

# Kohlenstoffnanorohr-Komplexe

*Adsorption und Desorption von (Bio-)Polymeren*



Dissertation zur Erlangung  
des naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Frank Brunecker

aus Würzburg

Würzburg 2015

Eingereicht bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie am

.....

Gutachter der schriftlichen Arbeit

1. Gutachter: .....

2. Gutachter: .....

Prüfer des öffentlichen Promotionskolloquiums

1. Prüfer: .....

2. Prüfer: .....

3. Prüfer: .....

Datum des öffentlichen Promotionskolloquiums

.....

Doktorurkunde ausgehändigt am

.....

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>1 Motivation</b>	<b>1</b>
<b>2 Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften von Polymeren . . .	5
2.1.1 Struktur in Lösung . . . . .	6
2.1.2 Thermodynamik des fest-flüssig-Phasenübergangs	14
2.2 Thermodynamik der Oberflächenwechselwirkungen . . . .	21
2.3 Kinetik der Oberflächenwechselwirkungen . . . . .	25
2.3.1 Gasphase . . . . .	26
2.3.2 Kondensierte Phase . . . . .	28
2.4 Numerische Verfahren zur Beschreibung der Diffusion . . .	32
2.5 Kolloidale Stabilisierung von Kohlenstoffnanoröhren . . . .	39
2.6 Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie . . . . .	44
<b>3 Stand der Forschung</b>	<b>51</b>
3.1 DNA-SWNT-Komplexe . . . . .	51
3.1.1 Erkennungssequenzen . . . . .	52
3.1.2 Adsorptionskonformationen . . . . .	53
3.1.3 Austauschexperimente . . . . .	55
3.1.4 DNA-Desorption von SWNTs . . . . .	57
3.2 Polymer-SWNT-Komplexe . . . . .	60
3.3 Zusammenfassung und Zielsetzung . . . . .	60

<b>4</b>	<b>Experimentelle Methoden</b>	<b>63</b>
4.1	SWNT-Dispergierung . . . . .	63
4.1.1	F8T2–SWNT-Komplexe . . . . .	64
4.1.2	DNA–SWNT-Komplexe . . . . .	65
4.1.3	Tensid–SWNT-Komplexe . . . . .	70
4.2	Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie . . . . .	72
4.3	Fluoreszenzmikroskopie . . . . .	72
4.4	Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie . . . . .	74
<b>5</b>	<b>Adsorptionsverhalten von DNA auf SWNTs</b>	<b>79</b>
5.1	DNA-Tensid-Austauschexperimente . . . . .	80
5.1.1	Filtrationsmethode . . . . .	80
5.1.2	FCS-Messungen . . . . .	90
5.2	DNA–SWNT-Komplexe . . . . .	103
5.3	Zusammenfassung . . . . .	109
<b>6</b>	<b>Desorptionskinetik von F8T2 und DNA</b>	<b>111</b>
6.1	Bestimmung der Löslichkeit von F8T2 . . . . .	111
6.2	Verdünnungsexperimente . . . . .	113
6.3	Analyse der Daten . . . . .	117
6.3.1	Berechnung des Bedeckungsgrads aus der Fluoreszenzintensität . . . . .	117
6.3.2	Langmuir-Anpassung . . . . .	120
6.3.3	Eyring- und van't Hoff-Analyse . . . . .	121
6.4	Ergebnisse der F8T2-Experimente . . . . .	123
6.5	Ergebnisse der DNA-Experimente . . . . .	128
6.6	Kontrolle auf diffusionslimitiertes Verhalten . . . . .	136
6.7	Enthalpie-Entropie-Korrelation . . . . .	147
6.8	Zusammenfassung . . . . .	158
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>161</b>

<b>8 Summary</b>	<b>167</b>
<b>Anhang</b>	<b>171</b>
A.1 Daten zu Kapitel 5 . . . . .	172
A.2 Daten zu Kapitel 6 . . . . .	178
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>191</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>211</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>217</b>
<b>Danksagung</b>	<b>219</b>



# Abkürzungsverzeichnis

1D	eindimensional
2D	zweidimensional
A	Adenin
AFM	Rasterkraftmikroskopie (engl. <i>atomic force microscopy</i> )
APD	Lawinenphotodiode (engl. <i>avalanche photodiode</i> )
C	Cytosin
CCD	ladungsgekoppeltes Bauelement (engl. <i>charge-coupled device</i> )
DGU	Dichtegradientenultrazentrifugation
DLVO	Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
DOC	Natriumdesoxycholat
EEC	Enthalpie-Entropie-Korrelation (engl. <i>enthalpy-entropy correlation</i> )
FAM	6-Carboxyfluorescein
FCS	Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (engl. <i>fluorescence correlation spectroscopy</i> )
FWHM	Halbwertsbreite (engl. <i>full width at half maximum</i> )

F8T2	Poly-[(9,9-dioctylfluorenyl-2,7-diyl)-co-bithiophen]
G	Guanin
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. <i>high performance liquid chromatography</i> )
IEC	Ionenaustauschchromatographie (engl. <i>ion-exchange chromatography</i> )
MD	Molekulardynamik
NA	numerische Apertur
OD	optische Dichte
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (engl. <i>phosphate buffered saline</i> )
R6G	Rhodamin 6G
SC	Natriumcholat (engl. <i>sodium cholate</i> )
SDBS	Natriumdodecylbenzolsulfonat (engl. <i>sodium dodecylbenzenesulfonate</i> )
SDS	Natriumdodecylsulfat (engl. <i>sodium dodecyl sulfate</i> )
SWNT	einwandige Kohlenstoffnanoröhre (engl. <i>single-wall carbon nanotube</i> )
T	Thymin
willk. Einh.	willkürliche Einheiten

Im Folgenden werden die nachstehenden englischen Begriffe nicht ins Deutsche übersetzt, da sie in der wissenschaftlichen Fachsprache etabliert sind.

<i>Fit</i>	Anpassung	<i>train</i>	Schleppe
<i>tail</i>	Schwanz	<i>loop</i>	Schleufe

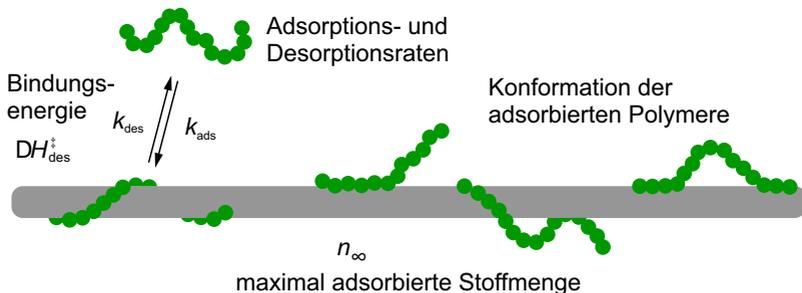
Ebenso wird die im angelsächsischen Sprachraum übliche Notation von Punkten als Dezimaltrennzeichen verwendet.

# 1 Motivation

Die wissenschaftliche Faszination der Nanotechnologie resultiert aus Veränderungen der physikalischen und chemischen Eigenschaften bekannter Materialien infolge der Reduktion ihrer Partikelgröße auf einige Nanometer. So ist es gelungen, aus allgegenwärtigen Verbindungen wie Eisenoxid hochwirksame Krebsmedikamente zu generieren.<sup>[1-3]</sup> Auch wenn das Gebiet der Nanomedizin noch Gegenstand aktueller Forschung ist, haben zahlreiche andere Anwendungen der Nanotechnologie längst Einzug in den Alltag der Menschen gefunden.<sup>[4,5]</sup>

Die herausragenden neuen Eigenschaften der Nanomaterialien sind vor allem quantenmechanischen Effekten geschuldet, aber auch die große spezifische Oberfläche der Partikel spielt eine wichtige Rolle. Oberflächen- und Grenzflächeneffekte drängen dadurch die ansonsten im Vordergrund stehenden Volumeneigenschaften in den Hintergrund.<sup>[6,7]</sup> Folgerichtig bestimmen Wechselwirkungen an den nanoskaligen Oberflächen das Wachstum und die daraus resultierende Struktur der Nanopartikel.<sup>[8,9]</sup> Viele Nanomaterialien zeigen jedoch auch eine starke Aggregationsneigung, die eine kolloidale Stabilisierung oft unumgänglich macht.<sup>[3,10-12]</sup> Die eingesetzten organischen Dispergiermittel dienen allerdings nicht nur der Stabilisierung der Nanopartikel. Einerseits kann durch deren Wahl aktiv das Wachstum der Kristalle beeinflusst werden.<sup>[8,13,14]</sup> Andererseits lassen sich beispielsweise auch bestimmte Chiralitäten einwandiger Kohlenstoffnanoröhren (SWNTs) mithilfe von synthetischen Polyfluorenen oder DNA-Oligomeren definier-

ter Nukleinbasensequenzen selektiv anreichern.<sup>[15–21]</sup> Derartige Selektivitäten können indes nur empirisch bestimmt werden, da die experimentelle Methodik zur Untersuchung der Oberflächenwechselwirkungen zwischen Nanopartikeln und Dispergiermitteln derzeit noch unzureichend ist.<sup>[9,13]</sup> Demnach sind selbst einfache Fragestellungen zur Energetik und Kinetik an der fest-flüssig-Grenzphase der Nanopartikel oft ungeklärt.<sup>[9,14]</sup> Um Methoden zu finden, diese grundlegenden physikalisch-chemischen Eigenschaften zu quantifizieren, bieten sich Komplexe aus einwandigen Kohlenstoffnanoröhren und fluoreszierenden (Bio-)Polymeren als Modellsystem an. Zum einen bestehen SWNTs aufgrund ihrer Röhrenstruktur komplett aus Oberflächenatomen und stellen damit eine maximal große Interaktionsfläche dar. Zum anderen ermöglicht die kommerzielle Verfügbarkeit intrinsisch fluoreszierender Polymere sowie farbstoffmarkierter Biopolymere unterschiedlicher Länge und Zusammensetzung einen großen Variationsbereich der zu untersuchenden Dispergiermittel in Verbindung mit einer vergleichsweise einfachen, fluoreszenzspektroskopischen Detektion. Insbesondere einzelsträngige Oligonukleotide können über Festphasensynthese in nahezu jeder Sequenz und Oligomerlänge hergestellt werden und stellen daher den Schwerpunkt der durchgeführten Untersuchungen dar.<sup>[22]</sup> Ausgehend von DNA–SWNT-Komplexen sollen im Rahmen dieser Arbeit Methoden identifiziert werden, um die Wechselwirkung der Biopolymere mit der Oberfläche von Kohlenstoffnanoröhren zu charakterisieren. Die Techniken sollen ebenso auf synthetische Polymere übertragen werden. Einige der wichtigsten zu ermittelnden Parameter sind in Abbildung 1.1 schematisch dargestellt. Zu deren Klärung sollen Methoden zur Untersuchung des Adsorptions- und Desorptionsverhalten verschiedener (Bio-)Polymere auf der SWNT-Oberfläche erprobt werden, da insbesondere die selektive Adsorption organischer Dispergiermittel auf bestimmte Oberflächen einiger wachsender nanokristalliner Halbleiter entscheidenden Einfluss auf die sich ausbilden-



**Abbildung 1.1.** Schematische Darstellung der Oberflächenphänomene bei Polymer-SWNT-Komplexen. Aus Untersuchungen zum Adsorptions- und Desorptionsverhalten von (Bio-)Polymeren auf SWNTs sollen neben den entsprechenden Ratenkonstanten auch wichtige Parameter wie Bindungsenergie, Struktur der adsorbierten Polymere und die maximale Beladung der Nanorohroberfläche bestimmt werden.

de Struktur der Partikel zeigt. <sup>[8,13]</sup> Neben den Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption sollen noch weitere wichtige Merkmale wie Bindungsenergien, Konformationen der adsorbierten Polymere und die maximal auf der Nanorohroberfläche adsorbierte Stoffmenge bestimmt werden. Bisherige Arbeiten zu diesem Thema stützen sich größtenteils auf Verdrängungsreaktionen zwischen tensidstabilisierten SWNTs und DNA-Oligomeren, wobei die Gegenwart des tensidischen Dispergiermittels die Wechselwirkungen zwischen den Biopolymeren und den Nanopartikeln unweigerlich beeinflusst. <sup>[23–28]</sup> Untersuchungen zu Wechselwirkungen in reinen DNA-SWNT-Komplexen hingegen sind selten und größtenteils theoretischer Natur. <sup>[29–33]</sup> Neben dem modellhaften Charakter der Analyse der DNA-SWNT-Komplexe sind die ermittelten physikalisch-chemischen Größen auch von großer Bedeutung für die oft diskutierte Anwendung der Komplexe in der Nanomedizin, innerhalb derer ihr Einsatz als optische Sonde und Wirkstofftransporter erwogen wird. <sup>[34–37]</sup>

Im Rahmen dieser Arbeit wird anhand fluoreszenzbasierter, spektroskopischer Methoden das Adsorptions- und Desorptionsverhalten sequenz- und längenvariiertes, einzelsträngiger DNA-Oligomere untersucht und die Techniken exemplarisch auf das synthetische Polymer Poly-[(9,9-dioctylfluorenyl-2,7-diyl)-co-bithiophen] (F8T2) übertragen, um eine generelle Anwendbarkeit zu untermauern.

In Kapitel 2 werden zunächst die allgemeinen physikalisch-chemischen Grundlagen zum Verständnis des Verhaltens von Polymeren an der fest-flüssig-Grenzphase gelegt und die eingesetzten spektroskopischen und numerischen Methoden vorgestellt. Anschließend widmet sich Kapitel 3 den bisher veröffentlichten Arbeiten zur Interaktion von (Bio-)Polymeren mit Kohlenstoffnanoröhren, um davon abgrenzend die Zielsetzung dieser Arbeit zu formulieren. Kapitel 4 beschäftigt sich mit den zur Herstellung der SWNT-Komplexe angewandten Methoden und Geräten sowie den im Rahmen der Arbeit installierten optischen Versuchsaufbauten. Die Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten der DNA-Oligomere auf Kohlenstoffnanoröhren werden in Kapitel 5 näher erläutert und ebenso deren Ergebnisse diskutiert. Gegenstand von Kapitel 6 sind letztlich die durchgeführten Experimente zur Analyse des Desorptionsverhaltens verschiedener DNA-Oligomere sowie des Polymers F8T2 von Kohlenstoffnanoröhroberflächen. Innerhalb dieses Kapitels wird neben den Ergebnissen der Experimente zudem auf die festgestellte Enthalpie-Entropie-Korrelation eingegangen und auf Grundlage des Crank-Nicolson-Verfahrens gezeigt, dass die beobachteten Kinetiken nicht diffusionslimitiert sind. Abschließend resümiert Kapitel 7 die Ergebnisse der gesamten Arbeit, ehe dies in Kapitel 8 in englischer Sprache erfolgt. Umfangreiche Datensätze sind am Ende der Arbeit im Anhang dargestellt.

## 2 Grundlagen

Dieses Kapitel widmet sich den wichtigsten Grundlagen zum Verständnis der vorliegenden Arbeit. Zunächst werden die Polymerstruktur in Lösung, die thermodynamischen Gesetze beim fest-flüssig-Phasenübergang und die Wechselwirkung von Polymeren mit Oberflächen erläutert. Der darauffolgende Abschnitt beschäftigt sich mit dem numerischen Crank-Nicolson-Verfahren zur Lösung der Diffusionsgleichung. Auf Grundlage der Ergebnisse des Verfahrens lässt sich abschätzen, ob die Kinetik einer Reaktion diffusionslimitiert ist. Im Anschluss werden die für diese Arbeit relevanten Eigenschaften von Kohlenstoffnanoröhren sowie deren kolloidale Stabilisierung und die Fluoreszenzkorrelationspektroskopie vorgestellt.

### 2.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften von Polymeren

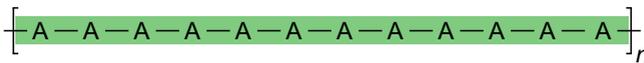
Polymere bestehen aus zahlreichen Untereinheiten und stellen daher eine schier unendlich große Stoffklasse mit extrem variabler chemischer Zusammensetzung dar. Ungeachtet dieser Vielfalt lassen sich dennoch einige Gemeinsamkeiten beim physikalisch-chemischen Verhalten feststellen, die in diesem Abschnitt diskutiert werden. Dabei sollen wichtige Größen wie Durchmesser der Partikel sowie Persistenz- und Kuhn-Länge

hergeleitet werden. Durch Betrachtung des Phasenübergangs von fest nach flüssig, der als Näherung der Desorption angesehen werden kann, werden Gleichungen zur Abschätzung der thermodynamischen Größen des Vorgangs erhalten. Abschließend wird das Langmuir-Modell zur Beschreibung von Oberflächenprozessen eingeführt und einige Besonderheiten der Polymeradsorption vorgestellt. Die Ausführungen orientieren sich im Wesentlichen an den Lehrbüchern *The Physics of Polymers* von G. Strobl, *The Colloidal Domain* von D. Evans und H. Wennerström sowie *Polymer Physics* von M. Rubinstein und R. Colby.<sup>[38–40]</sup>

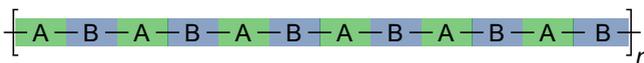
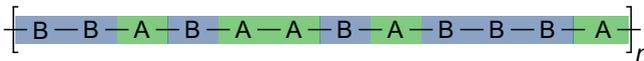
### 2.1.1 Struktur in Lösung

Polymere sind per Definition aus mehreren Monomeren aufgebaut, die kovalent miteinander verbunden sind. Die Anzahl der enthaltenen Monomere  $N_p$  wird als Grad der Polymerisation bezeichnet. Neben der Länge der Polymerkette spielt auch die Anordnung der Monomere eine wichtige Rolle. Abbildung 2.1 zeigt schematisch einige denkbare Verknüpfungsmuster für lineare Polymere.

a) Homopolymere



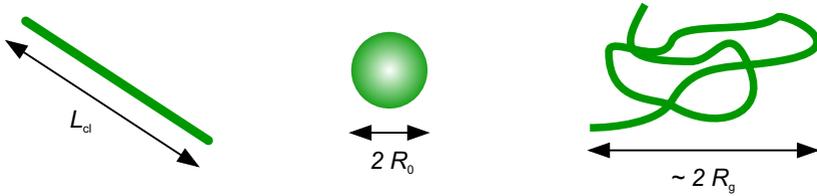
b) Copolymere



**Abbildung 2.1.** Polymerverknüpfungsmuster. **a)** Homopolymere sind nur aus einem Monomer A aufgebaut. **b)** Copolymere bestehen aus mehreren verschiedenen Monomereinheiten A und B, die sowohl zufällig als auch regelmäßig angeordnet sein können.<sup>[38]</sup>

In Abbildung 2.1 a) ist ein Homopolymer dargestellt, welches bei der Polymerisation identischer Monomere A entsteht. Abbildung 2.1 b) skizziert hingegen Copolymere, die das Ergebnis der Reaktion nicht gleichartiger Monomere sind. Bereits bei nur zwei unterschiedlichen Spezies A und B ergeben sich zahlreiche mögliche Verknüpfungssequenzen. Die Monomere können entlang der Polymerkette zufällig verteilt sein, wie im oberen Abschnitt von Abbildung 2.1 b) gezeigt. Es handelt sich dann um ein statistisches Copolymer. Im unteren Teil von Abbildung 2.1 b) ist ein alternierendes Copolymer zu sehen, in dem sich die unterschiedlichen Monomere in einem regelmäßigem Muster wiederholen.<sup>[41]</sup> Während sich die Abfolge der Monomere meist noch gut beeinflussen lässt, ist der Grad der Polymerisation oft nur unzureichend zu kontrollieren. Bei der Synthese entsteht in der Regel ein Gemisch aus Polymerketten unterschiedlicher Länge und Molmasse. Eine sehr gute Kontrolle über die Kettenlänge lässt sich allerdings durch Festphasensynthese erzielen, wie sie für Biomoleküle wie Peptide oder DNA-Oligomere eingesetzt wird.<sup>[22]</sup>

Viele Eigenschaften von Polymeren lassen sich mithilfe ihrer Konformation in Lösung erklären. Die möglichen Anordnungen sind schematisch in Abbildung 2.2 zusammengefasst. Im Gegensatz zu kleineren Molekülen spielen bei Polymeren dabei auch die intramolekularen Kräfte eine wichtige Rolle. Die meisten Polymere bestehen aus einem flexiblen Kohlenstoffrückgrat und in Lösung ist davon auszugehen, dass eine freie Drehbarkeit entlang der C–C-Einfachbindungen weitestgehend möglich ist, wodurch sich viele denkbare Konformationen ergeben. Im linken Teil von Abbildung 2.2 ist die stabförmige Anordnung gezeigt. Diese tritt auf, wenn sich die Monomere der Polymerkette abstoßen und attraktive Wechselwirkungen mit dem Solvens möglich sind. Die Länge des Stabs ist dabei die Konturlänge  $L_{cl}$  des Makromoleküls.<sup>[42]</sup> Die stabförmige Konformation wird vorwiegend bei geladenen Polymeren wie kurzen DNA-Doppelsträngen beobachtet.<sup>[39]</sup> Tritt hingegen der umgekehrte

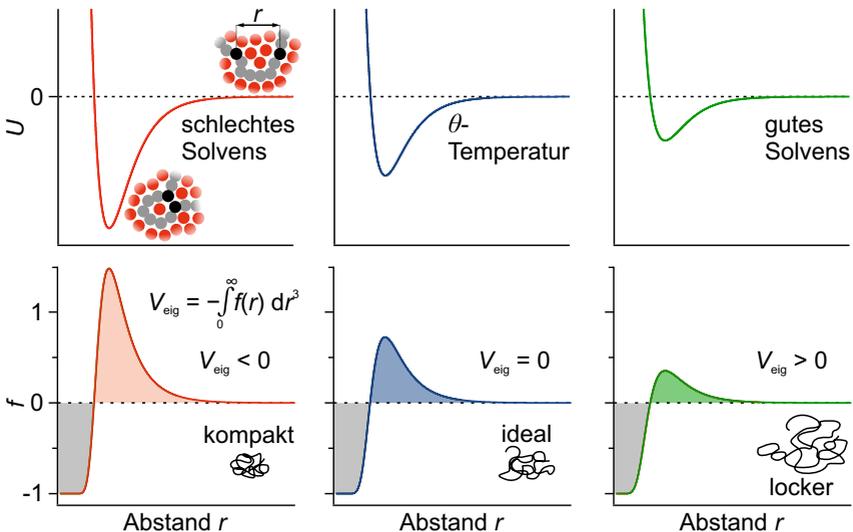


**Abbildung 2.2.** Polymerkonformationen in Lösung (nach D. Evans und H. Wennerström, *The Colloidal Domain*). In Lösung können Polymere stabförmig mit der Konturlänge  $L_{cl}$  (links), sphärisch mit dem Radius  $R_0$  (Mitte) oder als Knäuel mit dem Gyrationsradius  $R_g$  (rechts) vorliegen.<sup>[39]</sup>

Fall ein, dass die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Monomeren attraktiv und jene zum Solvens eher repulsiv sind, ist eine sphärische Anordnung des Polymers zu erwarten. Dieser Fall ist im mittleren Teil der Abbildung gezeigt. Der Radius  $R_0$  des Partikels ist dabei proportional zu  $N_p^{0.33}$ . Viele Peptide liegen unter physiologischen Bedingungen in dieser Konformation vor.<sup>[39,43]</sup> Im rechten Teil von Abbildung 2.2 ist eine Anordnung dargestellt, die eine deutlich geringere Ordnung zeigt. Sie wird als zufälliges Knäuel bezeichnet. Die meisten synthetischen Polymere, aber auch Biopolymere wie RNA und einzelsträngige DNA nehmen in Lösung diese Konformation an. Der Durchmesser der Partikel lässt sich durch Streuexperimente bestimmen und wird daher über den Streumassenradius bzw. Gyrationsradius  $R_g$  definiert. Das Knäuel stellt dabei keinen konstanten sphärischen Partikel dar, sondern unterliegt Fluktuationen verschiedener Konformationen, die sich aus der freien Drehbarkeit um die C–C-Einfachbindungen ergeben. Geht man von einer  $sp^3$ -Hybridisierung des Kohlenstoffrückgrats aus, ergeben sich für die relative Stellung zweier Monomere drei Möglichkeiten: zwei *gauche*- und eine *trans*-Anordnung. Für ein Polymer aus 1000 Monomeren lässt sich die Anzahl der möglichen Konformationen  $\Omega$  berechnen.

$$\Omega = 3^{N_p} = 3^{1000} \approx 10^{477} \quad (2.1)$$

Liegt keine durchgehende  $sp^3$ -Hybridisierung des Kohlenstoffrückgrats vor, ergeben sich entsprechend weniger Konformationen. Das Knäuel wird als zeitliche Mittelung über all diese Konformationen betrachtet. Wenn die Ausrichtung der einzelnen C–C-Bindungen rein statistisch erfolgt, kann die Struktur der Polymerkette mit einer dreidimensionalen Zufallsbewegung berechnet werden und es liegt ein ideales Knäuel vor. Aufgrund des Eigenvolumens  $V_{\text{eig}}$  realer Makromoleküle kann sich die Polymerkette jedoch nicht auf sich selbst falten, was zur Änderung der Knäuelstruktur führt. Diese wird im Wesentlichen durch die konkurrierenden Monomer–Monomer- und Monomer–Solvens-Wechselwirkungen bestimmt und die Auswirkungen sind in Abbildung 2.3 schematisch skizziert.



**Abbildung 2.3.** Knäuelstruktur in unterschiedlichen Lösemitteln. In schlechten Lösemitteln (rot) ist die Anziehung zwischen zwei Monomeren (schwarz) der Polymerkette (grau) relativ stark und es bilden sich kompakte Knäuel. Bei der  $\theta$ -Temperatur (blau) wird ein ideales Knäuel beobachtet, wohingegen in guten Solvenzen (grün) lockere Knäuel entstehen.<sup>[40]</sup>

Im oberen Teil der Abbildung ist das Potenzial  $U$  als Funktion des Monomer–Monomer-Abstands  $r$  gezeigt. Bei großen Entfernungen finden nur Interaktionen mit den Solvensmolekülen statt und das Potenzial wurde willkürlich als null festgesetzt (gestrichelte Linie). Da gleichartige Wechselwirkungen gegenüber heterogenen Wechselwirkungen in der Regel bevorzugt sind, ergibt sich bei Annäherung zweier Monomere stets eine energetische Absenkung.<sup>[39–41]</sup> Diese Stabilisierung ist bei einem schlechten Lösemittel (rot) stärker ausgeprägt als bei einem guten Lösemittel (grün) und spiegelt sich in der unterschiedlichen Tiefe des Potenzials wider. Bei sehr geringen Abständen überwiegt jedoch stets die Born-Abstoßung der Elektronenhüllen, was zu einem starken Anstieg des Potenzials führt. Im unteren Teil der Abbildung ist die sogenannte Mayer  $f$ -Funktion gezeigt, die die Wahrscheinlichkeit wiedergibt, zwei Monomere im Abstand  $r$  zu finden.<sup>[40]</sup>

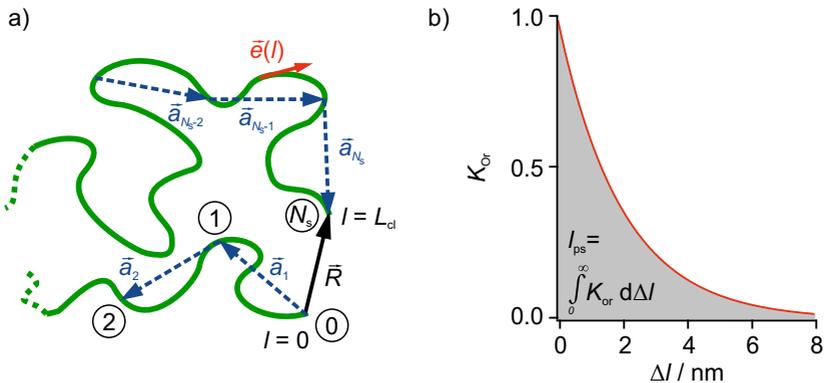
$$f(r) = e^{\frac{-U(r)}{k_B T}} - 1 \quad (2.2)$$

Dabei ist  $k_B$  die Boltzmann-Konstante und  $T$  die absolute Temperatur. Das Eigenvolumen  $V_{\text{eig}}$  des Polymers lässt sich über das Integral der Wahrscheinlichkeitsverteilung ermitteln:<sup>[40]</sup>

$$V_{\text{eig}} = - \int_0^{\infty} f(r) dr^3 \quad (2.3)$$

Das negative Vorzeichen führt dazu, dass die repulsiven Beiträge (grau) einen positiven Beitrag zu  $V_{\text{eig}}$  leisten und folglich zu einer Aufweitung des Polymerknäuels führen. Ist die Monomer–Monomer-Anziehung im Vergleich zur Monomer–Solvens-Anziehung stark – wie bei schlechten Lösemitteln – so führt dies zu einem negativen Eigenvolumen und es

kommt zur Ausbildung eines kompakteren Knäuels. Die Qualität des Lösemittels ist temperaturabhängig und der Übergang von gut zu schlecht findet bei der sogenannten  $\theta$ -Temperatur statt (blau). Bei dieser Temperatur heben sich die attraktiven und repulsiven Beiträge gerade auf, so dass  $V_{\text{eig}} = 0$  gilt. Das Polymer verhält sich dann wie ein ideales Knäuel ohne Eigenvolumen. Am Modell des idealen Knäuels werden im Folgenden einige wichtige Parameter zur Beschreibung von Polymeren in Lösung eingeführt. Abbildung 2.4 a) zeigt schematisch den Ausschnitt eines idealen Knäuels. Die gekrümmte Koordinate  $l$  verläuft entlang der Polymerkette von 0 bis  $L_{\text{cl}}$  und beschreibt die variierende räumliche Ausrichtung der Kette über die Einheitsvektoren  $\vec{e}(l)$  (rot). Des Weiteren sind noch der End-End-Abstand  $\vec{R}$  (schwarz) und die zufälligen Vektoren  $\vec{a}_1$  bis  $\vec{a}_{N_s}$  (blau) dargestellt.



**Abbildung 2.4.** Zufälliges Knäuel und Persistenzlänge (nach G. Strobl, *The Physics of Polymers*). **a)** Ein gelöstes Polymer kann als zufälliges Knäuel beschrieben werden. **b)** Die Persistenzlänge  $l_{\text{ps}}$  ist als Integral der Korrelationsfunktion  $K_{\text{Or}}$  definiert. <sup>[38]</sup>

Ein weiteres wichtiges Maß für die Ausbildung des Knäuels ist die Steifigkeit der Polymerkette. Ein flexibles Polymer wird ein kompakteres Knäuel bilden als ein steifes Polymer der gleichen Länge. Um die Steifigkeit zu beschreiben, wird die räumliche Korrelationsfunktion  $K_{\text{Or}}$  aufgestellt. Sie

beschreibt die Korrelation der Kettenausrichtung an zwei Punkten mit dem Abstand  $\Delta l$  entlang der gekrümmten Koordinate und ist wie folgt definiert:

$$K_{Or}(\Delta l) = \langle \vec{e}(l) \cdot \vec{e}(l + \Delta l) \rangle \quad (2.4)$$

Die spitzen Klammern stehen für die Mittelung über alle möglichen Konformationen mit ihren statistischen Wichtungen. Der typische Verlauf von  $K_{Or}$  ist in Abbildung 2.4 b) gezeigt. Bedingt durch die Flexibilität des Polymers ist davon auszugehen, dass  $K_{Or}$  für große  $\Delta l$  gegen null läuft. Das Integral über die Korrelationsfunktion wird gewöhnlich als Maß für die Steifigkeit des Polymers genutzt und als Persistenzlänge  $l_{ps}$  bezeichnet.

$$l_{ps} = \int_0^{\infty} K_{Or} d\Delta l \quad (2.5)$$

Eine weitere Größe zur Charakterisierung des Polymers ist der in Abbildung 2.4 dargestellte End-End-Vektor  $\vec{R}$ . Er gibt den durchschnittlichen Abstand der beiden Enden der Polymerkette an und kann über die Vektoren  $\vec{a}_N$  hergeleitet werden, die beliebige Punkte entlang der Kette verbinden. Sie teilen diese in  $N_s$  Abschnitte, die jeweils größer als die Persistenzlänge sind. Der End-End-Vektor ergibt sich dann durch Addition dieser Vektoren.

$$\vec{R} = \sum_{N=1}^{N_s} \vec{a}_N \quad (2.6)$$

Da ein ideales Knäuel betrachtet wird, kann die Verteilung der Vektoren  $\vec{a}_N$  entlang des Polymerrückgrats als dreidimensionale Zufallsbewegung

mit einer Gauß-Funktion beschrieben werden. Als Ergebnis erhält man für den mittleren quadratischen End-End-Abstand: <sup>[38–40]</sup>

$$\langle \vec{R}^2 \rangle \propto N_s |\vec{a}_N|^2 \quad (2.7)$$

In realen Systemen muss noch dem Eigenvolumen Rechnung getragen werden, da sich das Polymer nicht auf sich selbst falten kann. Unter Berücksichtigung der Eigenvolumenabstoßung erhält man eine Proportionalität zu  $N_s^{0.6}$ . <sup>[39]</sup> Als Länge für  $\vec{a}_N$  kann die doppelte Persistenzlänge angenommen werden, die als Kuhn-Länge  $l_K$  definiert ist. <sup>[38,40]</sup>

$$l_K = 2l_{ps} \quad (2.8)$$

Die Polymerkette mit der Konturlänge  $L_{cl}$  ist dann in  $L_{cl}/l_K$  Kuhn-Segmente unterteilt. Jedes Kuhn-Segment der Polymerkette kann sich dabei unabhängig von den anderen Segmenten im Raum ausrichten. Anstatt der tatsächlichen Anzahl an Bindungen reduziert sich die Beschreibung der Polymerkonformation auf die Anzahl an Kuhn-Segmenten. Typische Kuhn-Längen von Polyfluorenen, die dem in dieser Arbeit verwendeten F8T2 strukturell ähneln, betragen 17–20 nm, wohingegen die Kuhn-Segmente einzelsträngiger DNA mit 6–8 nm deutlich kürzer sind. <sup>[44–47]</sup> Unter Annahme idealen Verhaltens lässt sich für den mittleren quadratischen End-End-Vektor  $\vec{R}$  zeigen: <sup>[40,48,49]</sup>

$$\langle \vec{R} \rangle^2 = l_K L_{cl} \quad (2.9)$$

Mithilfe des End-End-Vektors lässt sich der Gyrationradius  $R_g$  bestimmen, der den Radius des Polymerknäuels in Lösung charakterisiert. Für die Herleitung sei auf die weiterführende Literatur verwiesen. <sup>[38]</sup> Bei idealem Verhalten ergibt sich:

$$R_g = \sqrt{3l_K a_0 N_p} \propto N_p^{0.5} \quad (2.10)$$

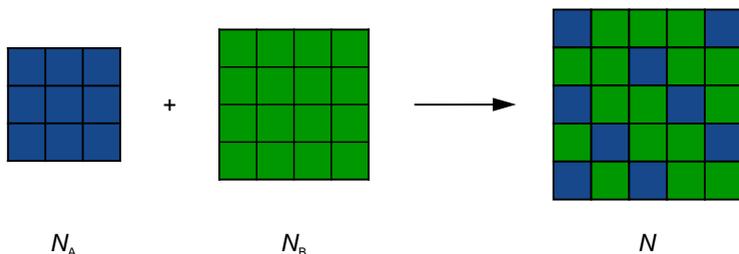
Dabei ist  $a_0$  die Länge eines Monomers. Für gute Lösemittel folgt die Proportionalität  $N_p^{0.6}$  und für schlechte Lösemittel  $N_p^{0.33}$ .<sup>[39]</sup> Aus Gleichung 2.10 ist ersichtlich, dass steifere Polymere mit einer größeren Kuhn-Länge größere Knäuel bilden. Neben der Qualität des Lösemittels nehmen also auch die mechanischen Eigenschaften des Polymers Einfluss auf dessen Knäuelgröße in Lösung.

### 2.1.2 Thermodynamik des fest-flüssig-Phasenübergangs

Im Rahmen dieser Arbeit soll die Desorption von (Bio-)Polymeren von Kohlenstoffnanorohroberflächen untersucht werden. Dieser Vorgang ist grundsätzlich vergleichbar mit der Lösung eines Polymers aus dem Festkörper in ein Solvens. Beide Vorgänge sind durch den Übergang von einer geordneten Struktur an der Oberfläche eines Festkörpers in einen weniger geordneten flüssigen Zustand charakterisiert. Ausgehend von idealen Mischungen soll im kommenden Abschnitt die Thermodynamik des fest-flüssig-Phasenübergangs im Allgemeinen betrachtet werden, um die gefundenen Zusammenhänge anschließend auf Polymere zu übertragen und Rückschlüsse auf den Desorptionsprozess zu ziehen. Abbildung 2.5 zeigt schematisch die ideale Mischung von zwei reinen Komponenten A und B. Die Freie Mischungsenthalpie  $\Delta G_{\text{mix}}$  bei konstanter Temperatur und konstantem Druck ist dabei über die Mischungsenthalpie  $\Delta H_{\text{mix}}$  und die Mischungsentropie  $\Delta S_{\text{mix}}$  definiert.

$$\Delta G_{\text{mix}} = \Delta H_{\text{mix}} - T\Delta S_{\text{mix}} \quad (2.11)$$

Bei einer idealen Mischung treten zwischen den beiden Komponenten per Definition absolut identische Wechselwirkungen auf, so dass



**Abbildung 2.5.** Zweidimensionales Gittermodell zur Beschreibung der idealen Mischung von zwei Komponenten (nach D. Evans und H. Wennerström, *The Colloidal Domain*). Im gemischten Zustand sind neben der gezeigten noch zahlreiche weitere Anordnungen zugänglich.<sup>[39]</sup>

$\Delta H_{\text{mix}} = 0$  gilt. Da es sich bei der Mischung um einen spontanen Vorgang handelt, also  $\Delta G_{\text{mix}} < 0$  ist, muss die Entropie als Folge der Durchmischung zunehmen. Nach Boltzmann ist die Entropie  $S$  proportional zum natürlichen Logarithmus der zugänglichen Zustände  $\Omega$ .

$$S = k_B \ln \Omega \quad (2.12)$$

Betrachtet man das 2D-Gittermodell in Abbildung 2.5, so stellt man fest, dass im Ausgangszustand, in dem die beiden Komponenten A und B getrennt sind, nur die gezeigte Anordnung möglich ist. Folglich ist  $\Omega = 1$ . Für den Mischungszustand sind neben der gezeigten jedoch noch zahlreiche weitere Anordnungen denkbar. Um deren Anzahl zu berechnen, reicht es aus, die  $N_A$  A-Teilchen auf das Gitter zu verteilen. Die B-Teilchen besetzen dann die verbliebenen, vakanten Gitterplätze. Die mögliche Anzahl der Verteilungen  $\Omega$  von  $N_A$  identischen Objekten auf  $N$  Gitterplätze ist:

$$\Omega = \frac{N!}{N_A! \cdot (N - N_A)!} = \frac{N!}{N_A! \cdot N_B!} \quad (2.13)$$

Für das in Abbildung 2.5 dargestellte System mit  $N = 25$ ,  $N_A = 9$  und  $N_B = 16$  ist  $\Omega \approx 2 \cdot 10^6$ . Die Entropieänderung  $\Delta S_{\text{mix}}$  zwischen Ausgangs- und Endzustand ist folglich  $15 k_B$  oder  $125 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ . Für sehr große  $N$  lässt sich die Stirling-Näherung verwenden und man erhält als Ausdruck für die Entropie des gemischten Systems:

$$S_{\text{mix}} = -k_B (N_A \ln X_A + N_B \ln X_B) \quad (2.14)$$

Dabei sind  $X_A$  und  $X_B$  die entsprechenden Stoffmengenanteile. Obwohl Gleichung 2.14 für ideale Bedingungen hergeleitet wurde, kann sie auch zur Beschreibung von stark verdünnten, realen Mischungen angewendet werden, wie sie im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden. Allerdings ist noch die Beschreibung der Mischungsenthalpie  $\Delta H_{\text{mix}}$  notwendig, die in realen Lösungen ungleich null ist. Die Enthalpie  $H$  lässt sich als Summe der Wechselwirkungen  $W$  aller Teilchen  $J$  mit ihrem Nachbarmolekül  $K$  formulieren. <sup>[39]</sup>

$$H = \sum_{J>K} W_{JK} \quad (2.15)$$

Die Anzahl der nächsten Nachbarmoleküle eines Teilchens betrage  $z$ . Im Ausgangszustand in Abbildung 2.5 kann es nur zu Wechselwirkungen zwischen gleichen Molekülen kommen und die Enthalpie des Anfangszustands lässt sich wie folgt formulieren:

$$H_0 = \frac{1}{2} z N_A W_{AA} + \frac{1}{2} z N_B W_{BB} \quad (2.16)$$

Für den gemischten Zustand muss nicht nur die Anzahl der gleichartigen Wechselwirkungen  $i_{AA}$  bzw.  $i_{BB}$  berücksichtigt werden, sondern zusätzlich noch die zwischen verschiedenen Teilchen  $i_{AB}$ . Die Enthalpie für den gemischten Zustand ergibt sich dann als:

$$H_{\text{mix}} = i_{\text{AA}}W_{\text{AA}} + i_{\text{BB}}W_{\text{BB}} + i_{\text{AB}}W_{\text{AB}} \quad (2.17)$$

Die Anzahl der Wechselwirkungen steht im Zusammenhang mit der entsprechenden Teilchenzahl  $N_{\text{A}}$  bzw.  $N_{\text{B}}$  und der Koordinationszahl  $z$ .

$$2i_{\text{AA}} + i_{\text{AB}} = zN_{\text{A}} \quad (2.18)$$

$$2i_{\text{BB}} + i_{\text{AB}} = zN_{\text{B}} \quad (2.19)$$

Der Faktor zwei rührt daher, dass Wechselwirkungen zwischen gleichartigen Molekülen in beide Richtungen gezählt werden. Setzt man nun Gleichungen 2.18 und 2.19 in Gleichung 2.17 ein, so erhält man nach Umformung:<sup>[39]</sup>

$$\Delta H_{\text{mix}} = H_{\text{mix}} - H_0 = i_{\text{AB}} \left( W_{\text{AB}} - \frac{1}{2}W_{\text{AA}} - \frac{1}{2}W_{\text{BB}} \right) \equiv \frac{i_{\text{AB}} w}{z N_{\text{Av}}} \quad (2.20)$$

Hierbei ist  $N_{\text{Av}}$  die Avogadro-Zahl. Außerdem taucht der Wechselwirkungsparameter  $w$  auf, über dessen Vorzeichen festgelegt ist, ob Interaktionen zwischen gleichartigen oder verschiedenen Spezies energetisch bevorzugt sind.

$$w = zN_{\text{Av}} \left( W_{\text{AB}} - \frac{1}{2}W_{\text{AA}} - \frac{1}{2}W_{\text{BB}} \right) \quad (2.21)$$

Obleich die Beiträge  $W_{\text{AB}}$ ,  $W_{\text{AA}}$  und  $W_{\text{BB}}$  negativ sind, nimmt  $w$  in der Regel positive Werte an, da die heterogenen Wechselwirkungen  $W_{\text{AB}}$  schwächer sind als der Durchschnitt der homogenen Wechselwirkungen  $W_{\text{AA}}$  und  $W_{\text{BB}}$ .<sup>[39–41]</sup> Um den Ausdruck in Gleichung 2.20 nutzen zu können,

muss noch die Anzahl der heterogenen Wechselwirkungen  $i_{AB}$  bestimmt werden. Von den  $z$  Nachbarn eines A-Teilchens sind  $zX_B$  B-Teilchen. Nachdem es  $N_A = X_A(N_A + N_B)$  A-Teilchen gibt, lässt sich die Anzahl der AB-Paare aus den entsprechenden Stoffmengenanteilen  $X$  und den Stoffmengen  $N$  berechnen.

$$i_{AB} = zX_A X_B (N_A + N_B) \quad (2.22)$$

Nach Einsetzen von Gleichung 2.22 in Gleichung 2.20 erhält man den Ausdruck für die Mischungsenthalpie  $\Delta H_{\text{mix}}$ . Mit der Mischungsentropie aus Gleichung 2.14 kann letztlich die Freie Mischungsenthalpie aus Gleichung 2.11 berechnet werden.

$$\Delta G_{\text{mix}} = (n_A + n_B) [X_A X_B w + RT (X_A \ln X_A + X_B \ln X_B)] \quad (2.23)$$

In dieser Gleichung ist  $R$  die allgemeine Gaskonstante und  $n$  die Stoffmenge sowie  $X$  der Stoffmengenanteil der jeweiligen Komponente, die in der Regel beide bekannt sind. Der Zusammenhang zwischen Löslichkeit eines Stoffs A in Lösemittel B und dem Wechselwirkungsparameter  $w$  wird in Gleichung 2.23 deutlich. Je schlechter die heterogenen Wechselwirkungen zwischen gelöstem Stoff und Solvens sind – also je größer  $w$  – desto größer wird die Freie Mischungsenthalpie  $\Delta G_{\text{mix}}$ . Die bisher getroffenen Überlegungen gelten für alle verdünnten Mischungen. Beim Solvatisieren von Polymeren treten jedoch einige Besonderheiten auf, die im Folgenden erörtert werden.

Die erste thermodynamische Beschreibung der Löslichkeit von Polymeren wurde von P. Flory und L. Huggins veröffentlicht. Sie gehen ebenfalls von einer idealen Mischung aus und berücksichtigen zusätzlich noch die unterschiedlichen Eigenvolumina von Polymer und Solvens. Die ideale

Mischungsentropie wird dann mit den Volumenanteilen  $\phi$  von Solvens und Polymer und deren Stoffmengen  $n$  formuliert. <sup>[50,51]</sup>

$$S_{\text{mix}} = -R (n_s \ln \phi_s + n_p \ln \phi_p) \quad (2.24)$$

Ebenso muss der Ausdruck für die Mischungsenthalpie angepasst werden. Die Summe der heterogenen Interaktionen  $i_{AB}$  wird durch die Anzahl der Monomereinheiten bestimmt, die sich durch Multiplikation der Stoffmenge des Polymers  $n_p$  mit dessen Polymerisationsgrad  $N_p$  ergibt.

$$\Delta H_{\text{mix}} = zwN_p n_p \phi_s = zRT \chi N_p n_p \phi_s \quad (2.25)$$

$$\text{mit } \chi = \frac{w}{RT} \quad (2.26)$$

Dabei ist  $\chi$  der sogenannte Flory-Huggins-Parameter. Da  $w$  in der Regel positiv ist, wird die Mischungsenthalpie nach Gleichung 2.25 für längere Polymere immer größer, wohingegen die Mischungsentropie unabhängig von  $N_p$  ist. Als Konsequenz sollten längere Polymere unlöslich sein. Dies ist jedoch offensichtlich nicht der Fall. Der Grund dafür liegt wiederum in der Flexibilität der Polymerkette und den damit verbundenen zahlreichen zugänglichen Konformationen in Lösung, die bereits in Kapitel 2.1.1 diskutiert wurden. Im Festkörper sind die Rotationsfreiheitsgrade eingeschränkt und das Polymer kann näherungsweise nur eine Konformation annehmen. Die Entropie ist gemäß Gleichung 2.12 folglich null. <sup>[39]</sup> Beim Übergang vom Festkörper in die flüssige Phase tritt die freie Drehbarkeit entlang der C–C-Bindungen ein und die Anzahl zugänglicher Konformationen kann gemäß Gleichung 2.1 berechnet werden. Die Entropie in Lösung beträgt dann für die Stoffmenge  $n_p$ . <sup>[39]</sup>

$$S = n_p k_B \ln \Theta^{N_p} = n_p k_B N_p \ln \Theta \quad (2.27)$$

Die Variable  $\Theta$  gibt die möglichen Anordnungen bezüglich einer C–C-Bindung bzw. zweier Kuhn-Segmente wieder. Für Makromoleküle mit einer durchgehenden  $sp^3$ -Hybridisierung des Polymerrückgrats lassen sich die beiden *gauche*- sowie die *trans*-Anordnung anführen und es gilt  $\Theta=3$ . Über die Gleichungen 2.24, 2.25 und 2.27 kann die Freie Mischungsenthalpie des Polymers  $\Delta G_{\text{mix}}^{\text{Poly}}$  berechnet werden.

$$\Delta G_{\text{mix}}^{\text{Poly}} = RT [(n_s \ln \phi_s + n_p \ln \phi_p) + z \chi N_p n_p \phi_s - n_p N_p \ln \Theta] \quad (2.28)$$

Der erste Term ist der Ausdruck für die ideale Mischungsentropie und der zweite Term steht für die Mischungsenthalpie. Der dritte Term berücksichtigt den Entropiezuwachs für die zugänglichen Polymerkonformationen in Lösung. Für große  $N_p$  dominieren die beiden letzten Terme. Abhängig davon, ob der enthalpische oder entropische Beitrag überwiegt, wird  $\Delta G_{\text{mix}}^{\text{Poly}}$  größer oder kleiner null. Bei sehr verdünnten Lösungen ist  $\phi_s \cong 1$  und die Qualität des Lösemittels kann über den Flory-Huggins-Parameter abgeschätzt werden.<sup>[39]</sup>

$$\chi_{\text{gut}} < \frac{\ln \Theta}{z} < \chi_{\text{schlecht}} \quad (2.29)$$

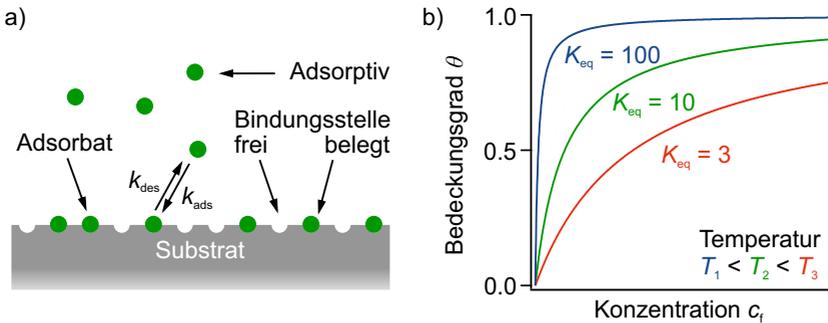
Sind die Wechselwirkungen zwischen Solvens und Monomer attraktiv, ergeben sich höhere Koordinationszahlen  $z$  und es handelt sich um ein gutes Lösemittel. Bei schlechteren Lösemitteln dominieren Monomer-Monomer-Interaktionen und  $z$  ist demzufolge niedriger. Der Übergang von gutem zu schlechtem Lösemittel erfolgt definitionsgemäß bei  $\chi = 0.5$  und entspricht der  $\theta$ -Temperatur.<sup>[39]</sup>

Gleichung 2.28 verdeutlicht, dass das Lösemittel einen direkten Einfluss auf die Freie Mischungsenthalpie  $\Delta G_{\text{mix}}^{\text{Poly}}$  eines Polymers hat. Aufgrund der prinzipiellen Vergleichbarkeit zwischen Solvatisierung und Desorption kann davon ausgegangen werden, dass die Qualität des Lösemittels auch einen erheblichen Einfluss auf das Ausmaß und die Geschwindigkeit der Desorption eines Polymers zeigt.

## **2.2 Thermodynamik der Oberflächenwechselwirkungen**

Um das Sorptionsverhalten von (Bio-)Polymeren auf Kohlenstoffnanoröhren zu beschreiben, ist es notwendig, die Wechselwirkungen zwischen Polymeren und Festkörperoberflächen zu verstehen. Dieser Abschnitt widmet sich der thermodynamischen Beschreibung der Adsorption, um grundlegende Begriffe und das Langmuir-Modell anhand der Adsorption kleinerer Moleküle an festen Oberflächen einzuführen. Darauf aufbauend wird die Adsorption großer Moleküle wie Polymere analysiert.

Abbildung 2.6 a) zeigt schematisch die Grenzfläche zwischen der flüssigen bzw. gasförmigen Phase und dem festen Substrat, an welchem die Adsorption stattfindet. Die adsorbierten Teilchen werden Adsorbat genannt, die nicht adsorbierten Moleküle Adsorptiv. Teil b) der Abbildung zeigt den Verlauf des Bedeckungsgrads  $\theta$  in Abhängigkeit der Gleichgewichtskonzentration  $c_f$  des Adsorptivs. Eine relativ einfache Beschreibung der Adsorption ist das Langmuir-Modell. Die Oberfläche des Substrats besteht dabei aus einer gewissen Anzahl an Bindungsstellen  $n_\infty$ , die von Molekülen aus der Lösung bzw. Gasphase besetzt werden können. Die Adsorption ist reversibel, so dass sich ein Gleichgewicht zwischen Adsorbat und Adsorptiv einstellt, das von den Ratenkonstanten



**Abbildung 2.6.** Langmuir-Adsorptionsmodell (nach H.-J. Butt, *Physics and Chemistry of Interfaces*). **a)** Schematische Darstellung der Adsorption und Desorption an festen Oberflächen. **b)** Langmuir-Adsorptionsisothermen zur Beschreibung der Abhängigkeit des Bedeckungsgrads von der Gleichgewichtskonzentration  $c_f$ ;  $K_{eq}$  jeweils in  $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$ .<sup>[52]</sup>

der Adsorption  $k_{ads}$  und der Desorption  $k_{des}$  abhängt. Alle Bindungsstellen sind identisch und es finden keine Wechselwirkungen zwischen den adsorbierten Molekülen statt. Der Bedeckungsgrad  $\theta$  der Oberfläche ist als Anteil der besetzten Bindungsstellen definiert. Vor allem für technische Anwendungen wird der Bedeckungsgrad oft über die Masse des Adsorbats  $m_{ads}$  definiert, welche pro Gramm Substrat  $m_{sub}$  gebunden werden kann.

$$\theta = \frac{n_{ads}}{n_{\infty}} \propto \frac{m_{ads}}{m_{sub}} \quad (2.30)$$

Die zeitliche Änderung des Bedeckungsgrads hängt sowohl von den Ratekonstanten der Adsorption und Desorption als auch von der Konzentration des Adsorptivs  $c_f$  und dem Bedeckungsgrad selbst ab.

$$\frac{d\theta}{dt} = k_{ads}(1 - \theta)c_f - k_{des}\theta \quad (2.31)$$

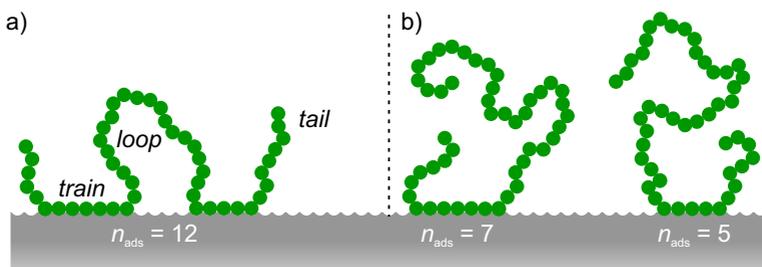
Im Gleichgewicht laufen Adsorption und Desorption gleich schnell ab und die Änderung des Bedeckungsgrads ist folglich null. Gleichung 2.31 lässt sich dann lösen und der Bedeckungsgrad kann als Funktion von  $c_f$  angegeben werden.

$$\theta(c_f) = \frac{K_{\text{eq}} c_f}{1 + K_{\text{eq}} c_f} \quad \text{mit} \quad K_{\text{eq}} = \frac{k_{\text{ads}}}{k_{\text{des}}} \quad (2.32)$$

Neben der Adsorptivkonzentration hängt der Bedeckungsgrad über die Gleichgewichtskonstante  $K_{\text{eq}}$  auch von der Temperatur ab. Folglich erhält man für jede Temperatur eine Adsorptionsisotherme, wie sie in Abbildung 2.6 b) dargestellt ist. Für niedrige Konzentrationen steigt der Bedeckungsgrad zunächst linear mit  $c_f$  an und läuft dann in einen Sättigungsbereich. Bei sehr hohen Konzentrationen des Adsorptivs nimmt der Bedeckungsgrad nicht weiter zu, da alle Bindungsstellen besetzt sind und somit keine weiteren Teilchen mehr adsorbiert werden können. Eine Bedeckung des Substrats mit mehreren Schichten Adsorbat wird im Langmuir-Modell nicht berücksichtigt. Für steigende Temperaturen sinkt der Wert der Gleichgewichtskonstanten, da die Adsorption ein exothermer Vorgang ist. Dementsprechend sind bei gleicher Konzentration weniger Teilchen adsorbiert.

Ogleich das Adsorptionsmodell von Langmuir einige Vereinfachungen enthält, lassen sich Adsorptionsvorgänge damit sehr gut beschreiben. Für die Adsorption von Polymeren müssen jedoch weitere Effekte berücksichtigt werden. Der Hauptunterschied zwischen den bisher betrachteten niedermolekularen Adsorbaten und Polymeren ist die Teilchengröße. Kleine Moleküle haben auf der Oberfläche des Substrats einen identischen Platzbedarf und können entweder adsorbiert oder desorbiert sein. Bei Polymeren sind die Verhältnisse weniger eindeutig, da jede Monomereinheit adsorbiert oder desorbiert sein kann. Abbildung 2.7 zeigt schematisch mögliche Adsorptionskonformationen eines

Polymers. Strukturell lassen sich dabei drei Bereiche unterscheiden. Ein Teil der Monomere ist in *trains* auf der Oberfläche adsorbiert. Benachbarte *train*-Segmente sind durch *loops* miteinander verbunden, welche selbst nicht mit der Oberfläche in Wechselwirkung treten. An den Enden des Polymers kommt es zur Ausbildung von *tails*. Auch diese Monomere sind nicht auf der Oberfläche adsorbiert, sondern befinden sich in Lösung.



**Abbildung 2.7.** Adsorptionskonformationen von Polymeren (nach A. W. Adamson und A. P. Gast, *Physical Chemistry of Surfaces*). **a)** Innerhalb eines adsorbierten Polymeren können die Monomere adsorbiert sein (*trains*) oder in die Lösung ragen (*loops*, *tails*). **b)** Der Anteil nicht adsorbierter Monomere kann bei identischen Polymeren variieren, was einen variablen Platzbedarf zur Folge hat.<sup>[43,53]</sup>

Das Adsorptionsverhalten der Polymere ist auf deren konformative Vielfalt zurückzuführen, die bereits in den vorangegangenen Abschnitten diskutiert wurde. Wäre das Polymer über alle Monomereinheiten auf der Oberfläche adsorbiert, würde die maximale Adsorptionswärme frei werden. Dies würde jedoch wiederum eine starke Absenkung der Entropie bedeuten, da die Konformation des Polymers sehr eingeschränkt wäre. Die Ausbildung verschiedener Konformationsabschnitte innerhalb eines Polymeren stellt daher einen Kompromiss aus konformativer Vielfalt und attraktiven Wechselwirkungen mit der Oberfläche dar.<sup>[39,43,53]</sup> Die Adsorptionswärme des Polymeren zeigt folglich keine lineare Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad  $N_p$ . Eine weitere Auswirkung der konfor-

mativen Freiheit ist in Abbildung 2.7 b) gezeigt. Die Anzahl der Segmente, über die ein Polymer auf dem Substrat gebunden ist, kann in Abhängigkeit des Lösemittels oder der Polymerkonzentration variieren.<sup>[39,53]</sup> Obwohl in Abbildung 2.7 a) und b) jeweils insgesamt zwölf der 27 Bindungsstellen des Substrats besetzt sind, ist die Anzahl adsorbierter Polymere nicht identisch und die in Gleichung 2.30 eingeführte Proportionalität des Bedeckungsgrads zur Masse des Adsorbats daher für die Adsorption von Polymeren nicht mehr gültig. Trotz der diskutierten Besonderheiten hat sich gezeigt, dass die Polymeradsorption hinreichend gut mit dem Langmuir-Modell beschrieben werden kann.<sup>[39,43,53]</sup> Daher wird auch im Rahmen dieser Arbeit auf das Modell zurückgegriffen. Abgesehen von der Bestimmung über Adsorptionsisothermen können die Gleichgewichtskonstanten der Adsorption auch auf Grundlage kinetischer Untersuchungen erhalten werden, welche im kommenden Abschnitt diskutiert werden.

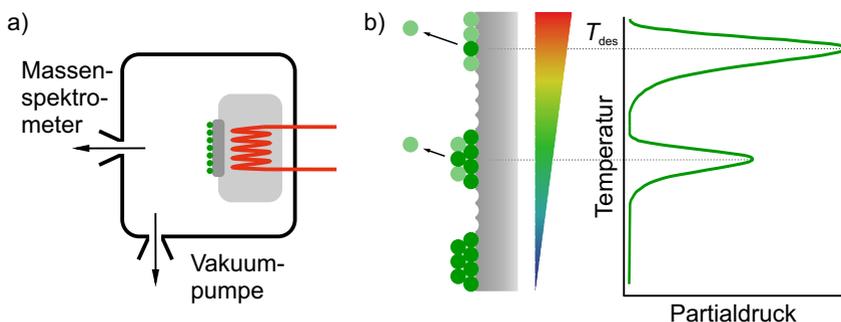
## **2.3 Kinetik der Oberflächenwechselwirkungen**

Durch Untersuchung der Sorptionskinetik an Oberflächen sind neben den Ratenkonstanten der Adsorption und Desorption auch thermodynamische Größen zugänglich. Bindungsenergien von Adsorbaten werden beispielsweise über Desorptionsexperimente ermittelt. Dieser Abschnitt widmet sich den Prozessen auf molekularer Ebene, um kinetische Vorgänge adäquat zu beschreiben. Die Desorption eines Adsorbats stellt einen aktivierten Vorgang dar, dessen Aktivierungsenergie in etwa der Bindungsenergie entspricht. Diese kann durch temperaturabhängige Untersuchungen bestimmt werden. Die grundlegende Analyse temperaturprogrammierter Desorptionsexperimente in der Gasphase wurde in den 1960er Jahren von P. A. Redhead durchgeführt.<sup>[54]</sup> Sie soll zunächst kurz erläutert werden, da sie der Ausgangspunkt für die in

dieser Arbeit durchgeführten Desorptionsexperimente in Lösung ist, die anschließend diskutiert werden.

### 2.3.1 Gasphase

Ein vereinfachter, schematischer Versuchsaufbau zur temperaturprogrammierten Desorption sowie die Vorgänge auf molekularer Ebene sind in Abbildung 2.8 skizziert.



**Abbildung 2.8.** Temperaturprogrammierte Desorption. **a)** Die Probe wird einem Temperaturgradienten im Hochvakuum ausgesetzt und die Desorptionsraten über ein Massenspektrometer detektiert. **b)** Die Adsorbate desorbieren in Abhängigkeit ihrer Bindungsenergie bei verschiedenen Desorptionstemperaturen  $T_{des}$ .

Die zu untersuchende Oberfläche ist auf einem temperierbaren Probenhalter in einer Hochvakuumkammer angebracht. Bei sehr niedrigen Temperaturen kondensiert das Adsorbat auf der Oberfläche, wobei Submonolagen, aber auch mehrere Monolagen gezielt eingestellt werden können. Die Konzentration an ungebundenen Teilchen ist aufgrund des niedrigen Dampfdrucks nahezu null. Anschließend wird die Probe mit konstanter Heizrate erwärmt. Ist die thermische Energie ausreichend,

um die Bindungen zwischen Oberfläche und Adsorbat zu lösen, startet die Desorption. Über das Massenspektrometer kann der Anstieg des Partialdrucks in Abhängigkeit der Temperatur  $T$  verfolgt werden. Aufgrund der hohen Pumpraten kann die Readsorption vernachlässigt werden.<sup>[54]</sup> Die Desorptionsrate  $r_{\text{des}}$  lässt sich über die Arrhenius-Gleichung beschreiben.

$$r_{\text{des}}(\theta) = -\frac{d\theta}{dt} = \nu\theta^n e^{-\frac{\Delta E_{\text{des}}^\ddagger}{RT}} \quad (2.33)$$

Dabei ist  $n$  die Reaktionsordnung,  $\nu$  der präexponentielle Faktor und  $\Delta E_{\text{des}}^\ddagger$  die Aktivierungsenergie. Die beiden letzten werden als unabhängig vom Bedeckungsgrad  $\theta$  angenommen. Die Aktivierungsenergie ist allgemein mit der Aktivierungsenthalpie  $\Delta H_{\text{des}}^\ddagger$  über die Volumenänderung  $\Delta V$  verknüpft.<sup>[55]</sup>

$$\Delta E_{\text{des}}^\ddagger = \Delta H_{\text{des}}^\ddagger - p\Delta V \quad (2.34)$$

Aufgrund des geringen vorliegenden Drucks  $p$  kann die Volumenarbeit vernachlässigt werden, so dass nur die Änderung der Inneren Energie des Adsorbats betrachtet wird. Setzt man eine konstante Heizrate  $\beta$  voraus, so lässt sich zeigen, dass für  $n=1$  die Temperatur  $T_{\text{des}}$ , bei der die Desorptionsrate maximal ist, ebenso unabhängig vom Bedeckungsgrad ist.<sup>[54]</sup>

$$\frac{\Delta E_{\text{des}}^\ddagger}{RT_{\text{des}}^2} = \frac{\nu}{\beta} e^{-\frac{\Delta E_{\text{des}}^\ddagger}{RT_{\text{des}}}} \quad (2.35)$$

$$\ln\left(\frac{\beta}{T_{\text{des}}^2}\right) = \ln\left(\frac{R\nu}{\Delta E_{\text{des}}^\ddagger}\right) - \frac{\Delta E_{\text{des}}^\ddagger}{RT_{\text{des}}} \quad (2.36)$$

Indem die Desorptionstemperatur bei verschiedenen Heizraten bestimmt wird, lassen sich die Bindungsenergie und der präexponentielle Faktor ermitteln.<sup>[56]</sup> Für kleine Moleküle lässt sich  $\nu$  auch über die Theorie des Übergangszustands abschätzen und wird oft nicht experimentell bestimmt.<sup>[54,57]</sup>

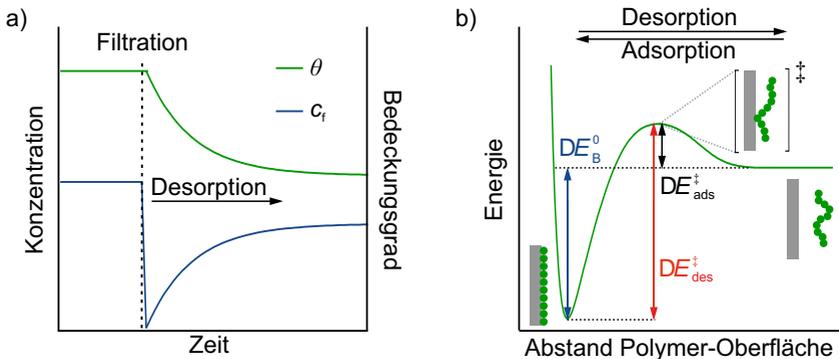
$$\nu = \left( \frac{k_B T}{h} \right) \cdot \frac{q^\ddagger}{q^{\text{ads}}} \approx 10^{13-15} \text{ s}^{-1} \quad (2.37)$$

Dabei ist  $h$  die Planck-Konstante und  $q^\ddagger$  bzw.  $q^{\text{ads}}$  die Zustandssummen des Übergangszustands bzw. des Adsorbats. Für kleine Moleküle sind die Freiheitsgrade im adsorbierten Zustand nur wenig eingeschränkt und das Verhältnis der Zustandssummen ist in etwa eins. Daher werden präexponentielle Faktoren im Bereich von  $10^{13-15} \text{ s}^{-1}$  erhalten. Mit der Molekülgröße steigt der Beitrag von Schwingungsmoden niedriger Frequenz zur Zustandssumme. Sterische Einschränkungen im adsorbierten Zustand können daher zu einer signifikanten Reduktion von  $q^{\text{ads}}$  führen, was deutlich höhere präexponentielle Faktoren zur Folge hat. Für polyatomare Moleküle muss der präexponentielle Faktor daher experimentell bestimmt werden. Für größere Kohlenwasserstoffe und *oligo*-Alkane werden Werte im Bereich von  $10^{19-21} \text{ s}^{-1}$  angegeben.<sup>[58-60]</sup>

### 2.3.2 Kondensierte Phase

Die grundsätzlichen Überlegungen, die für die Vorgänge in der Gasphase angestellt wurden, gelten auch in Lösung. Auch hier entspricht die Aktivierungsenergie der Desorption in etwa der Bindungsenergie. Ebenso kann die Äquivalenz von Energie und Enthalpie angenommen werden, da in kondensierter Phase die Volumenänderung vernachlässigbar ist (vgl. Gleichung 2.34). Allerdings ergeben sich auch einige experimentelle und analytische Veränderungen, die im Folgenden diskutiert werden.

Befindet sich ein fester Partikel in Kontakt mit einer Lösung, so adsorbieren die gelösten Teilchen an der Oberfläche und es kommt zur Ausbildung eines Gleichgewichts zwischen Adsorbat und Adsorptiv. In kondensierter Phase wird der Temperaturbereich, der für Desorptionsexperimente zur Verfügung steht, durch den Schmelz- und Siedepunkt des Solvens limitiert. Anstatt durch einen Temperaturgradienten wird die Desorption daher oft durch einen Konzentrationsprung initiiert.<sup>[61–64]</sup> Abbildung 2.9 zeigt den Konzentrationsverlauf dieser Relaxationsmethode und das Energiediagramm des Sorptionvorgangs in Abhängigkeit des Adsorbatsabstands zur Oberfläche.



**Abbildung 2.9.** Konzentrationsprungmethode. **a)** Entfernt man das freie Adsorptiv aus einer Lösung, relaxiert das System in eine neue Gleichgewichtslage. **b)** Die Kinetik dieses Relaxationvorgangs ist von den Aktivierungsbarrieren  $\Delta E^{\ddagger}$  abhängig.

Bei der gezeigten Konzentrationsprungmethode wird das Gleichgewicht gestört, indem das freie Adsorptiv, beispielsweise durch Filtration, entfernt und durch reines Lösemittel ersetzt wird. Die Konzentration  $c_f$  wird folglich null, wohingegen der Bedeckungsgrad  $\theta$  nach der Filtration zunächst nahezu unverändert vorliegt. In der Langmuir-Gleichung 2.31 ist der erste Term demnach null und es wird eine Netto-Desorption beobachtet, die zu einer neuen Gleichgewichtslage führt. Readsorptionsef-

fekte können zu Beginn vernachlässigt werden, so lange  $c_f$  klein ist und die Änderungen von  $c_f$  bzw.  $\theta$  nahezu linear verlaufen. Die Langmuir-Gleichung vereinfacht sich damit zu:

$$\frac{d\theta}{dt} = -k_{\text{des}}\theta \quad (2.38)$$

Aus der Steigung des linearen Bereichs kann folglich die Ratenkonstante der Desorption erhalten werden. Eine zusätzliche Ermittlung der Adsorptionsratenkonstante ist möglich, indem die Änderung des Bedeckungsgrads über den gesamten Reaktionsverlauf mit der integrierten, vollständigen Langmuir-Gleichung angepasst wird. Demnach sind beide Ratenkonstanten zugänglich und aus der kinetischen Untersuchung lässt sich folglich die thermodynamische Gleichgewichtskonstante  $K_{\text{eq}}$  der Reaktion bestimmen.

$$K_{\text{eq}} = \frac{k_{\text{ads}}}{k_{\text{des}}} \quad (2.39)$$

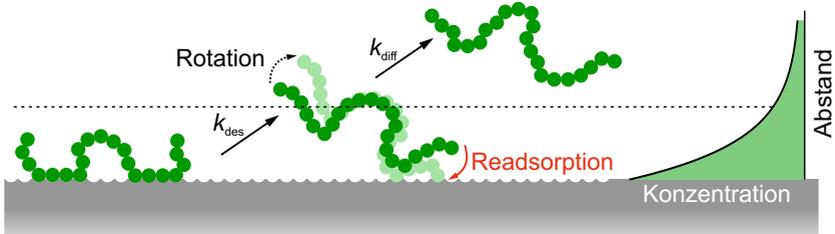
Durch temperaturabhängige Messungen wird neben der Aktivierungsenergie der Desorption auch die der Adsorption  $\Delta E_{\text{ads}}^{\ddagger}$  zugänglich und es lässt sich ein vollständiges Energiediagramm aufstellen, wie es in Abbildung 2.9 b) gezeigt ist. Für kleine Moleküle ist zu erwarten, dass die Adsorption keine oder nur eine sehr kleine Barriere zeigt. Bei größeren Molekülen wie Polymeren ist die Adsorption oft mit einer Konformationsänderung verbunden, bei der beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen gebrochen werden müssen.<sup>[30,32]</sup> Dies führt zur Ausbildung einer zusätzlichen Barriere und die Aktivierungsenergie der Desorption ist nicht mehr identisch mit der Bindungsenergie  $\Delta E_{\text{B}}^0$  des Adsorbats.

Dies ist nicht der einzige Effekt, der zur Beschreibung der Sorption größerer Moleküle, insbesondere von Polymeren, berücksichtigt werden

muss. Abbildung 2.10 zeigt schematisch die Desorption eines Oligomers auf mikroskopischer Ebene. Die Desorption des Polymers erfolgt mit der Ratenkonstante  $k_{\text{des}}$  und die Aktivierungsenergie entspricht dem Betrag, der notwendig ist, um das längste *train*-Segment mit  $N_{\text{train}}$  Monomeren von der Oberfläche zu lösen.<sup>[65]</sup>

$$\Delta E_{\text{des}}^{\ddagger} = N_{\text{train}} \cdot \Delta E_{\text{B}}^{\text{Monomer}} \quad (2.40)$$

Nach der Desorption befinden sich die Moleküle in unmittelbarer Nähe zur Oberfläche. Da alle ungebundenen Teilchen zuvor durch Filtration entfernt wurden, entsteht ein Konzentrationsgradient, der durch Diffusion ausgeglichen wird. Als Konkurrenzreaktion kann jedoch auch die Readsorption des Polymers stattfinden.<sup>[65,66]</sup> Die Translationsbewe-



**Abbildung 2.10.** Diffusionslimitierte Desorption. Durch die Desorption bildet sich zunächst ein von der Oberfläche abfallender Konzentrationsgradient, der durch Diffusion ausgeglichen wird. Polymersegmente in Oberflächennähe können jedoch infolge der Rotation des Moleküls schnell readsorbieren (rot).

gung des Polymers ist nach der Desorption senkrecht zur Oberfläche. Einzelne Segmente des Makromoleküls können sich dabei jedoch durch die Rotation des Gesamtmoleküls in Richtung der Oberfläche bewegen und so zur Readsorption führen. Ist die Diffusion langsam im Vergleich zur Readsorption, ist die Beschreibung des Reaktionsverlaufs mit

der Langmuir-Gleichung nicht zutreffend, sondern folgt stattdessen einer gestreckten Exponentialfunktion.<sup>[61,67]</sup> Beim Aufklären der Kinetik von Oberflächenvorgängen mit Polymeren sollte daher stets kontrolliert werden, dass die Diffusion des Polymers nicht den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt. Mithilfe des Diffusionskoeffizienten kann berechnet werden, wann der Abstand zwischen der Oberfläche und dem Schwerpunkt des Polymers größer als dessen Konturlänge  $L_{cl}$  oder dessen Gyrationradius  $R_g$  ist. Ab diesem Grenzwert kann eine schnelle Readsorption einzelner Segmente durch Rotation des Moleküls ausgeschlossen werden. Findet die Diffusion auf einer schnelleren Zeitskala als die Adsorption statt, ist die Kinetik des Vorgangs desorptionslimitiert.<sup>[65,66,68]</sup>

Dementsprechend lassen sich aus der kinetischen Untersuchung von Oberflächenvorgängen in kondensierter Phase neben den Ratenkonstanten auch thermodynamische Größen wie die Gleichgewichtskonstante  $K_{eq}$  und die Bindungsenergie des Adsorbats ermitteln. Insbesondere bei größeren Molekülen muss dabei allerdings der Diffusion des Adsorptivs Rechnung getragen werden. Um festzustellen, ob der untersuchte Vorgang diffusionslimitiert ist, muss die Diffusionsgleichung gelöst werden. Dies gelingt mit dem Crank-Nicolson-Verfahren, das im nächsten Abschnitt vorgestellt wird.

## 2.4 Numerische Verfahren zur Beschreibung der Diffusion

Die zeitliche und räumliche Veränderung eines Konzentrationsprofils durch Diffusion lässt sich über die Fick'sche Diffusionsgleichung beschreiben.<sup>[69]</sup> Um die Geschwindigkeit der Diffusion abzuschätzen und

mit anderen Prozessen wie Adsorptions- oder Desorptionsvorgängen zu vergleichen, muss die Differenzialgleichung gelöst werden. Wie viele Differenzialgleichungen ist jedoch auch die Diffusionsgleichung oft nicht analytisch lösbar. Sind allerdings die Anfangsbedingungen bekannt, können numerische Lösungsverfahren zum Einsatz kommen. Dieser Abschnitt widmet sich dem Crank-Nicolson-Verfahren, mit dessen Hilfe die Fick'sche Diffusionsgleichung gelöst werden kann. Die vorgestellten Überlegungen beruhen im Wesentlichen auf dem Lehrbuch *Numerical Recipes in C* von Press *et al.*<sup>[70]</sup> Grundlage numerischer Verfahren ist die Formulierung des Differenzials als Differenzenquotient.

$$\frac{df}{dx} \approx \frac{f(x_2) - f(x_1)}{x_2 - x_1} = \frac{f(x_2) - f(x_1)}{\Delta x} \quad (2.41)$$

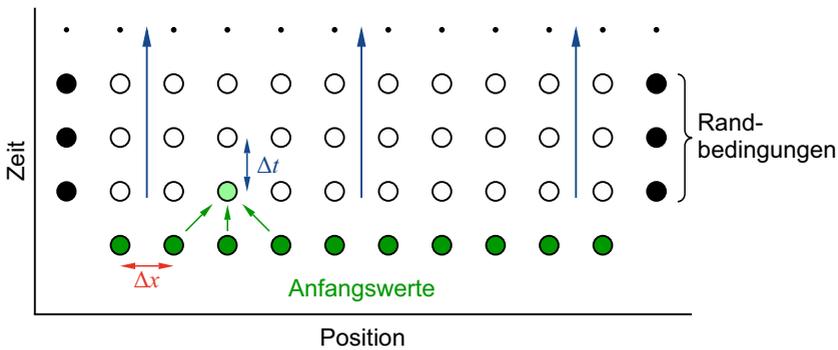
Die Berechnung der Funktion  $f$  erfolgt an diskreten Positionen mit der Schrittweite  $\Delta x$ . Je kleiner die Schrittweite, desto genauer das Verfahren. Allerdings steigt damit auch der Rechenaufwand. Wird die Schrittweite zu groß gewählt, ist die Lösung nicht mehr stabil und es muss eine kleinere Schrittweite gewählt werden. Für die genaue Definition des Stabilitätskriteriums sei auf die weiterführende Literatur verwiesen.<sup>[70]</sup>

Die eindimensionale Diffusion, die durch einen Konzentrationsgradienten verursacht wird, lässt sich mithilfe des zweiten Fick'schen Gesetz quantitativ beschreiben.<sup>[69]</sup>

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2.42)$$

Hierbei ist  $D$  der Diffusionskoeffizient und  $c$  die Konzentration. Die Differenzialgleichung hängt sowohl von der Zeit  $t$  als auch vom Ort  $x$  ab. Folglich muss sowohl die räumliche als auch die zeitliche Entwicklung berücksichtigt werden. Abbildung 2.11 zeigt hierzu ein zweidimensionales Gitter. Auf der Abszisse ist die räumliche Position aufgetragen und

auf der Ordinate die Zeit. Jeder Punkt repräsentiert die Konzentration zu einem diskreten Zeitpunkt  $t$  an einem bestimmten Ort  $x$  mit den Abständen  $\Delta t$  und  $\Delta x$  zu den Nachbarnpunkten. Die Konzentrationsverteilung im Raum ist für  $t = 0$  bekannt. Da die Differenzialgleichung die zeitliche Änderung in Abhängigkeit des Orts beschreibt, kann mit ihrer Hilfe und den Anfangswerten die zeitliche Entwicklung im gesamten Gitter berechnet werden. Zusätzlich können noch Randbedingungen eingeführt werden, auf die später eingegangen wird.



**Abbildung 2.11.** Raum-Zeit-Gitter mit den Abständen  $\Delta x$  und  $\Delta t$  (nach Press *et al. Numerical Recipes in C*). Mithilfe der Anfangswerte und der Differenzialgleichung kann die zeitliche Entwicklung an jeder Gitterposition unter Berücksichtigung der Randbedingungen berechnet werden. <sup>[70]</sup>

Zur numerischen Berechnung muss die Differenzialgleichung 2.42 in eine Differenzengleichung umgeformt werden. Die Berechnung der Konzentration erfolgt dann mit der Schrittweite  $\Delta x$  bzw.  $\Delta t$ .

$$\frac{c_j^{n+1} - c_j^n}{\Delta t} = D \left[ \frac{c_{j+1}^n - 2c_j^n + c_{j-1}^n}{(\Delta x)^2} \right] \quad (2.43)$$

Der Index  $n$  steht hier und im Folgenden für die zeitlichen Gitterpunkte, während die räumlichen Punkte mit  $j = 1$  bis  $j = J$  nummeriert werden. Wie in Abbildung 2.11 gezeigt, werden jeweils die beiden benachbarten Punkte von  $j$  zur Berechnung der Konzentration am nächsten Zeitpunkt miteinbezogen. Da die Anfangswerte für den Zeitpunkt  $n=0$  bei allen Positionen  $j$  bekannt sind, kann Schritt für Schritt das komplette Gitter konstruiert werden. Dieses explizite Verfahren ist zwar intuitiv, jedoch nicht für alle Schrittweiten  $\Delta t$  stabil.<sup>[70]</sup> Die fehlende Stabilität lässt sich einführen, indem die räumlichen Ableitungen auf der rechten Seite von Gleichung 2.43 beim Gitterpunkt  $n + 1$  berechnet werden.

$$\frac{c_j^{n+1} - c_j^n}{\Delta t} = D \left[ \frac{c_{j+1}^{n+1} - 2c_j^{n+1} + c_{j-1}^{n+1}}{(\Delta x)^2} \right] \quad (2.44)$$

Diese Gleichung ist auf den ersten Blick nicht lösbar, da sämtliche Konzentrationen bei  $n + 1$  unbekannt sind und nur eine Variable der Gleichung –  $c_j^n$  auf der linken Seite – bekannt ist. Für das weitere Vorgehen wird Gleichung 2.44 zunächst umgestellt, so dass alle unbekanntes Größen auf der linken Seite stehen.

$$-\psi c_{j-1}^{n+1} + (1 + 2\psi) c_j^{n+1} - \psi c_{j+1}^{n+1} = c_j^n \quad j = 1, 2, \dots, J - 1 \quad (2.45)$$

$$\text{mit } \psi = \frac{D\Delta t}{(\Delta x)^2} \quad (2.46)$$

Betrachtet man das komplette Gitter an allen Positionen  $j$ , so erhält man  $j$  Gleichungen. Daraus lässt sich ein lineares Gleichungssystem für den Zeitpunkt  $n + 1$  aufstellen.

$$\begin{pmatrix} (1+2\psi) & -\psi & & & \\ -\psi & (1+2\psi) & -\psi & & \\ & -\psi & (1+2\psi) & -\psi & \\ & & -\psi & (1+2\psi) & -\psi \\ & & & -\psi & (1+2\psi) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_1^{n+1} \\ c_2^{n+1} \\ c_3^{n+1} \\ c_4^{n+1} \\ c_5^{n+1} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} c_1^n \\ c_2^n \\ c_3^n \\ c_4^n \\ c_5^n \end{pmatrix} \quad (2.47)$$

Das Gleichungssystem 2.47 ist eine tridiagonale Matrix und kann mit vergleichbar geringem Rechenaufwand durch den Thomas-Algorithmus gelöst werden, dessen Funktionsweise in der weiterführenden Literatur beschrieben ist.<sup>[70,71]</sup> Für das implizite Verfahren kann gezeigt werden, dass es unabhängig von den gewählten Schrittweiten  $\Delta x$  und  $\Delta t$  stabil ist.<sup>[70]</sup> Kombiniert man nun die explizite und implizite Methode, so erhält man das Crank-Nicolson-Verfahren, das neben der uneingeschränkten Stabilität auch noch eine erhöhte Genauigkeit zeigt. Aus den Differenzgleichungen 2.43 und 2.44 wird hierfür der Mittelwert gebildet.

$$\frac{c_j^{n+1} - c_j^n}{\Delta t} = \frac{D}{2} \left[ \frac{(c_{j+1}^{n+1} - 2c_j^{n+1} + c_{j-1}^{n+1}) + (c_{j+1}^n - 2c_j^n + c_{j-1}^n)}{(\Delta x)^2} \right] \quad (2.48)$$

Auch diese Gleichung lässt sich in eine tridiagonale Form bringen und mit dem Thomas-Algorithmus lösen. Mit ihrer Hilfe kann der Konzentrationsverlauf im Gitterbereich berechnet werden. Allerdings stellt das Gitter kein geschlossenes System dar, so dass Teilchen an den Rändern den Beobachtungsraum verlassen können. Um den Stoffmengenerhalt im System zu berücksichtigen, wird die Neumann-Randbedingung eingeführt, wobei virtuelle Gitterpunkte außerhalb des Beobachtungsraums

bei  $j=0$  und  $j=J+1$  genutzt werden.<sup>[72]</sup> Wenn an den Rändern des Gitters kein Stoffaustausch stattfinden soll, muss die Teilchenstromdichte  $F$ , welche über das erste Fick'sche Gesetz definiert ist, an den Rändern gerade null sein.<sup>[69]</sup>

$$F = \frac{c_2 - c_0}{2\Delta x} = 0 \quad \text{bzw.} \quad F = \frac{c_{J+1} - c_{J-1}}{2\Delta x} = 0$$

$$c_2 = c_0 \quad \text{bzw.} \quad c_{J+1} = c_{J-1} \tag{2.49}$$

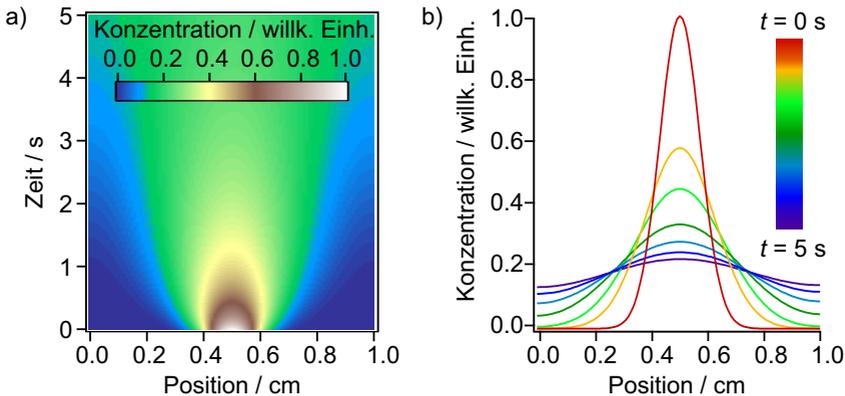
Berücksichtigt man bei der Aufstellung der tridiagonalen Matrix die virtuellen Gitterpunkte bei  $j=0$  und  $j=J+1$  in Gleichung 2.48 und ersetzt dann  $c_0$  und  $c_{J+1}$  gemäß Gleichung 2.49, so ändert sich die Matrix 2.47 nur in der ersten und letzten Zeile. Die tridiagonale Matrix für das Crank-Nicolson-Verfahren mit der Neumann-Randbedingung lautet dann:<sup>[70,72]</sup>

$$= \begin{pmatrix} (1+2\alpha) & -2\alpha & & & \\ -\alpha & (1+2\alpha) & -\alpha & & \\ & -\alpha & (1+2\alpha) & -\alpha & \\ & & -\alpha & (1+2\alpha) & -\alpha \\ & & & -2\alpha & (1+2\alpha) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_1^{n+1} \\ c_2^{n+1} \\ c_3^{n+1} \\ c_4^{n+1} \\ c_5^{n+1} \end{pmatrix}$$

$$= \begin{pmatrix} (1-2\alpha) & 2\alpha & & & \\ \alpha & (1-2\alpha) & \alpha & & \\ & \alpha & (1-2\alpha) & \alpha & \\ & & \alpha & (1-2\alpha) & \alpha \\ & & & 2\alpha & (1-2\alpha) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_1^n \\ c_2^n \\ c_3^n \\ c_4^n \\ c_5^n \end{pmatrix} \tag{2.50}$$

$$\text{mit } \alpha = \frac{1}{2}\psi = \frac{D\Delta t}{2(\Delta x)^2}$$

Da beim Crank-Nicolson-Verfahren auch die expliziten Ausdrücke berücksichtigt werden, taucht auf der rechten Seite eine zweite tridiagonale Matrix auf, die zuerst mit dem Vektor  $c_j^n$  multipliziert wird. Als Lösung wird ein neuer Vektor erhalten, der dann als Lösungsvektor für die linke tridiagonale Matrix dient. Diese lässt sich wiederum mit dem Thomas-Algorithmus lösen und folglich kann ein eindimensionales Diffusionsproblem unter Erhalt der Gesamtstoffmenge berechnet werden. Abbildung 2.12 a) zeigt exemplarisch die Lösung für ein Gitter aus 100 Raumpunkten und 5000 Zeitpunkten mit einer Schrittweite von  $\Delta x = 0.01$  cm in der räumlichen Dimension und  $\Delta t = 1$  ms in der zeitlichen Domäne. Als anfängliches Konzentrationsprofil wurde eine Gauß-Verteilung angenommen (FWHM = 0.1 cm). Der Diffusionskoeffizient ist  $0.01 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . In Teil b) sind ausgewählte Konzentrationsprofile nach 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 und 5 s dargestellt.



**Abbildung 2.12.** Eindimensionale Diffusion nach Crank-Nicolson. **a)** Berechnung über 5 s auf einem Gitter von 1 cm Länge. Der Diffusionskoeffizient beträgt  $0.01 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , die zeitlichen und räumlichen Schrittweiten  $\Delta t$  und  $\Delta x$  betragen 1 ms und 0.01 cm. **b)** Konzentrationschnitte der Simulation bei 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 und 5 s.

In diesem Abschnitt wurde dargelegt, dass sich die allgemeine Diffusionsgleichung über implizite und explizite Verfahren numerisch lösen lässt, indem ein zweidimensionales Gitter in Raum und Zeit aufgestellt wird. Das Crank-Nicolson-Verfahren vereint beide Methoden und ist unabhängig von den gewählten Schrittweiten stabil und hinreichend genau. Die aufgestellte tridiagonale Matrix (Gleichung 2.47) lässt sich mit dem Thomas-Algorithmus lösen.<sup>[70,71]</sup> Um den Stoffmengenerhalt eines geschlossenen Systems zu berücksichtigen, wurde die Neumann-Randbedingung eingeführt, welche die tridiagonale Matrix nur in der ersten und der letzten Zeile ändert (Gleichung 2.50).<sup>[72]</sup> Bei Kenntnis des Diffusionskoeffizienten kann demnach die Diffusionsgeschwindigkeit eines Stoffs berechnet werden und deren Vergleich mit den entsprechenden Ratenkonstanten ermöglicht eine Abschätzung, ob ein untersuchter Vorgang diffusionslimitiert ist.

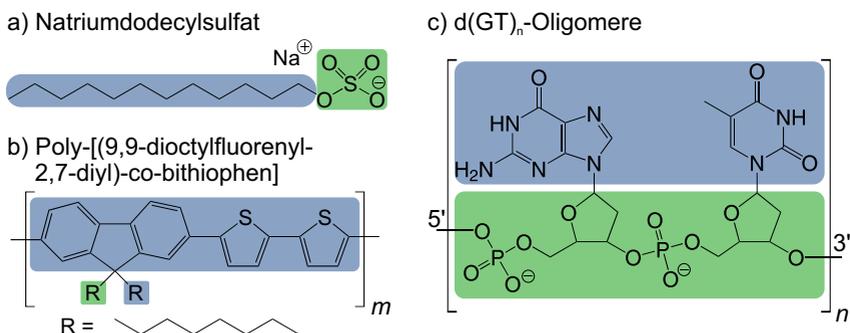
## **2.5 Kolloidale Stabilisierung von Kohlenstoffnanoröhren**

Als nanoskaliges Substrat für die untersuchten (Bio-)Polymere werden in dieser Arbeit ausschließlich einwandige Kohlenstoffnanoröhren (SWNTs) eingesetzt. In reiner Form liegen diese jedoch als Aggregate vor und sind in den gängigen Solvenzien unlöslich.<sup>[12]</sup> Derart eignen sie sich nicht als Modellsystem zur Untersuchung der Oberflächenprozesse an Nanomaterialien. Als Ausgangspunkt der Experimente werden stattdessen individualisierte und kolloidal stabilisierte SWNT-Komplexe benutzt. In diesem Abschnitt wird kurz die Nomenklatur der Nanorohrchiralitäten eingeführt und anschließend auf die Grundlagen der kolloidalen Stabilisierung von Nanorohrkomplexen eingegangen sowie abschließend die für diese Arbeit relevanten optischen Eigenschaften der SWNTs diskutiert.

Bei der verwendeten Nomenklatur werden die Nanoröhren durch gedankliches Aufrollen einer Graphenlage konstruiert. Der Aufrollvektor wird als Linearkombination der beiden Einheitsvektoren des Graphengitters aufgestellt. Die als Deskriptorenpaar bezeichneten Koeffizienten  $n$  und  $m$  werden zur eindeutigen Identifikation der Nanoröhren in der Form  $(n, m)$ -SWNT genutzt. Neben der eindeutigen Zuordnung der Nanorohrchiralität lässt sich aus dem Deskriptorenpaar auch der Durchmesser  $d_{\text{SWNT}}$  der entsprechenden SWNT berechnen.<sup>[73]</sup>

$$d_{\text{SWNT}} = 0.246 \text{ nm} \cdot \pi^{-1} \cdot \sqrt{n^2 + n \cdot m + m^2} \quad (2.51)$$

Bei einwandigen Kohlenstoffnanoröhren sind alle Atome Oberflächenelemente und damit zu Wechselwirkungen mit der Umgebung befähigt. Aufgrund der  $sp^2$ -Hybridisierung weist eine einzelne Nanoröhre ein großes, delokalisiertes  $\pi$ -System auf. Die starken  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen, die bei der parallelen Anlagerung zweier Röhren ausgebildet werden, begründen die starke Aggregationsneigung der SWNTs. Für die schlechte Löslichkeit ist zudem auch die Größe der Nanoröhren mitverantwortlich.<sup>[12]</sup> Die Nanorohraggregate lassen sich allerdings durch Ultraschallbehandlung in einer Lösung mit Dispergieradditiven individualisieren und kolloidal stabilisieren.<sup>[10,12,74]</sup> Eine Auswahl möglicher Dispergiermittel ist in Abbildung 2.13 gezeigt. Als Dispergieradditiv eignen sich neben amphiphilen Verbindungen wie Tensiden, DNA-Oligomeren und Peptiden auch  $\pi$ -konjugierte Polymere.<sup>[10,18,20,74–78]</sup> Bei Ultraschallbehandlung lockern sich die Nanorohrbündel und die Dispergiermittel adsorbieren mit ihrem lipophilen Molekülteilen auf der Nanorohroberfläche. Die hydrophilen Segmente, bzw. eine der aliphatischen Seitenketten der Polymere, sind der Nanorohroberfläche abgewandt und vermitteln durch attraktive Wechselwirkung mit dem Solvens die Löslichkeit der entstehenden Komplexe. Durch die Verkürzung der Nanoröhren infolge des Beschallungsprozesses wird diese zusätzlich erhöht. Aufgrund des

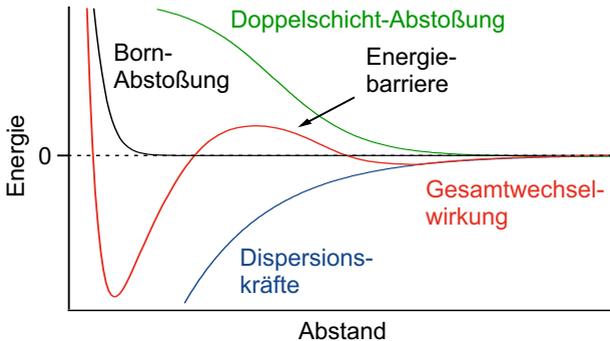


**Abbildung 2.13.** Exemplarische Auswahl verschiedener Dispergieradditive. **a)** SDS, **b)** F8T2 und **c)** d(GT)<sub>n</sub>-Oligomere. Molekülbereiche, die attraktive Wechselwirkungen mit der Nanoröhroberfläche eingehen, sind blau unterlegt und Segmente, die durch Wechselwirkungen mit Solvenzien zur Löslichkeit der Komplexe beitragen, grün.

Herstellungsprozesses sind im Nanoröhrröhmaterial zahlreiche SWNT-Chiralitäten mit variierenden Durchmessern enthalten. Die individualisierten SWNT-Komplexe können im Anschluss an die erfolgreiche Dispergierung noch chromatographisch oder durch Dichtegradienten-ultrazentrifugation durchmesserselektiv aufgetrennt werden.<sup>[17,19,78,79]</sup> Bei Verwendung bestimmter Polymere lassen sich gezielt einzelne Nanoröhrspezies anreichern, so dass keine weitere Aufarbeitung notwendig ist.<sup>[20,21,76]</sup>

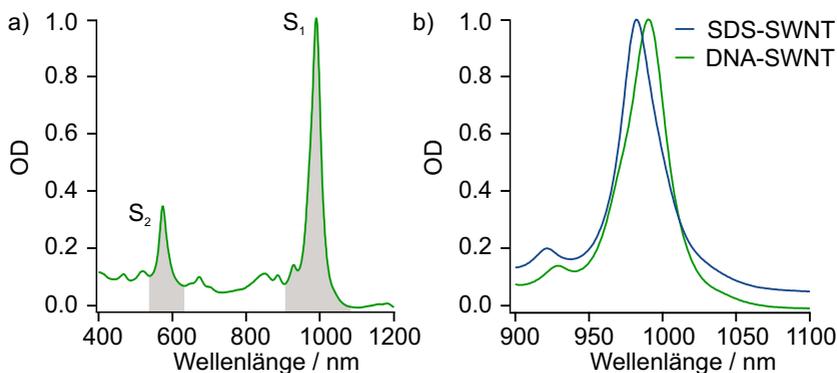
Die erhaltenen SWNT-Kolloide sind bezüglich der Aggregation thermodynamisch instabil, jedoch kinetisch stabilisiert. Bei den Polymer-SWNT-Komplexen ist die Stabilisierung auf Wechselwirkungen zwischen den aliphatischen Seitenketten zurückzuführen, die bei der Annäherung zweier Komplexe entropisch ungünstig sind.<sup>[39,80]</sup> Die Stabilität der DNA- bzw. tensiddispergierten Komplexe lässt sich über die DLVO-Theorie erklären. Abbildung 2.14 zeigt schematisch den abgeleiteten Potenzialverlauf. Die DLVO-Theorie betrachtet das Gesamtpotenzial als Summe der einzelnen Beiträge repulsiver und attrakti-

ver Wechselwirkungen, wenn sich zwei Kolloide annähern. Dabei lassen sich drei wesentliche Beiträge feststellen. Für sehr kleine Abstände ist die Born-Abstoßung zu berücksichtigen, die eine Durchdringung der Elektronenhüllen verhindert. Demgegenüber stehen die attraktiven und ebenfalls kurzreichweitigen Dispersionskräfte, die durch die  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen den Nanorohroberflächen hervorgerufen werden. Als dritte Kraft muss die Abstoßung der elektrostatischen Doppelschichten miteinbezogen werden, die von den adsorbierten Dispergieradditiven gebildet werden.<sup>[80,81]</sup> Diese dominiert bei größeren Abständen und führt zur Ausbildung einer Energiebarriere. Ist diese höher als die thermische Energie der Komplexe, verhindert sie die Aggregation und die Kolloide sind kinetisch stabilisiert.<sup>[39,80]</sup>



**Abbildung 2.14.** Das DLVO-Potenzial setzt sich aus drei Beiträgen zusammen (nach T. Hofmann, Kolloide). Die Abstoßung der Doppelschichten der Kolloide sowie die Born-Abstoßung der Elektronenhüllen wirken repulsiv, wohingegen die kurzreichweitigen Dispersionskräfte attraktiver Natur sind.<sup>[80]</sup>

Die individualisierten, halbleitenden Kohlenstoffnanoröhren zeigen im Absorptionsspektrum ausgeprägte exzitonische Übergänge, deren energetische Lage vom Röhrendurchmesser abhängt. Abbildung 2.15 a) zeigt ein Absorptionsspektrum DNA-dispergierter (6,5)-SWNTs mit der charakteristischen  $S_1$ -Absorptionsbande des ersten exzitonischen Über-



**Abbildung 2.15.** Absorptionsspektrum von (6,5)-SWNTs. **a)** Die markanten Absorptionsbanden S<sub>1</sub> und S<sub>2</sub> sind grau unterlegt. **b)** Bei SDS als Dispergieradditiv ist das Maximum der S<sub>1</sub>-Bande der SWNTs im Vergleich zu DNA-dispergierten Röhren um mehrere Nanometer blauverschoben.

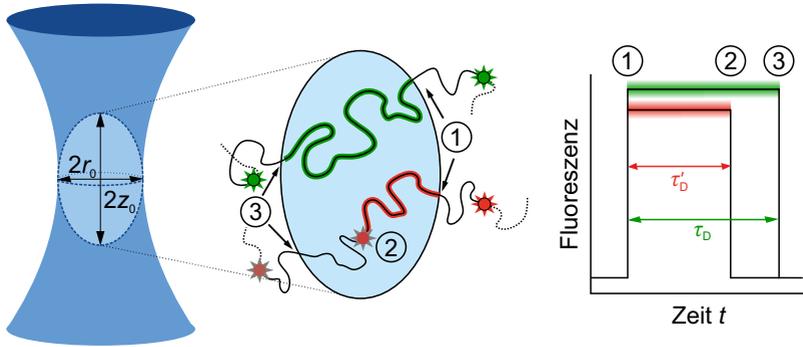
gangs im Nahinfraroten sowie dem zweiten exzitonen Übergang S<sub>2</sub> im sichtbaren Spektralbereich. Die Oszillatorstärke der Absorptionsbanden hängt stark vom Entbündelungsgrad der Nanoröhren ab. Größere Aggregate führen zu schwächeren Absorptionsbanden und das Maximum der S<sub>1</sub>-Bande zeigt eine bathochrome Verschiebung. Die Position des S<sub>1</sub>-Maximums lässt jedoch nicht nur Rückschlüsse auf eine mögliche Aggregation der Nanoröhren zu, sondern reagiert auch sensitiv auf das eingesetzte Dispergier- bzw. Lösemittel. Dispergieradditive mit einer geringen Permittivität, wie beispielsweise Tenside, führen zu einer hypsochromen Verschiebung, wohingegen eine erhöhte Permittivität zu einer Rotverschiebung führt, wie am Beispiel der DNA in Abbildung 2.15 b) zu sehen ist.<sup>[82–84]</sup> Eine Differenzierung zwischen DNA-dispergierten SWNTs und aggregierten Tensid-SWNTs fällt daher oft schwer. Letztere weisen jedoch deutlich breitere Absorptionsbanden auf. Die Unterscheidung zwischen einer Tensid- und einer DNA-Dispergierung individualisierter SWNTs kann allerdings gut über die Verschiebung der S<sub>1</sub>-Absorptionsbande erfolgen.<sup>[23,27,28]</sup> Die Position der S<sub>2</sub>-Bande zeigt

hingegen keine derart ausgeprägte Sensitivität bezüglich des Dispergiermittels. Allerdings führt sie durch einen Förster-Resonanzenergietransfer zur Fluoreszenzlöschung einiger gebräuchlicher Farbstoffe wie Rhodamin 6G, Rhodamin B oder 6-Carboxyfluorescein, was ebenfalls als spektroskopische Sonde genutzt werden kann und maßgebliche Grundlage der in Kapitel 6 beschriebenen Experimente ist. <sup>[31,85–88]</sup>

## 2.6 Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie

In Kapitel 2.5 wurde bereits die Möglichkeit aufgezeigt, den Wechsel des Dispergieradditivs auf der Nanorohroberfläche über die Verschiebung der  $S_1$ -Absorptionsbande der SWNTs zu verfolgen. Möchte man jedoch die Wechselwirkungen für ein binäres System aus SWNTs und einem Dispergiermittel untersuchen, ist diese spektroskopische Sonde nur beschränkt einsetzbar, da sich die Permittivität der SWNT-Umgebung meist nur geringfügig ändert. Im Rahmen dieser Arbeit sollen daher alternative spektroskopische Verfahren zur Untersuchung der Oberflächenvorgänge von (Bio-)Polymeren auf Kohlenstoffnanoröhren gefunden werden. Als potenzielle Methode kann die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS) in Betracht gezogen werden, die auf den unterschiedlichen Diffusionskoeffizienten der zu untersuchenden Spezies beruht. Die in diesem Abschnitt erläuterten Grundlagen beruhen – soweit nicht anders angegeben – auf Lehrbüchern und Veröffentlichungen von P. Schwille und E. Haustein. <sup>[89–91]</sup>

Abbildung 2.16 zeigt schematisch das Detektionsvolumen eines konfokalen Versuchsaufbaus, wie er üblicherweise für FCS-Messungen eingesetzt wird. Die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie macht sich die detektierten Fluktuationen der Fluoreszenzintensität aus diesem Volumen zunutze. In Abbildung 2.16 sind zudem denkbare Vorgänge auf mikroskopischer Ebene skizziert, die diese Fluktuationen hervorrufen können.



**Abbildung 2.16.** Konfokales Volumen und Fluoreszenzfluktuationen. Die Diffusionszeit  $\tau_D$  bzw.  $\tau_D'$  gibt die Zeit zwischen Beginn ① und Ende ② bzw. ③ der detektierten Fluoreszenz wieder. Neben reiner Diffusion (grün) können auch Übergänge in dunkle Zustände beobachtet werden (rot).

Neben dem diffusionsbedingten Ein- und Austritt aus dem Detektionsvolumen sind auch Übergänge in dunkle Zustände wie Tripletzustände oder Fluoreszenzlöschungen möglich, die in unterschiedlichen Zeitverläufen der detektierten Fluoreszenz resultieren.

Beim Messen der Fluoreszenzintensität einer Fluorophorlösung konstanter Konzentration mit einem sehr sensitiven Detektor, beispielsweise einer Lawinenphotodiode, über ein Zeitintervall  $t_{\text{ges}}$  wird eine Schwankung  $\delta F(t)$  des gemessenen Signals  $F(t)$  um den Mittelwert  $\langle F(t) \rangle$  festgestellt.<sup>[92]</sup>

$$\langle F(t) \rangle = \frac{1}{t_{\text{ges}}} \int_0^{t_{\text{ges}}} F(t) dt \quad (2.52)$$

$$\delta F(t) = F(t) - \langle F(t) \rangle \quad (2.53)$$

Ist das Detektionsvolumen klein und die Konzentration des Fluorophors gering, so sind die Fluktuationen im Vergleich zum detektierten Fluoreszenzsignal groß. Für FCS-Messungen werden daher nanomolare und subnanomolare Fluorophorkonzentrationen in Verbindung mit beugungslimitierten, konfokalen Versuchsaufbauten genutzt. Bei letzteren lässt sich das Detektionsvolumen  $V_{\text{eff}}$  näherungsweise als dreidimensionale Gauß-Funktion mit dem axialen Radius  $z_0$  und dem lateralen Radius  $r_0$  beschreiben.

$$V_{\text{eff}} = \pi^{\frac{3}{2}} r_0^2 z_0 \quad (2.54)$$

Über die zeitliche Autokorrelation der Fluoreszenzintensität lassen sich die detektierten Schwankungen des Fluoreszenzsignals quantifizieren. Die normierte Autokorrelationsfunktion  $G$  der Fluoreszenzfluktuation mit der Verzögerungszeit  $\tau$  ist wie folgt definiert:<sup>[91]</sup>

$$G(\tau) = \frac{\langle F(t)F(t + \tau) \rangle}{\langle F(t) \rangle^2} = \frac{\langle \delta F(t)\delta F(t + \tau) \rangle}{\langle F(t) \rangle^2} + 1 \quad (2.55)$$

Für die Brown'sche, dreidimensionale Diffusion lässt sich Gleichung 2.55 erweitern.<sup>[92,93]</sup>

$$G(\tau) = \frac{1}{\langle N \rangle} \cdot \left( \frac{1}{1 + \frac{\tau}{\tau_D}} \cdot \frac{1}{\sqrt{1 + \frac{\tau}{s^2 \cdot \tau_D}}} \right) \quad \text{mit } s = \frac{z_0}{r_0} \quad (2.56)$$

Dabei ist  $\langle N \rangle$  die mittlere Teilchenzahl im konfokalen Volumen und  $s$  der sterische Parameter, der das Aspektverhältnis des axialen und lateralen Durchmessers wiedergibt. Die laterale Diffusionszeit  $\tau_D$  des Fluorophors hängt von dessen Diffusionskoeffizienten  $D$  ab.

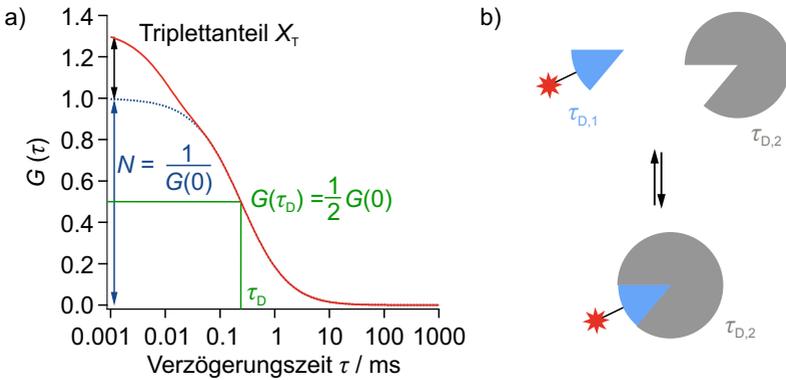
$$\tau_D = \frac{r_0^2}{4D} \quad (2.57)$$

Durch Messung eines Farbstoffs mit bekanntem Diffusionskoeffizient, beispielsweise Rhodamin 6G, kann das Detektionsvolumen berechnet werden. Durch Anpassung der Autokorrelationskurve mit Gleichung 2.56 werden  $\tau_D$  und  $s$  erhalten. Über Gleichung 2.57 kann dann  $r_0$  berechnet werden. Unter Kenntnis von  $s$  lässt sich letztlich  $z_0$  bestimmen. Die Größe von  $z_0$  wird vom Durchmesser der Lochblende des konfokalen Versuchsaufbaus bestimmt. Setzt man Immersionsobjektive mit einer hohen numerischen Apertur ( $NA > 0.9$ ) unter beugungslimitierten Bedingungen und Lochblenden mit einem Durchmesser von weniger als 100  $\mu\text{m}$  ein, werden üblicherweise Detektionsvolumina von etwa einem Femtoliter und Aspektverhältnisse von 5–20 erreicht.

Die Autokorrelationskurven der meisten Farbstoffe lassen sich jedoch nur unzureichend über Gleichung 2.56 beschreiben. Grund hierfür sind Übergänge in Tripletzustände, die – wie bereits in Abbildung 2.16 b) angedeutet – zu einem schnelleren Abfall der detektierten Fluoreszenzintensität führen. Da diese Prozesse im Vergleich zur Diffusion sehr schnell ablaufen, lassen sie sich separieren und durch einen Korrekturterm beschreiben. Aus Gleichung 2.56 erhält man damit:<sup>[89]</sup>

$$G(\tau) = \left( \frac{1 - X_T + X_T e^{-\tau/\tau_T}}{1 - X_T} \right) \cdot \frac{1}{\langle N \rangle} \cdot \left( \frac{1}{1 + \frac{\tau}{\tau_D}} \cdot \frac{1}{\sqrt{1 + \frac{\tau}{s^2 \cdot \tau_D}}} \right) \quad (2.58)$$

Hierbei ist  $X_T$  der Anteil der Moleküle im Tripletzustand und  $\tau_T$  dessen Lebensdauer. Gleichung 2.58 ist der zentrale Ausdruck zur Beschreibung von FCS-Messungen in Lösung. Abbildung 2.17 a) zeigt den Verlauf der Autokorrelationskurve und die markanten Punkte, an denen die Parameter bestimmt werden.



**Abbildung 2.17.** FCS-Autokorrelationsfunktion (nach P. Schwille und E. Haustein, *Fluorescence Correlation Spectroscopy*). **a)** Anpassung mit Gleichung 2.58 ermöglicht die Bestimmung der Teilchenzahl  $N$ , des Tripletanteils  $X_T$  und der Diffusionszeit  $\tau_D$ . **b)** Bindet ein kleines, fluoreszenzmarkiertes Teilchen an ein großes Molekül, so lässt sich die Reaktion mittels FCS über die Änderung von  $\tau_D$  verfolgen.<sup>[89]</sup>

Bindungsreaktionen zwischen Partnern mit stark unterschiedlichen Molmassen – wie in Abbildung 2.17 b) skizziert – lassen sich sehr gut mittels FCS untersuchen.<sup>[94–98]</sup> Das Molekül mit der geringeren Masse trägt dabei den Fluoreszenzfarbstoff. Nach erfolgter Reaktion geht die Fluoreszenz vom gebildeten Komplex aus und die gemessene Diffusionszeit vergrößert sich. Zur zuverlässigen Differenzierung der beiden Komponenten sollten sich die Diffusionszeiten  $\tau_{D,1}$  und  $\tau_{D,2}$  um mindestens eine Größenordnung unterscheiden. Die beiden Beiträge werden dann in einer Zweikomponentenanpassung berücksichtigt.

$$G(\tau) = \frac{1}{\langle N \rangle} \cdot \left\{ (1 - Y) \cdot \frac{1}{\left(1 + \frac{\tau}{\tau_{D,1}}\right) \cdot \sqrt{1 + \frac{\tau}{s^2 \cdot \tau_{D,1}}}} + Y \cdot \frac{1}{\left(1 + \frac{\tau}{\tau_{D,2}}\right) \cdot \sqrt{1 + \frac{\tau}{s^2 \cdot \tau_{D,2}}}} \right\} \quad (2.59)$$

Dabei ist  $Y$  der molare Anteil der Komponente mit der Diffusionszeit  $\tau_{D,2}$  und  $N$  die Gesamtzahl der fluoreszierenden Moleküle. Die Gleichung muss gegebenenfalls noch mit dem Triplettkorrekturterm analog zu Gleichung 2.58 multipliziert werden.

Bereits in Kapitel 2.1.1 wurde gezeigt, dass der Durchmesser eines Polymerknäuels in Lösung proportional zur Wurzel des Polymerisationsgrads und damit zur molaren Masse ist (Gleichung 2.10, S. 14). Nach der Stokes-Einstein-Gleichung hängt demnach auch der Diffusionskoeffizient  $D$  von der molaren Masse  $M$  ab.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \propto M^{-0.5} \quad (2.60)$$

Dabei ist  $\eta$  die Viskosität des Lösemittels und  $R_h$  der hydrodynamische Radius des Teilchens. Bei einer durchschnittlichen Nanorohrlänge von 260 nm lässt sich für DNA-SWNT-Komplexe eine molare Masse von etwa  $400 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$  abschätzen.<sup>[99]</sup> Die üblicherweise zur Dispergierung eingesetzten DNA-Oligomere mit 10–60 Basen haben dagegen eine Molmasse von ca.  $3\text{--}19 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Die Diffusionskoeffizienten sollten sich daher um eine Größenordnung unterscheiden, wodurch eine Diskriminierung mittels FCS möglich ist.<sup>[89]</sup>



# 3 Stand der Forschung

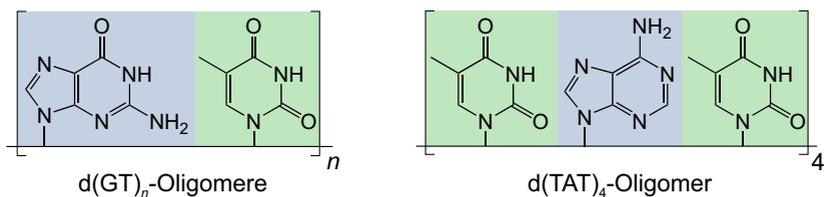
Um die Ergebnisse dieser Arbeit diskutieren zu können, wird im folgenden Abschnitt eine Zusammenfassung der wichtigsten bisher veröffentlichten Studien zu Wechselwirkungen von Kohlenstoffnanoröhren mit (Bio-)Polymeren gegeben. Da der Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation auf der Untersuchung der DNA–SWNT-Komplexe liegt, erfolgt für die verwendeten synthetischen Polymere nur eine kurze Übersicht. Davon ausgehend wird schließlich die Zielsetzung dieser Arbeit formuliert.

## 3.1 DNA–SWNT-Komplexe

Die Möglichkeit, einzelsträngige DNA als Dispergieradditiv für Kohlenstoffnanoröhren zu verwenden, hat großes Forschungsinteresse geweckt, da die resultierenden Komplexe sowohl zur durchmesserabhängigen Anreicherung der Nanoröhren geeignet sind als auch für Anwendungen in der Medizin in Frage kommen.<sup>[17–19,34,37]</sup> In diesem Abschnitt wird zunächst auf die Selektivität bestimmter DNA-Basensequenzen eingegangen, die zahlreiche theoretische Studien zu möglichen Adsorptionskonformationen angeregt hat. Zum Abschluss werden die experimentellen Arbeiten zur Stabilität von DNA–SWNT-Komplexen diskutiert.

### 3.1.1 Erkennungssequenzen

Abbildung 3.1 zeigt DNA-Oligomere, welche insbesondere zur Anreicherung von (6,5)-SWNTs benutzt werden. Die  $d(\text{GT})_n$ -Oligomere, wie sie von Zheng *et al.* zur Dispergierung der Nanoröhren vorgeschlagen werden, finden vor allem in der Dichtegradientenultrazentrifugation (DGU) Verwendung.<sup>[17,19,31,88]</sup> Bei der Auftrennung der SWNTs mittels Ionenaustauschchromatographie (IEC) ist es Tu *et al.* gelungen, für zahlreiche SWNT-Chiralitäten eine DNA-Erkennungssequenz, das heißt eine bestimmte Basenabfolge und -zahl, zu identifizieren, mit der die selektive Anreicherung einer entsprechenden Nanorohrchiralität möglich ist.<sup>[15,16]</sup>



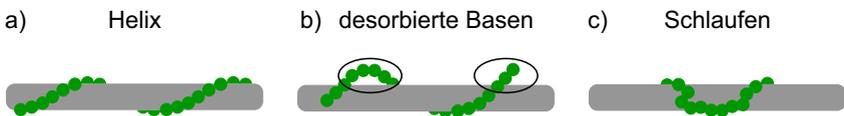
**Abbildung 3.1.** DNA-Erkennungssequenzen zur gezielten Dispergierung von (6,5)-SWNTs bestehen aus alternierenden Sequenzen von Purin- (blau) und Pyrimidinbasen (grün). Bei der Anreicherung mittels DGU finden Oligomere aus Guanin und Thymin Verwendung (links).<sup>[17,19]</sup> Tu *et al.* identifizierten im IEC-Prozess das Oligomer  $d(\text{TAT})_4$  als besonders selektiv.<sup>[15]</sup>

Die Qualität der Auftrennung durch Ionenaustauschchromatographie hängt stark von einer regelmäßigen mikroskopischen Struktur der Partikel ab.<sup>[15,17]</sup> Folglich gehen Tu *et al.* davon aus, dass die DNA-Erkennungssequenzen in der Lage sind, geordnete Strukturen auf der Nanorohroberfläche zu bilden.<sup>[15]</sup> Die Annahme, dass nicht nur energetische Effekte zwischen den Nukleinbasen und der Nanorohroberfläche bei der Auftrennung eine Rolle spielen, wird auch dadurch gestärkt, dass sich sowohl beim DGU-Verfahren als auch bei der Ionenaustauschchromatographie eine alternierende Abfolge von Purin- und Pyrimidinbasen

als besonders geeignet erwiesen hat.<sup>[15,17,19]</sup> Anderenfalls wäre davon auszugehen, dass die Homopolymere der Purinbasen Guanin und Adenin die höchste Dispergierbarkeit zeigen, da sie aufgrund ihres größeren  $\pi$ -Elektronensystems in der Lage sind, stärkere  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen mit der Nanorohroberfläche auszubilden.<sup>[100-105]</sup> Für eine mögliche sterische Stabilisierung werden mehrere Modelle diskutiert und es wurden zahlreiche theoretische Studien zur Klärung der Struktur der adsorbierten DNA-Oligomere durchgeführt, die im nächsten Abschnitt vorgestellt werden.<sup>[24,25,32,33,103-107]</sup>

### 3.1.2 Adsorptionskonformationen

Die Ergebnisse einiger ausgewählter Arbeiten zur Adsorptionskonformation der DNA auf SWNTs sind in Abbildung 3.2 schematisch zusammengefasst. Ausgehend von der helikalen Anordnung zeigen Molekuldynamik-Simulationen (MD), dass nicht alle Nukleinbasen auf der Nanorohroberfläche adsorbiert sind und auch andere Konformationen wie beispielsweise Schlaufen energetisch begünstigt sein können.



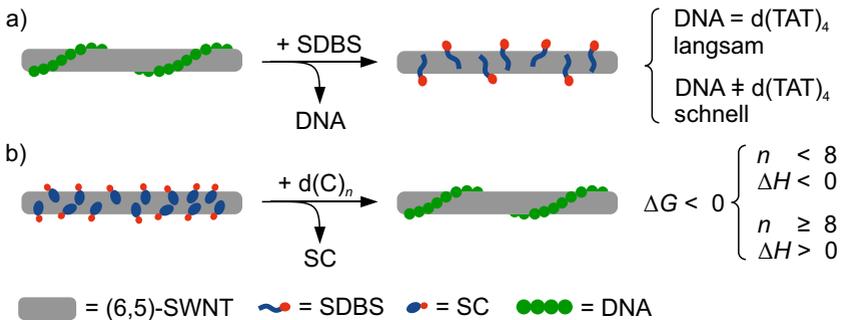
**Abbildung 3.2.** DNA-Adsorptionskonformationen auf SWNTs. **a)** Zheng *et al.* schlagen eine helikale Adsorption der DNA vor.<sup>[17]</sup> **b)** Bei einem adsorbierten Oligomer sind nicht alle DNA-Basen auf der SWNT-Oberfläche gebunden.<sup>[32,106]</sup> **c)** Neben der Helix sind auch Schlaufen möglich.<sup>[32,33,103]</sup>

Nach der ersten erfolgreichen Isolierung von DNA-SWNT-Komplexen ist es Zheng *et al.* gelungen, AFM-Aufnahmen zu erhalten, auf denen eine helikale Struktur zu erkennen ist.<sup>[17]</sup> Die besonders regelmäßige Struktur der  $d(\text{GT})_n$ -SWNT-Komplexe führen sie auf die Ausbildung

einer DNA-Doppelhelix auf der Nanorohroberfläche zurück, welche durch *Non-Watson-Crick-Wasserstoffbrückenbindungen* zwischen den beiden adsorbierten Strängen stabilisiert wird (nicht in Abbildung 3.2 dargestellt).<sup>[17]</sup> Diese Hypothese stimulierte zahlreiche MD-Simulationen, deren Ergebnisse schematisch in Abbildung 3.2 b) und c) zu sehen sind. Der Schwerpunkt dieses Abschnitts liegt auf der Arbeit von Martin *et al.*, da hier die Adsorption der  $d(TG)_n$ -Oligomere auf (6,5)-SWNTs untersucht wird. Unterschiede durch die invertierte Basenabfolge bezüglich des Phosphat-Zucker-Rückgrats können als vernachlässigbar angenommen werden. Die anderen durchgeführten Simulationen betrachten entweder nicht die Adsorption auf eine (6,5)-SWNT oder lediglich die der DNA-Homopolymere anstatt der Erkennungssequenzen.<sup>[32,33,103,106]</sup> Die veröffentlichten MD-Simulationen stellen dabei fest, dass die DNA-Oligomere nicht als Doppelhelix auf der Nanorohroberfläche adsorbiert werden. Stattdessen sind neben der einfachen Helix auch andere, weniger geordnete Strukturen möglich, wie in Abbildung 3.2 b) und c) skizziert. Die Rechnungen konnten zeigen, dass die Bindung eines adsorbierten DNA-Oligomers nicht über alle zur Verfügung stehenden Nukleinbasen des Oligomers erfolgt, wobei die nicht adsorbierten Basen gleichmäßig über das Oligomer verteilt sind und ihr Anteil mit der Temperatur steigt.<sup>[32,33]</sup> Dieser Effekt wird auch in anderen Studien bestätigt.<sup>[25]</sup> Johnson *et al.* und Martin *et al.* kommen unabhängig voneinander zu dem Ergebnis, dass bei Raumtemperatur neben der helikalen Adsorption noch andere Konformationen wie Schlaufen energetisch zugänglich sind, wie in Abbildung 3.2 c) angedeutet.<sup>[32,33]</sup> Martin *et al.* konnten außerdem zeigen, dass die Adsorption von  $d(TG)_n$ -Oligomeren auf (6,5)-SWNTs einen aktivierten Prozess darstellt. Die Aktivierungsbarriere ist dabei auf starke Konformationsänderungen im Phosphat-Zucker-Rückgrat der DNA zurückzuführen, die beim Übergang aus dem Solvens auf die Nanorohroberfläche stattfinden.<sup>[32]</sup> Diese Vermutung wird durch spätere Studien gestärkt.<sup>[30]</sup>

### 3.1.3 Austauschexperimente

Experimentelle Arbeiten zur Adsorption bzw. Desorption von DNA-Oligomeren auf bzw. von Kohlenstoffnanoröhren sind in der Literatur selten. Allerdings gibt es einige Veröffentlichungen zum Austausch von Tensiden und DNA auf der Nanoröhroberfläche. Abbildung 3.3 zeigt beispielhaft zwei dieser Austauschreaktionen. Im oberen Teil ist die Verdrängung adsorbierter DNA-Oligomere durch einen Überschuss an Natriumdodecylbenzolsulfonat (SDBS) gezeigt.<sup>[23]</sup> Im unteren Abschnitt ist der umgekehrte Fall dargestellt, bei dem Natriumcholat (SC) durch *poly*-Cytosin ausgetauscht wird.<sup>[27,28]</sup>



**Abbildung 3.3.** DNA-Tensid-Austauschexperimente. **a)** Der Austausch von  $\text{d}(\text{TAT})_4$  mit SDBS auf (6,5)-SWNTs erfolgt wesentlich langsamer als bei anderen DNA-SWNT-Kombinationen.<sup>[23]</sup> **b)** Die Verdrängung von SC auf SWNTs mit *poly*-Cytosin ist für kurze Oligomere mit weniger als acht Basen exotherm, für längere DNA-Oligomere dagegen entropiegetrieben.<sup>[28]</sup>

Die in Teil a) der Abbildung skizzierte Verdrängung von DNA durch Tenside wurde über die Blauverschiebung der  $S_1$ -Absorptionsbande der SWNTs spektroskopisch verfolgt und lässt sich näherungsweise mit der Desorption der DNA von der Nanoröhroberfläche vergleichen. Der Wechsel des Dispergiermittels verläuft bei den DNA-SWNT-Erkennungspaa- ren deutlich langsamer als bei anderen DNA-SWNT-Kombinationen.

So wird beispielsweise  $d(\text{TAT})_4$  auf (6,5)-SWNTs 20-mal langsamer verdrängt als  $d(\text{TAT})_4\text{T}$  oder  $d(\text{TAT})_3\text{TA}$ , obgleich sich diese jeweils nur durch eine Nukleinbase von der Erkennungssequenz unterscheiden.<sup>[23]</sup> Bei größeren Varianzen der Basenzahl kann allerdings eine DNA-Längenabhängigkeit beobachtet werden. So erfolgt der Austausch der Erkennungssequenz  $d(\text{TAT})_4$  deutlich schneller als der Austausch der untersuchten 30-mer. Die Autoren schlussfolgern, dass die Selektivität der Erkennungssequenzen nicht in der absoluten Bindungsstärke zu finden ist, sondern durch deren differenzierte Bindung in Abhängigkeit der SWNT-Chiralität auftritt.<sup>[23]</sup> Um diese Vermutung zu bestätigen, führten Shankar *et al.* das gleiche Experiment nochmals für  $d(\text{TAT})_4$  auf den durchmesseridentischen (6,5)- und (9,1)-SWNTs durch. Die Verdrängung des  $d(\text{TAT})_4$  von der (9,1)-SWNT erfolgt dabei 81-mal schneller als auf der (6,5)-SWNT. Die erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit wird durch eine um  $11 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  niedrigere Aktivierungsbarriere verursacht. Da die Autoren eine identische Aktivierungsenthalpie für die Austauschreaktion von  $d(\text{TAT})_4$  auf den untersuchten (9,1)-, (8,3)- und (6,5)-SWNTs von  $178 \pm 29 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  angeben, muss die Absenkung durch eine erhöhte Aktivierungsentropie hervorgerufen werden. Eine Erklärung dieser Beobachtung auf mikroskopischer Ebene bleibt allerdings offen.<sup>[26]</sup>

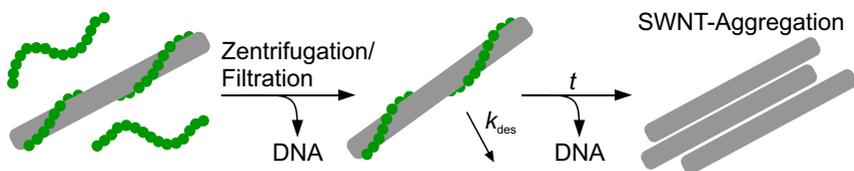
Abbildung 3.3 b) zeigt schematisch die Ergebnisse der quasi-Umkehrreaktion. Folglich kann der Austausch zur näherungsweisen Beschreibung der Adsorption von DNA-Oligomeren auf Kohlenstoffnanoröhren genutzt werden. In der von Kato *et al.* veröffentlichten Studie werden SC-dispergierte SWNTs mit Lösungen aus *poly*-Cytosin versetzt. Der Austausch wird wieder über die Verschiebung der  $S_1$ -Absorptionsbande der SWNTs spektroskopisch verfolgt. Temperaturabhängige Messungen liefern in Abhängigkeit der Konzentration und der Basenzahl der eingesetzten DNA-Oligomere die thermodynamischen Daten der Austauschreaktion. Die Gleichgewichtskonstante der Reaktion steigt für längere DNA-Oligomere an, wobei ab 15 Basen eine Sättigung auftritt. Obgleich

die Austauschreaktion für alle untersuchten Cytosin-Oligomere exergonisch verläuft, ist sie nur für das Dimer und das Pentamer auch exotherm. Für Oligomere mit acht Nukleinbasen und mehr ist sie endotherm und entropiegetrieben.<sup>[28]</sup> Da die beobachtete Wellenlängenverschiebung der  $S_1$ -Bande proportional zum DNA-Bedeckungsgrad der Nanorohroberfläche ist, kann dieser ebenfalls aus den Ergebnissen berechnet werden.<sup>[27,28,88]</sup> Folglich lassen sich Adsorptionsisothermen der DNA-Oligomere auf der Nanorohroberfläche aufstellen. Dabei wird allerdings der Einfluss des Tensids vernachlässigt. Für längere Oligomere lassen sich bei gleicher DNA-Konzentration höhere Bedeckungsgrade auf der SWNT erreichen. Der Bedeckungsgrad ist dabei als Anteil der mit DNA bedeckten Nanorohroberfläche definiert. Die Stoffmenge der adsorbierten DNA, die beispielsweise für Anwendungen von DNA-SWNT-Komplexen als Wirkstofftransporter interessant ist, kann über dieses Verfahren nicht direkt ermittelt werden.

### 3.1.4 DNA-Desorption von SWNTs

Derzeit sind nur zwei Studien bekannt, die sich mit der Desorption der DNA von SWNTs beschäftigen. Das Grundprinzip der beiden Arbeiten ist in Abbildung 3.4 schematisch dargestellt. In einem ersten Schritt werden die nicht adsorbierten DNA-Oligomere abgetrennt und die zurückbleibenden DNA-SWNT-Komplexe in reinem Lösemittel resuspendiert. Der dadurch eingeführte Konzentrationssprung führt zur Netto-Desorption der DNA von der Nanorohroberfläche. Aufgrund des geringeren DNA-Bedeckungsgrads der SWNTs beginnen diese zu aggregieren, was als Maß für die DNA-Desorption genutzt werden kann.<sup>[29,30]</sup>

Vogel *et al.* nutzen zur Dispergierung von Nanoröhren verschiedener Chiralität  $d(GT)_n$ -Oligomere mit 4 bis 80 Basen. Nach der Ultraschallbehandlung werden die freien DNA-Oligomere abfiltriert und die DNA-



**Abbildung 3.4.** DNA-Desorptionsexperimente. Der Überschuss an freier DNA wird entfernt und die DNA–SWNT-Komplexe redispersiert, so dass die verbliebene DNA von der Nanorohroberfläche desorbiert. Das Ausmaß der Nanorohraggregation lässt Rückschlüsse auf die Stabilität der DNA–SWNT-Komplexe zu.<sup>[29,30]</sup>

SWNT-Komplexe in frischer Pufferlösung resuspendiert. Diese Suspension wird auf 90 °C geheizt und nach definierten Zeitintervallen werden Proben entnommen, deren SWNT-Gehalt absorptionsspektroskopisch bestimmt wird. Dabei ist eine Abnahme der exzitonischen Absorptionsbanden der SWNTs gegenüber der Ausgangslösung zu beobachten, welche als Maß für die SWNT-Aggregation dient. Die ermittelten Halbwertszeiten des Aggregationsvorgangs betragen mehrere Stunden und skalieren mit der Länge der untersuchten DNA-Oligomere.<sup>[29]</sup> Da die Experimente nur bei einer Temperatur durchgeführt werden, lassen sich keine Aussagen über die Aktivierungsbarriere der Desorption treffen. Einen Hinweis, ob die geringere Desorptionsneigung der längeren DNA-Oligomere auf enthalpische oder entropische Beiträge zurückzuführen ist, liefern die Ergebnisse nicht.

Albertorio *et al.* hingegen untersuchen die temperaturabhängige Desorption der Homododecamere der Nukleinbasen Thymin, Adenin und Cytosin von einem SWNT-Gemisch verschiedener Chiralitäten. Nach dem Beschallungsprozess wird die überschüssige DNA durch Größenausschlusschromatographie abgetrennt. Die Lösung wird aliquotiert und auf 60, 70, 80 und 90 °C geheizt. Nach bestimmten Zeitintervallen wird eine Probe entnommen und das aggregierte Nanorohrmaterial durch Zentrifugation abgetrennt. Die Nanorohrkonzentration im

Überstand wird mittels Absorptionsspektroskopie bestimmt. Durch Vergleich des SWNT-Gehalts vor und nach der DNA-Desorption kann das Ausmaß der SWNT-Aggregation und damit der DNA-Desorption bestimmt werden. Durch die Temperaturabhängigkeit lassen sich auch die Aktivierungsbarrieren der Desorption berechnen, die für *poly*-Thymin  $61.9 \pm 4.6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , für *poly*-Adenin  $84.9 \pm 6.7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  und für *poly*-Cytosin  $102 \pm 1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  betragen.<sup>[30]</sup> Die Ergebnisse zeigen, dass die Aktivierungsbarriere nicht nur durch die Wechselwirkung zwischen den Nukleinbasen und der Nanorohroberfläche zustande kommt. Denn obwohl das *poly*-Adenin das größte  $\pi$ -Elektronensystem besitzt und dementsprechend zu stärkeren  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen mit der Nanorohroberfläche in der Lage ist, zeigt es im Vergleich zum *poly*-Thymin eine niedrigere Aktivierungsbarriere.<sup>[100–105]</sup>

Die beiden vorgestellten Studien gehen nicht auf die Möglichkeit ein, dass statt der DNA-Desorption die SWNT-Aggregation der geschwindigkeitsbestimmende Schritt des beobachteten Prozesses sein könnte. Laut den Autoren liegt der Schwachpunkt der Methoden ferner in der Abtrennung bzw. dem Einfluss der SWNT-Aggregate. Vogel *et al.* verzichten auf eine Isolierung der Aggregate, wodurch die Absorptionsspektren sehr stark durch die Streuung der Nanorohrflokkulate beeinflusst sind.<sup>[29]</sup> Albertorio *et al.* hingegen entfernen die Nanorohraggregate durch eine Zentrifugation, was nach eigener Aussage einen kritischen Schritt darstellt.<sup>[30]</sup> Durch Adhäsionseffekte kann neben den SWNT-Aggregaten auch ein Teil der verbliebenen DNA-SWNT-Komplexe abgetrennt werden, was eine erhebliche Beeinflussung der Ergebnisse bedeuten würde.

## 3.2 Polymer–SWNT-Komplexe

Auch bei der Adsorption von synthetischen Polymeren wird von einer helikalen Konformation ausgegangen, wobei der Wicklungsabstand deutlich größer als bei DNA-Oligomeren ist.<sup>[75]</sup> Shea *et al.* bestimmen den Winkel zwischen der Nanorohrachse und dem Rückgrat des Poly-(9,9-di-n-octylfluorenyl-2,7-diy)s mit  $12 \pm 2^\circ$ .<sup>[108]</sup> Berechnungen zeigen außerdem, dass einige der aliphatischen Seitenketten der  $\pi$ -konjugierten Polymere ebenso wie das aromatische Polymerrückgrat auf der Nanorohroberfläche adsorbiert sind.<sup>[75]</sup> Experimentelle Arbeiten von Coleman *et al.* deuten jedoch darauf hin, dass auch bei synthetischen Polymeren nicht alle Monomere auf der Nanorohroberfläche gebunden sind. Über Verdünnungsexperimente wird eine konstante Bindungsenergie für Polynaphthalene unterschiedlicher Länge erhalten.<sup>[63]</sup> Wie bereits in Abschnitt 2.2 diskutiert, ist folglich davon auszugehen, dass neben der helikalen Adsorptionskonformation noch andere Struktursegmente wie *loops* und *tails* vorliegen.

## 3.3 Zusammenfassung und Zielsetzung

Die in diesem Kapitel vorgestellten Arbeiten zeigen, dass sich bestimmte DNA-Oligomere besonders zur Dispergierung gewisser Nanorohrchiralitäten eignen.<sup>[15–17]</sup> Der Ursprung dieser Selektivität könnte in besonderen Adsorptionskonformationen der Erkennungssequenzen zu finden sein. Dahingehend zeigen theoretische Arbeiten, dass DNA-Oligomere auf der Nanorohroberfläche sowohl helikal als auch in anderen Konformationen wie Schlaufen adsorbiert sein können. Dabei sind allerdings nicht alle DNA-Basen des adsorbierten Oligomers auf der Oberfläche gebunden.<sup>[17,32,33,103,106]</sup> Experimentelle Untersuchungen zur Adsorption und Desorption von reinen DNA–SWNT-Systemen sind in der

Literatur rar. Austauschexperimente von DNA und Tensiden bieten näherungsweise Modelle für die Adsorption und Desorption der Biopolymere. Dabei ist in beiden Fällen eine Längenabhängigkeit zu beobachten, wonach Oligomere mit höherer Basenzahl stärker adsorbieren und langsamer desorbieren.<sup>[23,28]</sup> Für die Desorption spielt zudem auch die Basensequenz eine wichtige Rolle.<sup>[23,26]</sup> Die wenigen experimentellen Arbeiten zur Desorption der DNA von Kohlenstoffnanoröhren ohne zusätzliches Dispergieradditiv zeigen, dass die Aktivierungsbarriere nicht ausschließlich auf  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen den Nukleobasen und der Nanoröhroberfläche zurückzuführen ist. Als spektroskopische Sonde wird in den Studien die Intensitätsabnahme der SWNT-S<sub>1</sub>-Absorptionsbande genutzt, um Rückschlüsse auf die SWNT-Aggregation infolge der DNA-Desorption zu ziehen. Die Isolierung der Aggregate bzw. deren Einfluss auf die Absorptionsspektren stellt jedoch eine starke Einschränkung bei der Analyse der Daten dar.<sup>[29,30]</sup> Auch bei synthetischen Polymeren erscheint eine helikale Konformation als wahrscheinlich. Allerdings finden sich auch hierbei Hinweise, dass nicht alle Monomere eines Makromoleküls auf der Nanoröhroberfläche gebunden sind, da keine Längenabhängigkeit der Bindungsenergie gefunden wird.<sup>[63]</sup>

Ziel dieser Arbeit ist es, spektroskopische Methoden zu finden, mit denen eine Untersuchung der Adsorption und Desorption von DNA-Oligomeren auf Kohlenstoffnanoröhren möglich ist, um darauf aufbauend Rückschlüsse auf die Adsorptionskonformation der Biopolymere zu ziehen. Dabei sollen weder zusätzliche Dispergieradditive noch weitere Aufreinigungsschritte notwendig sein, die die Messung beeinflussen könnten. Stattdessen sollen die Sorptionsprozesse direkt spektroskopisch verfolgt werden. Mithilfe von Adsorptionsisothermen des reinen DNA-SWNT-Systems soll es zudem möglich sein, die maximale Beladung der Nanoröhren mit DNA zu bestimmen. Über temperaturabhängige Desorptionsexperimente sollen die thermische Stabilität und die Bindungsstärke der Polymere auf der Nanoröhroberfläche ermittelt

werden. Dadurch lassen sich Rückschlüsse auf die Struktur der DNA-SWNT-Komplexe ziehen. Für die DNA-Oligomere sollen durch Variation der Basenzahl und -sequenz mögliche Trends aufgedeckt werden. Die entwickelten Methoden sollen auch auf Polymer-SWNT-Komplexe übertragen werden, um deren generelle Anwendbarkeit zu manifestieren.

# 4 Experimentelle Methoden

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit den allgemein verwendeten präparativen und spektroskopischen Methoden. Das experimentelle Vorgehen zur Analyse des Adsorptions- und Desorptionsverhalten der untersuchten (Bio-)Polymere findet sich in den Kapiteln 5 und 6. Grundlage der durchgeführten Experimente sind mit unterschiedlichen Dispergiermitteln individualisierte SWNT-Komplexe. Zunächst wird daher die Dispergierung der Nanoröhren und deren anschließende Aufreinigung vorgestellt. Der darauffolgende Abschnitt widmet sich den verwendeten Geräten zur Absorptions- sowie Fluoreszenzspektroskopie, bevor abschließend die eigens installierten und eingesetzten Aufbauten zur Fluoreszenzmikroskopie sowie Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS) vorgestellt werden. Zur Auswertung der ermittelten Daten wurde das Programm IgorPro von WaveMetrics genutzt.

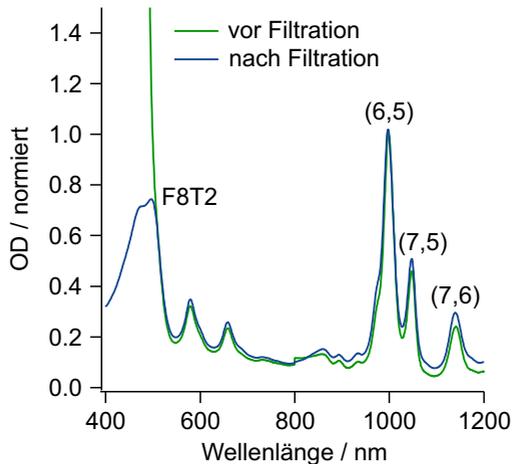
## 4.1 SWNT-Dispergierung

Die Aufarbeitung des Nanorohrrohmaterials (SWeNT SG 65, SouthWest NanoTechnologies) lässt sich unabhängig vom eingesetzten Dispergieradditiv grob in folgende Schritte gliedern. Der mit (6,5)-SWNTs angereicherte Nanorohrruß wird zunächst in einer Lösung des Dispergiermittels mit Ultraschall behandelt. Unlösliche Anteile werden anschließend durch Zentrifugation entfernt. Der Überstand wird isoliert und durch

Absorptionsspektroskopie charakterisiert. Die Besonderheiten der Probenpräparationen mit dem Polymer F8T2, einzelsträngiger DNA und Tensiden werden im Folgenden vorgestellt.

#### **4.1.1 F8T2–SWNT-Komplexe**

Zur Herstellung der F8T2–SWNT-Komplexe wurden 7.5 mg des Nanorohrrohmaterials mit 9.0 mg F8T2 (99.9 %, Sigma-Aldrich) in 15 mL Toluol (AnalaR NORMAPUR® ACS, VWR International) für acht Stunden bei 0 °C beschallt (Branson Sonifier 450A, konische Spitze, Stufe 4, gepulster Betrieb: 50 %).<sup>[20,75,109]</sup> Die so erhaltene homogene Mischung wurde im Anschluss mit 14000 Umdrehungen pro Minute für drei Minuten zentrifugiert (Biofuge15, Heraeus Sepatech), um unlösliche Rückstände und Nanorohrbündel abzutrennen. Der klare, gelbe Überstand wurde abdekantiert und durch Absorptionsspektroskopie (s. Kapitel 4.2) charakterisiert. Abbildung 4.1 zeigt das auf die  $S_1$ -Bande der (6,5)-SWNTs normierte Absorptionsspektrum. Neben der breiten Absorptionsbande des Polymers um 485 nm sind darin auch die exzitonischen Übergänge der (6,5)-, (7,5)- und (7,6)-SWNTs zu erkennen, da F8T2 keine Selektivität bezüglich einer Nanorohrchiralität zeigt. Für die Desorptionsexperimente war es notwendig, den Überschuss an ungebundenen Polymer zu entfernen. Hierfür wurden 4.0 mL der F8T2–SWNT-Lösung durch eine Zellulosemischestermembran (MF-Millipore, VCWP02500, Merck Millipore) filtriert und das Retentat mehrmals mit Toluol gewaschen. Die Filtermembran wurde in Aceton aufgelöst und das Retentat in 2.0 mL Toluol resuspendiert. Die erhaltene grau-gelbe Lösung wurde im Kühlschrank bei 4 °C gelagert, um eine Polymer-Desorption zu unterbinden.

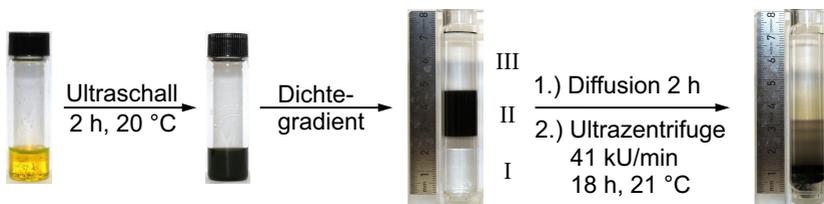


**Abbildung 4.1.** Normierte Absorptionsspektren der F8T2-SWNT-Proben vor und nach der Filtration. Das Polymer F8T2 dispergiert neben den (6,5)-SWNTs auch (7,5)- und (7,6)-SWNTs. Die Normierung erfolgt auf die  $S_1$ -Absorptionsbande der (6,5)-Röhren.

#### 4.1.2 DNA-SWNT-Komplexe

Zur Dispergierung und durchmesserselektiven Auftrennung der Nanoröhren mit einzelsträngiger DNA wurde die Dichtegradientenultrazentrifugation (DGU) eingesetzt, die von Arnold *et al.* vorgeschlagen wurde.<sup>[19]</sup> Hierfür wurden  $d(\text{GT})_n$ - ( $n=2, 4, 6, 8, 12, 16, 20$ ) und  $d(\text{TAT})_4$ -Oligomere eingesetzt (HPLC-gereinigt, biomers.net GmbH). Soweit nicht anders angegeben trugen die Oligomere am 5'-Ende einen Fluoreszenzfarbstoff. Für die FCS-Experimente wurde Rhodamin 6G (R6G) und ansonsten 6-Carboxyfluorescein (FAM) verwendet. Die vom Hersteller angegebene Stoffmenge wurde zur Berechnung der DNA-Konzentrationen übernommen. Die getrockneten Oligomere wurden unter sterilen Bedingungen in 1.0 mL steriler, phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) mit einem physiologischen pH-Wert von 7.4 gelöst und bei  $-32^\circ\text{C}$  gelagert. Hierfür wurde das kommerziell erhältliche PBS-

Konzentrat (10x PBS, Fisher Scientific) mit Wasser (CHROMASOLV® Plus, HPLC-Qualität, Sigma-Aldrich) um den Faktor zehn verdünnt. Abbildung 4.2 zeigt den präparativen Ablauf zur Herstellung und Isolierung der DNA–SWNT-Komplexe.



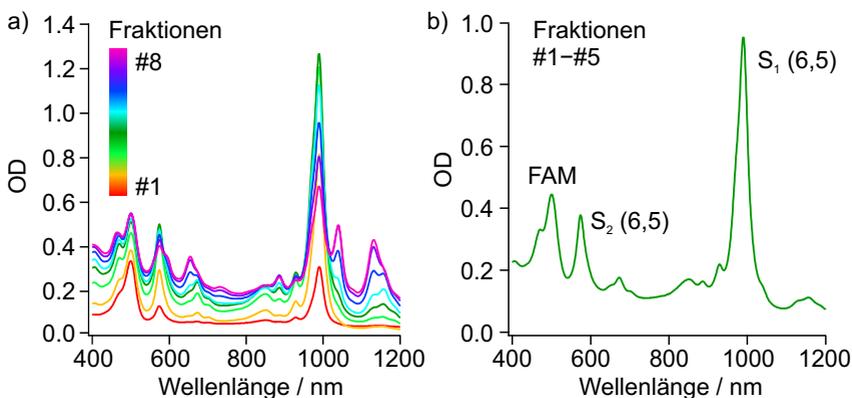
**Abbildung 4.2.** Ablauf der DNA–SWNT Probenpräparation. Nach der Ultraschallbehandlung des Nanorohr-Fläschchens mit fluoreszenzmarkierter DNA wurde die Lösung in einen stufenförmigen Dichtegradienten eingebracht. Nach zweistündiger Diffusion hat sich ein linearer Dichtegradient entwickelt, der anschließend ultrazentrifugiert wurde.

Hierfür wurden 0.3 mg Nanorohr-Fläschchen in 1.8 mL phosphatgepufferter DNA-Lösung bei 20 °C zwei Stunden im Badgefäß beschallt (Stufe 3, kontinuierlicher Betrieb). Die eingesetzte Nukleinbasenkonzentration betrug unabhängig von der Oligomerlänge jeweils 0.5 mmol·L<sup>-1</sup>. Die erhaltene heterogene Mischung wurde in einen Dichtegradienten eingebracht, dessen Zusammensetzung in Tabelle 4.1 gezeigt ist. Als Dichtemedium wurde eine 60 (m/V)-%ige wässrige Iodixanollösung verwendet, die unter dem Namen OptiPrep® (Sigma-Aldrich) vertrieben wird. Die entsprechenden Schichten wurden als Mischungen aus OptiPrep® und Pufferlösung bzw. der beschallten SWNT-Suspension hergestellt. Aus dem so erhaltenen stufenförmigen Dichtegradienten wurde durch Diffusion ein linearer Gradient erzeugt. Hierbei wurde das verschlossene Zentrifugenröhrchen (Ultra-Clear™, Beckman Coulter) für zwei Stunden horizontal und erschütterungsfrei gelagert. Im Anschluss daran erfolgte die Ultrazentrifugation über 18 Stunden bei 41000 Umdrehungen pro Minute und 21 °C (Optima L-90 K mit SW 41 Ti-Rotor, Beckman Coul-

Schicht	Iodixanolgehalt	OptiPrep® : PBS	Volumen
III	20 (m/V)-%	1 : 2	4 mL
II	30 (m/V)-%	1 : 1 (SWNT)	3 mL
I	40 (m/V)-%	2 : 1	4 mL

**Table 4.1.** Zusammensetzung des stufenförmigen Dichtegradienten zur Isolierung der DNA–SWNT-Komplexe.

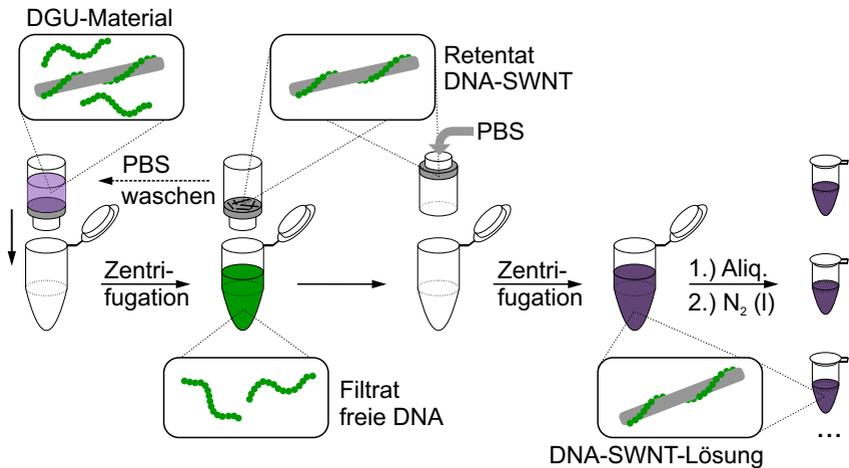
ter). Die DNA–SWNT-Komplexe ordnen sich während der Zentrifugation entsprechend ihrer Schwimmdichte an und bilden Schichten in Abhängigkeit des Nanorohrdurchmessers. Für weitere Beschreibungen der grundlegenden Vorgänge der Dichtegradientenultrazentrifugation wird auf die weiterführende Literatur verwiesen.<sup>[19,79,81]</sup> Zur anschließenden Isolierung der entsprechenden Komplexe wurde die hydrophobe Hydraulikflüssigkeit Fluorinert FC-40 (Sigma-Aldrich) mit einer Spritzenpumpe (kd Scientific) unterschichtet. Dies geschah in definierten Volumenschritten, in denen die DNA–SWNT-Fractionen über einen Auslasshahn, der am Zentrifugenröhrchen angebracht war, aufgenommen wurden. Es wurden Fraktionsgrößen von 150  $\mu\text{L}$  gewählt, die anschließend durch Absorptionsspektroskopie auf ihre Zusammensetzung geprüft wurden. In Abbildung 4.3 sind die Absorptionsspektren der Fraktionen eines Zentrifugenröhrchens gezeigt. Um die Zusammensetzung der jeweiligen Fraktionen zu ermitteln, wurde das Absorptionsspektrum unter Berücksichtigung der einzelnen Absorptionsbanden der enthaltenen Nanorohrchiralitäten – welche aus der Literatur bekannt sind – in IgorPro angepasst.<sup>[110,111]</sup> Fraktionen mit einem (6,5)-SWNT-Gehalt von mehr als 75 % wurden zur weiteren Verwendung vereinigt. Das Absorptionsspektrum dieser Lösung ist in Abbildung 4.3 b) gezeigt. Im Falle des d(GT)<sub>2</sub>-FAM konnten nach der DGU keine individualisierten DNA–SWNT-Komplexe isoliert werden. Aufgrund dessen wurde auf die DGU verzichtet und die Rohsuspension nach der Ultraschallbehandlung für



**Abbildung 4.3.** Absorptionsspektren der DNA-SWNT-Fraktionen. **a)** Einzelne Fraktionen à 150  $\mu\text{L}$ . **b)** Die Fraktionen #1–#5 wurden zur weiteren Verwendung vereinigt.

90 Minuten mit 14000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Biofuge15, Heraeus Sepatech), um unlösliche Rückstände und größere Nanorohraggregate abzutrennen. Der Überstand wurde abdekantiert und analog zu den vereinigten DGU-Fraktionen weiterverwendet. Das Absorptionsspektrum dieser Lösung ist in Abbildung A.7 (S. 178) im Anhang zu finden.

Die nach der DGU erhaltenen Fraktionen zeigen einen hohen Anteil ungebundener DNA, die für die durchgeführten Experimente entfernt werden musste. In Abbildung 4.4 ist das zugehörige Filtrationsprotokoll skizziert. Insgesamt wurden 2 mL der DNA-SWNT-Lösung ( $\text{OD}_{\text{S}_1} \approx 1$ ) auf Zentrifugenfilter mit einer Zelluloseestermembran (Microcon<sup>®</sup> Ultracel YM-100, Millipore) aufgebracht und bei 20 °C mit 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Rotina 35R, Hettich). Die Porengröße der Filtermembran von  $100 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$  ermöglicht die Passage ungebundener DNA-Oligomere, wohingegen DNA-SWNT-Komplexe von der Membran zurückgehalten werden. Das Retentat wurde anschließend fünf- bis siebenmal mit je 60  $\mu\text{L}$  PBS-Lösung gespült, bis im Filtrat keine Änderung



**Abbildung 4.4.** Filtrationsprotokoll zur Entfernung überschüssiger DNA (nach K. Kröker, Dissertation). Das DGU-Material wurde filtriert, um ungebundene DNA abzutrennen. Die im Retentat verbliebenen DNA-SWNT-Komplexe wurden in PBS resuspendiert, aliquotiert und eingefroren.<sup>[112]</sup>

der DNA-Konzentration mehr festzustellen war. Diese wurde über die Fluoreszenzintensität des Farbstoffs bestimmt (s. Kapitel 4.2). Das Retentat ließ sich durch Umdrehen des Filters und nochmalige Zentrifugation leicht aus der Membran lösen. Der Rückstand wurde in 2.3 mL PBS-Lösung redispergiert und umgehend in elf Fraktionen à 200 µL aliquotiert. Um eine vorzeitige DNA-Desorption zu verhindern, wurden die Proben sofort in flüssigem Stickstoff gefroren und bis zur Messung bei  $-32^{\circ}\text{C}$  gelagert. Ein Absorptionsspektrum vor und nach der Filtration ist in Abbildung A.7 (S. 178) zu sehen, wobei keine Verbreiterung der  $S_1$ -Absorptionsbande infolge der Filtration beobachtet wird.

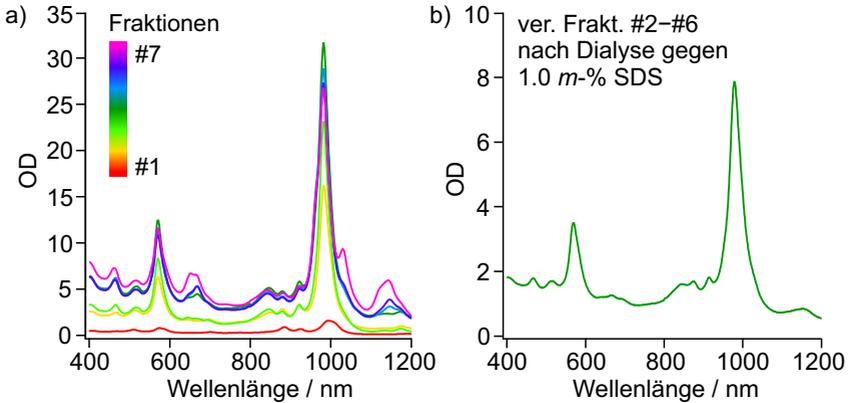
### 4.1.3 Tensid-SWNT-Komplexe

Die Isolierung der Tensid-SWNT-Komplexe beruht ebenso auf der Dichtegradientenultrazentrifugation und das experimentelle Vorgehen ist daher ähnlich dem der DNA-SWNT-Präparation.<sup>[79]</sup> Es wurden 1.5 mg Nanorohrruß pro 1.0 mL einer 1.0 *m*-%igen Natriumdesoxycholat-Lösung (DOC;  $\geq 97\%$ , Sigma-Aldrich) für zwei Stunden bei 0 °C beschallt (konische Spitze, Stufe 3, gepulster Betrieb: 30 %). Die beschallte Lösung wurde anschließend in einen Stufendichtegradienten eingebracht, dessen Zusammensetzung in Tabelle 4.2 aufgeführt ist.

Schicht	Iodixanolgehalt	OptiPrep® : H <sub>2</sub> O	SC/SDS	Volumen
IV	20 ( <i>m/V</i> )-%	1 : 2	je 61.8 mg	4.0 mL
III	25 ( <i>m/V</i> )-%	1 : 1.4	je 19.3 mg	1.5 mL
II	30 ( <i>m/V</i> )-%	1 : 1(SWNT)	je 8.3 mg	1.5 mL
I	40 ( <i>m/V</i> )-%	2 : 1	je 38.7 mg	4.0 mL

**Tabelle 4.2.** Zusammensetzung des Dichtegradienten zur Isolierung der Tensid-SWNT-Komplexe.

Als Dichtemedium wurde erneut OptiPrep® genutzt. Im Unterschied zur DNA-SWNT-Anreicherung wurden bei den Tensiden mehrere Dispergieradditive eingesetzt. Neben dem bei der Beschallung verwendeten DOC enthielten alle Lösungen des Dichtegradienten noch Natriumcholat (SC;  $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich) und Natriumdodecylsulfat (SDS;  $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich) im gleichen Massenverhältnis. Auch bei den Tensidproben wurde durch waagerechte Lagerung für zwei Stunden ein linearer Dichtegradient erzeugt, der anschließend bei 41000 Umdrehungen pro Minute und 21 °C für 18 Stunden ultrazentrifugiert wurde. Die entsprechenden SWNT-Fractionen wurden analog zu den DNA-Proben isoliert und durch Absorptionsspektroskopie charakterisiert. Die zugehörigen Absorptionsspektren sind in Abbildung 4.5 dargestellt.



**Abbildung 4.5.** Absorptionsspektren der Tensid-SWNT-Fractionen. **a)** Einzelne Fraktionen à 150  $\mu\text{L}$ . **b)** Die vereinigten Fraktionen nach der Dialyse.

Die erhaltenen Fraktionen zeichnen sich im Vergleich zur DNA-Dispergierung durch eine wesentlich höhere optische Dichte aus. Analog zur Präparation der DNA-SWNT-Komplexe wurden die (6,5)-SWNT-haltigen Fraktionen vereinigt, wobei die isolierten SWNTs mit einer Mischung aus DOC, SC und SDS dispergiert waren. Um eine homogene Bedeckung der Nanorohroberfläche zu erzielen und das Dichtemedium Iodixanol aus der SWNT-Lösung zu entfernen, wurden die Proben einer Dialyse unterzogen, wobei eine Zelluloseestermembran mit einer Porengröße von  $50 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$  zum Einsatz kam (Spectra/Por<sup>®</sup> Biotech CE Membran  $\varnothing 6.4 \text{ mm}$ , Spectrum Laboratories). Im Rahmen der durchgeführten Experimente erfolgte die Dialyse gegen eine 1.0 m-%ige SDS-Lösung. Mit der Dialyse geht eine Verdünnung der Probe um den Faktor 2–3 einher, wie in Abbildung 4.5 b) zu sehen ist.

## **4.2 Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie**

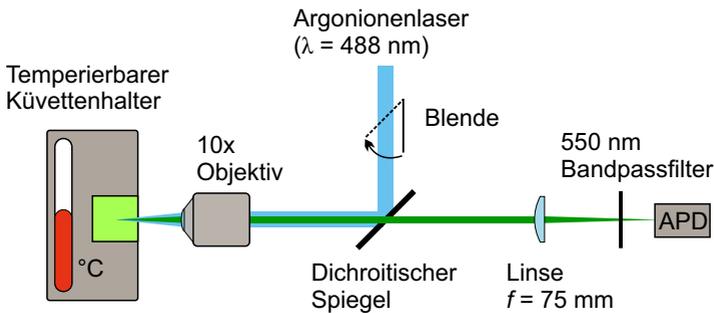
Alle im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Absorptionsmessungen erfolgten an einem Cary 5000 UV-Vis-NIR-Photospektrometer der Firma Varian mit einer Quarzglasküvette (Typ 105.250-QS,  $d = 10$  mm, Hellma<sup>®</sup>), wobei ein Messintervall von 1 nm und eine Integrationsdauer von  $0.1 \text{ s} \cdot \text{nm}^{-1}$  gewählt wurde. Zur Hintergrundkorrektur wurden Referenzspektren der jeweiligen Lösemittel und gegebenenfalls Lösungen der entsprechenden Dispergiermittel verwendet.

Die Fluoreszenzspektren wurden an einem orthogonalen Messaufbau im Fluoreszenzspektrometer FP-6300 (JASCO) mit einer Quarzglasküvette (Typ 105.250-QS,  $d = 10$  mm, Hellma<sup>®</sup>) bestimmt, wobei ein Messintervall von 0.5 nm bei einer Integrationsdauer von  $0.3 \text{ s} \cdot \text{nm}^{-1}$  gewählt wurde. Zur Hintergrundkorrektur wurden Referenzspektren der jeweiligen Lösemittel verwendet. Als Detektor ist ein Photoelektronenvervielfacher verbaut, der bei einer Spannung von 300 V betrieben wurde.

## **4.3 Fluoreszenzmikroskopie**

Die Messungen für die Verdünnungsexperimente erfolgten an einem selbst gebauten Fluoreszenzmikroskop, das schematisch in Abbildung 4.6 gezeigt ist. Der eingesetzte Küvettenhalter konnte über ein Peltier-Element in einem Bereich von  $-20$  °C bis  $60$  °C temperiert werden. Zur Anregung der Fluorophore wurde die 488 nm-Linie eines Argonionenlasers (Stabilite 2016, Spectra-Physics) genutzt. Bei den Experimenten mit  $d(\text{GT})_n$ -FAM-Oligomeren wurde die Anregungsleistung auf  $100 \mu\text{W}$  und bei  $d(\text{TAT})_4$ -FAM sowie F8T2 auf  $40 \mu\text{W}$  eingestellt. Das

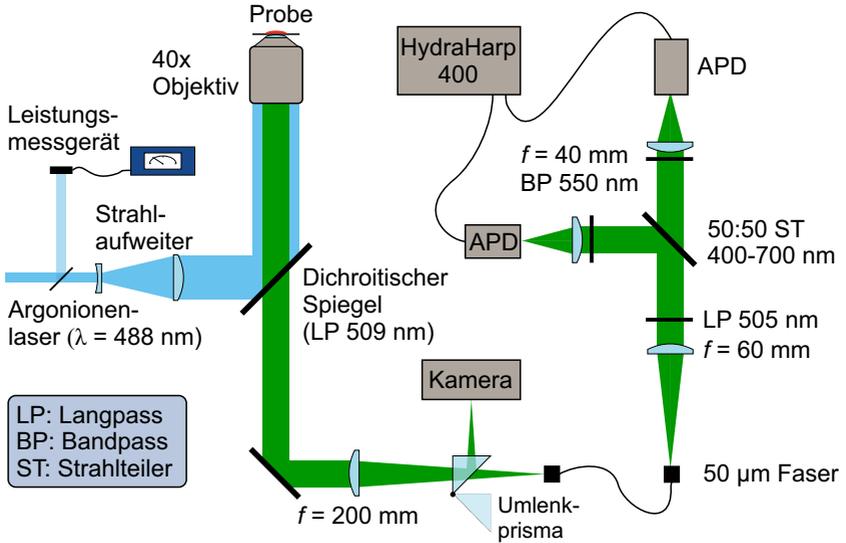
Licht wurde über einen dichroitischen Spiegel (HC BS 509, Semrock) mit einer Wellenlängenkante von 509 nm und ein unendlich-korrigiertes Objektiv (MPlan 10x/NA 0.25, Olympus) in die Probe fokussiert. Das Fluoreszenzlicht wurde über dasselbe Objektiv gesammelt, mit einer Linse ( $f = 75$  mm, LA1608, Thorlabs) fokussiert und einer Lawinenphotodiode (APD; SPAD, Micro Photon Devices) im Einzelphotonen-Zählmodus detektiert. Raman-Streuung und Streustrahlung des Anregungslichts konnten mithilfe eines 550 nm-Bandpassfilters (FB550-40, Thorlabs) geblockt werden. Um ein Photobleichen der Probe auszuschließen, wurde das Anregungslicht mechanisch blockiert und alle zwei Sekunden für die Messung freigegeben.



**Abbildung 4.6.** Fluoreszenzmikroskop zur Durchführung der Verdünnungsexperimente. Das Licht eines Argonionenlasers wird über ein 10x Objektiv in der Probe fokussiert und mittels einer Lawinenphotodiode detektiert.

## 4.4 Fluoreszenzkorrelationspektroskopie

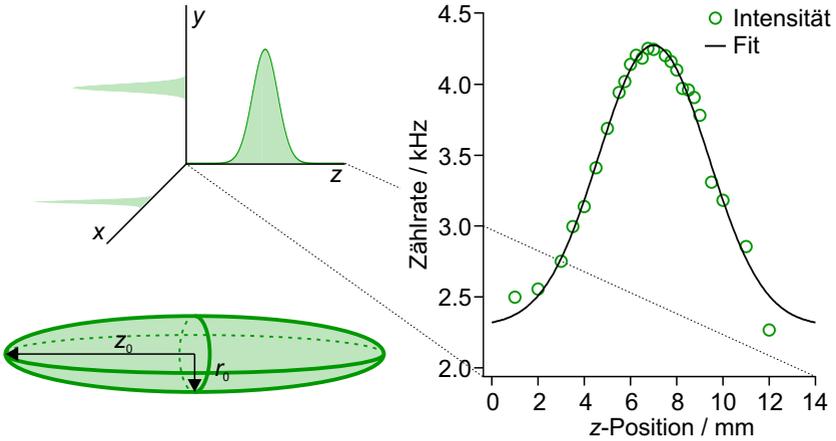
Bereits in Kapitel 2.6 wurden die Grundlagen der Fluoreszenzkorrelationspektroskopie eingeführt. Dieser Abschnitt widmet sich den experimentellen Anforderungen. Abbildung 4.7 zeigt schematisch den in dieser Arbeit installierten und genutzten Aufbau, wozu ein inverses Mikroskop (Eclipse Ti-U, Nikon) erweitert wurde. Um möglichst kleine Detektionsvolumina zu erreichen, kam ein konfokaler Versuchsaufbau zum Einsatz. Als Lichtquelle diente die 488 nm-Linie des Argonionenlasers (Stabilite 2016, Spectra-Physics). Die Leistung des Anregungslichts wurde über ein Leistungsmessgerät (PM100A/S130C, Thorlabs) verfolgt und betrug vor dem dichroitischen Spiegel 5–10 mW. Der Strahl wurde fünffach aufgeweitet (BE05, Thorlabs), um über einen dichroitischen Spiegel (HC BS 509, Semrock) die Öffnung des 40x Wasserimmersionsobjektivs (NA 1.2, C-Apochromat, Zeiss) auszufüllen. Die Probe wurde auf ein Deckglas (Premium CoverGlasses #1, Fisher Scientific) mit sehr niedriger Eigenfluoreszenz aufgebracht, welches über einen dreidimensionalen Verschiebetisch (P-563.3CD, PI) positioniert werden konnte (nicht in Abbildung 4.7 dargestellt). Das Fluoreszenzlicht wurde über dasselbe Objektiv gesammelt und mit der abbildenden Linse ( $f = 200$  mm) des Nikon-Mikroskops auf eine optische Faser ( $\varnothing 50$   $\mu\text{m}$ , M15L02, Thorlabs) fokussiert. Wahlweise konnte das Licht auch mithilfe eines im Mikroskop verbauten Umlenkprismas auf dessen zweiten Ausgang gelegt werden, um über eine CCD-Kamera (Clara, Andor) die Positionierung des Fokus über den Reflex des Deckglases zu bestimmen. Das Fluoreszenzsignal tritt am Faserende aus und wurde durch eine 60 mm-Linse (LA1134, Thorlabs) kollimiert. Über einen 50:50-Strahlteiler (CM1-BS013, Thorlabs) sowie je eine 40 mm-Linse (LA1422, Thorlabs) wurde das Licht mit zwei APDs (SPAD, Micro Photon Devices) im Einzelphotonen-Zählmodus detektiert, das Signal mit der Messelektronik HydraHarp 400 (PicoQuant) aufgezeichnet und mit



**Abbildung 4.7.** Schematischer konfokaler Versuchsaufbau für die FCS-Messungen. Das Licht des Argonionenlasers wurde über ein 40x Objektiv (NA 1.2) in der Probe fokussiert. Die verwendete optische Faser ( $\varnothing 50 \mu\text{m}$ ) diente als konfokale Lochblende. Das Fluoreszenzsignal wurde über zwei APDs detektiert und mit der Messelektronik HydraHarp 400 kreuzkorreliert.

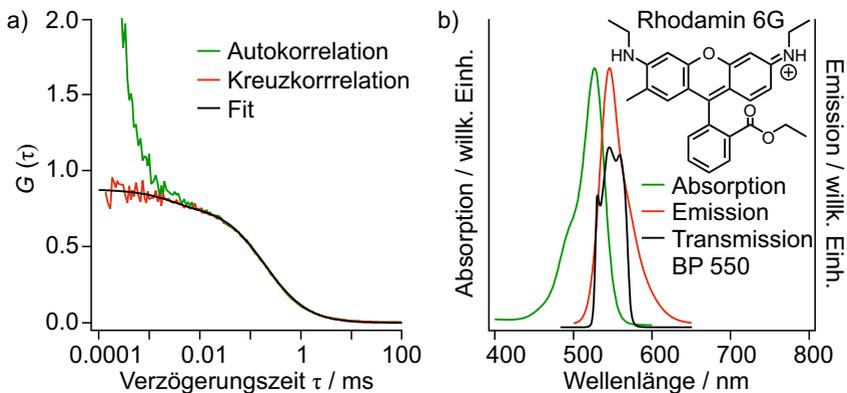
der Software SymphoTime (v5.1.3, PicoQuant) in Echtzeit kreuzkorreliert. Im Vergleich zur herkömmlichen Autokorrelation kann durch die Kreuzkorrelation das Nachpulsen des Detektors aus der Korrelationskurve eliminiert werden. Der Unterschied wird bei kurzen Verzögerungszeiten deutlich und ist in Abbildung 4.9 a) dargestellt. Typische FCS-Messzeiten betragen einige Sekunden bis wenige Minuten. Der Langpassfilter mit einer Kantenlänge von 500 nm (FEL0500, Thorlabs) und die 550 nm-Bandpassfilter (FB550-40, Thorlabs) vor den APDs wurden eingesetzt, um Streustrahlung und Raman-Streuung weitestgehend von der Detektion auszuschließen.

Der eingesetzte Faserkopf hatte einen Durchmesser von  $50\ \mu\text{m}$  und konnte daher als Lochblende des konfokalen Versuchsaufbaus genutzt werden. Deren Größe und Positionierung bestimmen maßgeblich den axialen Radius  $z_0$  des konfokalen Volumens, wohingegen  $r_0$  im Wesentlichen durch das Objektiv limitiert wird. Um ein möglichst kleines Detektionsvolumen zu erhalten, muss die Lochblende exakt im Fokus der abbildenden Linse des Mikroskops positioniert werden. Das dort entstehende, vergrößerte Bild entspricht dem konfokalen Volumen und ist in Abbildung 4.8 schematisch dargestellt. Zur Justierung der Lochblende wurde die Zählrate einer APD in ein akustisches Signal umgewandelt (Ortec<sup>®</sup> Log/Lin Ratemeter; Acoustic-Control, FHI-ELAB#2476). Der Faserkopf war auf einem dreidimensionalen Verschiebetisch montiert und konnte so in alle Raumrichtungen bewegt werden. Das Intensitätsprofil in  $x$ - und  $y$ -Richtung zeichnet sich durch sehr scharfe Maxima aus, da der laterale Radius  $r_0$  deutlich kleiner ist als der axiale Radius  $z_0$ . Die Positionierung konnte daher gut über das akustische Signal erfolgen. Hingegen ist der Intensitätsverlauf in  $z$ -Richtung deutlich breiter und eine akustische Lokalisierung des Fokus nur unzureichend. Nach der Optimierung der Position in der  $xy$ -Ebene erfolgte die Justierung in  $z$ -Richtung mittels 60-sekündiger Messungen der Fluoreszenzintensität an verschiedenen  $z$ -Positionen. Die gemittelte Zählrate wurde anschließend gegen die  $z$ -Koordinate aufgetragen und die Position des Maximums durch Anpassung einer Gauß-Funktion bestimmt. Ein typisches Intensitätsprofil ist ebenfalls in Abbildung 4.8 gezeigt. Nach Austritt des Lichts aus dem Mikroskop ist die optische Achse nicht tischparallel und folglich kann durch die Verschiebung der  $z$ -Position das Maximum in der  $xy$ -Ebene verlassen worden sein. Daher wurde nach Optimierung der  $z$ -Position das Fluoreszenzmaximum in der  $xy$ -Ebene erneut bestimmt und der Vorgang auch für die  $z$ -Richtung wiederholt, bis keine Änderung der Position mehr erfolgte. Die Justierung des Faserkopfs wurde vor jeder Messreihe wiederholt.



**Abbildung 4.8.** Justierung der Lochblende. Der Faserkopf dient als Lochblende und wird am Fluoreszenzmaximum positioniert, um ein möglichst kleines konfokales Volumen zu erreichen.

Zur Charakterisierung des konfokalen Volumens wurde der Versuchsaufbau mit einer 1 nM wässrigen Lösung des Farbstoffs Rhodamin 6G ( $\approx 95\%$ , Sigma Aldrich) kalibriert, dessen Diffusionskoeffizient bekannt ist. Abbildung 4.9 zeigt die erhaltene Korrelationskurve bei der gewählten Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{ex}}$  von 488 nm sowie die optischen Eigenschaften des Farbstoffs in wässriger Lösung für  $\lambda_{\text{ex}} = 485$  nm. Durch Anpassung der Korrelationskurve mit Gleichung 2.58 (S. 47) wird die Diffusionszeit  $\tau_D$  erhalten. Der Diffusionskoeffizient von Rhodamin 6G beträgt  $2.8 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  und über Gleichung 2.57 (S. 47) kann der laterale Radius  $r_0$  des konfokalen Volumens bestimmt werden.<sup>[92]</sup> Da aus der Anpassung ebenso der Strukturparameter  $s$  resultiert, der das Verhältnis von lateralem und axialem Radius wiedergibt (Gleichung 2.56, S. 46), ist auch  $z_0$  zugänglich und mit Gleichung 2.54 (S. 46) kann die Größe des konfokalen Volumens berechnet werden. Die Kalibrierung



**Abbildung 4.9.** FCS-Korrelationskurve und spektrale Eigenschaften von Rhodamin 6G in wässriger Lösung. **a)** Kalibriermessung mit Rhodamin 6G (1 nM,  $\lambda_{ex} = 488$  nm). **b)** Absorptions- und Emissionsspektrum ( $\lambda_{ex} = 485$  nm) von Rhodamin 6G sowie Transmission des verwendeten Bandpasses (BP 550).

wird zu Beginn jeder Messreihe für die eingestellte Anregungsleistung durchgeführt und der ermittelte Strukturparameter dann zur Auswertung der Ergebnisse festgehalten.

# 5 Adsorptionsverhalten von DNA auf SWNTs

In diesem Kapitel werden die Experimente und Analysen zur Untersuchung des Adsorptionsverhaltens von DNA-Oligomeren auf Kohlenstoffnanoröhren vorgestellt und deren Ergebnisse diskutiert. Ziel dieser Arbeit ist es, die Adsorption an reinen DNA-SWNT-Komplexen zu charakterisieren. Aufgrund der kostengünstigeren Probenpräparation der Tensid-SWNT-Komplexe bieten sich für erste Testmessungen jedoch Austauschreaktionen an, bei denen DNA-Lösungen mit tensiddispersierten Nanoröhren versetzt werden. Die DNA kann unter Verdrängung der Tenside auf die Nanorohroberfläche adsorbieren.<sup>[27,28]</sup> Dieses Vorgehen ermöglicht zudem deutlich höhere SWNT-Konzentrationen in den zu untersuchenden Lösungen als bei reinen DNA-SWNT-Suspensionen. Zunächst werden daher die DNA-Tensid-Austauschexperimente besprochen, mit deren Hilfe die Beladung der Nanoröhren mit DNA ermittelt wurde und erste Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie-Messungen (FCS) durchgeführt werden konnten. Der letzte Abschnitt widmet sich den Experimenten und FCS-Messungen mit reinen DNA-SWNT-Komplexen ohne zusätzliche tensidische Dispergiermittel. Innerhalb des Kapitels werden aus Gründen der Übersichtlichkeit teilweise nur einzelne Datensätze – beispielsweise eines Oligomers – zur Analyse herausgegriffen. Die kompletten zur Auswertung herangezogenen Daten der Messreihe sind im Anhang ab Seite 171 zusammengefasst.

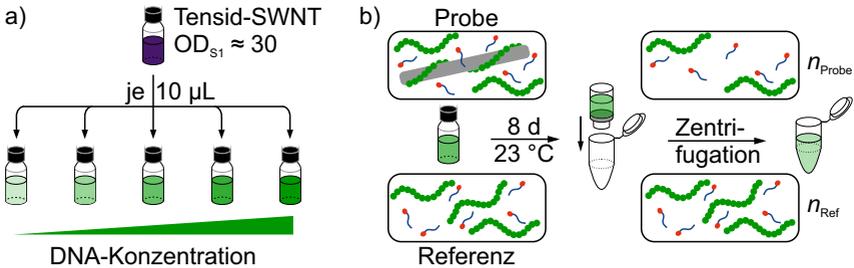
## **5.1 DNA-Tensid-Austauschexperimente**

Bereits in Kapitel 3.1.3 wurden Arbeiten vorgestellt, in denen durch Austauschexperimente der Anteil der mit DNA bedeckten Nanorohroberfläche bestimmt wurde.<sup>[27,28]</sup> Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente zielen hingegen darauf ab, die adsorbierte DNA-Stoffmenge in Abhängigkeit der Oligomerlänge zu ermitteln, welche vor allem für die Anwendung von DNA-SWNT-Komplexen als Wirkstofftransporter von Bedeutung ist. Zudem lassen sich daraus Rückschlüsse auf die Adsorptionskonformation der DNA-Oligomere ziehen. Folglich wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht die Verschiebung der  $S_1$ -Absorptionsbande der SWNTs als spektroskopische Sonde genutzt, sondern es wurden farbstoffmarkierte DNA-Oligomere eingesetzt, um über deren Absorptionsbande bzw. Fluoreszenz die DNA-Konzentration zu verfolgen. Für die zunächst diskutierte Filtrationsmethode wurde 6-Carboxyfluorescein (FAM) verwendet und für die FCS-Messungen aufgrund der höheren Photostabilität Rhodamin 6G (R6G).<sup>[113,114]</sup>

### **5.1.1 Filtrationsmethode**

Das Vorgehen zur Bestimmung der adsorbierten DNA-Stoffmenge ist schematisch in Abbildung 5.1 dargestellt. Dabei wurde eine definierte Menge tensidstabilisierte (6,5)-SWNT-Suspension in verschiedenen konzentrierte DNA-Lösungen eingebracht.

Für diese Versuchsreihe wurden die Fraktionen nach der Dichtegradientenultrazentrifugation (DGU) verwendet, die die höchste (6,5)-SWNT-Konzentration zeigten. Auf eine Dialyse wurde verzichtet, um die SWNT-Lösung nicht zu verdünnen. Somit konnte ein Volumen von lediglich 10  $\mu\text{L}$  der Tensid-SWNT-Lösung ( $\text{OD}_{S_1} \approx 30$ ) verwendet werden, wodurch die Menge an eingetragenen Tensiden relativ gering war.



**Abbildung 5.1.** Experimentelles Vorgehen zur Bestimmung der adsorbierten DNA-Stoffmenge. **a)** Verschieden stark konzentrierte DNA-Lösungen wurden mit einer hoch konzentrierten Tensid-SWNT-Lösung versetzt. **b)** Sowohl die Probenlösung als auch die Referenzlösung wurde filtriert und der DNA-Gehalt des Filtrats bestimmt.

Das Volumen der vorgelegten DNA-Lösungen betrug jeweils  $200 \mu\text{L}$ , so dass in dem Gemisch eine optische Dichte von etwa 1.5 erreicht wurde, wie sie für DNA-SWNT-Proben üblich ist. Um dem Einfluss des noch enthaltenen Dichtemediums und der verschiedenen Tenside Rechnung zu tragen, wurden nanorohrfreie Referenzlösungen hergestellt. Hierfür wurde ein Dichtegradient gemäß Tabelle 4.2 (S. 70) präpariert, jedoch ohne die beschaltete Nanorohrlösung. Stattdessen wurde eine  $1.0 \text{ m}\%$ ige Natriumdesoxycholat-Lösung verwendet und der DGU-Prozess gemäß Kapitel 4.1.3 durchgeführt. An den gleichen Positionen wie bei den SWNT-haltigen Zentrifugenröhrchen wurden auch aus den Referenzröhrchen entsprechende Fraktionen entnommen und vereinigt. Jeweils  $10 \mu\text{L}$  dieser Lösung wurden mit DNA-Lösungen gleicher Konzentration und Volumina versetzt wie bei den SWNT-haltigen Proben. Das anschließende experimentelle Vorgehen war sowohl für die Proben als auch für die Referenzlösung identisch und ist in Abbildung 5.1 b) schematisch dargestellt. Die Experimente wurden für verschieden lange  $d(\text{GT})_n$ -FAM-Oligomere ( $n=4, 8, 12, 16, 20$ ) durchgeführt. Für  $n=4, 8$  konnte jedoch kein erfolgreicher Austausch festgestellt werden. Tabelle 5.1 zeigt die Konzentrationen der eingesetzten DNA-Lösungen

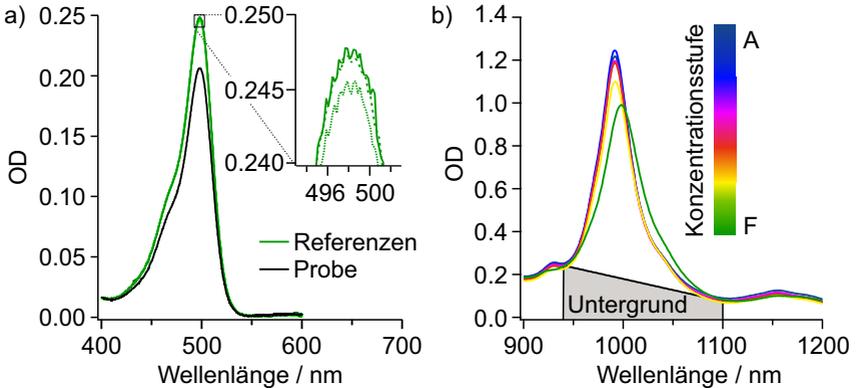
mit  $n = 12, 16, 20$ , die derart hergestellt wurden, dass identische Stufen A–F der Nukleinbasenkonzentrationen  $c_{\text{Nuklein}}$  erreicht wurden. Daraus ergeben sich unterschiedliche molare Konzentrationen der entsprechenden DNA-Oligomere  $c_{\text{Oligo}}$ .

Konz.- stufe	$c_{\text{Nuklein}}$	$c_{\text{Oligo}}(\text{d}(\text{GT})_n\text{-FAM})$		
		$n = 12$	$n = 16$	$n = 20$
[ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ]				
A	960	40.0	30.0	24.0
B	480	20.0	15.0	12.0
C	240	10.0	7.50	6.00
D	96.0	4.00	3.00	2.40
E	32.0	1.33	1.00	0.08
F	1.60	0.067	0.050	0.040

**Tabelle 5.1.** Konzentrationen der DNA-Lösungen zur Bestimmung der adsorbierten DNA-Stoffmenge. Die Konzentration an Nukleinbasen ist in einer Reihe stets identisch.

Alle Lösungen wurden nach Zugabe der SWNT-Aliquote mehrere Tage bei Raumtemperatur gelagert, um sicherzustellen, dass der Austausch des Tensids durch die DNA vollständig ablaufen konnte. Anschließend wurden die DNA–SWNT-Komplexe durch Zentrifugfiltration (Rotina 35R, Hettich) für zehn Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute abgetrennt und die DNA-Konzentration im Filtrat über die optische Dichte der Absorptionsbande des Farbstoffs bei 498 nm bestimmt. Lediglich für die Konzentrationsstufe F erfolgte die Ermittlung der DNA-Konzentrationen nicht absorptionsspektroskopisch, sondern über das Integral der Fluoreszenzspektren im Bereich von 490–650 nm, bei einer Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{ex}} = 480$  nm. Die Spektren aller untersuchten Lösungen sind im Anhang ab Seite 172 zu finden. Die Porengröße der verwendeten Zelluloseestermembranen (Nanosep<sup>®</sup> 100K Omega, Pall Life Sciences) betrug  $100 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Die Referenzlösungen wurden ebenfalls filtriert, um Adsorptionen an der Gefäßwand und der Filtermem-

bran zu berücksichtigen. Um diese Einflüsse genauer quantifizieren zu können, wurden für jede DNA-Konzentrationsstufe drei Referenzlösungen hergestellt, die unabhängig voneinander filtriert wurden. In Abbildung 5.2 a) sind die entsprechenden Absorptionsspektren der Referenzfiltrate einer Konzentrationsstufe in grün gezeigt.

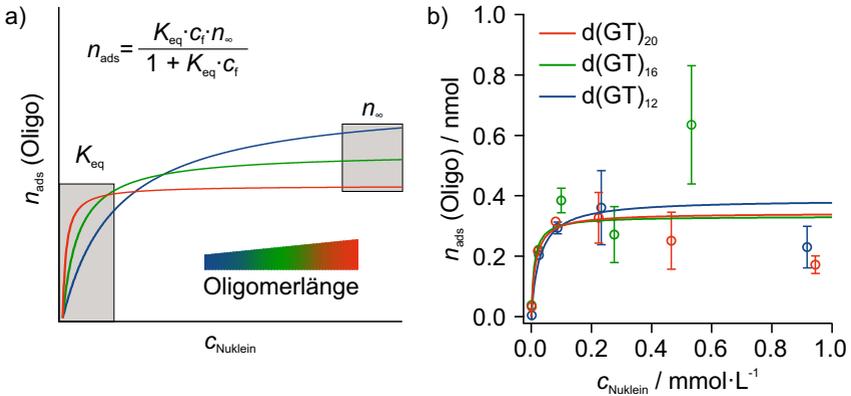


**Abbildung 5.2.** Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten DNA-Stoffmenge für  $d(\text{GT})_{20}$ -FAM. **a)** Die DNA-Stoffmenge im Filtrat wurde absorptionsspektroskopisch bestimmt. **b)** Die ermittelte adsorbierte DNA-Stoffmenge wurde auf das Integral der  $S_1$ -Absorptionsbande der entsprechenden Lösung normiert, der lineare Untergrund wurde hierfür abgezogen.

Aus diesen Spektren wurden die DNA-Konzentrationen in den Filtraten berechnet und anschließend der Mittelwert gebildet. Die dabei erhaltene Standardabweichung kann als Varianz des Filtrationsvorgangs bei der entsprechenden Konzentrationsstufe auch für die SWNT-Probe übernommen werden. Das Absorptionsspektrum des Filtrats der SWNT-haltigen Probe ist in Abbildung 5.2 a) in schwarz dargestellt. Die daraus ermittelte DNA-Konzentration entspricht der Gleichgewichtskonzentration  $c_f$  und ist deutlich geringer als in den Referenzfiltraten. Der Unterschied in den Spektren ist auf die Adsorption der DNA auf die enthaltenen Kohlenstoffnanoröhren zurückzuführen, die durch die Fil-

tration als DNA–SWNT-Komplex entfernt wurden. Folglich kann aus der Konzentrationsdifferenz die auf der Nanorohroberfläche adsorbierte DNA-Stoffmenge bestimmt werden. In Abbildung 5.2 b) sind die Absorptionsspektren der untersuchten Lösungen im Bereich der  $S_1$ -Absorptionsbande der SWNTs vor der Filtration gezeigt. Es ist ersichtlich, dass die SWNT-Konzentration in den Lösungen leicht variiert, was auf Pipettierungenauigkeiten zurückzuführen ist. Folglich muss die ermittelte adsorbierte DNA-Stoffmenge noch auf den Gehalt an Kohlenstoffnanoröhren in der Lösung normiert werden. Hierfür wurde das Integral unter der  $S_1$ -Absorptionsbande im Bereich von 940 nm bis 1100 nm verwendet, wobei der in der Abbildung angedeutete lineare Untergrund abgezogen wurde.

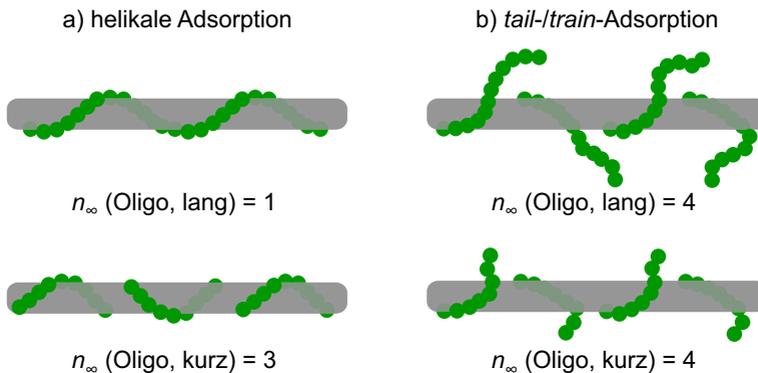
Abbildung 5.3 a) zeigt schematisch den erwarteten Verlauf der Adsorptionsisothermen für unterschiedlich lange DNA-Oligomere unter Annahme eines helikalen Adsorptionsmodells und einer stärkeren Adsorptionsneigung für längere DNA-Oligomere, was in einem Anstieg der Gleichgewichtskonstanten  $K_{eq}$  mit der Nukleinbasenzahl berücksichtigt wurde. In Abbildung 5.3 b) sind die experimentell bestimmten Adsorptionsisothermen gegenübergestellt. Dafür sind die aus den Absorptionsspektren ermittelten normierten, adsorbierten DNA-Stoffmengen der  $d(GT)_n$ -FAM-Oligomere gegen die Gleichgewichtskonzentration an Nukleinbasen  $c_{Nuklein}$  im Filtrat aufgetragen. Die experimentellen Werte wurden mit Gleichung 2.32 (S. 23) angepasst, die nochmals in der umgestellten Form in Teil a) der Abbildung aufgenommen ist. Dabei wurden die Kehrwerte der ermittelten Varianzen als Wichtungsfaktoren für die Anpassung eingesetzt. Die normierten, adsorbierten DNA-Stoffmengen sind für 1.0 mL einer SWNT-Suspension mit einer optischen Dichte von 1.0 und einer Halbwertsbreite (FWHM) der  $S_1$ -Bande von 35 nm angegeben, was einer Kohlenstoffatomkonzentration von  $0.179 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  entspricht.<sup>[88]</sup> Durch Vergleich der beiden Auftragungen lassen sich Rückschlüsse auf die Adsorptionskonformation der DNA-Oligomere ziehen.



**Abbildung 5.3.** Schematische und experimentell bestimmte Adsorptionsisothermen. **a)** Unter Annahme einer helikalen DNA-Adsorption auf den SWNTs wird ein variierender Verlauf der Isothermen in Abhängigkeit der Oligomerlänge erwartet. **b)** Die experimentell ermittelten Adsorptionsisothermen sind nahezu unabhängig von der Oligomerlänge.

Der Verlauf der Modell-Adsorptionsisothermen zeigt zunächst einen nahezu linearen Anstieg der adsorbierten DNA-Stoffmenge, dessen Steigung mit der Oligomerlänge skaliert. Dies spiegelt die erwartete stärkere Adsorptionsneigung längerer Oligomere wider, was einem höheren Wert für  $K_{eq}$  entspricht. Auf der Nanorohroberfläche kann allerdings nur eine begrenzte Anzahl an Nukleinbasen adsorbiert werden. Da längere DNA-Oligomere aufgrund der höheren Anzahl an DNA-Basen einen größeren Platzbedarf haben, ist zu erwarten, dass bei vollständiger Bedeckung der Nanorohroberfläche für lange DNA-Oligomere weniger Moleküle adsorbiert werden können als bei kürzeren. Dies entspricht einem niedrigeren Sättigungswert  $n_{\infty}$ . Der experimentell beobachtete Verlauf der Adsorptionsisothermen unterscheidet sich vom Modell jedoch sowohl im Anfangs- als auch im Sättigungsbereich und die Ergebnisse der gewichteten Anpassung mit Gleichung 2.32 sind in Tabelle 5.2 zusammengefasst. Der Anstieg der Isothermen bei niedrigen Nukleinbasen-

konzentrationen ist für die drei untersuchten  $d(\text{GT})_n$ -FAM-Oligomere sehr ähnlich, was auf eine vergleichbare Adsorptionsneigung schließen lässt. Schwieriger zu verstehen ist hingegen das analoge Verhalten bei hohen DNA-Konzentrationen. Aus den experimentellen Daten lässt sich ableiten, dass bei vollständiger Bedeckung der Nanorohroberfläche die Anzahl der adsorbierten DNA-Moleküle nahezu unabhängig von deren Länge ist. Nur der Wert für  $d(\text{GT})_{12}$ -FAM ist geringfügig reduziert, wobei die Differenz innerhalb der ermittelten Varianzen liegt. Diese Beobachtung lässt sich kaum mit dem helikalen Adsorptionsmodell in Einklang bringen, da ein  $d(\text{GT})_{20}$ -FAM-Oligomer fast doppelt so viele Nukleinbasen besitzt wie ein  $d(\text{GT})_{12}$ -FAM-Oligomer und daher auch den doppelten Platz auf der SWNT einnehmen sollte. Die Ergebnisse lassen sich jedoch erklären, wenn anstatt von einer helikalen Adsorption von einer *tail*- und *train*-Adsorption ausgegangen wird, wie sie in Abbildung 5.4 b) skizziert ist.



**Abbildung 5.4.** Denkbare helikale und *tail*-Adsorptionskonformationen von unterschiedlich langen DNA-Oligomeren auf SWNTs bei vollständiger Bedeckung der Nanorohroberfläche. **a)** Bei der helikalen Adsorption sollte die maximal adsorbierte Stoffmenge kleinerer Oligomere höher sein als die von längeren. **b)** Zieht man eine *train*- und *tail*-Struktur heran, lässt sich sowohl der identische Platzbedarf verschieden langer Oligomere als auch die hohe DNA-Beladung der SWNTs erklären.

Unter der Annahme, dass die untersuchten Biopolymere alle über ein gleich langes *train*-Segment auf der SWNT-Oberfläche gebunden sind, wohingegen die restlichen Nukleinbasen als *tail*-Segment nicht mit den Nanoröhren in Wechselwirkung treten, lassen sich die experimentellen Befunde zufriedenstellend interpretieren. Diese Hypothese wird auch dadurch gestützt, dass auf der SWNT-Oberfläche mehr DNA-Basen adsorbiert sind als theoretisch zu erwarten wäre. Die molare SWNT-Kohlenstoffatomkonzentration  $c_C$  lässt sich über den bekannten Absorptionsquerschnitt der (6,5)-SWNTs berechnen.<sup>[88]</sup>

$$c_C = B \frac{\Delta_{\text{FWHM}, S_1} \text{OD}_{S_1}}{fd} \quad \text{mit} \quad B = 5.1 \cdot 10^{-8} \frac{\text{mol} \cdot \text{cm}}{\text{L} \cdot \text{nm}} \quad (5.1)$$

In dieser Gleichung ist  $\Delta_{\text{FWHM}, S_1}$  die Halbwertsbreite der  $S_1$ -Absorptionsbande in nm und  $\text{OD}_{S_1}$  die entsprechende optische Dichte. Die Oszillatorstärke  $f$  des  $S_1$ -Übergangs pro C-Atom ist mit 0.01 angegeben und  $d$  ist die Schichtdicke der zur Messung verwendeten Küvette in cm. Die Konstante  $B$  dient der Verwendung laborüblicher Einheiten.<sup>[88]</sup> Die angegebenen DNA-Stoffmengen beziehen sich auf eine Lösung mit einer optischen Dichte von eins und einer Halbwertsbreite von 35 nm, die molare Kohlenstoffatomkonzentration ist bei einer 1 cm-Küvette demzufolge  $0.179 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Aus der Elementarzelle einer (6,5)-SWNT lässt sich berechnen, dass pro SWNT-Nanometer 88.48 C-Atome enthalten sind.<sup>[112]</sup> Für einen Milliliter der Lösung ergibt sich somit eine Gesamtlänge der SWNTs von  $l_{\text{SWNT}} = 1.22 \cdot 10^{15} \text{ nm}$ . Der Platzbedarf  $p$  eines  $\text{d}(\text{GT})_{16}$ -Oligomers auf einer (6,5)-SWNT bei helikaler Adsorption wurde auf 16.9–22.1 nm abgeschätzt.<sup>[115]</sup> Aus den ermittelten maximal adsorbierten DNA-Stoffmengen  $n_\infty$  lässt sich folglich die DNA-Gesamtlänge  $l_{\text{ads}}^{\text{DNA}}$  der adsorbierten Oligomere auf den SWNTs bei vollständiger Bedeckung der Nanoröhroberfläche berechnen.

$$l_{\text{ads}}^{\text{DNA}} = pn_\infty N_{\text{Av}} \quad (5.2)$$

Hierbei stellt  $N_{\text{Av}}$  die Avogadro-Konstante mit  $6.022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$  dar. Die ermittelten Werte für  $l_{\text{ads}}^{\text{DNA}}$  sind in Tabelle 5.2 aufgenommen und liegen für die untersuchten  $\text{d}(\text{GT})_n$ -FAM-Oligomere deutlich über der berechneten, in der Lösung vorhandenen SWNT-Gesamtlänge von  $1.22 \cdot 10^{15} \text{ nm}$ .

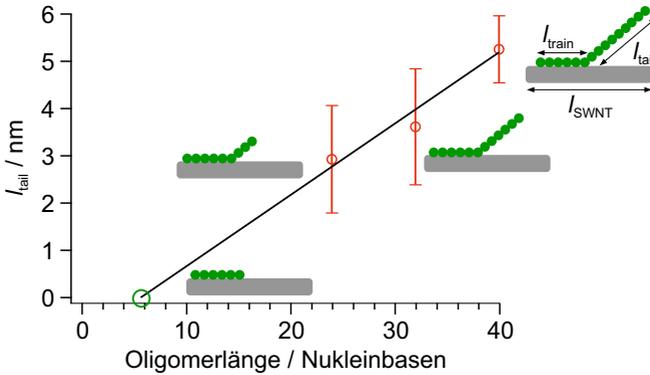
	$K_{\text{eq}}$	$n_{\infty}$	$l_{\text{ads}}^{\text{DNA}}$	$l_{\text{tail}}$
	$[\text{10}^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}]$	$[\text{nmol}]$	$[\text{nm}]$	$[\text{nm}]$
$\text{d}(\text{GT})_{12}$	$3.50 \pm 0.83$	$0.388 \pm 0.038$	$2.97 \cdot 10^{15}$	$2.93 \pm 1.14$
$\text{d}(\text{GT})_{16}$	$9.88 \pm 2.74$	$0.332 \pm 0.031$	$3.39 \cdot 10^{15}$	$3.61 \pm 1.23$
$\text{d}(\text{GT})_{20}$	$6.94 \pm 0.96$	$0.343 \pm 0.015$	$4.37 \cdot 10^{15}$	$5.25 \pm 0.71$

**Tabelle 5.2.** Ergebnisse der linearen Anpassung der ermittelten adsorbierten DNA-Stoffmengen mit der Langmuir-Gleichung und die berechneten Werte von  $l_{\text{ads}}^{\text{DNA}}$  und  $l_{\text{tail}}$ , bei denen ein Platzbedarf von  $17 \text{ nm}/\text{d}(\text{GT})_{16}$  angenommen wurde. <sup>[115]</sup>

Bei Annahme der in Abbildung 5.4 b) gezeigten Adsorptionskonformation entspricht die Differenz zwischen der DNA-Gesamtlänge und der SWNT-Gesamtlänge in Lösung gerade der Länge der nicht adsorbierten *tail*-Segmente  $l_{\text{tail}}$ .

$$l_{\text{tail}} = l_{\text{ads}}^{\text{DNA}} - l_{\text{SWNT}} \quad (5.3)$$

Ist die *tail*-Länge null, so sind alle DNA-Basen des Oligomers auf der SWNT-Oberfläche adsorbiert. In Abbildung 5.5 ist die ermittelte *tail*-Länge gegen die Basenzahl aufgetragen. Durch lineare Extrapolation lässt sich die Anzahl der Nukleinbasen eines *train*-Segments ermitteln. Je nach Annahme des Platzbedarfs  $p$  eines Oligomers werden drei bis sechs Nukleinbasen pro *train*-Segment erhalten. Sowohl die derart bestimmte Länge der *train*-Segmente als auch die Parameter aus der Anpassung der experimentellen Daten mit der Langmuir-Gleichung sind



**Abbildung 5.5.** Bestimmung der Länge des *train*-Segments. Durch Auftragung der *tail*-Länge gegen die Basenzahl des DNA-Oligomers lässt sich die Anzahl der auf der SWNT-Oberfläche adsorbierten Nukleinbasen extrapolieren. Die gezeigten Werte wurden für einen Platzbedarf von  $17 \text{ nm/d(GT)}_{16}$  berechnet.

allerdings mit einer hohen Unsicherheit verbunden, die auf den Filtrationsvorgang zurückzuführen ist. Die hohe Adsorptionsneigung der DNA-Oligomere auf die Filtermembran – vor allem bei hohen DNA-Konzentrationen – führt zu größeren Varianzen der DNA-Konzentrationen im Filtrat. Dies ist an den größeren Fehlerbalken in Abbildung 5.3 b) zu erkennen. Die so eingeführten Unsicherheiten setzen sich bei der weiteren Analyse der Daten fort. Trotz dieser Einschränkungen deuten die durchgeführten Experimente darauf hin, dass das helikale Adsorptionsmodell die DNA-Konformation auf den Kohlenstoffnanoröhren nur unzureichend beschreiben kann. Zum einen konnte festgestellt werden, dass die Anzahl der maximal adsorbierten DNA-Moleküle unabhängig von der Oligomerlänge ist und folglich die Oligomere einen ähnlichen Platzbedarf auf der SWNT-Oberfläche haben. Zum anderen ist eine wesentlich höhere DNA-Menge adsorbiert als sich aus Abschätzung der SWNT-Gesamtlänge und Annahme einer helikalen DNA-Adsorption erwarten lässt. Beide Beobachtungen können jedoch durch die Ausbil-

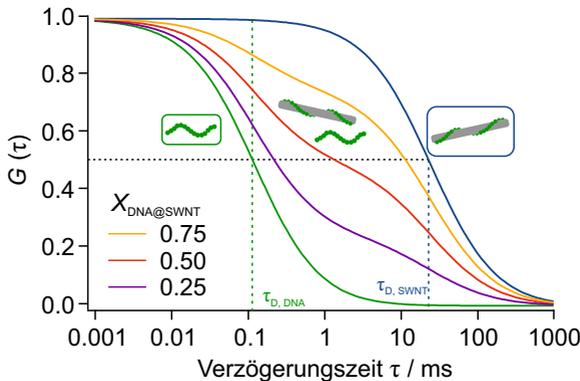
derung von *tail*-Segmenten erklärt werden, wie sie in Abbildung 5.4 b) gezeigt und für Polymere typisch sind. Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Effekt auf den Einfluss der ebenfalls noch anwesenden Tenside zurückzuführen ist. Eine Durchführung der beschriebenen Filtrationsmethode an reinen DNA–SWNT-Systemen ist jedoch nicht Erfolg versprechend. Anstatt tensiddispersierter SWNTs müssten DNA-stabilisierte Nanoröhren zu den DNA-Lösungen gegeben werden. Dadurch würden zusätzliche DNA-Oligomere in die Lösung eingebracht und Suspensionen mit sehr geringem Oligomergehalt wären nicht zugänglich. Da beim DGU-Verfahren mit DNA-Oligomeren zudem Lösungen mit deutlich niedrigerer optischer Dichte erreicht werden, müssten größere Volumina der DNA–SWNT-Suspension eingesetzt werden, was hohe DNA-Konzentrationen und dementsprechend nur geringe Unterschiede im Bedeckungsgrad zur Folge hätte, welche mit der Filtrationsmethode nicht mehr aufgelöst werden können. Stattdessen soll auf Grundlage der Austauschexperimente versucht werden, die Adsorptionsneigung von DNA-Oligomeren mithilfe von FCS-Messungen zu verfolgen, da hierbei auf eine Filtration der Proben verzichtet werden kann.

### **5.1.2 FCS-Messungen**

Alle FCS-Messungen wurden an dem in Kapitel 4.4 beschriebenen Aufbau durchgeführt. Vor jeder Messreihe erfolgte die beschriebene Positionierung der Lochblende sowie die Kalibrierung des Aufbaus mit einer 1.0 nM Rhodamin 6G-Lösung. Der daraus ermittelte Strukturparameter wurde für die jeweilige Messreihe übernommen. Für die vorgestellten Experimente wurden R6G-markierte  $d(\text{GT})_{12}$ -Oligomere verwendet.

Bei der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie können Teilchen über deren Diffusionszeit  $\tau_D$  unterschieden werden, auch wenn sie den gleichen

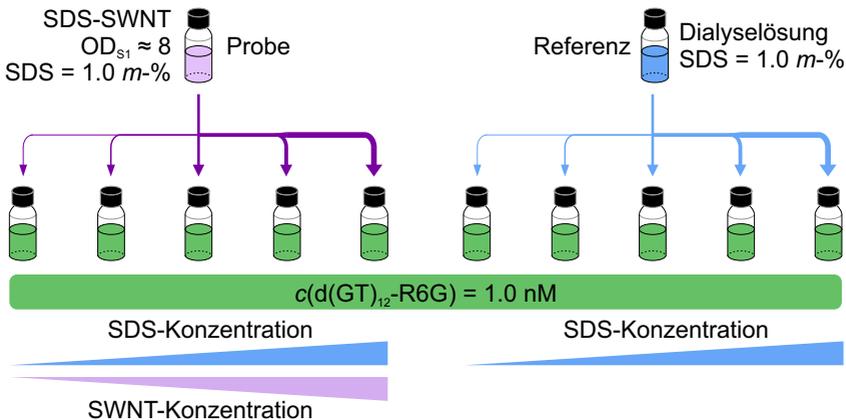
Fluorophor tragen. Eine räumliche Trennung der ungebundenen DNA-Oligomere von den auf SWNTs adsorbierten Biopolymeren, beispielsweise durch Filtration, ist daher nicht notwendig. Die Bestimmung der Konzentrationen adsorbierter und freier DNA-Oligomere in Lösung ist direkt aus der Korrelationskurve möglich, indem diese mit der Zweikomponentengleichung 2.59 (S. 48) angepasst wird. Abbildung 5.6 zeigt den erwarteten schematischen Verlauf der FCS-Korrelationskurve bei Messung reiner DNA-Oligomere (grün), reiner DNA-SWNT-Komplexe (blau) und Mischungen daraus (lila, rot, orange).



**Abbildung 5.6.** Schematische FCS-Kurven von reiner DNA, DNA-SWNT-Komplexen und deren Mischungen. Aufgrund der unterschiedlichen Diffusionszeiten freier DNA-Oligomere (grün) und auf SWNTs adsorbierter Oligomere (blau) lässt sich der Anteil  $X_{\text{DNA@SWNT}}$  adsorbierter Moleküle über FCS-Messungen bestimmen.

Die Diffusionszeit der reinen DNA (grün) kann in einer separaten FCS-Messung bestimmt werden und dann bei der Zweikomponentenanpassung der FCS-Kurve der SWNT-haltigen Lösung als fester Parameter verwendet werden. Um verwertbare FCS-Korrelationskurven zu erhalten, muss die Fluorophorkonzentration jedoch sehr gering sein. Folglich kann die DNA-Konzentration nicht beliebig variiert werden, sondern muss im Bereich um etwa 1 nM gehalten werden.<sup>[89,90]</sup> Eine analoge

Vorgehensweise zur Filtrationsmethode, bei der die DNA-Konzentration über fast drei Größenordnungen geändert wurde, ist demnach nicht möglich. Stattdessen wurde die Oligomer- und damit auch die Fluorophorkonzentration konstant bei 1.0 nM eingestellt und die Menge an zugegebenen SWNTs variiert. Anstatt der DNA-Stoffmenge wird also die zur Verfügung stehende Substratoberfläche geändert. Wenn die DNA-Stoffmenge in allen Lösungen identisch ist, bilden sich jeweils unterschiedliche Verteilungen zwischen adsorbierter und ungebundener DNA, die über FCS-Messungen bestimmt werden können. Abbildung 5.7 zeigt schematisch die Herstellung der Proben- und Referenzlösungen.



**Abbildung 5.7.** Herstellung der Proben- und Referenzlösungen für FCS-Messungen. Es wurden verschiedene Mengen dialysierter SDS-SWNT- bzw. SDS-Lösung zu Lösungen mit identischer DNA-Stoffmenge gegeben. Daraus resultieren unterschiedliche SWNT- und SDS-Konzentrationen, jedoch eine konstante DNA-Konzentration von 1.0 nM.

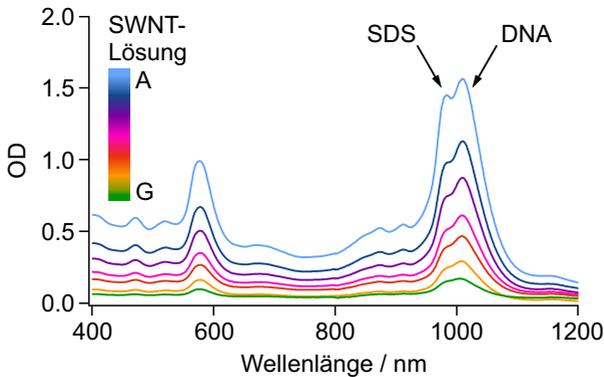
Zur Herstellung der Lösungen wurde eine DNA-Stammlösung mit einer Konzentration von 8.53 nM verwendet. Von dieser Stammlösung wurden jeweils 47  $\mu\text{L}$  mit unterschiedlichen Mengen phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) und entsprechenden Aliquoten einer SDS-SWNT-Lösung ( $\text{OD}_{\text{S}1} \approx 8$ ) gemischt, so dass 400  $\mu\text{L}$  einer 1.0 nM DNA-Lösung mit variie-

rendem SWNT- und SDS-Gehalt resultieren. Die genaue Zusammensetzung der hergestellten Lösungen ist in Tabelle 5.3 gezeigt. Das aus der DGU erhaltene SWNT-Material wurde vor der Verwendung gegen eine 1.0 m-%ige SDS-Lösung dialysiert. Die Referenzproben wurden analog zu den SWNT-haltigen Proben hergestellt, wobei anstatt der SDS-SWNT-Lösung die Dialyselösung verwendet wurde.

	d(GT) <sub>12</sub> -R6G	PBS	SDS bzw. SDS-SWNT	c(SDS)	c <sub>C</sub> (SWNT)
	[μL]	[μL]	[μL]	[m-%]	[mmol·L <sup>-1</sup> ]
A	47	203	150	0.375	0.334
B	47	253	100	0.250	0.234
C	47	278	75	0.188	0.181
D	47	303	50	0.125	0.122
E	47	315	38	0.094	0.091
F	47	328	25	0.063	0.061
G	47	340	13	0.031	0.030

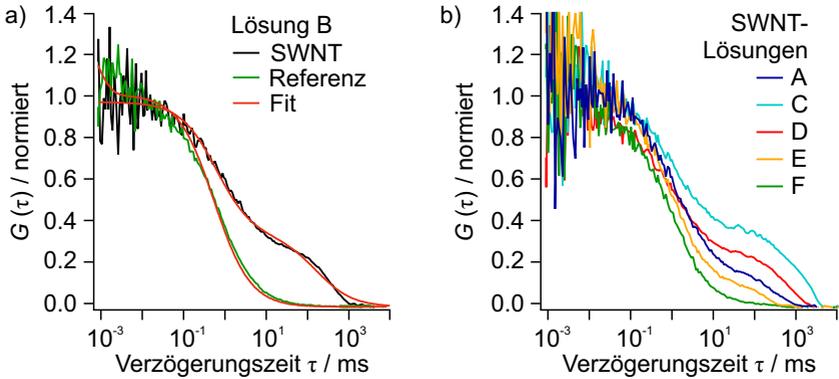
**Tabelle 5.3.** Zusammensetzung der SDS-DNA-SWNT-Lösungen für die FCS-Messungen. Die erhaltenen Lösungen A–G hatten eine identische DNA-Konzentration von 1.0 nM, jedoch variierende Konzentrationen an SWNTs und SDS. Für die Referenzproben wurde anstatt der SDS-SWNT-Lösung die verwendete Dialyselösung eingesetzt.

Um die Austauschreaktion bis zur Gleichgewichtslage ablaufen lassen zu können, wurden die angesetzten Lösungen mehrere Tage bei Raumtemperatur gelagert. Vor den FCS-Messungen wurden Absorptionsspektren der hergestellten Lösungen aufgenommen, die in Abbildung 5.8 gezeigt sind. Die Aufspaltung der S<sub>1</sub>-Absorptionsbande ist auf die beiden unterschiedlichen Dispergiermittel SDS und DNA zurückzuführen, die in den Suspensionen vorhanden sind.



**Abbildung 5.8.** Absorptionsspektren der SDS–DNA–SWNT-Lösungen A–G gemäß Tabelle 5.3 für FCS-Messungen. Aufgrund der beiden Dispergiermittel zeigt die  $S_1$ -Bande der (6,5)-SWNTs eine Aufspaltung.

Die hergestellten Lösungen wurden anschließend im FCS-Mikroskop untersucht, dessen Kalibrierung mit Rhodamin 6G erfolgte. Die Diffusionszeit des Farbstoffs betrug  $0.21 \pm 0.01$  ms mit einem sterischen Parameter  $s$  von 11.2, gleichbedeutend mit einem konfokalen Volumen von 7 fL. Die SWNT-haltigen Lösungen zeigten im Vergleich zur äquimolaren Kalibrierlösung ein relativ geringes Fluoreszenzsignal, wodurch eine relativ lange Messzeit von 15 Minuten gewählt und ebenso für die Referenzproben übernommen wurde. Dadurch konnte das Rauschen in den Korrelationskurven der SWNT-haltigen Proben minimiert werden. Die normierten FCS-Kurven der SWNT-haltigen Lösungen und der Referenzproben sind in Abbildung 5.9 gegenübergestellt. Durch die Normierung geht zwar einerseits die Ablesbarkeit der Konzentrationen der einzelnen untersuchten Spezies über den  $G(0)$ -Kehrwert verloren. Andererseits gelingt jedoch der graphische Vergleich der Zusammensetzung des Zweikomponentensystems über die relativen Ordinatenabschnitte bei der Diffusionszeit der Einzelkomponenten analog zu Abbildung 5.6.



**Abbildung 5.9.** Normierte Kreuzkorrelationskurven der SDS–DNA–SWNT-Lösungen. **a)** Die Kurve der SWNT-haltigen Probe zeigt im Vergleich zur Referenzprobe zwei Wendepunkte, korrespondierend zu zwei unterschiedlich schnell diffundierenden Spezies. **b)** Die Verteilung zwischen schneller und langsamer Komponente verhält sich nicht linear zur SWNT-Konzentration.

Die Korrelationskurven der Referenzproben wurden mit Gleichung 2.58 (S. 47) angepasst. Die ermittelten Diffusionszeiten sowie Teilchenzahlen des  $d(\text{GT})_{12}\text{-R6G}$  in den Referenzlösungen sind in Tabelle 5.4 zusammengefasst. Für die Diffusionszeiten der DNA  $\tau_{\text{D,DNA}}$  in den SDS-Referenzlösungen liegen die Werte in einem Bereich von  $0.58 \pm 0.05$  ms bis  $0.81 \pm 0.16$  ms und damit etwas höher als die Diffusionszeit von  $0.47 \pm 0.09$  ms der reinen DNA in tensidfreier PBS-Lösung. Die Differenz kann auf das Vorhandensein von SDS-Mizellen zurückgeführt werden, an welche die DNA-Oligomere anlagern können.<sup>[116,117]</sup> Ein quantitativer Einfluss der SDS-Konzentration im untersuchten Bereich von 0.031 *m*-% bis 0.375 *m*-% konnte jedoch nicht festgestellt werden. Da die Oligomer- und folglich auch die Fluorophorkonzentration in allen untersuchten Lösungen identisch war, zeigen sich für die ermittelten Teilchenzahlen der Referenzlösungen  $N_{\text{DNA}}^{\text{Ref}}$  nur geringe Schwankungen, die auf Pipettierungenauigkeiten zurückzuführen sind.

	$N_{DNA}^{Ref}$	$\tau_{D, DNA}^{Ref}$
	[ms]	
A	$6.85 \pm 0.09$	$0.58 \pm 0.05$
B	$7.70 \pm 0.15$	$0.61 \pm 0.06$
C	$7.04 \pm 0.15$	$0.73 \pm 0.07$
D	$6.63 \pm 0.09$	$0.66 \pm 0.04$
E	$6.34 \pm 0.10$	$0.55 \pm 0.05$
F	$7.64 \pm 0.23$	$0.77 \pm 0.09$
G	$9.53 \pm 0.50$	$0.81 \pm 0.16$

**Tabelle 5.4.** Ergebnisse der Anpassung der FCS-Messkurven der Referenzproben. Die Messungen wurden mit Gleichung 2.58 angepasst und die ermittelten DNA-Diffusionszeiten zur Anpassung der SWNT-haltigen Lösungen verwendet.

Ein deutlicher Unterschied im Verlauf der Korrelationskurven ist jedoch im Vergleich zu den Messungen mit SWNT-haltigen Proben in Abbildung 5.9 zu sehen. Ab SWNT-Kohlenstoffatomkonzentrationen  $c_C(\text{SWNT})$  von  $0.091 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (Lösung E) ist neben der Diffusionszeit der freien DNA bei etwa 0.7 ms noch ein zweiter Wendepunkt bei ca. 200 ms zu erkennen, der den DNA-SWNT-Komplexen und damit den adsorbierten DNA-Oligomeren zugeordnet werden kann. Um die Verteilung von adsorbierter und freier DNA zu ermitteln, erfolgte eine Anpassung der Korrelationskurven der SWNT-haltigen Proben mit der Zweikomponentengleichung 2.59 (S. 48). Die Diffusionszeit  $\tau_{D, DNA}$  der reinen DNA einschließlich ihrer Varianz wurde dabei aus den Referenzmessungen als fester Parameter übernommen. Die erhaltenen Werte der Gesamtteilchenzahl  $N_{gesamt}^{Probe}$ , der Teilchenzahl adsorbierter DNA-Oligomere  $N_{DNA@SWNT}^{Probe}$  sowie deren Diffusionszeit  $\tau_{D, DNA@SWNT}^{Probe}$  und der Anteil der DNA-SWNT-Komplexe  $X_{DNA@SWNT}$  sind in Tabelle 5.5 zusammengefasst.

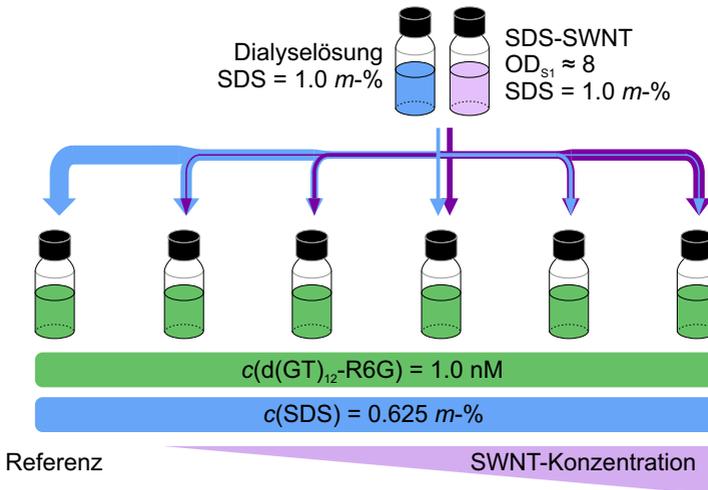
	$N_{\text{gesamt}}^{\text{Probe}}$	$N_{\text{DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$	$\tau_{\text{D, DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$	$X_{\text{DNA@SWNT}}$
			[ms]	[%]
A	$5.77 \pm 0.10$	$1.58 \pm 0.28$	$59 \pm 31$	$27 \pm 5$
B	$3.32 \pm 0.03$	$1.16 \pm 0.07$	$174 \pm 37$	$35 \pm 2$
C	$2.61 \pm 0.03$	$0.97 \pm 0.05$	$625 \pm 141$	$37 \pm 2$
D	$1.88 \pm 0.02$	$0.54 \pm 0.04$	$308 \pm 87$	$29 \pm 2$
E	$2.22 \pm 0.03$	$0.36 \pm 0.09$	$44 \pm 32$	$16 \pm 4$
F	$1.97 \pm 0.03$	$0.08 \pm 0.09$	nur freie DNA-	
G	$2.52 \pm 0.03$	$0.01 \pm 0.07$	Oligomere gemessen	

**Tabelle 5.5.** Ergebnisse der Anpassung der FCS-Messkurven der SWNT-haltigen Proben. Die Messungen wurden mit Gleichung 2.59 angepasst, wobei die Diffusionszeit der freien DNA aus den Referenzmessungen, inklusive der ermittelten Varianzen, verwendet wurde.

Bei der Betrachtung der ermittelten Teilchenzahl  $N_{\text{gesamt}}^{\text{Probe}}$  im konfokalen Volumen ist eine starke Variation festzustellen. Obgleich alle Lösungen eine identische DNA-Konzentration aufweisen, zeigen sich nach Anpassung der FCS-Messkurve stark unterschiedliche Werte, die sich nicht mehr über Pipettierungenauigkeiten erklären lassen. Die ermittelte Teilchenzahl  $N_{\text{DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$  der adsorbierten DNA-Oligomere steigt wie zu erwarten mit der SWNT-Konzentration. Der Anteil  $X_{\text{DNA@SWNT}}$  der DNA-SWNT-Komplexe an der Gesamtteilchenzahl zeigt jedoch keinen linearen Zusammenhang mit der SWNT-Konzentration.  $X_{\text{DNA@SWNT}}$  steigt zunächst mit der SWNT-Kohlenstoffatomkonzentration, erreicht bei  $c_{\text{C}} = 0.181 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  ein Maximum und fällt schließlich wieder ab. Beachtenswert sind auch die ermittelten Diffusionszeiten der DNA-SWNT-Komplexe, die über einen weiten Bereich von 44–625 ms variieren. Dies deutet darauf hin, dass die Struktur der DNA-SDS-SWNT-Komplexe stark von der jeweiligen Konzentration der beiden Dispergieradditive abhängt.

Ein Anstieg der adsorbierten DNA-Oligomere  $N_{\text{DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$  war im Rahmen des Experiments zu erwarten, da bei identischer DNA-Menge der SWNT-Gehalt erhöht wurde. Allerdings sollte diese Erhöhung mit einer reduzierten Zahl ungebundener DNA-Oligomere und einem proportionalen Anstieg von  $X_{\text{DNA@SWNT}}$  einhergehen. Da dies nicht der Fall war, wurden weitere Experimente durchgeführt, um die Ursache des beobachteten Verhaltens zu ermitteln. Die stark variierenden Teilchenzahlen  $N_{\text{gesamt}}^{\text{Probe}}$  im konfokalen Volumen könnten auf Fluoreszenzlöschungen des Fluorophors durch die Nanoröhren zurückzuführen sein.<sup>[87]</sup> Dies würde zu einer Erhöhung der detektierten Fluoreszenzfluktuationen führen und damit eine höhere Anzahl an fluoreszierenden Teilchen im Detektionsvolumen suggerieren. Allerdings würde dies auch in einer Verkürzung der beobachteten Diffusionszeit resultieren, wie in Abbildung 2.16 (S. 45) dargestellt. Obwohl dies nicht festzustellen ist, kann eine Fluoreszenzlöschung durch die SWNTs nicht ausgeschlossen werden.

Eine mögliche Erklärung des unerwarteten Verhaltens von  $X_{\text{DNA@SWNT}}$  ist auf die ansteigende SDS-Konzentration zurückzuführen, da aufgrund der Probenpräparation bei höheren SWNT-Konzentrationen auch höhere SDS-Konzentrationen vorliegen. Die SDS-Adsorption auf der SWNT-Oberfläche stellt einen Konkurrenzprozess dar und kann dazu führen, dass ein Großteil der Nanorohroberfläche mit Tensid bedeckt ist und eine weitere DNA-Adsorption dadurch verhindert wird. Um diesem Ansatz nachzugehen, wurden die Experimente mit einer konstanten SDS-Konzentration wiederholt. Die Präparation der Lösungen ist in Abbildung 5.10 schematisch dargestellt und deren genaue Zusammensetzung in Tabelle 5.6 gezeigt. Zur Herstellung wurden die gleichen SDS-SWNT-, SDS- und DNA-Lösungen verwendet wie bei der eben vorgestellten Messreihe. Da diesmal sowohl die DNA- als auch die SDS-Konzentration in allen Lösungen identisch war, wurde lediglich eine Referenzlösung mit einer SDS-Konzentration von 0.625 m-% und einer d(GT)<sub>12</sub>-R6G-Konzentration von 1.0 nM benötigt. Aus Tabel-



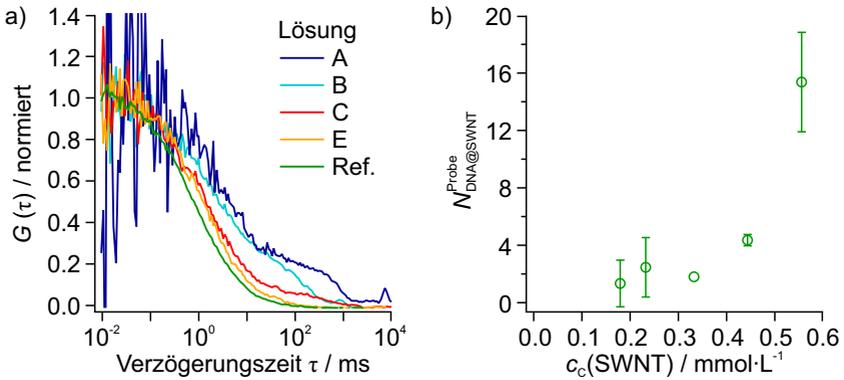
**Abbildung 5.10.** Herstellung der Proben- und Referenzlösungen für FCS-Messungen mit konstanter SDS-Konzentration. Es wurden verschiedene Mengen dialysierte SDS-SWNT- bzw. SDS-Lösung in Lösungen mit identischer DNA-Stoffmenge gegeben. Daraus resultieren unterschiedliche SWNT- jedoch konstante SDS-Konzentrationen. Die DNA-Konzentration beträgt in allen Lösungen 1.0 nM.

le 5.5 ist ersichtlich, dass bei SWNT-Kohlenstoffatomkonzentrationen von weniger als  $0.09 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  keine DNA-Adsorption festgestellt werden konnte und folglich wurden innerhalb dieser Messreihe höhere SWNT-Gehalte eingestellt. Auch diese Lösungen wurden mehrere Tage bei Raumtemperatur gelagert, ehe sie im FCS-Mikroskop untersucht wurden. Die Kalibrierung erfolgte erneut mit Rhodamin 6G, dessen Diffusionszeit  $0.25 \pm 0.03 \text{ ms}$  betrug. Mit dem ermittelten sterischen Parameter von 12.2 ergab sich ein Detektionsvolumen von 10 fL. Die normierten Kreuzkorrelationskurven der untersuchten Proben sind in Abbildung 5.11 dargestellt. Auch diese wurden mit der Zweikomponentengleichung 2.59 (S. 48) angepasst, wobei die Diffusionszeit der freien DNA von  $0.81 \pm 0.01 \text{ ms}$ , welche durch Anpassung

	d(GT) <sub>12</sub> -R6G	PBS	SDS-SWNT	SDS	c <sub>C</sub> (SWNT)
	[ $\mu\text{L}$ ]	[ $\mu\text{L}$ ]	[ $\mu\text{L}$ ]	[ $\mu\text{L}$ ]	[ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ]
A	47	103	250	0	0.557
B	47	103	200	50	0.445
C	47	103	150	100	0.334
D	47	103	100	150	0.234
E	47	103	75	175	0.181
F	47	103	55	195	0.125
G	47	103	38	212	0.094
Ref	47	103	0	250	–

**Tabelle 5.6.** Zusammensetzung der SDS–DNA–SWNT-Lösungen A–G für die FCS-Messungen mit konstanter SDS-Konzentration. Die erhaltenen Lösungen hatten eine identische DNA-Konzentration von 1.0 nM und eine konstante SDS-Konzentration von 0.625 *m*-%. Nur die SWNT-Konzentration wurde variiert. In der Referenzprobe sind keine Nanoröhren enthalten.

der FCS-Kurve der Referenzlösung erhalten wurde, als fester Parameter innerhalb der ermittelten Varianz verwendet wurde. Auch bei den FCS-Messungen mit konstanter SDS-Konzentration ist der zweistufige Verlauf der Korrelationskurven bei den Proben mit höherer SWNT-Konzentration zu finden. Allerdings steigt die SWNT-Kohlenstoffatomkonzentration, ab der die langsame Komponente sichtbar wird, von 0.091  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  auf 0.334  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Dies kann auf die vergleichsweise hohe SDS-Konzentration von 0.625 *m*-% zurückgeführt werden, da die maximale SDS-Konzentration zuvor bei lediglich 0.375 *m*-% lag. Folglich ist davon auszugehen, dass ein größerer Teil der SWNT-Oberfläche mit Tensid bedeckt ist als in der vorherigen Versuchsreihe. Des Weiteren ist auch die Diffusionszeit der adsorbierten DNA-Oligomere im Bereich von 36–87 ms deutlich geringer als in der vorherigen Versuchsreihe, obgleich das Detektionsvolumen deutlich größer war. Die aus der Anpassung er-



**Abbildung 5.11.** Normierte Kreuzkorrelationskurven der SDS–DNA–SWNT-Lösungen bei konstanter SDS-Konzentration. **a)** Bei hohen SWNT-Konzentrationen ist erneut die langsamere Diffusionszeit der DNA–SWNT-Komplexe zu erkennen. **b)** Die ermittelte Anzahl adsorbierter DNA-Moleküle steigt mit der SWNT-Kohlenstoffatomkonzentration.

haltenen Werte sind in Tabelle 5.7 zusammengefasst. Abbildung 5.11 b) zeigt den Anstieg der Zahl adsorbierter DNA-Oligomere  $N_{\text{DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$  mit der SWNT-Kohlenstoffatomkonzentration  $c_c(\text{SWNT})$ . Wie schon in der Versuchsreihe zuvor ist dieser Trend jedoch mit einem Anstieg der ermittelten Gesamtteilchenzahl  $N_{\text{gesamt}}^{\text{Probe}}$  verbunden. Zwar können erneut Fluoreszenzlöschungen des Fluorophors durch die Nanoröhren in Erwägung gezogen oder Streustrahlung der SDS-Mizellen angenommen werden, jedoch konnte die Ursache des Verhaltens letztlich nicht abschließend geklärt werden. Die Intensität des detektierten Fluoreszenzsignals zeigt keinen analogen Verlauf zur ermittelten Teilchenzahl, so dass auch Fehler bei der Probenherstellung ausgeschlossen werden können. Allgemein weisen die ermittelten Werte der FCS-Anpassung jedoch eine stärkere Varianz auf als in der vorherigen Versuchsreihe, was der schlechten Qualität der Korrelationskurven geschuldet ist und die Vermutung na-

	$N_{\text{gesamt}}^{\text{Probe}}$	$N_{\text{DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$	$\tau_{\text{D, DNA@SWNT}}^{\text{Probe}}$ [ms]	$X_{\text{DNA@SWNT}}$ [%]
A	$36.7 \pm 1.9$	$15.3 \pm 3.5$	$87 \pm 60$	$43 \pm 10$
B	$12.1 \pm 0.2$	$4.25 \pm 0.39$	$52 \pm 13$	$35 \pm 3$
C	$9.85 \pm 0.11$	$1.69 \pm 0.33$	$36 \pm 16$	$17 \pm 3$
D	$10.25 \pm 0.20$	$2.35 \pm 2.07$	$8 \pm 9$	$23 \pm 20$
E	$5.14 \pm 0.06$	$1.24 \pm 1.62$	$4 \pm 5$	$24 \pm 32$
F	nur freie DNA-			
G	Oligomere gemessen			

**Tabelle 5.7.** Ergebnisse der Anpassung der FCS-Messkurven der SWNT-haltigen Proben bei konstanter SDS-Konzentration. Die Messungen wurden mit Gleichung 2.59 angepasst und für die Diffusionszeit der freien DNA wurde der Wert von  $0.81 \pm 0.01$  ms aus der Referenzmessung verwendet.

helegt, dass der störende Einfluss durch die erhöhte SDS-Konzentration zustande kommt. Die bestimmten FCS-Parameter für die adsorbierten DNA-Oligomere in den Lösungen D und E sind mit einer extrem hohen relativen Unsicherheit behaftet, so dass sie nicht zur Analyse herangezogen werden können. Für die Lösungen A–C steigt der Anteil der adsorbierten DNA-Oligomere  $X_{\text{DNA@SWNT}}$  mit der SWNT-Konzentration. Jedoch sind auch hier sehr starke Varianzen der ermittelten Parameter zu beobachten, die in Verbindung mit der geringen Größe des Datensatzes eine quantitative Analyse ausschließen.

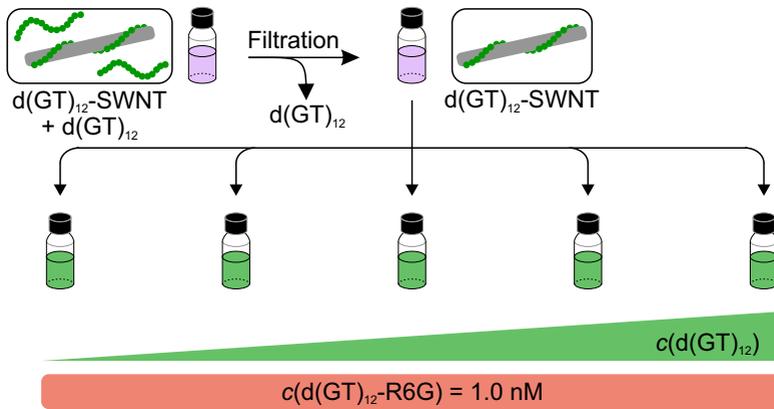
Mit den durchgeführten Austauschexperimenten konnte gezeigt werden, dass sich DNA–SWNT-Komplexe mittels FCS in Gegenwart freier DNA detektieren lassen und sich die Verteilung zwischen adsorbierter und ungebundener DNA bestimmen lässt. Die teilweise schlechte Qualität der FCS-Kurven beeinträchtigt allerdings die Analyse des Adsorptionsverhaltens der DNA-Oligomere. Da die Effekte mit Anstieg der SDS-Konzentration in der zweiten Messreihe deutlich ausgeprägter sind, ist

dies möglicherweise auf die Streustrahlung der SDS-Mizellen zurückzuführen. Der nur schwierig abzuschätzende Einfluss der Tenside auf das Adsorptionsverhalten der Biopolymere erschwert die Analyse zusätzlich und macht die Notwendigkeit deutlich, reine DNA–SWNT-Komplexe zu untersuchen.

## **5.2 DNA–SWNT-Komplexe**

Zur Untersuchung reiner DNA–SWNT-Komplexe mittels Fluoreszenzkorrelationspektroskopie müssen zwei gegenläufige Bedingungen erfüllt werden. Einerseits muss für FCS-Messungen die Fluorophor- und damit auch die DNA-Konzentration im nanomolaren Bereich liegen, um verwertbare Korrelationskurven zu erhalten. Andererseits muss die Konzentration des Dispergiermittels hoch genug sein, um ausreichende Mengen an Kohlenstoffnanoröhren zu stabilisieren. Ein Ausweg liegt im Einsatz von Gemischen aus farbstoffmarkierten und unmarkierten DNA-Oligomeren. Dadurch kann die Konzentration des Dispergiermittels gesteigert werden, ohne gleichzeitig die Fluorophorkonzentration erhöhen zu müssen. Zwar werden nur die farbstoffmarkierten Oligomere über die FCS-Messung detektiert, allerdings lassen sich die ermittelten Konzentrationen unter Kenntnis der Mischungsverhältnisse auf die DNA-Gesamtkonzentration umrechnen, wenn ein identisches Adsorptionsverhalten der R6G-markierten und unmarkierten Oligomere vorausgesetzt wird. Für die im Folgenden beschriebenen Experimente wurden Mischungen aus  $d(GT)_{12}$ -R6G und  $d(GT)_{12}$  verwendet. Die Konzentration der farbstoffmarkierten DNA-Oligomere war dabei stets 1.0 nM. Das experimentelle Vorgehen zur Herstellung der Lösungen ist in Abbildung 5.12 gezeigt.

Die Präparation der DNA–SWNT-Komplexe und deren Filtration erfolgten gemäß dem in Kapitel 4.1.2 beschriebenen Vorgehen. Allerdings wur-



**Abbildung 5.12.** Herstellung der DNA-Lösungen für FCS-Messungen. Das DGU-Material wurde abfiltriert und die DNA-SWNT-Komplexe in Lösungen mit jeweils verschiedener  $d(GT)_{12}$ -Konzentration resuspendiert. Die Konzentration an R6G-markierter DNA war stets 1.0 nM.

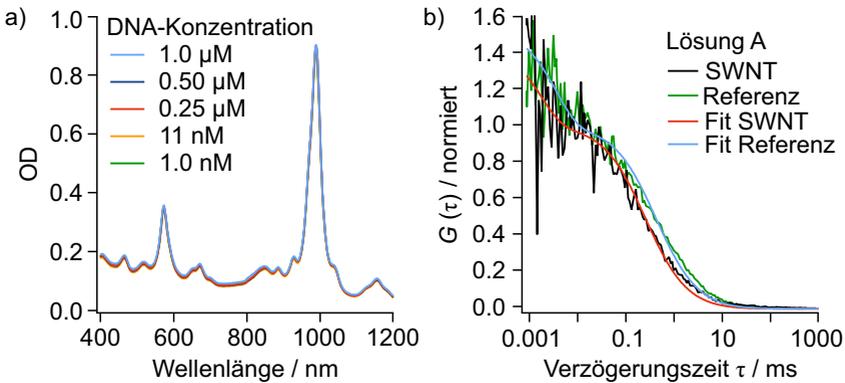
den für den DGU-Prozess  $d(GT)_{12}$ -Oligomere ohne Farbstoffmarkierung verwendet. Die DNA-SWNT-Komplexe wurden nach der Filtration nicht eingefroren, sondern umgehend aliquotiert und in die entsprechenden DNA-Lösungen transferiert. Die so erhaltenen Lösungen hatten eine konstante Konzentration an R6G-markierter DNA von 1.0 nM, allerdings unterschiedliche Mengen unmarkierter Oligomere. Dadurch konnte ein DNA-Konzentrationsbereich von 1.0 nM bis 1.0  $\mu$ M abgedeckt werden. Zur Herstellung der Referenzproben wurde zu den Mischungen aus R6G-markierter und unmarkierter DNA anstatt der filtrierten DNA-SWNT-Komplexe die entsprechende Menge PBS-Lösung zugegeben. Die genaue Zusammensetzung der Lösungen ist in Tabelle 5.8 gezeigt.

Die hergestellten Lösungen wurden drei Tage bei Raumtemperatur gelagert, um einen Austausch zwischen unmarkierter und R6G-markierter DNA auf der Nanorohroberfläche zu ermöglichen. Vor der FCS-Messung wurden die Absorptionsspektren der Proben aufgenommen. Diese sind, zusammen mit einer normierten Korrelationskurve von Referenzprobe

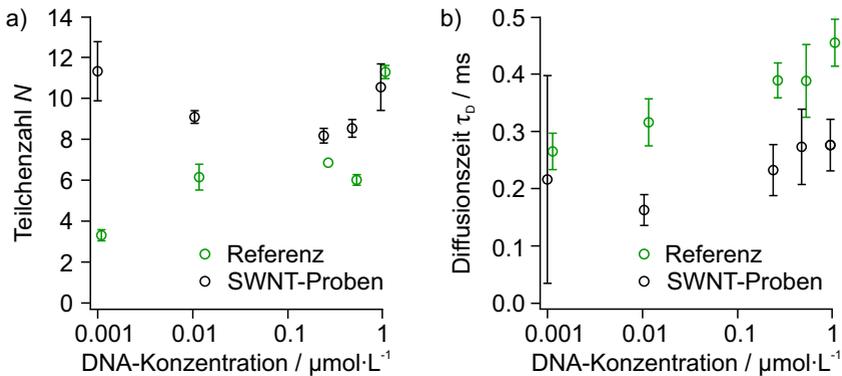
	$c(\text{d(GT)}_{12}\text{-R6G})$ [nmol·L <sup>-1</sup> ]	$c(\text{d(GT)}_{12})$ [μmol·L <sup>-1</sup> ]	$c_{\text{C}}(\text{SWNT})$ [mmol·L <sup>-1</sup> ]
A	1.0	1.0	0.145
B	1.0	0.50	0.145
C	1.0	0.25	0.145
D	1.0	0.01	0.145
E	1.0	–	0.145

**Tabelle 5.8.** Zusammensetzung der DNA-SWNT-Lösungen. Nach Zugabe der filtrierten DNA-SWNT-Komplexe hatten die erhaltenen Lösungen eine identische DNA-R6G-Konzentration von 1.0 nM und eine variierende DNA-Gesamtkonzentration. Bei den Referenzproben wurde anstatt der SWNT-Lösung die entsprechende Menge PBS-Lösung zugegeben.

und SWNT-haltiger Probe, in Abbildung 5.13 gezeigt. Die Absorptionsspektren in Teil a) zeigen, dass die SWNT-Konzentration in den untersuchten Lösungen nahezu identisch war und auch in den Lösungen mit niedriger DNA-Gesamtkonzentration keine Aggregation der Nanoröhren festzustellen ist, die sich in einer Verbreiterung und Rotverschiebung der  $S_1$ -Absorptionsbande bei 990 nm zeigen würde. Vor der FCS-Messreihe wurde die Kalibrierung mit einer 1.0 nM R6G-Lösung durchgeführt und die Diffusionszeit des Farbstoffs zu  $0.20 \pm 0.03$  ms bestimmt. Aus dem erhaltenen sterischen Parameter von 5.82 ergibt sich ein konfokales Volumen von 3 fL. Abbildung 5.13 b) zeigt beispielhaft die normierten Korrelationskurven der Konzentrationsstufe A für die Referenzlösung und die SWNT-haltige Lösung. Im Gegensatz zu den Austauschexperimenten kann bei reinen DNA-SWNT-Komplexen keine zweite Komponente in der FCS-Kurve beobachtet werden, die den adsorbierten DNA-Oligomeren zuzuordnen wäre. Daher wurden alle Korrelationskurven mit Gleichung 2.58 (S. 47) angepasst und auf eine Zweikomponentenanpassung verzichtet. In Abbildung 5.14 sind die Ergebnisse der Anpassung für die ermittelten Teilchenzahlen und Diffusionszeiten gezeigt.



**Abbildung 5.13.** Absorptionsspektren und FCS-Kurven reiner DNA-SWNT-Komplexe. **a)** Eine SWNT-Aggregation bei niedrigen DNA-Konzentrationen kann in den Absorptionsspektren nicht beobachtet werden. **b)** Die Korrelationskurven zeigen nur einen geringen Unterschied zwischen SWNT-haltiger und Referenzprobe.



**Abbildung 5.14.** Ermittelte Teilchenzahlen und Diffusionszeiten aus FCS-Messungen an DNA-SWNT-Komplexen in Abhängigkeit der DNA-Konzentration. **a)** Die ermittelten Teilchenzahlen variieren in einem großen Bereich. **b)** Die SWNT-haltigen Proben zeigen kürzere Diffusionszeiten als die Referenzproben.

Die ermittelten Teilchenzahlen in Abbildung 5.14 a) zeigen, wie bereits bei den Austauschexperimenten, starke Abweichungen zwischen Referenzprobe und SWNT-haltiger Probe, obgleich die Konzentration farbstoffmarkierter DNA-Oligomere in beiden Lösungen identisch ist. Für eine 1.0 nM Lösung wären bei einem 3 fL großen Detektionsvolumen Teilchenzahlen von 1.81 zu erwarten, wie sie mit  $1.36 \pm 0.03$  bei der Kalibrierung in etwa erreicht werden.<sup>†</sup> Die erhöhten Teilchenzahlen können auf Fluoreszenzlöschungen des Rhodamins zurückgeführt werden, wodurch die Fluktuationen in der detektierten Fluoreszenzintensität verstärkt werden und bei der Interpretation der Korrelationskurve eine erhöhte Teilchenzahl suggerieren. Die Annahme von Fluoreszenzlöschungen steht auch im Einklang mit den ermittelten niedrigeren Diffusionszeiten der R6G-markierten DNA-Oligomere in den SWNT-haltigen Lösungen. Als Löschzentren kommen zum einen die Kohlenstoffnanoröhren und zum anderen die unmarkierten  $d(\text{GT})_{12}$ -Oligomere in Frage, da sowohl für SWNTs als auch für die Nukleinbase Guanin eine deutliche Fluoreszenzlöschung des Rhodamins nachgewiesen werden konnte.<sup>[87,118]</sup> Die Fluoreszenzlöschung des Farbstoffmarkers kann also im adsorbierten Zustand durch die SWNTs, im ungebundenen Zustand jedoch auch durch Stöße mit anderen  $d(\text{GT})_n$ -Oligomeren erfolgen.

Abbildung 5.14 b) zeigt die aus der Anpassung erhaltenen Diffusionszeiten. Besonders auffallend ist, dass die ermittelten Diffusionszeiten der SWNT-haltigen Lösungen allesamt kürzer sind als die der entsprechenden Referenzlösungen. Teilweise liegen die Werte unterhalb der Diffusionszeit des Farbstoffs Rhodamin 6G, dessen molare Masse mit  $479.02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  drei Größenordnungen geringer ist als der für DNA-SWNT-Komplexe abgeschätzte Wert von  $400 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Gemäß den Gleichungen 2.57 und 2.60 (S. 47 und S. 49) sollten sich die Diffusionszeiten aufgrund der Massendifferenz um mehr als eine Größenordnung un-

<sup>†</sup> Aufgrund der Adsorption des Farbstoffs an die Deckglasoberfläche ist die mittels FCS beobachtete Konzentration für gewöhnlich geringer als die berechnete Konzentration der Lösung.

terscheiden. Die Tatsache, dass die bei den Austauschexperimenten beobachtete langsamere Komponente überhaupt nicht auftritt, kann zwei Gründe haben. Einerseits wäre denkbar, dass die Fluoreszenz des Farbstoffs von der SWNT komplett gelöscht wird und folglich kein Signal der DNA–SWNT-Komplexe detektiert wird. Zwar ist eine Fluoreszenzlöschung des Rhodamins und einiger anderer Farbstoff durch Kohlenstoffnanoröhren bekannt, allerdings erfolgt erst bei sehr hohen SWNT-Kohlenstoffatomkonzentrationen von  $c_C(\text{SWNT}) > 7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  eine annähernd komplette Fluoreszenzlöschung.<sup>[87]</sup> Außerdem hätte dies auch bei den Austauschexperimenten beobachtet werden müssen. Andererseits lässt sich das Fehlen der langsamen Komponente auch damit erklären, dass die unmarkierten DNA-Oligomere eine höhere Adsorptionsneigung als die farbstoffmarkierten Oligomere zeigen, da der Fluoreszenzfarbstoff die Adsorption möglicherweise behindert und folglich kein detektierbarer Austausch auf der Nanoröhroberfläche stattfindet. Gerade bei hohen Konzentrationen würde dieser Effekt zum Tragen kommen. Weitere Evidenz erhält die Hypothese dadurch, dass die Diffusionszeiten von SWNT-haltiger und Referenzprobe bei der niedrigsten DNA-Konzentration noch am ehesten das erwartete Verhalten zeigen, da die Werte innerhalb der Varianzen zumindest gleich sind. Folglich kann davon ausgegangen werden, dass der Austausch von unmarkierter und R6G-markierter DNA nur unzureichend erfolgt ist.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Untersuchung reiner DNA–SWNT-Komplexe mittels FCS-Mikroskopie aufgrund von Fluoreszenzlöschungen des Fluorophors durch die Nanoröhren und die Nukleinbase Guanin negativ beeinträchtigt wurden. Der Überschuss an unmarkierten Oligomeren unterband jedoch die Adsorption der farbstoffmarkierten Biopolymere und verhinderte letztlich die Analyse des Adsorptionsverhaltens reiner DNA–SWNT-Komplexe.

## 5.3 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurden eine Filtrationsmethode und die Fluoreszenzkorrelationspektroskopie zur Bestimmung des Adsorptionsverhaltens verschiedener DNA-Oligomere auf Kohlenstoffnanoröhren eingesetzt, um ausgehend von Austauschexperimenten mit tensidstabilisierten Nanoröhren reine DNA–SWNT-Komplexe zu untersuchen. Dabei konnte gezeigt werden, dass das helikale Adsorptionsmodell die Adsorption nur unzureichend beschreiben kann.

Mit den vorgestellten Filtrationsexperimenten wurde die maximal adsorbierte DNA-Stoffmenge  $n_\infty$  sowie die Gleichgewichtskonstante  $K_{\text{eq}}$  in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl bestimmt. Zwar sind die ermittelten Unsicherheiten der Werte aufgrund der Adsorption der DNA-Oligomere auf die verwendete Filtermembran relativ hoch, dennoch ließen sich aus den Ergebnissen der Methode wichtige Rückschlüsse auf die Adsorptionskonformation der Biopolymere ziehen. Beim helikalen Adsorptionsmodell wäre davon auszugehen, dass sich  $n_\infty$  umgekehrt proportional zur Oligomerlänge verhält. Allerdings konnten bei den durchgeführten Experimenten nur geringe Unterschiede zwischen den  $d(\text{GT})_n$ -FAM-Oligomeren ( $n = 12, 16, 20$ ) festgestellt werden. Des Weiteren sind die ermittelten, maximal adsorbierten Stoffmengen deutlich größer als aufgrund geometrischer Überlegungen unter Annahme einer helikalen Adsorption zu erwarten wäre. Stattdessen wurde eine Adsorption mit *tail*- und *train*-Segmenten vorgeschlagen, wie sie für Polymere üblich ist. Die Länge des adsorbierten *train*-Segments konnte auf drei bis sechs Nukleinbasen bestimmt werden.<sup>[39,43]</sup>

Um keinen Einschränkungen durch den Filtrationsvorgang zu unterliegen, wurde die Fluoreszenzkorrelationspektroskopie eingesetzt, wodurch eine räumliche Trennung adsorbierter und freier DNA hinfällig wurde. Durch Experimente an DNA–SDS–SWNT-Komplexen konnte

gezeigt werden, dass sich auf den SWNTs adsorbierte DNA-Oligomere in Gegenwart freier DNA mittels FCS detektieren lassen und deren Verhältnis bestimmt werden kann. Die Einflüsse des zusätzlichen Dispergiermittels auf die Korrelationskurven und das DNA-Adsorptionsverhalten ließen jedoch keine quantitative Analyse zu, sondern zeigten die Notwendigkeit auf, reine DNA-SWNT-Komplexe zu untersuchen. Auch dies wurde mit FCS-Messungen bewerkstelligt. Um einen ausreichend großen Konzentrationsbereich einzubeziehen, wurden Mischungen aus unmarkierten und Rhodamin 6G-markierten d(GT)<sub>12</sub>-Oligomeren eingesetzt. Es konnte dabei keine Adsorption der markierten Oligomere detektiert werden, da die unmarkierten DNA-Oligomere aufgrund der deutlich höheren Konzentrationen eine stärkere Adsorptionsneigung zeigten.

Die vorgestellten Ergebnisse legen dar, dass sich auch mit der präparativ einfachen Filtrationsmethode wichtige Rückschlüsse auf die Adsorptionskonformation der DNA-Oligomere auf Kohlenstoffnanoröhren ziehen lassen. Durch Einsatz der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie konnte zwar auf eine räumliche Trennung von adsorbierter und ungebundener DNA verzichtet werden. Jedoch ließen die Ergebnisse keine zuverlässigen Rückschlüsse auf das Adsorptionsverhalten der Biopolymere zu, da neben den fluoreszenzmarkierten Oligomeren stets der Einsatz eines zusätzlichen Dispergiermittels in Form von Tensiden oder unmarkierter DNA erforderlich war, welches das Adsorptionsverhalten der markierten Oligomere beeinflusste. Im folgenden Kapitel wird daher eine Konzentrationssprungmethode vorgestellt, bei der ausschließlich farbstoffmarkierte DNA-Oligomere zum Einsatz kommen und deren Ergebnisse die infolge der Filtrationsmethode gezogenen Rückschlüsse auf die DNA-Adsorptionskonformation bestätigen.

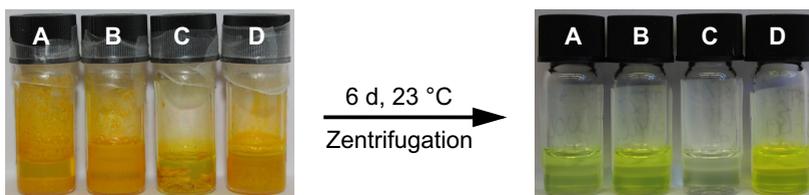
# 6 Desorptionskinetik von F8T2 und DNA

In diesem Kapitel werden die durchgeführten Experimente zur Analyse des Desorptionsverhaltens von DNA-Oligomeren und dem Poly-[(9,9-dioctylfluorenyl-2,7-diyl)-co-bithiophen] (F8T2) von Kohlenstoffnanorohroberflächen erläutert sowie deren Ergebnisse diskutiert. Im Anschluss daran wird gezeigt, dass die untersuchten Prozesse nicht diffusionslimitiert sind, ehe die Ursache der beobachteten Enthalpie-Entropie-Korrelation geklärt wird.

## 6.1 Bestimmung der Löslichkeit von F8T2

Bereits in Kapitel 2.1.2 wurde die zentrale Rolle der Löslichkeit eines Polymers im entsprechenden Solvens beschrieben. Da der Transfer eines Polymers vom Festkörper in den gelösten Zustand sehr ähnlich dem Übergang vom adsorbierten in den ungebundenen Zustand ist, ist auch für die Desorption ein erheblicher Einfluss des verwendeten Solvens zu erwarten. Im Rahmen der Arbeit sollten daher Lösemittel unterschiedlicher Güte zum Einsatz kommen, um die prognostizierten Effekte zu quantifizieren. Daher wurde zunächst für Methylcyclohexan (99 %, Grüssing GmbH Analytika), Toluol (AnalaR NORMAPUR®ACS, VWR International), *ortho*-Xylol und Chlorbenzol (beide zur Synthese, Merck

KGaA) die Löslichkeit des Polymers bestimmt. Für alle Solvenzien wurden F8T2-Suspensionen mit einer Konzentration von  $4.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  hergestellt, die anschließend für sechs Tage bei etwa 200 Umdrehungen pro Minute geschüttelt wurden (MS1 Minishaker, IKA®). In Abbildung 6.1 ist zu sehen, dass sich das Polymer in keinem Lösemittel komplett gelöst hat und folglich gesättigte Lösungen vorliegen.

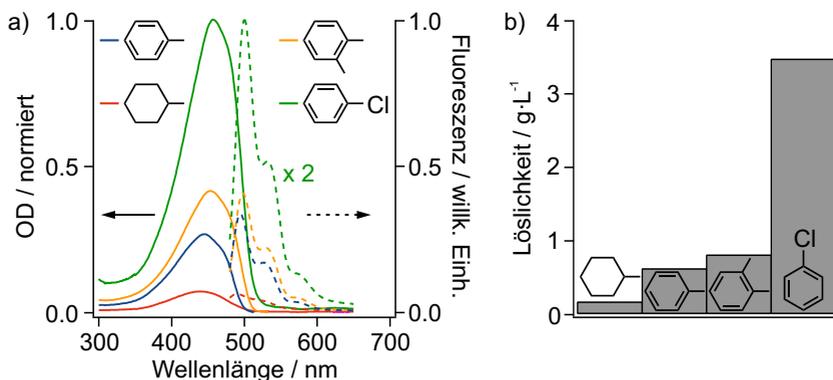


**A:** Toluol; **B:** *ortho*-Xylol; **C:** Methylcyclohexan; **D:** Chlorbenzol

**Abbildung 6.1.** Suspensionen zur Bestimmung der Löslichkeit von F8T2 vor und nach der Zentrifugation. Die Lösungen auf der rechten Seite wurden nach der Zentrifugation um den Faktor 100 verdünnt.

Die Suspensionen wurden im Anschluss für drei Minuten bei 14000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Biofuge15, Heraeus Sepatech), um ungelöste Anteile abzutrennen. Der Überstand wurde abdekantiert, 100-fach verdünnt und die F8T2-Konzentration mittels Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie (Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{ex}} = 470 \text{ nm}$ ) bestimmt. Abbildung 6.2 a) zeigt die entsprechenden Absorptions- und Fluoreszenzspektren. Die Kalibrierung erfolgte mit Maßlösungen des Polymers in den entsprechenden Lösemitteln. Zur Berechnung der F8T2-Konzentrationen wurde das Integral im Bereich von 300–600 nm im Falle der Absorptionsspektren und von 480–650 nm im Falle der Fluoreszenzspektren herangezogen. Die Löslichkeit, welche in Abbildung 6.2 b) gezeigt ist, ergibt sich dann aus der arithmetischen Mittelung der beiden Werte. Die höchste Löslichkeit zeigt Chlorbenzol (grün) mit  $3.48 \pm 0.31 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , gefolgt von *ortho*-Xylol (orange) mit  $0.82 \pm 0.02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  und Toluol (blau) mit  $0.63 \pm 0.09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Die mit Abstand geringste Lös-

lichkeit wird mit  $0.18 \pm 0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  für Methylcyclohexan (rot) gefunden. Alle untersuchten Lösemittel wurden für die Verdünnungsexperimente eingesetzt, die im nächsten Abschnitt beschrieben werden.



**Abbildung 6.2.** Absorptions- und Fluoreszenzspektren zur Bestimmung der Löslichkeit von F8T2. **a)** Die Spektren der gesättigten F8T2-Lösungen in den untersuchten Solvenzien. Die Daten des Chlorbenzols wurden für die Abbildung mit dem Faktor 0.5 multipliziert. **b)** Die Löslichkeit ergibt sich aus Mittelung der über Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie bestimmten Werte.

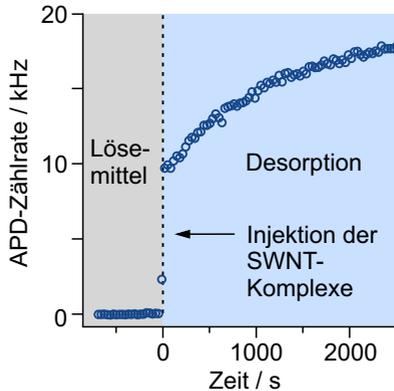
## 6.2 Verdünnungsexperimente

Die Präparation der F8T2-SWNT-Komplexe erfolgte gemäß der in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Methode. Bei den DNA-SWNT-Verdünnungsexperimenten kamen unterschiedlich lange  $d(\text{GT})_n$ -FAM-Oligomere ( $n = 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20$ ) zum Einsatz, um den Einfluss der Nukleinsäurezahl auf das Desorptionsverhalten zu untersuchen. Um auch die Wirkung der Basensequenz zu bestimmen, wurde zusätzlich die (6,5)-SWNT-Erkennungssequenz  $d(\text{TAT})_4$ -FAM untersucht.<sup>[15]</sup> Alle DNA-Oligomere waren am 5'-Ende mit dem Fluoreszenzfarbstoff

6-Carboxyfluorescein (FAM) markiert. Die Präparation der DNA–SWNT-Komplexe erfolgte durch die in Kapitel 4.1.2 beschriebene Dichtegradientenultrazentrifugation (DGU). Lediglich für das  $d(\text{GT})_2$ -FAM konnten auf diesem Weg keine individualisierten Komplexe isoliert werden. Daher wurde die Nanorohrrußlösung nach der Ultraschallbehandlung für 90 Minuten bei 14000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Biofuge15, Heraeus Sepatech) und der Überstand verwendet, dessen Absorptionsspektrum in Abbildung A.7 (S. 178) zu sehen ist.

Die durchgeführten Verdünnungsexperimente erfolgten ausnahmslos an dem in Kapitel 4.3 beschriebenen Fluoreszenzmikroskop (Abbildung 4.6, S. 73). Für die Messungen wurden 3.0 mL des entsprechenden Solvens in einer Quarzglasküvette (Typ 111-QS 10 x 10 mm, Hellma<sup>®</sup>) vorgelegt und diese im temperierbaren Küvettenhalter platziert. Als Lösemittel wurden für die Verdünnungsexperimente mit DNA–SWNT-Komplexen phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) eingesetzt und für die F8T2–SWNT-Komplexe Chlorbenzol, *ortho*-Xylol, Toluol sowie Methylcyclohexan. Nachdem das Lösemittel die gewünschte Temperatur erreicht hatte, wurde die Datenaufnahme gestartet. Als Anregungslicht wurde die 488 nm-Linie eines Argonionenlasers verwendet und die Fluoreszenzintensität mit einer Lawinenphotodiode (APD) im Einzelphotonen-Zählmodus im Abstand von zwei Sekunden detektiert. Die eingefrorenen, filtrierten DNA–SWNT-Komplexe wurden für 20 Sekunden bei 100 °C und 40 Sekunden bei Raumtemperatur aufgetaut und im Anschluss daran 150 µL der Suspension in die temperierte Küvette mit der PBS-Lösung transferiert. Im Falle der F8T2–SWNT-Komplexe wurde die filtrierte Lösung aus dem Kühlschrank entnommen und 10 µL dieser Lösung in das temperierte Lösemittel injiziert. Aufgrund der hohen Wärmekapazität von Küvette und Solvens kann davon ausgegangen werden, dass sich das thermische Gleichgewicht nach der Injektion in weniger als einer Sekunde einstellt. Abbildung 6.3 zeigt exemplarisch

den Verlauf der detektierten Fluoreszenzintensität für die Verdünnung von  $d(GT)_{12}$ -FAM-SWNT-Komplexen bei 45 °C. Das detektierte Signal bei Verdünnung der F8T2-SWNT-Komplexe verlief analog.



**Abbildung 6.3.** Verlauf der detektierten Fluoreszenzintensität beim Verdünnen der filtrierten DNA-SWNT-Komplexe. Nach dem Einbringen der Komplexe beginnen die DNA-Oligomere von der Nanoröhroberfläche zu desorbieren, was über den Anstieg der APD-Zählrate verfolgt werden kann.

Zu Beginn der Messung bei  $t < 0$  befindet sich nur das Lösemittel in der Küvette und die detektierte Fluoreszenzintensität ist dementsprechend null. Bei  $t = 0$  wurde die filtrierte und aufgetaute Lösung der DNA-SWNT-Komplexe in die Zelle eingebracht, was aufgrund des damit eingeführten Farbstoffs einen sprunghaften Anstieg der Fluoreszenzintensität verursacht. Infolge der Verdünnung der Komplexe um eine bzw. zwei Größenordnungen beginnen die adsorbierten (Bio-)Polymere von der SWNT-Oberfläche zu desorbieren, wodurch die Fluoreszenzlöschung durch die Nanoröhren nachlässt und die Desorption über den Anstieg der detektierten Fluoreszenzintensität für  $t > 0$  verfolgt werden kann. Die Experimente wurden in einem Temperaturbereich von 15 °C bis 55 °C in 10 °C-Schritten durchgeführt, wobei im Falle der Verdünnung der F8T2-Komplexe in Chlorbenzol aufgrund der schnellen Desorption

ein Bereich von 5 °C bis 45 °C gewählt wurde. Die Messung der Temperatur erfolgte vor und nach jeder Messung für jeweils 30 Sekunden mit einem Thermoelement (K219 4315, RS; NI USB-TC01, National Instruments). Während der Messung blieb die Küvette verschlossen, um Konzentrationsänderungen durch Verdampfung des Solvens zu vermeiden.

Zur weiteren Analyse der Daten muss die zu Beginn der Verdünnung adsorbierte Stoffmenge an DNA bzw. F8T2 bekannt sein. Im Falle von F8T2 ließ sich die Konzentration des Polymers aus dem Absorptionsspektrum der filtrierten F8T2–SWNT-Lösung über das Integral der gemessenen F8T2-Absorptionsbande im Bereich von 375 nm bis 545 nm ermitteln. Die spektroskopische Bestimmung der DNA-Konzentration über die UV-Absorptionsbande der Nukleinbasen bei 245 nm war jedoch nicht möglich, da deren Intensität aufgrund der relativ niedrigen DNA-Konzentrationen in den filtrierten DNA–SWNT-Lösungen sehr stark durch die Absorption des Hintergrunds beeinflusst war. Stattdessen wurde ein Aliquot der filtrierten DNA–SWNT-Lösung nach dem Auftauen in 3.0 mL PBS-Lösung verdünnt, wodurch die adsorbierte DNA von der Nanorohroberfläche desorbiert. Diese Lösung wurde nach etwa 24 h gemäß Abbildung 4.4 (S. 69) nochmals filtriert und das Retentat, welches die DNA–SWNT-Komplexe enthält, erneut in 3.0 mL PBS-Lösung resuspendiert. Die DNA-Konzentration im Filtrat wurde über die Fluoreszenzintensität des Farbstoffmarkers der Oligomere bestimmt. Der Zyklus aus Verdünnung, Filtration und Resuspension wurde so lange wiederholt, bis im Filtrat keine Fluoreszenz des Farbstoffs mehr detektiert werden konnte. Die Stoffmenge der anfänglich adsorbierten DNA wurde dann durch Aufsummieren der DNA-Stoffmengen in den einzelnen Filtraten berechnet. Aufgrund des beschriebenen Filtrations- und Auftauprotokolls wurden für jede Messreihe elf identische Aliquote hergestellt und so konnte die ermittelte DNA-Stoffmenge zur Analyse aller Messungen des entsprechenden Oligomers genutzt werden.

## 6.3 Analyse der Daten

Bei den durchgeführten Experimenten wird eine sich zeitlich ändernde Fluoreszenzintensität gemessen. Um Aussagen über die Kinetik der Desorption der (Bio-)Polymere zu treffen, muss die detektierte Fluoreszenzintensität zunächst in einen Bedeckungsgrad übersetzt werden. Die zeitliche Änderung des Bedeckungsgrads lässt sich mit der Langmuir-Gleichung 2.31 (S. 22) beschreiben, um die Ratenkonstanten der Adsorption und Desorption sowie die Gleichgewichtskonstante zu erhalten, aus denen sich letztlich über die Eyring- und van't Hoff-Gleichung die enthalpischen und entropischen Beiträge zur Adsorption und Desorption bestimmen lassen. Dieser Abschnitt beschäftigt sich mit den für die Analyse der Daten notwendigen Gleichungen und Überlegungen.

### 6.3.1 Berechnung des Bedeckungsgrads aus der Fluoreszenzintensität

Abbildung 6.3 zeigt die detektierte Fluoreszenzintensität, welche in einen Bedeckungsgrad der Nanorohroberfläche umgerechnet werden kann. Das gemessene Fluoreszenzsignal  $I(t)$  setzt sich aus der Fluoreszenz der adsorbierten und der freien (Bio-)Polymere,  $I_{\text{ads}}(t)$  und  $I_{\text{frei}}(t)$ , zusammen.

$$I(t) = I_{\text{ads}}(t) + I_{\text{frei}}(t) \quad (6.1)$$

Die einzelnen Signalbeiträge hängen wiederum von den Konzentrationen der adsorbierten Moleküle  $c_{\text{ads}}$  bzw. der freien Moleküle  $c_{\text{frei}}$  und einer Konstante  $a$  ab, die die Helligkeit des verwendeten Fluorophors pro Stoffmenge bei der entsprechenden Temperatur der Lösung sowie der

Leistung des Anregungslichts wiedergibt. Sie wird aus der Kalibrierung des Aufbaus mit entsprechenden Maßlösungen erhalten. Da die Fluoreszenz des Fluorophors im adsorbierten Zustand von den Nanoröhren gelöscht wird, muss noch der Löschfaktor  $Q$  berücksichtigt werden. <sup>[31,86–88]</sup>

$$I(t) = aQc_{\text{ads}}(t) + ac_{\text{frei}}(t) \quad (6.2)$$

Aufgrund der Filtration und anschließenden Resuspension in reinem Lösemittel kann davon ausgegangen werden, dass die Konzentration freier (Bio-)Polymere  $c_{\text{frei}}$  für  $t = 0$  annähernd null ist. Gleichung 6.2 vereinfacht sich dann:

$$I(0) = aQc_{\text{ads}}(0) \quad (6.3)$$

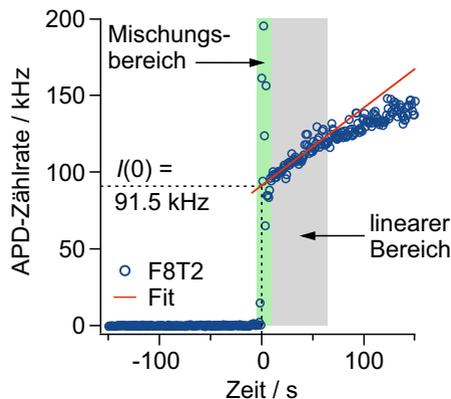
Die anfänglich adsorbierte Konzentration  $c_{\text{ads}}(0)$  wurde experimentell bestimmt und die bei  $t = 0$  gemessene Fluoreszenzintensität  $I(0)$  ist ebenso experimentell zugänglich. Da ein geschlossenes System betrachtet wird, stellt  $c_{\text{ads}}(0)$  gleichzeitig die vorhandene Gesamtkonzentration dar.

$$c_{\text{ads}}(0) = c_{\text{ads}}(t) + c_{\text{frei}}(t) \quad (6.4)$$

Formt man Gleichung 6.3 nach  $Q$  um und setzt sie zusammen mit Gleichung 6.4 in Gleichung 6.2 ein, so wird ein Ausdruck erhalten, der neben der zeitlich variierenden Konzentration adsorbierter Moleküle  $c_{\text{ads}}(t)$  nur experimentell zugängliche Größen enthält.

$$c_{\text{ads}}(t) = \{I(t) - ac_{\text{ads}}(0)\} \cdot \left\{ \frac{I(0)}{c_{\text{ads}}(0)} - a \right\}^{-1} \quad (6.5)$$

Mit Gleichung 6.5 kann aus der detektierten Fluoreszenzintensität  $I(t)$ , der Konzentration der anfänglich adsorbierten Moleküle  $c_{\text{ads}}(0)$  und dem aus der Kalibrierung erhaltenen Parameter  $a$  über die für  $t = 0$  detektierte Fluoreszenzintensität  $I(0)$  die Konzentration adsorbierter (Bio-)Polymere zum Zeitpunkt  $t$  berechnet werden. Die Bestimmung der Fluoreszenzintensität bei  $t = 0$  ist jedoch teilweise schwierig. Abbildung 6.4 zeigt exemplarisch den Verlauf der Fluoreszenzintensität bei  $t = 0$  für die Verdünnung von F8T2–SWNT-Komplexen in Chlorbenzol bei 35 °C. Der erste Messwert der Fluoreszenzintensität nach Injektion der filtrierten (Bio-)Polymer–SWNT-Komplexe stellt eigentlich den Wert von  $I(0)$  dar, jedoch sind aufgrund der Durchmischung der Lösungen im Bereich von  $t \cong 0$  teilweise starke Fluktuationen des Fluoreszenzsignals zu beobachten. Stattdessen wurde demnach der nachfolgende Anstieg der Fluoreszenzintensität mit einer linearen Gleichung angepasst und dann  $I(0)$  durch Extrapolation auf  $t = 0$  bestimmt.



**Abbildung 6.4.** Bestimmung von  $I(0)$  durch lineare Extrapolation des anfänglichen Verlaufs der detektierten Fluoreszenzintensität.

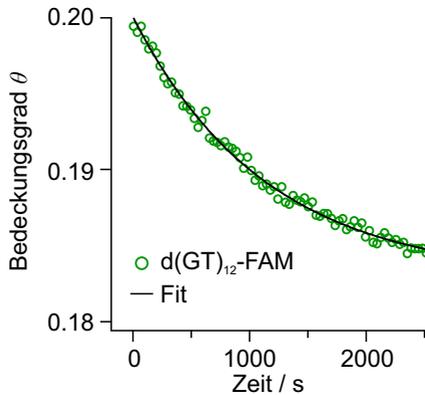
Um aus der Konzentration adsorbierter Moleküle einen Bedeckungsgrad  $\theta$  zu berechnen, muss die Konzentration der verfügbaren Adsorptionsstellen  $c_{\infty}$  bekannt sein.

$$\theta(t) = \frac{c_{\text{ads}}(t)}{c_{\infty}} \quad (6.6)$$

Nachdem innerhalb einer Messreihe identische Aliquote eingesetzt wurden, war  $c_{\infty}$  stets gleich. Der exakte Wert von  $c_{\infty}$  zeigt daher nur einen geringen Einfluss auf die durchgeführte Analyse und wurde nicht experimentell bestimmt. Im Falle von F8T2 wurde von einer vollständigen Bedeckung der Nanorohroberfläche ausgegangen, wodurch  $c_{\infty} = c_{\text{ads}}(0)$  gilt. Für die DNA–SWNT-Komplexe wurde der publizierte Wert von 20 % als initialer Bedeckungsgrad angenommen, also  $c_{\infty} = 5c_{\text{ads}}(0)$ .<sup>[88,119]</sup>

### 6.3.2 Langmuir-Anpassung

In Abbildung 6.5 ist der berechnete Bedeckungsgrad aus den in Abbildung 6.3 dargestellten Daten gezeigt. Innerhalb der ersten 400 s nimmt der Bedeckungsgrad linear ab und läuft dann ab etwa 2000 s in einen Sättigungsbereich. Die zeitliche Änderung des Bedeckungsgrads lässt sich über die Langmuir-Gleichung 2.31 (S. 22) beschreiben. Die analytische Lösung zur Integration der Gleichung ist jedoch nur unter gewissen Randbedingungen – beispielsweise dem Erreichen der Gleichgewichtslage – möglich. Allerdings können unter Kenntnis der Anfangsbedingungen numerische Integrationsverfahren zum Einsatz kommen. In dieser Arbeit wurde das Runge-Kutta-Fehlberg-Verfahren fünfter Ordnung benutzt, welches im zur Auswertung verwendeten Programm Igor-Pro implementiert ist. Für die Herleitung und die zugrunde liegenden Gleichungen der Methode wird auf die weiterführende Literatur verwiesen.<sup>[70,120]</sup> Als Parameter der Anpassung werden die Ratenkonstanten der Adsorption  $k_{\text{ads}}$  und der Desorption  $k_{\text{des}}$  erhalten, die wiederum die Berechnung der thermodynamischen Gleichgewichtskonstante  $K_{\text{eq}}$  der Reaktion gemäß Gleichung 2.39 (S. 30) ermöglichen.



**Abbildung 6.5.** Ermittelter Bedeckungsgrad mit Anpassung der Langmuir-Gleichung über das Runge-Kutta-Fehlberg-Verfahren.

Das Ergebnis der Anpassung ist in Abbildung 6.5 aufgenommen und zeigt eine hohe Übereinstimmung mit den ermittelten Daten des Bedeckungsgrads.

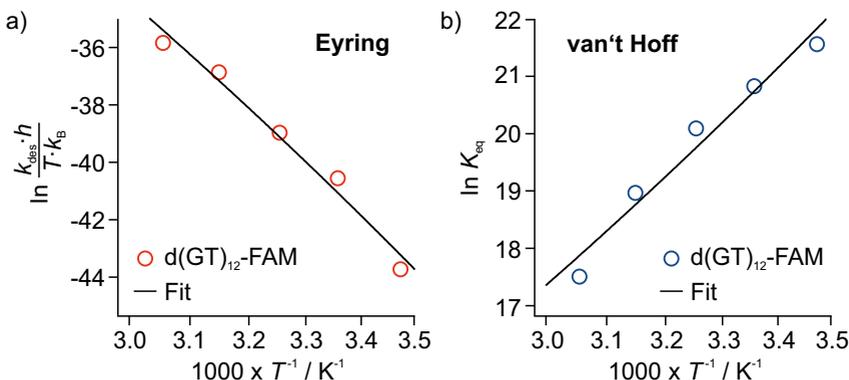
### 6.3.3 Eyring- und van't Hoff-Analyse

Aus den ermittelten Ratenkonstanten der Adsorption und Desorption,  $k_{\text{ads}}$  und  $k_{\text{des}}$ , lassen sich auf Grundlage der linearisierten Eyring-Gleichung die Aktivierungsenthalpie  $\Delta H^\ddagger$  und die Aktivierungsentropie  $\Delta S^\ddagger$  der Reaktion bestimmen.<sup>[57]</sup>

$$\ln \left( \frac{k_{\text{ads/des}} \cdot h}{T \cdot k_{\text{B}}} \right) = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (6.7)$$

In dieser Gleichung ist  $T$  die absolute Temperatur,  $h$  die Planck- und  $k_{\text{B}}$  die Boltzmann-Konstante sowie  $R$  die allgemeine Gaskonstante. Abbildung 6.6 a) zeigt die Auftragung der Ratenkonstanten der Desorption des d(GT)<sub>12</sub>-FAM von der SWNT-Oberfläche gemäß Gleichung 6.7

und eine lineare Ausgleichsgerade. In Teil b) ist die entsprechende van't Hoff-Auftragung dargestellt. Die analogen Analysen der weiteren DNA-Oligomere sowie des F8T2 finden sich im Anhang.



**Abbildung 6.6.** Eyring- und van't Hoff-Analyse für d(GT)<sub>12</sub>-FAM. **a)** Für die Eyring-Analyse wurden die Ratenkonstanten gemäß Gleichung 6.7 aufgetragen und eine lineare Anpassung durchgeführt. **b)** Für die van't Hoff-Analyse wurde der natürliche Logarithmus der Gleichgewichtskonstante  $K_{\text{eq}}$  gegen die inverse Temperatur aufgetragen.

Aus dem Ordinatenabschnitt und der Steigung der Ausgleichsgeraden lassen sich durch Multiplikation mit  $R$  bzw.  $-R$  die Aktivierungsentropie  $\Delta S^\ddagger$  sowie die Aktivierungsenthalpie  $\Delta H^\ddagger$  berechnen. Die van't Hoff-Gleichung nutzt anstatt der Raten- die Gleichgewichtskonstanten  $K_{\text{eq}}$  der Versuchsreihe und lautet in linearisierter Form:

$$\ln K_{\text{eq}} = -\frac{\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^0}{R} \quad (6.8)$$

Durch Auftragung des natürlichen Logarithmus der Gleichgewichtskonstanten gegen die inverse Temperatur in Abbildung 6.6 b) lassen sich durch lineare Anpassung aus der Steigung der Ausgleichsgeraden die Reaktionsenthalpie  $\Delta H^0$  und aus dem Achsenabschnitt die Reaktionsentropie  $\Delta S^0$  durch Multiplikation mit  $-R$  bzw.  $R$  ermitteln.

## 6.4 Ergebnisse der F8T2-Experimente

Um die Ergebnisse der F8T2-Experimente zu analysieren, wird zunächst auf Grundlage der in Kapitel 2 vorgestellten Modelle eine Abschätzung der Kinetik des Desorptionsverhaltens vorgenommen. In diesem Kontext werden dann die experimentell bestimmten Aktivierungsparameter der Desorption und anschließend der Adsorption diskutiert, ehe auf die Ergebnisse der van't Hoff-Analyse eingegangen wird.

Für die Betrachtung wird davon ausgegangen, dass das Polymer unabhängig vom verwendeten Lösemittel in einer bestimmten Konformation auf der Nanoröhre adsorbiert ist. Da die Desorption per Definition einen endothermen Vorgang darstellt, lässt sich über das Hammond-Postulat ein später, produktähnlicher Übergangszustand ableiten, der geometrisch dem freien Polymer in Lösung ähnelt.<sup>[121,122]</sup> Die Bindung zur Nanoröhroberfläche erfolgt dabei nur noch über ein Monomer und folglich kommt es bereits im Übergangszustand zur Ausbildung knäuelähnlicher Strukturen, die durch die Qualität des Solvens bestimmt werden. Aufgrund der Überlegungen in Kapitel 2.1.2 ist auch zu erwarten, dass sich in guten Solvenzien lockere Knäuel bilden, wobei es zahlreiche mögliche Anordnungen gibt. In schlechten Lösemitteln hingegen sollten kompaktere Knäuel mit einer höheren lokalen Ordnung entstehen. Die Entropieänderung  $\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$  sollte demnach bei der Desorption in ein gutes Lösemittel größer sein. Da die Wechselwirkungen guter Solvenzien mit den Monomeren des Polymers attraktiver sind als bei schlechten Lösemitteln, ist für die Änderungen der Aktivierungsenthalpie der Desorption  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$  bei guten Lösemitteln hingegen ein niedrigerer Wert zu erwarten. Folglich ist auf Grundlage von Gleichung 2.28 (S. 20) anzunehmen, dass für die freie Aktivierungsenthalpie der Desorption  $\Delta G_{\text{des}}^{\ddagger}$  sowie für die freie Reaktionsenthalpie  $\Delta G_{\text{des}}^0$  in guten Lösemitteln ebenfalls kleinere Werte resultieren.

Die tatsächlich erhaltenen Ergebnisse der Eyring-Analyse aus der experimentellen Untersuchung der Desorption des F8T2 von der SWNT-Oberfläche sind in Tabelle 6.1 zusammengefasst und werden im Folgenden diskutiert.

Solvens	Löslichkeit [g·L <sup>-1</sup> ]	$\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$ [J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> ]	$\Delta G_{\text{des}}^{\ddagger}$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]
Chlorbenzol	3.48 ± 0.31	67 ± 4	-96 ± 12	96
<i>ortho</i> -Xylol	0.82 ± 0.02	93 ± 5	-27 ± 17	101
Toluol	0.63 ± 0.09	95 ± 8	-26 ± 26	103
Methyl- cyclohexan	0.18 ± 0.01	keine Desorption beobachtet		

**Tabelle 6.1.** Ergebnisse der Eyring-Analyse für die F8T2-Desorption von der SWNT-Oberfläche.

Wie aufgrund der vorgestellten Überlegungen zu erwarten, ist die Aktivierungsenthalpie der Desorption  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$  im besten Lösemittel Chlorbenzol um mehr als 25 kJ·mol<sup>-1</sup> geringer als in den anderen Solvenzien. In Methylcyclohexan, welches die schlechteste Löslichkeit für F8T2 zeigte, konnte infolge der Verdünnung der F8T2–SWNT-Komplexe kein Anstieg der Fluoreszenzintensität gemessen werden. Stattdessen war sogar ein leichter Abfall des Signals zu beobachten. Dies deutet darauf hin, dass der Abstand des Polymers zur Nanorohroberfläche beim Transfer ins Methylcyclohexan tendenziell geringer wird und das schlechte Lösemittel eine Desorption des F8T2 innerhalb des beobachteten Temperatur- und Zeitraums verhindert. Auch für die freie Aktivierungsenthalpie  $\Delta G_{\text{des}}^{\ddagger}$  kann der vorhergesagte Trend beobachtet werden und die ermittelte Aktivierungsbarriere ist beim Chlorbenzol niedriger als in den anderen Solvenzien. Allerdings sind die Unterschiede mit 5–7 kJ·mol<sup>-1</sup> deutlich weniger stark ausgeprägt als bei den Werten von  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$ . Verursacht wird diese Differenz durch den unerwarteten Trend

der Aktivierungsentropie  $\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$ . Auf Grundlage des diskutierten Modells wäre eigentlich eine mit der Güte des Lösemittels ansteigende, positive Entropieänderung anzunehmen. Stattdessen findet man für alle untersuchten Lösemittel eine negative Aktivierungsentropie und für das Chlorbenzol mit  $-96 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$  sogar den niedrigsten Wert der Messreihe. Bei der Berechnung der Freien Enthalpie via  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$  kommt es daher zu einer Kompensation der enthalpischen und entropischen Beiträge, die in Kapitel 6.7 grundlegend diskutiert und auf Lösemittelleffekte zurückgeführt wird. Dabei spielt die Umorientierung der Solvensmoleküle im Laufe der Desorption eine entscheidende Rolle, welche bei der bisherigen Diskussion des Phasenübergangs von fest nach flüssig nicht berücksichtigt wurde. Bei der Ausbildung gelockerter Knäuel in guten Lösemitteln steigt gemäß Gleichung 2.29 (S. 20) die Koordinationszahl  $z$ , welche die Anzahl der Solvensmoleküle wiedergibt, die pro Monomereinheit mit dem Polymer wechselwirken. Folglich ist die Anzahl der Lösemittelmoleküle, die an der Ausbildung der Solvathülle des Polymers beteiligt sind, bei guten Solvenzen größer. Nach der Desorption des Polymers muss sich diese Solvathülle erst ausbilden, wodurch die zuvor statistische Anordnung der Lösemittelmoleküle gestört wird und zu einem stärker geordneten Zustand führt. Da bei guten Lösemitteln deutlich mehr Moleküle an dieser Umorientierung beteiligt sind, ist dabei auch eine stärkere Zunahme der Aktivierungsentropie zu beobachten.

In Tabelle 6.2 sind die Ergebnisse der Eyring-Analyse für die Ratenkonstanten der Adsorption des F8T2 zusammengefasst. Der Übergangszustand der Reaktion ist nach dem Hammond-Postulat geometrisch ähnlich der Polymerstruktur in Lösung und die Unterschiede der einzelnen Werte sind deutlich schwächer ausgeprägt als bei der Desorption, da der Übergangszustand bereits sehr früh im Reaktionsverlauf erreicht wird.<sup>[121,122]</sup> Die erhaltenen Aktivierungsentropien  $\Delta S_{\text{ads}}^{\ddagger}$  sind geringer als bei der Desorption, allerdings mit hohen relativen Unsicherheiten behaftet. Die ermittelten Aktivierungsenthalpien sind ebenso geringer

als im Falle der Desorption. Aufgrund der hohen Varianzen der erhaltenen Werte sind allerdings auch hier keine Aussagen über den Trend bezüglich der Löslichkeit möglich. Für die freie Aktivierungsenthalpie der Adsorption  $\Delta G_{\text{ads}}^{\ddagger}$  wird ein nahezu konstanter Wert von 46–48 kJ·mol<sup>-1</sup> erhalten.

Solvens	Löslichkeit [g·L <sup>-1</sup> ]	$\Delta H_{\text{ads}}^{\ddagger}$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta S_{\text{ads}}^{\ddagger}$ [J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> ]	$\Delta G_{\text{ads}}^{\ddagger}$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]
Chlorbenzol	3.48 ± 0.31	37 ± 15	30 ± 49	46
<i>ortho</i> -Xylol	0.82 ± 0.02	57 ± 11	28 ± 35	48
Toluol	0.63 ± 0.09	54 ± 20	21 ± 64	48

**Tabelle 6.2.** Ergebnisse der Eyring-Analyse für die Adsorption von F8T2 auf die SWNT-Oberfläche.

Neben den aus der Eyring-Analyse bestimmten Aktivierungsenthalpien und -entropien sind aus der van't Hoff-Analyse auch die Gleichgewichtsparameter der Reaktion,  $\Delta H_{\text{des}}^0$ ,  $\Delta S_{\text{des}}^0$  und  $\Delta G_{\text{des}}^0$ , zugänglich. Aufgrund der Definition der Gleichgewichtskonstanten  $K_{\text{eq}}$  in Gleichung 2.39 (S. 30) beziehen sich die Parameter eigentlich auf die Adsorption der Polymere. Da der Schwerpunkt der Diskussion in diesem Kapitel jedoch auf der Desorption liegt, wurden die Vorzeichen der Werte entsprechend umgekehrt.

Solvens	$\Delta H_{\text{des}}^0$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta S_{\text{des}}^0$ [J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> ]	$\Delta G_{\text{des}}^0$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]
Chlorbenzol	30 ± 15	-66 ± 49	50
<i>ortho</i> -Xylol	36 ± 8	-55 ± 25	53
Toluol	42 ± 12	-46 ± 39	55

**Tabelle 6.3.** Ergebnisse der van't Hoff-Analyse für die Verdünnungsexperimente von F8T2–SWNT-Komplexen, bezogen auf den Desorptionsvorgang.

Der erwartete Trend, dass die freie Desorptionsenthalpie  $\Delta G_{\text{des}}^0$  für bessere Lösemittel niedrigere Werte zeigt, ist nur sehr schwach ausgeprägt. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass nicht nur das freie Polymer, sondern ebenso die F8T2–SWNT-Komplexe durch ein gutes Lösemittel besser stabilisiert werden. Die Varianzen der ermittelten Reaktionsenthalpien und -entropien lassen keine Aussage über den Trend innerhalb der untersuchten Lösemittelreihe zu. Auffallend ist jedoch, dass für alle untersuchten Solvenzien negative Reaktionsentropien erreicht werden. Da dem Polymer im adsorbierten Zustand eine deutlich geringere Anzahl möglicher Konformationen zur Verfügung stehen sollte als in Lösung, lässt sich dieser Effekt wieder auf die Ausbildung der Solvathülle der Polymere und die damit einhergehende Umorientierung der Lösemittelmoleküle zurückführen.

Bei den durchgeführten Experimenten konnte die vorhergesagte Abhängigkeit von der Qualität des Lösemittels im Falle der Aktivierungsenthalpie  $\Delta H_{\text{des}}^\ddagger$  sowie der Freien Aktivierungsenthalpie  $\Delta G_{\text{des}}^\ddagger$  bestätigt werden. Aufgrund des unerwarteten und gegenläufigen Trends der Aktivierungsentropie  $\Delta S_{\text{des}}^\ddagger$  ist die Sensitivität bei  $\Delta G_{\text{des}}^\ddagger$  jedoch deutlich geringer ausgeprägt. Auch bei den Daten der Adsorption verlaufen die bestimmten Aktivierungsenthalpien und -entropien derart, dass eine fast identische Freie Aktivierungsenthalpie der Adsorption resultiert. Folglich findet sich dieses Verhalten auch in den thermodynamischen Größen wieder, die aus der van't Hoff-Analyse resultieren. Der Ursprung dieser Enthalpie-Entropie-Korrelation wird in Kapitel 6.7 diskutiert. Die Anzahl der geeigneten Lösemittel mit deutlich anderer Löslichkeit in Bezug auf F8T2 ist relativ gering und wird durch das zur Verfügung stehende Temperaturfenster noch weiter eingeschränkt. Eine Erweiterung der Messreihe, um die gefundenen Tendenzen weiter zu verifizieren, war daher nicht möglich. Es wurden allerdings Verdünnungsexperimente mit verschiedenen DNA–SWNT-Komplexen durchgeführt, da sich die Länge

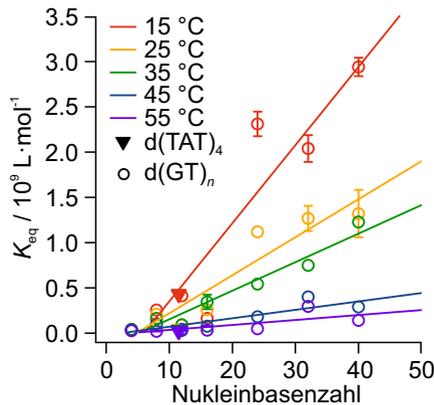
und Basensequenz der kommerziell verfügbaren DNA-Oligomere nahezu beliebig variieren lassen und somit eine umfangreichere Versuchssreihe realisierbar ist, deren Ergebnisse Gegenstand des folgenden Abschnitts sind.

## **6.5 Ergebnisse der DNA-Experimente**

In diesem Abschnitt werden die Resultate der DNA–SWNT-Verdünnungsexperimente vorgestellt und diskutiert. Wie schon bei den F8T2–SWNT-Experimenten wird zunächst das Desorptionsverhalten aufgrund der in den vorangegangenen Kapiteln eingeführten Modelle abgeschätzt. Die Diskussion der Ergebnisse beginnt anschließend mit den bestimmten Gleichgewichtskonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere, ehe auf die ermittelten Aktivierungsbarrieren von Adsorption und Desorption eingegangen wird und die thermodynamischen Daten aus der van't Hoff-Analyse vorgestellt werden. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgt unter der Voraussetzung, dass die Desorption nicht diffusionslimitiert ist, was im darauffolgenden Abschnitt gezeigt wird. Der Ursprung der beobachteten Enthalpie-Entropie-Korrelation wird ebenfalls nicht hier, sondern separat diskutiert.

Da die eingesetzten DNA-Oligomere allesamt Copolymere aus Purin- und Pyrimidinbasen waren und die Experimente durchweg in PBS-Lösung stattfanden, sind nahezu identische knäuelartige Strukturen zu erwarten. Die Anzahl der möglichen Konformationen sollte folglich nur durch die Oligomerlänge bestimmt sein und mit dieser zunehmen. Da sich aus dem Hammond-Postulat ein später Übergangszustand der Desorption ableiten lässt, der geometrisch den freien Oligomeren ähnelt, sind für lange DNA-Oligomere aus vielen Nukleinbasen mehrere Anordnungen im Übergangszustand möglich, die in einer höheren Ak-

tivierungsentropie der Desorption  $\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$  resultieren sollten. Dieser Effekt wurde bereits bei temperaturprogrammierten Desorptionsexperimenten in der Gasphase für unterschiedlich lange *oligo*-Alkane festgestellt. [56,58,59] Durch die hohe Nukleinbasenzahl in langen Oligomeren können auch mehr Bindungen zur SWNT-Oberfläche ausgebildet werden. Da diese im Laufe der Desorption gelöst werden müssen, ist ein höherer Wert der Aktivierungsenthalpie der Desorption  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$  zu erwarten als bei kurzen Oligomeren. Analog dazu sollten sich auch die thermodynamischen Größen der Desorption  $\Delta H_{\text{des}}^0$  sowie  $\Delta S_{\text{des}}^0$  verhalten. Der Wert der Gleichgewichtskonstanten  $K_{\text{eq}}$  sollte ebenso mit der im Oligomer enthaltenen Basenzahl korrelieren. [28]



**Abbildung 6.7.** Ermittelte Gleichgewichtskonstanten der untersuchten DNA-Oligomere bei den verschiedenen Temperaturen in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl. Tendenziell steigt  $K_{\text{eq}}$  mit der Basenzahl an und fällt mit der Temperatur ab, was durch die Trendlinien verdeutlicht wird.

In Abbildung 6.7 sind die aus den Experimenten erhaltenen Gleichgewichtskonstanten der untersuchten DNA-Oligomere in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl für die jeweilige Temperatur aufgetragen. Die Werte liegen in einem Bereich von  $1 \cdot 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$  bis  $3 \cdot 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$  und zeigen, dass die Adsorption für alle DNA-Oligomere bevorzugt ist, wobei

sich die Erkennungssequenz  $d(\text{TAT})_4$  nicht erheblich unterscheidet. Für längere DNA-Oligomere werden wie erwartet tendenziell höhere Gleichgewichtskonstanten erhalten, was die erhöhte Adsorptionsneigung widerspiegelt, die auch von Kato *et al.* gefunden wird.<sup>[28]</sup> Da die Adsorption einen exothermen Vorgang darstellt, sinkt der Wert von  $K_{\text{eq}}$  bei ansteigender Temperatur. Die in der Abbildung eingefügten Ausgleichsgeraden dienen zur Verdeutlichung der beschriebenen Trends. Die derart ermittelten Gleichgewichtskonstanten sind um mehr als vier Größenordnungen größer, als die Werte, welche infolge der Austauschexperimente bestimmt wurden (s. Tabelle 5.2, S. 88) und zeigen damit die Notwendigkeit auf, reine DNA–SWNT-Komplexe zu untersuchen.

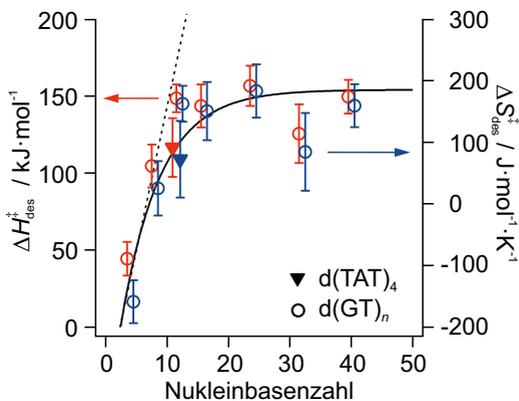
Die Ergebnisse der Eyring-Analyse der Adsorptionsratenkonstanten sind in Tabelle 6.4 zusammengefasst. Wie schon bei den Ergebnissen der F8T2–SWNT-Verdünnungsexperimente sind die Unterschiede zwischen den untersuchten Spezies nur gering ausgeprägt. Dies kann auf den relativ frühen Übergangszustand zurückgeführt werden. Sowohl die Werte der Aktivierungsenthalpie als auch der -entropie steigen tendenziell mit der Nukleinbasenzahl an. Der Ursprung der Aktivierungsbarriere der Adsorption liegt nach Martin *et al.* in Konformationsänderungen des Phosphat-Zucker-Rückgrats der Biopolymere.<sup>[32]</sup> Innerhalb dieses Modells lässt sich auch der kohärente Anstieg von  $\Delta H_{\text{ads}}^\ddagger$  und  $\Delta S_{\text{ads}}^\ddagger$  erklären. Bei längeren Oligomeren mit einer höheren Nukleotidzahl müssen während der Konformationsänderung mehr Bindungen im Phosphat-Zucker-Rückgrat gelöst werden, wodurch sich eine höhere Aktivierungsenthalpie ergibt. Allerdings steht wie auch bei der Desorption eine größere Anzahl möglicher Konformationen zur Verfügung, was in einer höheren Aktivierungsentropie resultiert.

Die Aktivierungsparameter der Desorption, die als Ergebnis der Eyring-Analyse erhalten wurden, sind in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl in Abbildung 6.8 aufgetragen. Die Aktivierungsenthalpie der DNA-

DNA-Oligomer	$\Delta H_{\text{ads}}^{\ddagger}$ [kJ·mol <sup>-1</sup> ]	$\Delta S_{\text{ads}}^{\ddagger}$ [J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> ]
d(GT) <sub>2</sub>	35 ± 13	-47 ± 43
d(GT) <sub>4</sub>	53 ± 25	12 ± 81
d(TAT) <sub>4</sub>	60 ± 12	35 ± 38
d(GT) <sub>6</sub>	98 ± 8	149 ± 56
d(GT) <sub>8</sub>	106 ± 28	185 ± 91
d(GT) <sub>12</sub>	77 ± 21	90 ± 69
d(GT) <sub>16</sub>	85 ± 20	122 ± 64
d(GT) <sub>20</sub>	87 ± 12	127 ± 39

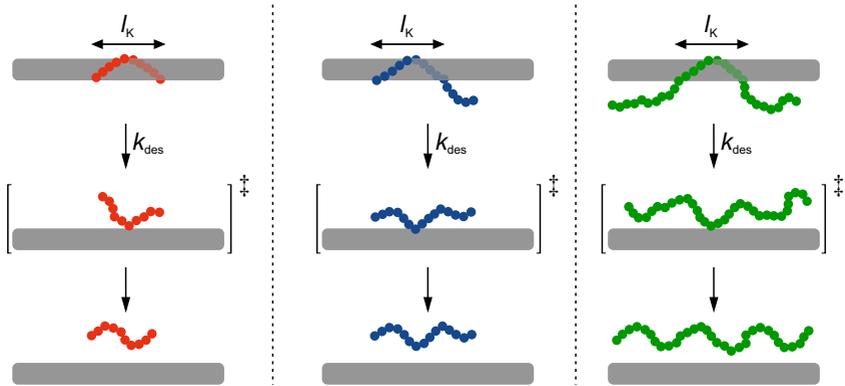
**Tabelle 6.4.** Ergebnisse der Eyring-Analyse der Adsorptionsratenkonstanten für die DNA-Verdünnungsexperimente.

Desorption  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$  (rot) zeigt zunächst wie erwartet einen nahezu linearen Anstieg mit der Nukleinbasenzahl (gestrichelte Linie). Für Oligomere mit mehr als zwölf DNA-Basen ist jedoch keine Änderung von  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$  mehr zu beobachten (durchgezogene Linie). Die Erkennungssequenz d(TAT)<sub>4</sub> zeigt ebenso keine abweichenden Werte. Auch der Verlauf der Aktivierungsentropie der Desorption  $\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$  (blau) weist zunächst den erwarteten Verlauf auf und steigt mit der Länge der Oligomere an. Allerdings lässt sich auch bei den Ergebnissen der DNA-SWNT-Verdünnungsexperimente eine Korrelation zwischen Aktivierungsenthalpie und -entropie beobachten und für  $\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$  tritt ab etwa zwölf Nukleinbasen ebenfalls eine Sättigung auf. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei längeren Oligomeren die Desorption eines Segments aus zwölf Nukleinbasen sein muss und die übrigen Basen bereits desorbiert sind. Auffallend ist, dass diese Basenzahl ähnlich der von Murphy *et al.* bestimmten Kuhn-Länge  $l_K$  einzelsträngiger DNA-Oligomere von neun bis zehn Nukleinbasen ist.<sup>[46]</sup>



**Abbildung 6.8.** Eyring-Parameter der untersuchten DNA-Oligomere bei der Desorption in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl. Die Werte steigen zunächst linear mit der Basenzahl an (gestrichelte Linie). Für Oligomere mit mehr als zwölf Basen tritt eine Sättigung auf (durchgezogene Linie).

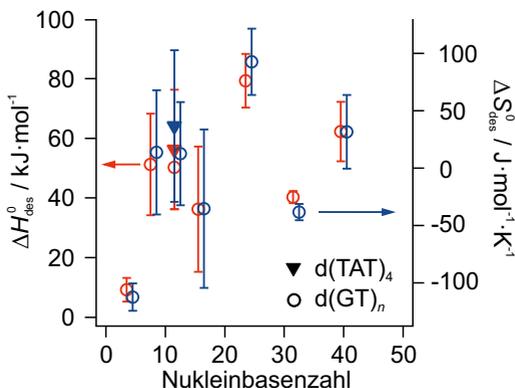
Bereits in Kapitel 2.1.1 wurde das Kuhn-Segment zur Beschreibung der Steifigkeit eines Polymers eingeführt. Die Kuhn-Segmente bilden dabei die einzelnen Glieder der Polymerkette und können sich unabhängig voneinander räumlich ausrichten. Diese Unabhängigkeit der einzelnen Kuhn-Segmente bleibt anscheinend auch im adsorbierten Zustand der Biopolymere erhalten und jedes einzelne Segment kann folglich als *train* adsorbiert oder als *tail* bzw. *loop* desorbiert sein. Die Desorption des gesamten Oligomers erfolgt dabei wie in Abbildung 6.9 skizziert aus einem Zustand, in dem lediglich ein Kuhn-Segment auf der Nanorohroberfläche gebunden ist. Kurze Oligomere (rot), deren Basenzahl gleich oder geringer ist als die eines Kuhn-Segments, sind folglich mit allen Nukleinbasen auf der Nanorohroberfläche adsorbiert, wodurch der lineare Anstieg der Aktivierungsenthalpie und -entropie bei kurzen Oligomeren erklärt werden kann. Bei DNA-Oligomeren mittlerer Länge (blau) erfolgt die Bindung zur Nanorohroberfläche über die Länge eines Kuhn-Segments, wobei die restlichen Nukleinbasen als *tail*-Segmente in



**Abbildung 6.9.** Schematische Darstellung der Desorption verschieden langer DNA-Oligomere. Unter Annahme von *tail*-Adsorptionskonformationen bei längeren Oligomeren lässt sich die Desorption des letzten Kuhn-Segments aus etwa zehn Nukleinbasen als geschwindigkeitsbestimmender Schritt identifizieren. <sup>[46]</sup>

die Lösung ragen. Für längere Oligomere (grün) ist neben der Adsorption über ein Kuhn-Segment auch die Bindung mehrerer Kuhn-Segmente denkbar, wenn diese nicht unmittelbar nebeneinander liegen, sondern über *loop*-Segmente verbunden sind (nicht in Abbildung 6.9 gezeigt). Die einzelnen *train*-Segmente können dann unabhängig voneinander desorbieren und die beobachtete Aktivierungsbarriere entspricht der eines einzelnen Segments. Da allerdings das längste untersuchte Oligomer gerade aus vier Kuhn-Segmenten besteht, kann die Ausbildung von *loops* als eher unwahrscheinlich angenommen werden und die Adsorption erfolgt wie in Abbildung 6.9 dargestellt tatsächlich über lediglich ein Kuhn-Segment.

Die in Abbildung 6.10 dargestellten Ergebnisse der van't Hoff-Analyse der DNA-SWNT-Verdünnungsexperimente lassen sich ebenfalls innerhalb dieses Modells erklären. Da in diesem Kapitel das Desorptionsverhalten im Vordergrund steht, wurden die ermittelten thermodyna-

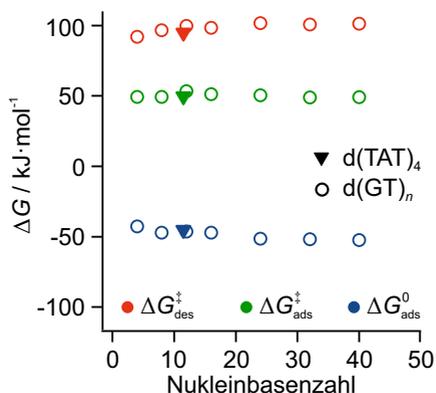


**Abbildung 6.10.** Ermittelte van't Hoff-Parameter der untersuchten DNA-Oligomere bei der Desorption in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl.

mischen Größen  $\Delta H_{\text{des}}^0$  und  $\Delta S_{\text{des}}^0$  anhand des Desorptionsvorgangs definiert, obgleich die Gleichgewichtskonstante die Adsorptionsneigung wiedergibt. Die aus der van't Hoff-Analyse bestimmten Größen zeigen keine eindeutige Korrelation zur Nukleinbasenzahl der Oligomere. Lediglich das kurze  $d(\text{GT})_2$ -FAM weist eine erheblich geringere Desorptionseenthalpie von  $9 \pm 4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  in Verbindung mit einer stark negativen Entropieänderung von  $-113 \pm 12 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  auf. Die Desorptionseenthalpien der anderen DNA-Oligomere betragen in etwa  $50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  und steigen nicht wie erwartet mit der Nukleinbasenzahl an. Vor allem bei den kürzeren Biopolymeren sind die Werte mit relativ großen Unsicherheiten verbunden. Dies trifft ebenso auf die Entropieänderung  $\Delta S_{\text{des}}^0$  zu, wobei die bestimmten Werte um null variieren. Im Rahmen des helikalen Adsorptionsmodells ist dieser Effekt nicht zu erklären, da bei der helikalen Adsorption die Anzahl der möglichen Konformationen gegenüber dem ungebundenen Zustand in Lösung stark reduziert sein müsste und demzufolge sollte die Desorption mit einer starken Entropiezunahme einhergehen. Berücksichtigt man jedoch die in Abbildung 6.9 vorgeschlagenen *tail*-Konformationen, so ergeben sich auch im adsorbier-

ten Zustand zahlreiche mögliche Anordnungen des Oligomers, die nur zu einer geringen Änderung der Entropie in Folge der Desorption führen. In Kapitel 6.7 wird zwar gezeigt, dass die absoluten Werte der bestimmten Aktivierungsparameter nicht alleine den Wechselwirkungen zwischen Nukleinbasen und Nanorohroberfläche zugeordnet werden können, sondern maßgeblich von Lösemittleffekten beeinflusst sind. Allerdings ist das Ausmaß dieser Lösemittleffekte proportional zur Oligomerlänge, so dass die beobachteten Abhängigkeiten gegenüber der Nukleinbasenzahl ihre Gültigkeit behalten und damit ebenso die daraus gezogenen Rückschlüsse auf die Adsorptionskonformationen der Biopolymere.

Abschließend sind die aus der Eyring- und van't Hoff-Analyse bestimmten Freien Enthalpieänderungen in Abbildung 6.11 gezeigt. Sowohl die Freien Aktivierungsenthalpien von Adsorption und Desorption,  $\Delta G_{\text{ads}}^{\ddagger}$  und  $\Delta G_{\text{des}}^{\ddagger}$ , als auch die Freien Desorptionseenthalpien  $\Delta G_{\text{des}}^0$  weisen einen von der Basenzahl der Oligomere nahezu unabhängigen Wert auf. Im Abschnitt 6.7 wird gezeigt, dass die Werte für  $\Delta G$  von der beobachteten Enthalpie-Entropie-Korrelation unbeeinflusst bleiben und somit einer Interpretation zugänglich sind. Die Invarianz der Freien Aktivierungsenthalpie der Desorption  $\Delta G_{\text{des}}^{\ddagger}$  gegenüber der Nukleinbasenzahl der Oligomere spiegelt dabei die vergleichbare Stabilität aller untersuchten DNA-SWNT-Komplexe im beobachteten Temperaturfenster wider. Die sehr hohe Aktivierungsbarriere von etwa  $100 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  erklärt die hohe Stabilität individualisierter DNA-SWNT-Komplexe über sehr lange Zeiträume, die auch bei Verwendung von mittleren und kurzen Oligomeren beobachtet wird. Für das  $\text{d}(\text{GT})_2$ -FAM gilt diese Aussage jedoch nur eingeschränkt, da aufgrund der Probenpräparation nicht von individualisierten SWNTs ausgegangen werden kann. Auch die Aktivierungsbarriere der Adsorption  $\Delta G_{\text{ads}}^{\ddagger}$  ist mit ca.  $50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  relativ stark ausgeprägt und kann auf energetisch intensive Konformationsänderungen des Phosphat-Zucker-Rückgrats der Biopolymere zurück-



**Abbildung 6.11.** Ermittelte Freie Enthalpien und Freie Aktivierungsenthalpien der Adsorption und Desorption in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl. Aus Gründen der Übersichtlichkeit ist im Gegensatz zum Text hier die Freie Enthalpie der Adsorption  $\Delta G_{\text{ads}}^0$  (blau) anstelle der Desorption gezeigt.

geführt werden.<sup>[32]</sup> Aus den beiden Aktivierungsparametern ergibt sich eine Änderung der Freien Enthalpie infolge des Desorptionsvorgangs von  $50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , die die geringe Desorptionsneigung aller untersuchter DNA-Oligomere wiedergibt.

## 6.6 Kontrolle auf diffusionslimitiertes Verhalten

Die Interpretation der ermittelten Daten setzte bisher voraus, dass die beobachtete Kinetik tatsächlich von der Desorption und Adsorption der (Bio-)Polymere bestimmt wird und nicht wie in Kapitel 2.3.2 beschrieben von deren langsameren Diffusion von der SWNT-Oberfläche. Gerade die Invarianz der ermittelten Parameter für längere DNA-Oligomere stärkt diese Annahme. Daher wurde die Zeitskala der Diffusion für die

DNA-Oligomere mithilfe des numerischen Crank-Nicolson-Verfahrens abgeschätzt und mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten verglichen. Dieser Abschnitt widmet sich den dafür notwendigen Gleichungen und Überlegungen. Die prinzipielle Vorgehensweise der Methode wurde bereits in Kapitel 2.4 für den eindimensionalen Fall vorgestellt. Im Folgenden wird daher zunächst die zur Simulation verwendete Elementarzelle aufgestellt, die sich aus der SWNT-Konzentration ableiten lässt. Im Anschluss daran wird gezeigt, dass sich aufgrund der Versuchsbedingungen und der vorliegenden Symmetrie das dreidimensionale Problem auf ein eindimensionales reduzieren lässt. Darauf aufbauend wird die tridiagonale Matrix zur Anwendung des Crank-Nicolson-Verfahrens aufgestellt und gelöst. Abschließend findet der Vergleich der berechneten Zeitskala der Diffusion mit den experimentell ermittelten Ratenkonstanten statt.

In Abbildung 6.12 ist schematisch die aufgestellte Elementarzelle des Systems gezeigt, deren Abmessungen im Folgenden hergeleitet werden. Dafür werden zunächst alle in der Lösung vorhandenen SWNTs gedanklich entlang der  $z$ -Achse (rot) aneinander gelegt. Eine Elementarzelle besteht dann aus einer einzelnen SWNT mit der durchschnittlichen Länge von etwa 260 nm und der PBS-Lösung, die die Nanoröhre zylinderförmig umgibt.<sup>[99]</sup> Die Nanoröhre steht im Zentrum des Zylinders und dessen Durchmesser  $r$  ergibt sich aus dem durchschnittlichen Abstand der Nanoröhren in der Lösung, der über die SWNT-Konzentration abgeschätzt werden kann. Mithilfe von Gleichung 5.1 (S. 87) kann die molare Kohlenstoffatomkonzentration in der verwendeten Lösung berechnet werden. Typischerweise wurde nach dem Auftauen der DNA-SWNT-Aliquote im Absorptionsspektrum bei einer Wellenlänge von 990 nm eine OD von etwa 0.4 mit einer Halbwertsbreite von ca. 37 nm gemessen. Daraus ergibt sich in den filtrierten Aliquoten eine durchschnittliche Kohlenstoffatomkonzentration von  $7.55 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Bei der Durchführung der Experimente wurden 150  $\mu\text{L}$  dieser Lösung in 3.00 mL PBS-Lösung trans-

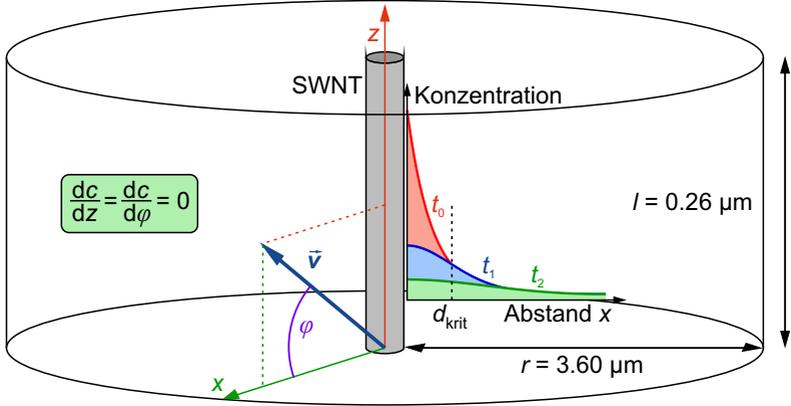
feriert, wodurch in der Küvette eine Kohlenstoffatomkonzentration von  $3.60 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  resultiert. Pro Nanometer einer (6,5)-SWNT sind 88.48 C-Atome enthalten und mit der gemittelten SWNT-Länge von 260 nm lässt sich für die durchgeführten Experimente eine durchschnittliche SWNT-Konzentration  $c_{\text{SWNT}}$  von  $1.56 \cdot 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  angeben.<sup>[99,112]</sup> Im Umkehrschluss steht einer einzelnen Nanoröhre somit ein Volumen  $V_{\text{SWNT}}$  von 10.6 fL zur Verfügung. Überträgt man dieses Volumen auf die zylindrische Elementarzelle mit der Höhe  $l = 260 \text{ nm}$ , so lässt sich der Radius des Zylinders berechnen.

$$r = \sqrt{\frac{V_{\text{SWNT}}}{\pi l}} = 3.6 \mu\text{m} \quad (6.9)$$

Als Elementarzelle wird folglich ein Zylinder mit einem Radius von  $3.6 \mu\text{m}$  und einer Höhe von  $0.26 \mu\text{m}$  angenommen. Wie in Abbildung 6.12 dargestellt lässt sich jeder Vektor  $\vec{v}$  (blau) dieses Zylinders über die Koordinaten  $x$  (grün),  $z$  (rot) und den Winkel  $\varphi$  (lila) beschreiben. Die dreidimensionale Diffusionsgleichung für den Konzentrationsverlauf  $c$  lautet dann in Zylinderkoordinaten mit dem Nabla-Operator  $\nabla$  und dem Diffusionskoeffizienten  $D$ :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \nabla^2 c = D \left[ \frac{1}{x} \frac{\partial}{\partial x} x \frac{\partial c}{\partial x} + \frac{1}{x^2} \frac{\partial^2 c}{\partial \varphi^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \right] \quad (6.10)$$

Die Desorption der Oligomere geht gleichmäßig von der SWNT-Oberfläche aus und es ist daher keine Änderung der Konzentrationsverteilung entlang der  $z$ -Achse zu erwarten. Des Weiteren ist davon auszugehen, dass die Desorption nicht unter einem bestimmten Austrittswinkel erfolgt. Die Konzentrationsverteilung sollte demnach auch keine Winkelabhängigkeit zeigen, wodurch sich Gleichung 6.10 vereinfacht und mit der Produktregel umgeformt werden kann.



**Abbildung 6.12.** Elementarzelle zur Simulation des Diffusionsverhaltens. Aufgrund der Symmetrie des Systems lässt sich die Diffusion als 1D Problem behandeln, um die zeitliche Entwicklung des Konzentrationsprofils zu berechnen.

$$D \cdot \nabla^2 c = D \left[ \frac{1}{x} \frac{\partial}{\partial x} x \frac{\partial c}{\partial x} \right] = D \left[ \frac{1}{x} \frac{\partial c}{\partial x} + \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right] \quad (6.11)$$

Dieser Ausdruck ist nur noch von der  $x$ -Position abhängig und das sich zeitlich ändernde Konzentrationsprofil  $c$  wird nur als Funktion des Abstands  $x$  der DNA-Oligomere von der SWNT-Oberfläche beschrieben, wie in Abbildung 6.12 angedeutet. Das Differenzial muss nun in eine Differenzengleichung umgeformt werden. Dafür wird wieder ein zweidimensionales Gitter aufgestellt, wobei  $n$  die zeitlichen Gitterpunkte kennzeichnet, während die räumlichen Punkte mit  $j = 1$  bis  $j = J$  nummeriert werden. Für das Crank-Nicolson-Verfahren wird sowohl der implizite Ausdruck  $\Sigma_{\text{im}}$  beim Zeitpunkt  $n+1$  als auch der explizite Ausdruck  $\Sigma_{\text{ex}}$  beim Zeitpunkt  $n$  benötigt.

$$\frac{c_j^{n+1} - c_j^n}{\Delta t} = \frac{D}{2} [\Sigma_{\text{im}} + \Sigma_{\text{ex}}] \quad (6.12)$$

Für die implizite Formulierung der Differenzengleichung wird folgender Ausdruck mit der Schrittweite  $\Delta x$  verwendet:

$$\Sigma_{\text{im}} = \frac{1}{j\Delta x} \left( \frac{c_{j+1}^{n+1} - c_{j-1}^{n+1}}{2\Delta x} \right) + \frac{c_{j+1}^{n+1} - 2c_j^{n+1} + c_{j-1}^{n+1}}{(\Delta x)^2} \quad (6.13)$$

Hierbei wurde für den ersten Term die Differenz über den doppelten Abstand der Gitterpunkte  $2\Delta x$  gewählt, da damit letztendlich ein kürzerer Ausdruck bei der Aufstellung der tridiagonalen Matrix erhalten wird. Analog dazu ergibt sich der explizite Ausdruck beim Zeitpunkt  $n$ :

$$\Sigma_{\text{ex}} = \frac{1}{j\Delta x} \left( \frac{c_{j+1}^n - c_{j-1}^n}{2\Delta x} \right) + \frac{c_{j+1}^n - 2c_j^n + c_{j-1}^n}{(\Delta x)^2} \quad (6.14)$$

Die beiden Ausdrücke für  $\Sigma_{\text{im}}$  und  $\Sigma_{\text{ex}}$  werden in Gleichung 6.12 eingesetzt und alle Terme mit  $n + 1$  auf eine Seite gebracht. Nach Umformung erhält man die tridiagonale Form des Gleichungssystems.

$$\begin{aligned} \left( \frac{\alpha}{2j} - \alpha \right) c_{j-1}^{n+1} + (1 + 2\alpha) c_j^{n+1} - \left( \alpha + \frac{\alpha}{2j} \right) c_{j+1}^{n+1} = \\ \left( \alpha - \frac{\alpha}{2j} \right) c_{j-1}^n + (1 - 2\alpha) c_j^n + \left( \alpha + \frac{\alpha}{2j} \right) c_{j+1}^n \end{aligned} \quad (6.15)$$

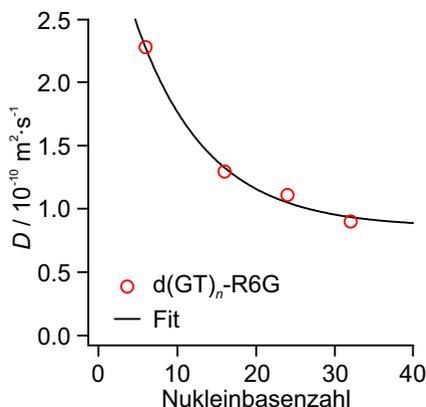
mit  $\alpha = \frac{D\Delta t}{2(\Delta x)^2}$

Da die DNA-Oligomere gleichmäßig über die Elementarzellen verteilt sind und sich die Gesamtstoffmenge während des Experiments nicht ändert, muss auch die Stoffmenge innerhalb einer Elementarzelle konstant bleiben. Um diesen Stoffmengenerhalt einzuführen, wird die Neumann-Randbedingung mit zwei virtuellen Gitterpunkten bei  $j = 0$  und  $j = J + 1$

eingeführt, wie in Kapitel 2.4 beschrieben.<sup>[70,72]</sup> Die im Simulationsverlauf beobachteten Änderungen der Gesamtstoffmenge betragen dadurch bei allen durchgeführten Simulationen weniger als 1%. Damit lässt sich das lineare Gleichungssystem zur Berechnung der Diffusion in der beschriebenen Elementarzelle aufstellen.

$$\begin{aligned}
 & \begin{pmatrix} (1+2\alpha) & -2\alpha & & & \\ \left(\frac{\alpha}{2j}-\alpha\right) & (1+2\alpha) & \left(-\alpha-\frac{\alpha}{2j}\right) & & \\ & & \dots & & \\ & & \left(\frac{\alpha}{2j}-\alpha\right) & (1+2\alpha) & \left(-\alpha-\frac{\alpha}{2j}\right) \\ & & & -2\alpha & (1+2\alpha) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_j^{n+1} \\ \vdots \\ c_j^{n+1} \end{pmatrix} \\
 & = \begin{pmatrix} (1-2\alpha) & 2\alpha & & & \\ \left(\alpha-\frac{\alpha}{2j}\right) & (1-2\alpha) & \left(\alpha+\frac{\alpha}{2j}\right) & & \\ & & \dots & & \\ & & \left(\alpha-\frac{\alpha}{2j}\right) & (1-2\alpha) & \left(\alpha+\frac{\alpha}{2j}\right) \\ & & & 2\alpha & (1-2\alpha) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_j^n \\ \vdots \\ c_j^n \end{pmatrix} \tag{6.16}
 \end{aligned}$$

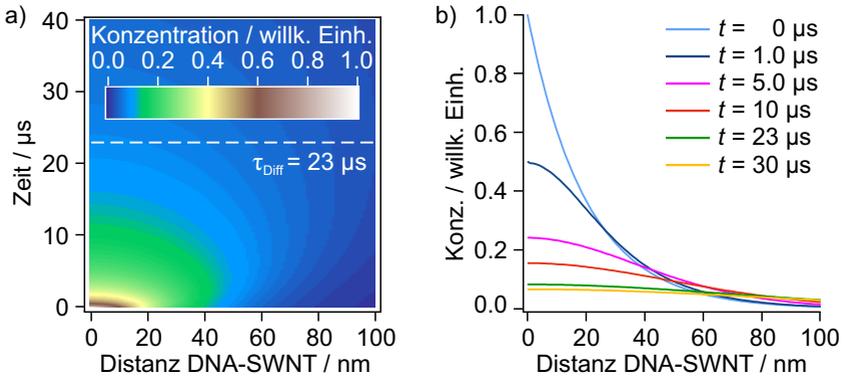
Zur Lösung dieses Gleichungssystems muss der Diffusionskoeffizient der DNA-Oligomere bekannt sein. In Abbildung 6.13 sind die Diffusionskoeffizienten verschiedener d(GT)<sub>n</sub>-R6G-Oligomere (n = 3, 8, 12, 16) gezeigt, die bereits durch FCS-Messungen bestimmt wurden.<sup>[123]</sup> Die ermittelten Diffusionskoeffizienten lassen sich in Abhängigkeit ihrer Nukleinbasenzahl gut mit einer Exponentialfunktion beschreiben, mit deren Hilfe dann die Diffusionskoeffizienten der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten DNA-Oligomere abgeschätzt wurden. Die dargestellten Diffusionskoeffizienten wurden alle bei einer Temperatur von 20 °C bestimmt. Die Korrektur auf die jeweilige Versuchstemperatur erfolgte über die Stokes-Einstein-Gleichung 2.60 (S. 49). Über diese Gleichung lässt sich auch der hydrodynamische Radius der DNA-Oligomere bestimmen, welcher im Falle des d(GT)<sub>16</sub>-R6G 2.4 nm beträgt.



**Abbildung 6.13.** Diffusionskoeffizienten verschiedener  $d(\text{GT})_n\text{-R6G}$ -Oligomere ( $n = 3, 8, 12, 16$ ) in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl. Die Daten lassen sich gut mit einer Exponentialfunktion beschreiben.

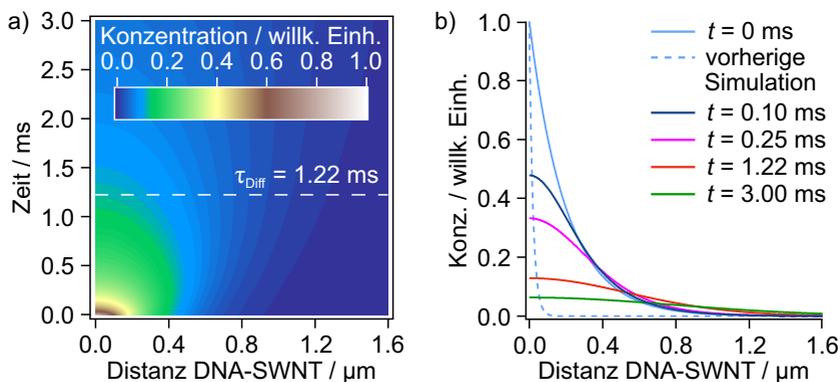
Für das weitere Vorgehen müssen noch einige weitere Parameter abgeschätzt oder festgelegt werden, beispielsweise ab welcher Position eine schnelle Readsorption durch Rotation des Moleküls ausgeschlossen werden kann. Im Folgenden wird für diesen kritischen Abstand  $d_{\text{krit}}$  der DNA-Oligomere zur SWNT-Oberfläche der doppelte Durchmesser eines Oligomers, also 10 nm festgesetzt. Des Weiteren ist das anfängliche Konzentrationsprofil wichtig. Zu Beginn des Experiments wurden sämtliche ungebundenen DNA-Oligomere durch Filtration entfernt und deren Konzentration in der Lösung ist demnach null. Durch die Verdünnung wurde die Desorption der Biopolymere initiiert und ungebundene DNA-Oligomere sind zunächst nur in unmittelbarer Nähe zur SWNT-Oberfläche zu finden. Am besten könnte diesem Umstand durch ein stufenförmiges Konzentrationsprofil Rechnung getragen werden, allerdings müssen für das beschriebene Verfahren stetige Funktionen verwendet werden und so wurde stattdessen eine stark abfallende Exponentialfunktion als initialer Konzentrationsverlauf für  $t = 0$  angenommen, wie sie in Abbildung 6.14 b) gezeigt ist. Außerdem muss ein Kri-

terium gefunden werden, um die Zeitskala der Diffusion über den kritischen Abstand  $d_{\text{krit}}$  zu definieren. Als Diffusionszeit  $\tau_{\text{Diff}}$  wird in diesem Falle die Zeit angenommen, zu welcher die Konzentration  $c$  bei  $x = d_{\text{krit}}$  auf  $e^{-2}$  des initialen Werts abgefallen ist. Die Ratenkonstante der Diffusion  $k_{\text{Diff}}$  ist dann gerade der Kehrwert der Diffusionszeit  $\tau_{\text{Diff}}$ .



**Abbildung 6.14.** Simuliertes Diffusionsverhalten von  $d(\text{GT})_{20}$ -Oligomeren bei  $15^\circ\text{C}$  nach Desorption von der SWNT-Oberfläche. **a)** Der Ausschnitt der Elementarzelle zeigt den zeitlichen Verlauf des Konzentrationsprofils in Abhängigkeit vom Abstand der DNA von der SWNT-Oberfläche. Nach  $\tau_{\text{Diff}}$  (gestrichelte Linie) ist die Konzentration bei  $d_{\text{krit}}$  auf  $e^{-2}$  des initialen Werts abgefallen. **b)** Konzentrationsprofile nach 0, 1,0, 5,0, 10, 23 und 30  $\mu\text{s}$ .

In Abbildung 6.14 a) ist der berechnete Konzentrationsverlauf eines  $d(\text{GT})_{20}$ -Oligomers bei  $15^\circ\text{C}$  gezeigt, dessen Diffusionskoeffizient  $D_{d(\text{GT})_{20}}^{15^\circ\text{C}}$  mit  $8.72 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  abgeschätzt wurde. Als zeitliches Inkrement  $\Delta t$  wurde 0.1 ms verwendet und die räumliche Schrittweite betrug 1 nm. Das anfängliche Konzentrationsprofil wurde mit  $e^{-5 \cdot 10^7 \text{ m}^{-1} \cdot x}$  beschrieben. Die Diffusionszeit  $\tau_{\text{Diff}}$  ist mit einer gestrichelten Linie angedeutet. In Abbildung 6.14 b) sind die berechneten Konzentrationsprofile bei  $t = 0, 1, 0, 5, 0, 10, 23$  und  $30 \mu\text{s}$  dargestellt. Der gezeigte Ausschnitt der  $x$ -Koordinate ist mit 100 nm im Vergleich zur Größe der Elementarzelle von  $3.6 \mu\text{m}$  relativ klein, wodurch die Konzentrations-



**Abbildung 6.15.** Analoge Simulation wie in Abbildung 6.14, allerdings mit einer deutlich breiteren initialen Konzentrationsverteilung.

profile dementsprechend flach erscheinen. Aus der Simulation wird eine Diffusionszeit von  $0.23 \mu\text{s}$  erhalten, was einer Diffusionsratenkonstante  $k_{\text{Diff}}$  von etwa  $4.35 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$  entspricht. Der sehr steile Konzentrationsverlauf zu Beginn der Simulation führt zu einer schnellen Diffusion, da die Konzentrationsunterschiede groß sind. Zu einem späteren Zeitpunkt des Experiments ist die DNA-Konzentration in der Lösung jedoch nicht mehr null und die Konzentrationsunterschiede dementsprechend geringer. Allerdings findet immer noch die Desorption der DNA-Oligomere von der SWNT-Oberfläche statt. Dieser Umstand kann durch eine breitere initiale Konzentrationsverteilung berücksichtigt werden. Um den Einfluss abzuschätzen, wurde die beschriebene Simulation nochmals mit identischen Parametern wiederholt, allerdings wurde zur Beschreibung der initialen Konzentrationsverteilung die Funktion  $e^{-5 \cdot 10^6 \text{ m}^{-1} \cdot x}$  verwendet. Die Ergebnisse der Simulation sind in Abbildung 6.15 dargestellt. Die ermittelte Diffusionszeit ist mit  $1.22 \text{ ms}$  deutlich länger als zuvor und die korrespondierende Ratenkonstante  $k_{\text{Diff}}$  beträgt etwa  $8.18 \cdot 10^2 \text{ s}^{-1}$ . Um festzustellen, ob die im Experiment beobachtete Kinetik diffusionslimitiert ist, müssen die in der Simulation ermit-

telten Diffusionsratenkonstanten mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten der Desorption und Adsorption verglichen werden. Nur wenn die Diffusionsratenkonstanten größer sind, kann davon ausgegangen werden, dass die Kinetik tatsächlich von der Adsorption und Desorption der DNA-Oligomere bestimmt wird. Hierfür wurde die vorgestellte Simulation für alle experimentell untersuchten DNA-Oligomere bei den entsprechenden Temperaturen durchgeführt und die Diffusionsratenkonstanten bestimmt. Die zeitlichen und räumlichen Schrittweiten blieben ebenso unverändert wie die Größe der Elementarzelle. Zur Beschreibung der initialen Konzentrationsverteilung wurde die Funktion  $e^{-5 \cdot 10^6 \text{m}^{-1} \cdot x}$  verwendet, da hierbei deutlich geringere Diffusionsratenkonstanten erhalten werden. In der Tabelle 6.5 sowie 6.6 werden die berechneten Diffusionsratenkonstanten  $k_{\text{Diff}}$  mit den experimentell ermittelten Ratenkonstanten der Adsorption und Desorption,  $k_{\text{ads}}$  und  $k_{\text{des}}$ , bei 15 °C sowie 55 °C gegenübergestellt. Die Ratenkonstanten der Adsorption haben die Einheit  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

DNA-Oligomer	$k_{\text{Diff}}^{15^\circ\text{C}}$	$k_{\text{ads}}^{15^\circ\text{C}} \cdot c_0$	$k_{\text{des}}^{15^\circ\text{C}}$
	[s <sup>-1</sup> ]	[10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> ]	
d(GT) <sub>2</sub>	2417	0.2138 ± 0.0087	0.2188 ± 0.0070
d(GT) <sub>4</sub>	1819	0.0062 ± 0.0002	0.0099 ± 0.0002
d(TAT) <sub>4</sub>	1448	0.3021 ± 0.0064	0.0161 ± 0.0003
d(GT) <sub>6</sub>	1448	0.0198 ± 0.0026	0.0017 ± 0.0001
d(GT) <sub>8</sub>	1213	0.0077 ± 0.0002	0.0046 ± 0.0001
d(GT) <sub>12</sub>	971.3	0.0056 ± 0.0003	0.0006 ± 0.0001
d(GT) <sub>16</sub>	863.3	0.0100 ± 0.0007	0.0010 ± 0.0001
d(GT) <sub>20</sub>	818.3	0.0107 ± 0.0003	0.0013 ± 0.0001

**Tabelle 6.5.** Vergleich der berechneten Diffusionsratenkonstanten mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 15 °C.

DNA-Oligomer	$k_{\text{Diff}}^{55^\circ\text{C}}$	$k_{\text{ads}}^{55^\circ\text{C}} \cdot c_0$	$k_{\text{des}}^{55^\circ\text{C}}$
	[s <sup>-1</sup> ]	[10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> ]	
d(GT) <sub>2</sub>	2750	1.071 ± 0.044	1.756 ± 0.052
d(GT) <sub>4</sub>	2070	0.113 ± 0.008	3.416 ± 0.076
d(TAT) <sub>4</sub>	1663	4.391 ± 0.181	4.929 ± 0.188
d(GT) <sub>6</sub>	1663	3.587 ± 0.379	3.608 ± 0.287
d(GT) <sub>8</sub>	1384	2.627 ± 0.099	9.211 ± 0.306
d(GT) <sub>12</sub>	1087	0.295 ± 0.009	1.817 ± 0.031
d(GT) <sub>16</sub>	965.3	1.056 ± 0.041	0.770 ± 0.022
d(GT) <sub>20</sub>	924.9	0.666 ± 0.036	1.730 ± 0.060

**Tabelle 6.6.** Vergleich der berechneten Diffusionsratenkonstanten mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 55 °C.

und müssen noch mit der Konzentration an freier DNA multipliziert werden, um eine Adsorptionsgeschwindigkeit pro Sekunde zu erhalten. Die maximale Adsorptionsgeschwindigkeit wird beobachtet, wenn alle DNA-Oligomere ungebunden in Lösung vorliegen. Da die DNA-Gesamtkonzentration  $c_0$  experimentell ermittelt wurde, konnte sie zur Multiplikation der Adsorptionsratenkonstanten verwendet werden. Sowohl für die niedrigste als auch für die höchste Versuchstemperatur kann festgestellt werden, dass die Diffusionsratenkonstanten um einige Größenordnungen größer sind als die Ratenkonstanten der Adsorption und der Desorption. Die Werte für die anderen Versuchstemperaturen sowie die verwendeten Diffusionskoeffizienten sind im Anhang ab Seite 187 zu finden und verhalten sich analog. Folglich konnte gezeigt werden, dass die beobachtete Kinetik tatsächlich vom Adsorptions- und Desorptionsverhalten der DNA-Oligomere bestimmt wird und nicht durch die anschließende Diffusion der desorbierten Oligomere von der Nanorohroberfläche limitiert ist.

Für das Polymer F8T2 sind die Diffusionskoeffizienten in den verschiedenen Lösemitteln nicht bekannt, wodurch deren Diffusionsgeschwindigkeit nicht berechnet wurde. Da die Unterschiede zwischen den Diffusionsratenkonstanten und den Ratenkonstanten der Adsorption sowie Desorption im Falle der DNA-Oligomere mehrere Größenordnungen betragen, kann jedoch davon ausgegangen werden, dass auch im Falle der F8T2–SWNT-Komplexe keine Limitierung der Kinetik durch die Polymerdiffusion angenommen werden muss.

## **6.7 Enthalpie-Entropie-Korrelation**

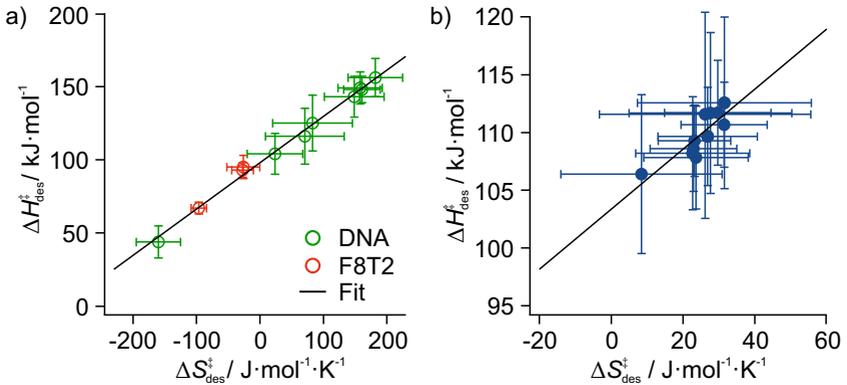
Sowohl bei den Verdünnungsexperimenten mit F8T2–SWNT- als auch mit DNA–SWNT-Komplexen ist eine Korrelation der ermittelten Enthalpie- und Entropieänderungen festzustellen, die sich darin äußert, dass ein Anstieg der Enthalpieänderung  $\Delta H$  mit einem proportionalen Anstieg der Entropieänderung  $\Delta S$  einhergeht. Die Proportionalitätskonstante  $\gamma$  hat die Dimension einer Temperatur und da sie bei etwa 300 K liegt, führt sie zu einer nahezu konstanten Änderung der Freien Enthalpie  $\Delta G$ , weshalb dieses Phänomen oft auch als Enthalpie-Entropie-Kompensation bezeichnet wird.<sup>‡</sup> Da diese Nomenklatur allerdings bereits eine Interpretation des beobachteten Effekts implementiert, wird im Rahmen dieser Arbeit der neutrale Begriff Korrelation verwendet. Eine derartige Enthalpie-Entropie-Korrelation (EEC) wurde erstmals von F. Constable bei der katalytischen Alkoholoxidation beobachtet und seitdem in zahlreichen weiteren Reaktionen festgestellt, ohne dass deren Ursprung eindeutig geklärt wurde.<sup>[124–126]</sup> Vor allem bei der Untersuchung eines ähnlichen Prozesses in unterschiedlichen Lösemitteln oder bei der Analyse chemischer Reaktionen verschiedener

---

<sup>‡</sup> In der Literatur sind noch weitere Bezeichnungen wie isokinetische Beziehung üblich. Die benutzten Termini sind im Übersichtsartikel von Liu und Guo erläutert.<sup>[124]</sup>

Homologe einer Substanzklasse – wie dies auch in der vorliegenden Arbeit der Fall ist – wird dieser Effekt beobachtet.<sup>[127]</sup> In diesem Abschnitt wird gezeigt, dass der Ursprung der beobachteten Korrelation nicht wie oft dargelegt in der statistischen Streuung der ermittelten Enthalpie- und Entropieänderungen liegt, sondern stattdessen vermutlich auf Lösemittelleffekte zurückgeführt werden kann, wie dies bereits bei der Diskussion der Ergebnisse der F8T2–SWNT-Verdünnungsexperimente getan wurde.

Grundlage der Diskussion der Enthalpie-Entropie-Korrelation ist die in Abbildung 6.16 gezeigte sogenannte Constable-Auftragung, bei der die ermittelten Enthalpieänderungen  $\Delta H$  gegen die Entropieänderungen  $\Delta S$  dargestellt werden. In diesem Fall wurden die Aktivierungsparameter der Desorption für die DNA–SWNT- und die F8T2–SWNT-Verdünnungsexperimente gewählt, die weiteren Datensätze finden sich im Anhang. Ist innerhalb der Versuchsreihe eine Enthalpie-Entropie-Korrelation zu beobachten, so sind die Werte entlang einer Geraden mit der Steigung  $\gamma$  angeordnet, deren Ordinatenabschnitt der Freien Enthalpie  $\Delta G$  für  $T = \gamma$  entspricht. In einigen Veröffentlichungen wurde gezeigt, dass die Korrelation sowohl durch statistische als auch durch systematische Fehler bei der Bestimmung der Ratenkonstanten hervorgerufen werden kann.<sup>[128,129]</sup> Ebenso ist es möglich, die EEC bei der Analyse zufällig generierter Ratenkonstanten zu beobachten.<sup>[124,130]</sup> Um diese Ursache auszuschließen, wurden – analog zur Anzahl der experimentell bestimmten Werte – 55 Ratenkonstanten zufällig generiert und einer Eyring-Analyse unterzogen. Die erzeugten Geschwindigkeitskonstanten variierten in einem Bereich von  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$  bis  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , welcher der Spannweite der experimentell bestimmten Ratenkonstanten der Desorption entspricht. Die generierten Werte wurden aufsteigend sortiert und in fünf Gruppen à elf Ratenkonstanten eingeteilt, wobei jeder Gruppe ebenfalls aufsteigend eine Temperatur von  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  bis  $55 \text{ }^\circ\text{C}$  zugeordnet wurde. Aus diesem zufällig erzeugten Datensatz konnten folglich elf Ver-



**Abbildung 6.16.** Constable-Auftragung **a)** der Aktivierungsparameter der DNA- und F8T2-Desorption sowie **b)** der Ergebnisse der Eyring-Analyse von 55 zufällig generierten Ratenkonstanten. Die Varianzen der simulierten Werte sind im Vergleich zur Spannweite der Daten deutlich größer.

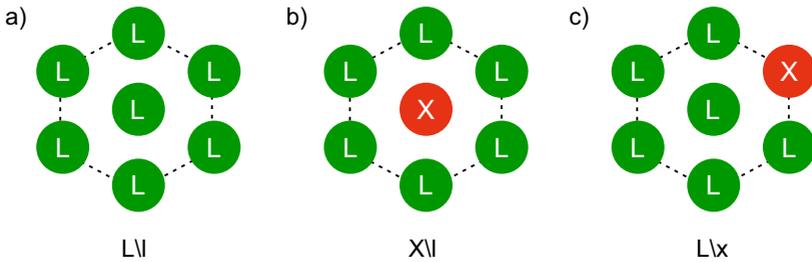
suchsreihen simuliert werden, die denselben Temperaturbereich wie die Verdünnungsexperimente abdeckten. Für jede simulierte Versuchsreihe wurde je eine Ratenkonstante der entsprechenden Temperaturgruppe herangezogen und gemäß Gleichung 6.7 aufgetragen. Durch lineare Regression wurde die Enthalpie- und Entropieänderung des simulierten Ensembles bestimmt. Die Varianzen von  $\Delta H$  und  $\Delta S$  wurden – wie auch bei den experimentellen Werten – mittels der Standardabweichung der Koeffizienten der linearen Anpassung über die Gauß'sche Fehlerfortpflanzung bestimmt. Die Ergebnisse einer Simulationsreihe sind in Abbildung 6.16 b) gezeigt und es lässt sich in der Tat eine Korrelation der zufällig generierten Werte feststellen. Im Vergleich zur Constable-Auftragung der experimentellen Werte in Teil a) ist jedoch augenscheinlich, dass die Varianzen der einzelnen Werte bei den simulierten Daten deutlich größer sind als die Variationen des gesamten Ensembles. Dies ist ein charakteristisches Merkmal für eine durch statistische Ursachen hervorgerufene EEC.<sup>[124,131]</sup> Da die Varianzen der experimentell

bestimmten Werte deutlich kleiner sind, kann der Ursprung der beobachteten Enthalpie-Entropie-Korrelation nicht in der statistischen Variation der ermittelten Daten liegen.

Versucht man die EEC auf physikalisch-chemische Ursachen zurückzuführen, so scheint eine Korrelation zwischen der Enthalpie- und Entropieänderung einer Bindungsreaktion tatsächlich naheliegend. Betrachtet man die Vorgänge auf mikroskopischer Ebene, so ist eine stark negative Enthalpieänderung auf eine feste Bindung zwischen den Reaktionspartnern zurückzuführen. Aufgrund dieser rigiden Bindung werden allerdings auch die möglichen Freiheitsgrade des Systems eingeschränkt und die Entropieänderung nimmt ebenfalls negative Werte an. Obgleich also eine qualitative Korrelation von  $\Delta H$  und  $\Delta S$  durchaus zu erwarten ist, scheint die quantitative Kompensation der beiden Beiträge im Bereich der Versuchstemperatur doch eine tiefgreifendere Analyse zu erfordern. In der Literatur werden zahlreiche Modelle diskutiert, wobei Solvenseffekte insbesondere bei biochemischen Reaktionen wie Proteinfaltungen und DNA-Enzym-Wechselwirkungen zur Erklärung der beobachteten EEC herangezogen werden.<sup>[132–135]</sup> Neben diesen spezifischen Erklärungsansätzen sind auch Arbeiten in der Literatur bekannt, die die EEC als grundlegenden Effekt bei der Beobachtung nicht-kovalenter Wechselwirkungen in polar-protischen Lösemitteln – allen voran Wasser – aufzeigen.<sup>[131,136–139]</sup> Im Folgenden sollen die von E. Grunwald und C. Steel angeführten Überlegungen vorgestellt werden.<sup>[131]</sup> Dabei wird die Lösung eines Teilchens in ein Solvens betrachtet, wobei sich die gefundenen Zusammenhänge auch auf Bindungsreaktionen zweier Komponenten übertragen lassen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird hier jedoch nur die Lösung eines Teilchens  $X_{(s)}$  aus dem Festkörper vorgestellt, welche konventionell wie folgt geschrieben wird:



In dieser Schreibweise wird allerdings nur der veränderten Situation des Teilchens X Rechnung getragen, wohingegen die Veränderung der Lösemittelmoleküle unberücksichtigt bleibt. Bei stark verdünnten Lösungen, wie sie auch im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, lassen sich unter Einbezug des Solvens drei Zustände in der flüssigen Phase unterscheiden, die schematisch in Abbildung 6.17 dargestellt sind.



**Abbildung 6.17.** Lösemittel L und die gelöste Substanz X mit ihren Solvathüllen (nach E. Grunwald und C. Steel *J. Am. Chem. Soc.* **1995**). In **a)** und **b)** besteht die Hülle komplett aus Lösemittelmolekülen L, wohingegen bei **c)** der gelöste Stoff X inkorporiert ist.<sup>[131]</sup>

Der einfachste Zustand ist in Teil a) der Abbildung gezeigt, wobei ein Lösemittelmolekül L nur von anderen Lösemittelmolekülen umgeben ist. Dieser Zustand wird im Folgenden durch die Notation  $L\backslash l$  gekennzeichnet. Ist die Mitte der Solvathülle von einem Teilchen des gelösten Stoffs X besetzt wie in b), wird dies als  $X\backslash l$  gekennzeichnet. Der gelöste Stoff kann jedoch auch Bestandteil der Solvathülle sein wie in Teil c) der Abbildung skizziert. Dieser Zustand wird dann mit  $L\backslash x$  beschrieben. Darauf aufbauend lässt sich die Reaktionsgleichung 6.17 unter Berücksichtigung der Umgebung des gelösten Stoffs formulieren.



Dabei gibt  $z_X$  die Anzahl der Moleküle L in der Solvathülle von X an. Diese Gleichung hebt sich nur von Gleichung 6.17 ab, wenn sich  $L\setminus l$  und  $L\setminus x$  ausreichend unterscheiden, wie es vor allem bei Wasserstoffbrücken bildenden Solvenzien der Fall ist.<sup>[131,140,141]</sup> Für den Fall der Unterscheidbarkeit lässt sich Gleichung 6.18 in einen nominellen Part, der die eigentliche Reaktion des Stoffs X wiedergibt, sowie einen Teil der die Änderung der Umgebung repräsentiert, aufteilen.



In den weiteren Überlegungen wird nun gezeigt, dass die Enthalpie-Entropie-Korrelation von der Umgebungsgleichung 6.20 herrührt. Die Freie Enthalpie  $G$  des Gesamtvorgangs (Gleichung 6.18) ergibt sich aus den partiellen Freien Enthalpien der einzelnen Komponenten.

$$G = n_{L\setminus l} \left( \frac{\partial G}{\partial n_{L\setminus l}} \right) + n_{L\setminus x} \left( \frac{\partial G}{\partial n_{L\setminus x}} \right) + n_{X\setminus l} \left( \frac{\partial G}{\partial n_{X\setminus l}} \right) \quad (6.21)$$

Dabei steht  $n_{j\setminus i}$  für die Stoffmengen der entsprechenden Spezies in der beschriebenen Lösemittelumgebung, die sich aus der molaren Stoffmenge der Komponenten  $n_j$  und der Anzahl der Moleküle in der Solvathülle  $z_X$  berechnen lassen.

$$n_{X\setminus l} = n_X \quad n_{L\setminus x} = z_X n_X \quad n_{L\setminus l} = n_L - z_X n_X \quad (6.22)$$

Damit lässt sich Gleichung 6.21 umschreiben, wobei die partiellen Freien Enthalpien nach der Stoffmenge  $n_{j\setminus i}$  hier und im Folgenden mit  $G_{j\setminus i}$  abgekürzt werden.

$$G = n_L G_{L\lambda} + z_X n_X (G_{L\lambda X} - G_{L\lambda}) + n_X G_{X\lambda} \quad (6.23)$$

Bei Einstellung der Gleichgewichtslage der Reaktion weist die Freie Enthalpie ein Minimum auf und demnach muss die Änderung der Freien Enthalpie null sein. Da ein geschlossenes System betrachtet wird, sind die molaren Stoffmengen konstant und die einzig veränderliche Variable in Gleichung 6.23 ist  $z_X$ . In der Gleichgewichtslage gilt folglich für die partielle Ableitung von Gleichung 6.23 nach  $z_X$ :

$$\frac{\partial G}{\partial z_X} = n_X (G_{L\lambda X} - G_{L\lambda}) = 0 \quad (6.24)$$

Der Ausdruck in der Klammer stellt gerade die Änderung der Freien Enthalpie der Umgebung  $\Delta G_{\text{env}}$  dar. Da  $n_X \neq 0$  ist, muss  $\Delta G_{\text{env}} = 0$  gelten. Da bei der beobachteten Reaktion jedoch eine Umlagerung der Solvensmoleküle erfolgt, müssen die einzelnen Beiträge zu  $\Delta G_{\text{env}}$ , also  $\Delta H_{\text{env}}$  und  $\Delta S_{\text{env}}$ , wiederum ungleich null sein. Um Gleichung 6.24 dennoch erfüllen zu können, muss sich für die Gleichgewichtstemperatur  $T_{\text{eq}}$  folgender Ausdruck ergeben:

$$\Delta H_{\text{env}} = T_{\text{eq}} \cdot \Delta S_{\text{env}} \quad (6.25)$$

Auch wenn dies bereits die Enthalpie-Entropie-Korrelation widerspiegelt, muss noch untersucht werden, ob sich diese auch auf die Enthalpie- sowie Entropieänderung des untersuchten Stoffs X,  $\Delta H_X$  und  $\Delta S_X$ , auswirkt. Um dies zu zeigen, werden der äquilibrierten Lösung  $dn_X$  X-Moleküle hinzugefügt. Damit werden nicht nur  $dn_X$  zusätzliche Moleküle vom Typ X $\lambda$  erzeugt, sondern es wechseln auch  $z_X dn_X$  Lösemittelmoleküle von L $\lambda$  nach L $\lambda$ X. Die Lösung wird immer noch als verdünnt

angenommen, so dass  $z_X$  in der Gleichgewichtslage unverändert bleibt. Für die Änderung der partiellen Freien Enthalpie von X gilt also:

$$G_X = G_{X\text{L}} + z_X (G_{L\setminus X} - G_{L\text{L}}) \quad (6.26)$$

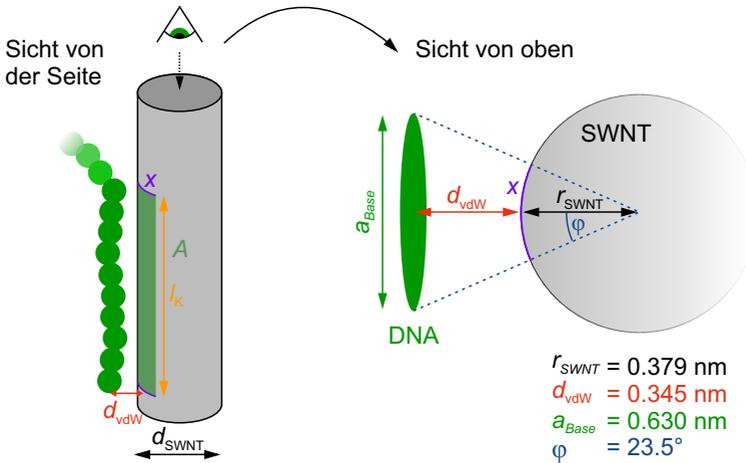
Unter Berücksichtigung von  $\Delta G_{\text{env}} = 0$  gilt demnach  $G_X = G_{X\text{L}}$  und die Reaktion der Solvensmoleküle zeigt keinen Einfluss auf die Änderung der Freien Enthalpie von X. Analog zur Freien Enthalpie  $G_X$  lassen sich die partiellen Enthalpie- und Entropieänderungen  $\partial H/\partial n_X$  und  $\partial S/\partial n_X$  formulieren, die im Folgenden ebenso als  $H_{J\setminus i}$  bzw.  $S_{J\setminus i}$  abgekürzt werden wie die partiellen Freien Enthalpien  $G_{J\setminus i}$ .

$$H_X = H_{X\text{L}} + s_X (H_{L\setminus X} - H_{L\text{L}}) \quad (6.27)$$

$$S_X = S_{X\text{L}} + s_X (S_{L\setminus X} - S_{L\text{L}}) \quad (6.28)$$

Die Enthalpie- und Entropieänderungen der Umgebung,  $(H_{L\setminus X} - H_{L\text{L}})$  und  $(S_{L\setminus X} - S_{L\text{L}})$ , sind ungleich null und tragen – anders als bei  $G_X$  – explizit zu den Enthalpie- und Entropieänderungen der untersuchten Substanz X bei. Unverändert bleibt jedoch, dass sich die enthalpischen und entropischen Beiträge der Umgebung bei der Gleichgewichtstemperatur  $T_{\text{eq}}$  aufheben, um Gleichung 6.25 zu erfüllen. Die ermittelten Zusammenhänge lassen sich analog auch auf eine Dimerisierung zweier Komponenten X und Y zu X–Y im Lösemittel L übertragen und liefern die gleichen Zusammenhänge.<sup>[131]</sup>

Nach Gleichung 6.27 resultiert ein Teil der Enthalpieänderung einer Reaktion aus der Änderung der Lösemittelstruktur. Um dies zu überprüfen und den Einfluss zu quantifizieren, soll der Beitrag für den Fall der



**Abbildung 6.18.** Skizze zur Bestimmung der Kontaktfläche  $A$  zwischen einem Kuhn-Segment der DNA und der SWNT. Diese ergibt sich aus der Projektion des Kuhn-Segments über den van-der-Waals-Abstand  $d_{vdW}$  auf die gekrümmte SWNT-Oberfläche.

Desorption eines Kuhn-Segments der DNA abgeschätzt werden. Dieser wird im Wesentlichen als hydrophobe Wechselwirkung zwischen der wässrigen PBS-Lösung und der lipophilen Nanorohroberfläche sowie den ebenfalls lipophilen Nukleinbasen angenommen.<sup>[105]</sup> In Folge der Desorption werden also zwei neue, hydrophobe Oberflächen generiert, die mit dem wässrigen Medium in Kontakt kommen. Der enthalpische Beitrag kann daher näherungsweise über die Oberflächenspannung von Wasser berechnet werden, wenn die Größe der neu mit Solvens exponierten Fläche bekannt ist. Abbildung 6.18 zeigt schematisch die geometrischen Verhältnisse, die zur Berechnung der Fläche  $A$  herangezogen werden müssen. Im linken Teil der Abbildung ist die Sichtachse orthogonal zur SWNT-Achse orientiert, wohingegen sie in der rechten Hälfte parallel zu dieser liegt. Die Fläche  $A$  stellt die Projektion des Kuhn-Segments auf die SWNT-Oberfläche über den van-der-Waals-Abstand

$d_{\text{vdW}}$  (rot) dar und wird vereinfacht als Rechteck angenommen. Dabei entspricht eine Seite von  $A$  der Kuhn-Länge  $l_K$  (orange). Die zweite Seite  $x$  des Rechtecks (lila) ergibt sich aus der Breite des Kuhn-Segments, also der Breite einer Nukleinbase  $a_{\text{Base}}$ , sowie dem van-der-Waals-Abstand und dem Radius  $r_{\text{SWNT}}$  (schwarz) einer (6,5)-SWNT. Alle angeführten Werte sind bekannt, wodurch auch der Winkel  $\varphi$  (blau) zugänglich ist. Der van-der-Waals-Abstand zwischen den Nukleinbasen und der Nanoröhroberfläche beträgt 0.345 nm, die Kuhn-Länge  $l_K$  einzelsträngiger DNA 6.0 nm und die Länge einer DNA-Base 0.63 nm.<sup>[46,106,110]</sup> Die zweite Seite des Rechtecks hat demnach eine Länge von  $x = 0.31$  nm und die Fläche  $A$  dehnt sich folglich über 1.87 nm<sup>2</sup> aus. Nach der Desorption ist diese Fläche sowohl auf der Nanoröhre als auch am DNA-Strang mit dem Solvens in Kontakt und es muss noch ein Faktor zwei berücksichtigt werden. Die Oberflächenspannung von Wasser ist mit 43 kJ·mol<sup>-1</sup>·nm<sup>-2</sup> angegeben, wodurch sich eine Enthalpie von 161 kJ·mol<sup>-1</sup> bestimmen lässt, um die beiden Flächen mit Wasser zu benetzen.<sup>[142]</sup> Dieser Wert ist etwas größer als der experimentell bestimmte Sättigungswert der Aktivierungsenthalpie, der im Bereich von 143–156 kJ·mol<sup>-1</sup> liegt. Zwar ist anzunehmen, dass die tatsächliche Fläche  $A$  aufgrund der sphärischen Form der Nukleinbasen geringer ist als über die angeführten Überlegungen berechnet. Außerdem haben MD-Simulationen gezeigt, dass auch im adsorbierten Zustand bereits Wasserstoffbrückenbindungen bestehen.<sup>[104]</sup> Jedoch kann davon ausgegangen werden, dass die Ausbildung der neuen Hydrathülle in Folge der DNA-Desorption einen wesentlichen Beitrag zu den beobachteten Enthalpie- und Entropieänderungen leistet und ebenso für deren Korrelation verantwortlich ist. Da jedoch die Fläche  $A$  direkt proportional zur Länge des adsorbierten *train*-Segments ist, bleiben die beobachteten Trends bezüglich der Abhängigkeit von der Nukleinbasenzahl und die daraus abgeleitete Adsorptionskonformation dennoch gültig. Allerdings können die ermittelten Zahlenwerte der Enthalpie- und Entropieänderungen nicht allein auf die Wechselwirkun-

gen zwischen den DNA-Oligomeren und der Nanorohroberfläche bezogen werden, da ein erheblicher Beitrag der Umorientierung der Solvathülle zugesprochen werden muss. Im Gegensatz dazu bleiben die ermittelten Werte der Änderung der Freien Enthalpie unbeeinflusst. Sie spiegeln die hohe Stabilität der DNA–SWNT-Komplexe wider, die für die untersuchten DNA-Oligomere – mit Ausnahme des d(GT)<sub>2</sub>-FAM – unabhängig von deren Nukleinbasenzahl ist.

Bei den F8T2-Verdünnungsexperimenten sind die beobachteten Aktivierungsenthalpien mit weniger als 100 kJ·mol<sup>-1</sup> deutlich geringer als bei den DNA-Experimenten, was auf die schwächeren Interaktionen der organischen Solvenzien im Vergleich zu den Wasserstoffbrückenbindungen im wässrigen Medium zurückgeführt werden kann. Da jedoch alle zur Auswertung herangezogenen Lösemittel ein aromatisches  $\pi$ -System aufweisen, sind relativ starke  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen möglich, wodurch auch hier die Grunwald'sche Argumentation, welche in diesem Abschnitt vorgestellt wurde, zutreffend ist und ein erheblicher Beitrag der Enthalpie- und Entropieänderungen auf die Reorganisation der Solvathülle zurückgeführt werden kann. Der bei den F8T2-Verdünnungsexperimenten beobachtete unerwartete Trend der Aktivierungsentropien lässt sich ebenso innerhalb dieses Modells erklären.

## **6.8 Zusammenfassung**

In diesem Kapitel wurde eine Konzentrationssprungmethode für F8T2-SWNT- sowie DNA-SWNT-Komplexe vorgestellt, um das Desorptionsverhalten der (Bio-)Polymere zu untersuchen. Anhand der Desorptionskinetik konnte im Einklang mit den Ergebnissen der Filtrationsmethode aus Kapitel 5.1.1 gezeigt werden, dass sich die DNA-Adsorption nur unzureichend mit dem helikalen Adsorptionsmodell erklären lässt, sondern über ein einzelnes Kuhn-Segment der Biopolymere erfolgt.

Die temperaturabhängigen Ratenkonstanten wurden durch Verdünnung der entsprechenden Komplexe in reinem Lösemittel bestimmt, wobei die Desorption der (Bio-)Polymere über den Anstieg der Fluoreszenzintensität infolge der reduzierten Fluoreszenzlöschung durch die SWNTs verfolgt wurde. Die Ratenkonstanten wurden einer Eyring- sowie van't Hoff-Analyse unterzogen, um die Enthalpie- und Entropieänderungen der Aktivierung sowie der Gesamtreaktion zu bestimmen. Die Diffusionsratenkonstanten der DNA-Oligomere wurden mithilfe des Crank-Nicolson-Verfahrens berechnet und durch deren Vergleich mit den experimentell ermittelten Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption wurde gezeigt, dass die untersuchten Vorgänge nicht diffusionslimitiert sind. Die festgestellte Kinetik lässt sich demnach tatsächlich auf die Desorption der (Bio-)Polymere zurückführen. Die bei den Versuchen beobachtete Enthalpie-Entropie-Korrelation wurde nach Ausschluss statistischer Ursachen auf Änderungen der Solvathülle zurückgeführt, wodurch die Werte der ermittelten Enthalpie- und Entropieänderungen nicht ausschließlich auf den Wechselwirkungen zwischen der Nanorohroberfläche und den (Bio-)Polymeren beruhen, sondern erheblich von der Änderung der Solvensumgebung beeinflusst sind. Die gefundenen relativen Veränderungen in Abhängigkeit der Güte des Lösemittels bzw. der Nukleinbasenzahl und -sequenz bleiben dadurch allerdings unberührt.

Durch die Verdünnungsexperimente mit F8T2–SWNT-Komplexen sollte gezeigt werden, ob die Qualität des Lösemittels den erwarteten Einfluss auf die Desorption des Polymers von der SWNT-Oberfläche zeigt. Daher wurden vier Lösemittel für die Verdünnungsexperimente verwendet, in denen das Polymer jeweils eine unterschiedliche Löslichkeit aufwies. Es wurde erwartet, dass die Aktivierungsbarriere in guten Lösemitteln kleiner ist und die Desorption schneller abläuft. Diese Annahme wurde für den Verlauf der Aktivierungsenthalpie der Desorption bestätigt, da das mit Abstand beste Lösemittel Chlorbenzol eine um  $25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  niedrigere Aktivierungsenthalpie zeigt als die anderen untersuchten Lösemittel. Im Falle des Methylcyclohexans, für das die niedrigste Löslichkeit dokumentiert wurde, konnte innerhalb des untersuchten Temperaturbereichs auch nach mehreren Stunden kein Anstieg der Fluoreszenzintensität festgestellt werden. Das schlechte Lösemittel verhinderte in diesem Fall die Desorption des Polymers. Die Werte der Freien Aktivierungsenthalpie der Desorption  $\Delta G_{\text{des}}^{\ddagger}$  bestätigen ebenso die erwartete Tendenz, weisen im Vergleich zu  $\Delta H_{\text{des}}^{\ddagger}$  allerdings eine weniger stark ausgeprägte Sensitivität bezüglich des verwendeten Solvens von  $3\text{--}5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  auf. Im Gegensatz dazu folgen die Werte der Aktivierungsentropie der Desorption  $\Delta S_{\text{des}}^{\ddagger}$  nicht dem vorhergesagten Trend, sondern verlaufen entgegengesetzt. Dies kann auf die Änderung der Solvathülle beim Übergang vom adsorbierten Zustand des Polymers in das Lösemittel zurückgeführt werden.

Im Rahmen der DNA–SWNT-Verdünnungsexperimente sollte untersucht werden, ob die Nukleinbasenzahl und -sequenz einen Einfluss auf die Stabilität der DNA–SWNT-Komplexe zeigen. Hierfür kamen verschieden lange  $d(\text{GT})_n$ -Oligomere ( $n = 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20$ ) sowie die Erkennungssequenz  $d(\text{TAT})_4$  zum Einsatz, die allesamt fluoreszenzmarkiert waren.<sup>[15]</sup> Unter Annahme des helikalen Adsorptionsmodells wurde erwartet, dass sowohl die Aktivierungsenthalpie der Desorption als auch deren Aktivierungsentropie mit der Nukleinbasenzahl der Oligo-

mere zunimmt.<sup>[17,23]</sup> Dieser Trend wurde jedoch lediglich für Biopolymere mit weniger als zwölf Nukleinbasen gefunden, wohingegen für längere DNA-Oligomere keine Änderung der Aktivierungsparameter in Abhängigkeit der Basenzahl beobachtet wurde. Aus dieser Kinetik lässt sich die Desorption eines Kuhn-Segments – welches aus 9–10 Basen besteht – als geschwindigkeitsbestimmender Schritt identifizieren.<sup>[46]</sup> Die einzelnen Kuhn-Segmente richten sich demnach nicht nur in Lösung eigenständig aus, sondern behalten ihre charakteristische Unabhängigkeit auch im adsorbierten Zustand bei. Für die Erkennungssequenz der (6,5)-SWNTs, d(TAT)<sub>4</sub>, konnte kein abweichendes Desorptionsverhalten festgestellt werden. Alle untersuchten DNA–SWNT-Komplexe zeigen ebenso wie die F8T2–SWNT-Komplexe eine nahezu identische Aktivierungsbarriere der Desorption von etwa 100 kJ·mol<sup>-1</sup>, die sich in der hohen Stabilität der entsprechenden Komplexe bei Raumtemperatur widerspiegelt.

Die Ergebnisse dieses Kapitels zeigen, dass mit einer Konzentrationsprungmethode die Desorptionskinetik verschiedener (Bio-)Polymere von der Nanorohroberfläche quantitativ verfolgt werden kann. Die Methode lässt sich prinzipiell auch auf andere Polymer–SWNT-Komplexe übertragen, wobei gegebenenfalls eine Anpassung der optischen Komponenten sowie der zur Anregung genutzten Lichtquelle erforderlich ist. Aus den temperaturabhängigen Experimenten lassen sich sowohl die Aktivierungsparameter als auch die Bindungsenergien bestimmen, wodurch Aussagen über das Adsorptionsverhalten der (Bio-)Polymere möglich sind. Die Werte der ermittelten Gleichgewichtskonstanten der DNA-Adsorption im Bereich von 1·10<sup>7</sup> L·mol<sup>-1</sup> bis 3·10<sup>9</sup> L·mol<sup>-1</sup> sind im Vergleich zu den im Rahmen der Filtrationsexperimente bestimmten Werten um mehrere Größenordnungen höher, was letztlich die Notwendigkeit untermauert, reine DNA–SWNT-Komplexe zu untersuchen.

# 7 Zusammenfassung

Die Wechselwirkungen zwischen organischen Dispergiermitteln und nanoskaligen Oberflächen spielen eine herausragende Rolle in der Nanotechnologie.<sup>[9,13,31]</sup> Zu deren Charakterisierung stellen Komplexe aus Kohlenstoffnanoröhren und (Bio-)Polymeren aufgrund der großen Oberfläche der Nanoröhren und der kommerziellen Verfügbarkeit fluoreszenzmarkierter DNA-Oligomere unterschiedlicher Länge sowie intrinsisch fluoreszierender Polymere ein vielversprechendes Modellsystem dar.<sup>[9]</sup> Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden verschiedene Methoden evaluiert, um die Stabilität derartiger Komplexe zu untersuchen und dadurch Rückschlüsse auf das Adsorptionsverhalten der (Bio-)Polymere zu ziehen. Dabei konnte gezeigt werden, dass das publizierte helikale Adsorptionsmodell der DNA auf Kohlenstoffnanoröhren die Resultate der durchgeführten Experimente nur unzureichend beschreiben kann und stattdessen andere Adsorptionskonformationen in Erwägung gezogen werden müssen.

Basierend auf Austauschexperimenten tensiddispersierter SWNTs mit unterschiedlich langen DNA-Oligomeren konnte über eine Filtrationsmethode die maximale Beladung der Nanorohroberfläche mit DNA bestimmt werden. Die gefundenen Ergebnisse lassen sich allerdings nicht mit dem helikalen Adsorptionsmodell der Biopolymere in Einklang bringen.<sup>[17,23]</sup> Zum einen sind deutlich mehr Oligomere auf der Nanorohroberfläche gebunden als aus geometrischen Überlegungen zu erwarten wäre. Zum anderen ist der ermittelte Platzbedarf der Biomoleküle

auf den Nanoröhren nahezu unabhängig von der DNA-Länge. Die Befunde lassen sich mit einem erweiterten Adsorptionsmodell erklären, bei dem die Oligomere nur mit einem Teil der im DNA-Strang enthaltenen Nukleinbasen auf der Nanoröhroberfläche als *train*-Segment gebunden sind, wohingegen der Rest als *tail* nicht mit der Nanoröhre in Wechselwirkung tritt. Aus den Messungen ließ sich die Länge eines *train*-Segments auf drei bis sechs Nukleinbasen abschätzen.

Um die räumliche Trennung adsorbierter und ungebundener DNA obsolet zu machen, wurde das Adsorptionsverhalten der DNA-SWNT-Komplexe mittels Fluoreszenzkorrelationspektroskopie untersucht. Als Ausgangspunkt wurden aufgrund der einfacheren Verfügbarkeit tensid-dispergierter Nanoröhren erneut Austauschexperimente gewählt, anhand derer gezeigt werden konnte, dass sich auf SWNTs adsorbierte DNA-Oligomere in Gegenwart freier DNA über FCS-Messungen detektieren lassen. Um die Beeinflussung des Adsorptionsverhaltens der Biopolymere durch die Tenside zu umgehen, wurden reine DNA-SWNT-Komplexe im FCS-Mikroskop untersucht, wobei Gemische aus fluoreszenzmarkierten und unmarkierten Oligomeren zum Einsatz kamen. Aufgrund der erforderlichen hohen Konzentration unmarkierter DNA-Oligomere konnte jedoch keine Adsorption der markierten Biopolymere detektiert werden.

Mithilfe einer Konzentrationssprungmethode wurde die Desorption von acht DNA-Oligomeren mit unterschiedlicher Nukleinbasenzahl und -sequenz sowie des synthetischen Polymers F8T2 untersucht. Die ungebundenen (Bio-)Polymere wurden abgetrennt und die verbliebenen SWNT-Komplexe in reinem Lösemittel resuspendiert. Durch diesen Konzentrationssprung wurde die Desorption der (Bio-)Polymere von der Nanoröhroberfläche initiiert, die eine verminderte Fluoreszenzlöschung durch die SWNTs zur Folge hat und daher über den Anstieg der detektierten Fluoreszenzintensität verfolgt werden konnte.

---

In temperaturabhängigen Experimenten wurden die Ratenkonstanten der Adsorption und Desorption bestimmt und einer Eyring- sowie van't Hoff-Analyse unterzogen, um die Enthalpie- und Entropieänderungen der Aktivierung sowie der Gesamtreaktion zu ermitteln. Es konnte gezeigt werden, dass die beobachtete Korrelation der ermittelten Enthalpie- und Entropieänderungen nicht statistischen Ursprungs ist, sondern auf Solvenseffekte zurückgeführt werden kann.<sup>[124,131]</sup> Mit Hilfe des Crank-Nicolson-Verfahrens wurde die Zeitskala der Diffusion abgeschätzt und durch Vergleich der aus der Simulation erhaltenen Diffusionsratenkonstanten mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten von Adsorption sowie Desorption konnte gezeigt werden, dass der Prozess nicht diffusionslimitiert ist, wodurch die Daten eine Interpretation des Desorptionsverhaltens ermöglichen.<sup>[61,65,70]</sup>

Die F8T2-SWNT-Komplexe wurden in vier Lösemitteln verdünnt, in denen das Polymer jeweils eine unterschiedliche Löslichkeit zeigte. Die Aktivierungsenthalpie der Desorption war im besten Lösemittel Chlorbenzol um  $25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  niedriger als in den anderen Solvenzien, wobei das schlechteste Lösemittel Methylcyclohexan die Desorption sogar komplett unterband. Die durchweg beobachtete negative Aktivierungsentropie der Desorption wurde über die Reorganisation der Lösemittelmoleküle im Zuge der Desorption erklärt. Bei der DNA-Desorption konnte kein Einfluss der Nukleinbasensequenz, jedoch eine Längenabhängigkeit festgestellt werden. Die Aktivierungsparameter für kurze Oligomere zeigten einen proportionalen Anstieg mit der enthaltenen Nukleinbasenzahl, während für DNA-Oligomere mit mehr als zwölf Basen eine Sättigung beobachtet wurde, die sich erneut nicht mit dem helikalen Adsorptionsmodell vereinbaren ließ. Vielmehr deuten auch diese Resultate auf eine partielle Adsorption des DNA-Strangs hin, wobei die Bindung über ein einzelnes Kuhn-Segment der Biopolymere erfolgt – das in etwa aus zehn Nukleinbasen besteht – und die restlichen DNA-Basen als *tail*-Segmente ungebunden vorliegen.<sup>[46]</sup>

Sowohl bei den F8T2- als auch bei den DNA-Experimenten beträgt die Freie Aktivierungsenthalpie der Desorption in etwa  $100 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  und spiegelt damit die hohe Stabilität der untersuchten Komplexe bei Raumtemperatur wider, die sich auch in den hohen Werten der Gleichgewichtskonstanten wiederfindet. Darüber hinaus zeigten die Messungen, dass die Biopolymere im adsorbierten Zustand konformativ weit weniger eingeschränkt sind als bisher angenommen. <sup>[17,23–25,143]</sup>

Das Ziel dieser Arbeit war es, spektroskopische Methoden zu entwickeln, um das Adsorptionsverhalten von (Bio-)Polymeren auf Kohlenstoffnanoröhren zu untersuchen. Mit einer einfachen Filtrationsmethode konnte gezeigt werden, dass die Adsorption der DNA-Oligomere nur über eine sequenzielle Anlagerung des DNA-Strangs erfolgt, wobei die Aussagekraft der Ergebnisse durch das anwesende tensidische Dispergiermittel sowie den Einfluss der Filtration eingeschränkt ist. Durch den Einsatz der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie konnte auf die mechanische Trennung adsorbierter und freier DNA verzichtet werden, jedoch ist es nicht gelungen, das Adsorptionsverhalten reiner DNA-SWNT-Komplexe quantitativ zu analysieren, weshalb dieser Methodik nicht weiter nachgegangen wurde. Stattdessen konnte durch eine Konzentrationsprungmethode das Desorptionsverhalten sowie die Adsorptionskonformation verschiedener DNA-Oligomere untersucht werden, womit die Ergebnisse der Filtrationsmethode bestätigt wurden. Die im Rahmen der Verdünnungsexperimente ermittelten Werte der Gleichgewichtskonstanten sowie die Länge des adsorbierten *train*-Segments der Biopolymere liegen jedoch deutlich höher als bei den Filtrationsexperimenten und untermauern die Notwendigkeit, reine DNA-SWNT-Komplexe zu untersuchen.

Die vorgestellte Konzentrationsprungmethode lässt sich auf weitere Polymer-SWNT-Komplexe übertragen, wie es beispielhaft für das synthetische Polymer F8T2 gezeigt wurde. Damit bietet die Methode Zugang

---

zu grundlegenden physikalisch-chemischen Parametern von Polymer-SWNT-Komplexen wie Adsorptions- und Desorptionsratenkonstanten, Gleichgewichtskonstanten sowie Bindungsenergien, die die Wechselwirkung organischer Dispergiermittel mit nanoskaligen Oberflächen bestimmen.



## 8 Summary

Interactions between organic dispersants and nanoscopic surfaces are of crucial interest in the field of nanotechnology.<sup>[9,13,31]</sup> For characterization of such interactions, complexes of single-wall carbon nanotubes and (bio-)polymers are considered to be a promising model system due to the large specific surface of the nanotubes as well as the commercial availability of fluorescently labeled, length-scaled DNA oligomers and intrinsic fluorescent synthetic polymers.<sup>[9]</sup> The present dissertation focused on probing suitable methods for the investigation of the stability of these complexes in order to determine the adsorption behavior of the examined (bio-)polymers. The findings of the performed experiments are inconsistent with the previously published helical adsorption of DNA to carbon nanotubes but give rise to additional adsorption conformations.

Exchange experiments of surfactant stabilized SWNTs by DNA oligomers of different length were used to determine the maximum DNA adsorption capacity of the nanotube surface by introducing a filtration method. The helical adsorption model failed to explain two fundamental findings of these experiments. On the one hand, the adsorption capacity of the nanotubes was far beyond the theoretical limit, which is based on the helix geometry, and on the other hand, the determined size ratio of the different oligomers bound to the nanotube surface seemed to be independent of DNA base number. However, it was shown that the results could be explained by consideration of a different adsorption model, in

which DNA is attached to the nanotube surface by a train segment consisting of three to six nucleic bases, where the tail of the oligomer protrudes from the nanotube surface towards the solution.

Fluorescence correlation spectroscopy seemed to be a promising tool to overcome the disadvantages of spatial separation between adsorbed and unbound DNA and was therefore used to investigate the adsorption behavior of DNA–SWNT complexes. Due to the low-cost availability of surfactant-stabilized SWNTs, displacement experiments with DNA oligomers were employed once more to show that FCS-based discrimination between surface-bound and freely diffusive DNA is achievable. However, the influence of the surfactants on DNA adsorption avoided the quantitative analysis of the adsorption behavior. Consequently pure DNA–SWNT complexes were studied by using mixtures of labeled and unlabeled oligomers. However, no adsorption of the dye-labeled oligomers was detected since the unlabeled analogues seem to have higher binding affinity towards the nanotube surface due to their increased concentration.

Within a concentration jump method, desorption of eight DNA oligomers – differing in base number as well as base sequence – and the synthetic polymer F8T2 were examined. Unbound (bio-)polymers were removed by filtration in advance and the remaining SWNT-complexes were resuspended in pure solvent to initiate polymer desorption by the applied concentration step. Desorption was accompanied by reduction of SWNT-based fluorescence quenching and could be monitored consequently by the increase of the detected fluorescence signal. Temperature-dependent experiments were tailored for determining the adsorption and desorption rate constants, which were analyzed by linearized Eyring and van't Hoff equation in order to determine the activation and reaction enthalpy and entropy changes. The observed enthalpy-entropy correlation was attributed to rearrangements of the solvent molecules and a statistical origin could be excluded. The Crank-Nicolson

---

method was used to prove that the observed kinetics were caused by adsorption and desorption and not limited by polymer diffusion.

F8T2–SWNT complexes were diluted in four solvents which were tested to possess different solubility for the polymer. Activation enthalpy of desorption was found to be reduced by more than  $25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  in chlorobenzene, which showed the highest solubility for F8T2. In contrast, no polymer desorption could be detected when F8T2–SWNT complexes were transferred to the worst solvent methylcyclohexane. For all solvents under investigation, the activation entropy of desorption was found to be negative, which could be explained by solvent rearrangement effects. In case of DNA–SWNT dilution, the base sequence did not show any influence on desorption of DNA, in contrast to the nucleic base number. For shorter oligomers the activation parameters followed a linear increase with nucleic base number and saturated for biopolymers consisting of twelve bases and more, which is again inconsistent with the helical adsorption model.<sup>[17,23]</sup> The results rather indicate a partial adsorption of the DNA strand by attachment of only one single DNA Kuhn-segment – containing nine to ten bases – whereas the remaining nucleic bases are unbound in a solvated tail segment.<sup>[46]</sup>

Across all experiments, a Gibbs free desorption activation energy of approximately  $100 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  was found, representing the high stability of the examined complexes under ambient conditions. Nevertheless, the biopolymers seem to be conformationally less constrained by adsorption on the nanotube surface than expected.<sup>[17,23–25,143]</sup>

The aim of the present dissertation was to develop spectroscopic methods in order to examine the adsorption behavior of (bio-)polymers on carbon nanotubes. It was shown that DNA adsorption takes place by attachment of a short train segment of several nucleic bases by using a simple filtration method. However, the influences of the present surfactant

molecules as well as the filtration process itself reduce the meaningfulness of the analyses. Fluorescence correlation spectroscopy was used to resolve the limitations of mechanical separation, however, the method was insufficient to perform a quantitative analysis of the DNA adsorption behavior on SWNTs and was rejected consequently. In contrast, the successful introduction of a concentration jump method enabled the adsorption analysis of numerous DNA oligomers and confirmed the findings of the filtration method. The determined values for the equilibrium constants as well as the length of the adsorbed train segment were found to be considerably larger than in case of the filtration method and the results therefore substantiate the necessity to investigate pure DNA–SWNT complexes.

The introduced concentration jump method is transferable to other polymer–SWNT complexes, which was shown for the synthetic polymer F8T2. For this reason, the method can be used to gain access to fundamental physical and chemical properties of polymer–SWNT complexes, like adsorption and desorption rate constants, equilibrium constants as well as binding energies, which determine the interactions between organic dispersants and nanoscopic surfaces.

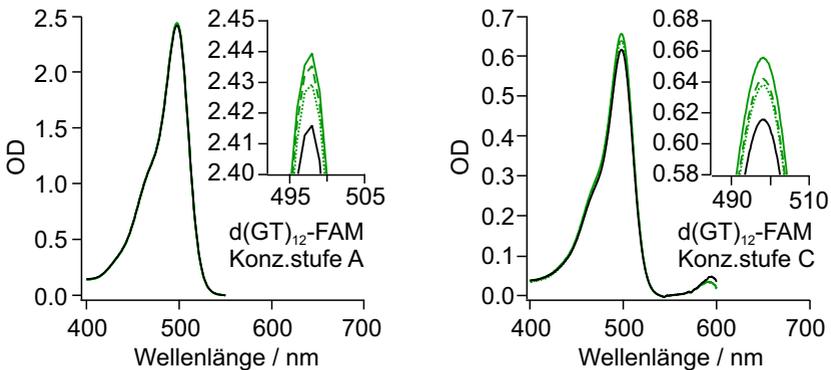
# Anhang

Im Anhang sind die Datensätze zu allen untersuchten (Bio-)Polymeren der jeweiligen Messreihen gezeigt, bei denen in den einzelnen Kapiteln aus Platzgründen nur ein exemplarischer Datensatz zur Veranschaulichung der Analyse ausgewählt wurde. Zunächst werden die Datensätze des Kapitels 5 aufgeführt, ehe abschließend diejenigen der Verdünnungsexperimente und numerischen Simulationen aus Kapitel 6 zusammengefasst sind.

## A.1 Daten zu Kapitel 5

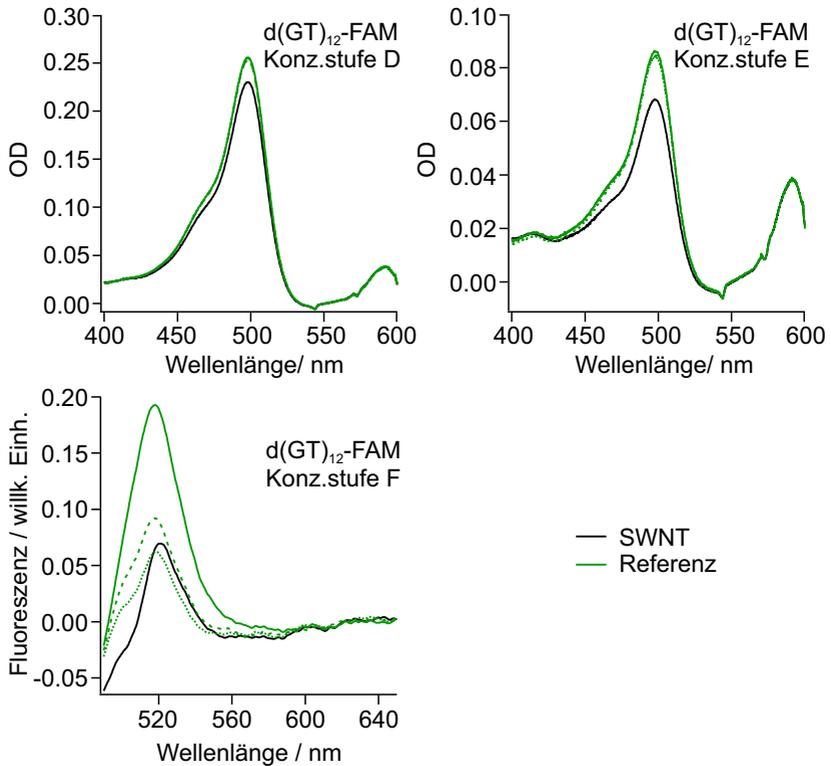
### Filtrationsmethode

Die Absorptions- bzw. Fluoreszenzspektren der Filtrate der SWNT-haltigen Proben (schwarz) sowie der SWNT-freien Referenzproben (grün) sind in den Abbildungen A.1 bis A.5 gezeigt. Die auf den SWNTs adsorbierte DNA-Stoffmenge ergibt sich wie in Kapitel 5.1.1 (S. 80) beschrieben aus der Differenz der optischen Dichten bei 498 nm. Für die niedrigste DNA-Konzentrationsstufe F wurden Fluoreszenzspektren (Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{ex}} = 480 \text{ nm}$ ) aufgenommen, deren Integral im Bereich von 490 nm bis 650 nm berechnet wurde.

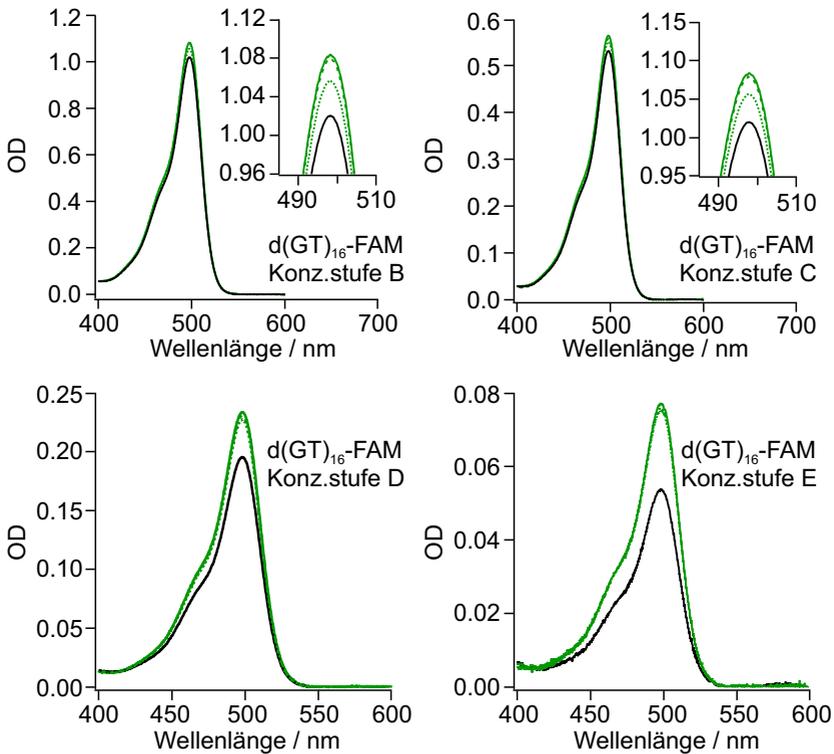


**Abbildung A.1.** Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des d(GT)<sub>12</sub>-FAM der Konzentrationsstufen A und C.

Die Probe B konnte aufgrund mangelhafter Dichtigkeit des Gefäßes nicht verwendet werden.

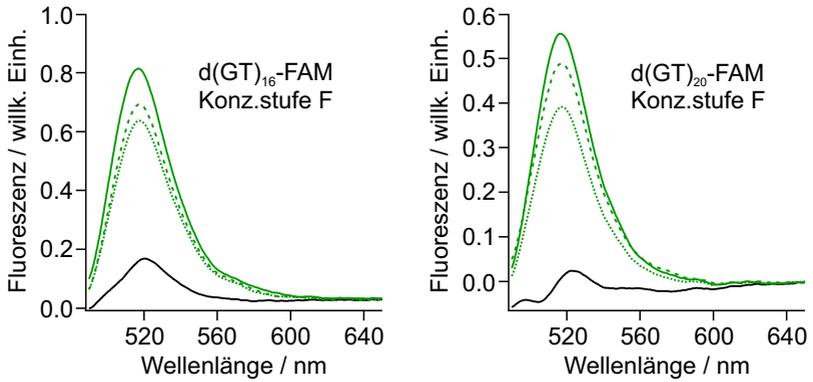


**Abbildung A.2.** Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des  $d(GT)_{12}$ -FAM der Konzentrationsstufen D und E sowie die Fluoreszenzspektren zur Bestimmung der DNA-Stoffmengen der Konzentrationsstufe F

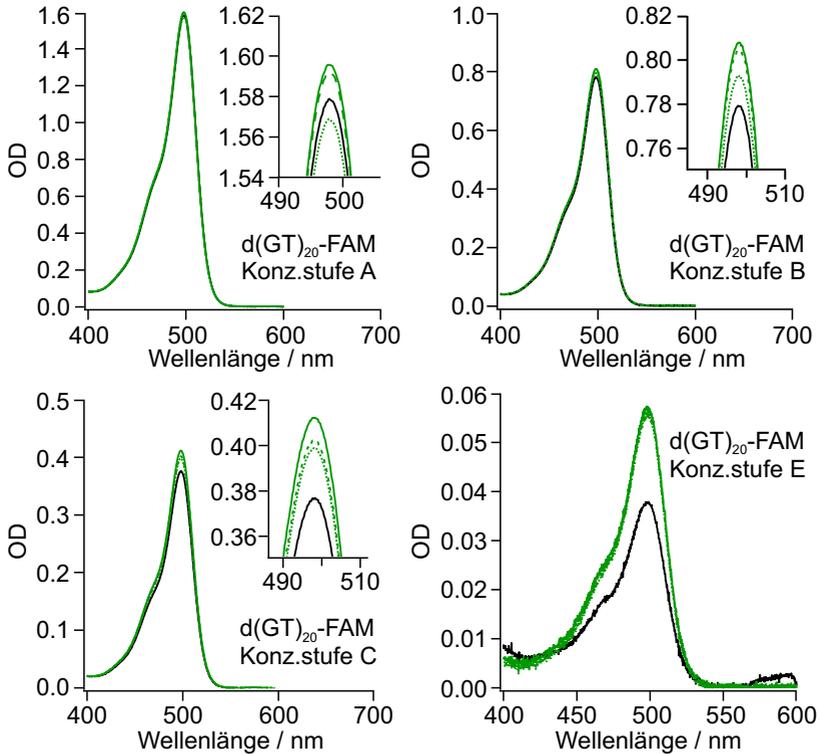


**Abbildung A.3.** Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des d(GT)<sub>16</sub>-FAM der Konzentrationsstufen B bis E.

Die Konzentrationsstufe A wurde bei der Analyse des Adsorptionsverhaltens des d(GT)<sub>16</sub>-FAM nicht berücksichtigt, da die Varianz des ermittelten Werts zu groß war.



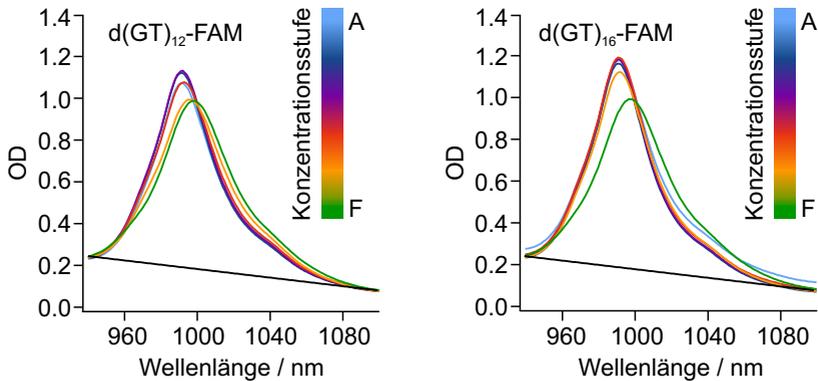
**Abbildung A.4.** Fluoreszenzspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge der Konzentrationsstufe F des d(GT)<sub>16</sub>-FAM sowie des d(GT)<sub>20</sub>-FAM.



**Abbildung A.5.** Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des d(GT)<sub>20</sub>-FAM der Konzentrationsstufen A, B, C und E.

Die Spektren der Konzentrationsstufe D sind bereits in Abbildung 5.2 a) (S. 83) aufgenommen.

Die Absorptionsspektren der verwendeten Lösungen im Bereich der  $S_1$ -Absorptionsbande der SWNTs vor der Filtration sind in Abbildung A.6 gezeigt. Die ermittelte adsorbierte DNA-Stoffmenge wurde auf das Integral der  $S_1$ -Absorptionsbande der entsprechenden Lösung normiert, der ange deutete lineare Untergrund (schwarz) wurde hierfür abgezogen. Die Spektren der Lösungen der  $d(GT)_{20}$ -FAM-SWNT-Komplexe sind bereits in Abbildung 5.2 b) (S. 83) gezeigt.

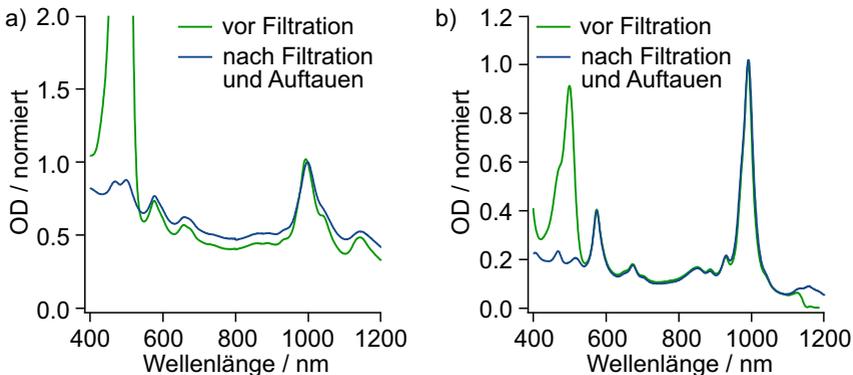


**Abbildung A.6.** Absorptionsspektren zur Normierung der adsorbierten DNA-Stoffmenge für  $d(GT)_{12}$ -FAM und  $d(GT)_{16}$ -FAM.

## A.2 Daten zu Kapitel 6

### Probenpräparation

Die DGU lieferte im Falle des  $d(\text{GT})_2$ -FAM keine individualisierten Nanoröhren. Stattdessen wurde daher die  $d(\text{GT})_2$ -FAM-SWNT-Suspension nach dem Beschallungsprozess für 90 Minuten bei 14000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Biofuge15, Heraeus Sepatech), um unlösliche Rückstände und größere Nanorohraggregate abzutrennen. Der Überstand wurde abdekantiert und analog zu den vereinigten DGU-Fraktionen der anderen DNA-Oligomere weiterverwendet. Das normierte Absorptionsspektrum der  $d(\text{GT})_2$ -FAM-SWNT-Komplexe ist in Abbildung A.7 a) vor (grün) und nach der Filtration sowie dem Auftauen (blau) dargestellt.



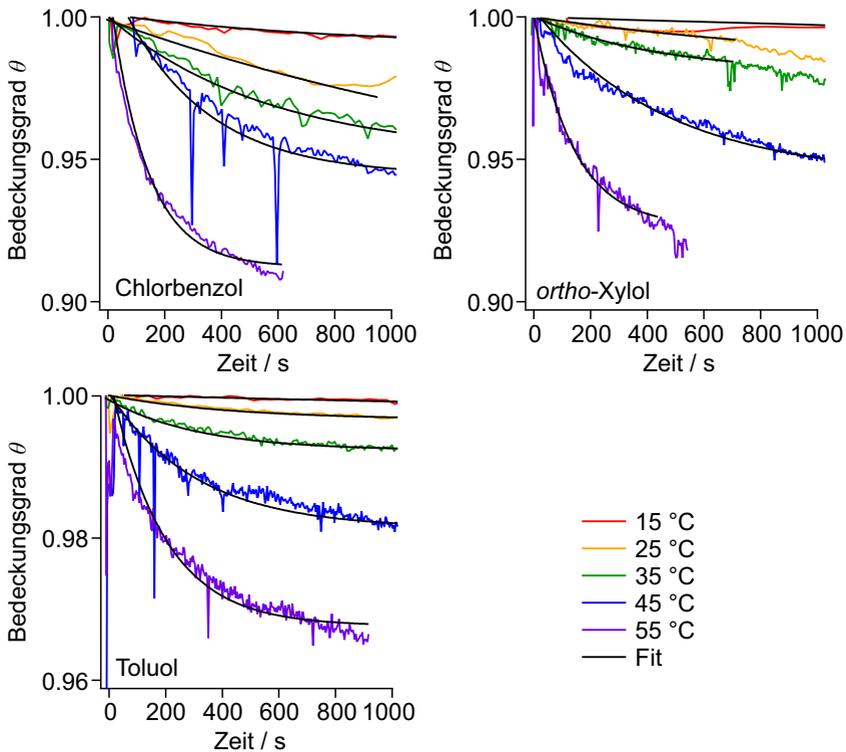
**Abbildung A.7.** Normierte Absorptionsspektren vor und nach der Filtration **a)** der verwendeten  $d(\text{GT})_2$ -FAM-SWNT-Lösung und **b)** der  $d(\text{GT})_{12}$ -FAM-SWNT-Lösung.

In Teil b) der Abbildung ist das normierte Absorptionsspektrum der  $d(\text{GT})_{12}$ -FAM-SWNT-Lösung vor der Filtration (grün) und nach der Filtration sowie dem Auftauprozess gezeigt (blau). Eine Verbreiterung der

$S_1$ -Absorptionsbande, die auf eine Aggregation der Nanoröhren hinweisen würde, ist nicht zu beobachten.

## F8T2-Verdünnung

In Abbildung A.8 ist die aus der gemessenen Fluoreszenzintensität berechnete zeitliche Entwicklung des Bedeckungsgrads  $\theta$  der Nanorohroberfläche mit F8T2 in den untersuchten Solvenzien bei den entsprechenden Temperaturen gezeigt.

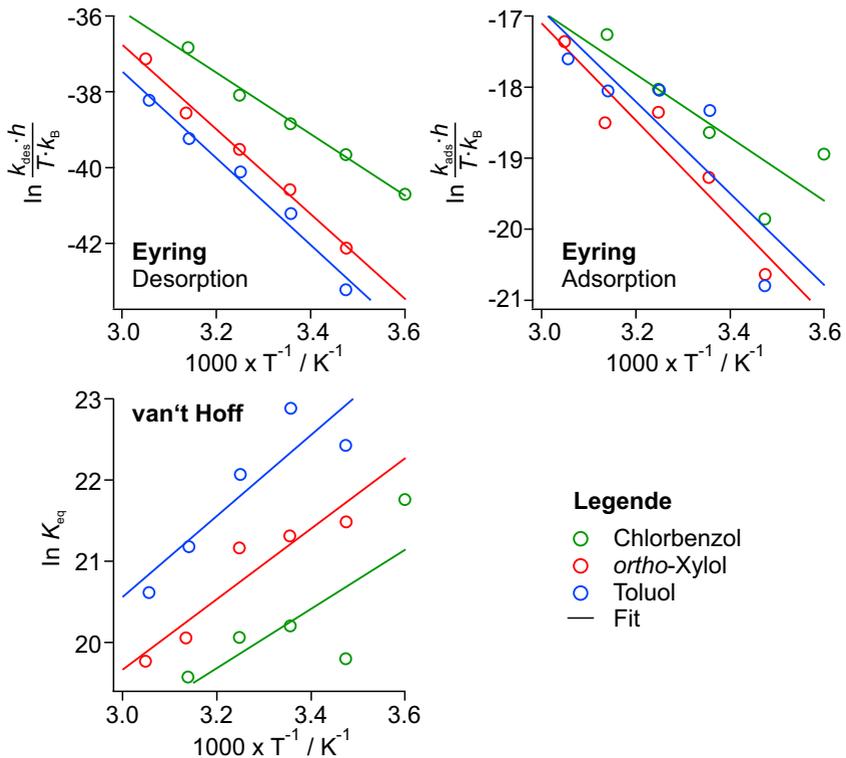


**Abbildung A.8.** Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit F8T2 in den untersuchten Solvenzien.

Die unterschiedlichen Abstände der einzelnen Werte sind auf das jeweilige Zusammenfassen der Messwerte zurückzuführen. Teilweise wurde

die Anpassung mit der Langmuir-Gleichung auf den Anfangsbereich begrenzt, da ansonsten keine Anpassung möglich war.

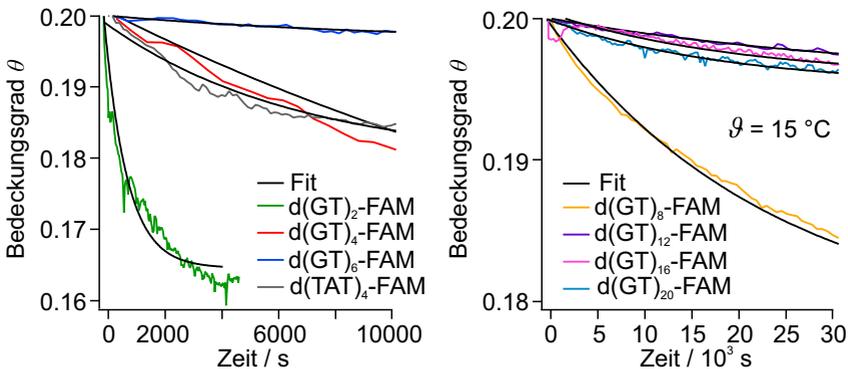
In Abbildung A.9 sind die Eyring-Analysen der Desorptions- und Adsorptionsratenkonstanten sowie die van't Hoff-Analyse der Gleichgewichtskonstanten in den untersuchten Lösemitteln gezeigt. Die Auftragungen erfolgten gemäß den Gleichungen 6.7 und 6.8 (S. 121 und 122).



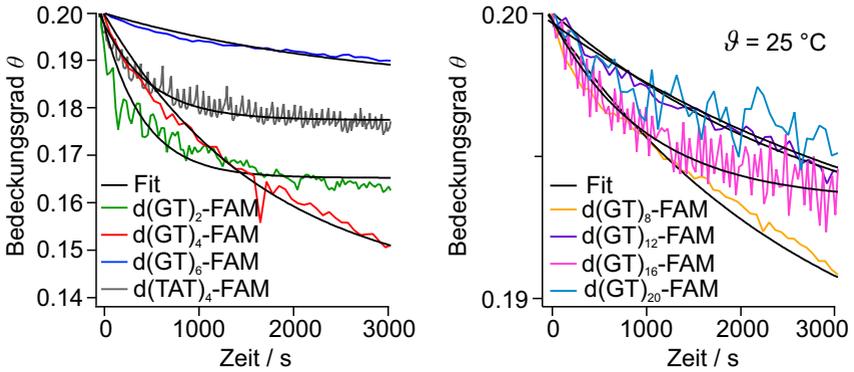
**Abbildung A.9.** Eyring- und van't Hoff-Analyse der Desorptions- und Adsorptionsratenkonstanten sowie der Gleichgewichtskonstanten.

## DNA-Daten: Bedeckungsgrad

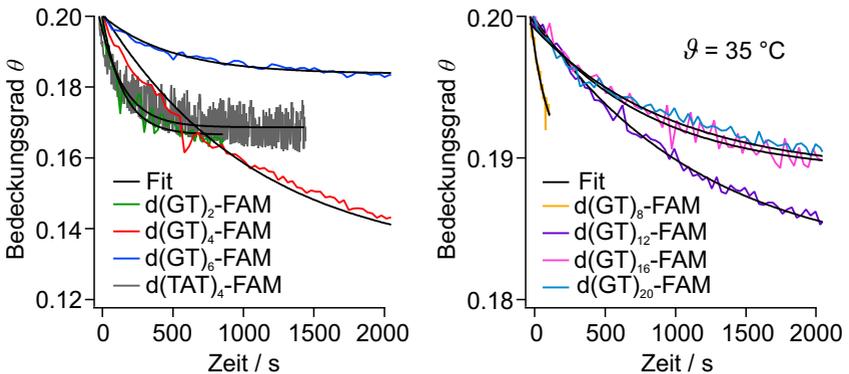
In den Abbildungen A.10–A.14 sind die aus der gemessenen Fluoreszenzintensität berechneten zeitlichen Entwicklungen des Bedeckungsgrads  $\theta$  der Nanorohroberfläche mit DNA bei den entsprechenden Temperaturen gezeigt. Die unterschiedlichen Abstände der einzelnen Werte sind auf das jeweilige Zusammenfassen der Messwerte zurückzuführen. Teilweise wurde die Anpassung mit der Langmuir-Gleichung auf den Anfangsbereich begrenzt, da ansonsten keine Anpassung möglich war.



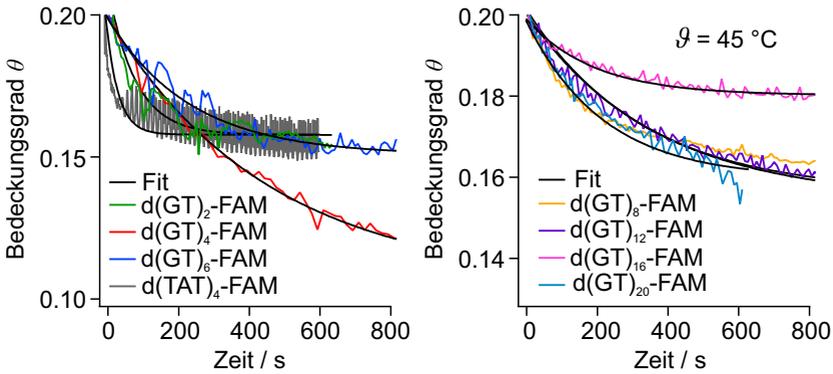
**Abbildung A.10.** Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei  $15^\circ\text{C}$ .



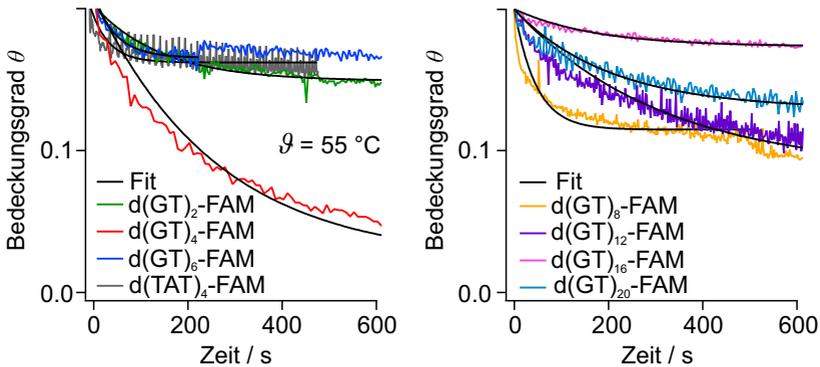
**Abbildung A.11.** Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei  $25^\circ\text{C}$ .



**Abbildung A.12.** Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei  $35^\circ\text{C}$ .



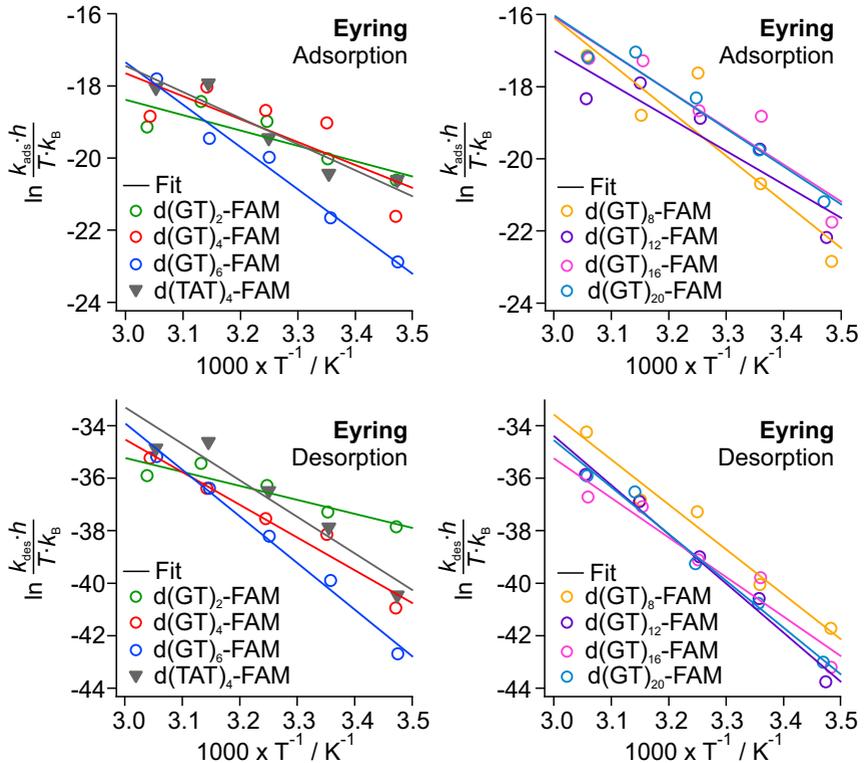
**Abbildung A.13.** Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei  $45^\circ\text{C}$ .



**Abbildung A.14.** Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei  $55^\circ\text{C}$ .

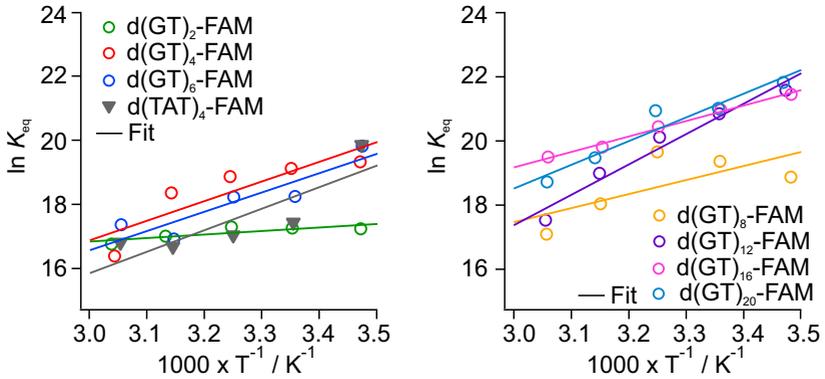
## DNA-Daten: Eyring- und van't Hoff-Analyse

In Abbildung A.15 sind die Eyring-Analysen der Desorptions- und Adsorptionsratenkonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere gezeigt. Die Auftragungen erfolgten gemäß der Gleichung 6.7 (S. 121).



**Abbildung A.15.** Eyring-Analyse der Adsorptions- und Desorptionsratenkonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere.

In Abbildung A.16 sind die van't Hoff-Analysen der Gleichgewichtskonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere gezeigt. Die Auftragungen erfolgten gemäß der Gleichung 6.8 (S. 122).



**Abbildung A.16.** Van't Hoff-Analyse der Gleichgewichtskonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere.

## Diffusionskoeffizienten und -ratenkonstanten

Der Tabelle A.1 können die berechneten und zur Diffusionssimulation in Kapitel 6.6 genutzten Diffusionskoeffizienten entnommen werden. Als Berechnungsgrundlage dienten die Werte aus Referenz [123] und Gleichung 2.60 (S. 49).

DNA-Oligomer	$D(15\text{ °C})$	$D(25\text{ °C})$	$D(35\text{ °C})$	$D(45\text{ °C})$	$D(55\text{ °C})$
	[ $10^{-10}\text{ m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ]				
d(GT) <sub>2</sub>	2.58	2.67	2.76	2.84	2.93
d(GT) <sub>4</sub>	1.96	2.03	2.09	2.16	2.23
d(TAT) <sub>4</sub>	1.56	1.61	1.67	1.72	1.78
d(GT) <sub>6</sub>	1.56	1.61	1.67	1.72	1.78
d(GT) <sub>8</sub>	1.30	1.35	1.39	1.44	1.48
d(GT) <sub>12</sub>	1.03	1.07	1.10	1.14	1.17
d(GT) <sub>16</sub>	0.92	0.95	0.98	1.01	1.05
d(GT) <sub>20</sub>	0.87	0.90	0.93	0.96	0.99

**Tabelle A.1.** Zur Diffusionssimulation verwendete, berechnete Diffusionskoeffizienten bei den verschiedenen Temperaturen.

In den Tabellen A.2 bis A.4 sind die berechneten Diffusionsratenkonstanten den experimentell bestimmten Ratenkonstanten der Desorption und Adsorption gegenübergestellt. Die Adsorptionsratenkonstanten wurden jeweils mit der entsprechenden DNA-Gesamtkonzentration  $c_0$  multipliziert, um die maximale Adsorptionssgeschwindigkeit pro Sekunde zu erhalten.

DNA-Oligomer	$k_{\text{Diff}}^{25^\circ\text{C}}$	$k_{\text{ads}}^{25^\circ\text{C}} \cdot c_0$	$k_{\text{des}}^{25^\circ\text{C}}$
	[s <sup>-1</sup> ]	[10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> ]	
d(GT) <sub>2</sub>	2487	0.4006 ± 0.0228	0.3977 ± 0.0070
d(GT) <sub>4</sub>	1895	0.0860 ± 0.0042	0.1690 ± 0.0042
d(TAT) <sub>4</sub>	1503	0.3708 ± 0.0095	0.2232 ± 0.0048
d(GT) <sub>6</sub>	1503	0.0696 ± 0.0046	0.0291 ± 0.0009
d(GT) <sub>8</sub>	1255	0.0689 ± 0.0049	0.0250 ± 0.0008
d(GT) <sub>12</sub>	993.2	0.0662 ± 0.0029	0.0147 ± 0.0003
d(GT) <sub>16</sub>	882.5	0.1945 ± 0.0177	0.0324 ± 0.0021
d(GT) <sub>20</sub>	844.0	0.0456 ± 0.0087	0.0122 ± 0.0008

**Tabelle A.2.** Berechnete Diffusionsratenkonstanten und experimentell bestimmte Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 25 °C.

DNA-Oligomer	$k_{\text{Diff}}^{35^\circ\text{C}}$	$k_{\text{ads}}^{35^\circ\text{C}} \cdot c_0$	$k_{\text{des}}^{35^\circ\text{C}}$
	[s <sup>-1</sup> ]	[10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> ]	
d(GT) <sub>2</sub>	2557	1.170 ± 0.078	1.127 ± 0.062
d(GT) <sub>4</sub>	1970	0.126 ± 0.005	0.319 ± 0.007
d(TAT) <sub>4</sub>	1569	1.027 ± 0.036	0.917 ± 0.028
d(GT) <sub>6</sub>	1569	0.385 ± 0.016	0.164 ± 0.005
d(GT) <sub>8</sub>	1298	1.536 ± 0.345	0.415 ± 0.031
d(GT) <sub>12</sub>	1016	0.161 ± 0.004	0.075 ± 0.001
d(GT) <sub>16</sub>	927.9	0.235 ± 0.014	0.066 ± 0.003
d(GT) <sub>20</sub>	861.6	0.204 ± 0.006	0.058 ± 0.001

**Tabelle A.3.** Berechnete Diffusionsratenkonstanten und experimentell bestimmte Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 35 °C.

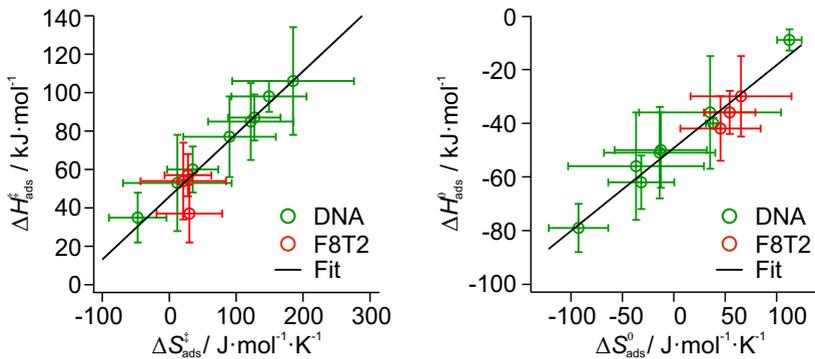
DNA-Oligomer	$k_{\text{Diff}}^{45^\circ\text{C}}$	$k_{\text{ads}}^{45^\circ\text{C}} \cdot c_0$	$k_{\text{des}}^{45^\circ\text{C}}$
	[s <sup>-1</sup> ]	[10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> ]	
d(GT) <sub>2</sub>	2680	2.104 ± 0.140	2.704 ± 0.156
d(GT) <sub>4</sub>	1994	0.248 ± 0.006	1.041 ± 0.013
d(TAT) <sub>4</sub>	1623	4.830 ± 0.169	6.191 ± 0.206
d(GT) <sub>6</sub>	1623	0.668 ± 0.032	1.049 ± 0.035
d(GT) <sub>8</sub>	1341	0.490 ± 0.014	0.668 ± 0.016
d(GT) <sub>12</sub>	1065	0.441 ± 0.013	0.631 ± 0.012
d(GT) <sub>16</sub>	947.9	0.964 ± 0.039	0.517 ± 0.016
d(GT) <sub>20</sub>	907.6	0.749 ± 0.044	0.918 ± 0.031

**Tabelle A.4.** Berechnete Diffusionsratenkonstanten und experimentell bestimmte Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 45 °C.

Die experimentell bestimmten Werte sowie die berechneten Diffusionsratenkonstanten bei 15 °C und 55 °C sind bereits in den Tabellen 6.5 und 6.6 (S. 145 und 146) zusammengefasst.

## Enthalpie-Entropie-Korrelation

In Abbildung A.17 sind die Constable-Auftragungen der Aktivierungsparameter sowie der thermodynamischen Parameter der DNA- und F8T2-Adsorption gezeigt.



**Abbildung A.17.** Constable-Auftragung der Aktivierungsparameter sowie der thermodynamischen Parameter der DNA- und F8T2-Adsorption.

# Literaturverzeichnis

- [1] A. Jordan, P. Wust, R. Scholz, B. Tesche, H. Föhling, T. Mitrovics, T. Vogl, J. Cervós-Navarro und R. Felix, Cellular uptake of magnetic fluid particles and their effects on human adenocarcinoma cells exposed to AC magnetic fields *in vitro*, *Int. J. Hyperthermia* **1996**, 12(6), 705–722, DOI: [10.3109/02656739609027678](https://doi.org/10.3109/02656739609027678)
- [2] A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Föhling und R. Felix, Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, 201(1–3), 413–419, DOI: [10.1016/S0304-8853\(99\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S0304-8853(99)00088-8)
- [3] K. Maier-Hauff, R. Rothe, R. Scholz, U. Gneveckow, P. Wust, B. Thiesen, A. Feussner, A. von Deimling, N. Waldofner, R. Felix und A. Jordan, Intracranial Thermo-therapy using Magnetic Nanoparticles Combined with External Beam Radiotherapy: Results of a Feasibility Study on Patients with Glioblastoma Multiforme, *J. Neuro-Oncol.* **2007**, 81(1), 53–60, DOI: [10.1007/s11060-006-9195-0](https://doi.org/10.1007/s11060-006-9195-0)
- [4] W. Luther und L. Brand, *nano.DE-Report 2013 Status quo der Nanotechnologie in Deutschland*, Bundesministerium für Bildung und Forschung, **2014**, Bestell-Nr.: 30925
- [5] N. Bohmer und A. Jordan, Caveolin-1 and CDC42 mediated endocytosis of silica-coated iron oxide nanoparticles in

- HeLa cells, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, 6, 167–176, DOI: [doi:10.3762/bjnano.6.16](https://doi.org/10.3762/bjnano.6.16)
- [6] U. Schubert, Die Rolle der Chemie in der Nanotechnologie, *Chem. Unserer Zeit* **2005**, 39(1), 3, DOI: [10.1002/ciuz.200590001](https://doi.org/10.1002/ciuz.200590001)
- [7] A. M. Doyle, S. K. Shaikhutdinov, S. D. Jackson und H.-J. Freund, Hydrierung an Metalloberflächen: Warum sind Nanoteilchen aktiver als Einkristalle?, *Angew. Chem.* **2003**, 115(42), 5398–5401, DOI: [10.1002/ange.200352124](https://doi.org/10.1002/ange.200352124)
- [8] S. Kumar und T. Nann, Shape Control of II-VI Semiconductor Nanomaterials, *Small* **2006**, 2(3), 316–329, DOI: [10.1002/sml.200500357](https://doi.org/10.1002/sml.200500357)
- [9] T. Hertel, F. Brunecker, N. Rühl, D. Schilling und F. Späth, Grenzflächenphänomene an Kohlenstoffnanoröhren, *Nachr. Chem.* **2013**, 61(6), 632–635, DOI: [10.1002/nadc.201390201](https://doi.org/10.1002/nadc.201390201)
- [10] J.-M. Bonard, T. Stora, J.-P. Salvetat, F. Maier, T. Stöckli, C. Duschl, L. Forró, W. A. de Heer und A. Châtelain, Purification and size-selection of carbon nanotubes, *Adv. Mater.* **1997**, 9(10), 827–831, DOI: [10.1002/adma.19970091014](https://doi.org/10.1002/adma.19970091014)
- [11] D. Li und R. B. Kaner, Shape and Aggregation Control of Nanoparticles: Not Shaken, Not Stirred, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128(3), 968–975, DOI: [10.1021/ja056609n](https://doi.org/10.1021/ja056609n)
- [12] A. Krüger, *Neue Kohlenstoffmaterialien*, Wiesbaden : Teubner, 1. Auflage, **2007**, ISBN: 978-3519005100
- [13] Y. Yin und A. P. Alivisatos, Colloidal nanocrystal synthesis and the organic-inorganic interface, *Nature* **2005**, 437(7059), 664–670, DOI: [10.1038/nature04165](https://doi.org/10.1038/nature04165)

- 
- [14] S. Sharma, N. Pal, P. K. Chowdhury, S. Sen und A. K. Ganguli, Understanding Growth Kinetics of Nanorods in Microemulsion: A Combined Fluorescence Correlation Spectroscopy, Dynamic Light Scattering, and Electron Microscopy Study, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134(48), 19677–19684, DOI: [10.1021/ja306556e](https://doi.org/10.1021/ja306556e)
- [15] X. Tu, S. Manohar, A. Jagota und M. Zheng, DNA sequence motifs for structure-specific recognition and separation of carbon nanotubes, *Nature* **2009**, 460(7252), 250–253, DOI: [10.1038/nature08116](https://doi.org/10.1038/nature08116)
- [16] X. Tu, A. R. Hight Walker, C. Y. Khripin und M. Zheng, Evolution of DNA Sequences Toward Recognition of Metallic Armchair Carbon Nanotubes, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133(33), 12998–13001, DOI: [10.1021/ja205407q](https://doi.org/10.1021/ja205407q)
- [17] M. Zheng, A. Jagota, M. S. Strano, A. P. Santos, P. Barone, S. G. Chou, B. A. Diner, M. S. Dresselhaus, R. S. Mclean, G. B. Onoa, G. G. Samsonidze, E. D. Semke, M. Usrey und D. J. Walls, Structure-Based Carbon Nanotube Sorting by Sequence-Dependent DNA Assembly, *Science* **2003**, 302(5650), 1545–1548, DOI: [10.1126/science.1091911](https://doi.org/10.1126/science.1091911)
- [18] M. Zheng, A. Jagota, E. D. Semke, B. A. Diner, R. S. Mclean, S. R. Lustig, R. E. Richardson und N. G. Tassi, DNA-assisted dispersion and separation of carbon nanotubes, *Nat. Mater.* **2003**, 2(5), 338–342, DOI: [10.1038/nmat877](https://doi.org/10.1038/nmat877)
- [19] M. S. Arnold, S. I. Stupp und M. C. Hersam, Enrichment of Single-Walled Carbon Nanotubes by Diameter in Density Gradients, *Nano Lett.* **2005**, 5(4), 713–718, DOI: [10.1021/nl050133o](https://doi.org/10.1021/nl050133o)
- [20] F. Chen, B. Wang, Y. Chen und L.-J. Li, Toward the Extraction of Single Species of Single-Walled Carbon Nanotubes Using

- Fluorene-Based Polymers, *Nano Lett.* **2007**, 7(10), 3013–3017, DOI: [10.1021/nl071349o](https://doi.org/10.1021/nl071349o)
- [21] H. Ozawa, N. Ide, T. Fujigaya, Y. Niidome und N. Nakashima, One-pot separation of highly enriched (6, 5)-single-walled carbon nanotubes using a fluorene-based copolymer, *Chem. Lett.* **2011**, 40(3), 239–241, DOI: [10.1246/cl.2011.239](https://doi.org/10.1246/cl.2011.239)
- [22] biomers.net, *Synthese von Oligonucleotiden*, **2015**, [online verfügbar](#)
- [23] D. Roxbury, X. Tu, M. Zheng und A. Jagota, Recognition Ability of DNA for Carbon Nanotubes Correlates with Their Binding Affinity, *Langmuir* **2011**, 27(13), 8282–8293, DOI: [10.1021/la2007793](https://doi.org/10.1021/la2007793)
- [24] D. Roxbury, J. Mittal und A. Jagota, Molecular-Basis of Single-Walled Carbon Nanotube Recognition by Single-Stranded DNA, *Nano Lett.* **2012**, 12(3), 1464–1469, DOI: [10.1021/nl204182b](https://doi.org/10.1021/nl204182b)
- [25] D. Roxbury, A. Jagota und J. Mittal, Structural Characteristics of Oligomeric DNA Strands Adsorbed onto Single-Walled Carbon Nanotubes, *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117(1), 132–140, DOI: [10.1021/jp309523a](https://doi.org/10.1021/jp309523a)
- [26] A. Shankar, J. Mittal und A. Jagota, Binding between DNA and Carbon Nanotubes Strongly Depends upon Sequence and Chirality, *Langmuir* **2014**, 30(11), 3176–3183, DOI: [10.1021/la500013c](https://doi.org/10.1021/la500013c)
- [27] Y. Kato, Y. Niidome und N. Nakashima, Thermodynamics of the Exchange of Solubilizers on Single-walled Carbon Nanotubes, *Chem. Lett.* **2011**, 40(7), 730–732, DOI: [10.1246/cl.2011.730](https://doi.org/10.1246/cl.2011.730)
- [28] Y. Kato, A. Inoue, Y. Niidome und N. Nakashima, Thermodynamics on Soluble Carbon Nanotubes: How Do DNA Molecules Replace Surfactants on Carbon Nanotubes?, *Sci. Rep.* **2012**, 2(733), 1–7, DOI: [10.1038/srep00733](https://doi.org/10.1038/srep00733)

- [29] S. R. Vogel, M. M. Kappes, F. Hennrich und C. Richert, An Unexpected New Optimum in the Structure Space of DNA Solubilizing Single-Walled Carbon Nanotubes, *Chem. – Eur. J.* **2007**, 13(6), 1815–1820, DOI: [10.1002/chem.200600988](https://doi.org/10.1002/chem.200600988)
- [30] F. Albertorio, M. E. Hughes, J. A. Golovchenko und D. Branton, Base dependent DNA-carbon nanotube interactions: activation enthalpies and assembly-disassembly control, *Nanotechnology* **2009**, 20(39), 395101, DOI: [10.1088/0957-4484/20/39/395101](https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/39/395101)
- [31] T. C. Hain, K. Kröker, D. G. Stich und T. Hertel, Influence of DNA conformation on the dispersion of SWNTs: single-strand DNA vs. hairpin DNA, *Soft Matter* **2012**, 8, 2820–2823, DOI: [10.1039/C2SM07148G](https://doi.org/10.1039/C2SM07148G)
- [32] W. Martin, W. Zhu und G. Krilov, Simulation Study of Noncovalent Hybridization of Carbon Nanotubes by Single-Stranded DNA in Water, *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112(50), 16076–16089, DOI: [10.1021/jp8040567](https://doi.org/10.1021/jp8040567)
- [33] R. R. Johnson, A. Kohlmeyer, A. T. C. Johnson und M. L. Klein, Free Energy Landscape of a DNA-Carbon Nanotube Hybrid Using Replica Exchange Molecular Dynamics, *Nano Lett.* **2009**, 9(2), 537–541, DOI: [10.1021/nl802645d](https://doi.org/10.1021/nl802645d)
- [34] A. Bianco, K. Kostarelos und M. Prato, Applications of carbon nanotubes in drug delivery, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, 9(6), 674–679, DOI: [10.1016/j.cbpa.2005.10.005](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.10.005)
- [35] N. W. S. Kam, M. O’Connell, J. A. Wisdom und H. Dai, Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, 102(33), 11600–11605, DOI: [10.1073/pnas.0502680102](https://doi.org/10.1073/pnas.0502680102)

- [36] D. A. Heller, H. Jin, B. M. Martinez, D. Patel, B. M. Miller, T.-K. Yeung, P. V. Jena, C. Hobartner, T. Ha, S. K. Silverman und M. S. Strano, Multimodal optical sensing and analyte specificity using single-walled carbon nanotubes, *Nat. Nano.* **2009**, 4(2), 114–120, DOI: [10.1038/nnano.2008.369](https://doi.org/10.1038/nnano.2008.369)
- [37] T.-G. Cha, B. A. Baker, M. D. Sauffer, J. Salgado, D. Jaroch, J. L. Rickus, D. M. Porterfield und J. H. Choi, Optical Nanosensor Architecture for Cell-Signaling Molecules Using DNA Aptamer-Coated Carbon Nanotubes, *ACS Nano* **2011**, 5(5), 4236–4244, DOI: [10.1021/nn201323h](https://doi.org/10.1021/nn201323h)
- [38] G. Strobl, *The Physics of Polymers: Concepts for Understanding Their Structures and Behavior*, Springer, 3. Auflage, **2007**, ISBN: [978-3540252788](https://www.isbn-international.org/product/978-3-540-25278-8)
- [39] D. F. Evans und H. Wennerström, *The Colloidal Domain*, Wiley-VCH, 2. Auflage, **1999**, ISBN: [978-0471242475](https://www.isbn-international.org/product/978-047124247-5)
- [40] M. Rubinstein und R. H. Colby, *Polymer Physics*, Oxford University Press, 1. Auflage, **2003**, ISBN: [978-0198520597](https://www.isbn-international.org/product/978-019852059-7)
- [41] L. H. Sperling, *Introduction to Physical Polymer Science*, Wiley-Interscience, 3. Auflage, **2001**, ISBN: [978-0471329213](https://www.isbn-international.org/product/978-047132921-3)
- [42] A. D. McNaught und A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, the "Gold Book"*, Blackwell Scientific Publications, 2. Auflage, **1997**, DOI: [10.1351/goldbook](https://doi.org/10.1351/goldbook)
- [43] A. W. Adamson und A. P. Gast, *Physical chemistry of surfaces*, John Wiley & Sons, 6. Auflage, **1997**, ISBN: [978-0471148739](https://www.isbn-international.org/product/978-047114873-9)
- [44] J.-H. Chen, C.-S. Chang, Y.-X. Chang, C.-Y. Chen, H.-L. Chen und S.-A. Chen, Gelation and Its Effect on the Photophysical Behavior of Poly(9,9-dioctylfluorene-2,7-diyl) in Toluene, *Macromolecules* **2009**, 42(4), 1306–1314, DOI: [10.1021/ma802408u](https://doi.org/10.1021/ma802408u)

- [45] M. Grell, D. Bradley, X. Long, T. Chamberlain, M. Inbasekaran, E. Woo und M. Soliman, Chain geometry, solution aggregation and enhanced dichroism in the liquidcrystalline conjugated polymer poly(9,9-dioctylfluorene), *Acta Polym.* **1998**, 49(8), 439–444, DOI: [10.1002/\(SICI\)1521-4044\(199808\)49:8<439::AID-APOL439>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4044(199808)49:8<439::AID-APOL439>3.0.CO;2-A)
- [46] M. Murphy, I. Rasnik, W. Cheng, T. M. Lohman und T. Ha, Probing Single-Stranded DNA Conformational Flexibility Using Fluorescence Spectroscopy, *Biophys. J.* **2004**, 86(4), 2530–2537, DOI: [10.1016/S0006-3495\(04\)74308-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74308-8)
- [47] B. Tinland, A. Pluen, J. Sturm und G. Weill, Persistence Length of Single-Stranded DNA, *Macromolecules* **1997**, 30(19), 5763–5765, DOI: [10.1021/ma970381+](https://doi.org/10.1021/ma970381+)
- [48] P. Flory, *Statistical mechanics of chain molecules*, Interscience Publishers, **1969**, ISBN: [978-0470264959](https://www.isbn-international.org/product/978-0470264959)
- [49] P. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, **1953**, ISBN: [978-0801401343](https://www.isbn-international.org/product/978-0801401343)
- [50] P. J. Flory, Thermodynamics of High Polymer Solutions, *J. Chem. Phys.* **1942**, 10(1), 51–61, DOI: [10.1063/1.1723621](https://doi.org/10.1063/1.1723621)
- [51] M. L. Huggins, Some Properties of Solutions of Long-chain Compounds., *J. Phys. Chem.* **1942**, 46(1), 151–158, DOI: [10.1021/j150415a018](https://doi.org/10.1021/j150415a018)
- [52] H.-J. Butt, K. Graf und M. Kappl, *Physics and Chemistry of Interfaces*, Wiley-VCH, 3. Auflage, **2013**, ISBN: [978-3527412167](https://www.isbn-international.org/product/978-3527412167)
- [53] J. N. Israelachvili, *Intermolecular & Surface Forces*, Academic Press, 2. Auflage, **1992**, ISBN: [978-0123751812](https://www.isbn-international.org/product/978-0123751812)

- [54] P. Redhead, Thermal desorption of gases, *Vacuum* **1962**, 12(4), 203–211, DOI: [10.1016/0042-207X\(62\)90978-8](https://doi.org/10.1016/0042-207X(62)90978-8)
- [55] U. Kilian und C. Weber, *Lexikon der Physik*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2000**, ISBN: 978-3860252963
- [56] K. R. Paserba und A. J. Gellman, Kinetics and Energetics of Oligomer Desorption from Surfaces, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, 86(19), 4338–4341, DOI: [10.1103/PhysRevLett.86.4338](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.86.4338)
- [57] H. Eyring, The Activated Complex in Chemical Reactions, *J. Chem. Phys.* **1935**, 3(2), 107–115, DOI: [10.1063/1.1749604](https://doi.org/10.1063/1.1749604)
- [58] K. R. Paserba und A. J. Gellman, Effects of conformational isomerism on the desorption kinetics of *n*-alkanes from graphite, *J. Chem. Phys.* **2001**, 115(14), 6737–6751, DOI: [10.1063/1.1398574](https://doi.org/10.1063/1.1398574)
- [59] A. J. Gellman und K. R. Paserba, Kinetics and Mechanism of Oligomer Desorption from Surfaces: *n*-Alkanes on Graphite, *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106(51), 13231–13241, DOI: [10.1021/jp021135p](https://doi.org/10.1021/jp021135p)
- [60] H. Ulbricht, R. Zacharia, N. Cindir und T. Hertel, Thermal desorption of gases and solvents from graphite and carbon nanotube surfaces, *Carbon* **2006**, 44(14), 2931–2942, DOI: [10.1016/j.carbon.2006.05.040](https://doi.org/10.1016/j.carbon.2006.05.040)
- [61] J. F. Douglas, H. E. Johnson und S. Granick, A Simple Kinetic Model of Polymer Adsorption and Desorption, *Science* **1993**, 262(5142), 2010–2012, DOI: [10.1126/science.262.5142.2010](https://doi.org/10.1126/science.262.5142.2010)
- [62] P. Frantz und S. Granick, Kinetics of polymer adsorption and desorption, *Phys. Rev. Lett.* **1991**, 66(7), 899–902, DOI: [10.1103/PhysRevLett.66.899](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.66.899)
- [63] J. N. Coleman, A. Fleming, S. Maier, S. O’Flaherty, A. I. Minett, M. S. Ferreira, S. Hutzler und W. J. Blau, Binding Kinetics and SWNT

- Bundle Dissociation in Low Concentration Polymer-Nanotube Dispersions, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108(11), 3446–3450, DOI: [10.1021/jp036651+](https://doi.org/10.1021/jp036651+)
- [64] M. Wu, R. Kempaiah, P.-J. J. Huang, V. Maheshwari und J. Liu, Adsorption and Desorption of DNA on Graphene Oxide Studied by Fluorescently Labeled Oligonucleotides, *Langmuir* **2011**, 27(6), 2731–2738, DOI: [10.1021/la1037926](https://doi.org/10.1021/la1037926)
- [65] Y. Wang, R. Rajagopalan und W. L. Mattice, Kinetics of Detachment of Homopolymers from a Solid Surface, *Phys. Rev. Lett.* **1995**, 74, 2503–2506, DOI: [10.1103/PhysRevLett.74.2503](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.74.2503)
- [66] Y. Wang, R. Rajagopalan und W. L. Mattice, The Exchange Kinetics of Macromolecules Adsorbed on a Solid Surface: A Theoretical Investigation, *Macromolecules* **1995**, 28(21), 7058–7063, DOI: [10.1021/ma00125a004](https://doi.org/10.1021/ma00125a004)
- [67] H. Johnson, J. Douglas und S. Granick, Topological influences on polymer adsorption and desorption dynamics, *Phys. Rev. Lett.* **1993**, 70(21), 3267–3270, DOI: [10.1103/PhysRevLett.70.3267](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.70.3267)
- [68] H. Takeuchi, Monte Carlo simulations of the exchange kinetics of polymers adsorbed on a solid surface, *Macromol. Theory Simul.* **1999**, 8(4), 391–401, DOI: [10.1002/\(SICI\)1521-3919\(19990701\)8:4<391::AID-MATS391>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3919(19990701)8:4<391::AID-MATS391>3.0.CO;2-3)
- [69] A. Fick, Ueber Diffusion, *Ann. Phys.* **1855**, 170(1), 59–86, DOI: [10.1002/andp.18551700105](https://doi.org/10.1002/andp.18551700105)
- [70] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling und B. P. Flannery, *Numerical Recipes in C*, Cambridge University Press, 2. Auflage, **1992**, ISBN: [978-0521431088](https://www.isbn-international.org/product/978-0521431088)

- [71] S. D. Conte und C. de Boor, *Elementary Numerical Analysis*, McGraw-Hill Book Company, 3. Auflage, **1980**, ISBN: [0-07-012447-7](#)
- [72] G. Recktenwald, Alternative Boundary Condition Implementations for Crank Nicolson Solution to the Heat Equation, *Lecture Notes ME 448/548* **2014**, 4, 1–5, [online verfügbar](#)
- [73] R. Saito, *Physical Properties of Carbon Nanotubes*, Imperial College Press, 1. Auflage, **1998**, ISBN: [1-86094-093-5](#)
- [74] S. Bandow, A. M. Rao, K. A. Williams, A. Thess, R. E. Smalley und P. C. Eklund, Purification of Single-Wall Carbon Nanotubes by Microfiltration, *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101(44), 8839–8842, DOI: [10.1021/jp972026r](#)
- [75] F. Chen, W. Zhang, M. Jia, L. Wei, X.-F. Fan, J.-L. Kuo, Y. Chen, M. B. Chan-Park, A. Xia und L.-J. Li, Energy Transfer from Photo-Excited Fluorene Polymers to Single-Walled Carbon Nanotubes, *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113(33), 14946–14952, DOI:[10.1021/jp904431u](#)
- [76] A. Nish, J.-Y. Hwang, J. Doig und R. J. Nicholas, Highly selective dispersion of single-walled carbon nanotubes using aromatic polymers, *Nat. Nano.* **2007**, 2, 640–646, DOI: [10.1038/nnano.2007.290](#)
- [77] J.-Y. Hwang, A. Nish, J. Doig, S. Douven, C.-W. Chen, L.-C. Chen und R. J. Nicholas, Polymer Structure and Solvent Effects on the Selective Dispersion of Single-Walled Carbon Nanotubes, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(11), 3543–3553, DOI:[10.1021/ja0777640](#)
- [78] H. Hartleb, K. Kröker und T. Hertel, Density gradient ultracentrifugation and stability of SWNT-peptide conjugates, *Chem. Phys. Lett.* **2012**, 535, 131–135, DOI: [10.1016/j.cplett.2012.03.071](#)
- [79] M. S. Arnold, A. A. Green, J. F. Hulvat, S. I. Stupp und M. C. Hersam, Sorting carbon nanotubes by electronic structure

- using density differentiation, *Nat. Nano.* **2006**, 1, 60–65, DOI: [10.1038/nnano.2006.52](https://doi.org/10.1038/nnano.2006.52)
- [80] T. Hofmann, Kolloide: Die Welt der vernachlässigten Dimensionen, *Chem. Unserer Zeit* **2004**, 38(1), 24–35, DOI: [10.1002/ciuz.200400294](https://doi.org/10.1002/ciuz.200400294)
- [81] T. C. Hain, Dispersion von Kohlenstoffnanoröhren mit DNA-Oligomeren, Diplomarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2010**
- [82] F. E. Schöppler, Photolumineszenzmikroskopie und -spektroskopie halbleitender Kohlenstoffnanoröhren, Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2012**, urn:nbn:de:bvb:20-opus-73329
- [83] T. Hertel, *Photophysics* erschienen in: *Carbon Nanotubes and Related Structures: Synthesis, Characterization, Functionalization, and Applications*, Wiley-VCH, 1. Auflage, **2009**, DOI: [10.1002/9783527629930](https://doi.org/10.1002/9783527629930)
- [84] T. Ando, Excitons in Carbon Nanotubes, *J. Phys. Soc. Jpn.* **1997**, 66(4), 1066–1073, DOI: [10.1143/JPSJ.66.1066](https://doi.org/10.1143/JPSJ.66.1066)
- [85] A. Ahmad, T. Kurkina, K. Kern und K. Balasubramanian, Applications of the Static Quenching of Rhodamine B by Carbon Nanotubes, *ChemPhysChem* **2009**, 10(13), 2251–2255, DOI: [10.1002/cphc.200900246](https://doi.org/10.1002/cphc.200900246)
- [86] D. K. Singh, P. K. Giri und P. K. Iyer, Evidence for Defect-Enhanced Photoluminescence Quenching of Fluorescein by Carbon Nanotubes, *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115(49), 24067–24072, DOI: [10.1021/jp207392d](https://doi.org/10.1021/jp207392d)

- [87] D. K. Singh, P. K. Iyer und P. Giri, Role of molecular interactions and structural defects in the efficient fluorescence quenching by carbon nanotubes, *Carbon* **2012**, 50(12), 4495–4505, DOI: [10.1016/j.carbon.2012.05.030](https://doi.org/10.1016/j.carbon.2012.05.030)
- [88] F. Schöppler, C. Mann, T. C. Hain, F. M. Neubauer, G. Privitera, F. Bonaccorso, D. Chu, A. C. Ferrari und T. Hertel, Molar Extinction Coefficient of Single-Wall Carbon Nanotubes, *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115(30), 14682–14686, DOI: [10.1021/jp205289h](https://doi.org/10.1021/jp205289h)
- [89] P. Schwille und E. Haustein, *Fluorescence Correlation Spectroscopy. An Introduction to its Concepts and Applications*, Biophysics Textbook Online, **2001**, [online verfügbar](#)
- [90] E. Haustein und P. Schwille, Ultrasensitive investigations of biological systems by fluorescence correlation spectroscopy, *Methods* **2003**, 29(2), 153–166, DOI: [10.1016/S1046-2023\(02\)00306-7](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00306-7)
- [91] E. Haustein und P. Schwille, Fluorescence Correlation Spectroscopy: Novel Variations of an Established Technique, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2007**, 36(1), 151–169, DOI: [10.1146/annurev.biophys.36.040306.132612](https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.36.040306.132612)
- [92] R. Rigler, Ü. Mets, J. Widengren und P. Kask, Fluorescence correlation spectroscopy with high count rate and low background: analysis of translational diffusion, *Eur. Biophys. J.* **1993**, 22(3), 169–175, DOI: [10.1007/BF00185777](https://doi.org/10.1007/BF00185777)
- [93] E. L. Elson und D. Magde, Fluorescence correlation spectroscopy. I. Conceptual basis and theory, *Biopolymers* **1974**, 13(1), 1–27, DOI: [10.1002/bip.1974.360130102](https://doi.org/10.1002/bip.1974.360130102)
- [94] D. Magde, E. Elson und W. W. Webb, Thermodynamic Fluctuations in a Reacting System—Measurement by Fluorescence Cor-

- relation Spectroscopy, *Phys. Rev. Lett.* **1972**, 29, 705–708, DOI: [10.1103/PhysRevLett.29.705](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.29.705)
- [95] M. Kinjo und R. Rigler, Ultrasensitive hybridization analysis using fluorescence correlation spectroscopy, *Nucl. Acids Res.* **1995**, 23(10), 1795–1799, DOI: [10.1093/nar/23.10.1795](https://doi.org/10.1093/nar/23.10.1795)
- [96] Y. Roche, D. Zhang, G. Segers-Nolten, W. Vermeulen, C. Wyman, K. Sugawara, J. Hoeijmakers und C. Otto, Fluorescence Correlation Spectroscopy of the Binding of Nucleotide Excision Repair Protein XPC-hHr23B with DNA Substrates, *J. Fluoresc.* **2008**, 18(5), 987–995, DOI: [10.1007/s10895-008-0390-6](https://doi.org/10.1007/s10895-008-0390-6)
- [97] P. Schwille, F. Oehlenschläger und N. G. Walter, Quantitative Hybridization Kinetics of DNA Probes to RNA in Solution Followed by Diffusional Fluorescence Correlation Analysis, *Biochemistry* **1996**, 35(31), 10182–10193, DOI: [10.1021/bi960517g](https://doi.org/10.1021/bi960517g)
- [98] P. Schwille, J. Bieschke und F. Oehlenschläger, Kinetic investigations by fluorescence correlation spectroscopy: The analytical and diagnostic potential of diffusion studies, *Biophys. Chem.* **1997**, 66(2-3), 211–228, DOI: [10.1016/S0301-4622\(97\)00061-6](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(97)00061-6)
- [99] T. Hertel, S. Himmelein, T. Ackermann, D. Stich und J. Crochet, Diffusion Limited Photoluminescence Quantum Yields in 1-D Semiconductors: Single-Wall Carbon Nanotubes, *ACS Nano* **2010**, 4(12), 7161–7168, DOI: [10.1021/nm101612b](https://doi.org/10.1021/nm101612b)
- [100] S. J. Sowerby, C. A. Cohn, W. M. Heckl und N. G. Holm, Differential adsorption of nucleic acid bases: Relevance to the origin of life, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, 98(3), 820–822, DOI: [10.1073/pnas.98.3.820](https://doi.org/10.1073/pnas.98.3.820)
- [101] A. Das, A. Sood, P. K. Maiti, M. Das, R. Varadarajan und C. Rao, Binding of nucleobases with single-walled carbon nanotubes: Theo-

- ry and experiment, *Chem. Phys. Lett.* **2008**, 453(46), 266–273, DOI: [10.1016/j.cplett.2008.01.057](https://doi.org/10.1016/j.cplett.2008.01.057)
- [102] S. Iliafar, J. Mittal, D. Vezenov und A. Jagota, Interaction of Single-Stranded DNA with Curved Carbon Nanotube Is Much Stronger Than with Flat Graphite, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136(37), 12947–12957, DOI: [10.1021/ja5055498](https://doi.org/10.1021/ja5055498)
- [103] R. R. Johnson, A. T. C. Johnson und M. L. Klein, Probing the Structure of DNA-Carbon Nanotube Hybrids with Molecular Dynamics, *Nano Lett.* **2008**, 8(1), 69–75, DOI: [10.1021/nl071909j](https://doi.org/10.1021/nl071909j)
- [104] R. R. Johnson, A. T. C. Johnson und M. L. Klein, The Nature of DNA-Base–Carbon–Nanotube Interactions, *Small* **2010**, 6(1), 31–34, DOI: [10.1002/sml.200901481](https://doi.org/10.1002/sml.200901481)
- [105] S. Neihisial, G. Periyasamy, P. K. Samanta und S. K. Pati, Understanding the Binding Mechanism of Various Chiral SWCNTs and ssDNA: A Computational Study, *J. Phys. Chem. B* **2012**, 116(51), 14754–14759, DOI: [10.1021/jp305894c](https://doi.org/10.1021/jp305894c)
- [106] S. Manohar, T. Tang und A. Jagota, Structure of Homopolymer DNA-CNT Hybrids, *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111(48), 17835–17845, DOI: [10.1021/jp071316x](https://doi.org/10.1021/jp071316x)
- [107] A. N. Enyashin, S. Gemming und G. Seifert, DNA-wrapped carbon nanotubes, *Nanotechnology* **2007**, 18(24), 245702, DOI: [10.1088/0957-4484/18/24/245702](https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/24/245702)
- [108] M. J. Shea, R. D. Mehlenbacher, M. T. Zanni und M. S. Arnold, Experimental Measurement of the Binding Configuration and Coverage of Chirality-Sorting Polyfluorenes on Carbon Nanotubes, *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, 5(21), 3742–3749, DOI: [10.1021/jz5017813](https://doi.org/10.1021/jz5017813)

- 
- [109] Y. Shi, H. Tantang, C. W. Lee, C.-H. Weng, X. Dong, L.-J. Li und P. Chen, Effects of substrates on photocurrents from photosensitive polymer coated carbon nanotube networks, *Appl. Phys. Lett.* **2008**, 92(10), 103310, DOI: [10.1063/1.2894503](https://doi.org/10.1063/1.2894503)
- [110] R. B. Weisman und S. M. Bachilo, Dependence of Optical Transition Energies on Structure for Single-Walled Carbon Nanotubes in Aqueous Suspension: An Empirical Kataura Plot, *Nano Lett.* **2003**, 3(9), 1235–1238, DOI: [10.1021/nl034428i](https://doi.org/10.1021/nl034428i)
- [111] SouthWest NanoTechnologies, *SG65i, Technical Data Sheet*, [online verfügbar](#)
- [112] K. Kröker, DNA-Kohlenstoffnanorohr-Konjugate - Biokompatibilität, *ex vivo*-Verhalten, Funktionalisierung, Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2012**, [urn:nbn:de:bvb:20-opus-74552](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bvb:20-opus-74552)
- [113] R. Kubin und A. Fletcher, Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes, *J. Lumin.* **1983**, 27(4), 455–462, DOI: [10.1016/0022-2313\(82\)90045-X](https://doi.org/10.1016/0022-2313(82)90045-X)
- [114] M. Sauer, K.-T. Han, R. Müller, S. Nord, A. Schulz, S. Seeger, J. Wolfrum, J. Arden-Jacob, G. Deltau, N. Marx, C. Zander und K. Drexhage, New fluorescent dyes in the red region for biodiagnostics, *J. Fluoresc.* **1995**, 5(3), 247–261, DOI: [10.1007/BF00723896](https://doi.org/10.1007/BF00723896)
- [115] C. Mann, Bestimmung des Absorptionsquerschnitts von (6,5)-Kohlenstoffnanoröhren, Diplomarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2010**
- [116] T. Goel, T. Mukherjee, B. J. Rao und G. Krishnamoorthy, Fluorescence Dynamics of Double- and Single-Stranded DNA Bound to Histone and Micellar Surfaces, *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114(27), 8986–8993, DOI: [10.1021/jp912029m](https://doi.org/10.1021/jp912029m)

- [117] N. Dupuy, A. Pasc, S. Parant, S. Fontanay, R. E. Duval und C. Gérardin, Amino-ethoxilated fluorinated amphiphile: Synthesis, self-assembling properties and interactions with ssDNA, *J. Fluorine Chem.* **2012**, 135, 330–338, DOI: [10.1016/j.jfluchem.2011.12.017](https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2011.12.017)
- [118] L. Edman, U. Mets und R. Rigler, Conformational transitions monitored for single molecules in solution, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, 93(13), 6710–6715, DOI: [10.1073/pnas.93.13.6710](https://doi.org/10.1073/pnas.93.13.6710)
- [119] E. S. Jeng, A. E. Moll, A. C. Roy, J. B. Gastala und M. S. Strano, Detection of DNA Hybridization Using the Near-Infrared Band-Gap Fluorescence of Single-Walled Carbon Nanotubes, *Nano Lett.* **2006**, 6(3), 371–375, DOI: [10.1021/nl051829k](https://doi.org/10.1021/nl051829k)
- [120] E. Fehlberg, Klassische Runge-Kutta-Formeln vierter und niedrigerer Ordnung mit Schrittweiten-Kontrolle und ihre Anwendung auf Wärmeleitungsprobleme, *Computing* **1970**, 6(1-2), 61–71, DOI: [10.1007/BF02241732](https://doi.org/10.1007/BF02241732)
- [121] J. E. Leffler, Parameters for the Description of Transition States, *Science* **1953**, 117(3039), 340–341, DOI: [10.1126/science.117.3039.340](https://doi.org/10.1126/science.117.3039.340)
- [122] G. S. Hammond, A Correlation of Reaction Rates, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77(2), 334–338, DOI: [10.1021/ja01607a027](https://doi.org/10.1021/ja01607a027)
- [123] F. Brunecker, Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie an Rhodamin 6G markierten DNA-SWNT-Hybriden, Diplomarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, **2011**
- [124] L. Liu und Q.-X. Guo, Isokinetic Relationship, Isoequilibrium Relationship, and Enthalpy-Entropy Compensation, *Chem. Rev.* **2001**, 101(3), 673–696, DOI: [10.1021/cr990416z](https://doi.org/10.1021/cr990416z)
- [125] F. Constable, The Mechanism of Catalytic Decomposition, *Proc. R. Soc. A* **1925**, 108, 355–378, DOI: [10.1098/rspa.1925.0081](https://doi.org/10.1098/rspa.1925.0081)

- [126] K. F. Freed, Entropy–Enthalpy Compensation in Chemical Reactions and Adsorption: An Exactly Solvable Model, *J. Phys. Chem. B* **2011**, 115(7), 1689–1692, DOI: [10.1021/jp1105696](https://doi.org/10.1021/jp1105696)
- [127] E. Starikov und B. Nordén, Entropy–enthalpy compensation as a fundamental concept and analysis tool for systematical experimental data, *Chem. Phys. Lett.* **2012**, 538, 118–120, DOI: [10.1016/j.cplett.2012.04.028](https://doi.org/10.1016/j.cplett.2012.04.028)
- [128] P. J. Barrie, The mathematical origins of the kinetic compensation effect: 1. the effect of random experimental errors, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 318–326, DOI: [10.1039/C1CP22666E](https://doi.org/10.1039/C1CP22666E)
- [129] P. J. Barrie, The mathematical origins of the kinetic compensation effect: 2. the effect of systematic errors, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 327–336, DOI: [10.1039/C1CP22667C](https://doi.org/10.1039/C1CP22667C)
- [130] A. Cornish-Bowden, Enthalpy–entropy compensation: a phantom phenomenon, *J. Biosci.* **2002**, 27(2), 121–126, DOI: [10.1007/BF02703768](https://doi.org/10.1007/BF02703768)
- [131] E. Grunwald und C. Steel, Solvent Reorganization and Thermodynamic Enthalpy-Entropy Compensation, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117(21), 5687–5692, DOI: [10.1021/ja00126a009](https://doi.org/10.1021/ja00126a009)
- [132] M. R. Eftink, A. C. Anusiem und R. L. Biltonen, Enthalpy-entropy compensation and heat capacity changes for protein-ligand interactions: general thermodynamic models and data for the binding of nucleotides to ribonuclease A, *Biochemistry* **1983**, 22(16), 3884–3896, DOI: [10.1021/bi00285a025](https://doi.org/10.1021/bi00285a025)
- [133] T. Schindler und F. X. Schmid, Thermodynamic Properties of an Extremely Rapid Protein Folding Reaction, *Biochemistry* **1996**, 35(51), 16833–16842, DOI: [10.1021/bi962090j](https://doi.org/10.1021/bi962090j)

- [134] L. Liu, C. Yang und Q.-X. Guo, A study on the enthalpy–entropy compensation in protein unfolding, *Biophys. Chem.* **2000**, 84(3), 239–251, DOI: [10.1016/S0301-4622\(00\)00130-7](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(00)00130-7)
- [135] R. Kuroki, K. Nitta und K. Yutani, Thermodynamic changes in the binding of  $\text{Ca}^{2+}$  to a mutant human lysozyme (D86/92). Enthalpy-entropy compensation observed upon  $\text{Ca}^{2+}$  binding to proteins., *J. Biol. Chem.* **1992**, 267(34), 24297–24301, DOI [nicht verfügbar](#)
- [136] H.-A. Yu und M. Karplus, A thermodynamic analysis of solvation, *J. Chem. Phys.* **1988**, 89(4), 2366–2379, DOI: [10.1063/1.455080](https://doi.org/10.1063/1.455080)
- [137] K. J. Laidler, Thermodynamics of ionization processes in aqueous solution. Part 1.–General theory of substituent effects, *Trans. Faraday Soc.* **1959**, 55, 1725–1730, DOI: [10.1039/TF9595501725](https://doi.org/10.1039/TF9595501725)
- [138] B. Lee, Solvent reorganization contribution to the transfer thermodynamics of small nonpolar molecules, *Biopolymers* **1991**, 31(8), 993–1008, DOI: [10.1002/bip.360310809](https://doi.org/10.1002/bip.360310809)
- [139] J. D. Dunitz, Win some, lose some: enthalpy-entropy compensation in weak intermolecular interactions, *Chem. Biol.* **1995**, 2(11), 709–712, DOI: [10.1016/1074-5521\(95\)90097-7](https://doi.org/10.1016/1074-5521(95)90097-7)
- [140] E. Grunwald und C. Steel, Environmental isomers and continuum models in liquids with emphasis on water and benzene, *Pure Appl. Chem.* **1993**, 65(12), 2543–2549, DOI: [10.1351/pac199365122543](https://doi.org/10.1351/pac199365122543)
- [141] E. Grunwald und C. Steel, Distinguishability of liquid environments in the presence of brownian noise, *J. Phys. Org. Chem.* **1994**, 7(12), 734–742, DOI: [10.1002/poc.610071212](https://doi.org/10.1002/poc.610071212)
- [142] J. A. Dean, *Lange's Handbook of Chemistry*, McGraw-Hill, Inc. New York, 15. Auflage, **1999**, ISBN: 0-07-016384-7

- [143] C. Y. Khripin, S. Manohar, M. Zheng und A. Jagota, Measurement of Electrostatic Properties of DNA-Carbon Nanotube Hybrids by Capillary Electrophoresis, *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113(31), 13616–13621, DOI: [10.1021/jp903197d](https://doi.org/10.1021/jp903197d)



# Abbildungsverzeichnis

1.1 Schematische Darstellung der Oberflächenphänomene bei Polymer-SWNT-Komplexen . . . . .	3
2.1 Polymerverknüpfungsmuster . . . . .	6
2.2 Polymerkonformationen in Lösung . . . . .	8
2.3 Knäuelstruktur in unterschiedlichen Lösemitteln . . . . .	9
2.4 Zufälliges Knäuel und Persistenzlänge . . . . .	11
2.5 Ideale Mischungsentropie . . . . .	15
2.6 Langmuir-Adsorptionsmodell . . . . .	22
2.7 Adsorptionskonformationen von Polymeren . . . . .	24
2.8 Temperaturprogrammierte Desorption . . . . .	26
2.9 Konzentrationsprungmethode . . . . .	29
2.10 Diffusionslimitierte Desorption . . . . .	31
2.11 2D-Gitter zur Beschreibung der Diffusion . . . . .	34
2.12 Eindimensionale Diffusion nach Crank-Nicolson . . . . .	38
2.13 Exemplarische Auswahl verschiedener Dispergieradditive .	41
2.14 DLVO-Potenzial . . . . .	42
2.15 Absorptionsspektrum von (6,5)-SWNTs . . . . .	43
2.16 Konfokales Volumen und Fluoreszenzfluktuationen . . . .	45
2.17 FCS-Autokorrelationsfunktion . . . . .	48
3.1 DNA-Erkennungssequenzen . . . . .	52
3.2 DNA-Adsorptionskonformationen auf SWNTs . . . . .	53
3.3 DNA-Tensid-Austauschexperimente . . . . .	55

3.4	DNA-Desorptionsexperimente . . . . .	58
4.1	Normierte Absorptionsspektren der F8T2–SWNT-Proben .	65
4.2	Ablauf der DNA–SWNT-Probenpräparation . . . . .	66
4.3	Absorptionsspektren der DNA–SWNT-Fraktionen . . . . .	68
4.4	Filtrationsprotokoll der DNA-Proben . . . . .	69
4.5	Absorptionsspektren der Tensid–SWNT-Fraktionen . . . . .	71
4.6	EpiFluoreszenzmikroskop für Verdünnungsexperimente .	73
4.7	FCS-Aufbau . . . . .	75
4.8	Justierung der Lochblende . . . . .	77
4.9	FCS-Korrelationskurve und spektrale Eigenschaften von Rhodamin 6G . . . . .	78
5.1	Experimente zur Bestimmung der adsorbierten DNA- Stoffmenge . . . . .	81
5.2	Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten DNA-Stoffmenge . . . . .	83
5.3	Schematische und experimentell bestimmte Adsorptions- isothermen . . . . .	85
5.4	Helikale und <i>tail</i> -Adsorptionskonformationen . . . . .	86
5.5	Bestimmung der Länge des <i>train</i> -Segments . . . . .	89
5.6	Schematische FCS-Kurven . . . . .	91
5.7	Herstellung der SDS-DNA-Lösungen für FCS-Messungen I	92
5.8	Absorptionsspektren der SDS–DNA–SWNT-Lösungen für FCS-Messungen . . . . .	94
5.9	Normierte FCS-Messungen der SDS–DNA-SWNT- Lösungen I . . . . .	95
5.10	Herstellung der SDS-DNA-Lösungen für FCS-Messungen II	99
5.11	Normierte FCS-Messungen der SDS-DNA-Lösungen II . . .	101
5.12	Herstellung der Lösungen für FCS-Messungen an reinen DNA–SWNT-Komplexen . . . . .	104

---

5.13	Absorptionsspektren und FCS-Kurven reiner DNA-SWNT-Komplexe . . . . .	106
5.14	Ermittelte Teilchenzahlen und Diffusionszeiten aus FCS-Messungen an DNA-SWNT-Komplexen . . . . .	106
6.1	Suspensionen zur Bestimmung der Löslichkeit von F8T2 . . . . .	112
6.2	Absorptions- und Fluoreszenzspektren zur Bestimmung der Löslichkeit von F8T2 . . . . .	113
6.3	Verlauf der detektierten Fluoreszenzintensität beim Verdünnen der filtrierten DNA-SWNT-Komplexe . . . . .	115
6.4	Bestimmung von $I(0)$ durch lineare Extrapolation . . . . .	119
6.5	Ermittelter Bedeckungsgrad und Anpassung mit der Langmuir-Gleichung . . . . .	121
6.6	Eyring- und van't Hoff-Analyse für $d(GT)_{12}$ -FAM . . . . .	122
6.7	Ermittelte Gleichgewichtskonstanten der untersuchten DNA-Oligomere bei den verschiedenen Temperaturen in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl . . . . .	129
6.8	Eyring-Parameter der untersuchten DNA-Oligomere bei der Desorption in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl . . . . .	132
6.9	Schematische Darstellung der Desorption verschieden langer DNA-Oligomere . . . . .	133
6.10	Ermittelte van't Hoff-Parameter der untersuchten DNA-Oligomere bei der Desorption in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl . . . . .	134
6.11	Ermittelte Freie Enthalpien und Freie Aktivierungsenthalpien der Adsorption und Desorption in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl . . . . .	136
6.12	Elementarzelle zur Simulation des Diffusionsverhaltens . . . . .	139
6.13	Diffusionskoeffizienten verschiedener DNA-Oligomere in Abhängigkeit der Nukleinbasenzahl . . . . .	142

6.14	Simuliertes Diffusionsverhalten nach Desorption von der SWNT-Oberfläche . . . . .	143
6.15	Simuliertes Diffusionsverhalten nach Desorption von der SWNT-Oberfläche II . . . . .	144
6.16	Constable-Auftragung der Aktivierungsparameter der DNA- und F8T2-Desorption . . . . .	149
6.17	Solvathüllen in verdünnten Lösungen . . . . .	151
6.18	Kontaktfläche $A$ zwischen einem Kuhn-Segment der DNA und der SWNT . . . . .	155
A.1	Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des $d(GT)_{12}$ -FAM der Konzentrationsstufen A und C . . . . .	172
A.2	Absorptions- und Fluoreszenzspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des $d(GT)_{12}$ -FAM der Konzentrationsstufen D, E und F . . . . .	173
A.3	Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des $d(GT)_{16}$ -FAM der Konzentrationsstufen B bis E . . . . .	174
A.4	Fluoreszenzspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge der Konzentrationsstufe F des $d(GT)_{16}$ -FAM sowie des $d(GT)_{20}$ -FAM . . . . .	175
A.5	Absorptionsspektren zur Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge des $d(GT)_{20}$ -FAM der Konzentrationsstufen A, B, C und E . . . . .	176
A.6	Absorptionsspektren zur Normierung der adsorbierten DNA-Stoffmenge . . . . .	177
A.7	Absorptionsspektrum der verwendeten $d(GT)_2$ -FAM-SWNT-Lösung . . . . .	178
A.8	Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit F8T2 in den untersuchten Solvenzien . . . . .	180

A.9 Eyring- und van't Hoff-Analyse der Desorptions- und Adsorptionsratenkonstanten sowie der Gleichgewichtskonstanten . . . . .	181
A.10 Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei 15 °C . . . . .	182
A.11 Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei 25 °C . . . . .	183
A.12 Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei 35 °C . . . . .	183
A.13 Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei 45 °C . . . . .	184
A.14 Bedeckungsgrad der SWNT-Oberfläche mit DNA nach der Verdünnung bei 55 °C . . . . .	184
A.15 Eyring-Analyse der Adsorptions- und Desorptionsratenkonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere . . . . .	185
A.16 Van't Hoff-Analyse der Gleichgewichtskonstanten der verschiedenen DNA-Oligomere . . . . .	186
A.17 Constable-Auftragung der Aktivierungsparameter der DNA- und F8T2-Adsorption sowie der thermodynamischen Parameter . . . . .	190



# Tabellenverzeichnis

4.1	Zusammensetzung des stufenförmigen Dichtegradienten zur Isolierung der DNA–SWNT-Komplexe . . . . .	67
4.2	Zusammensetzung des stufenförmigen Dichtegradienten zur Isolierung der Tensid–SWNT-Komplexe . . . . .	70
5.1	Konzentrationen der DNA-Lösungen zur Bestimmung der adsorbierten DNA-Stoffmenge . . . . .	82
5.2	Ergebnisse der linearen Anpassung mit der Langmuir-Gleichung . . . . .	88
5.3	Zusammensetzung der SDS–DNA–SWNT-Lösungen für FCS-Messungen I . . . . .	93
5.4	Ergebnisse der FCS-Messungen an SDS-DNA-Lösungen I .	96
5.5	Ergebnisse der FCS-Messungen an SDS–DNA–SWNT-Lösungen I . . . . .	97
5.6	Zusammensetzung der SDS–DNA–SWNT-Lösungen für FCS-Messungen II . . . . .	100
5.7	Ergebnisse der FCS-Messungen an SDS-DNA–SWNT-Lösungen II . . . . .	102
5.8	Zusammensetzung der DNA–SWNT-Lösungen für FCS-Messungen an reinen DNA–SWNT-Komplexen . . . . .	105
6.1	Ergebnisse der Eyring-Analyse für die F8T2-Desorption von der SWNT-Oberfläche. . . . .	124

6.2	Ergebnisse der Eyring-Analyse für die Adsorption von F8T2 auf die SWNT-Oberfläche . . . . .	126
6.3	Ergebnisse der van't Hoff-Analyse für die Verdünnungsexperimente von F8T2-SWNT-Komplexen . . . . .	126
6.4	Ergebnisse der Eyring-Analyse der Adsorptionsratenkonstanten für die DNA-Verdünnungsexperimente . . . . .	131
6.5	Vergleich der berechneten Diffusionsratenkonstanten mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 15 °C . . . . .	145
6.6	Vergleich der berechneten Diffusionsratenkonstanten mit den experimentell bestimmten Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 55 °C . . . . .	146
A.1	Zur Diffusionssimulation verwendete, berechnete Diffusionskoeffizienten bei den verschiedenen Temperaturen	187
A.2	Berechnete Diffusionsratenkonstanten und experimentell bestimmte Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 25 °C . . . . .	188
A.3	Berechnete Diffusionsratenkonstanten und experimentell bestimmte Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 35 °C . . . . .	188
A.4	Berechnete Diffusionsratenkonstanten und experimentell bestimmte Ratenkonstanten von Adsorption und Desorption bei 45 °C . . . . .	189

# Danksagung

Das abschließende Kapitel ist all denen gewidmet, die mich während meiner Promotionszeit unterstützt haben. Allen voran möchte ich mich bei Prof. Dr. Tobias Hertel bedanken, der mir die Anfertigung dieser Arbeit in seinem Arbeitskreis ermöglichte und mir zum einen in vielen hilfreichen Diskussionen die Analyse und Weiterentwicklung der Experimente erleichterte und mir zum anderen die Gelegenheit gab, durch den Besuch nationaler sowie internationaler Tagungen meine Ergebnisse im wissenschaftlichen Dialog zu erörtern.

Ein großer Dank gilt auch Dr. Friedrich Schöppler, der nicht nur Teile dieser Dissertation Korrektur gelesen hat, sondern ebenso den Ausbau der Experimente und die Interpretation der Ergebnisse durch viele Hinweise und Ratschläge in seiner gewohnt sympathischen Art begleitet hat.

Nicht minder möchte ich Tilman C. Hain danken. Neben dem Korrekturlesen dieser Arbeit stand er auch bei auftretenden Igor-, LabView- und anderen technischen Herausforderungen stets hilfsbereit zur Seite und war ein ebenso zuverlässiger Partner im Optiklabor. Über die zahlreichen wissenschaftlichen Diskussionen hinaus werde ich jedoch ebenso unsere sportlichen Diskurse vermissen. Für die unentwegt kooperative Zusammenarbeit im Optiklabor und die teilweise auch spontane Verlegung von Messzeiten möchte ich zudem Holger Hartleb und Nicolas Rühl Dank sagen.

Die Arbeit im Büro war Dank meiner Kollegen Christoph Mann und Felix Bergler durchweg unkompliziert und aufgrund der vielen unterhaltsamen, sportlichen Diskussion immer angenehm und willkommen. Florian Späth möchte ich selbstverständlich für seine notorisch gute Laune danken, die auch die eigene Stimmung stets anzuheben vermag. Außerdem konnte er bei praktischen und theoretischen Fragestellungen zu Polymer-SWNT-Komplexen stets mit gutem Rat und Literatur helfen. Ferner sei der gesamten Arbeitsgruppe für die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre sowie den nicht-wissenschaftlichen Angestellten des Arbeitskreises und des Instituts für die zuverlässige und freundliche Zusammenarbeit gedankt. Stephanie Kachel und Jochen Fitzner danke ich für die phasenweise Begleitung der Forschungsprojekte im Rahmen ihres Orientierungspraktikums bzw. seiner Bachelorarbeit. Dem Verband der chemischen Industrie gilt mein Dank für die materielle Förderung der vorliegenden Arbeit in Form eines Chemiefonds-Stipendiums.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Studienkollegen Klaus Dück, Jost Henkel, Steffen Kalinna, Martin Kess, Johannes Landmann, Alexander Mertsch und Dr. Matthias Parthey für die unvergleichliche Zeit während des Studiums und darüber hinaus Dank sagen.

Ein sehr großer Dank gebührt meiner Familie – meinen Eltern Markhard und Monika sowie meiner Schwester Corinna – die mich während der kompletten Studien- und Promotionszeit nicht nur materiell, sondern ebenso moralisch unterstützt haben. Ohne euch wäre mir diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Kristin möchte ich neben dem Korrekturlesen dieser Arbeit vor allem für ihre Liebe, Zuneigung und Geduld danken, mit der sie mein – zu häufiges – physikalisch-chemisches Wehklagen ausgehalten und dabei stets aufmunternde Worte für mich gefunden hat. Deine uneingeschränkte Unterstützung hat mich in den letzten Jahren während allen Höhen begleitet und mir aus allen Tiefen geholfen.