktion.

Bei einer Übertragung dieses Modells auf reale Polymere ist jedoch zu beachten, daß die Segmentlänge l i. allg. nicht der Bindungslänge einer Einzelbindung im Polymerrückgrat entspricht, was darauf zurückzuführen ist, das die Voraussetzung von völlig unkorrelierten Bindungen nicht erfüllt ist. Führt man stattdessen eine auf das reale Polymer angepaßte Länge, die sog. Kuhnlänge l_k , ein, lassen sich dennoch mit Hilfe dieses Modells gute Ergebnisse erzielen. Dies spiegelt die Tatsache wieder, daß auch im realen Polymer die einzelnen Segmente mit wachsendem Abstand voneinander zunehmend unkorrelierter werden.

Während das FJC-Modell im niederen Kraftbereich gute Ergebnisse liefert, treten im höheren Kraftbereich zunehmend Abweichungen auf, da hier die Dehnbarkeit der Moleküle nicht mehr ohne weiteres ignoriert werden kann [176, 177]. Es treten neue Effekte auf, die Bindungswinkel werden rotiert und verbogen, was eine zusätzliche Verlängerung des Moleküls bewirkt, bis es schließlich reißt.

Um diesen zusätzlichen enthalpischen Beitrag zu berücksichtigen betrachtet man der Einfachheit halber jedes Segment als eine Hookesche Feder mit Federkonstante D . Es folgt dann für den mittleren End-zu-End-Abstand:

$$R = N \cdot l \cdot \mathbb{L} \left[\frac{F \cdot l_K}{k_B T} \right] + \frac{N}{D} \cdot F \quad (\text{A.17})$$

Korrekterweise müßte man die zusätzlichen Potentiale in die Zustandssumme einführen und z dann anhand dieser berechnen. Eine geschlossene Lösung ist jedoch nur für harmonische Potentiale möglich und eine relevante Abweichung von obiger Näherung ist auch nur für sehr weiche Federkonstanten zu beobachten.

Das Experiment zeigte, daß die verwendeten Polymere relativ große Federkonstanten besitzen. Der enthalpische Beitrag tritt entsprechend erst bei Dehnungen nahe der Konturlänge in Erscheinung und äußert sich dann in einem steilen Anstieg der Kraftkurve. Obige Gleichung stellt damit eine brauchbare Näherung für die betrachteten Moleküle dar.

Manche Polymere ändern ihre Konformation während des Streckens. Dieser Vorgang kann durch ein Markovsches Zweizustandsmodell [178, 179] beschrieben werden und findet in folgender Form Eingang in Gleichung (A.14):

$$R = N \left[\frac{l_2}{e^{\Delta G_{12}/k_B T} + 1} + \frac{l_1}{e^{-\Delta G_{12}/k_B T} + 1} \right] \cdot \mathbb{L} \left[\frac{F \cdot l_K}{k_B T} \right] + \frac{N}{D} \cdot F \quad (\text{A.18})$$

l_1 entspricht dabei der Monomerlänge im Ausgangszustand, l_2 der Monomerlänge nach der Konformationsänderung und $\Delta G_{12}(F)$ entspricht Energiedifferenz zwischen den zwei Zuständen, die von der angelegten Kraft abhängt.

4.2 Einfluss des Lösungsmittels

Im freien Zustand, d. h. ohne angelegte Kraft berechnet sich der End-zu-End Zustand im FJC-Modell aus:

$$R = l\sqrt{N} \quad (\text{A.19})$$

Dies ist jedoch nur richtig für die ideale Gaußsche Kette, in der keine Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Monomeren zugelassen sind. Allgemeiner kann diese Beziehung als

$$R = lN^\zeta \quad (\text{A.20})$$

geschrieben werden. Für eine ideale Polymerkette ist $\zeta = 1/2$. Dies trifft jedoch nur dann zu, wenn die Anziehung zwischen den Monomeren die sterische Abstoßung zwischen diesen gerade ausgleicht. Wenn diese Situation zutrifft, so spricht man von einem „Theta“-Lösungsmittel. Allgemein lassen sich abhängig von der Qualität des Lösungsmittels noch zwei weitere Fälle unterscheiden: In guten Lösungsmitteln ist die Monomer-Lösungsmittel Wechselwirkung vorteilhafter als die Monomer-Monomer-Wechselwirkung. Die Polymerkette nimmt deshalb eine „angeschwollene“ Konfiguration an; die sterische Repulsion ist dominant und der Exponent ζ nimmt den Wert $3/5$ an [175]. Die räumliche Ausdehnung ist damit verglichen zu dem Fall des Theta-Lösungsmittels größer. Im Falle des schlechten Lösungsmittels dominiert die anziehende Monomer-Monomer-Wechselwirkung, was zum Kollaps der Polymerkette führt. In diesem Fall skaliert die räumliche Ausdehnung des Polymers wie $N \sim R^3$ womit ζ den Wert $1/3$ annimmt.

4.3 Die semiflexible Kette (WLC-Modell)

Die Steifheit einer Polymerkette wird üblicherweise über die sogenannte Persistenzlänge l_p beschrieben. Diese ist definiert als die Länge, über die die normalisierten Tangentenvektoren an verschiedenen Stellen der Polymerkette korreliert sind. Für ein typisches gesättigtes Kohlenstoff-Rückgrat erhält man eine Persistenzlänge von etwa 0.8mal der Bindungslänge [180]. Die Kette kann damit als relativ flexibel betrachtet werden, weshalb das FJC-Modell für viele synthetische Polymere ein geeignetes Modell darstellt. Biopolymere mit einer komplexeren

Struktur tendieren demgegenüber dazu, steifer zu sein. Die Persistenzlänge für doppelsträngige DNA z. B. beträgt 50 nm [75]. In diesem Fall kann nicht mehr von flexiblen Polymeren ausgegangen werden und die Steifheit der Polymerkette muss in der theoretischen Beschreibung Berücksichtigung finden. Ein Modell, das dieser Problemstellung Rechnung trägt ist das Kratky-Porod Modell (worm-like chain- oder WLC-Modell) [181], das im folgenden kurz vorgestellt werden soll.

In einem kontinuierlichen Modell, in dem die diskrete Natur der Monomere vernachlässigt wird, ist die Biegeenergie E_B einer flexiblen oder semiflexiblen Kette gegeben durch [182, 183]:

$$E_B = \frac{B}{2} \int_0^L \frac{d^2 r}{ds^2} ds \quad (\text{A.21})$$

$r(s)$ ist dabei die vom Polymer beschriebene Raumkurve und B ist das Biegemodul des Polymers. Für die Korrelation zwischen zwei Tangenten $t(s)$ entlang des Polymers gilt [184]:

$$\langle t(s) \cdot t(s') \rangle = e^{-|s-s'|k_B T/B} \quad (\text{A.22})$$

Für den mittleren quadratischen End-zu-End-Abstand R ergibt sich daraus:

$$R^2 = 2BL + 2B^2(e^{-L/B} - 1) \quad (\text{A.23})$$

L bezeichnet dabei die Konturlänge des Polymers.

Die Elastizität der semiflexiblen Kette wurde erstmals 1994 von Marko und Siggia [185,186] vollständig beschrieben, die auch eine asymptotische Formel angaben, die das Problem im niederen und im hohen Kraftbereich gut beschreibt, im mittleren Kraftbereich jedoch hohe Abweichungen aufweist. Eine exakte Lösung kann nur numerisch berechnet werden. Bouchiat et al., jedoch erweiterten die Formel von Marko und Siggia um ein Polynom 7-ten Grades, womit die Abweichungen auf weniger als 0,01% von der exakten Lösung reduziert werden konnten. Die so erweiterte Formel hat folgende Gestalt:

$$F(R) = \frac{k_B T}{l_p} \frac{1}{4(1 - z/L)^2} \left[\frac{1}{4} + \frac{z}{L} + \sum_{i=2}^7 \frac{z^i}{L^i} \right] \quad (\text{A.24})$$

Diese Formel kann wiederum durch Berücksichtigung enthalpischer Beiträge und gegebenenfalls auch Konformationsänderungen an realistische Bedingungen angepasst werden.

4.4 Weiterentwicklungen der vorgestellten Polymermodelle

Speziell im Bereich großer Kräfte ergeben sich Abweichungen vom WLC-Modell. Livadaru et al. [118] entwickelten ein Polymermodell, das zeigt, dass es bei größeren Kräften einen Übergang vom WLC-Verhalten zum Verhalten einer diskreten Kette gibt (discrete chain- bzw. DC-Verhalten). Dieser Übergang ist bedingt durch die Tatsache, dass die Fluktuationen der Kette bei größeren Kräften auf kleinere Längenskalen beschränkt werden und damit die diskrete Natur der semiflexiblen Kette in Erscheinung tritt. Das Verhalten des Polymers kann unter Berücksichtigung dieser Tatsache beschrieben werden durch:

$$\frac{R_z}{L} = 1 - \frac{F_{\text{WLC}}}{k_B T} + \frac{c F b}{k_B T} + \frac{F}{L} \quad (\text{A.25})$$

$$\text{mit } F_{\text{WLC}}[x] = \frac{3}{4} \left(\frac{1}{x} + \frac{x^2}{4} \right)$$

Auch für die OSF-Theorie ergaben sich Diskrepanzen zu experimentellen Befunden, speziell für den Fall semi-flexibler Ketten unter Zug. Dies ist v. a. darauf zurückzuführen, dass das Konzept einer statischen Persistenzlänge nicht haltbar ist, wenn äußere Kräfte auf das Polyelektrolytmolekül einwirken. Netz berechnete das elastische Verhalten eines einzelnen geladenen Polymers unter Einwirkung großer Kräfte F [72]:

$$\frac{R}{L} = 1 + \frac{g + F}{D} \left[\frac{1 + (g + 2F)/D}{2\sqrt{l_{\text{eff}} F (1 + (g + F)/D)}} \right] \quad (\text{A.26})$$

Die Konstante g , die als intrinsische Kraft aufgefasst werden kann die Monomere auseinandertreibt ist (in Einheiten von $k_B T$) gegeben durch:

$$\frac{g}{k_B T} = \frac{l_B q^2}{a^2} \frac{e^{-\frac{g}{k_B T} a}}{1 - e^{-\frac{g}{k_B T} a}} \quad (\text{A.27})$$

a ist dabei der Abstand zwischen zwei Ladungen der Wertigkeit q .

Die effektive Persistenzlänge l_{eff} ist kraftabhängig und definiert durch:

$$\langle t_{\perp}^2 \rangle = (f^* l_{\text{eff}})^2 \quad (\text{A.28})$$

$\langle t_{\perp}^2 \rangle$ ist dabei der Erwartungswert der senkrechten Komponente des Tangentenvektors und

$f^* = F \left[1 + \frac{g + F}{D} \right]$ ist die normalisierte Kraft. Über die angelegte Kraft wird das Polymer

demnach weicher, im Grenzfall sehr großer Kräfte reduziert sich die Persistenzlänge auf ihren rein elastischen Beitrag l_p . Diese Theorie ließ sich sehr gut in Übereinstimmung bringen mit den Ergebnissen aus AFM-Experimenten.

5 Verzeichnis der Abkürzungen

AFM	Atomic Force Microscope
CH ₃	Methyl-
COOH	Carboxyl-
DC	Discrete Chain
DNA	Desoxyribonucleic Acid
EDA	Ethylendiamin
EDC	N-ethyl-N'-(dimethylamminopropyl)carbodiimid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FJC	Freely-jointed Chain
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
NH ₃	Amin-/Ammoniak
NHS	N-Hydroxysuccimid
OH	Hydroxyl-
PBS	Phosphate Buffered Saline
SAM	Self-assembled Monolayer
SECM	Scanning Electrochemical Microscope
WLC	Worm-like Chain

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

- 1) C. Friedsam, A. K. Wehle, F. Kühner, H. E. Gaub, 2003, *Dynamic single-molecule force spectroscopy: bond rupture analysis with variable spacer length*, J. of Phys: Cond. Matt. 15, S1709-S1723
- 2) M. Seitz, C. Friedsam, W. Jöstl, T. Hugel, H. E. Gaub, 2003, *Probing Solid Surfaces with Single Polymers*, ChemPhysChem 4, 986-990
- 3) C. Friedsam, A. Del Campo Bécares, U. Jonas, H. E. Gaub, M. Seitz, 2003, *Polymer functionalized AFM-tips for long-term measurements in single molecule force spectroscopy*, ChemPhysChem, eingereicht
- 4) C. Friedsam, A. Del Campo Bécares, U. Jonas, M. Seitz, H. E. Gaub, 2003, *Adsorption of Polyacrylic Acid on Self-Assembled Monolayers Investigated by Single Molecule Force Spectroscopy*, New J. of Phys., eingereicht
- 5) C. Friedsam, H. E. Gaub, M. Seitz, 2003, *Investigation of Polyelectrolyte Desorption by Single Molecule Force Spectroscopy*, J. of Phys.:Cond. Matt., eingereicht
- 6) C. Friedsam, M. Seitz, H. E. Gaub, *Desorption of Polyallylamine from Gold studied by Single Molecule Force Spectroscopy*, in Vorbereitung
- 7) C. Friedsam, M. Seitz, H. E. Gaub, 2003, *Single Polymer Electro-Adhesion*, in Vorbereitung

Danksagung

Wesentlich für jede Arbeit ist das Umfeld, in dem sie durchgeführt wird. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die wissentlich oder unwissentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

- Hermann Gaub für die tatkräftige Unterstützung, die vielen Freiräume und seine große Geduld
- Markus Seitz für seine Hilfe und Unterstützung, v. a. (aber nicht ausschließlich) im Hinblick auf die Chemie
- Roland Netz für viele hilfreiche Diskussionen
- Thorsten Hugel, Willi Jöstl, Matthias Großholz für die geleistete Vorarbeit und den Einstieg in die Thematik
- Angelika Kardinal für die Fertigung der DNA-Proben
- Uli Jonas für das Bereitstellen des ammoniumsilanisierten Siliziums
- Ferdinand Kühner für die Bereitstellung der Aptamer-Daten
- Ingo für zusätzliche Messungen, das Lesen dieser Arbeit und die vielen Anregungen für meine Lebensgestaltung
- Meinen Zimmerkollegen Thorsten, Johann, Moija, Ingo, Gregor für die gute Stimmung und die mentale Unterstützung.
- Der gesamten Gambicrew für die großartige Arbeitsatmosphäre.
- Wolfgang Schuhmann, Albert Schulte, Matthieu Etienne für die Einführung in die Wunderwelt der Elektrochemie
- Meinem Mann für seine unerschöpfliche Toleranz und die tatkräftige Unterstützung und meinen Kindern Philipp und Madeleine für die zahlreichen Inspirationen beim Bauklotzspielen.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Claudia Friedsam
Geboren am: 10. 5. 1975
In: Passau
Nationalität: deutsch
Familienstand: verheiratet, zwei Kinder

Ausbildung:

1981-1985: Besuch der Grundschule Freyung
1985-1994: Besuch des Gymnasium Freyung
August 1994: Abitur (Auszeichnung für das beste Abitur seit Bestehen der Schule)
1994-1999: Hochbegabtenstipendium nach dem BayBFG
1994-1995: Studium der technischen Physik an der TU-München
1995-2000: Studium der Physik an der LMU München
März 2000: Diplom in Physik an der LMU München
2000-2003: Promotion am Lehrstuhl für Angewandte Physik an der LMU München
seit April 2002: Stipendiatin bei e-fellows.net
seit Oktober 2002: Studium der BWL an der Fernuni-Hagen, Vordiplom März 2003