

sen. Darüber hinaus kann die Kontrollierbarkeit schneller Reaktionen eingesetzt werden, um ultraschnelle molekulare Schalter zu bauen und damit Datenspeicherung und –transfer intelligent zu optimieren.

Regina de Vivie-Riedle

MPI für Quantenoptik, Garching

rdv@mpq.mpg.de

## Mikro-elektrochemie

◆ Die Anwendung elektrochemischer Methoden in der Sensorik, der medizinischen und biochemischen Analytik und den Materialwissenschaften erhält durch Systeme mit Abmessungen im Nanometerbereich einen neuen Schub. Allein in den Jahren 2001 und 2002 erschienen zu dem Thema mehr als 1000 Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften. Diese Breite zwingt dazu, sich hier auf einige wichtige Entwicklungen zu beschränken.

Die besonderen Anwendungsmöglichkeiten kleiner Elektroden ergeben sich aus dem Zugang zu bisher unzugänglichen Messorten durch immer kleinere Abmessungen und durch den von sphärischer Diffusion dominierten Massentransport. Häufig sind diese Bedingungen bei Elektroden mit Durchmessern kleiner als 30  $\mu\text{m}$  erfüllt. Die sphärische Diffusion führt dazu, dass sich schnell stationäre Ströme bei hohen Stromdichten in ruhenden Lösungen einstellen und das Signal gegenüber variierenden Konvektionsverhältnissen unempfindlich wird.

Bisher ist allerdings experimentell nicht gesichert, ob sich bei weiterer Verkleinerung der Elektroden

die genannten Effekte nur verstärken oder ob auch neue Erscheinungen auftreten. Letzteres ist dann zu erwarten, wenn die Elektrodengröße und damit zusammenhängend die Diffusionsschicht kleiner werden als die diffuse elektrochemische Doppelelektrode.

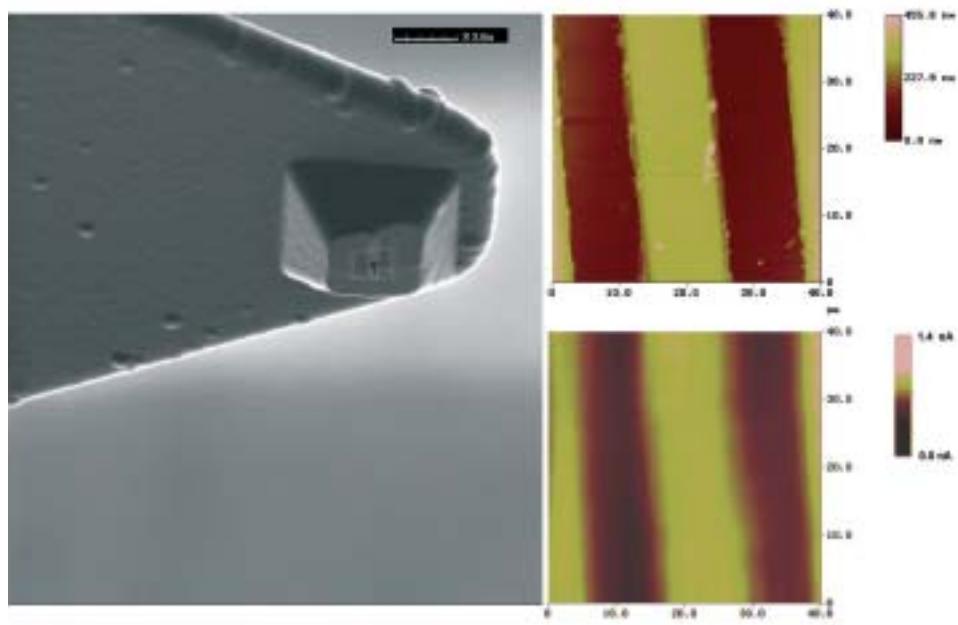
### Methodische Entwicklungen

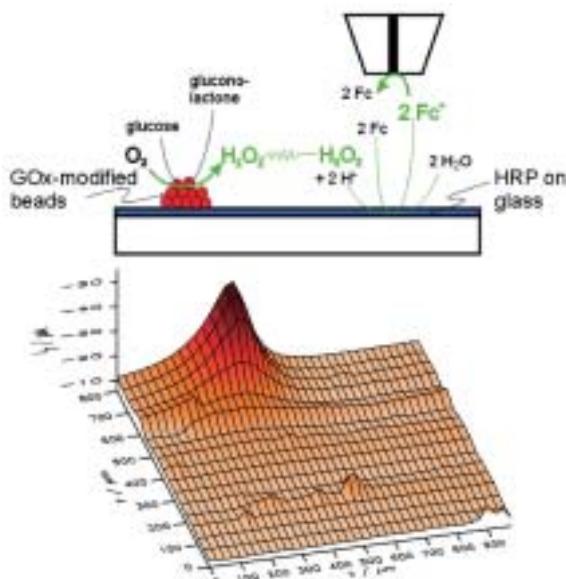
◆ Die Betonung des Begriffs Nanoelektrode entspringt sicher der Schwierigkeit, solche Elektroden reproduzierbar herzustellen. Gerade hier gibt es Durchbrüche. Neben den länger verfolgten Strategien, verjüngte Drähte oder Fasern mit einer Isolation zu versehen, erlauben inzwischen lasergeheizte Kapillarziehgeräte, geschmolzene Edelmetalldrähte mit erweichtem Quarz oder Glas auf Durchmesser von wenigen Nanometern auszuziehen.<sup>1)</sup>

Die elektrochemische Rastermikroskopie (SECM, Scanning Electrochemical Microscopy) erfreut sich ungebrochener Aufmerksamkeit. Richtungsweisende Arbeiten und der Stand, der in den letzten zehn Jahren erreicht wurde, sind in einem Buch zusammengefasst.<sup>2)</sup> Mit kommerziell verfügbaren Geräten findet die Methode zunehmend Anwendungsfelder außerhalb der Grundlagenforschung. Insbesondere in der Bioanalytik, für materialwissen-

Abb. 1.

Links: Integrierte AFM-SECM Spitze mit 850 nm Elektrode und remodeliertem Dorn (350 nm); rechts: Simultane Abbildung einer GaAs-Probe mit 14  $\mu\text{m}$  breiten Au-Streifen mit Abstand 10  $\mu\text{m}$ , oben: AFM-Topographie, unten: elektrochemische Aktivität. (C. Kranz, B. Mizai-koff Georgia Tech, Atlanta, und A. Lugsstein, E. Bertagnoli, TU Wien, 2002)





**Abb. 2.**  
**Detektionschema und Beispielmessung für die kombinierte Aktivität von Glucoseoxidase (GOx, immobilisiert an magnetischen Partikeln) und Meerrettich-Peroxidase (HRP, an Glas gebunden) mit dem SECM.**  
(G. Wittstock, 2002)

schaftliche und grundlegende physikochemische Untersuchungen an Flüssig-Flüssig-Grenzflächen ist SECM heute ein unverzichtbares Werkzeug.

Bei der Kombination des SECM mit dem Rasterkraftmikroskop wurden bedeutende Fortschritte erzielt (Abbildung 1).<sup>3,4)</sup> Schon jetzt ist absehbar, dass serienmäßig hergestellte Cantilever mit integrierten Messsonden einen Entwicklungssprung in der Elektrochemie einleiten werden, da man damit räumlich korrelierte Struktur- und Reaktivitätsdaten von isolierenden, halbleitenden und leitfähigen Oberflächen erhält. Aus ähnlichen Erwägungen heraus werden auch andere integrierte Messsonden für die SECM untersucht: Mehrfachelektroden (Ring-Scheiben-Mikroelektroden<sup>5)</sup>, Hettoden<sup>6)</sup> und die Kombination einer optischen Faser mit einer Mikroinglektrode.<sup>7,8)</sup>

Mit der Verkleinerung von Elektroden und der Verwendung von integrierten Messsonden entstehen neue Probleme für die theoretische Beschreibung des Signalverhaltens. Bei Simulationen wird häufig die Methode der finiten Differenzen eingesetzt. Diese ist aber nur für axialsymmetrische Systeme sinnvoll. Gerade Nanoelektroden stellen nichtsymmetrischen Systemen dar, weil ihre exakte Geometrie schwer zu gewährleisten und ge-

nauso schwer zu verifizieren ist. Für Berechnungen stationärer Ströme an nichtsymmetrischen Systemen zeichnet sich ab, dass die Randelementmethode in der externen Formulierung als neue universelle Methode das quantitative Verständnis von Nanoelektroden und mikroelektrochemischen Anordnungen voranbringen wird.<sup>9)</sup>

### Physikalische Chemie flüssiger Grenzflächen

◆ Positionierbare Mikroelektroden erlauben die Untersuchung von Elementarprozessen polarisierter Flüssig-Flüssig-Grenzflächen, an denen gekoppelte Elektronen- und Ionentransferprozesse stattfinden.<sup>10-13)</sup> So gar Wasser-Luft-Grenzflächen mit einem Langmuir-Blodgett-Film lassen sich untersuchen, wenn eine Mikroscheiben-Elektrode von unten an die Grenzfläche herangeführt wird. So kann eine an der Mikroelektrode erzeugte Base lokal die an die Monoschicht gebundenen Protonen titrieren. Der entstehende Gradient der Protonenkonzentration entlang der Monolage induziert eine laterale Protonendiffusion und verursacht eine Modulation des Stroms an der Mikroelektrode.<sup>14)</sup> Zusammen mit Simulationen lassen sich aus den Messsignalen Diffusionskonstanten bestimmen.

In einer ähnlichen Anordnung wurde die Leitfähigkeit einer Monolage von thiolatbeschichteter monodisperser Silbernanopartikel an der Wasser-Luft-Grenzfläche untersucht. Dabei verhielt sich die Grenzfläche bei geringer Kompression wie ein Isolator. Wurden die Nanopartikel so dicht komprimiert, dass zwischen ihnen Elektronentransfer möglich war, verhielt sich die Oberfläche wie eine Metall-Lösungsgrenzfläche.<sup>15)</sup>

### Mikroelektrochemie in biologischen Systemen

◆ Die Möglichkeit, die Aktivität immobilisierter Enzyme mit dem SECM abzubilden (Abbildung 2), gewinnt an Bedeutung. Hintergrund

sind die Bemühungen zum Aufbau von Proteinarrays.<sup>16)</sup>

SECM lässt sich zur Untersuchung von lebenden Zellen einsetzen, beispielsweise um den O<sub>2</sub>-Verbrauch von Rinderembryos zu beobachten.<sup>17)</sup> Schon fast traditionell ist der Einsatz von mikroelektrochemischen Methoden bei der Untersuchung der Sekretion von Neurotransmittern. Diese gewinnen durch Untersuchungen mit definiert positionierbaren Mikroelektroden eine neue Qualität, wie bei der Beobachtung von Neurotransmitter-Exozytose an adhärenen wachsenden PC12-Zellen demonstriert wurde.<sup>18)</sup> Dopamin kann direkt an Carbonfaser-Elektroden oxidiert werden. Eine Verbesserung der Selektivität wird durch schnelle cyclische Voltammetrie (FSCV, Fast Scan Cyclic Voltammetry) mit Spannungsvorschubgeschwindigkeiten von 1000 V·s<sup>-1</sup> erzielt. Solche Experimente wurden erst durch die Verringerung der Doppelschichtladeströme und der Zellkonstante von Mikroelektroden möglich.

Stimuliert man bei betäubten Ratten das Vorderhirn mit elektrischem Strom, wird im Striatum, einer der zentralen Schaltzellen des Zentralnervensystems, Dopamin ausgeschüttet. Gemessen wurde dies mit Mikroelektrodenbündeln mit bis zu vier Elektroden. Da die Elektroden 10 bis 15 µm Abstand voneinander hatten, war die Messantwort auf den Stimulus an den Elektroden unterschiedlich, so dass extrazelluläre Ereignisse mit hoher örtlicher Auflösung erfasst wurden.<sup>19)</sup>

In ähnlicher Weise wurde Dopamin im Striatum anästhesierter Ratten mit FSCV detektiert. Durch Infusion eines Breitbandantagonisten gegen den ionotropen Glutamatrezeptor verminderte sich die extrazelluläre Dopaminkonzentration. Diese Koppelung zwischen dem zentralen Dopamin- und Glutamatsystem führt zu wichtigen Erkenntnissen über die Parkinson'sche Krankheit, Schizophrenie, Stress und Drogenmissbrauch.<sup>20)</sup>

Die ausgeschüttete Menge an Neurotransmittern ist so gering, dass sie nur durch Mikroelektroden, die direkt an der Zelle positioniert werden, oder in extrem kleinen

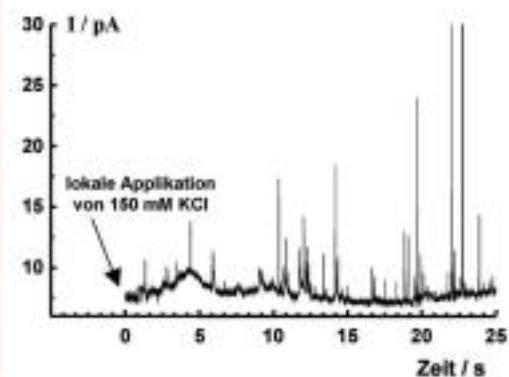
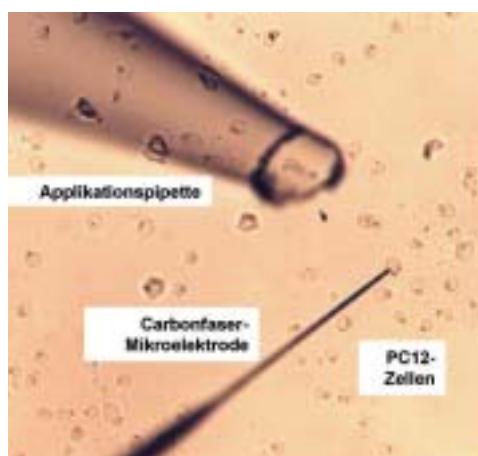
Elektrolytvolumina detektiert werden kann (Abbildung 3).

Als Alternative zu elektrochemischen Zellen in Fused-Silica-Kapillaren<sup>21)</sup> versucht man durch Strukturierungs- und Ätztechniken Arrays aus Microcavities herzustellen. Diese sollen Volumina von einigen pL bis nL aufnehmen und elektrochemische Messzellen enthalten. In diesen Arrays sollen dann einzelne Zellen inkubiert und parallel z.B. auf Stressreaktionen untersucht werden.<sup>22)</sup> Durch Kopplung von Microcavities mit Mikrofluidik konnten einzelne Herzzellen in einem Volumen von 360 pL auf die Ausschüttung von Lactat untersucht werden.<sup>23)</sup> Zusätzlich zu den direkt an Mikroelektroden detektierbaren Catecholaminen ist die In-vivo-Bestimmung von Glucose und Glutamat<sup>24)</sup> sowie Stickstoffmonoxid<sup>25,26)</sup> Ziel von Untersuchungen.

Die Detektion von Aktionspotentialen spielt sowohl für die In-vitro-Untersuchung der Zell-Zell-Kommunikation als auch bei In-vivo-Messungen eine herausragende Rolle. Insbesondere für die Konstruktion künstlicher Nervenverbindungen ist die kapazitive Kopplung der Zelle mit der Messelektrode wesentlich. Theoretische Betrachtungen<sup>27)</sup> bilden die Basis für das Design neurophysikalischer Messungen mit Hirnschnitten oder Retinagewebe auf mikroelektronischen Chips. Als ein Beispiel wurden lineare Transistorarrays auf einem Siliciumchip eingesetzt, um das extrazelluläre Feldpotential von Hippocampus-schnitten von Ratten zu messen, wobei die Form und Amplitude der Signale ähnlich denen von Patchmikroelektroden waren.<sup>28)</sup> Solche Messungen sind Voraussetzung für die Konstruktion von Biohybrid-Mikrosystemen, die periphere Nerven<sup>29)</sup> oder den Sehnerv adulter Ratten<sup>30)</sup> nach einer Verletzung funktionell verbinden sollen.

### Dektection von Nukleinsäuren und DNA

◆ Die Herstellung von DNA-Arrays gelang durch Spotting einer Thiol-modifizierten Fängersequenz auf die



Oberflächen von 32 Au-Elektroden. Nach Hybridisierung in Gegenwart eines redoxaktiven DNA-Intercalators konnten 0,1 nM der komplementären Sequenz und 100 nM einer Single-Base-Mismatch-Sequenz voltammetrisch detektiert werden.<sup>31)</sup> Streptavidin wurde mit Au-Clustern modifiziert. Nach dessen Bindung an die Biotin-modifizierte Targetsequenz wurde Silber auf den Goldclustern abgeschieden und so die erfolgreich hybridisierten Oligodeoxynucleotide für das SECM sichtbar gemacht: Das Silber veränderte die Oberflächenleitfähigkeit an den Spots mit Au-Clustern, die mit SECM visualisiert werden konnte, die Nachweisgrenze lag bei 30 amol Targetsequenz pro Spot.<sup>32)</sup>

Die zunehmende Verwendung mikroelektrochemischer Methoden für die Detektion von Hybridisierungereignissen lässt erwarten, dass solche Techniken bald kommerziell eingesetzt werden, um DNA-Chips auszulesen. Dabei werden die Änderung der DNA-Leitfähigkeit, intercalierende Redoxspezies, Enzymamplifizierung, Metallabscheidung und Redoxamplifizierung genutzt.

### Elektrochemische Strukturierung und Mikrofertigung

◆ Positionierbare Mikroelektroden lassen sich als Werkzeug zur Oberflächenmodifikation verwenden, wobei unterschiedliche Wirkprinzipien eingesetzt werden. Elektrochemische Metallauflösung und -abscheidung

können durch Nanosekundenspannungspulse zwischen einer mikroskopischen Werkzeugelektrode und einer Oberfläche lokal beschränkt werden.<sup>33)</sup> Mit einer Elektrolytgefüllten Glaskapillare, die über Scherkräfte-Wechselwirkung positioniert wurde, konnten Cu-Spots mit Durchmessern bis zu 400 nm abgeschieden werden.<sup>34)</sup> Ebenso gelang es, eine Methode zur galvanischen Abscheidung von Ag-Spots zu finden, die die Möglichkeit eröffnet, kleine Strukturgrößen auf einer Oberfläche zu erzeugen. Dazu wurden die Ag-Ionen potentialunterstützt aus einer Kapillare mit wässriger Lösung durch Nitrobenzol, in der Ag<sup>+</sup> durch Kryptantkomplexiert wurde, auf die Oberfläche transferiert.<sup>35)</sup>

Großes Interesse besteht an Verfahren zur Herstellung von mikroskopischen Proteinschichten, die sich wegen ihrer Empfindlichkeit mit anderen Verfahren nicht strukturieren lassen. Strategien beruhen auf der lokalen elektrochemischen Manipulation von Alkanthiolatmonolagen.<sup>36)</sup> Eine andere Möglichkeit ist, Polyacrylat-basierende Copolymeren unter Einschluss von Enzymen auszufällen, indem der pH-Wert durch Elektrolyse an der Mikroelektrode lokal verschoben wird.<sup>37)</sup> Schließlich lässt sich die lokale elektrochemische Abscheidung von leitenden Polymeren induzieren, wobei ein Protonenakzeptor in der Lösung als „chemischen Linse“ dienen kann: Dieser Konzentration beeinflusst die Strukturgröße.<sup>38)</sup>

Abb. 3.  
Links: Lichtmikroskopische Aufnahme einer Carbonfaser-Mikroelektrode an einer PC12-Zelle; rechts: Detektion der Exozytose von Catecholaminen nach Depolarisation mit KCl.  
(A. Schulte, W. Schuhmann, 2002)

## Mikroelektrochemie in der Werkstoffforschung

◆ In der Korrosionsforschung besteht Bedarf an ortsaflösenden Referaktivitätsmessungen. Neben der Technik der rasternden Referenzelektrode (SRET, Scanning Reference Electrode Technique) und deren Varianten spielen zunehmend positionierbare, stromdurchflossene Mikroelektroden eine Rolle. Allerdings beeinflussen Redoxspezies, die an Mikroelektroden entstehen, möglicherweise die Korrosionsprozesse. Durch SECM im Feedback-Modus gelang die Untersuchung der Korrosionsdynamik von Edelstahl<sup>39)</sup> sowie die Korrelation der Al-Korrosion mit der Defektstruktur des nativen  $Al_2O_3$ -Films.<sup>40)</sup> Impedanzspektroskopie in einer potentiostatischen Dreielektrodenkonfiguration wurde für die lokale Oberflächenanalyse mit einer lateralen Auflösung von 10 µm angewendet. Damit wurden Defekte in  $CrN_x$ -Schichten auf Mg-Legierungen, die Korn-abhängige Passivierung polykristalliner Metalloberflächen und die Strukturierung ultradünner Al-Filme beschrieben.<sup>41)</sup> Die Kombination von Impedanzmessungen mit SECM erlaubt, Korrosionsphänomene an polymerbeschichteten Weißblechen lokal zu untersuchen.<sup>42)</sup>

Wolfgang Schuhmann  
Analytische Chemie –  
Elektroanalytik & Sensorik  
Universität Bochum  
Wolfgang.Schuhmann@  
ruhr-uni-bochum.de  
Gunther Wittstock  
Physikalische Chemie;  
Universität Oldenburg  
gunther.wittstock@uni-oldenburg.de



**Wolfgang Schuhmann**, Jahrgang 1956, studierte Chemie in Karlsruhe, wechselte nach dem Diplom 1983 an die TU München, wo er 1986 am Lehrstuhl für Ökologische Chemie promoviert. Nach Forschungsaufenthalten in Austin, Texas/USA, Lund, Schweden, und Neuchâtel, Schweiz, habilitierte er sich 1993 am Lehrstuhl für Allgemeine Chemie und Biochemie der TU München. Seit 1996 ist er Professor für analytische Chemie an der Ruhr-Universität Bochum. Seine Arbeitsgebiete umfassen Biosensoren, Bioverarbeitung und Mikroelektrochemie.



**Gunther Wittstock**, Jahrgang 1965, studierte Chemie in Leipzig und promovierte dort 1994 am Institut für Analytische Chemie. Forschungsaufenthalte führten ihn an die University of Cincinnati (OH, USA) und an die TU München. Nach der Habilitation am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie in Leipzig 2001 trat er eine Professur für physikalische Chemie an der Universität Oldenburg an. Seine Arbeitsgebiete umfassen funktionalisierte Fest-Flüssig-Grenzflächen und Mikroelektrochemie.

- 1) B. Ballesteros Katemann, W. Schuhmann, *Electroanalysis*, 2002, 14, 22.
- 2) A. J. Bard, M. V. Mirkin (Hrsg.), *Scanning Electrochemical Microscopy*, M. Dekker, New York 2001, 650 S.
- 3) J. V. Macpherson, C. Jones, A. Barker, P. Unwin, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 1841.
- 4) C. Kranz, G. Friedbacher, B. Mizaikoff, *Anal. Chem.*, 2001, 73, 2491.
- 5) P. Ljeroth, C. Johans, C. Slevin, B. Quinn, K. Kontturi, *Electrochim. Commun.*, 2002, 4, 67.
- 6) J. Ufheil, K. Borgwarth, J. Heinze, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 1316.
- 7) P. J. S. Smith, P. Haydon, A. Hengstenberg, S. Jung, *Electrochim. Acta*, 2001, 47, 283.
- 8) Y. Lee, A. Bard, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 3626.
- 9) O. Sklyar, G. Wittstock, *J. Phys. Chem. B*, 2002, 106, 7499.
- 10) B. Liu, M. Mirkin, *Anal. Chem.*, 2001, 73, 670A-677A.
- 11) P. Sun, Z. Zhang, Z. Gao, Y. Shao, *Angew. Chem.-Int. Edit.*, 2002, 41, 3445.
- 12) A. L. Barker, P. Unwin, *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105, 12019.
- 13) Z. F. Ding, B. Quinn, A. Bard, *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105, 6367.
- 14) J. Zhang, P. Unwin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 2379.
- 15) B. M. Quinn, I. Prieto, S. Haram, A. Bard, *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105, 7474.
- 16) G. Wittstock, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 2001, 370, 303.
- 17) M. Nishizawa, K. Takoh, T. Matsue, *Langmuir*, 2002, 18, 3645.
- 18) A. Hengstenberg, A. Blöchl, I. Dietzel, W. Schuhmann, *Angew. Chem.-Int. Edit.*, 2001, 40, 905.
- 19) S. F. Dressman, J. Peters, A. Michael, J. Neurosci. Methods, 2002, 119, 75.
- 20) N. V. Kulagina, M. Zigmund, A. Michael, *Neuroscience*, 2001, 102, 121.
- 21) K. P. Troyer, R. Wightman, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 5370.
- 22) T. Yasukawa, A. Glidle, J. Cooper, T. Matsue, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 5001.
- 23) X. X. Cai, N. Klauke, A. Glidle, P. Cobbold, G. Smith, J. Cooper, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 908.
- 24) J. J. Burmeister, F. Pomerleau, M. Palmer, B. Day, P. Huettl, G. Gerhardt, *J. Neurosci. Methods*, 2002, 119, 163.
- 25) N. Pereira-Rodrigues, V. Albin, M. Koudelka-Hep, V. Auger, A. Paillet, F. Bedioui, *Electrochim. Commun.*, 2002, 4, 922.
- 26) X. J. Zhang, J. Lin, L. Cardoso, M. Broderick, V. Darley-Usmar, *Electroanalysis*, 2002, 14, 697.
- 27) P. Fromherz, *Eur. Biophys. J. Biophys. Lett.*, 2002, 31, 228.
- 28) B. Besl, P. Fromherz, *Eur. J. Neurosci.*, 2002, 15, 999.
- 29) T. Stieglitz, H. Ruf, M. Gross, M. Schuettler, J. Meyer, *Biosens. Bioelectron.*, 2002, 17, 685.
- 30) P. Heiduschka, I. Romann, T. Stieglitz, S. Thanos, *Exp. Neurol.*, 2001, 171, 1.
- 31) M. Kobayashi, T. Mizukami, Y. Morita, Y. Murakami, K. Yokoyama, E. Tamiya, *Electrochemistry*, 2001, 69, 1013.
- 32) J. Wang, F. Song, F. Zhou, *Langmuir*, 2002, 18, 6653.
- 33) V. Kirchner, H. P. Tranitz, R. Schuster, G. Bacher, A. Forschel, *Acc. Chem. Res.*, 2001, 34, 371.
- 34) L. Staemmler, T. Suter, H. Bohni, *Electrochim. Solid State Lett.*, 2002, 5, C61-C63.
- 35) Y. Yatziv, I. Turyan, D. Mandler, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 5618.
- 36) T. Wilhelm, G. Wittstock, *Electrochim. Acta*, 2001, 47, 275.
- 37) C. Kurzawa, A. Hengstenberg, W. Schuhmann, *Anal. Chem.*, 2002, 74, 355.
- 38) C. Marck, K. Borgwarth, J. Heinze, *Chem. Mat.*, 2001, 13, 747.
- 39) T. E. Lister, P. Pinhero, *Electrochim. Solid State Lett.*, 2002, 5, B33-B36.
- 40) I. Serebrenikova, S. Lee, H. White, *Faraday Discuss.*, 2002, 121, 199.
- 41) M. Pilaski, T. Hamelmann, A. Moehring, M. Lohrengel, *Electrochim. Acta*, 2002, 47, 2127.
- 42) B. Ballesteros Katemann, A. Schulte, E. Calvo, M. Koudelka-Hep, W. Schuhmann, *Electrochim. Commun.*, 2002, 4, 134.