

Elektrochemische
Rastersondenuntersuchungen (SECM) zur
Erzeugung und Charakterisierung von
enzymmodifizierten Mikrostrukturen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Fakultät für Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Albert-Ludwigs-Universität
zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Seda Beyer
aus Hagen / Westfalen
Freiburg, Juni 2007

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 17 |
| 2 | Das elektrochemische Rastermikroskop (SECM) | 19 |
| 2.1 | Elektrochemische Grundlagen | 19 |
| 2.1.1 | Elektrodenreaktionen | 19 |
| 2.1.2 | Makro- und Ultramikroelektroden | 21 |
| 2.1.3 | Cyclovoltammetrie | 23 |
| 2.1.4 | Der kapazitive Strom | 29 |
| 2.1.5 | Der ohmsche iR -Abfall | 30 |
| 2.2 | Arbeitsmodi des SECM | 31 |
| 2.2.1 | Der Feedback Modus | 31 |
| 2.2.2 | Der Generator-Kollektor Modus | 33 |
| 2.2.3 | Direkter Modus | 35 |
| 3 | Aufbau des elektrochemischen Rastermikroskops | 37 |
| 3.1 | Experimenteller Aufbau des SECM | 37 |
| 3.2 | Herstellung von Ultramikroelektroden | 39 |
| 3.3 | Probeneinbau und Tipannäherung | 40 |
| 3.4 | Erzeugung von dünnen Schichten | 44 |
| 3.4.1 | Aufdampfen von Gold | 45 |
| 3.4.2 | Aufdampfen von Silberchlorid | 45 |
| 4 | Enzyme | 49 |
| 4.1 | Einleitung | 49 |
| 4.2 | Glukose-Oxidase | 51 |
| 4.2.1 | Struktur und Mechanismus der enzymatischen Reaktion von Glukose-Oxidase | 52 |
| 4.3 | Cholin-Oxidase | 54 |
| 4.3.1 | Struktur und Mechanismus der enzymatischen Reaktion von Cholin-Oxidase | 55 |
| 4.4 | Horseradish Peroxidase | 56 |
| 4.4.1 | Struktur von Horseradish Peroxidase | 56 |
| 4.4.2 | Mechanismus der enzymatischen Reaktion | 58 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 5 | Enzyme auf selbstorganisierten Monoschichten | 61 |
| 5.1 | Selbstorganisierte Monoschicht (SAM) | 61 |
| 5.1.1 | Formation und Charakterisierung von SAMs auf Gold | 62 |
| 5.2 | Anbindung von Enzymen auf der Basis von SAMs | 65 |
| 5.2.1 | Immobilisierung von Glykoenzymen durch Aktivierung der Zuckergruppen (Perjodsäure-Verfahren) | 65 |
| 5.2.2 | Enzym-Anbindung an aminofunktionalierte Substrate mit Ascorbinsäure als Kupplungsreagenz (Ascorbinsäure-Verfah- ren) | 67 |
| 5.2.3 | Enzym-Anbindung an aminofunktionalierte Substrate durch Aktivierung des Enzyms mit Carbodiimid (Carbodiimid-Ver- fahren) | 68 |
| 5.3 | Aktivitätsmessungen mit dem SECM | 70 |
| 5.3.1 | Zusammenfassung | 83 |
| 6 | Amphiphile Netzwerke | 87 |
| 6.1 | Einleitung | 87 |
| 6.2 | Synthese von amphiphilen Netzwerken | 89 |
| 6.2.1 | Experimentelles | 90 |
| 6.2.2 | Beladung mit Enzymen | 92 |
| 6.3 | Aktivitätsmessungen mit dem SECM | 93 |
| 6.4 | Zusammenfassung | 107 |
| 7 | Mikrostrukturierung mit dem SECM | 109 |
| 7.1 | Stromlose Silberabscheidung auf Silberchlorid | 109 |
| 7.2 | Enzymanbindung und Aktivitätsmessungen an abgeschiedenen Sil- berstrukturen | 117 |
| 7.3 | Zusammenfassung | 127 |
| 8 | Interdigitalstrukturen | 129 |
| 8.1 | Enzymmodifizierte Interdigitalstrukturen | 130 |
| 8.1.1 | Modifizierung der Interdigitalstruktur durch Ablösen des SAMs durch unterschiedliche elektrochemische Verfahren | 130 |
| 8.1.1.1 | Pulsverfahren | 131 |
| 8.1.1.2 | Cyclovoltammetrisches Verfahren | 135 |
| 8.1.2 | Zusätzliche Enzymimmobilisierung auf den Glaslinien der Interdigitalstruktur | 146 |
| 8.2 | Poly(o-phenylendiamin) | 156 |
| 8.2.1 | Polymerisation | 157 |
| 8.2.2 | Enzymimmobilisierung durch o-Phenylendiamin-Polymerisa- tion | 160 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 8.3 | Aktivitätsmessungen mit dem SECM | 161 |
| 8.3.1 | Erzeugung eines Bi-Enzymsensors und Bestimmung der Enzymaktivitäten | 162 |
| 8.3.2 | Bestimmung der Enzymaktivitäten innerhalb eines SECM Experiments | 169 |
| 8.4 | Zusammenfassung | 176 |
| 9 | Zusammenfassung der Ergebnisse | 181 |
| | Abkürzungsverzeichnis | 195 |
| | Danksagung | 199 |