

Synthese und Charakterisierung einer Hydrogelmatrix für die Multianalyt-Sensorik

Dissertation

zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Patrick Beines

geboren in Mönchengladbach

Mainz 2007

Tag der mündlichen Prüfung: 24.08.2007

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Zum Verständnis von Hydrogelen.....	1
1.2 Motivation und Zielsetzung.....	3
2. Theoretische Grundlagen.....	7
2.1 Freie radikalische Polymerisation.....	7
2.1.1 Initiierung durch thermischen Zerfall.....	9
2.1.2 Initiierung durch Redoxreaktion.....	10
2.2 Vernetzungsreaktion von Benzophenon durch UV-Bestrahlung.....	11
2.3 Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) und Optische Wellenleiter-Spektroskopie (OWS).....	15
2.4 Oberflächenplasmonen-Fluoreszenzspektroskopie (SPFS) und Optische Wellenleiter-Fluoreszenzspektroskopie (OWFS).....	21
2.5 Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung (WKB).....	23
3. Synthese der Polymere.....	25
3.1 Polymere ohne Benzophenon.....	25
3.2 Polymere mit Benzophenon.....	27
3.3 Diskussion der Copolymerisationsparameter.....	35
4. Charakterisierung der Polymere.....	39
4.1 Kernresonanzspektroskopie (NMR).....	39
4.2 Gelpermeationschromatographie (GPC).....	44
4.3 Thermische Analyseverfahren (TGA und DSC).....	45
5. Herstellung der Hydrogele.....	47
5.1 Synthese und Immobilisierung der Haftvermittler.....	47
5.2 Aufbringen der Polymerfilme.....	49
5.3 Oberflächenanbindung und Vernetzung.....	50
6. Charakterisierung der Hydrogele.....	51
6.1 Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) / Optische Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) und Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung (WKB).....	51
6.1.1 Modifikation des Messaufbaus.....	51
6.1.2 Prinzipien der Verwendung von Oberflächenplasmonen und Optischen Wellenleitern zur Untersuchung von Hydrogelen.....	55
6.1.3 Einfluss von Inhomogenitäten auf die SPR/OWS-Messungen.....	56

6.1.4	Beschreibung des Brechungsindexgradientenprofils mittels WKB-Näherung.....	60
6.1.5	Quellverhalten des homogenen Hydrogels von Polymer P8A.....	61
6.1.6	Quellverhalten von Hydrogelen mit und ohne Säurefunktionen.....	65
6.2	AFM-Untersuchungen von Hydrogelschichten.....	68
6.3	Oberflächenplasmonen-Fluoreszenzspektroskopie (SPFS) und Optische Wellenleiter-Fluoreszenzspektroskopie (OWFS).....	70
6.4	Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS).....	76
7.	Experimenteller Teil.....	83
7.1	Reagenzien und Lösungsmittel	83
7.2	Synthesen.....	84
7.2.1	Allgemeine Arbeitstechniken.....	84
7.2.2	Hydrogele ohne Benzophenon.....	85
7.2.2.1	Synthese von Poly(NIPAAm-co-SA-co-MBAAm).....	85
7.2.2.2	Synthese von Poly(NIPAAm-co-SA-co-MBAAm) auf Silicium.....	86
7.2.3	Hydrogele mit Benzophenon.....	88
7.2.3.1	Monomersynthese von 4-Methacryloyloxybenzophenon.....	88
7.2.3.2	Monomersynthese von N-Acryloyloxysuccinimid.....	89
7.2.3.3	Synthese der Polymere.....	90
7.2.3.3.1	Synthese von Poly(NIPAAm-co-SMA-co-MABP).....	91
7.2.3.3.2	Synthese von P(NIPAAm-co-MAtBu-co-MABP).....	96
7.2.3.3.3	Polymerisation von P(NIPAAm-co-MAA-co-MABP).....	97
7.2.3.3.4	Polymerisation von P(NIPAAm-co-MABP).....	99
7.2.3.3.5	Polymerisation von P(NIPAAm-co-NASI-co-MABP).....	100
7.2.3.3.6	Polymerisation von P(NIPAAm-co-MAA-co-NASI-co-MABP).....	102
7.2.3.4	Modifikation von Polymer P4S.....	104
7.2.3.5	Synthese der Haftvermittler.....	104
7.2.3.5.1	Haftvermittler für Silizium- und Glasoberflächen.....	104
7.2.3.5.2	Haftvermittler für Goldoberflächen.....	105
7.3	Präparation von Proben für SPR/OWS-Messungen.....	106
7.3.1	Aufbringen von Haftvermittlern.....	106
7.3.1.1	Immobilisierung des BP-Silans auf Siliciumdioxid-Oberflächen.....	106
7.3.1.2	Immobilisierung des BP-Thioacetats auf Gold-Oberflächen.....	106
7.3.2	Aufbringen von Polymerfilmen und Vernetzung.....	107
7.4	Experimente zum Quellen von Hydrogelen.....	107
7.5	Verwendete Geräte.....	108

7.5.1 Rasterkraftmikroskopie (AFM).....	108
7.5.2 Aufdampfanlage.....	108
7.5.3 Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	109
7.5.3.1 Messung der Glasübergangstemperatur.....	109
7.5.3.2 Messung der LCST.....	109
7.5.4 Gelpermeationschromatographie (GPC).....	109
7.5.5 FT-Infrarotspektroskopie (IR).....	110
7.5.6 Kernresonanzspektroskopie (NMR).....	110
7.5.7 Spincoater.....	110
7.5.8 Thermogravimetrische Analyse (TGA).....	111
7.5.9 UV-Vernetzer.....	111
8. Zusammenfassung der Arbeit.....	113
8.1 Synthese und Charakterisierung der Polymere.....	113
8.2 Synthese und Charakterisierung der Hydrogele.....	116
9. Literaturverzeichnis.....	119
10. Anhang.....	123
10.1 Abkürzungen und Symbole.....	123
10.2 Zusätzliche Synthesevorschriften.....	126
10.2.1 Synthese von 4-Allyloxybenzophenon.....	126
10.2.2 Umsetzung des BP-Thioacetats zum entsprechenden BP-Thiol.....	127
10.3 Lebenslauf.....	129
10.4 Danksagung.....	130

1. Einleitung

1.1 Zum Verständnis von Hydrogelen

In der Polymerchemie ist die Vernetzung ein häufig genutztes Mittel, um Polymere mit verbesserten Materialeigenschaften zu erhalten. Dies gilt insbesondere für Eigenschaften wie Härte, Stabilität und Elastizität. Eine besondere Klasse vernetzter Polymere besteht aus chemisch oder physikalisch vernetzten Polymerketten, die ein dreidimensionales Netzwerk bilden, welches große Mengen an Lösungsmittel aufgenommen hat. Solche gequollenen Netzwerke werden "Gele" genannt. Handelt es sich bei dem Lösungsmittel um Wasser, so spricht man von einem "Hydrogel".

Die Eigenschaften von Gelen liegen zwischen denen einer Flüssigkeit und eines Feststoffs. Sie sind wie Flüssigkeiten weiche Materialien, doch sie können ihre Form behalten wie ein Feststoff. Aufgrund dieser Eigenschaften haben Hydrogele industrielles Potenzial z.B. als Superabsorber in Windeln oder für weiche Kontaktlinsen.^[1]

Besonderes Interesse haben "stimuli responsive", "intelligent" oder "smart" genannte Polymere geweckt. Diese Polymere reagieren mit großen Eigenschaftsänderungen auf kleine physikalische oder chemische Stimuli, wie z.B. Temperatur-, pH-Wert- oder Druckänderung. Die mikroskopischen Veränderungen sind dabei auf makroskopischer Ebene erkennbar. In unvernetztem Zustand reagiert das Polymer durch Ausfallen aus der Lösung bzw. durch erneutes Lösen. Vernetzte Polymere reagieren durch Abnahme bzw. Zunahme des Volumens um Größenordnungen. Sowohl bei vernetzten wie unvernetzten Polymeren sind diese Veränderungen reversibel.

Viel Forschungsarbeit wurde speziell an Systemen geleistet, bei denen die Temperatur, Lösungsmittelzusammensetzung und der pH-Wert verändert wurden, um Anwendungen in verschiedenen Bereichen für die schaltbaren Polymere zu finden.^[2,3,4] Eines der am besten untersuchten schaltbaren Polymere ist Poly(N-Isopropylacrylamid) (PNIPAAm), welches in Wasser einen scharfen Phasenübergang bei etwa 33°C zeigt und damit durch Temperaturänderung schaltbar ist.^[5,6] Der Grund für diesen scharfen Phasenübergang ist eine ausgewogene Balance zwischen hydrophilen und hydrophoben Wechselwirkungen des Polymers.^[2] Erhöhung der Temperatur einer wässrigen PNIPAAm-Lösung über die LCST

führt zu einer verringerten Effizienz der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Polymer und Wasser, die schließlich nicht mehr ausreicht um das PNIPAAm in Lösung zu halten. Es findet eine Phasenseparation statt, die mit der Abgabe des an die Polymerketten gebundenen Wassers einhergeht und zur Ausbildung von zwei Phasen führt: eine mit Polymer angereicherte Phase und eine wässrige Phase, die beinahe gar kein Polymer enthält. Der Prozess der Wasserabgabe ist endotherm und kann daher auch mittels DSC verfolgt werden.^[7,8,9]

Es konnte gezeigt werden, dass hydrophobe Wechselwirkungen eine wichtige Rolle in Bezug auf den Phasenübergang von PNIPAAm-Gelen in Wasser spielen.^[10,11] Insbesondere die Hydrophobizität der N-Alkylgruppe in der Seitenkette beeinflusst die Übergangstemperatur des thermisch induzierten Phasenübergangs in großem Maße. Der Quellungsgrad des gequollenen Zustands wird hingegen hauptsächlich von den elastischen Eigenschaften und der Natur des Netzwerkrückgrats beeinflusst. Die Quellungseigenschaften von PNIPAAm-Hydrogelen können durch Copolymerisation mit Comonomeren, die geladene Gruppen tragen, effektiv verändert werden.^[5,12,13,14,15,16,17,18,19] Allerdings besitzen auch die Vernetzungsdichte^[13,20] und die Oberflächenanbindung^[21,22] einen großen Einfluss auf das Quellverhalten und dürfen daher nicht vernachlässigt werden. Ein bekanntes Problem bei (Co-)Polymeren von NIPAAm, die keine ionischen Gruppen enthalten, ist dass sie meist unter dem Effekt einer diffusionshemmenden Hautbarriere ("Skin-Effekt") leiden, wenn sie kollabieren^[2,23]. Diese Barriere entsteht, da nicht das gesamte Gel auf einmal kollabiert, sondern zunächst nur die äußeren Bereiche nahe der Oberfläche, welche die Temperaturänderung als erstes erfahren. Dadurch wird das Wasser aus diesen Bereichen ausgetrieben und es bildet sich eine dichte äußere Schicht. Diese Hautschicht hindert das Wasser an der Diffusion aus dem Gel und verlangsamt oder verhindert vollständig den Übergang vom gequollenen zum kollabierten Zustand. Zwei übliche Methoden um dieses Problem zu umgehen sind, entweder Hydrogele mit Makroporen herzustellen^[5,23] oder ionische Gruppen in das Hydrogel zu integrieren^[5,12]. Diese Polyelektrolyteinheiten dienen als hydrophile, kanalähnliche Regionen und erlauben dem Wasser die Diffusion aus dem kollabierenden Hydrogel.

Die am häufigsten verwendete Methode um Hydrogele herzustellen, ist durch freie

radikalische Vernetzungspolymerisation.^[2,12,23,24] Dabei wird ein bifunktionelles Comonomer (z.B. Methylenbisacrylamid (MBAAm)) in die Polymerisation eingebracht, welches für eine Vernetzung der Polymerketten während der Polymerisationsreaktion sorgt.

Die Liste möglicher Anwendungen für Hydrogele ist lang. Eine Verwendung als Sensoren und Aktoren^[25,26,27], die den Volumenphasenübergang von Hydrogelen nutzen, ist in vielen Bereichen, z.B. der Fluidik,^[28,29] denkbar. Die Bereiche "Tissue Engineering"^[30,31], "Drug Delivery"^[32], "Anti-Fouling"-Beschichtungen^[33] und Wundbehandlung^[34,35] sind ebenfalls mögliche Einsatzgebiete. Die Verwendung von Hydrogelen als Biomolekülträger wurde ebenfalls untersucht.^[36,37,38,39,40,41,42] Hier stellt sich das Problem der Verankerung der Biomoleküle im Gel. Im häufigen Fall einer nur unspezifischen Wechselwirkung^[43] besteht die Gefahr der Verdrängung durch Konkurrenzreagentien.^[44] Häufig werden daher Kopplungsstrategien verfolgt^[45,46,47], die aber oft auf chemisch wenig stabilen reaktiven Gruppen basieren (z.B. leicht oxidierbare Aldehydgruppen). Vielversprechend ist allerdings die Verwendung von Aktivestern, z.B. auf N-Hydroxysuccinimid (NHS) basierend, die sehr reaktiv gegenüber Aminen sind und dennoch eine gewisse Stabilität besitzen.^[48]

1.2 Motivation und Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit ist die Synthese und Charakterisierung einer Hydrogelmatrix für die Multianalyt-Sensorik. Ein vielseitig verwendbarer Sensor, der mehrere Analyten (Proteine, DNA etc.) in hoher Verdünnung ($c_0 < 50$ fM) aus kleinsten Probenmengen (Volumina < 20 nl) schnell ($t < 1$ min) und parallel nachweisen kann, wäre aufgrund effizienterer Analytik ein großer Schritt für die Diagnostik.

Lineare Messungen eines einzelnen Analyten sind ineffizient verglichen mit der parallelen Detektion mehrerer Analyten. Letztere Methode benötigt die Verwendung neuer Technologien wie Biochips, die auch Microarrays genannt werden, und zunehmend Verwendung im Bereich der DNA- und Proteindiagnostik finden. Mit diesen Chips lassen sich eine Vielzahl biologischer oder biochemischer Nachweise auf engstem, meist nur Fingernagel großem Raum durchführen. Ein großer Nachteil besteht allerdings noch darin,

dass die Sensitivität der Detektion aufgrund der kleinen Analytvolumina (10 nl - 1 μ l), die auf den Chip aufgebracht werden können, gering ist. Bislang kann in der Praxis maximal eine Sensitivität von 10^{-15} M erreicht werden, obwohl die verfügbaren Detektionssysteme schon in der Lage sind bis zu 10^{-18} M zu messen.

Das Problem der kleinen Volumina und der limitierenden Diffusionsgeschwindigkeit bei niedriger Moleküldichte kann allerdings durch geeignete Aufkonzentrierungsschritte und damit erhöhte lokale Analytmenge gelöst werden. Ein vielversprechender Ansatz ist in Abbildung 1.1 gezeigt.

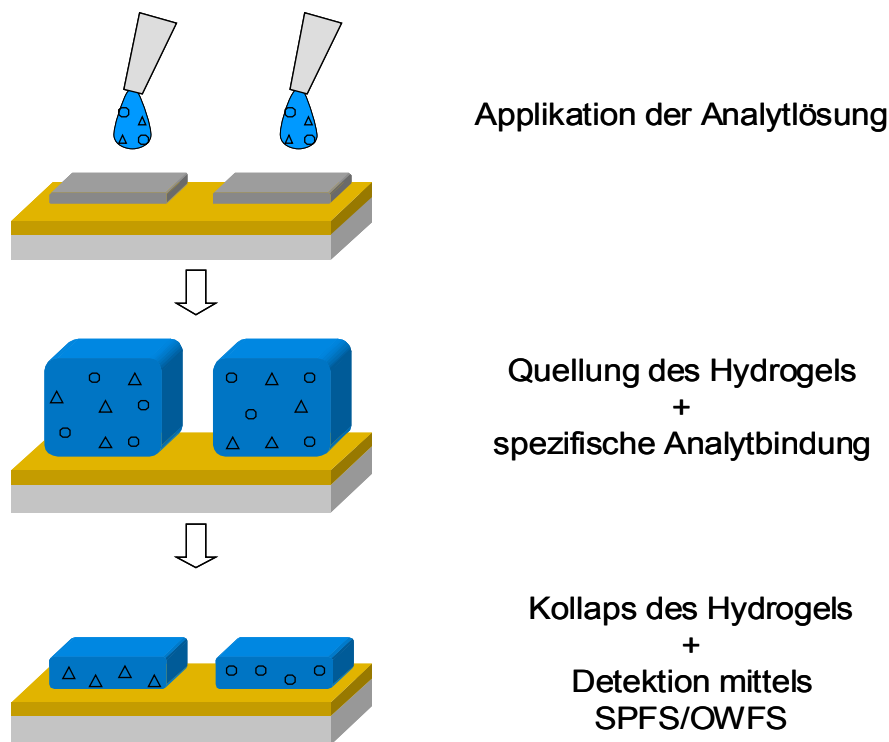


Abbildung 1.1: Konzept des hydrogel-basierten Multianalyt-Sensors.

Auf dem Biochip befinden sich eine Vielzahl von Sensorpads (hier sind nur zwei gezeigt). Jedes dieser Pads besteht aus einer trockenen Hydrogelschicht, die über einen Rezeptor verfügt, der selektiv einen der Analyten der zu untersuchenden Lösung binden kann. Aufgrund der Vielzahl an Sensorpads pro Biochip kann eine große Bandbreite an Analytmolekülen parallel untersucht werden. Gibt man nun die Analytlösung auf das trockene Hydrogel, so nimmt es das Wasser und gleichzeitig die Analyten unter starker

Quellung auf. Die Analyten diffundieren durch das Gel und der jeweils passende Analyt bindet an einen Rezeptor. Anschließend wird das Hydrogel durch einen externen Stimulus, welcher im vorliegenden Fall eine Temperaturerhöhung über die Untere Kritische Entmischungstemperatur (LCST) ist, kollabiert. Das Wasser wird zusammen mit den ungebundenen Analyten aus dem Hydrogel gedrückt, wodurch diese sich in der Lösung oberhalb des kollabierten Gels befinden und die Messung nicht stören. Die gebundenen Analyten sind weiterhin im Gel eingebettet und durch das drastisch verringerte Volumen des Gels nun in einer erhöhten Konzentration vorhanden. Dies macht eine sehr sensitive Detektion mittels Oberflächenplasmonen-Fluoreszenzspektroskopie (SPFS) und Optischer Wellenleiter-Fluoreszenzspektroskopie (OWFS) möglich.^[5,49]

Für eine solche Hydrogelmatrix ist eine Vielzahl weiterer Anwendungen denkbar. Aufgrund der 3D-Architektur stehen eine hohe Anzahl an Bindungsstellen zur Verfügung. Weiterhin bietet die Matrix auch die Möglichkeit der sterischen Abschirmung. Dies ist z.B. bei Fluoreszenzmessungen nahe Oberflächen interessant, an denen Fluoreszenzlöschung (Quenching) auftritt. In diesem Fall kann die Hydrogelmatrix benutzt werden, um eine bestimmte Distanz zwischen den Fluorophoren und der Oberfläche zu wahren. Weiterhin wären Anwendungen denkbar, bei denen ein gewisses Wasserreservoir notwendig ist, z.B. im Zusammenhang mit Biomolekülen, die außerhalb eines wässrigen Mediums denaturieren.

Die konkrete Zielsetzung für dieses Projekt bestand darin, ein (Co-)Polymer, welches ein geeignetes temperaturabhängiges Verhalten zeigt, zu synthetisieren und zu charakterisieren. Dieses sollte in eine dreidimensionale Netzwerkstruktur überführt werden, welche auf einer Goldoberfläche kovalent angebunden sein muss, um Delamination (Ablösen vom Substrat) zu vermeiden und die Untersuchung mittels Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) und Optischer Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) zu erlauben. Dann sollte das temperaturabhängige Verhalten des Polymernetzwerks in Wasser mittels optischen Messungen (SPR/OWS) untersucht werden, um Erkenntnisse über die Quell- und Kollabiereigenschaften des Hydrogels zu gewinnen, welche elementar für die Verwendung der Hydrogelmatrix in der Multianalyt-Sensorik sind.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Freie radikalische Polymerisation

Radikalische Kettenpolymerisationen von olefinischen Monomeren werden durch Radikale ausgelöst und durch wachsende Makroradikale fortgepflanzt. Diese Radikale weisen ein ungepaartes Elektron auf. Aus historischen Gründen werden sie oft freie Radikale genannt. Sie wurden früher so von den "gebundenen Radikalen" unterschieden, die heute Liganden genannt werden.

Die auslösenden Radikale entstehen nur in den seltensten Fällen aus dem Monomer selbst. Sie werden vielmehr meist thermisch, elektrochemisch oder photochemisch aus zugesetzten Initiatormolekülen I_2 gebildet. In der Regel entstehen sie paarweise nach $I_2 \rightarrow 2 I\cdot$.

Die Initiatorradikale $I\cdot$ reagieren in der Startreaktion mit je einem Monomermolekül M zu sogenannten Monomerradikalen $I-M\cdot$. In der Wachstumsreaktion addieren sich $i-1$ weitere Monomermoleküle, so dass schließlich Makroradikale $I-M_i\cdot = P_i\cdot$ entstehen. Wie bei ionischen Kettenpolymerisationen ist das aktive Zentrum " \cdot " (hier das Radikal) durch viele Monomereinheiten vom Initiatorrest $I-$ getrennt. Im Gegensatz zu ionischen Polymerisationen (oder kontrollierter radikalischer Polymerisation, wie z.B. NMP oder ATRP) wird die Reaktion des aktiven Zentrums aber nicht durch andere Initiatorfragmente beeinflusst (Gegenionen bei ionischen Polymerisationen). Der Wachstumsschritt wird also nur durch die Monomerstruktur und allenfalls durch Solvatation beeinflusst.

Im Gegensatz zu den oft lebenden ionischen Polymerisationen werden bei konventionellen radikalischen Polymerisationen mit wachsenden Makroradikalen $P_i\cdot$ die individuellen Polymerketten durch Abbruchreaktionen deaktiviert. Häufige Abbruchreaktionen sind die Rekombination oder Disproportionierung zweier Makroradikale oder aber der Abbruch durch ein Initiatorradikal. Diese Abbruchreaktionen begrenzen die Konzentration der aktiven Spezies bei freien radikalischen Polymerisationen in viel größerem Maße, als dies bei ionischen Polymerisationen der Fall ist.

Durch spezielle Maßnahmen lassen sich jedoch mit Makromonoradikalen pseudolebende,

kontrollierte Polymerisationen durchführen. Dies ist z.B. bei der Nitroxid-vermittelten Polymerisation (NMP) und bei der radikalischen Atomtransferpolymerisation (ATRP) der Fall.

Um echte lebende radikalische Polymerisationen zu erhalten, dürfen jedoch keine Disproportionierungen, keine Reaktionen der Makroradikale mit Initiatorradikalen, keine intramolekularen Ringschlussreaktionen und keine Übertragungsreaktionen stattfinden, da derartige Reaktionen das Wachstum eines radikalischen Kettenendes unterbinden.

Bei Übertragungsreaktionen wird von einem Molekül RQ eine Gruppe Q gegen ein freies Elektron des Makroradikals $P_i\cdot$ ausgetauscht, so dass eine nicht weiter wachsende Polymerkette P_iQ und ein Radikal $R\cdot$ entstehen. RQ kann ein Monomer-, Polymer-, Initiator- oder Lösungsmittelmolekül oder aber ein absichtlich zugesetztes Überträgermolekül, wie z.B. ein Thiol, sein. Die Übertragungsreaktion beendet zwar das Wachstum einer individuellen Polymerkette, doch das neue Radikal $R\cdot$ startet wieder eine neue Kette, so dass die kinetische Kette erhalten bleibt.

Die meisten polymerisierbaren Moleküle besitzen eine Doppelbindung, denn diese sind häufig polymerisierbar. Die mittleren Enthalpieänderungen sind jedoch bei $>C=S$ nur sehr schwach negativ und bei $>C=N-$ und $>C=O$ sogar schwach positiv, so dass eine radikalische Polymerisation nur in speziellen Fällen möglich ist. Von größtem Interesse sind daher Monomere mit Kohlenstoff-Doppelbindungen. Diese liefern über 50 % aller großtechnisch produzierten Polymere. Radikalische Polymerisationen haben technisch viele Vorteile, da sie schnell und relativ unempfindlich gegen Verunreinigungen sind. Sie können sowohl in Substanz als auch in Wasser (Suspension, Emulsion) ausgeführt werden und brauchen oft keine teuren, kostspielig aufzuarbeitenden brennbaren oder gesundheitsschädlichen organischen Lösungsmittel, wie die ionischen Polymerisationen.

Die erhaltenen Molekulargewichte sind bei konventionellen Verfahren schon bei kleinen Umsätzen hoch. Polymerisationsgeschwindigkeiten und Polymerisationsgrade sind durch Regler gut steuerbar. Für manche Anwendungen stören jedoch die breiten Molekulargewichtsverteilungen.

Radikalische Polymerisationen sind relativ unspezifisch in Bezug auf die Stereokontrolle.

Die meisten radikalisch hergestellten Polymere sind überwiegend ataktisch. Andererseits erlauben radikalische Polymerisationen die Copolymerisation vieler verschiedener Monomere in wechselnden Verhältnissen, auch solche, die nicht homopolymerisierbar sind. Vorteilhaft ist die Leichtigkeit, mit der Copolymere sehr verschiedener Zusammensetzung erzeugt werden können. Nachteilig ist wiederum die statistische Variation der Sequenzlängen, die meist kaum beeinflusst werden kann.^[50,,51,52]

2.1.1 Initiierung durch thermischen Zerfall

Um zu einem initiierenden Radikal zu gelangen, müssen kovalente Bindungen eines Radikalstartermoleküls homolytisch gespalten werden. Die erforderliche Energie dazu wird in diesem Fall thermisch zugeführt (Abbildung 2.1). Je weniger Spaltungsenergie notwendig ist, desto stabiler sind auch die Radikale. Sehr stabile freie Radikale lösen allerdings keine Polymerisationen aus. Ein Beispiel ist das nichtinitiierende Triphenylmethylradikal $(C_6H_5)_3C\cdot$.

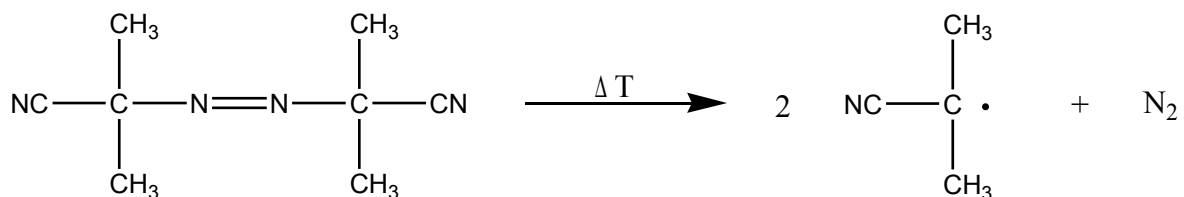


Abbildung 2.1: Bildung eines freien Cyanopropylradikals durch thermischen Zerfall von AIBN.

Zu den wissenschaftlich und technisch häufig verwendeten Initiatoren gehören Kaliumperoxodisulfat ($K_2S_2O_8$), N,N-Azobisisobutyronitril (AIBN), Dibenzylderivate und eine Reihe organischer Peroxoverbindungen.

Dibenzylderivate zerfallen erst bei höheren Temperaturen und zwar reversibel, nicht irreversibel wie Azo- und Peroxoverbindungen.

Die treibende Kraft für den Zerfall von Azoverbindungen R-N=N-R' und Tetrazenen

R₂N-N=N-NR'₂ ist die Bildung des stabilen Stickstoffmoleküls.^[50,51,52]

2.1.2 Initiierung durch Redoxreaktion

Redoxinitiatoren erzeugen polymerisationsauslösende Radikale durch Reaktion eines Reduktionsmittels mit einem Oxidationsmittel (Abbildung 2.2). Die dazu erforderliche thermische Aktivierungsenergie ist gering, so dass Polymerisationen bei weit niedrigeren Temperaturen ausgelöst werden als beim rein thermischen Zerfall von z.B. Azoverbindungen.



Abbildung 2.2: Bildung eines freien Radikals durch Redoxreaktion von Wasserstoffperoxid und Eisen(II).

Redoxsysteme werden oft durch Zusatzstoffe reguliert, um die Geschwindigkeit der Redoxreaktion einzustellen. Schwermetallionen ändern z.B. ihre Reaktivität durch Komplexieren mit Citraten. Da der Initiator ferner induziert zerfallen kann, sind Redoxsysteme sehr empfindlich auf das Medium sowie die Konzentration der Reaktionsteilnehmer.^[50,51,52]

2.2 Vernetzungsreaktion von Benzophenon durch UV-Bestrahlung

Die klassische Methode um Hydrogele herzustellen, ist die freie radikalische Vernetzungspolymerisation. Dabei wird ein bifunktionelles Comonomer (z.B. N,N'-Methylenbisacrylamid (MBAAm)) in die Polymerisation eingebracht, welches für eine Vernetzung der Polymerketten während der Polymerisationsreaktion sorgt. Eine Vernetzung der Polymerketten nach der Polymerisation durch Bestrahlung mit UV-Licht bietet allerdings eine Vielzahl von Vorteilen gegenüber der Vernetzungspolymerisation, wie z.B. die Möglichkeit der Verwendung von Analytikmethoden, die lösliche Polymere erfordern (NMR, GPC etc.), sowie die Möglichkeit der Herstellung sehr definierter, dünner Polymerfilme auf Oberflächen, die durch selektive Bestrahlung sogar gezielt strukturiert werden können.

Aus diesem Grund wurde eine Syntheseroute etabliert, welche auf Benzophenoneinheiten als Photovernetzer basiert. Die Carbonylgruppe des Benzophenons besitzt einen n,π^* -Übergang, der aufgrund des ausgedehnten, konjugierten π -Elektronensystems in den nahen UV-Bereich verschoben ist und der mit weniger energiereichem UV-Licht angeregt werden kann. Dies hat den Vorteil, dass Nebenreaktionen, die bei Bestrahlung mit höher-energetischem Licht stattfinden würden (z.B. die Spaltung von C-H- oder C-C-Bindungen), vermieden werden. Die verwendete Vernetzungswellenlänge beträgt $\lambda_{x1} = 365$ nm.

Das in Abbildung 2.3 dargestellte Jablonski-Diagramm des Benzophenons zeigt, dass bei Anregung mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda_{x1} = 365$ nm nur der erste angeregte Zustand S_1 aus dem Grundzustand S_0 erreicht wird.

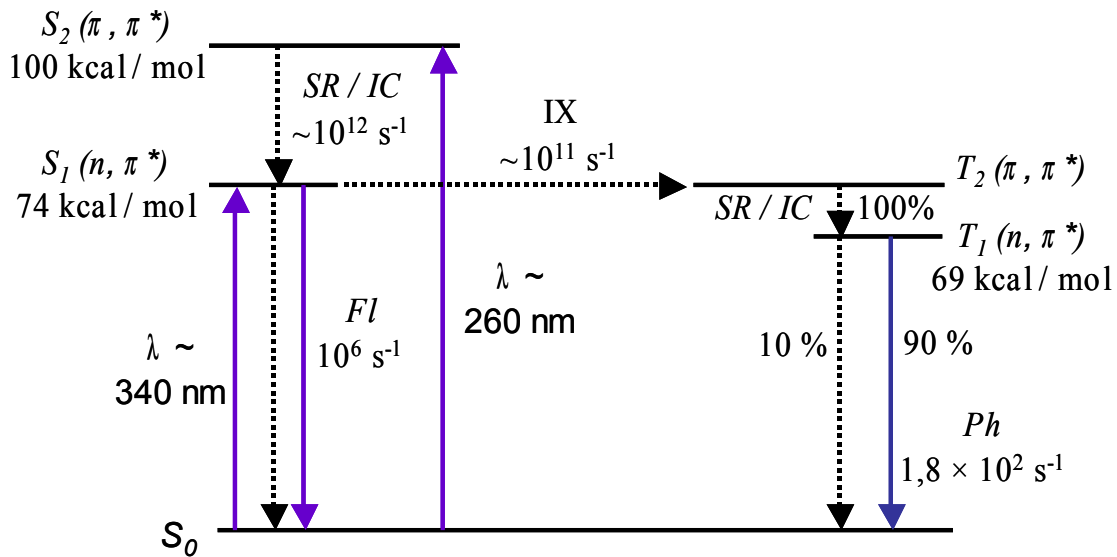


Abbildung 2.3: Vereinfachtes Jablonski-Diagramm des Benzophenons^[53,54]. Dargestellt sind die elektronischen Niveaus des Grundzustands und der angeregten Zustände, sowie die Übergänge zwischen diesen mit entsprechender Übergangsrate. Gestrichelte Pfeile markieren strahlungslose Übergänge (Schwingungsrelaxation SR, Innere Umwandlung IC und Interkombination IX), violette Pfeile Übergänge, die mit Aufnahme oder Abgabe elektromagnetischer Strahlung verbunden sind (Absorption, Fluoreszenz Fl und Phosphoreszenz Ph).

Von S_1 aus geht das Benzophenon durch Interkombination (intersystem crossing, IX), welches gegenüber der Fluoreszenz Fl viel höhere Übergangsraten aufweist^[53], in den Triplettzustand T_2 über. Da die Übergangsrate der Phosphoreszenz klein gegenüber allen anderen Übergangsraten ist, baut sich unter konstanter Bestrahlung eine stationäre Konzentration von Molekülen im T_1 -Zustand (Biradikalen) auf.

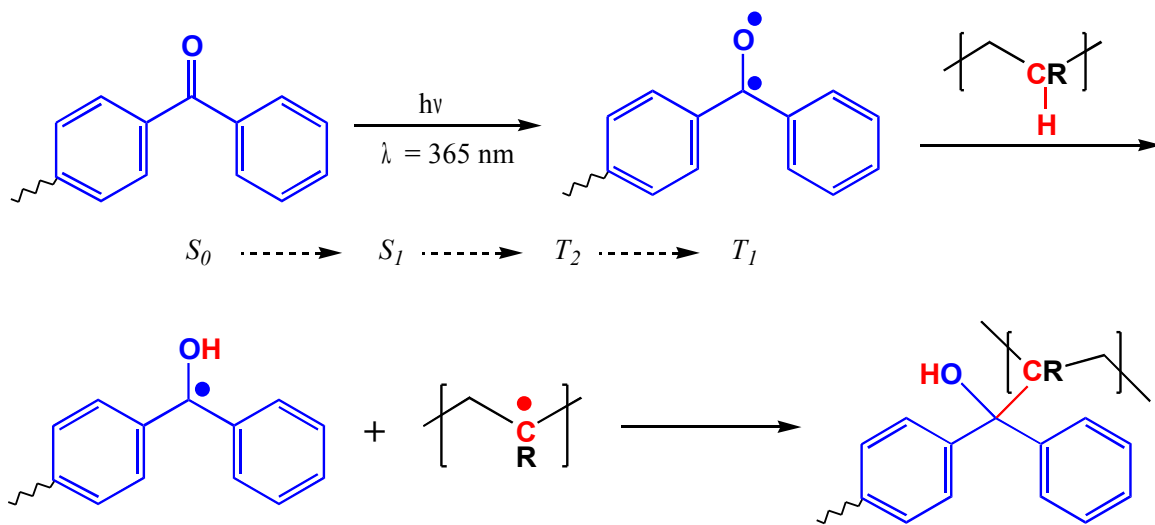


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung der Kopplung von Benzophenon an Verbindungen mit CH-Gruppen.

Das entstehende Biradikal kann in Gegenwart von aliphatischen CH-Gruppen ein Wasserstoffatom abstrahieren, wodurch es zu einem Ketylradikal wird (siehe Abbildung 2.4). Die beiden zurückbleibenden Kohlenstoffradikale rekombinieren dann und bilden die kovalente Verknüpfung der beiden Moleküle. Diese Reaktion kann sowohl zwischen einem Benzophenon welches an eine Polymerkette gebunden ist und einer CH-Gruppe einer anderen Polymerkette stattfinden, dies führt dann zu einer Vernetzung zweier Ketten, oder sie kann zwischen einem Benzophenon welches als Haftvermittler kovalent auf einer Oberfläche aufgebracht ist und einer CH-Gruppe einer Polymerkette stattfinden. Dies resultiert dann in der kovalenten Anbindung der Polymerkette an die Oberfläche. Die Kombination aus beiden Reaktionen führt zu einem oberflächengebundenen, vernetzten Polymernetzwerk.

Es gibt jedoch drei wichtige Nebenreaktionen des Ketylradikals.^[53] Sie sind in Abbildung 2.5 dargestellt. Einerseits kann eine Dimerisierung zweier Radikale zum Benzpinakol auftreten, zum anderen über Reaktion mit Luftsauerstoff über das Hydroperoxidradikal Wasserstoffperoxid gebildet werden. Während die erste Reaktion sterisch gehindert ist und aufgrund der niedrigen verwendeten Konzentrationen an

Benzophenongruppen nicht vorkommen sollte, wird bei den anderen Nebenreaktionen das Benzophenon wieder zurückgebildet und steht somit für weitere Vernetzungsreaktionen zur Verfügung.

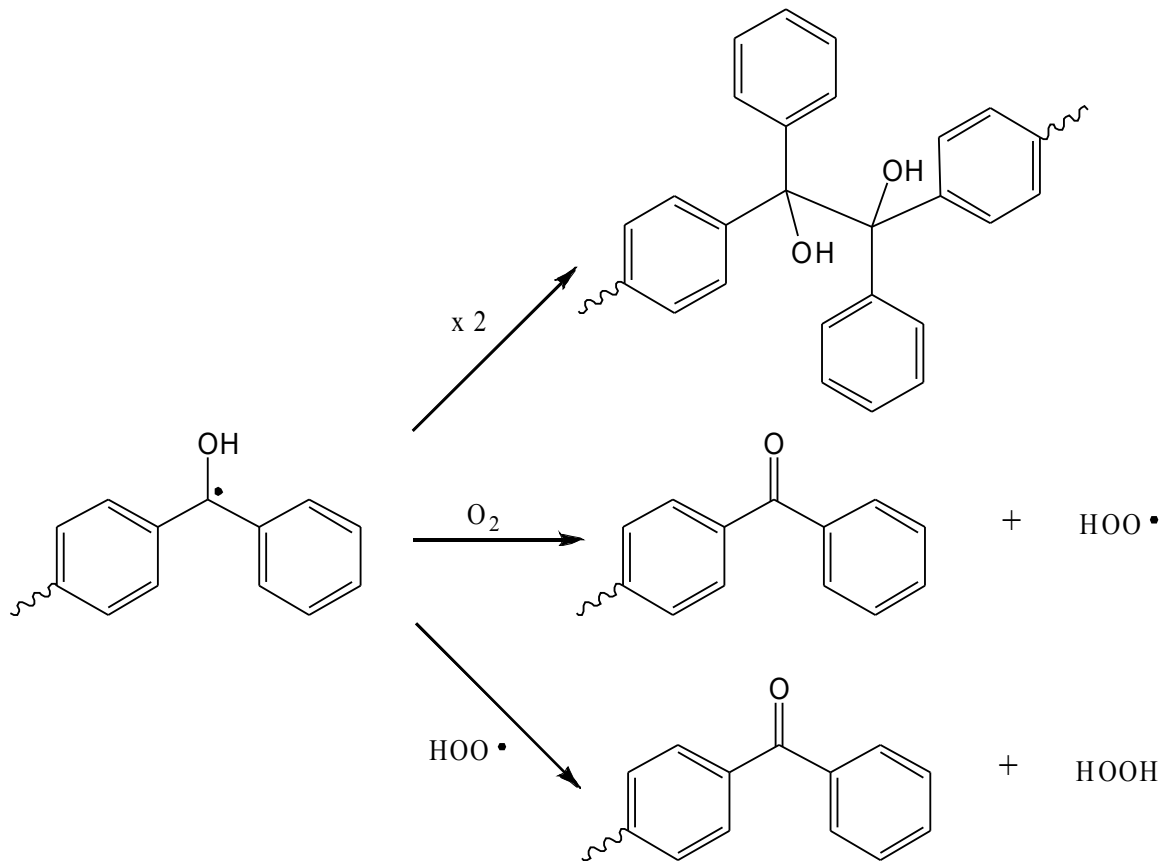


Abbildung 2.5: Dimerisierung und Reaktion mit Luftsauerstoff als Nebenreaktionen des Ketylradikals.

2.3 Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) und Optische Wellenleiter-Spektroskopie (OWS)

Das Phänomen der Oberflächenplasmonen ist seit langer Zeit bekannt. Die zugrunde liegenden Prinzipien und Theorien sind gut verstanden, so dass eine Reihe von Publikationen zur Verfügung stehen, die sich mit deren Eigenschaften im Detail befassen.^[55, 56, 57] Oberflächenplasmonen sind Oberflächenwellen, Schwingungen des Elektronengases eines Metalls, die an der Grenzfläche zwischen einem Metall und einem Dielektrikum angeregt werden können. Die genauen Anregungsbedingungen hängen dabei stark von den optischen Eigenschaften des Systems ab. Änderungen dieser Eigenschaften führen zu veränderten Anregungsbedingungen. Diese messbare Antwort ermöglicht die sensitive Untersuchung von Prozessen nahe der Metalloberfläche.

Trifft Licht auf eine Probe, die aus zwei unterschiedlichen optischen Medien besteht, so kann das Licht, in Abhängigkeit der optischen Eigenschaften der Materialien und des Einfallswinkels, teilweise an der Grenzfläche reflektiert werden und zum Teil in das angrenzende Medium transmittiert werden. Wenn das Licht mit dem Einfallswinkel θ'_1 auf die Probe trifft, so muss der Ausfallwinkel θ_1 diesem, gemäß dem Reflexionsgesetz, entsprechen.

$$\theta'_1 = \theta_1$$

Der Winkel für den transmittierten Strahl kann mit dem Snellius-Brechungsgesetz bestimmt werden.

$$n_1 \cdot \sin \theta_1 = n_2 \cdot \sin \theta_2$$

mit n_1 und n_2 als Brechungsindizes der optischen Medien.

Um Informationen über die optische Dichte einer Probe durch SPR/OWS-Messungen in der Kretschmann-Konfiguration zu erhalten, werden die Intensitäten des reflektierten und transmittierten Lichtes sowie die zugehörigen Winkel gemessen. Dies ergibt ein Reflexionsspektrum, welches die Intensität der reflektierten Welle als Funktion des

Einfallswinkels beschreibt, und das durch die Fresnel-Gleichungen berechnet werden kann, wenn die Brechungsindizes der optischen Medien bekannt sind.

$$R = \frac{I_r}{I_e} = \frac{|\vec{E}_r|^2}{|\vec{E}_e|^2} \quad T = \frac{I_t}{I_e} = \frac{|\vec{E}_t|^2}{|\vec{E}_e|^2}$$

Die Reflexion R und die Transmission T ergeben sich mit E_e , E_r und E_t als elektrische Felder der jeweils einfallenden, reflektierten und transmittierten Welle. Der Ausdruck für die elektrischen Felder ist dabei polarisationsabhängig und somit auch die Reflexion und Transmission.

Zwei Polarisationen des Lichtes werden hier unterschieden. Zum einen die transversal-magnetische Polarisation (TM), mit dem elektrischen Feld parallel zur Einfallsebene (p-) polarisiert, und die transversal-elektrische Polarisation (TE), mit dem elektrischen Feld senkrecht zur Einfallsebene (s-) polarisiert. Optische Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) lässt sich mit beiden Polarisationen durchführen, Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) hingegen nur mit p-polarisiertem Licht.

Durchquert Licht ein optisches Medium mit dem Brechungsindex n_1 und wird an einem zweiten Medium mit niedrigerem Brechungsindex n_2 reflektiert, so kann der Transmissionswinkel θ_2 durch das Snellius-Brechungsgesetz bestimmt werden. Wird der Einfallswinkel θ_1 nun vergrößert, so vergrößert sich auch der Transmissionswinkel bis der Maximalwert von $\theta_2 = 90^\circ$ erreicht ist. An dieser Stelle wird θ_1 kritischer Winkel θ_c genannt und ist durch

$$\sin \theta_c = \frac{n_2}{n_1}$$

gegeben. Eine weitere Vergrößerung des Einfallswinkels θ_1 verändert den Transmissionswinkel θ_2 nicht über 90° hinaus, da das transmittierte Licht nicht zurück in das optisch dichtere Medium kann. Aus diesem Grund wird es zu einer stehenden Welle, die sich entlang der Grenzfläche zwischen den beiden Medien bewegt und ein sogenanntes evaneszentes Feld erzeugt. Da jegliches einfallendes Licht für Winkel $\theta \geq \theta_c$ reflektiert

wird, beträgt die Reflexion $R=1$ und der scharfe Anstieg von R wird Totalreflexionskante genannt.

Das resultierende evaneszente Feld nimmt senkrecht zur Grenzfläche exponentiell ab. Änderungen der optischen Eigenschaften, die innerhalb dieses Feldes stattfinden, resultieren in Veränderungen des Reflexionsspektrums. Die Wechselwirkungen des evaneszenten Feldes mit der Umgebung sind daher grundlegend für die Funktionsweise der SPR/OWS-Messungen.

Direkte Kopplung von einfallendem Licht auf einer glatten Oberfläche ist nicht möglich, da der Impuls des Lichtes zu gering ist. Eine Möglichkeit den Impuls zu erhöhen, ist das Licht durch ein Medium, dessen Brechungsindex höher ist als der des Dielektrikums, zu leiten. Dies kann durch Reflexion des einfallenden Lichtes an der Basis eines hochbrechenden Prismas erfolgen. Bei dieser, Prismenkopplung genannten Methode, werden die Oberflächenplasmonen durch das evaneszente Feld des unter Totalreflexionsbedingungen reflektierten Lichtes erzeugt. Eine detaillierte Beschreibung der Prismenkopplung ist in der Literatur zu finden.^[55,58,59,60,61]

Ein typischer Messaufbau für SPR/OWS-Messungen in der Kretschmann-Konfiguration^[59,61] ist in Abbildung 2.6 gezeigt. Mit diesem Aufbau sind auch Fluoreszenzmessungen (SPFS/OWFS, siehe das folgende Kapitel) möglich, da es mit einer Laserblende, Photomultiplikator, Universalzähler sowie Sammellinse und Filter ausgerüstet ist.

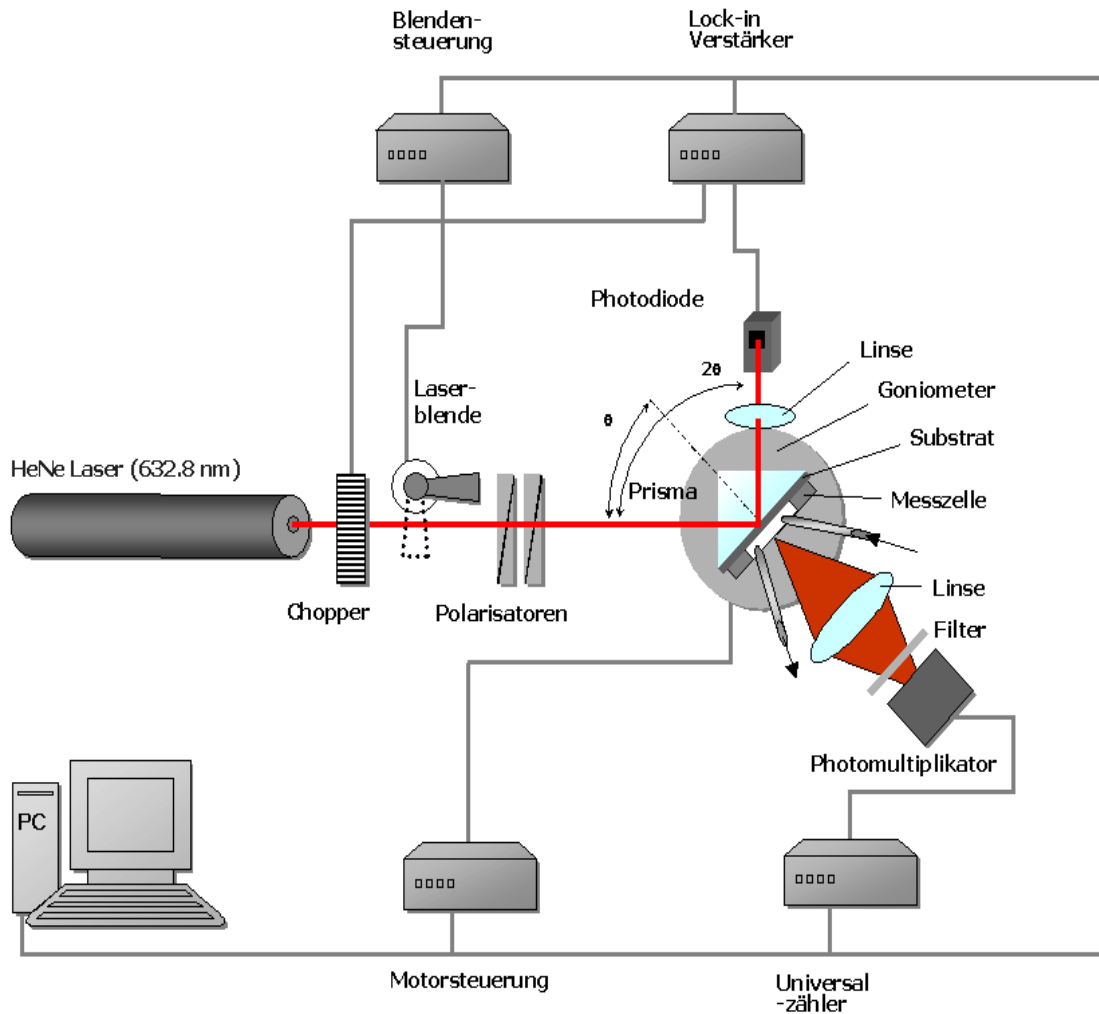


Abbildung 2.6: Ein typischer Aufbau für SPR/OWS-Messungen und SPFS/OWFS-Messungen.

Um SPR/OWS-Messungen durchzuführen, wird die zu vermessende Probe auf eine Goldschicht von ca. 50 nm Dicke aufgebracht, welche auf einen hochbrechenden Objektträger aus LaSFN9-Glas (Brechungsindex $n = 1,8449$ bzw. Dielektrizitätskonstante $\epsilon' = 1,3583$) aufgedampft wurde. Das Substrat wird dann optisch an die Basis eines LaSFN9-Glasprismas ($n = 1,8449$ bzw. $\epsilon' = 1,3583$) angepasst. Monochromatisches Licht eines He/Ne-Lasers mit einer Wellenlänge von 632,8 nm und einer linear, transversal-magnetischen Polarisation wird durch das Prisma, wie in Abbildung 2.6 und 2.7 dargestellt, eingestrahlt. Veränderung des externen Einfallswinkels θ mit einem Zweikreisgoniometer und Quantifizierung der aus dem Prisma reflektierten Lichtintensität mit einer Photodiode

ergibt winkelabhängige Intensitäten $I(\theta)$.

Die winkelabhängige Reflexion der Prismenbasis wird durch die Lösung von Fresnel-Gleichungen durch einen Transfer-Matrix-Algorithmus^[62] für ein planares Multischichtsystem, bestehend aus Glas (ϵ_{Glas}), Chrom (d_{Chrom} , ϵ_{Chrom}), Gold (d_{Gold} , ϵ_{Gold}), einem Haftvermittler ($d_{\text{Haftvermittler}}$, $\epsilon_{\text{Haftvermittler}}$), einem Hydrogel (d_{Hydrogel} , $\epsilon_{\text{Hydrogel}}$) und Wasser (ϵ_{Wasser}) mit ϵ und d als Dielektrizitätskonstante bzw. Dicke der jeweiligen Schicht, berechnet.

Für jedes ϵ müssen sowohl der Realteil ϵ' , als auch der Imaginärteil ϵ'' angegeben werden. Dielektrizitätskonstante und Brechungsindex sind dabei gemäß der folgenden Beziehung ineinander überführbar.

$$\begin{aligned} (n + i\kappa)^2 &= \epsilon' + i\epsilon'' = \epsilon \\ \epsilon' &= n^2 - \kappa^2 & \epsilon'' &= 2n\kappa \end{aligned}$$

mit ϵ' und ϵ'' als Realteil und Imaginärteil der Dielektrizitätskonstante und mit n und κ als Realteil und Imaginärteil des Brechungsindex.

Die Schichtparameter werden durch Minimierung der Abweichung der berechneten Intensitäten von den experimentellen Intensitäten bestimmt. Dabei können die Parameter durch Variation, wie im Folgenden gezeigt, eindeutig durch die Intensitäten $I(\theta)$ bestimmt werden.

Vor der Immobilisierung des Haftvermittlers und des Polymerfilms wird eine Referenzmessung des vollständigen Winkelspektrums durchgeführt, um die Parameter des Substrats und Deckmediums (d_{Chrom} , ϵ_{Chrom} , d_{Gold} , ϵ_{Gold} und ϵ_{Wasser}) zu erhalten. Eine zweite Messung, nach der Immobilisierung des Haftvermittlers, ergibt dann $d_{\text{Haftvermittler}}$ und $\epsilon_{\text{Haftvermittler}}$, unter der Annahme, dass alle anderen ϵ - und d -Werte konstant geblieben sind. Die dritte Messung, nach dem Aufbringen und Vernetzen des Polymerfilms, wird benutzt, um d_{Hydrogel} und $\epsilon_{\text{Hydrogel}}$ in trockenem Zustand zu bestimmen; wiederum unter der Annahme, dass alle anderen ϵ - und d -Werte konstant geblieben sind.

Wie erkennbar ist, wird für jede Schicht ein homogener Brechungsindex bzw. eine feste Dielektrizitätskonstante ϵ angenommen. Dies wird als Kastenmodell bezeichnet. Homogene Schichten beschreibt dieses Modell sehr gut, allerdings kann es komplexe Systeme, z.B. mit

Brechungsindexprofilen senkrecht zur Substratoberfläche, nur unzureichend beschreiben (siehe Kapitel 2.5 und 6.1.3).

Optische Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) kann mit einem solchen Aufbau ebenfalls durchgeführt werden, wenn der Polymerfilm genügend dick ist ($d > 500$ nm). In diesem Fall erscheinen zusätzliche Minima im Spektrum als Ergebnis von Einkopplung und Führung von Laserlicht in Wellenleitermoden innerhalb des Dielektrikums. Die Einkopplung sowie die Feldverteilungen der SPR/TM₀-, TM₁- und TM₂-Mode sind in Abbildung 2.7 dargestellt. Wie auch die Oberflächenplasmonenresonanzmode, sind die Optischen Wellenleitermoden direkt abhängig vom Brechungsindex und der Schichtdicke des aufgetragenen Films, was eine detaillierte Charakterisierung dieses Films erlaubt. Besonders vorteilhaft sind dabei die unterschiedlichen Feldverteilungen, welche sich für die Analytik ergänzen. Während das Oberflächenplasmon nur in einem Bereich einige hundert Nanometer nahe der Goldoberfläche sehr sensitiv ist, reagieren die Wellenleitermoden auf Änderungen der optischen Eigenschaften im gesamten Film. Dadurch lassen sich die für den gesamten Film gemittelten Eigenschaften mit denen nahe der Goldoberfläche vergleichen.

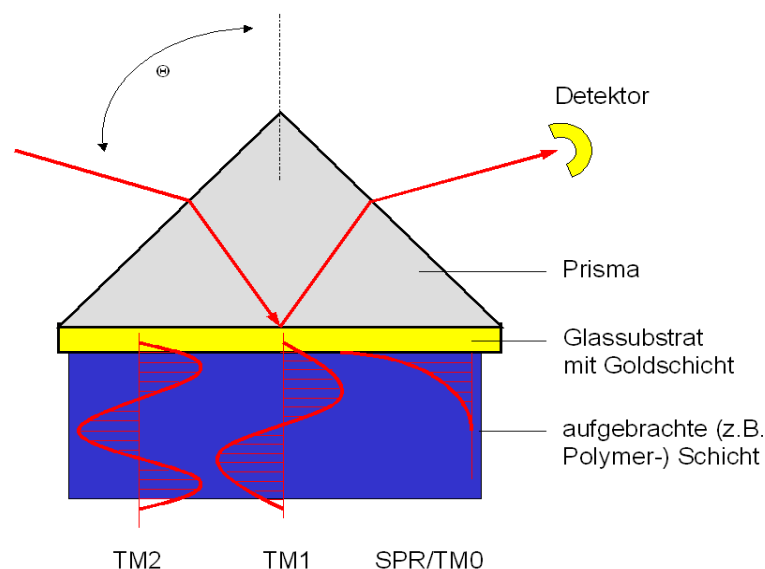


Abbildung 2.7: Einkopplung des p-polarisierten Laserlichts durch ein Prisma in der Kretschmann-Konfiguration mit Darstellung der Feldverteilungen der SPR/TM₀-, TM₁- und TM₂-Mode.

2.4 Oberflächenplasmonen-Fluoreszenzspektroskopie (SPFS) und Optische Wellenleiter-Fluoreszenzspektroskopie (OWFS)

Fluoreszenztechniken spielen in der Analytik eine bedeutende Rolle. Die Kombination von Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie und Fluoreszenztechnik bietet eine Reihe von Vorteilen in Bezug auf Reaktionen an Oberflächen. An erster Stelle sei dabei die hohe Sensitivität genannt, da durch das evaneszente Feld des Oberflächenplasmons eine deutliche Verstärkung des Fluoreszenzsignals stattfindet. Der Faktor der Verstärkung hängt dabei stark vom verwendeten System, insbesondere dem Metall, ab und kann die Fluoreszenz um bis zu 80-fach verstärken.

Fluoreszenz ist ein gut verstandenes Phänomen, das die Emission von Photonen beschreibt, welche beim Übergang von Molekülen aus einem elektronisch angeregten Zustand in den Grundzustand emittiert werden.^[63] Fluoreszenzfarbstoffe, sogenannte Fluorophore, besitzen häufig delokalisierte Elektronen in konjugierten Doppelbindungen oder aromatischen Systemen. Die molekularen Prozesse während der Absorption und Emission von Photonen sind in Abbildung 2.8 in einem Jablonski-Diagramm gezeigt.

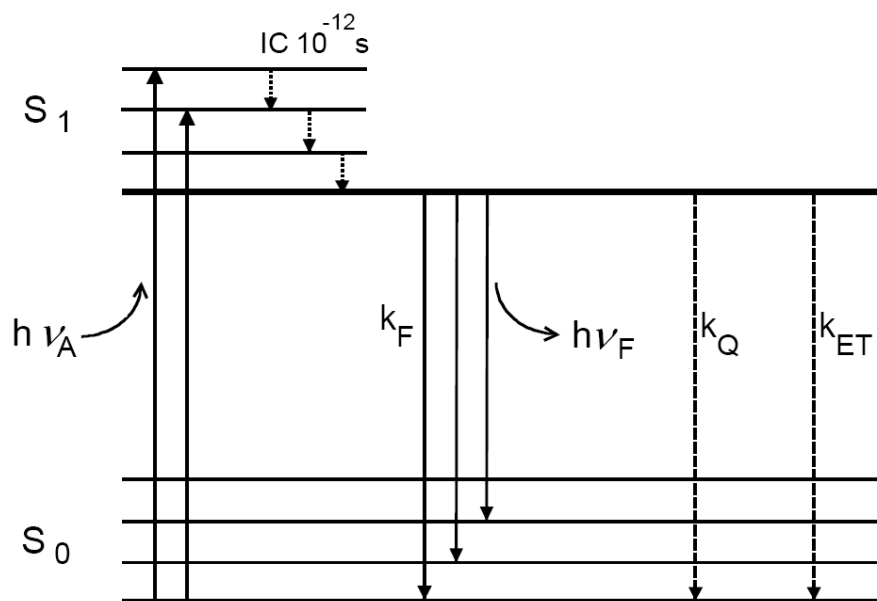


Abbildung 2.8: Das Jablonski-Diagramm zeigt die elektronischen und vibronischen Zustände eines Fluorophors und die Prozesse während der Photonenabsorption und Fluoreszenzemission.

Ein Fluorophor kann sich in verschiedenen elektronischen Zuständen befinden. Der Grundzustand S_0 und der erste angeregte Zustand S_1 sind hier gezeigt. In jedem dieser beiden Zustände kann sich das Molekül wiederum in verschiedenen Schwingungszuständen befinden, deren Population durch die Boltzmannverteilung gegeben ist. Durch Lichtabsorption ($h\nu_A$) kann der Fluoreszenzfarbstoff nun innerhalb von 10^{-15} s von dem elektronischen Grundzustand S_0 in höhere Schwingungszustände der angeregten elektronischen Zustände S_1 oder S_2 (nicht gezeigt) angeregt werden. Im allgemeinen relaxiert das System innerhalb von 10^{-12} s durch interne Umwandlung (IC) in die entsprechenden Schwingungsgrundzustände. Da dies schneller ist als die Emission von Photonen (10^{-8} s), findet die Fluoreszenz ($h\nu_F$) üblicherweise aus dem Schwingungsgrundzustand statt. Die Rückkehr in den elektronischen Grundzustand S_0 erfolgt in verschiedene Schwingungszustände von S_0 mit der Geschwindigkeitskonstante k_F durch Emission von Licht. Da dies ein quantenmechanisch erlaubter Prozess ist, zeigt er hohe Emissionsraten von typischerweise 10^8 s⁻¹.

Vergleicht man die Absorptions- und Emissionsspektren, so findet man eine Verschiebung des Fluoreszenzemissionsspektrums zu niedrigeren Wellenlängen (Rotverschiebung) relativ zur Absorption, die sogenannte Stokesverschiebung. Sie kann durch Energieverlust bei interner Umwandlung und dem Übergang in höhere Schwingungszustände von S_0 bei der Emission erklärt werden. Die Verschiebung ist grundlegend für die Sensitivität von Fluoreszenztechniken, da sie die getrennte Betrachtung von emittierten Photonen und Anregungsphotonen bei einem niedrigen Hintergrundsignal erlaubt.

Ausgehend von dem angeregten Zustand S_1 kann das Fluorophor nicht nur durch Fluoreszenzemission in den Grundzustand S_0 zurückkehren, sondern auch durch Energietransfer k_{ET} oder verschiedene Prozesse der Fluoreszenzlöschung k_Q (Quenching). Eine weitere Möglichkeit besteht in dem Übergang in den Triplettzustand durch Interkombination (intersystem crossing).

Ein Standardaufbau für SPFS/OWFS-Messungen ist in Abbildung 2.6 (Kapitel 2.3) gezeigt und dort beschrieben. Im Vergleich zu normalen SPR-Messung wird bei SPFS-Messungen zusätzlich das Fluoreszenzlicht mittels einer Sammellinse gebündelt und durch einen geeigneten Filter selektiv von einem Photomultiplikator detektiert. Um unerwünschtes

Ausbleichen des Fluorophors zu vermeiden wird die Bestrahlung mit Laserlicht durch eine Laserblende geregelt. Ein niedriges Hintergrundsignal wird durch Abschirmung vom Umgebungslicht erreicht.

Bei Messungen des vollständigen Winkelspektrums erscheinen die Fluoreszenzsignale, sowohl beim Oberflächenplasmon wie bei den Wellenleitermoden, bei dem Winkel der zugehörigen Mode. Dabei besitzen die Fluoreszenzsignale zwar eine ähnliche Breite wie die jeweils zugehörige Mode, aber die Form von Emissionsbanden (Maxima statt Minima). Bei genauerer Betrachtung fällt auf, dass die Fluoreszenzsignale leicht zu kleineren Winkeln verschoben sind. Dies liegt daran, dass die Maxima der Fluoreszenz bei der maximalen Feldverstärkung auftreten, die Minima der Reflektivität hingegen nicht.

2.5 Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung (WKB)

Die übliche Methode, um SPR/OWS-Daten von dünnen organischen Schichten aus Reflexionswinkelmessungen zu analysieren, setzt ein System mit einem homogenen Brechungsindex, das sogenannte Kastenmodell, voraus. Komplexe Systeme, wie der in Kapitel 6.1.3 gezeigte Hydrogelfilm von Polymer **P4S**, können jedoch ein nicht-uniformes Dichte- oder Brechungsindexprofil senkrecht zur Substratoberfläche aufweisen. Bei diesen Systemen kann ein solches einfaches Modell zu unzuverlässigen Schichtparametern führen oder gar das Erstellen einer geeigneten Fitkurve unmöglich machen (wie in Kapitel 6.1.3 gezeigt). Ein geeigneteres Modell, das prinzipiell weitaus komplexere Filmarchitekturen beschreiben kann, ist die Wentzel-Kramers-Brillouin (WKB)-Näherung.

Unter der Annahme, dass der Hydrogelfilm lateral homogen ist (parallel zur Substratoberfläche), beschäftigen wir uns nun mit einer Variation des Brechungsindex senkrecht zur Substratoberfläche. Solch ein Brechungsindexgradient kann mit Hilfe der WKB-Näherung beschrieben werden. Für anorganische, planare Wellenleiter wurde dies bereits gezeigt.^[64] Die WKB-Näherung basiert auf der grundlegenden Annahme, dass an der Position der elektromagnetischen Feldverteilung, an der die oszillierende und die evaneszente Lösung der Wellengleichung identisch sind, der physikalische Brechungsindex

dem gemessenen Brechungsindex N_{eff} jeder Mode entspricht. Um den Brechungsindex an der Gold-Hydrogel-Grenzfläche ($x = 0 \mu\text{m}$) zu bestimmen, werden die Differenzen der Steigungen der linearen Segmente zwischen benachbarten Datenpunkten (jeweils beschrieben durch x_m und $N_{\text{eff}m}$) der Messung quadriert, und alle Differenzen summiert. Durch Variation des angenommenen Brechungsindex (als undefinierter Parameter) wird das Minimum dieser Summe gesucht. Der Brechungsindex am Minimum wird als realer Brechungsindex an der Substratoberfläche ($x = 0 \mu\text{m}$) angenommen und verwendet, um ein glattes Brechungsindexprofil als Funktion des vertikalen Abstands von der Substratoberfläche (x -Koordinate in Abbildung 6.6) zu berechnen. Genauere Details dazu sind in der Literatur beschrieben.^[65,66]

Unter Verwendung der effektiven Brechungsindizes, welche durch Messung der Kopplungswinkel mit einem Prismenkoppler bestimmt werden, wird das Brechungsindexprofil der Hydrogelschicht von Polymer **P4S** und **P4A** berechnet.

Die Ergebnisse dieser Berechnung sind zusammen mit einer Error-Funktion in Abbildung 6.6 (Kapitel 6.1.4) gezeigt. Die Error-Funktion beruht auf folgender Gleichung aus der Literatur^[67]:

$$n(x) = n_{\text{Medium}} + \frac{\Delta n}{\gamma} [1 - (1 - \gamma)^{\text{erfc}(\chi/d_f)}]$$

Hierbei ist n_{Medium} der Brechungsindex des Mediums, Δn ist der maximale Anstieg des Brechungsindex, γ ist ein Anpassungsparameter, χ ist eine Materialkonstante und d_f ist die effektive Schichtdicke.

3. Synthese der Polymere

3.1 Polymere ohne Benzophenon

Um eine geeignete Hydrogelmatrix für Sensoranwendungen zu erhalten, wurde zunächst die bekannteste und am häufigsten genutzte Syntheseroute für Poly(N-Isopropylacrylamid) untersucht^[12]. Dabei löst man die Monomere, hier N-Isopropylacrylamid (NIPAAm) und Natriumacrylat (SA), unter Argonatmosphäre in entgastem Milli-Q Wasser. Als Vernetzer gibt man Methylenbisacrylamid (MBAAm) hinzu und zur Initiierung der Polymerisation Ammoniumperoxodisulfat und Tetramethylethyldiamin (TMEDA)^[68]. Die genauen Details sind im Experimentellen Teil beschrieben.

Das NIPAAm gibt dabei dem Hydrogel die grundlegenden, temperaturabhängigen Eigenschaften und stellt das Hauptmonomer dar. Natriumacrylat macht das Gel aufgrund seiner Polarität stärker hydrophil und verstärkt die Quellbarkeit mit Wasser. Methylenbisacrylamid ist für die Vernetzung notwendig. Beide Monomere werden nur in 20-fachem Überschuss in Bezug auf den Anteil von NIPAAm zugegeben, um die grundlegenden Eigenschaften des NIPAAms nicht zu stark zu verändern. Ein zu hoher Anteil an Natriumacrylat würde das Gel beispielsweise zu hydrophil machen, so dass es nicht mehr vollständig kollabieren würde. Ein zu hoher Anteil an Vernetzer hingegen würde, durch die Bildung eines starreren Polymernetzwerks, die Quellung des Hydrogels vermindern.^[12]

Nach der beschriebenen Synthesemethode werden üblicherweise auch die Gele für die Gelelektrophorese hergestellt. Die eigentliche Reaktion ist innerhalb von etwa einer Stunde beendet. Eine deutliche Trübung der Reaktionslösung lässt sich sogar schon nach wenigen Minuten beobachten. Das stabile, vernetzte Hydrogel lässt sich leicht aus dem Reaktionsgefäß entfernen, allerdings befinden sich noch Reste der Monomere in dem Gel, welche noch entfernt werden müssen. Typischerweise wird das Gel dazu zunächst in Ethanol und dann mehrere Tage lang in Milli-Q Wasser gelegt. Dies führt zu einem reinen Hydrogel, ist auch nicht sehr aufwändig, dauert aber vergleichsweise lange bis man das fertige, gereinigte Produkt erhält. Ein weiterer Nachteil dieser Methode ist, dass man das fertige Gel nicht einfach auf einer Oberfläche immobilisieren kann.

Um eine kovalente Anbindung des Hydrogels an eine Oberfläche zu erreichen, wurde eine

weitere, leicht veränderte Variante dieser Syntheseroute untersucht. Dazu wurde die oben beschriebene Polymerisationslösung direkt nach Initiierung der Polymerisation auf speziell vorbehandelte Siliciumwafer getropft. Auf diesen Substraten befand sich ein N-[3-(Triethoxysilyl)propyl]acrylamid, welches zuvor von Xiaosong Li synthetisiert und immobilisiert worden war.^[69]

Mit Hilfe dieses Silans wurde das Polymernetzwerk durch Einpolymerisation der oberflächengebundenen Acrylamidfunktionen direkt als stabiler Film auf der Oberfläche immobilisiert. Eine Trübung der Reaktionslösungen auf den Substraten konnte auch hier bereits nach wenigen Minuten beobachtet werden. Nach Beendigung der Reaktion wurde auch dieses Gel wie beschrieben gereinigt, da es noch Monomere enthielt.

Parallel dazu wurde die Polymerisationslösung auch auf unbehandelte Siliciumwafer getropft und auf diesen polymerisiert. Dabei stellte sich heraus, dass die einige Millimeter dicken Hydrogelfilme zwar leicht mit Wasser von den unbehandelten Siliciumwafern abgespült werden konnten, jedoch von den silanmodifizierten Wafern weder durch Abspülen noch durch Abwischen mit Zellstoff entfernt werden konnten.

Somit lassen sich zwar Hydrogele auf Oberflächen immobilisieren, doch gibt es weiterhin einige Nachteile bei dieser Synthesemethode. Neben der langwierigen, und somit unpraktischen Reinigung der Hydrogele zur Entfernung der restlichen Monomere, sind die beiden größten Nachteile, dass man einerseits die erhaltenen Polymere kaum untersuchen kann, da sie bereits vernetzt und daher nicht mehr löslich sind. Somit sind Standardmethoden zur Charakterisierung wie NMR und GPC nicht mehr nutzbar. Zum anderen lassen sich auf diese Weise zwar auf Oberflächen angebundene Filme erhalten, doch ist die Schichtdicke dieser Filme nur sehr schwierig einstellbar. Dies gilt insbesondere, wenn sehr dünne Filme gewünscht sind.

Wegen dieser Nachteile wurde die Arbeit mit diesem System nicht weiter verfolgt und nach einem flexibleren System gesucht.

3.2 Polymere mit Benzophenon

Ein sehr vielseitiges und flexibles System basiert auf photovernetzbaaren Benzophenoneinheiten. Bei dieser Synthesemethode werden zunächst durch freie radikalische Polymerisation die Polymere hergestellt. Die so erhaltenen Polymere sind zunächst nur eine Vorstufe zum Hydrogel. Sie sind in keiner Weise vernetzt und daher sehr gut löslich in organischen Lösungsmitteln, wie zum Beispiel Methanol, Ethanol, Aceton, Tetrahydrofuran oder Dioxan. Dies macht weitere Untersuchungen der Polymere mit vielen verschiedenen Methoden möglich. Anschließend können die Polymere in sehr definierter Dicke auf speziell vorbehandelte Oberflächen aufgeschleudert und danach durch Bestrahlung mit UV-Licht vernetzt und auf der Oberfläche immobilisiert werden.

Bei den vorbehandelten Oberflächen handelt es sich üblicherweise um Glassubstrate, die mit einem Benzophenonsilan als Haftvermittler behandelt wurden, oder um Goldoberflächen, die mit einem Benzophenonthiol oder -thioacetat behandelt wurden.

Die hergestellten Polymere bestanden aus N-Isopropylacrylamid (NIPAAm), 4-Methacryloyloxybenzophenon (MABP) und meist einem weiteren Comonomer. Dieses war entweder Natriummethacrylat (SMA), Methacrylsäure (MAA), Methacrylsäure-tert-butylester (MAtBu) oder N-Acryloyloxysuccinimid (NASI).

Wie bei den Systemen ohne Benzophenon verleiht auch hier das NIPAAm dem Polymer bzw. dem Hydrogel das grundlegende, temperaturabhängige Verhalten und ist somit das Hauptmonomer. Das MABP ist für die Photovernetzbarkeit notwendig und SMA bzw. MAA sollen durch ihre Polarität zu einem hydrophileren Polymer bzw. Hydrogel führen und dadurch die Quellbarkeit verstärken. MAtBu selbst ist unpolar, kann aber bei Bedarf durch Abspaltung der tert-Butylgruppe in die polare Säure überführt werden. NASI besitzt eine hohe Reaktivität gegenüber Aminen. Dadurch lassen sich viele Moleküle, welche eine Aminfunktion besitzen, leicht an das Polymer bzw. Hydrogel anbinden.

Die Polymerisationen erfolgten stets durch freie radikalische Polymerisation bei 60°C unter Argonatmosphäre und wurden durch Azobisisobutyronitril (AIBN) initiiert. Anschließend wurden die Polymere direkt aus der Reaktionslösung in eiskaltem Diethylether ausgefällt, durch Aufnahme mit Methanol und wiederholtes Ausfällen in eiskaltem Diethylether

gereinigt und danach mit tert-Butanol im Hochvakuum gefriergetrocknet. Die genauen Details sind im Experimentellen Teil beschrieben.

Es wurden zwölf photovernetzbare Copolymere auf unterschiedliche Arten hergestellt. Zum Teil wurden die Reaktionsbedingungen nur leicht verändert, teilweise wurden aber auch unterschiedliche Comonomere bei der Polymerisation verwendet. Allen ist allerdings gemein, dass sie auf NIPAAm und MABP basieren.

Die Polymere sind zur einfacheren Kennzeichnung mit Abkürzungen benannt. Diese reichen von P1 bis P12. Ein Zusatz hinter der Nummer gibt die Funktionalität des dritten Comonomers (neben NIPAAm und MABP) an. Dabei steht "S" für das Salz (Natriummethacrylat, SMA), "A" für die freie Säure (Methacrylsäure, MAA), "B" für den tert-Butylester (Methacrylsäure-tert-butylester, MAtBu) und "E" für den Aktivester (N-Acryloyloxysuccinimid, NASI). Sollten zwei Buchstaben hinter dem Namens Kürzel stehen, so besteht das Polymer aus vier unterschiedlichen Monomereinheiten. Falls kein Buchstabe hinter der Zahl steht, handelt es sich um ein Copolymer, welches nur aus NIPAAm- und MABP-Einheiten besteht.

Die allgemeine Reaktionsgleichung für die Polymerisationsreaktionen ist in Abbildung 3.1 und eine Übersicht der hergestellten Polymere in Abbildung 3.2 dargestellt.

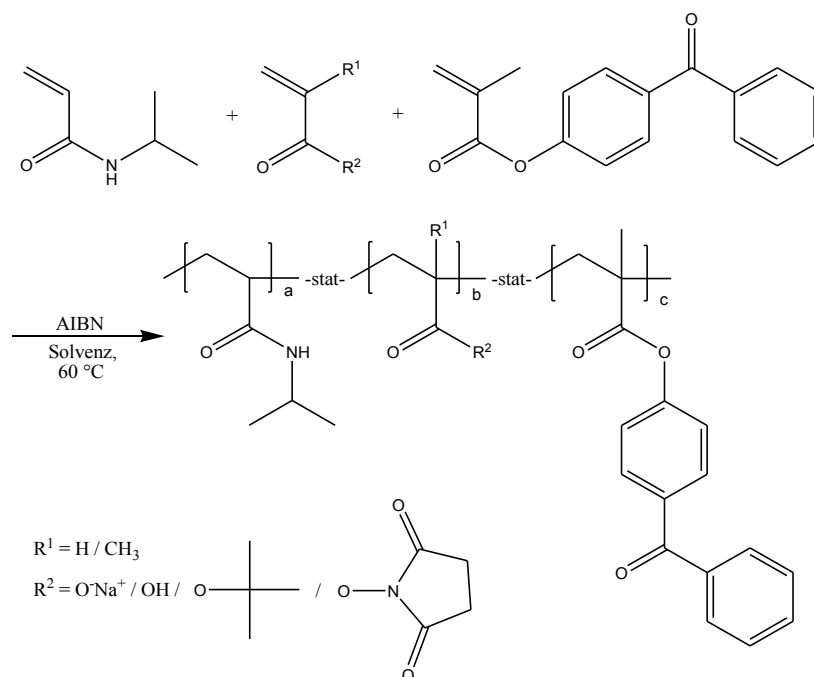


Abbildung 3.1: Allgemeine Reaktionsgleichung für die Polymerisationen.

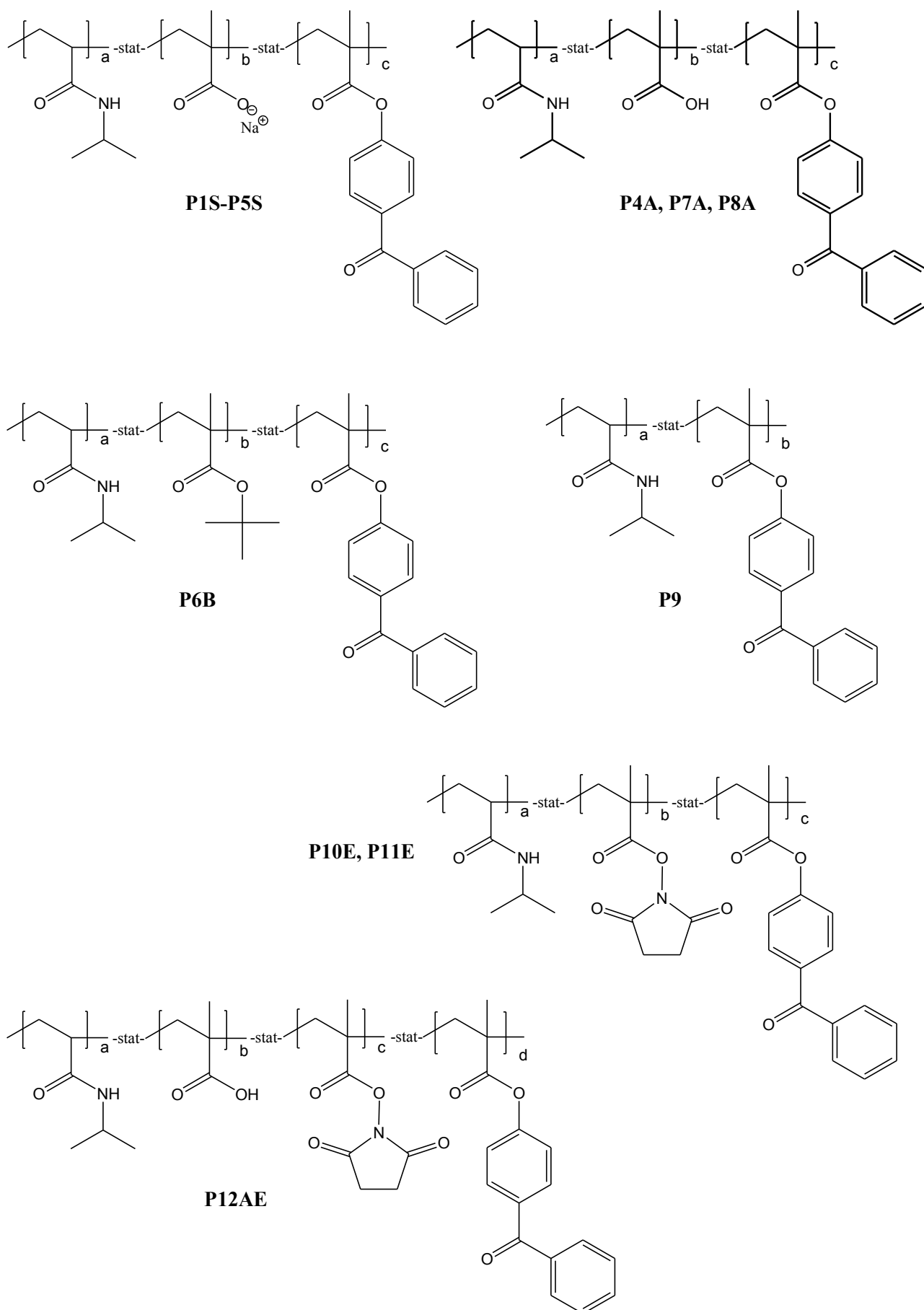


Abbildung 3.2: Übersicht der hergestellten Polymere.

Eine Liste der Polymere mit direktem Vergleich der Reaktionsbedingungen unter denen sie hergestellt wurden, ist in Tabelle 3.1 gezeigt. Es ist allerdings wichtig anzumerken, dass die Zusammensetzung der Monomermischungen dieser Polymerisationen nicht immer die gleiche war (siehe auch Tabelle 3.2).

Tabelle 3.1: Liste der synthetisierten Polymere mit Vergleich der Reaktionsbedingungen.

Name	Monomere			Solvenz	AIBN [mol%]	Dauer [h]	Ausbeute [%]
P1S	NIPAAm	SMA	MABP	MeOH	0,15	16	12
P2S	NIPAAm	SMA	MABP	CHCl ₃	0,15	16	7
P3S	NIPAAm	SMA	MABP	MeOH	0,15	16	7
P4S	NIPAAm	SMA	MABP	MeOH	0,15	16	8
P5S	NIPAAm	SMA	MABP	MeOH	0,15	16	5
P6B	NIPAAm	MAtBu	MABP	MeOH	0,15	24	67
P7A	NIPAAm	MAA	MABP	MeOH	0,4	24	46
P8A	NIPAAm	MAA	MABP	Dioxan	0,4	24	88
P9	NIPAAm	-	MABP	Dioxan	0,4	24	97
P10E	NIPAAm	NASI	MABP	Dioxan	0,4	24	76
P11E	NIPAAm	NASI	MABP	Dioxan	0,4	24	73
P12AE	NIPAAm	MAA+NASI	MABP	Dioxan	0,5	24	78

Zunächst wurde die Polymerisation von N-Isopropylacrylamid, Natriummethacrylat und 4-Methacryloyloxybenzophenon untersucht. Natriummethacrylat schien besonders geeignet, da es polarer ist als die freie Methacrylsäure und dadurch die Quellungseigenschaften des resultierenden Hydrogels durch höhere Hydrophilie stärker verbessern sollte. Weiterhin ist es als nicht-stabilisiertes Salz erhältlich, somit als Feststoff leicht handhabbar und muss zudem, im Gegensatz zur Methacrylsäure, nicht vor der Reaktion aufgereinigt werden.

Ein Vorteil von Natriummethacrylat gegenüber Natriumacrylat ist die gute Löslichkeit in Methanol und Chloroform, da Natriumacrylat nur in Wasser löslich ist. Dennoch ist die Löslichkeit von Natriummethacrylat auf Methanol und Chloroform beschränkt, was auch die Wahl des Lösungsmittels für die Polymerisation limitiert. Es wurde sowohl die Polymerisation in Methanol (**P1S**) als auch in Chloroform (**P2S**) untersucht. Dabei stellte sich nicht nur heraus, dass NIPAAm kaum löslich in Chloroform ist, sondern auch, dass die Zusammensetzung der Polymere von der Zusammensetzung der jeweiligen Monomermischung abwich (dies ist in Tabelle 3.2 gezeigt). Allerdings weisen die Polymerzusammensetzungen, welche durch NMR ermittelt wurden, aufgrund der schwierigen Bestimmung einiger Integrale einen Fehler von ca. 10-15 % auf, der nicht

vernachlässigt werden sollte. Dies wird detailliert in Kapitel 4.1 diskutiert.

Sowohl bei der Polymerisation von **P1S** als auch von **P2S** wurde ein erhöhter Einbau von Natriummethacrylat gefunden. Bei Verwendung von Methanol als Lösungsmittel (**P1S**) liegt die Polymerzusammensetzung nicht bei 92:7:1 (NIPAAm:SMA:MABP), wie bei der Monomermischung, sondern bei 85:14:1. Wenn Chloroform als Lösungsmittel (**P2S**) benutzt wird, findet man eine Polymerzusammensetzung von 77:18:5. Hier fällt auch ein um 4 % erhöhter Einbau von MABP auf. Die Ausbeute ist bei Verwendung von Methanol (12 %) etwas höher als beim Einsatz von Chloroform (7 %). Aus diesem Grund wurden die folgenden Polymerisationen mit Methanol durchgeführt. Die niedrigen Ausbeuten sind zum Teil auf Verluste beim Ausfällen zurückzuführen. Nachdem das Fällungsmittel (Diethylether) zum Ausfällen auf 0°C abgekühlt wurde, konnten bei den Polymerisationen höhere Ausbeuten erreicht werden.

Tabelle 3.2: Übersicht der Monomer- und Polymerzusammensetzungen.

Name	Monomerzusammensetzung [mol%]						Polymerzusammensetzung [mol%]						Solvenz
	NIPAAm	SMA	MAAtBu	MAA	NASI	MABP	NIPAAm	SMA	MAAtBu	MAA	NASI	MABP	
P1S	92	7				1	85	14				1	MeOH
P2S	92	7				1	77	18				5	CHCl ₃
P3S	97	2				1	80	14				6	MeOH
P4S	97	2				1	82	16				2	MeOH
P5S	98,5	0,5				1	86	9				5	MeOH
P6B	91		7			2	88		10			2	MeOH
P7A	94			5		1	85			6		9	MeOH
P8A	94			5		1	84			8		8	Dioxan
P9	99					1	93					7	Dioxan
P10E	97				2	1	89				2	9	Dioxan
P11E	83				17	1	79				15	6	Dioxan
P12AE	90,5			4,5	4,5	0,5	89			3	1	7	Dioxan

Um den Einfluss des Natriummethacrylats auf die Polymerisation genauer zu untersuchen, wurde eine andere Zusammensetzung der Monomermischung gewählt, als bei **P1S**. Diesmal wurden nur 2 % anstatt vorher 7 % eingesetzt. Dieses Experiment wurde zweimal durchgeführt (**P3S** und **P4S**). Dabei fiel auf, dass einerseits weiterhin ein deutlich erhöhter Einbau von Natriummethacrylat stattfand, da dieser wiederum bei 14 % bzw. 16 % lag, und dass andererseits der Einbau von 4-Methacryloyloxybenzophenon offensichtlich schlecht reproduzierbar ist. Der MABP-Anteil schwankt bei **P3S** und **P4S** zwischen 6 % und 2 %.

Um den immer noch zu hohen Anteil an Natriummethacrylat in **P3S** und **P4S** weiter zu senken, wurde eine weitere Polymersynthese durchgeführt (**P5S**). Dabei wurde wieder lediglich der Anteil an Natriummethacrylat gesenkt. Die Monomermischung besaß eine Zusammensetzung von 98,5:0,5:1 (NIPAAm:SMA:MABP) und das resultierende Polymer hatte eine Zusammensetzung von 86:9:5. Es fallen wiederum die erhöhten Werte für Natriummethacrylat und 4-Methacryloyloxybenzophenon auf.

Da die Vermutung nahe lag, dass die hydrophilen Salzgruppen einen unerwünschten Effekt auf die Polymerisation ausüben, wurde nun ein Polymer aus tert-Butylmethacrylat, N-Isopropylacrylamid und 4-Methacryloyloxybenzophenon (**P6B**) hergestellt. Nach 24 Stunden Polymerisation konnte eine erhöhte Ausbeute von 67 % erhalten werden, welche zum Teil auf das bessere Fällungsverhalten in eiskaltem Diethylether zurückzuführen ist. Die Einbauverhältnisse stimmen hier recht gut mit denen der Monomermischung überein. Lediglich für den tert-Butylester kann man einen leicht erhöhten Einbau feststellen.

Eine Abspaltung der tert-Butylgruppe und Überführung des Esters in die Säure ist im sauren Medium möglich und wurde mittels Amberlyst 15 Kationenaustauscher mit einer Ausbeute von 87 % durchgeführt.

Aufgrund der interessanten Strukturen der Hydrogele von **P4S** und **P4A** (Details siehe Kapitel 6.1), wurde die Polymerisation von N-Isopropylacrylamid, Methacrylsäure und 4-Methacryloyloxybenzophenon untersucht (**P7A**). Es konnte eine Ausbeute von 46 % erhalten werden. Bei den Einbauverhältnissen fällt auf, dass lediglich der Anteil von MABP im Polymer erhöht ist. Ein Vorteil dieses Polymers **P7A** gegenüber **P6B** ist, dass keine Abspaltung der tert-Butylgruppe mehr notwendig ist, um die Säurefunktionalität zu erhalten.

Ein Vergleich von **P1S** und **P7A** zeigt deutlich, dass die Synthese mit der Methacrylsäure vorteilhafter ist. Nicht nur wurde die Ausbeute von 12 % auf 46 % deutlich erhöht, sondern es konnte auch der unvorteilhaft hohe Anteil an ionischen Gruppen gesenkt werden. Aus der Literatur^[12] ist bekannt, dass ein Anteil von mehr als 10 % häufig zu unvollständigem Kollaps des Hydrogels führt. Ein erhöhter Einbau des Photovernetzers ist hingegen nicht so kritisch, da der Vernetzungsgrad leicht über die Dauer der Bestrahlung mit UV-Licht

eingestellt werden kann. Einen Effekt des hydrophoben Photovernetzlers auf die LCST gibt es zwar, doch wirkt diesem einerseits der hydrophile Effekt der Säuregruppen entgegen und andererseits ist der Effekt bei den verwendeten Mengen an MABP so gering, dass er vernachlässigbar ist. Detailliert wird dies in Kapitel 4.3 beschrieben.

Weiterhin waren die Erkenntnisse über die Inhomogenität bzw. Homogenität der Struktur von Hydrogelen mit Salz- bzw. Säurefunktionen, welche die Anwendung der WKB-Näherung auf die erhaltenen SPR/OWS-Daten lieferte, ebenfalls ausschlaggebend für die Favorisierung der auf Methacrylsäure basierenden Polymerisation. Es zeigte sich nämlich, dass das Hydrogel von Polymer **P4A** mit Säuregruppen ein eher homogenes Brechungsindexprofil senkrecht zur Substratoberfläche besaß, wohingegen das ansonsten identische Hydrogel **P4S** mit Salzgruppen ein starkes Gradientenprofil aufwies. Die Details sind in Kapitel 6.1 beschrieben.

Durch die deutlich bessere Löslichkeit von Methacrylsäure in organischen Lösungsmitteln, verglichen mit Natriummethacrylat, eröffneten sich neue Möglichkeiten in Bezug auf das verwendete Lösungsmittel bei der Polymerisation. Ein weiteres Experiment, welches analog zu **P7A**, allerdings mit Dioxan und nicht mit Methanol als Lösungsmittel, durchgeführt wurde (**P8A**), ergab eine weiter deutlich erhöhte Ausbeute von 46 % auf 88 %. Dies ist hauptsächlich auf das bessere Fällungsverhalten des Polymers bei Verwendung von Dioxan anstatt Methanol zurückzuführen. Der Einbau von MAA ist zwar etwas stärker erhöht, liegt aber noch bei knapp unter 10 %, was dem gewünschten Wert entspricht. Der Anteil an MABP ist genauso erhöht wie bei **P7A**. Die gefundenen Ergebnisse bei dieser Polymerisation konnten mehrfach reproduziert werden. Damit hat sich diese Methode (**P8A**) als gute Synthese für Poly(N-Isopropylacrylamid-co-Methacrylsäure-co-4-Methacryloyloxybenzophenon)-Terpolymere herauskristallisiert.

Es stellten sich nun die interessanten Fragen nach dem Einfluss der Methacrylsäure auf das Polymerisationsverhalten und auf das Verhalten eines Hydrogels in Bezug auf Quellung und Kollaps (letzteres wird in Kapitel 6.1 beschrieben). Dazu wurde zunächst ein Polymer synthetisiert, welches überhaupt keine ionischen Gruppen besitzt, also ein Poly(N-Isopropylacrylamid-co-4-Methacryloyloxybenzophenon). Diese Polymerisation (**P9**) wurde

wie bei **P8A** durchgeführt, nur ohne den Zusatz von Methacrylsäure. Es konnte ein, wie von **P8A** bekannt, erhöhter Einbau von 4-Methacryloyloxybenzophenon (7 %) und eine hohe Ausbeute von 97 % gefunden werden.

Um ein Polymer bzw. Hydrogel möglichst einfach funktionalisieren zu können, wurden Polymerisationen von N-Isopropylacrylamid, N-Acryloyloxysuccinimid und 4-Methacryloyloxybenzophenon durchgeführt. So erhaltene Polymere sollten leicht mit Molekülen modifizierbar sein, die eine Aminfunktion enthalten. Aus der Literatur^[48] ist die ausreichende Stabilität des Succinimidmonomers, sowie die gute Reaktivität gegenüber Aminen, bekannt. Es wurden zwei Polymerisationen analog zu **P8A**, allerdings mit N-Acryloyloxysuccinimid anstatt Methacrylsäure, durchgeführt. Bei **P10E** betrug der Anteil von NASI 2 % und bei **P11E** 17 %. Bei beiden Polymerisationen zeigte sich, dass NASI etwa so eingebaut wurde, wie man es in der Monomermischung zugesetzt hat. Der Anteil von 4-Methacryloyloxybenzophenon war ähnlich hoch wie bei **P8A**. Die Ausbeuten lagen bei 76 % bzw. 73 %.

Es fiel allerdings auf, dass diese Polymere mit Aktivester nicht gut löslich in Wasser waren. Daher wurde die Herstellung eines Polymers mit Methacrylsäure und Aktivester untersucht. Dies führte zur Polymerisation von N-Isopropylacrylamid, Methacrylsäure, N-Acryloyloxysuccinimid und 4-Methacryloyloxybenzophenon (**P12AE**). Die Ausbeute lag mit 78 % ähnlich hoch wie bei den anderen Polymeren mit Aktivester. Es wurde allerdings ein verminderter Einbau von Methacrylsäure und N-Acryloyloxysuccinimid gefunden. Der Anteil von 4-Methacryloyloxybenzophenon war so hoch wie üblich, obwohl nur die Hälfte der üblichen Menge der Monomermischung zugesetzt worden war. Weiterhin fiel auf, dass das Polymer nach wenigen Wochen Lagerung als Feststoff nicht mehr löslich in Wasser oder organischen Lösungsmitteln war, es quoll lediglich schwach auf. Es scheint, dass die Säuregruppen des Polymers mit den Aktivestergruppen reagiert haben und sich das Polymer so selbst vernetzt hat.

3.3 Diskussion der Copolymerisationsparameter

Um das Copolymerisationsverhalten und den Einbau der Monomere in die wachsenden Polymerketten qualitativ abschätzen zu können, wurden zunächst die von Alfrey und Price eingeführten Q- und e-Werte betrachtet. Die Lage der verwendeten Monomere im Q-e-Schema lässt eine qualitative Aussage zu, ob eine Polymerisation zu erwarten ist und, ob es sich dabei eher um zwei Homopolymerisationen oder eine Copolymerisation handelt. Der Q-Wert steht für Resonanzeffekte und der e-Wert für Polaritätseffekte eines Monomers. Ein hoher Wert für Q geht dabei mit einer hohen Reaktivität einher. Aus diesem Grund reagieren Monomere aus Abschnitt II (rechts oben; $Q > 0,35$; $e > 0$) und Abschnitt IV (rechts unten; $Q > 0,35$; $e < 0$) des Q-e-Schemas üblicherweise gut miteinander (II+IV, II+II, IV+IV).^[50,51,52,70] Da alle verwendeten Monomere entweder in Abschnitt II oder IV des Q-e-Schemas liegen (siehe Tabelle 3.3), ist ein gutes Copolymerisationsverhalten zu erwarten.

Tabelle 3.3: Übersicht der Monomere mit zugehörigen Q- und e-Werten, sowie der Lage im Q-e-Schema.

Monomer	Q-Wert	e-Wert	Abschnitt im Q-e-Schema
N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	0,4	0,47	II
Natriumacrylat (SA)	0,71	-0,12	IV
Natriummethacrylat (SMA)	1,36	-1,18	IV
Acrylsäure (AA)	1,15	0,77	II
Methacrylsäure (MAA)	2,34	0,65	II
Methacrylsäure-tert-butylester (MAtBu)	1,18	-0,35	IV
Methacrylsäurephenylester (MPh)	1,25	0,79	II
N-Acryloyloxysuccinimid (NASI)	unbekannt	unbekannt	unbekannt

Um eine genauere Aussage über die erwartete Zusammensetzung der Polymerketten treffen zu können, wurden mit Hilfe der bekannten Q- und e-Werte die Copolymerisationsparameter (r-Werte) nach folgenden Gleichungen aus der Literatur^[52] berechnet.

$$r_1 = \frac{Q_1}{Q_2} \exp[-e_1(e_1 - e_2)]$$

$$r_2 = \frac{Q_2}{Q_1} \exp[-e_2(e_2 - e_1)]$$

Die Copolymerisationsparameter gelten jeweils für die Reaktion von zwei unterschiedlichen

Monomeren und geben die bevorzugte Reaktivität gegenüber dem gleichen bzw. dem anderen Monomertyp wieder. Dabei bedeutet ein Wert von 1, dass das Monomerradikal am Ende der wachsenden Kette keines der beiden Monomere bevorzugt. Ein Wert von 0 bedeutet, dass das Radikal nur mit dem anderen Monomertyp reagiert, wohingegen ein unendlich hoher Wert bedeutet, dass es ausschließlich mit dem gleichen Monomertyp reagiert.

Daher erhält man ein statistisches Polymer, wenn $r_1=r_2=1$ sind. Keines der beiden Monomere besitzt eine Präferenz für den Einbau und somit erfolgt dieser rein statistisch. Sind $r_1=r_2=0$, so erhält man ein vollkommen alternierendes Polymer. Jedes der beiden Monomere reagiert ausschließlich mit dem des anderen Typs. Im Falle von $r_1 \gg 1$ und $r_2 \gg 1$ bevorzugt jedes der beiden Monomere den eigenen Monomertyp und man erhält ein Blockcopolymer bzw. zwei Homopolymere.^[50,51,52,70]

Die aus der Literatur entnommenen Daten^[71,72,73,74] und die berechneten r-Werte sind in Tabelle 3.4 dargestellt. Da für NASI die Q- und e-Werte nicht bekannt sind, wurden die r-Werte nicht berechnet, sondern aus der Literatur für die Reaktion von NIPAAm mit NASI entnommen.^[73] Für MABP sind weder die Q- und e-Werte, noch die r-Werte für die Copolymerisation mit NIPAAm bekannt. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit des Methacrylsäurephenylesters (MAPh) mit dem verwendeten Methacrylsäurebenzophenonester (MABP) kann jedoch ein vergleichbares Polymerisationsverhalten angenommen werden. Daher wurden die Q- und e-Werte von Methacrylsäurephenylester (MAPh) zur Berechnung der r-Werte verwendet.

Tabelle 3.4: Übersicht der Monomerpaare mit zugehörigen Q- und e-Werten, sowie berechneten r-Werten.

(mit Q_1 , e_1 , r_1 für Monomer 1 und Q_2 , e_2 , r_2 für Monomer 2)

Monomer 1	Monomer 2	Q_1	Q_2	e_1	e_2	r_1	r_2
NIPAAm	SA	0,4	0,71	0,47	-0,12	0,43	1,65
NIPAAm	SMA	0,4	1,36	0,47	-1,18	0,14	0,49
NIPAAm	AA	0,4	1,15	0,47	0,77	0,4	2,28
NIPAAm	MAA	0,4	2,34	0,47	0,65	0,19	5,2
NIPAAm	MAtBu	0,4	1,18	0,47	-0,35	0,23	2,21
NIPAAm	MAPh	0,4	1,25	0,47	0,79	0,37	2,43
NIPAAm	NASI	0,4		0,47		0,28	1,93
MAPh	SA	1,25	0,71	0,79	-0,12	0,86	0,51
MAPh	SMA	1,25	1,36	0,79	-1,18	0,19	0,11
MAPh	AA	1,25	1,15	0,79	0,77	1,07	0,93
MAPh	MAA	1,25	2,34	0,79	0,65	0,48	2,05
MAPh	MAtBu	1,25	1,18	0,79	-0,35	0,43	0,63

Da alle Copolymere mindestens 79 % NIPAAm-Einheiten enthalten, sind die Werte für die Copolymerisation von NIPAAm mit den anderen Monomeren am wichtigsten. Das Zusammentreffen zweier anderer Comonomere ist vergleichsweise unwahrscheinlich und deshalb weniger wichtig.

Es fällt auf, dass die r-Werte von NIPAAm alle kleiner als 1 sind und damit das NIPAAm-Radikal alle anderen Comonomere leicht bevorzugt einbaut. Von der Seite der Comonomere betrachtet fällt auf, dass lediglich das SMA-Radikal das NIPAAm-Monomer leicht bevorzugt. Alle anderen Comonomere reagieren bevorzugt mit dem Monomer gleichen Typs. Dies ist bei den meisten Comonomeren nur ein leichter Vorzug, bei MAA mit einem r-Wert von >5 jedoch schon etwas deutlicher ausgeprägt.

Betrachtet man den eher unwahrscheinlichen Fall einer Reaktion von MAPh bzw. MABP mit einem anderen Comonomer (außer NIPAAm), so fällt auf, dass alle anderen Comonomere, außer der Acrylsäure, leicht bevorzugt eingebaut werden. Bei der Reaktion mit Acrylsäure wird keines der Monomere bevorzugt. Von der Seite der Comonomere betrachtet gibt es bei allen eine leichte Bevorzugung von MAPh bzw. MABP. Lediglich bei MAA ist dies nicht der Fall, da dieses wiederum die Reaktion mit dem eigenen Monomer bevorzugt.

Insgesamt stellt man auf Basis der r -Werte einen bevorzugten Einbau der Comonomere gegenüber dem Einbau von NIPAAm fest. Da die Monomerverhältnisse in der Reaktionslösung allerdings nicht gleich sind, sondern die Mischung zu mindestens 79 % aus NIPAAm besteht, wirkt die Statistik dem durch die r -Werte belegten Trend entgegen. Dies macht eine Abschätzung der Kettenzusammensetzung sehr schwierig. Wahrscheinlich wird der Einbau der Monomere zu Anfang der Polymerisation eher statistisch stattfinden, da sich die Bevorzugung der anderen Comonomere mit der statistischen Wahrscheinlichkeit auf ein NIPAAm-Monomer zu treffen aufheben. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Comonomere in der Polymerkette nicht durch mindestens eine NIPAAm-Einheit getrennt sind, dürfte eher gering sein. Mit fortschreitender Polymerisationsdauer werden die in geringer Menge zugesetzten Monomere aufgebraucht, so dass man für den "hinteren Teil" der Kette einen reinen PNIPAAm-Block annehmen kann. Da bei der freien radikalischen Polymerisation nicht alle Ketten gleichzeitig gestartet werden, sondern die Initiierung über einen längeren Zeitraum erfolgt, dürften spät gestartete Polymerketten überwiegend, möglicherweise sogar vollständig, aus PNIPAAm bestehen.

4. Charakterisierung der Polymere

4.1 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die Polymerzusammensetzung wurde mittels ^1H -NMR-Untersuchungen, welche durch ^{13}C -NMR-Messungen verifiziert wurden, bestimmt^[75].

Dabei können die NIPAAm- und MABP-Anteile unabhängig durch Integration des CH-Peaks der Isopropylgruppe bei 3,75 ppm bzw. des Peaks der aromatischen CH-Gruppen bei 7,44 ppm bestimmt werden. Der Anteil an NASI ist ebenfalls unabhängig, durch Integration der beiden CH_2 -Gruppen bei 2,71 ppm, zu bestimmen. Der Anteil an SMA, MAA und MAtBu muss jedoch durch Subtraktion der gegebenen Mengen an NIPAAm und MABP vom CH_3 -Peak bei 0,95 ppm berechnet werden. Dies beinhaltet eine Ungenauigkeit von ca. 10-15 %, weshalb die angegebenen Werte für diese Anteile mit Vorsicht behandelt werden sollten.

Ein typisches ^1H -NMR-Spektrum der untersuchten Polymere ist in Abbildung 4.1 gezeigt.

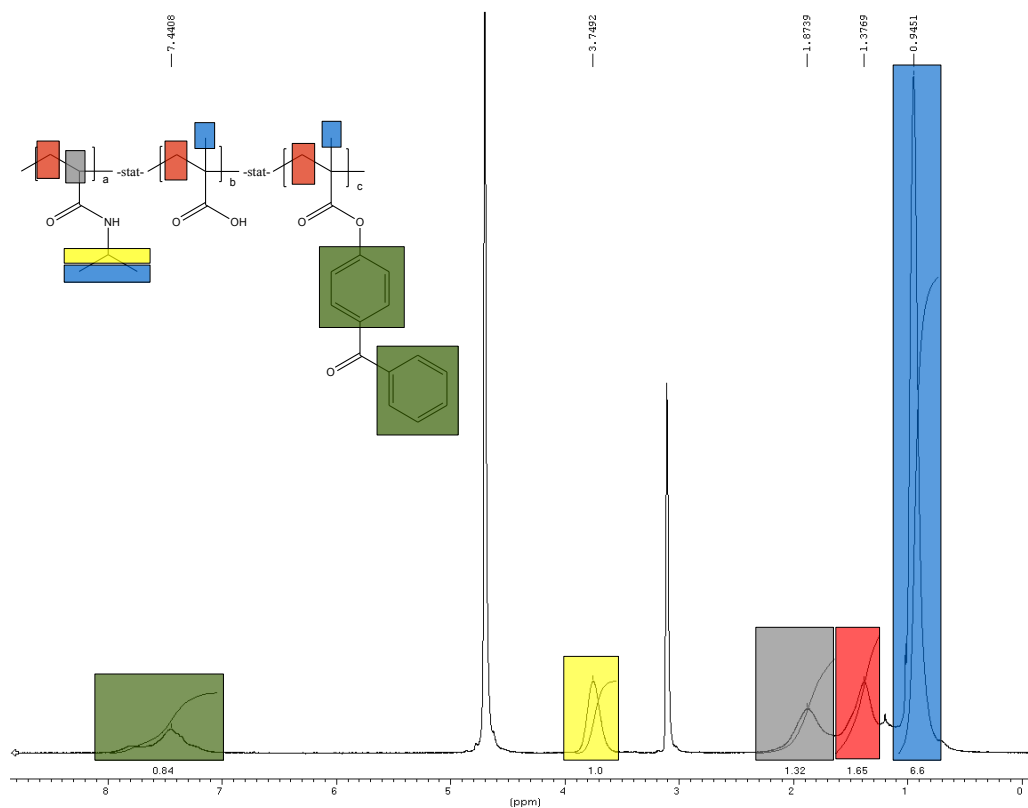


Abbildung 4.1: Typisches ^1H -NMR-Spektrum der synthetisierten Polymere (hier von P8A).

Um die Ergebnisse der ^1H -NMR-Messungen zu verifizieren, wurden ^{13}C -NMR-Untersuchungen an Polymer **P4S** durchgeführt und die resultierenden Ergebnisse mit denen aus der ^1H -NMR-Messung von **P4S** verglichen. Dazu wurde ein ^{13}C -NMR-Spektrum mit dem "Spinecho"-Pulsprogramm und eines mit dem "Inverse Gated-decoupling"-Pulsprogramm aufgenommen^[76]. Die Besonderheit bei dem "Spinecho"-Programm ist, dass quartäre und sekundäre Kohlenstoffatome eine positive Phasenlage besitzen (sie ergeben Maxima im Spektrum) und tertiäre sowie primäre Kohlenstoffatome eine negative Phasenlage haben (sie ergeben Minima im Spektrum). Dies erleichtert die Zuordnung der Peaks bei dem "Inverse Gated-decoupling"-Spektrum, welches als Besonderheit integrierbare Peaks aufweist. Damit ist eine Berechnung der Einbauverhältnisse, ähnlich wie bei den ^1H -NMR Messungen, möglich.

Abbildung 4.2 und 4.3 zeigen das mit "Spinecho" gemessene Spektrum und Abbildung 4.4 und 4.5 zeigen das "Inverse Gated-decoupling"-Spektrum. Die Peaks in den Spektren und die entsprechenden Gruppen in den chemischen Strukturformeln sind zur leichteren Zuordnung und besseren Übersichtlichkeit jeweils farbig markiert.

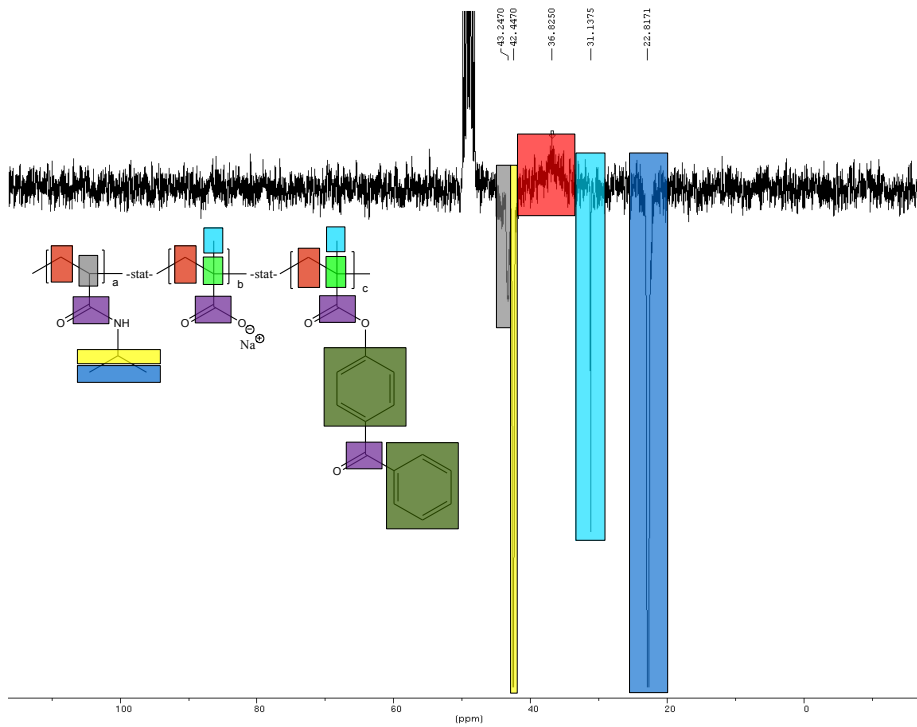


Abbildung 4.2: Hochfeld des ^{13}C -NMR-"Spinecho"-Spektrums von Polymer P4S.

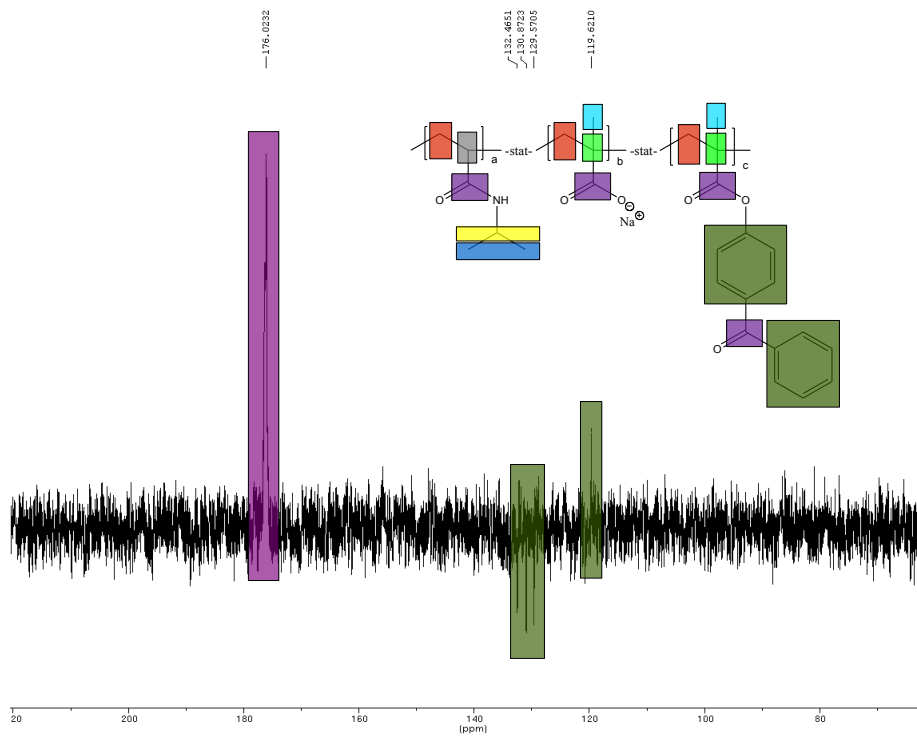
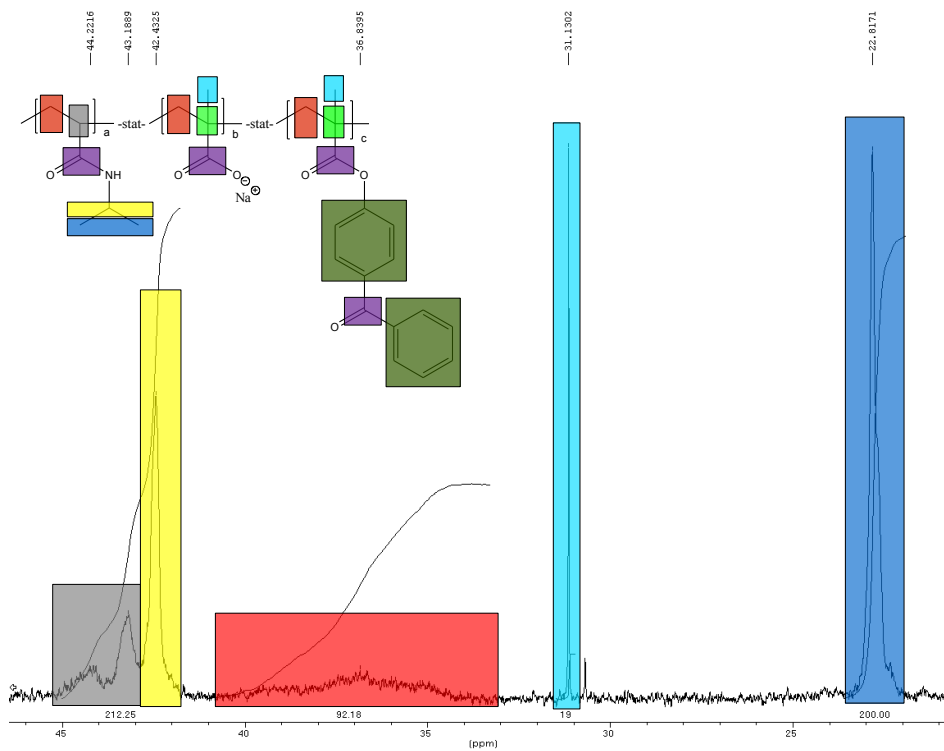
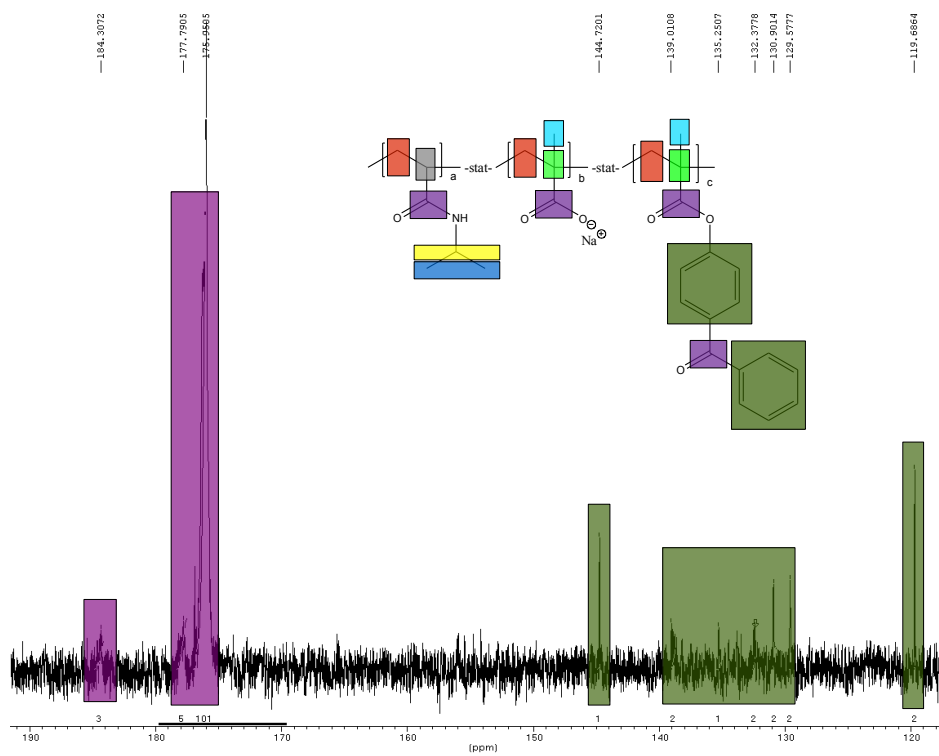


Abbildung 4.3: Tieffeld des ^{13}C -NMR-"Spinecho"-Spektrums von Polymer P4S (vergrößert).

Abbildung 4.4: Hochfeld des ¹³C-NMR-"Inverse Gated-decoupling"-Spektrums von Polymer P4S.Abbildung 4.5: Tieffeld des ¹³C-NMR-"Inverse Gated-decoupling"-Spektrums von Polymer P4S (vergrößert).

Die aus dem "Inverse Gated-decoupling"- ^{13}C -NMR-Spektrum resultierenden Integrale und die auf der Basis des ^1H -NMR-Spektrums berechneten Integrale für eine Übereinstimmung von ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten sind in Tabelle 4.1 gezeigt. Dabei wurde auf das Integral der beiden CH_3 -Kohlenstoffatome der Isopropylgruppe bei 22,8 ppm normiert. Das Signal der quartären Kohlenstoffe des Polymerrückgrats (in der chemischen Strukturformel hellgrün markiert) konnte nicht gefunden werden. Vermutlich wird es von dem starken Signal des Lösungsmittels bei ca. 47 ppm überlagert.

Tabelle 4.1: Vergleich der gemessenen und berechneten Integrale der "Inverse Gated-decoupling"- ^{13}C -NMR-Messung.

Lage der Peaks in ppm	C-Atome	Integrale	
		^{13}C -NMR gemessen	berechnet aus ^1H -NMR
22,8	iPr- CH_3	200	200
31,1	Rückgrat- CH_3	19	21
33,8-40,7	CH_2	92	121
41,7-45,2	CH	212	200
119,7	C-Aromat	2	2
129,6	C-Aromat	2	2
130,9	C-Aromat	2	2
132,3-132,5	C-Aromat	2	2
135,1-135,4	C-Aromat	1	2
138,7-139,0	C-Aromat	2	2
144,7	C-Aromat	1	2
175,2-177,0	C=O	} insgesamt 109	insgesamt 121
177,5-178,3	C=O		
184,1-184,8	C=O		

Zur Bestimmung der Polymerzusammensetzung werden die NIPAAm- und MABP-Anteile unabhängig durch Integration des CH_3 -Peaks der Isopropylgruppe bzw. eines Peaks der aromatischen CH-Gruppen bestimmt. Der Anteil an SMA muss jedoch durch Subtraktion der gegebenen Menge an MABP vom CH_3 -Peak der Rückgrat- CH_3 -Gruppen berechnet werden.

Wie man aus Tabelle 4.1 ersehen kann, sind die Abweichungen der Daten gering. Die Polymerzusammensetzung kann gut über die erhaltenen Integrale bestimmt werden. Die Auswertung des ^{13}C -NMR-Spektrums ergibt damit eine Zusammensetzung des Polymers **P4S** von 100:17:2 und die Auswertung des ^1H -NMR-Spektrums 100:19:2 für NIPAAm:SMA:MABP. Damit scheint der Fehler bei den ^1H -NMR-Messungen gering zu sein und lediglich mit ca. 10-15 % Ungenauigkeit bei dem Anteil für SMA aufzutreten.

4.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die GPC-Messungen erfolgten in DMF bei einer Temperatur von 60°C relativ zu Poly(methylmethacrylat)standards.

Tabelle 4.2 zeigt die ermittelten Molekulargewichte und Polydispersitäten der Polymere.

Tabelle 4.2: Molekulargewichte und Polydispersitäten als Ergebnisse der GPC-Messungen

Name	M _n [kg/mol]	M _w [kg/mol]	PDI
P1S	115	340	2,95
P2S	72	175	2,42
P3S	162	402	2,48
P4S	170	390	2,29
P5S	193	427	2,21
P6B	149	320	2,14
P7A	132	233	1,77
P8A	144	352	2,44
P9	80	223	2,78
P10E	59	226	3,83
P11E	92	290	3,14
P12AE	61	232	3,8

Bei den Polymeren **P1-P8** sind die Molekulargewichte mit M_n von 115-193 kg/mol und M_w von 233-427 kg/mol etwas höher als bei den anderen Polymeren. Einzig **P2S** macht hier eine Ausnahme mit einem M_n von 72 kg/mol und einem M_w von 175 kg/mol. Allerdings hatte sich bei dieser Polymerisation das Hauptmonomer NIPAAm auch nicht vollständig im verwendeten Lösungsmittel Chloroform gelöst. Diesen acht Polymeren (**P1-P8**) ist gemein, dass sie aus drei unterschiedlichen Monomeren bestehen. Das dritte Monomer ist hier entweder Natriummethacrylat, Methacrylsäure oder Methacrylsäure-tert-butylester.

Ein etwas niedrigeres Molekulargewicht zeigt das Copolymer **P9**, welches nur aus NIPAAm und MABP besteht. Hier liegt der M_n bei 80 kg/mol und der M_w bei 223 kg/mol.

Die Polydispersitäten liegen bei **P1-P9** in dem für die freie radikalische Polymerisation typischen Bereich zwischen 2 und 3. Bei **P7A** mit 1,77 sogar etwas darunter.

Auffällig ist, dass bei der Verwendung von NASI als Comonomer (**P10-P12**) die Polydispersitäten teilweise sehr deutlich auf bis zu 3,83 ansteigen und die Molekulargewichte mit M_n von 59-92 kg/mol und M_w von 226-290 kg/mol etwas niedriger ausfallen. Dies deutet auf Kettenübertragung durch NASI während der Polymerisation hin.

4.3 Thermische Analyseverfahren (TGA und DSC)

Zur Bestimmung der Glasübergangstemperatur (T_g) sowie der Unteren Kritischen Entmischungstemperatur (LCST) wurden DSC-Messungen (Differential Scanning Calorimetry) durchgeführt. Die Temperatur bei der sich 5% des Polymeren zersetzt haben ($T_{5\%}$) und die Temperatur der maximalen Abbaugeschwindigkeit (T_{max}) wurden mittels Thermogravimetrischer Analyse (TGA) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.3 dargestellt.

Tabelle 4.3: Ergebnisse der thermischen Analyseverfahren zur Bestimmung von Glasübergangstemperatur (T_g), Unterer Kritischer Entmischungstemperatur (LCST), Temperatur des 5%-igen Abbaus ($T_{5\%}$) und Temperatur der maximalen Abbaugeschwindigkeit (T_{max}). Bei einigen Polymeren konnte bei den DSC-Messungen zur Ermittlung der LCST jedoch kein Übergang gefunden werden (n. gef.).

Name	T_g [°C]	LCST [°C]	$T_{5\%}$ [°C]	T_{max} [°C]
P1S	136	n. gef.	235	329
P2S	119	n. gef.	303	345
P3S	128	n. gef.	241	329
P4S	147	n. gef.	294	330
P5S	133	n. gef.	267	365
P6B	128	30	242	403
P7A	148	n. gef.	272	394
P8A	144	33	276	402
P9	119	32	308	413
P10E	130	32	305	413
P11E	129	31	244	406
P12AE	87	n. gef.	198	407

Man kann erkennen, dass die Glasübergangstemperatur bei den Polymeren **P1-P11** in einem ähnlichen Bereich, von 119-147°C, liegt. Lediglich **P12AE** liegt mit 87°C deutlich darunter. Bei der Temperatur des 5%-igen Abbaus liegen die Polymere **P1-P11** wiederum in einem ähnlichen Bereich, von 235-308°C. Der Wert für **P12AE** liegt mit 198°C wieder darunter. Bei der Temperatur des maximalen Abbaus liegen alle Polymere in einem Bereich von 329-413°C.

Bei den Ergebnissen der Messungen der Unteren Kritischen Entmischungstemperatur (LCST) mittels DSC zeigt sich, dass alle gefundenen Übergangstemperaturen in einem ähnlichen Bereich liegen. Dies kann aufgrund der relativ geringen Unterschiede der Polymere (alle enthalten mindestens 79 mol% NIPAAm-Einheiten) erklärt werden. Der

Einfluss des NIPAAm ist damit, wie erwartet und erwünscht, deutlich dominierend. Die Übergangstemperaturen der Volumenphasenübergänge liegen alle nur wenig von dem aus der Literatur bekannten Wert von etwa 33°C für das homopolymere PNIPAAm^[2,12] entfernt. Die niedrigste gefundene LCST besitzt offensichtlich das Polymer **P6B**, mit dem klar hydrophoben tert-Butylmethacrylat, welches den hydrophoben Einfluss des MABP noch verstärkt. Hier liegt die ermittelte Übergangstemperatur bei 30°C und damit um 3°C niedriger als bei dem homopolymeren PNIPAAm. Für Polymer **P11E**, mit hohem Anteil an ebenfalls eher hydrophobem Aktivester, liegt die Übergangstemperatur bei 31°C. Das Polymer mit sehr wenig Aktivester **P10E** und das Polymer ohne drittes Comonomer **P9** zeigen erwartungsgemäß ähnliche Werte. Beide liegen bei 32°C. Sehr ähnlich ist auch mit 33°C die Übergangstemperatur von Polymer **P8A**, welches immerhin 8 % Methacrylsäure enthält. Es scheint, dass sich der hydrophobe Einfluss des MABP und der hydrophile Einfluss der Methacrylsäure in Bezug auf die Veränderung der LCST bei diesem Polymer gerade neutralisieren, da die Übergangstemperatur mit 33°C bei dem gleichen Wert liegt, wie die bekannte Übergangstemperatur des homopolymeren PNIPAAm. Da der Unterschied zu Polymer **P9** (ohne ionische Gruppen) allerdings nur 1°C beträgt, scheint sowohl der Einfluss des hydrophoben MABP sowie der hydrophilen Säuregruppen auf die LCST bei den geringen Mengen im Polymer vernachlässigbar.

5. Herstellung der Hydrogele

5.1 *Synthese und Immobilisierung der Haftvermittler*

Für praktisch alle Sensoranwendungen ist eine Immobilisierung des Sensormaterials, in diesem Fall des Hydrogels, auf einem Substrat erforderlich. Da die verwendeten Gele hydrophil sind und sich daher sehr leicht von Oberflächen abspülen lassen, ist eine kovalente Anbindung an das Substrat erforderlich.

Die Oberflächenanbindung wurde mittels Silanchemie für Siliciumdioxid-Oberflächen (Glas, Siliciumwafer) bzw. der Affinität von Thiolen / Thioacetaten zu Goldoberflächen erreicht. Zu diesem Zweck wurde ein Benzophenonmonochlorsilan^[77] und ein neuartiges Benzophenonthioacetat^[5] synthetisiert. Die unterschiedlichen Syntheseschritte sind in Abbildung 5.1 gezeigt und zusammen mit den notwendigen Immobilisierungsverfahren detailliert im Experimentellen Teil beschrieben.

Die zu beschichtenden, mit Chrom, Gold und ggf. Siliciumdioxid bedampften, Substrate wurden jeweils über Nacht in eine Lösung des Haftvermittlers gelegt und anschließend nochmals, durch Abspülen mit organischem Lösungsmittel, gereinigt. Die entstandenen Schichten beider Haftvermittler zeigten gute Stabilität und Oberflächenanbindung in reinem Wasser. Zur Verwendung in Pufferlösungen empfiehlt sich die Überführung des Benzophenonthioacetats in das entsprechende Thiol, da dieses eine bessere Haftung auf Goldoberflächen besitzt. SPR-Messungen an einer Schicht des Thioacetats auf einer Goldoberfläche in reinem Wasser und in Pufferlösungen haben in dem Bereich von pH2-pH7 zwar keine Veränderung der Schicht gezeigt (siehe Abbildung 5.2), dennoch war eine erhöhte Stabilität der Hydrogele, welche mittels des Thiols immobilisiert waren, bei Messungen in Pufferlösungen erkennbar. Dies gilt insbesondere für den basischen pH-Wertbereich, in welchem die Verwendung des Thioacetats meist zu instabilen Schichten führt.

Die Verwendung des Benzophenonsilans auf aufgedampften Siliciumdioxid-Oberflächen führt in Pufferlösungen meist zu schlechten Ergebnissen, da sich die Oberfläche durch Ablösen des Siliciumdioxids zerstört.

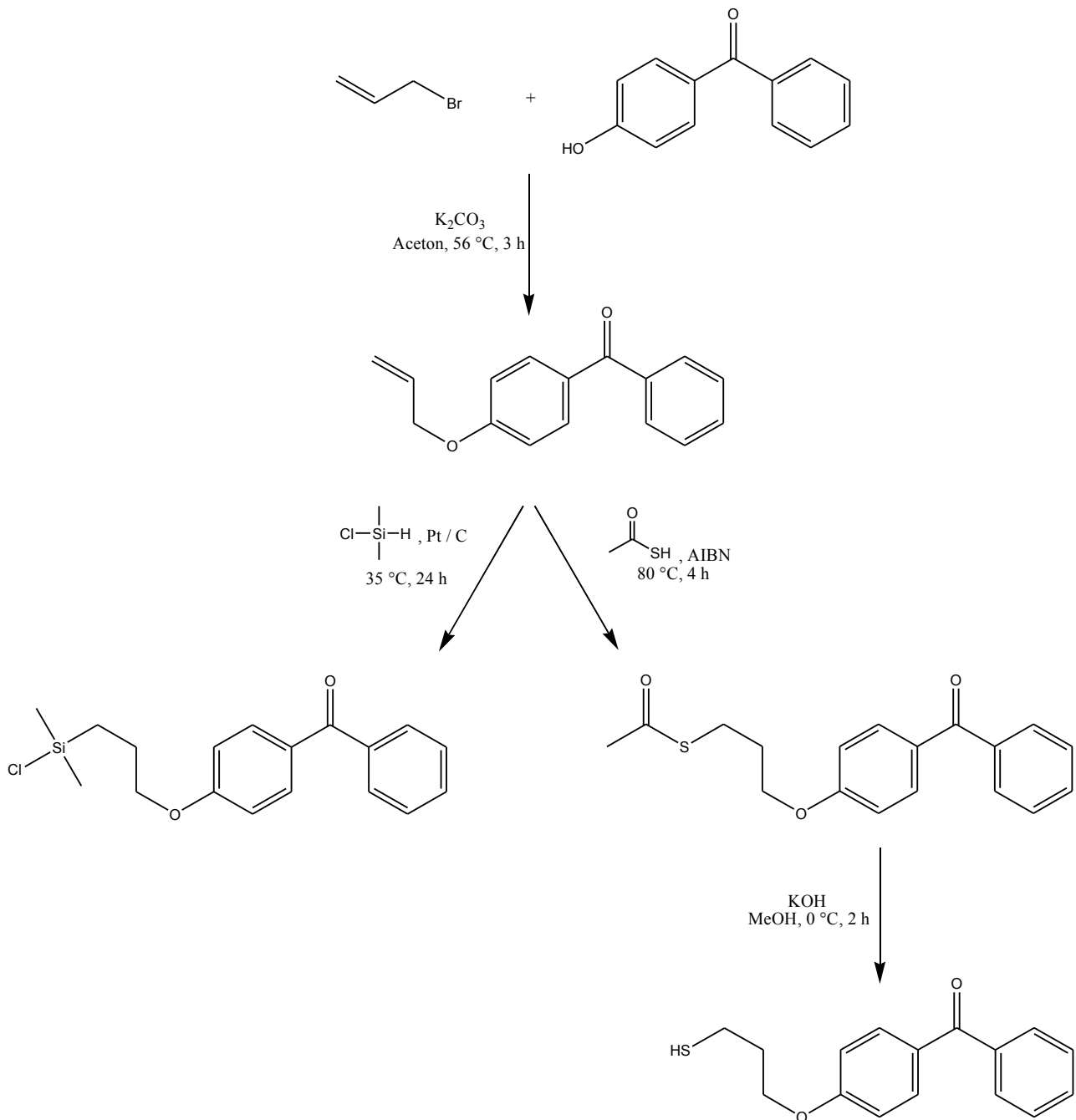


Abbildung 5.1: Schema zur Herstellung der Haftvermittler für Siliciumdioxid- und Goldoberflächen.

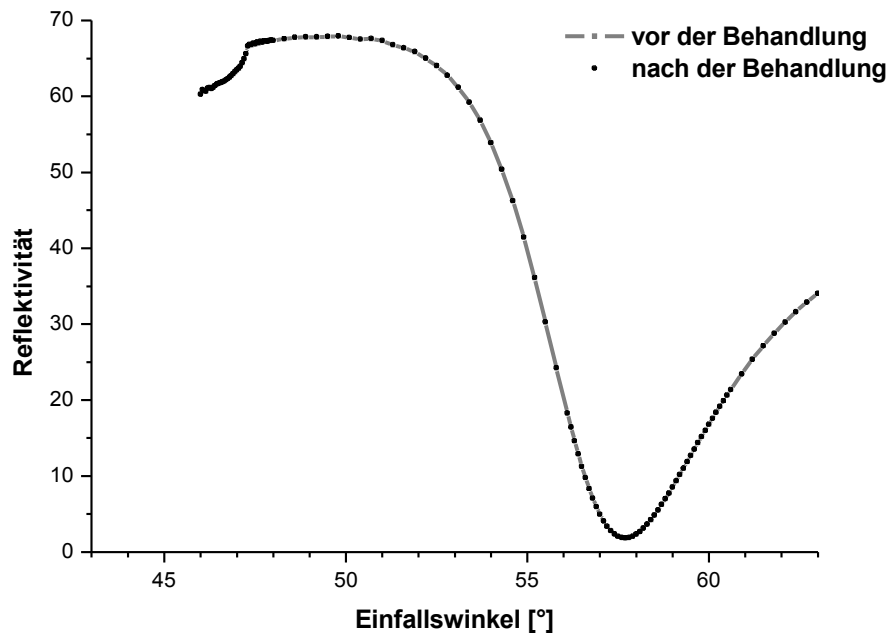


Abbildung 5.2: SPR-Messkurve einer Benzophenonthioacetat-Schicht auf Gold vor und nach der Behandlung mit Pufferlösungen im Bereich von pH2-pH7.

5.2 Aufbringen der Polymerfilme

Um Hydrogele mit möglichst definierter und reproduzierbarer Schichtdicke zu erhalten, wurden dünne Polymerfilme durch Aufschleudern mit einem Spincoater aus ethanolischen Lösungen auf die Substrate aufgebracht. Dazu wurden die Lösungen jeweils vor der Rotation aufgetropft. Der Polymeranteil der Lösungen betrug 8-10 gew% und ergab Schichtdicken von ca. 1000-1300 nm bei 4000 Umdrehungen pro Minute und einer Minute Drehzeit. Die Proben wurden anschließend über Nacht bei 50 °C im Membranpumpenvakuum getrocknet um das restliche Lösungsmittel zu entfernen.

Auf diese Weise ließen sich Polymerfilme mit sehr hoher Kontrolle über die Schichtdicke (auf 10 nm genau bei 1000 nm Dicke) und sehr guter Reproduzierbarkeit herstellen. Untersuchungen der Polymerfilme sind mittels AFM an Schichten der Polymere **P8A** und **P9** erfolgt. Die Ergebnisse sind in Kapitel 6.2 dargestellt.

5.3 Oberflächenanbindung und Vernetzung

Um den Vernetzungsgrad steuern und damit sowohl die Maschenweite des Netzwerks, wie die Quellbarkeit des Hydrogels beeinflussen zu können, wurde die Methode der Photovernetzung verwendet. Weiterhin erlaubt diese Variante eine sehr selektive Vernetzung und bietet damit auch die Möglichkeit der gezielten Strukturierung durch Belichtung mit einer Photomaske.

Im vorliegenden Fall wurden allerdings die kompletten Substrate bei einer Wellenlänge von 365 nm eine Stunde lang in einem UV-Vernetzer bestrahlt. Dies entspricht $6,28 \text{ J/cm}^2$. Durch diese Bestrahlung werden die Benzophenonmoleküle angeregt um dann mit beliebigen C-H-Bindungen (CH , CH_2 , CH_3 , $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$) zu reagieren. Dabei reagiert das Sauerstoffradikal des Benzophenons mit dem Wasserstoffradikal der C-H-Bindung und die beiden Kohlenstoffradikale miteinander. Durch diese Reaktion findet sowohl die Anbindung des Polymers an die Oberfläche, als auch die Vernetzung der Polymerketten untereinander statt (für Details siehe Kapitel 2.2). In Abbildung 5.3 ist dies schematisch dargestellt.

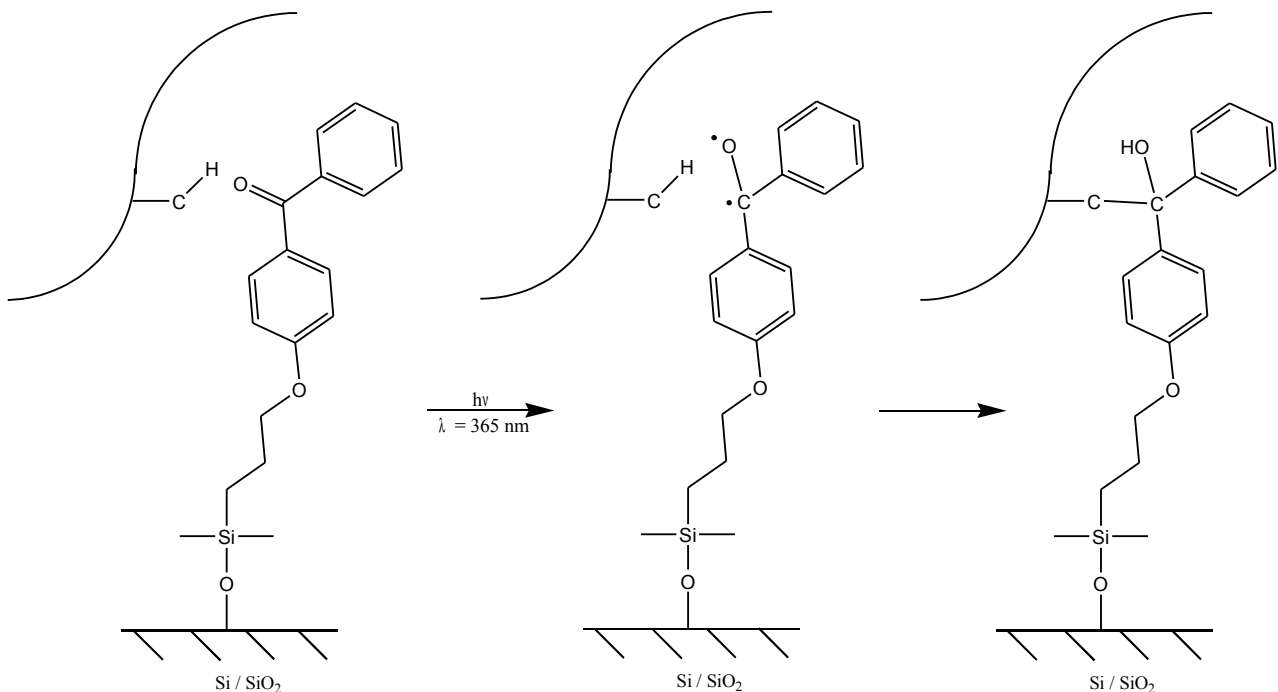


Abbildung 5.3: Schematische Darstellung der Anbindung einer Polymerkette an eine funktionalisierte Glasoberfläche.

6. Charakterisierung der Hydrogele

6.1 Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) / Optische Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) und Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung (WKB)

6.1.1 Modifikation des Messaufbaus

Um die auf Goldschichten immobilisierten Hydrogelfilme mit SPR/OWS-Techniken charakterisieren und das Verhalten der Gele insbesondere bei Temperaturänderungen untersuchen zu können, musste der SPR-Standardaufbau modifiziert werden. Das Ziel war, eine möglichst genaue und gleichzeitig schnelle Temperaturänderung herbeiführen zu können, die in dem Bereich von 15-60°C variabel eingestellt werden kann.

Dafür wurde der in Abbildung 2.6 (Kapitel 2.3) gezeigte Standardaufbau um einen Cryostat (Ministat der Firma Huber) erweitert (siehe Abbildung 6.1) und der SPR-Probenhalter mit einer Heiz- und Kühlvorrichtung ausgerüstet. Diese ist in Abbildung 6.2(a) gezeigt. Die Vorrichtung besteht aus einem Messingblock, der mit einer elektrischen Widerstandsheizung und einem Pt100-Temperaturfühler ausgestattet ist. Dadurch kann der Block auf die gewünschte Temperatur erhitzt werden. Für die Kühlung sorgt ein Kühlmantel aus Messing, der um den Heizblock herum angebracht ist, und durch den ständig 8°C kaltes Kühlmittel (Ethylenglykol/Wasser 1:2) vom Cryostaten zirkuliert. Der Kühlmantel ist durch Messingstreben mit dem Heizblock verbunden, so dass die Heizung gegen die permanente Kühlung erfolgt. Dies ist auf ca. 0,2°C genau. In dem Heizblock befindet sich ein Loch um Fluoreszenzlicht detektieren zu können.

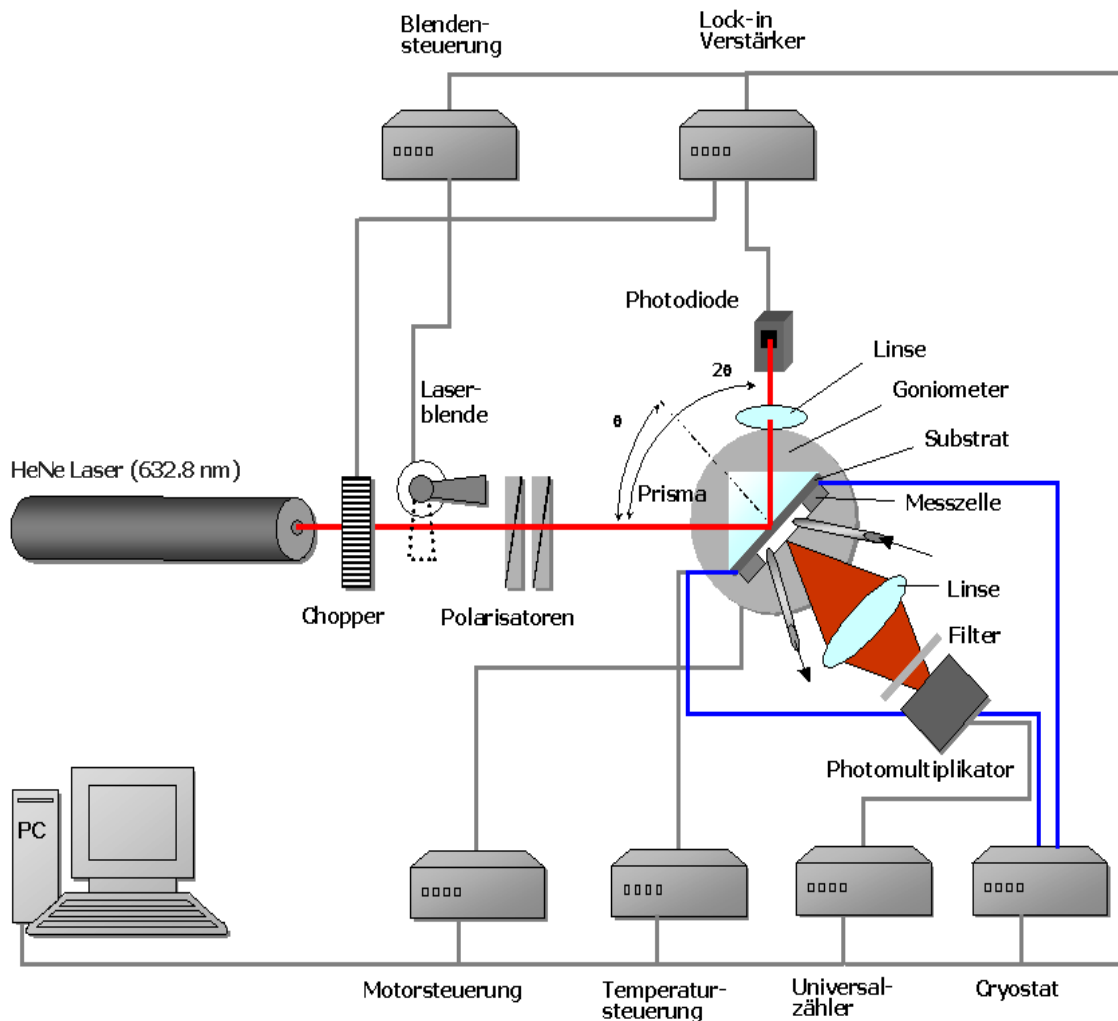


Abbildung 6.1: SPFS/OWFS-Aufbau für temperaturkontrollierte Messungen (ohne Referenzdetektor).

Auch die Messzelle musste extra angefertigt werden. Sie ist in Abbildung 6.2(b) dargestellt. Um eine gute Wärmeleitung und gleichzeitige Inertheit des Materials zu gewährleisten, wurde die Messzelle aus rostfreiem Edelstahl (und nicht aus Messing, Kupfer oder Aluminium) hergestellt. Die Messzelle besitzt ein Loch von 1 cm Durchmesser für das Messvolumen und je einen Zu- und Abfluss für die Analytlösung. Diese liegen auf entgegengesetzten Seiten, damit Luftblasen leicht aus der Zelle entfernt werden können. Des Weiteren besitzt die Messzelle einen eigenen Pt100-Temperaturfühler, welcher sich in Kontakt mit der Analytlösung befindet. Um unerwünschte Lichtstreuung oder -reflexion an dem weißen Pt100 zu vermeiden, befindet sich bei der ansonsten identischen Messzelle für

Fluoreszenzmessungen der Pt100 nicht in Kontakt mit der Analytlösung, sondern im Metall der Messzelle. Beide Zellen haben die gleiche rechteckige Form wie der Heizblock, sind aber in beiden Raumrichtungen um einige Millimeter kürzer, damit sie vollständig aufliegen und nicht überstehen. Die Dicke der Messzellen liegt jeweils bei 0,5 cm.

Die Steuerung der Heizung erfolgt über ein von der Elektronikwerkstatt des MPI-P gebautes Steuergerät und die von Andreas Scheller geschriebene Software WasPlas.

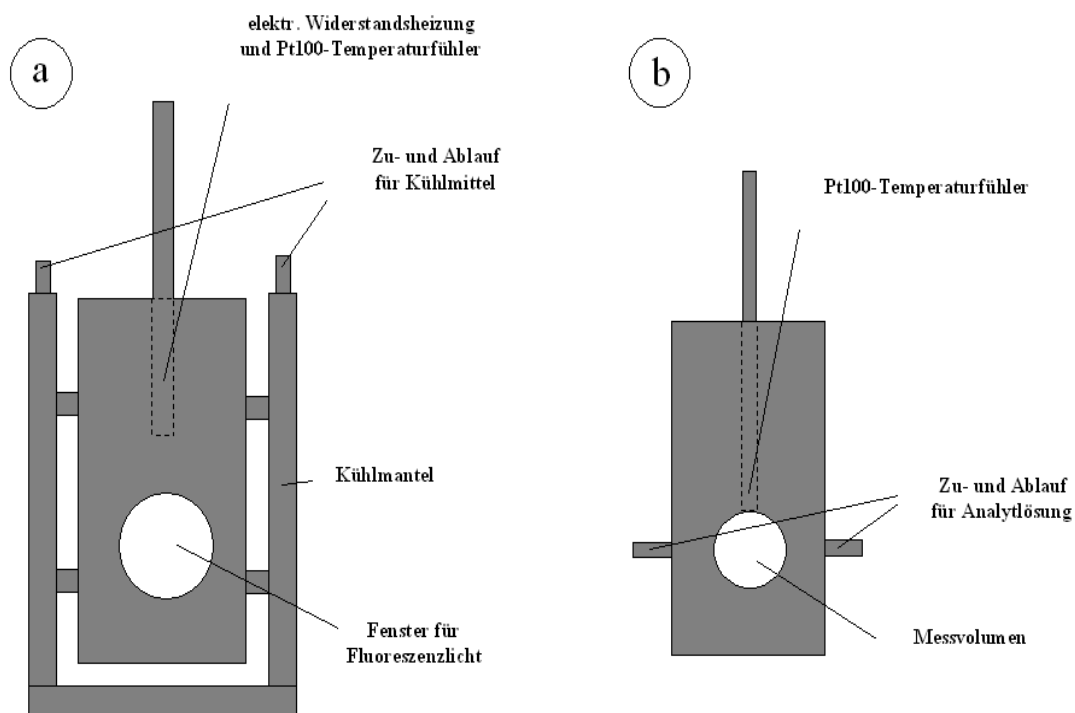


Abbildung 6.2: Schema der Heiz-/Kühlvorrichtung des Probehalters (a) und der Messzelle (b).

Um die Konstanz der Leistung des verwendeten Lasers bei jeder Messung überwachen zu können, wurde der Messaufbau um einen Strahlteiler, eine Photodiode und einen Lock-in Verstärker ergänzt. Dies ist in Abbildung 6.3 dargestellt.

Das Laserlicht wird von einem 50/50 Strahlteiler der Firma Owis vor dem Auftreffen auf die Probe geteilt, so dass die Hälfte der Intensität auf den Referenzdetektor, die zusätzliche Photodiode, trifft. Mit dieser wird ständig nur die Intensität des Laserlichts aufgezeichnet,

um sicher zu stellen, dass die Intensität während der gesamten Messung konstant bleibt. Dies ist insbesondere hilfreich bei Kinetikmessungen, da Schwankungen der Laserintensität hierbei leicht eine Messung deutlich verfälschen können.

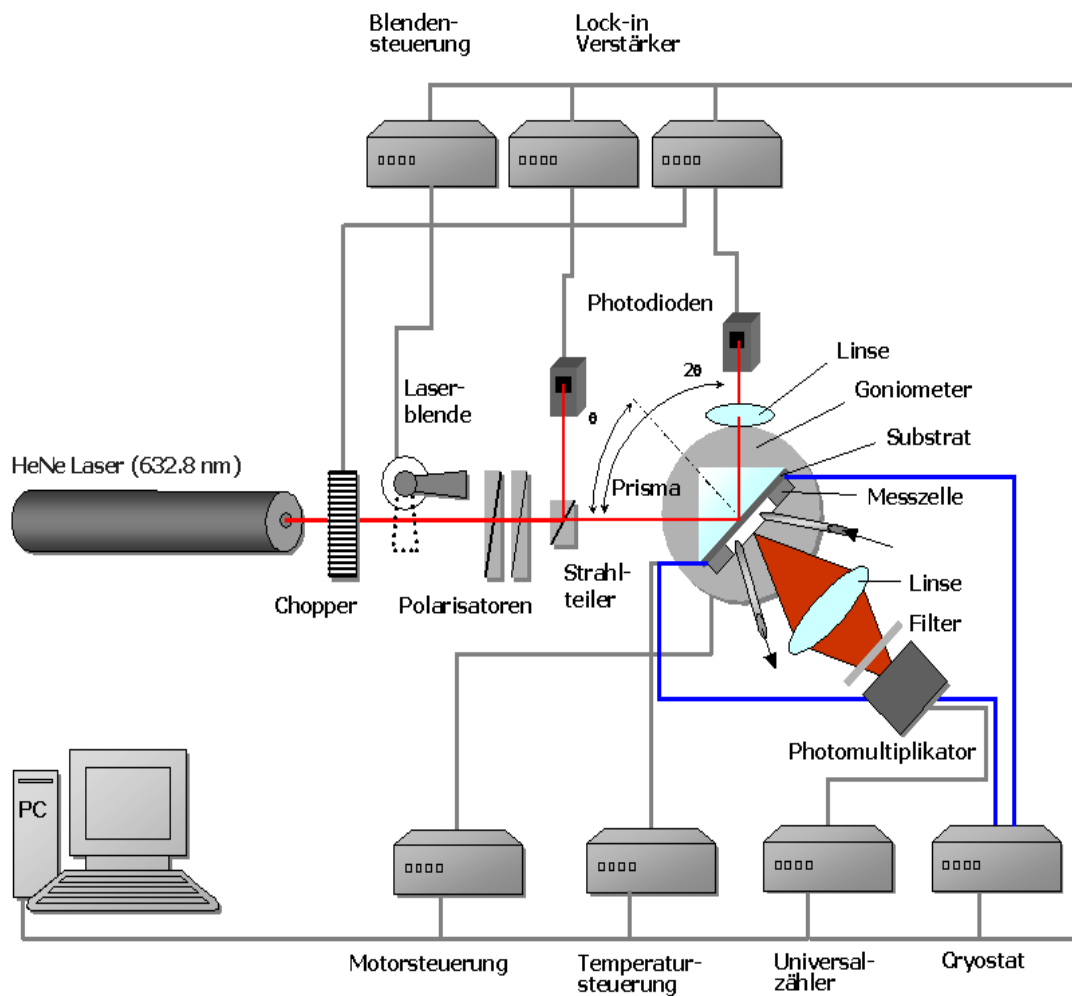


Abbildung 6.3: SPFS/OWFS-Aufbau für temperaturkontrollierte Messungen (mit Referenzdetektor).

6.1.2 Prinzipien der Verwendung von Oberflächenplasmonen und Optischen Wellenleitern zur Untersuchung von Hydrogelen

Bei Kontakt mit Wasser quillt ein trockener Hydrogelfilm mit einem Brechungsindex von $n_{\text{HG-trocken}} = 1,498$ durch Diffusion von Wasser (mit niedrigerem Brechungsindex von $n_{\text{H}_2\text{O}} = 1,33$) in das Gel. Dies führt zu einer Zunahme der Schichtdicke d und einer Abnahme des Brechungsindex des Hydrogels. Es scheint, dass sich der Brechungsindex ab einem bestimmten Quellgrad, der anscheinend immer überschritten wurde, mit zunehmender Quellung kaum noch ändert, so dass ein Brechungsindex von $n_{\text{HG-gequollen}} = 1,356$ für vollständig gequollene, PNIPAAm-basierte Hydrogele als Richtwert angenommen werden kann.

Während des Quellens und entsprechend auch während des Kollabierens ändern sich jeweils zwei Parameter (n_{HG} und d) des Hydrogels gleichzeitig. Um diese zwei Parameter eindeutig durch die optischen Messungen der Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) und Optischen Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) bestimmen zu können, werden mindestens zwei optische Moden benötigt.

Das Oberflächenplasmon erfasst die Hydrogelschicht nur bis zu einer Entfernung von 100-150 nm senkrecht zur Hydrogel-Gold-Grenzfläche. Jenseits dieser Entfernung ist es "blind". Der Grund dafür ist das exponentiell abfallende evaneszente Feld der Oberflächenwelle. Wellenleitermoden hingegen werden innerhalb der kompletten Schicht geführt. Diese beiden unterschiedlichen "Messfenster" innerhalb der Hydrogelschicht ermöglichen erst die detaillierte Untersuchung solcher oberflächengebundener Hydrogele. Das Oberflächenplasmon kann, aufgrund seiner hohen Sensitivität nahe der Hydrogel-Gold-Grenzfläche, benutzt werden, um den Brechungsindex an eben dieser Stelle unabhängig vom restlichen Teil des Hydrogels zu bestimmen. Dies ist hochinteressant, da an dieser Grenzfläche, aufgrund der hohen Belegungsdichte des Haftvermittlers auf der Goldoberfläche, eine deutlich höhere Vernetzung, und damit verbunden auch ein deutlich höherer Brechungsindex, als im restlichen Hydrogel zu erwarten ist. Da andererseits die Wellenleitermoden in der gesamten Hydrogelschicht verlaufen, können sie zur Bestimmung der Schichtdicke, des mittleren Brechungsindex und des Brechungsindexprofils der Hydrogelschicht verwendet werden.

Die Wellenleitermode in der Kretschmann-Konfiguration mit der niedrigsten Modennummer, die TM1 Mode, mit dem größten Einfallswinkel (unterhalb der Oberflächenplasmonenresonanzmode), ist am empfindlichsten auf Veränderungen des Brechungsindex, wohingegen die Mode mit der höchsten Modennummer, mit Absorption beim niedrigsten Einfallswinkel, am sensitivsten auf Änderungen der Schichtdicke reagiert. Dieser Sensitivitätsunterschied liegt in der elektrischen Feldverteilung der Moden im Film begründet, welcher am höchsten in der Mitte der Schicht bei der TM1 Mode ist, wohingegen die höheren Moden zunehmend höhere Feldintensitäten an beiden Grenzflächen des Hydrogelfilms mit dem Substrat bzw. der Wasserphase aufweisen.^[65]

6.1.3 Einfluss von Inhomogenitäten auf die SPR/OWS-Messungen

Um das Quellverhalten der Hydrogele zu untersuchen, wurden SPR/OWS-Messungen an dünnen Gelschichten (ca. 1 μm in trockenem Zustand) durchgeführt. Da allerdings bei den Messungen an dem salzhaltigen Hydrogel von Terpolymer **P4S**, wie nachfolgend beschrieben, deutliche Abweichungen der Messergebnisse vom Kastenmodell auftraten, waren weitere Versuche um die Ursache dafür zu ergründen notwendig. Hierzu wurde neben der sehr polaren Hydrogelschicht von Terpolymer **P4S** auch eine Schicht des etwas weniger polaren, säurehaltigen (ansonsten chemisch identischen) Terpolymers **P4A** hergestellt, um den Effekt von Salz- bzw. Säuregruppen auf die Eigenschaften des Hydrogelfilms zu untersuchen. Um das Terpolymer **P4A** zu erhalten, wurde das Terpolymer **P4S** vor dem Aufschleudern und dem Vernetzen des Films zunächst mit einem Kationenaustauscher behandelt, um das Salz in die freie Säure zu überführen. Damit unterschieden sich die beiden Polymere lediglich in der Salz- bzw. Säurefunktion.

Die Daten des Winkelspektrums der SPR/OWS-Messungen beider Polymere sind in Abbildung 6.4 gezeigt.

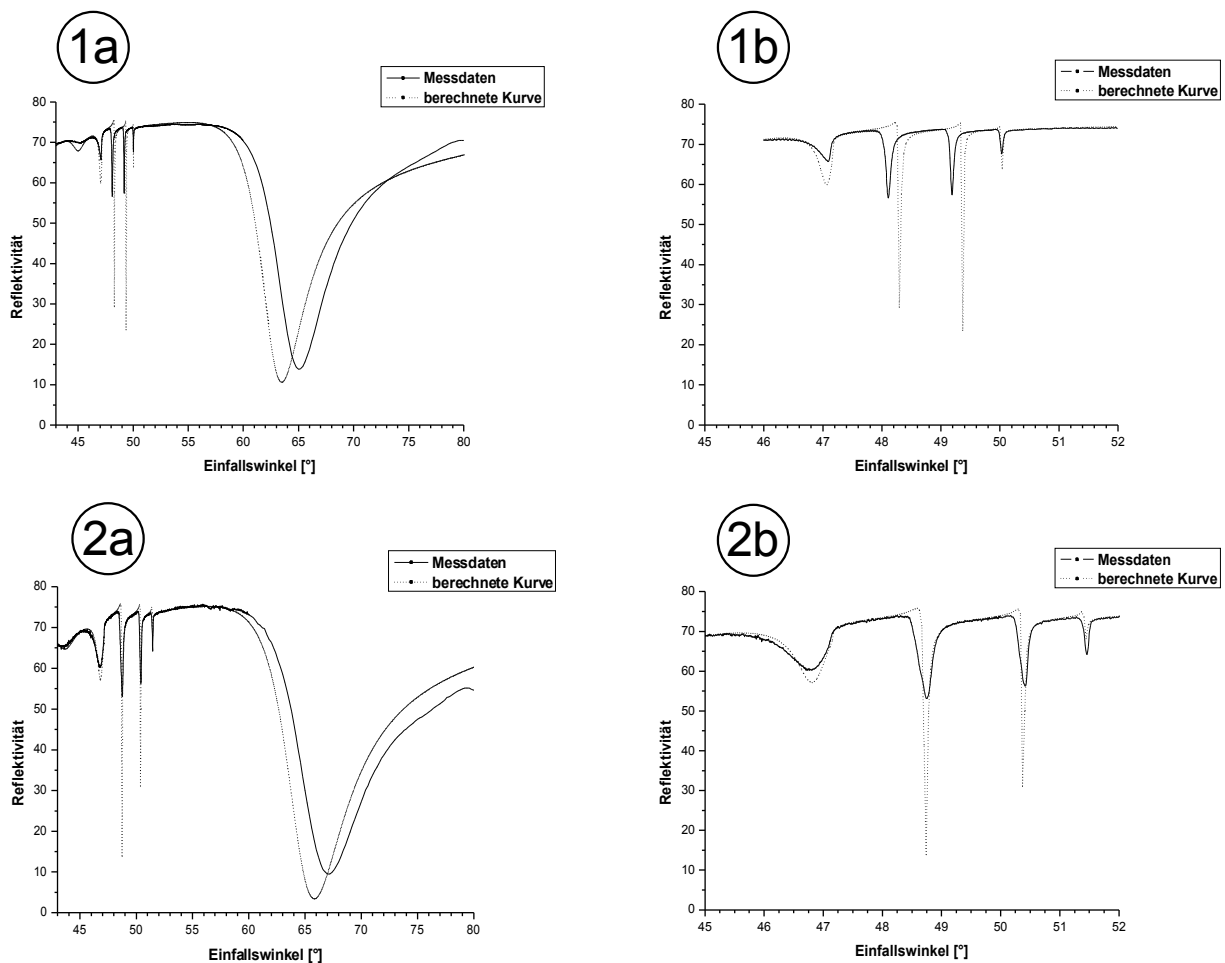


Abbildung 6.4: SPR/OWS-Messungen der Hydrogelschichten von **P4S** mit Natriummethacrylat (1a) und **P4A** mit Methacrylsäure (2a) bei 26°C. Vergrößerungen der Bereiche der Wellenleitermoden sind in (1b) und (2b) dargestellt.

Im Falle des Terpolymers **P4S** (Abbildung 6.4: 1a, 1b) zeigen die Spektren klare Abweichungen der gemessenen Wellenleitermoden bei $48,1^\circ$ und $49,2^\circ$, verglichen mit der entsprechenden simulierten Kurve. Es scheint, dass das simple Kastenmodell, welches einen homogenen Brechungsindex in der kompletten Hydrogelschicht voraussetzt, und auf welchem die Berechnung der simulierten Kurve basiert, nicht brauchbar zur Beschreibung dieser Probe ist. Im Gegensatz dazu zeigt die Messung des Polymer **P4A**, welches die freien Säuregruppen enthält, dass die simulierte Kurve der Wellenleitermoden viel besser mit der gemessenen Kurve übereinstimmt. Dabei kommt es in erster Linie auf die Übereinstimmung der Anregungswinkel an. Die erkennbare Abweichung des Oberflächenplasmons von der simulierten Kurve weist auf einen Unterschied zwischen dem Brechungsindex nahe der Substrat-Hydrogel-Grenzfläche und dem mittleren

Brechungsindex der gesamten Hydrogelschicht hin. Dies liegt darin begründet, dass das Oberflächenplasmon nur sensitiv nahe der Goldoberfläche ist, wo sich der Haftvermittler befindet, der einen dichten Bereich aus Vernetzungen mit dem Hydrogel bildet. Diese massive Vernetzung und hohe Konzentration an Benzophenoneinheiten führt zu einem höheren Brechungsindex nahe der Substratoberfläche, verglichen mit dem für das restliche Hydrogel.

Die gut passende, simulierte Kurve der Wellenleitermoden deutet an, dass die Struktur des Polymerfilms von **P4A** (Abbildung 6.4: 2a, 2b) viel stärker dem angenommenen Kastenmodell entspricht, als die Struktur des Polymerfilms von **P4S**. Es scheint, dass die Anwesenheit der ionischen Gruppen des Natriummethacrylats eine Inhomogenität, wahrscheinlich einen Dichtegradienten, senkrecht zur Substratoberfläche erzeugt. Es ist möglich, dass die polaren Gruppen wegen der ungünstigen Wechselwirkungen mit den hydrophoben Gruppen des Terpolymerrückgrats und der unpolaren Haftvermittlerschicht an der Substratoberfläche zu Phasensegregation führen. Eine genauere Betrachtung der inhomogenen Struktur von **P4S** und ein Vergleich mit der homogenen Struktur von **P4A** wird in Kapitel 6.1.4 gezeigt.

Das temperaturabhängige Verhalten der Terpolymere **P4S** und **P4A** ist auch mittels SPR/OWS untersucht worden. Um nicht das (für **P4S** ungünstige) Kastenmodell verwenden zu müssen, werden die Rohdaten, die Koppelwinkel der TM1-Wellenleitermoden in Abhängigkeit von der Temperatur, für die Polymere **P4S** und **P4A** in Abbildung 6.5 (a) gezeigt. Die Rohdaten benötigen kein Modell zur Darstellung.

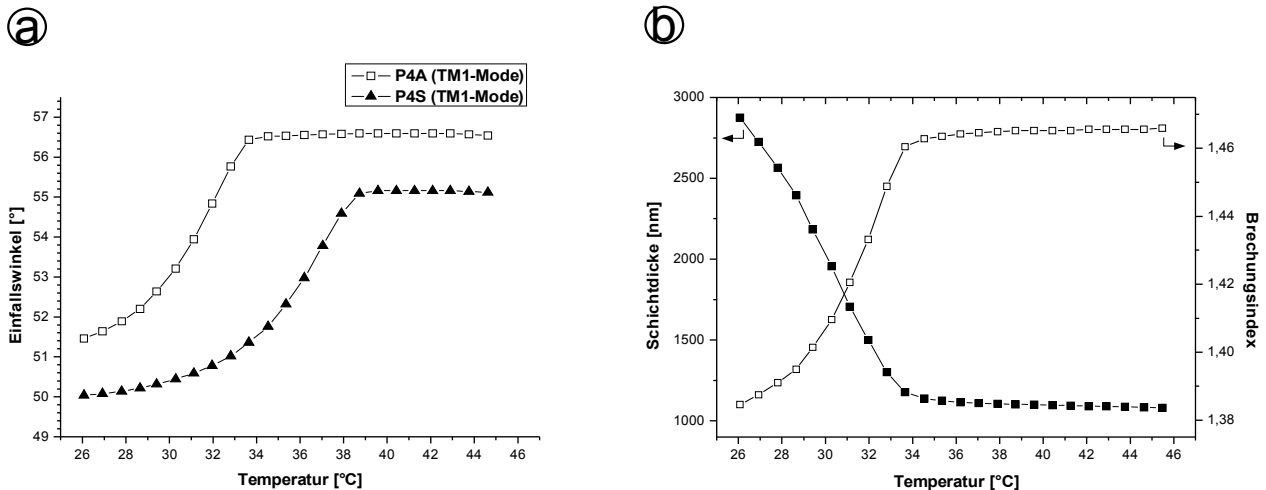


Abbildung 6.5: (a) Koppelwinkel der TM1-Wellenleitermoden der OWS-Messungen von **P4S** und **P4A**.
 (b) Temperaturabhängige Quellung von **P4A** mit Schichtdicken- und Brechungsindexänderung (Kastenmodell).

Die erwarteten Volumenphasenübergänge sind bei den TM1-Moden der beiden Proben klar erkennbar. Die Übergangstemperaturen der Phasenübergänge sind durch die Wendepunkte der Kurven (zweite Ableitung gleich Null) gegeben. Diese beiden, beinahe parallel verschobenen Kurven, zeigen eine Temperaturdifferenz von 5°C. Für das Polysalz **P4S** liegt die Übergangstemperatur bei 37°C, wohingegen die Polysäure **P4A** eine deutliche Veränderung der Übergangstemperatur aufweist, welche auf 32°C gefallen ist. Diese Beobachtungen deuten stark darauf hin, dass die Anwesenheit von polaren, ionischen Gruppen zu einem stärker hydrophilen Hydrogel führt, welches eine höhere Übergangstemperatur, verglichen mit der Säureform des ansonsten identischen Polymers, besitzt.

Dass die Koppelwinkel der TM1-Moden ebenso für die Bestimmung der Übergangstemperatur des Volumenphasenübergangs genutzt werden können wie eine Auswertung mittels Kastenmodell, zeigt der Vergleich der ermittelten Werte beider Methoden. Die Anwendung des Kastenmodells auf die durch SPR/OWS erhaltenen Daten für **P4A** (Abbildung 6.5 (b)) zeigt, dass die Temperaturabhängigkeit des Brechungsindex mit der Temperaturabhängigkeit der TM1-Mode von **P4A** identisch ist (Abbildung 6.5 (a)). Beide Kurven zeigen den gleichen Verlauf und beide ergeben eine Übergangstemperatur von 32°C. Die Wendepunkte beider Kurven sind identisch.

6.1.4 Beschreibung des Brechungsindexgradientenprofils mittels WKB-Näherung

Um die Abweichung der gemessenen Wellenleitermoden des Hydrogels von Terpolymer **P4S** von der theoretischen Kurve (Abbildung 6.4) genauer zu untersuchen, wurde die Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung (WKB) verwendet. Durch Anwendung dieser Methode auf die Messdaten der Hydrogelfilme konnte herausgefunden werden, dass die **P4S**-Schicht einen deutlichen Brechungsindexgradienten besitzt. Dies ist in Abbildung 6.6 gezeigt.

Die vorliegenden Berechnungen des Brechungsindexgradientenprofils wurden von Bernhard Menges durch Anwendung der WKB-Näherung auf die Messdaten der SPR/OWS-Messungen von Hydrogel **P4S** und **P4A** durchgeführt.

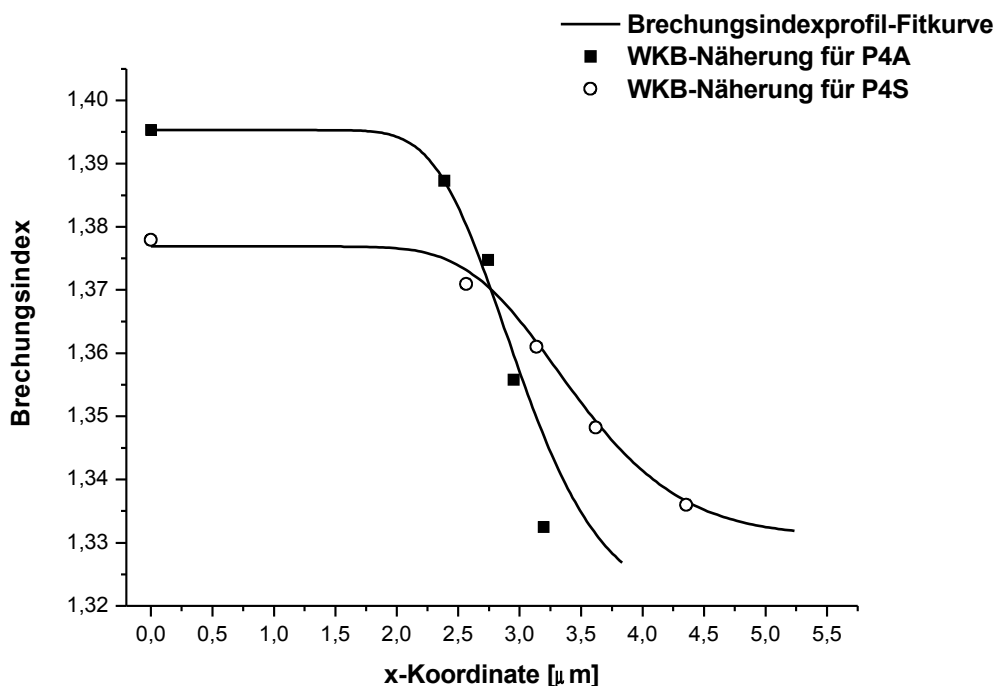


Abbildung 6.6: Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherungen (WKB) zur Darstellung der Brechungsindexprofile der Hydrogelschichten von **P4S** und **P4A** bei 26°C.

Der Brechungsindex nimmt bei **P4S** mit zunehmender Entfernung von der Substrat-

Hydrogel-Grenzfläche zur Wasserphase hin kontinuierlich ab. Das Profil der **P4A**-Schicht hingegen ähnelt viel mehr einem Kastenmodell mit einem homogenen Brechungsindex im gesamten Hydrogelfilm. Der Brechungsindex nimmt vom Substrat bis zu einer Entfernung von 2,5 μm nur schwach ab und fällt dann rapide bis auf den Wert von Wasser.

Es fällt auf, dass das Profil des Hydrogels **P4S** verglichen mit **P4A** nicht nur weiter in die Wasserphase reicht ($x > 4 \mu\text{m}$), sondern auch einen niedrigeren Brechungsindex nahe der Goldoberfläche ($x = 0 \mu\text{m}$) aufweist. Dies deutet auf den höheren Wasseranteil und die stärkere Quellung des stärker hydrophilen, salzhaltigen Hydrogels **P4S** hin.

Diese detaillierte Beschreibung des Brechungsindexprofils durch die WKB-Näherung sowie das Zusammenpassen der berechneten Brechungsindizes an der Substrat-Hydrogel-Grenzfläche und der durch das Oberflächenplasmon bestimmten Brechungsindizes, zeigen, dass die WKB-Näherung ein sehr gutes Modell zur Analyse von inhomogenen Schichten mit vertikalen Brechungsindexgradienten ist.

6.1.5 Quellverhalten des homogenen Hydrogels von Polymer **P8A**

Da das Terpolymer mit Säurefunktionen **P4A**, welches durch Behandlung des salzhaltigen Terpolymers **P4S** mit einem Kationenaustauscher hergestellt wurde, gut definierte Hydrogelschichten mit einem homogenen Brechungsindex im gesamten Film bildet, wurde diese Art von Polymer direkt durch Copolymerisation von Methacrylsäure, N-Isopropylacrylamid und 4-Methacryloyloxybenzophenon hergestellt (**P8A**). Dies verkürzte die Synthese um den Schritt des Kationenaustauschs.

Das temperaturabhängige Verhalten dieses Polymers ist sowohl mit p-polarisiertem wie mit s-polarisiertem Licht gemessen worden, um die Zustandsänderung des Hydrogels auf Anisotropie zu untersuchen. Dies ist in Abbildung 6.7 gezeigt. Die Messungen wurden im thermischen Gleichgewicht durchgeführt, mit jeweils einer Unterbrechung von 15 Minuten zwischen zwei Messungen, damit sich das thermische Gleichgewicht einstellen konnte.

Man erkennt einen ähnlichen Verlauf beider Kurven, allerdings mit einer Abweichung im

Bereich des Volumenphasenübergangs. Diese Abweichung ist möglicherweise durch temporäre Anisotropie erklärbar, welche durch inhomogenen Kollaps des Hydrogels hervorgerufen wird, wenn nicht alle Bereiche des Gels gleichzeitig kollabieren, bzw. durch die 2-dimensionale Filmfixierung auf der Oberfläche. Nach beendetem Kollaps liegt jedoch wieder ein homogener, isotroper Film vor, so dass für beide Polarisierungen die gleichen Messdaten erhalten werden.

Berechnet man die Übergangstemperatur des Volumenphasenübergangs für beide Polarisierungen, so ergibt sich ein Wert von 38°C für p-polarisiertes Licht und ein Wert von 36°C für s-polarisiertes Licht. Diese Differenz ist ebenfalls durch die Anisotropie bedingt.

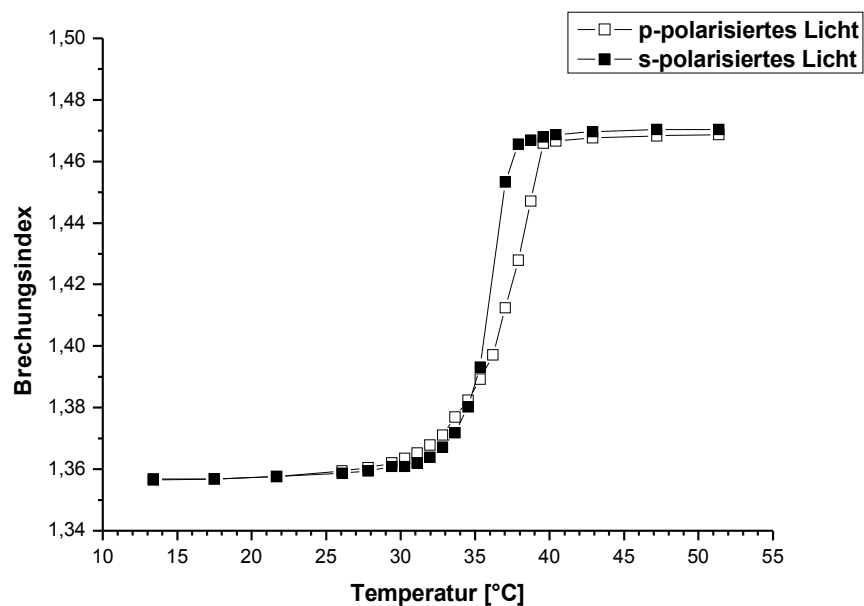


Abbildung 6.7: Temperaturabhängiges Quellverhalten des Polymers **P8A**, gemessen mit p- und s-polarisiertem Licht.

Interessanterweise hat das Terpolymer **P4A** aus der Kationenaustauschreaktion laut NMR einen Methacrylsäureanteil von 16 % und zeigt beim Erhitzen einen Volumenphasenübergang bei 32°C , wohingegen das Terpolymer **P8A**, welches durch direkte Copolymerisation mit Methacrylsäure hergestellt wurde und laut NMR nur einen Methacrylsäureanteil von 8 % besitzt, eine Übergangstemperatur von 36°C bzw. 38°C aufweist. Das entgegengesetzte Verhalten wäre allerdings zu erwarten, da **P4A** eigentlich

stärker hydrophil ist und daher die höhere Übergangstemperatur zeigen sollte. Der Quellungsgrad liegt für **P4A** bei etwa 2,7 (bei 26°C) und für **P8A** bei 3,5 (bei 26°C). Damit quillt **P8A** auch etwas stärker. Da die Molekulargewichte bei beiden Polymeren etwa gleich sind und sich nur die Polydispersitäten unterscheiden, könnten möglich Gründe für das unerwartete Verhalten Unterschiede in der Sequenz der Repetiereinheiten sein, was zu lokalen Inhomogenitäten führen könnte, oder aber Unterschiede in der gesamten Filmmorphologie (siehe auch die AFM-Untersuchungen in Kapitel 6.2).

Allerdings ist ein direkter Vergleich nur bedingt möglich, da sich die Synthesebedingungen beider Polymere durchaus unterschieden. Die Monomerkonzentration lag für **P4A** bei 97:2:1 (NIPAAm:SMA:MABP) und für **P8A** bei 94:5:1 (NIPAAm:MAA:MABP). Es wurden also nicht nur unterschiedliche Monomerkonzentrationen verwendet, sondern auch unterschiedliche Monomere, da **P4A** aus **P4S** durch Kationenaustausch hergestellt wurde. Weiterhin wurden unterschiedliche Lösungsmittel, Initiatorkonzentration und Reaktionsdauer verwendet (Details siehe Kapitel 3.2).

Ein Vergleich mit der durch DSC-Messung ermittelten LCST von 33°C für Polymer **P8A** zeigt ebenfalls eine Differenz von 3°C bzw. 5°C zu der durch SPR/OWS ermittelten Übergangstemperatur von 36°C bzw. 38°C. Allerdings sind dies zwei grundsätzlich unterschiedliche Messmethoden, durch welche die Übergangstemperatur auf vollkommen unterschiedlichen Wegen bestimmt wird. Bei den DSC-Messungen geschieht dies thermisch und bei den SPR/OWS-Messungen optisch. Weiterhin wird bei den DSC-Messungen das unvernetzte Polymer in Substanz vermessen, während bei den SPR/OWS-Messungen sich das Polymer als dünner, vernetzter Film auf einer Oberfläche angebunden befindet (2-dimensionale Fixierung). Daher ist eine leichte Abweichung der Werte durchaus möglich.

Da potentielle Anwendungen für schaltbare Hydrogele in biologischen Umgebungen den Einsatz von Pufferlösungen mit Salzen erfordern und da ein starker osmotischer Effekt und elektrostatische Abschirmung durch Gegenionen in Salzlösungen bekannt sind, wurde das Quellverhalten des Hydrogels **P8A** in Gegenwart von Natriumchlorid in verschiedenen Konzentrationen bei 14 °C untersucht (Abbildung 6.8). Dabei wurde die

Brechungsindexänderung der Lösung durch erhöhte Salzkonzentration einbezogen.

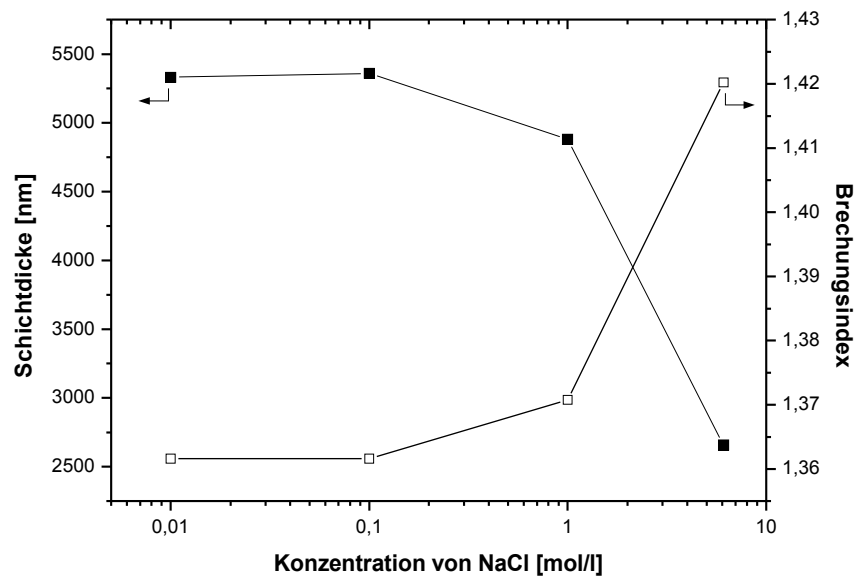


Abbildung 6.8: NaCl-abhängiges Quellverhalten des Terpolymers P8A.

Es wurde beobachtet, dass die Schichtdicke von 5,7 μm bei Quellung in reinem Wasser bereits bei einer niedrigen Salzkonzentration (0,01 mol/l) auf 5,3 μm abnimmt. Dies wird auffälliger bei einer Konzentration von 1 mol/l, mit einer Schichtdicke von 4,9 μm , und erreicht das Minimum bei der 6,1 mol/l gesättigten Natriumchloridlösung. In diesem Medium besitzt das gequollene Hydrogel nur eine Schichtdicke von 2,6 μm , was immerhin noch der Hälfte der maximalen Schichtdicke in reinem Wasser entspricht. Der Ausschluss von Wasser aus der Hydrogelschicht bei höheren Salzkonzentrationen ist hauptsächlich durch osmotische Effekte zu erklären. Da die Salzkonzentration in der Lösung höher ist als im Hydrogel, diffundiert Wasser aus dem Gel heraus um dem Konzentrationsgefälle entgegen zu wirken. Bei niedrigeren Salzkonzentrationen findet hingegen eine Abschirmung der Ladungen der Carbonsäurefunktionen durch Gegenionen statt. Dies führt zu weniger starken Abstoßungskräften zwischen den negativ geladenen Carbonsäurefunktionen und damit zu einer verminderten Quellung des Hydrogels.

6.1.6 Quellverhalten von Hydrogelen mit und ohne Säurefunktionen

Um speziell den Effekt der freien Säurefunktionen auf das Quellverhalten zu untersuchen, wurde das temperaturabhängige Verhalten zweier Arten von Polymeren verglichen. Zum einen das Terpolymer **P8A** mit Methacrylsäure und zum anderen das Copolymer **P9** aus N-Isopropylacrylamid und 4-Methacryloyloxybenzophenon, ohne Säuregruppen. Es wurden jeweils die Schichtdicke und der Brechungsindex in verschiedenen Zuständen der Hydrogele gemessen, um strukturelle Veränderungen durch Quellung und Kollaps zu untersuchen. Dazu wurde das Gel zuerst in trockenem Zustand vermessen, anschließend in Wasser gequollen, dann kollabiert und wieder getrocknet. Danach wurde es noch einmal gequollen. Die Ergebnisse der SPR/OWS-Messungen sind in Tabelle 6.1 gezeigt.

Es fällt auf, dass der Quellungsgrad (vom kollabierten zum gequollenen Gel) von **P8A** mit 7,3 im Vergleich zu dem von **P9** mit 6,1 nur leicht, um den Faktor 1,2, erhöht ist. Dieser Effekt dürfte durch die erhöhte Hydrophilie der Methacrylsäure im Polymerrückgrat hervorgerufen worden sein, welche eine stärkere Tendenz zur Wasseraufnahme bewirkt. Weiterhin ist interessant, dass nach dem ersten Quellen, Kollabieren und Trocknen der Hydrogele bei **P8A** nur ein geringer Verlust an Substanz (-10 nm Schichtdicke; -1,4%) erkennbar ist, was bei **P9** hingegen aber sehr ausgeprägt ist (-135 nm Schichtdicke; -22%). Dadurch nimmt die Schichtdicke von 607 nm (trocken, vor dem ersten Quellen) auf 472 nm (trocken, nach dem ersten Quellen) ab. Dieser Verlust findet durch Herauslösen von unvernetzten Polymerketten aus dem Hydrogelnetzwerk statt (siehe dazu Kapitel 6.2). Weiterhin ist bemerkenswert, dass, nach dem Quellen, Kollabieren und Trocknen, bei der zweiten Quellung wieder die selbe Schichtdicke und der selbe Brechungsindex wie bei der ersten Quellung erreicht werden. Dies deutet bereits an, dass irreversible Strukturveränderungen in der Hydrogelschicht nur nach der ersten Quellung erfolgen, dann aber die folgenden Quellungen vollkommen reversibel verlaufen. Auch bei anderen Proben konnte dies vielfach beobachtet werden. In Abbildung 6.9 ist das reversible temperaturabhängige Verhalten am Beispiel von Copolymer **P9** dargestellt.

Es fällt eine leichte Abweichung beider Kurven im Bereich des Volumenphasenübergangs auf. Diese Abweichung kann damit erklärt werden, dass Quell- und Kollabierprozess zwei unterschiedliche Prozesse sind, die möglicherweise über unterschiedliche Kinetiken

verfügen. Weiterhin ist ein "Gedächtnis"-Effekt möglich. Die thermische Vorgeschichte des Polymers beeinflusst dabei die aktuellen Eigenschaften des Polymers. Sowohl im Bereich des vollständig gequollenen Zustands wie im vollständig kollabierten Zustand zeigen die beiden Kurven allerdings die gleichen Werte und somit ein reversibles Quellverhalten des Hydrogels, welches sehr gut reproduzierbar ist.

Berechnet man die Übergangstemperatur des Volumenphasenübergangs für die Quellung und den Kollaps, so ergibt sich ein Wert von 32°C für die Abkühlkurve (Abbildung 6.9, linke Kurve) und ein Wert von 34°C für die Aufheizkurve (Abbildung 6.9, rechte Kurve). Ein Vergleich mit der durch DSC-Messung ermittelten LCST von 32°C zeigt eine geringe Differenz von 2°C für den Wert der Aufheizkurve. Ähnlich wie bei den durch SPR/OWS ermittelten Übergangstemperaturen von Terpolymer **P8A**, liegt auch bei Copolymer **P9** eine ermittelte Übergangstemperatur leicht über dem durch DSC-Messungen ermittelten Wert. Allerdings sind dies, wie zuvor erwähnt, zwei grundsätzlich unterschiedliche Messmethoden, durch welche die Übergangstemperatur auf vollkommen unterschiedlichen Wegen bestimmt wird. Bei den DSC-Messungen geschieht dies thermisch und bei den SPR/OWS-Messungen optisch. Weiterhin wird bei den DSC-Messungen das unvernetzte Polymer in Substanz vermessen, während bei den SPR/OWS-Messungen sich das Polymer als dünner, vernetzter Film auf einer Oberfläche angebunden befindet (2-dimensionale Fixierung). Daher ist eine leichte Abweichung der Werte durchaus möglich.

Die Schaltzeiten der Hydrogele liegen sowohl bei **P8A** als auch bei **P9** unterhalb von fünf Minuten für den kompletten Quell- bzw. Kollabierprozess. Dieser Wert ist ein oberer Grenzwert, welcher durch die für eine komplette Messung des Winkelspektrums benötigte Zeit bedingt ist. Tatsächlich ist aus Experimenten mit dünnen Kapillaren bekannt, dass die Schaltzeit in der Größenordnung von wenigen Sekunden, bzw. unter Sekunden, liegt. Für die Probe **P9** ist allerdings, wegen der angenommenen Bildung einer diffusionshemmenden Hautbarriere^[12,23], eine deutlich längere Schaltzeit erwartet worden. Eine Erklärung für die ähnlichen Schaltzeiten liefern die AFM-Untersuchungen beider Hydrogelschichten (siehe Kapitel 6.2).

Tabelle 6.1: Schichtdicken, Brechungsindizes und Quellungsgrade der Hydrogelschichten von **P8A** und **P9** in trockenem Zustand und in gequollenem Zustand. Vor bzw. während des ersten Kontakts mit Wasser (1) und nach dem Trocknen der zuvor gequollenen Schichten bzw. während des 2. Kontakts mit Wasser (2).

		P8A (1)	P8A (2)	P9 (1)	P9 (2)
Trocken	Schichtdicke	725 nm	715 nm	607 nm	472 nm
	Brechungsindex	1.499	1.499	1.498	1.498
Gequollen	Schichtdicke	6536 nm	6536 nm	3858 nm	3858 nm
	Brechungsindex	1.357	1.357	1.359	1.359
Kollabiert	Schichtdicke	892 nm		629 nm	
	Brechungsindex	1.469		1.471	
Quellungsgrad (trocken -> gequollen)		9.0	9.1	6.4	8.2
Quellungsgrad (kollabiert -> gequollen)		7.3		6.1	

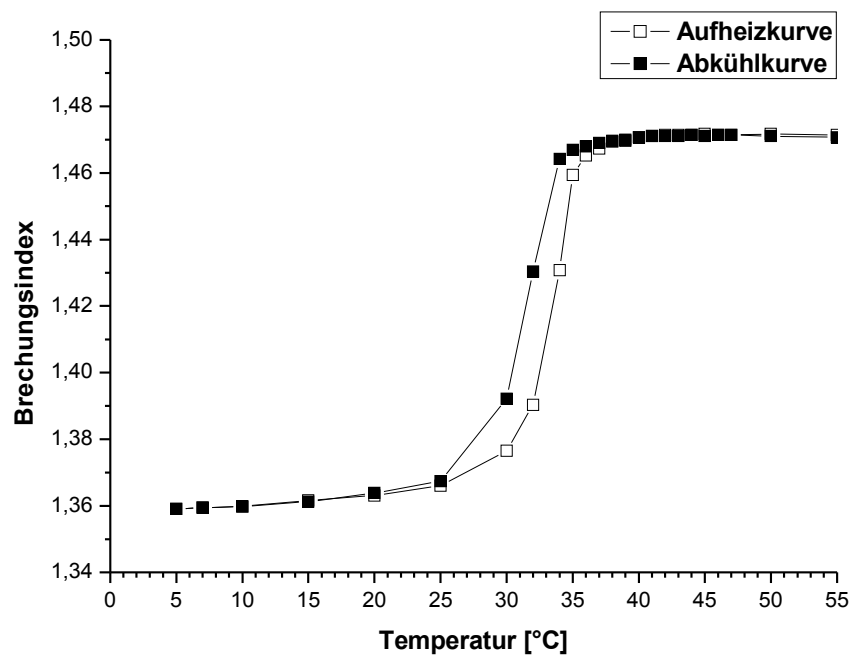


Abbildung 6.9: Reversibles, temperaturabhängiges Quellverhalten von Copolymer **P9**.

6.2 AFM-Untersuchungen von Hydrogelschichten

Um das Quellverhalten aus morphologischer Sicht zu verstehen, wurden AFM-Messungen an getrockneten Hydrogelschichten von **P8A** und **P9** durchgeführt. Der Film des Hydrogels **P8A** zeigte im AFM eine glatte Oberfläche nach dem Aufschleudern des Films (Abbildung 6.10 (a)), wohingegen eine poröse Oberfläche nach dem Quellen, Kollabieren und Trocknen gefunden wurde (Abbildung 6.10 (b)). Diese Poren haben Durchmesser von 40-70 nm und Tiefen von 2-10 nm. Im Gegensatz dazu zeigt der säurefreie Hydrogelfilm von **P9** bereits nach dem Aufschleudern des Films Poren. Die Porendurchmesser liegen hier bei 40-100 nm und die Porentiefen bei 3-12 nm (Abbildung 6.10 (c)). Nach dem Quellen, Kollabieren und Trocknen hat die Größe der meisten Poren drastisch auf Durchmesser von 90-650 nm und Tiefen von 5-320 nm (Abbildung 6.10 (d)) zugenommen.

Die Porenbildung des Films des säurehaltigen Polymers **P8A** bei Kontakt mit Wasser dürfte durch teilweises Herauslösen von unvernetzten Polymerketten geschehen sein. Dies würde auch die leicht verringerte Schichtdicke nach dem Quellen, Kollabieren und Trocknen (**P8A** (2) in Tabelle 6.1) erklären. Des Weiteren könnte das Polymernetzwerk teilweise restrukturiert sein und die stärker hydrophilen Einheiten segregieren. Dadurch könnten die Poren als Kanäle zur verbesserten Wasserdiffusion fungieren.

In der Schicht des säurefreien Polymers **P9** sind die Poren bereits nach dem Aufschleudern in trockenem Zustand vorhanden. Dies könnte durch Segregation der sehr unpolaren Benzophenoneinheiten oder teilweises Entnetzen des Polymerfilms während des Aufschleuderns und Trocknens geschehen sein. Nach dem Kontakt mit Wasser hat die Porengröße drastisch zugenommen. Offensichtlich sind große Teile unvernetzten Polymers beim Quellen herausgelöst worden, wie die deutliche Abnahme der Schichtdicke nach dem Trocknen zeigt (**P9** (2) in Tabelle 6.1). Die Filmdicke der trockenen Hydrogelschicht von **P9** nach dem Aufschleudern lag bei 607 nm, wohingegen die Dicke nach einmaligem Quellen, Kollabieren und Trocknen nur noch bei 472 nm lag. Offensichtlich sind etwa 22% des Hydrogelmaterials bei diesem ersten Quellen aus dem Film herausgelöst worden und so die großen Poren entstanden. Anscheinend verhindern diese Poren die Bildung einer dichten Hautbarriere^[23], da die Schaltzeiten von Copolymer **P9** ähnlich sind wie die des Terpolymers **P8A** mit Methacrylsäure. Daher scheint das Wasser durch die Poren schnell

aus dem kollabierenden Hydrogel abgegeben werden zu können.

Die Anwesenheit polarer Gruppen, wie der Methacrylsäure, erhöht zwar den Quellungsgrad leicht, doch die gegebene Morphologie des säurefreien **P9** Films mit seinen Poren erlaubt offensichtlich eine ebenso effiziente Diffusion von Wasser in der Hydrogelschicht und einen vergleichbar schnellen Quell- und Kollabierprozess.

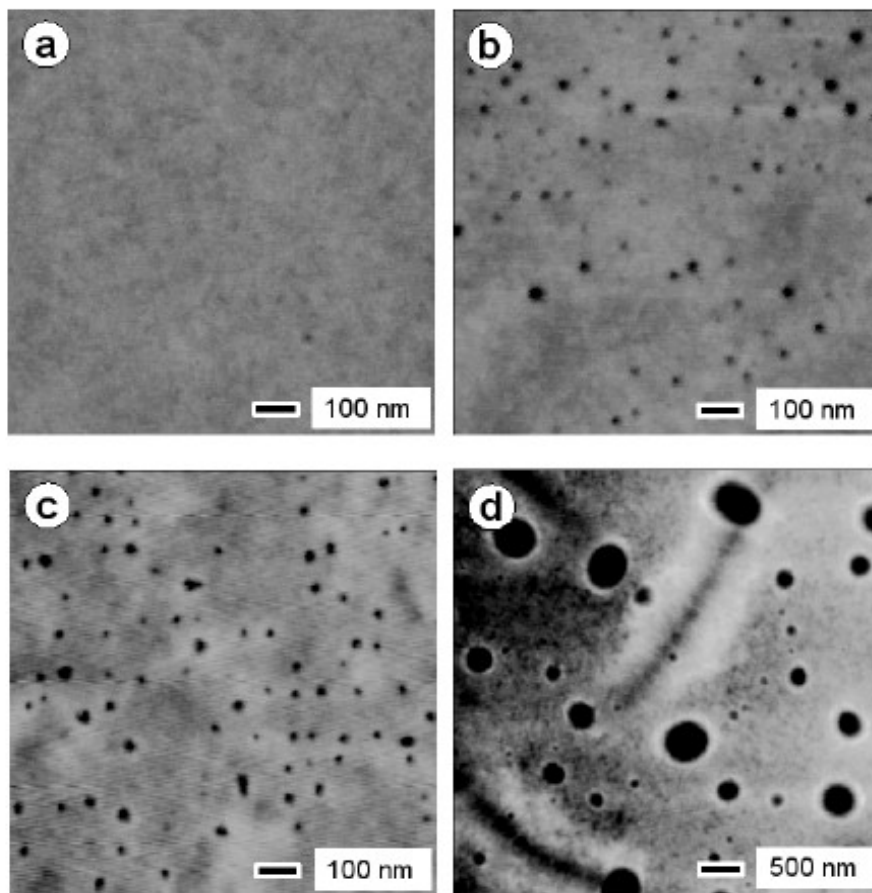


Abbildung 6.10: AFM-Bilder der Hydrogelfilme von **P8A** wie hergestellt (a) und nach Quellung, Kollabieren und Trocknen (b) und von **P9** wie hergestellt (c) und nach Quellung, Kollabieren und Trocknen (d, man beachte den 5-fach größeren Maßstab).

6.3 Oberflächenplasmonen-Fluoreszenzspektroskopie (SPFS) und Optische Wellenleiter-Fluoreszenzspektroskopie (OWFS)

Da die Hydrogele als Sensoren, welche mit Fluoreszenztechniken wie z.B. SPFS/OWFS ausgelesen werden können, Verwendung finden sollen, wurde die generelle Charakterisierbarkeit der Hydrogelfilme mit SPFS/OWFS untersucht. Weiterhin sollte die Diffusion eines Fluoreszenzfarbstoffs in das Hydrogel und die Anbindung an das Polymerrückgrat gezeigt werden. Beides sind kritische Schritte, denn einerseits muss das Fluorophor ausreichend klein sein, um durch die Maschen des Netzwerks zu passen, und andererseits muss eine genügend große Triebkraft existieren, um den Fluoreszenzfarbstoff in das Hydrogel diffundieren zu lassen. Wenn dies geschehen ist, muss immer noch die Anbindung an das Polymernetzwerk stattfinden, um eine Diffusion des Fluorophors aus dem Gel heraus zu unterbinden.

Weiterhin sollte auch die Fluoreszenzverstärkung im Hydrogel durch die Wellenleitermoden und das Oberflächenplasmon, sowohl in gequollenem wie in kollabiertem Zustand, für s- und p-Polarisation untersucht werden.

Aufgrund der sehr scharfen Wellenleitermoden, verglichen mit dem breiten Oberflächenplasmon, sind jegliche Kinetikmessungen durch Minimumsverfolgung einer Wellenleitermode, wegen apparativer Limitierungen, sehr schwierig zu realisieren. Außerdem findet bei Durchfluss von Wasser durch die Messzelle eine Verschiebung der Moden im Spektrum um ca. $0,5^\circ$ statt, was bei der geringen Modenbreite von ca. $0,1^\circ$ sehr viel ist. Diese Verschiebung scheint ihre Ursache in der Scherung des Hydrogels durch den Wasserstrom zu haben.^[78] Eine mögliche Messmethode dürfte allerdings die Minimumsverfolgung des Oberflächenplasmons sein. Sobald man ein Fluoreszenzsignal in dem beobachteten Bereich detektiert, muss nämlich die Diffusion des Fluoreszenzfarbstoffs durch das Hydrogel bis auf wenige hundert Nanometer an die Goldoberfläche stattgefunden haben. Damit wäre bereits eine erfolgreiche Diffusion durch das Hydrogel nachgewiesen.

Außerdem kann nach jedem abgeschlossenen Schritt der Untersuchung eine Messung des gesamten Winkelspektrums durchgeführt werden, wodurch man Änderungen im Hydrogelfilm, bezogen auf Fluoreszenz, Schichtdicke und Brechungsindex, sehr leicht erkennen kann. Allerdings ist die Dauer einer Messung des gesamten Winkelspektrums von

30 Minuten etwas limitierend.

Die Messung des gesamten Winkelspektrums kann allerdings eine Vielzahl von Informationen ergeben. Durch den Bereich der Wellenleitermoden lassen sich die Fluoreszenz, Schichtdicke und Brechungsindex, gemittelt über den gesamten Hydrogelfilm, untersuchen, wohingegen der Bereich der Oberflächenplasmonenresonanz genau den Bereich nahe der Gold-Hydrogelgrenzfläche wiedergibt.

Es wurden zwei Experimente mit Hydrogelfilmen von Polymer **P11E** gemacht. Dieses Hydrogel besitzt Aktivesterfunktionen um Amine zu binden. Dafür wurde der aminfunktionalisierte Fluoreszenzfarbstoff Alexa Fluor 647 cadaverine, welcher bei Belichtung weniger schnell ausbleicht als viele andere Fluorophore (wie z.B. der Cy5 Fluoreszenzfarbstoff), in PBS-Pufferlösung bei pH 8 verwendet. Es wurden Lösungen der Konzentrationen 10 fM, 1 pM, 100 pM und 10 nM bei den Messungen verwendet.

Die Hydrogelfilme wurden wie im experimentellen Teil beschrieben hergestellt. Allerdings handelte es sich in diesem Fall bei dem Haftvermittler nicht um das BP-Thioacetat, sondern um das entsprechende BP-Thiol, welches aus 5 mM Ethanollösung über Nacht auf der aufgedampften Goldschicht immobilisiert wurde.

Bei dem ersten Experiment wurde das trockene Gel mit PBS-Pufferlösung gequollen und dann die Lösung des Fluoreszenzfarbstoffs hinzu gegeben. Der Farbstoff sollte in das Hydrogel hineindiffundieren und dort anbinden. Dann sollten überzählige Farbstoffmoleküle durch Spülen mit PBS-Pufferlösung heraus gewaschen werden und es sollte weiterhin ein Fluoreszenzsignal detektierbar sein.

Bei dem zweiten Experiment wurde das Gel nicht vor der Zugabe der Fluorophore gequollen, sondern direkt mit der Fluorophor-PBS-Lösung. Dies sollte zu einer verstärkten Aufnahme der Fluoreszenzfarbstoffe, durch "Aufsaugen" der Lösung, führen. Danach wurde das Hydrogel durch Temperaturerhöhung kollabiert, um die PBS-Lösung samt ungebundener Fluorophore abzugeben. Nach Entfernen der Lösung wurde die nächsthöher konzentrierte Fluoreszenzfarbstofflösung zugegeben und das Gel durch

Temperaturerniedrigung mit dieser wieder gequollen. Das direkte Quellen mit der zu untersuchenden Lösung sollte das Problem der unzureichenden Diffusion bei dem ersten Experiment vermindern bzw. umgehen.

Das genaue Vorgehen bei dem ersten Experiment war dabei wie folgt. Zunächst wurde von der Probe in trockenem Zustand mit s-polarisiertem und dann mit p-polarisiertem Licht ein vollständiges Winkelspektrum aufgenommen. Es wurden während des Experiments beide Polarisierungen verwendet, um mögliche Unterschiede in der Fluoreszenzverstärkung je nach Polarisation des Lichtes zu untersuchen. Dann wurde das Gel mit PBS-Pufferlösung gequollen und auf 15°C temperiert. Anschließend wurde wieder mit s-polarisiertem und mit p-polarisiertem Licht jeweils ein vollständiges Winkelspektrum aufgenommen, um das Hintergrundsignal der Messung zu bestimmen. Das gleiche wurde nochmals, bei 50°C zur Bestimmung des Hintergrundsignals in kollabiertem Zustand, durchgeführt. Nach wiederholtem Temperieren auf 15°C wurde nochmals mit s- und p-polarisiertem Licht jeweils ein vollständiges Winkelspektrum aufgenommen, um Veränderungen der Hydrogelschicht durch die erhöhte Temperatur und den Kollabierprozess auszuschließen. Dann wurde die Kinetikmessung mit p-polarisiertem Licht gestartet und einige Minuten lang das Hintergrundsignal bestimmt. Danach wurde die Lösung des Fluoreszenzfarbstoffs mit der niedrigsten Konzentration (10 fM) injiziert. Die Laserblende wurde bei der Messung alle 30 Sekunden für jeweils nur 5 Sekunden geöffnet, um ein Ausbleichen des Fluorophors zu verhindern. Nach der Injektion der Lösung wurde 30 Minuten lang gewartet um einen Anstieg der Fluoreszenz, welcher eine erfolgreiche Diffusion des Fluoreszenzfarbstoffs durch das Hydrogel bedeutet, zu beobachten. Dies geschah allerdings nicht. Nach 30 Minuten Warten wurde die Messzelle mit PBS-Pufferlösung gespült, wieder einige Minuten gewartet und dann eine Messung des gesamten Winkelspektrums, mit p-polarisiertem Licht, durchgeführt. Anschließend wurde wieder der Kinetikmodus gestartet und die nächsthöher konzentrierte Lösung im Kinetikmodus, mit anschließender Messung des vollständigen Winkelspektrums, vermessen. Dies wurde mit allen vier Konzentrationen durchgeführt. Bei der am höchsten konzentrierten Lösung (10 nM) wurde zudem eine Messung des vollständigen Winkelspektrums bei 50°C in kollabiertem Zustand mit s- und

p-polarisiertem Licht durchgeführt.

Es konnte kein Unterschied des Fluoreszenzsignals bei den Messungen vor der Zugabe des Farbstoffs, direkt nach der Zugabe des Farbstoffs, nach 30 Minuten Wartezeit (für die Diffusion) und nach dem Spülen mit PBS-Pufferlösung festgestellt werden. Die Zählrate entsprach ständig dem Hintergrundsignal mit 2500 Photonen/Sekunde im Bereich der Wellenleitermoden und 600 Photonen/Sekunde im restlichen Spektrum. Es scheint keine Diffusion des Fluoreszenzfarbstoffs in das Hydrogel stattgefunden zu haben. Lediglich bei der höchstkonzentrierten Lösung (10 nM) scheint ein wenig Fluoreszenzfarbstoff in das Hydrogel diffundiert zu sein. Hier steigt das Fluoreszenzsignal im Bereich der Wellenleitermoden, sowohl bei s- wie bei p-polarisiertem Licht, schwach an, auf eine Zählrate von 5000 Photonen/Sekunde.

Ein Effekt durch Ausbleichen des Farbstoffs kann ausgeschlossen werden. Bei zwei aufeinander folgenden Messungen des vollständigen Winkelspektrums mit der höchstkonzentrierten Farbstofflösung zeigte sich keine Abnahme des Fluoreszenzsignals. Sie blieb stabil bei einer Zählrate von 5000 Photonen/Sekunde.

Da bei dem ersten Experiment der Fluoreszenzfarbstoff anscheinend nicht in das gequollene Hydrogel diffundiert ist, wurde in dem zweiten Experiment eine etwas andere Strategie verwendet. Das trockene Gel sollte nun direkt mit der Farbstofflösung gequollen werden, damit die Farbstoffmoleküle zusammen mit dem Wasser bzw. der Pufferlösung von dem Gel "aufgesaugt" werden. Dann sollte die Lösung durch Kollabieren des Hydrogels bei 50°C wieder heraus gedrückt werden und anschließend die Lösung mit der nächsthöheren Konzentration durch erneutes Quellen bei 15°C wieder von dem Hydrogel aufgenommen werden. Die Veränderungen sollten dabei jeweils durch Messungen des vollständigen Winkelspektrums nach jedem Schritt beobachtet werden.

Die genaue Durchführung war wie folgt. Zunächst wurde von der Probe in trockenem Zustand mit s- und p-polarisiertem Licht jeweils eine Messung des vollständigen Winkelspektrums durchgeführt. Dann wurde die Lösung des Fluoreszenzfarbstoffs mit der

niedrigsten Konzentration (10 fM) injiziert. Es wurde 15 Minuten gewartet, um die Moleküle durch das Hydrogel diffundieren und anbinden zu lassen, dann wurde eine Messung des vollständigen Winkelspektrums mit p-polarisiertem Licht gemacht, mit PBS-Pufferlösung gespült und anschließend wieder eine Messung des vollständigen Winkelspektrums gemacht. Anschließend wurde auf 50°C temperiert, um das Gel zu kollabieren, und die Lösung aus der Messzelle entfernt. Dann wurde die Lösung mit der nächsthöheren Konzentration injiziert und die Probe wieder auf 15°C temperiert um das Gel mit der höher konzentrierten Lösung zu quellen. Es wurde wieder 15 Minuten gewartet um Diffusion zu erlauben, dann wurde das vollständige Winkelspektrum gemessen, mit PBS-Pufferlösung gespült und die Messung wiederholt. Danach wurde das Hydrogel wieder bei 50°C kollabiert, die Lösung entfernt und die Lösung der nächsthöheren Konzentration injiziert. Dies wurde mit allen vier Konzentrationen durchgeführt. Bei der höchstkonzentrierten Farbstofflösung (10 nM) wurde zudem eine Messung des vollständigen Winkelspektrums mit s- und p-polarisiertem Licht durchgeführt.

Es konnte beobachtet werden, dass beim ersten Quellen des trockenen Gels mit der 10 fM Lösung des Fluorophors die Zählrate im Bereich der Wellenleitermoden bei 7000 Photonen/Sekunde lag und bei den darauf folgenden Quellungen mit der 1 pM und der 100 pM Lösung lediglich bei 4000 Photonen/Sekunde. Damit scheint es, dass der erste Quellvorgang ein wenig effektiver in Bezug auf die Aufnahme des Fluoreszenzfarbstoffs war als die nachfolgenden. Dies scheint möglich, da ein trockenes Hydrogel eine größere Triebkraft zur Aufnahme von Wasser (und in dem Wasser gelöster Substanzen) besitzen dürfte, als ein kollabiertes Hydrogel. Die Zählrate fiel jedoch nach dem Spülen mit PBS-Puffer bei allen drei Messungen auf 3000-3700 Photonen/Sekunde ab. Erst bei der höchstkonzentrierten Lösung (10 nM) konnte eine etwas größere Zunahme der Zählrate auf 60.000 Photonen/Sekunde festgestellt werden. Dies ist allerdings auch kein hoher Wert, da eigentlich Werte von über einer Million Photonen/Sekunde erwartet werden können. Außerdem nahm die Zählrate nach dem Spülen mit PBS-Pufferlösung wieder auf 7000 Photonen/Sekunde ab.

Angesichts der Abnahme der Zählrate nach dem Spülen mit PBS-Pufferlösung bei allen vier Messungen scheint es, dass die Anbindung der Fluoreszenzfarbstoffe an das Polymerrückgrat nicht funktioniert hat. Dies könnte darauf hindeuten, dass die Amingruppen der Fluorophore durch Protonierung entweder nicht reaktiv genug waren, oder dass die Aktivestergruppen durch die lange Dauer des Experiments vom Wasser hydrolysiert wurden. Angesichts der sehr niedrigen Zählraten scheint es jedoch, dass kaum Fluorophore in das Hydrogel diffundiert sind, was selbstverständlich eine notwendige Voraussetzung für eine mögliche Anbindung darstellt. Nach der Injektion hätte man die Fluoreszenzfarbstoffe ansonsten bei der Messung des vollständigen Winkelspektrums, vor dem Spülen mit PBS-Pufferlösung, anhand einer hohen Zählrate finden müssen.

Es scheint, dass das hauptsächliche Problem zunächst in der Diffusion des Fluoreszenzfarbstoffs in das Hydrogel liegt. Die Triebkraft für die Diffusion ist anscheinend sehr gering. Möglicherweise hilft hier das Ersetzen des neutralen Alexa Fluor Farbstoffs durch einen mit positiver Ladung, wie z.B. das Rhodamin Rh6G, um die elektrostatische Wechselwirkung mit dem Polymerrückgrat (lokal negativ geladen) als Triebkraft für die Diffusion in das Hydrogel zu nutzen. Diese Wechselwirkungen können allerdings auch die Diffusion durch das Hydrogel behindern. Dies wird, unter anderem, im folgenden Kapitel über Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie an Hydrogelen erläutert.

6.4 Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS)

Die folgenden Erkenntnisse basieren auf den Untersuchungen von Maria Gianneli an dem von mir synthetisierten Terpolymer **P8A**. Die meisten der beschriebenen Ergebnisse sind detailliert in der Literatur zu finden.^[79] Hier soll jedoch nur ein kurzer Überblick gegeben werden.

Wichtig für die geplante Sensoranwendung des Hydrogels ist eine schnelle Diffusion der Analyten in und durch das Gel, hin zum Rezeptor, an dem der Analyt gebunden werden soll. Viele Faktoren sind dabei wichtig, wie z.B. die Maschenweite des Netzwerks, die Größe des Analyten und die Wechselwirkungen zwischen Analyt und Polymernetzwerk. Um die Vorgänge bei der Diffusion durch das Gel zu verstehen, die Diffusionsgeschwindigkeit zu messen und die Maschenweite des Netzwerks zu bestimmen, wurden FCS-Messungen an Terpolymer **P8A** durchgeführt.

Das Prinzip der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie ist detailliert in der Literatur beschrieben^[80] und soll hier nur in Kürze erläutert werden.

Bei der FCS-Technik wird in einer Probe ein bestimmtes Volumen betrachtet und mit Laserlicht bestrahlt. Dieses Volumen wird üblicherweise durch den Fokus eines Konfokalmikroskops erzeugt. Im vorliegenden Fall beträgt das Volumen etwa einen Femtoliter. Durch dieses Volumen diffundieren Fluorophore, welche durch das Laserlicht angeregt werden, mit einer bestimmten Geschwindigkeit. Die Fluktuation der Intensität des Fluoreszenzlichtes wird aufgenommen und durch zeitliche Autokorrelation (eine mathematische Prozedur) quantifiziert. Man erhält die sogenannte Autokorrelationsfunktion, welche mit verschiedenen Modellen interpretiert werden kann.

Den möglichen Wechselwirkungen des Analyten mit dem Polymernetzwerk kommt bei der Diffusion eine entscheidende Bedeutung zu. Sind die Wechselwirkungen beispielsweise anziehender Natur, so ist es möglich, dass der Analyt zwar in das Gel hinein diffundiert, dann aber durch die Wechselwirkungen an einer (unerwünschten) Stelle im Gel festgehalten wird. Andererseits könnten abstoßende Wechselwirkungen dazu führen, dass der Analyt gar nicht erst in das Gel hinein diffundiert. Unabhängig von den Wechselwirkungen kommt der

Größe des Analyten relativ zur Maschenweite des Netzwerks ebenfalls eine entscheidende Bedeutung zu. Sollte der hydrodynamische Radius des Analyten größer sein als die Maschenweite, so kann der Analyt ebenfalls nicht in bzw. durch das Gel diffundieren. Diese Faktoren müssen untersucht werden, bevor eine Anwendung als Sensor möglich ist.

Aus diesem Grund wurden sowohl Untersuchungen an physikalisch vernetzten Gelen (Polymerlösungen) unterschiedlicher Konzentrationen und chemisch vernetzten Gelen mit unterschiedlichen Vernetzungsdichten durchgeführt.

Die Diffusionsmessungen an den physikalisch vernetzten Gelen wurden mit Polymerlösungen zweier verschiedener Konzentrationen durchgeführt. Einerseits wurde ein verdünntes System, mit 2,5 % w/v Polymer in Ethanol, und ein konzentriertes System, mit 20 % w/v Polymer in Ethanol, untersucht. Beide Konzentrationen wurden sowohl mit einer kleinen Sonde und einer großen Sonde untersucht. Bei der kleinen Sonde handelte es sich um Rhodamin Rh6G mit einem hydrodynamischen Radius von ca. 0,8 nm. Die große Sonde war ein mit Rh6G funktionalisiertes **P8A** PNIPAAm-Terpolymer mit einem hydrodynamischen Radius von ca. 19 nm. Das selbe Polymer, aus dem auch die zu untersuchende Hydrogelmatrix bestand.

Bei den Messungen mit der kleinen Sonde (Rhodamin Rh6G) stellte sich heraus, dass sowohl bei niedriger wie auch bei hoher Konzentration der ethanolischen Polymerlösung eine freie Brown'sche Bewegung stattfindet. Der Analyt wird nicht durch Wechselwirkungen mit dem Polymer an der Diffusion gehindert. Die Diffusion ist allerdings bei höherer Konzentration wegen geringerer Maschenweite ξ des physikalischen Netzwerks um den Faktor 5 langsamer. Dies ist in Abbildung 6.11 gezeigt. Die normalisierte Fluoreszenzintensitätskorrelationsfunktion $C(t) = G(t) - 1$ (mit $G(t)$ als Autokorrelationsfunktion) in Abhängigkeit der Zeit t ist sowohl für die 2,5 %ige Lösung wie für die 20 %ige Lösung dargestellt. In der oberen rechten Ecke zeigt der eingefügte Graph das mittlere Verschiebungsquadrat der Sonde $\langle \Delta r^2(t) \rangle$ in Abhängigkeit der Zeit t . Die Steigung der Geraden mit dem Wert 1 bedeutet, dass freie Brown'sche Bewegung stattfindet und die Sonde nicht durch attraktive Wechselwirkungen an der Diffusion gehindert wird.

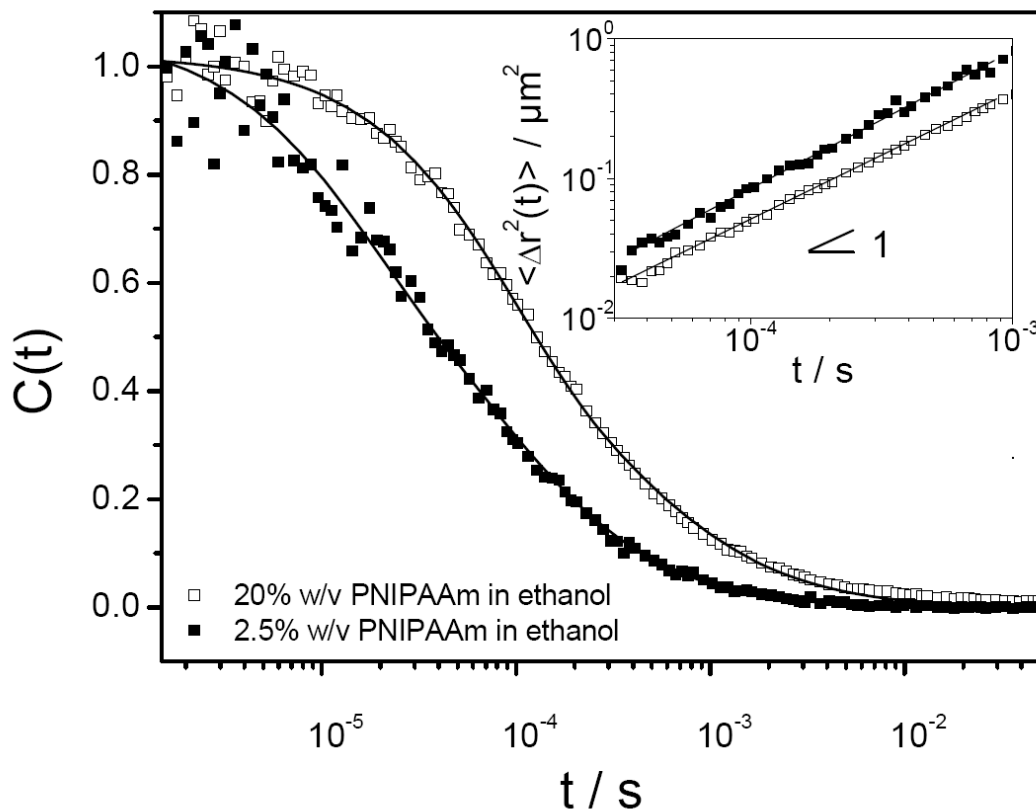


Abbildung 6.11: Normalisierte Fluoreszenzintensitätskorrelationsfunktion $C(t)$ für Rh6G in zwei ethanolischen Lösungen von Polymer P8A von unterschiedlicher Konzentration in Abhängigkeit der Zeit t . Das mittlere Verschiebungsquadrat $\langle \Delta r^2(t) \rangle$ von Rh6G in Abhängigkeit der Zeit t ist in der rechten oberen Ecke dargestellt.

Die Messungen mit der größeren Sonde (funktionalisiertes PNIPAAm) zeigten ebenfalls, dass bei beiden Konzentrationen freie Brown'sche Bewegung stattfindet. Die Diffusion war allerdings bereits bei niedriger Konzentration von 2,5 % w/v um den Faktor 20 langsamer als bei Rhodamin Rh6G bei gleicher Konzentration. Dies ist auf den deutlich größeren hydrodynamischen Radius der PNIPAAm-Sonde im Vergleich zu der Rh6G-Sonde zurück zu führen. Bei der hohen Konzentration von 20 % w/v verlangsamte sich die Diffusion nochmals weiter. Insgesamt fiel auf, dass der Diffusionskoeffizient des Rh6G deutlich weniger von der Zunahme der Viskosität mit steigender Konzentration abhing, als der Diffusionskoeffizient der PNIPAAm-Sonde. Dies ist ebenfalls auf den kleineren hydrodynamischen Radius von Rh6G zurück zu führen. Da das Molekulargewicht des Rh6G-modifizierten PNIPAAm-Terpolymers etwa dem Molekulargewicht des Terpolymers der Hydrogelmatrix entspricht, kann man davon ausgehen, dass die Diffusion dieser Sonde

nicht einfach nur die Diffusion einer größeren Sonde beschreibt, sondern gleichzeitig auch die Eigendiffusion der Polymermatrix, also der Polymerketten der Matrix in der Matrix.

Da die verwendeten Polymersysteme durch Bestrahlung mit UV-Licht chemisch vernetzbar sind, wurde die Diffusion von Rh6G in Abhängigkeit des Vernetzungsgrades (d.h. der Bestrahlungsdauer mit Licht) untersucht. Die FCS-Messungen an den vernetzten, oberflächengebundenen Hydrogelen zeigten eine Verlangsamung der Diffusion mit zunehmender Bestrahlungsdauer. Dies deutete auf die erwartete Zunahme der Vernetzungsdichte mit zunehmender Bestrahlungsdauer hin. In Abbildung 6.12 ist die normalisierte Fluoreszenzintensitätskorrelationsfunktion $C(t)$ in Abhängigkeit der Zeit t dargestellt. Man erkennt die erhöhte Diffusionsdauer bei der 4 Stunden lang bestrahlten Probe im Vergleich zu der nur 15 Minuten lang bestrahlten Probe. In der oberen rechten Ecke zeigt der eingefügte Graph das mittlere Verschiebungsquadrat der Sonde $\langle \Delta r^2(t) \rangle$ in Abhängigkeit der Zeit t . Die Steigung der Geraden mit dem Wert 1 bedeutet, dass freie Brown'sche Bewegung stattfindet. Trägt man die ermittelten Diffusionszeiten τ_D in Abhängigkeit der Belichtungszeit mit UV-Licht T_{UV} auf (Abbildung 6.13), so bestätigt sich die Erwartung, dass mit zunehmender Belichtungszeit die Diffusionszeiten immer länger werden und die Diffusion immer langsamer wird. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist bei der 15 Minuten bestrahlten Probe um den Faktor 2,5 schneller als bei der 4 Stunden lang bestrahlten Probe. Die Veränderung der Maschenweite ξ in Abhängigkeit der Bestrahlungsdauer T_{UV} verhält sich ebenfalls wie erwartet. Mit zunehmender Belichtungszeit T_{UV} nimmt die indirekt bestimmte Maschenweite ξ von 4,5 nm bei 15-minütiger Bestrahlung auf 2,7 nm bei vierstündiger Bestrahlung ab. Die Vernetzungsdichte nimmt also zu. Verbunden mit der Vernetzungsdichte ist auch der Quellungsgrad κ der gequollenen Schicht, welcher hier relativ zur Schichtdicke der trockenen Schicht definiert ist. Es konnte herausgefunden werden, dass der Quellungsgrad von 10,9 (10,9 mal die Dicke der trockenen Schicht) bei einer kurzen Belichtungsdauer von 15 Minuten auf 4,5 bei einer Belichtungszeit von 4 Stunden deutlich abnimmt.

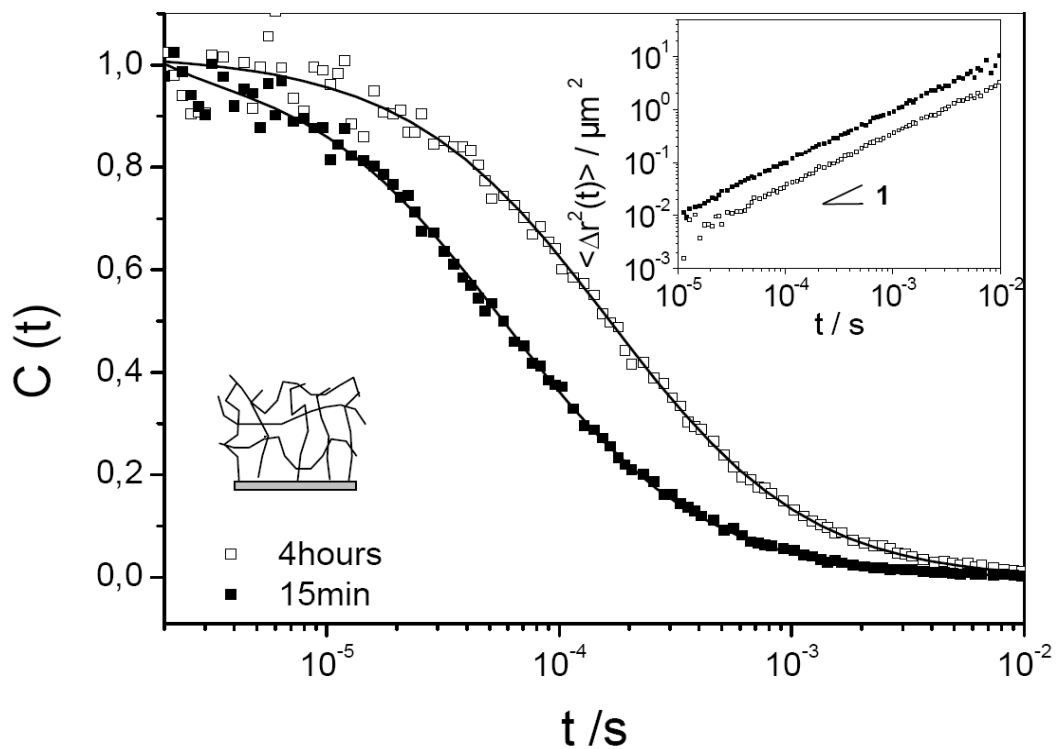


Abbildung 6.12: Normalisierte Fluoreszenzintensitätskorrelationsfunktion $C(t)$ für Rh6G in zwei immobilisierten, vernetzten Filmen von Polymer P8A (gequollen in Ethanol), die mit unterschiedlicher UV-Belichtungszeit hergestellt wurden, in Abhängigkeit der Zeit t . Das mittlere Verschiebungsquadrat $\langle \Delta r^2(t) \rangle$ von Rh6G in Abhängigkeit der Zeit t ist in der rechten oberen Ecke dargestellt.

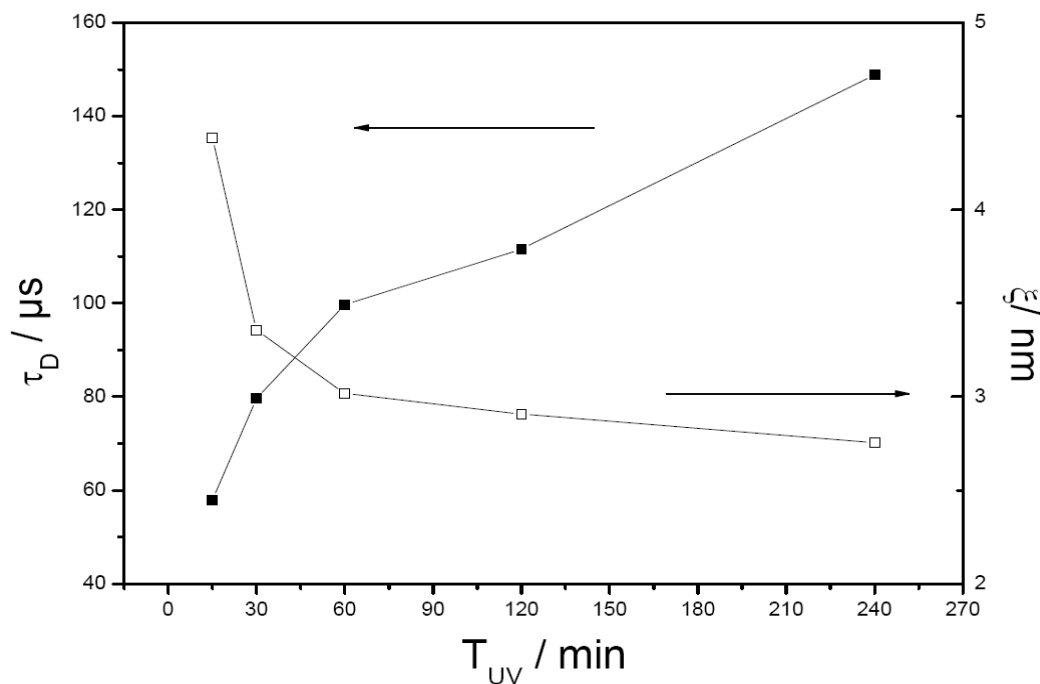


Abbildung 6.13: Die Diffusionszeit τ_D (schwarze Quadrate) von Rh6G in immobilisierten, vernetzten Filmen von Polymer P8A (gequollen in Ethanol) und die berechnete mittlere Maschenweite ξ (weiße Quadrate) als Funktion der Belichtungszeit mit UV-Licht T_{UV} .

Untersuchungen an den chemisch vernetzten Hydrogelen mit unterschiedlichen Sonden in verschiedenen Lösungsmitteln ergaben, dass es je nach Sonde und Lösungsmittel zu unerwünschten Wechselwirkungen zwischen der Sonde und dem Polymernetzwerk kommen kann.^[81]

So zeigte sich, dass bei Messungen mit Rhodamin Rh6G als Sonde in Ethanol zwar freie Brown'sche Bewegung beobachtet wird, doch dies in Wasser nicht der Fall ist. In Wasser haben die anziehenden Wechselwirkungen zwischen dem Rhodamin (positiv geladen) und dem Polymernetzwerk (lokal negativ geladen) einen deutlichen Einfluss auf das Diffusionsverhalten der Sonde. Die Diffusion ist gehindert und nur etwa halb so schnell wie die freie Brown'sche Bewegung in Ethanol.

Benutzt man allerdings den neutralen Alexa Fluor 647 Fluoreszenzfarbstoff als Sonde, so findet man sowohl in Wasser wie in Ethanol freie Brown'sche Bewegung. Allerdings gibt es

in diesem Fall nur eine geringe Triebkraft für den Farbstoff in das Gel hinein zu diffundieren. Deshalb findet man in der Lösung oberhalb des Hydrogels eine deutlich höhere Konzentration an Alexa Fluor 647 als im Inneren des Gels. Bei Rh6G ist dies genau entgegengesetzt. Aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen Rh6G und Polymernetzwerk findet man eine höhere Konzentration an Fluorophor in dem Hydrogel als in der Lösung darüber.

7. Experimenteller Teil

7.1 Reagenzien und Lösungsmittel

4-Allyloxybenzophenon	zur Verfügung gestellt bekommen vom AK Prof. Rühle (IMTEK Freiburg; Synthesevorschrift siehe Anhang)
Ammoniumperoxodisulfat	Acros, 98 %, eingesetzt wie erhalten
Azobisisobutyronitril	Acros, 98 %, umkristallisiert aus Methanol
Chloroform	Riedel-de Haën, p.a., eingesetzt wie erhalten
Cyclohexan	VWR, Chromasolv, eingesetzt wie erhalten
Diethylether, absolut	Riedel-de Haën, p.a. ggf. getrocknet über K/Na-Legierung
Dimethylchlorsilan	Aldrich, 98 %, destilliert unter Argon
Dioxan	Riedel-de Haën, p.a., getrocknet über Calciumhydrid
Ethanol	Aldrich, absolut, eingesetzt wie erhalten
Ethylacetat	Fluka, p.a., eingesetzt wie erhalten
Hellmanex-Lösung, 2%	Hellma Worldwide, 2 % in Milli-Q Wasser
4-Hydroxybenzophenon	Acros, 99 %, eingesetzt wie erhalten
N-Isopropylacrylamid	Acros, 99 %, umkristallisiert aus Toluol/Hexan (1/4)
Methacrylsäurechlorid	Acros, 97 %, unter Argon destilliert
N,N'-Methylenbisacrylamid	Acros, 96 %, eingesetzt wie erhalten (ohne Stabilisator)
Milli-Q Wasser	18,2 M Ω , aus Milli-Q Gerät
Natriumchlorid	WTL Laborbedarf, 99,5 %, eingesetzt wie erhalten
Natriumhydrogencarbonat	WTL Laborbedarf, 99,5 %, eingesetzt wie erhalten
Natriummethacrylat	Aldrich, 99 %, eingesetzt wie erhalten (ohne Stabilisator)
Natriumsulfat	Riedel-de Haën, wasserfrei, eingesetzt wie erhalten
Petrolether	Fluka, eingesetzt wie erhalten

Platin auf Aktivkohle	Aldrich, eingesetzt wie erhalten
Tetramethylethyldiamin	Acros, 99 %, eingesetzt wie erhalten
Thioessigsäure	Acros, 98 %, unter Argon destilliert
Toluol	Riedel-de Haën, p.a., getrocknet über Kalium
Triethylamin	Acros, p.a., getrocknet über Calciumhydrid

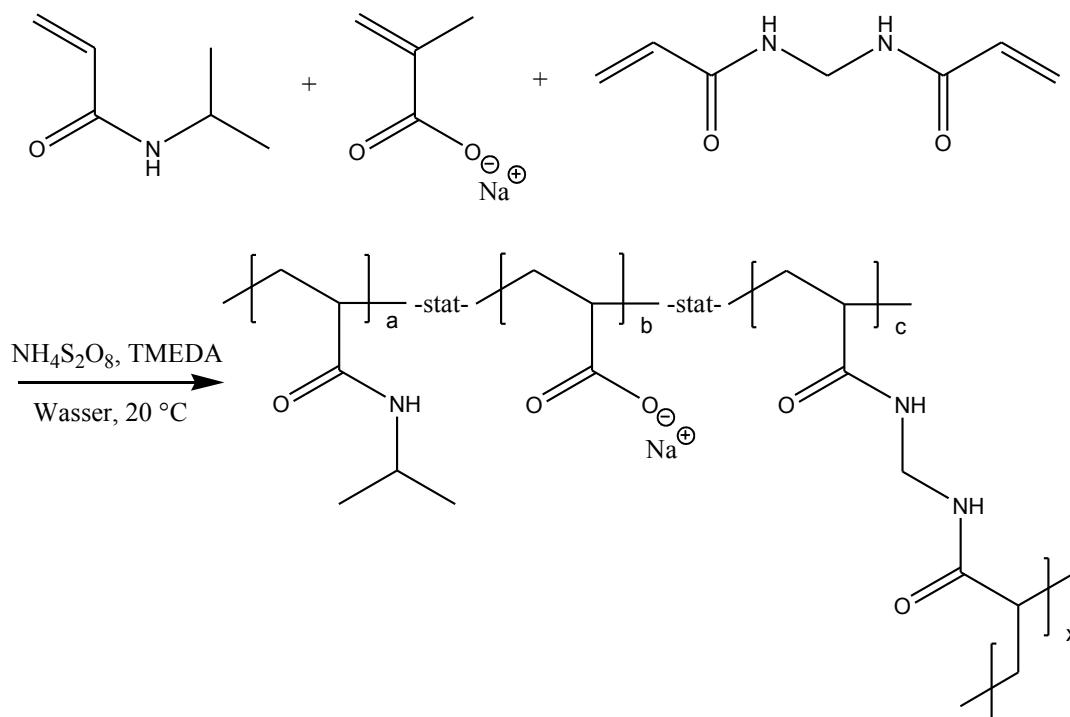
7.2 Synthesen

7.2.1 Allgemeine Arbeitstechniken

Alle Arbeiten mit luft- bzw. feuchtigkeitsempfindlichen Substanzen wurden in einer Schutzgasatmosphäre aus Argon mit zuvor entgasten bzw. getrockneten Reagenzien und Lösungsmitteln durchgeführt. Hierzu wurden Standard-Schlenk-Techniken angewandt.

7.2.2 Hydrogele ohne Benzophenon

7.2.2.1 Synthese von Poly(NIPAAm-co-SA-co-MBAAm)



HG1

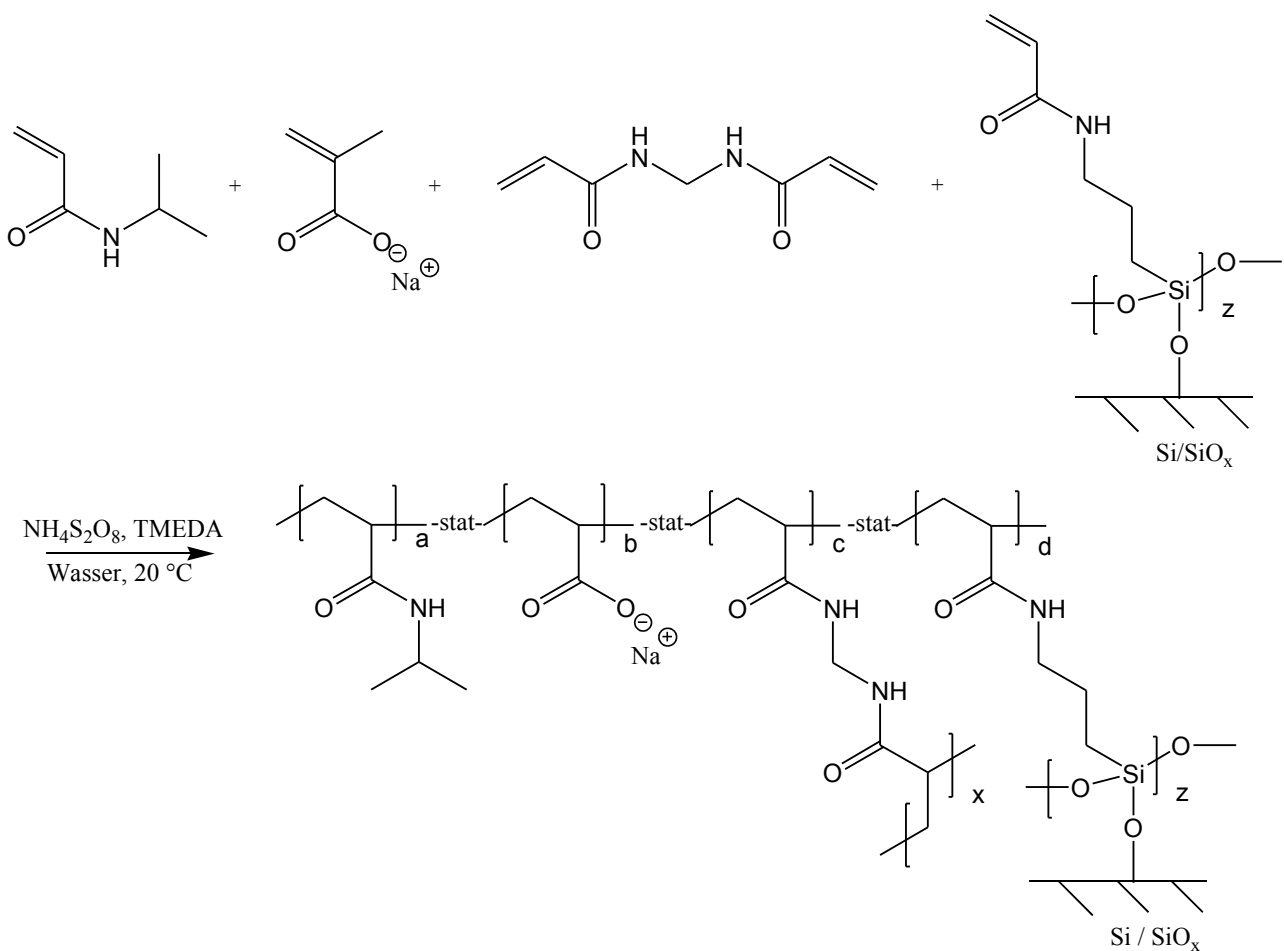
N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	0,57 g (5,035 mmol); 100eq.
Natriumacrylat (SA)	23,7 mg (0,252 mmol); 5 eq.
Methylenbisacrylamid (MBAAm)	40,9 mg (0,256 mmol); 5,3 eq.
Ammoniumperoxodisulfat	11,1 mg (0,049 mmol; 0,9 mol% aller Monomere)
Tetramethylethylendiamin (TMEDA)	11,2 μl (8,6 mg; 0,074 mmol)
Milli-Q Wasser, entgast	11 ml

Die Monomere wurden in ein mit Argon gefülltes Becherglas gegeben und in 7 ml Wasser gelöst. Hinzu wurde das in 4 ml Wasser gelöste Ammoniumperoxodisulfat und das TMEDA gegeben. Es wurde einmal kurz durchmischt und dann für 75 Minuten stehen gelassen. Nach wenigen Minuten begann die Lösung trüb zu werden, was innerhalb der folgenden 30 Minuten noch zunahm. Danach konnte keine weitere Veränderung beobachtet werden.

Zur Reinigung wurde das erhaltene Hydrogel für 17 Stunden in Ethanol gelegt und anschließend für 6 Tage in Milli-Q Wasser. Das Wasser wurde dabei täglich gewechselt. Man erhielt ein relativ festes Hydrogel mit einer Konsistenz ähnlich Götterspeise. Zur Bestimmung der Ausbeute wurde das Gel zwei Tage lang bei 80°C in einem Vakuumofen im Membranpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 79 %

7.2.2.2 Synthese von Poly(NIPAAm-co-SA-co-MBAAm) auf Silicium



HG2

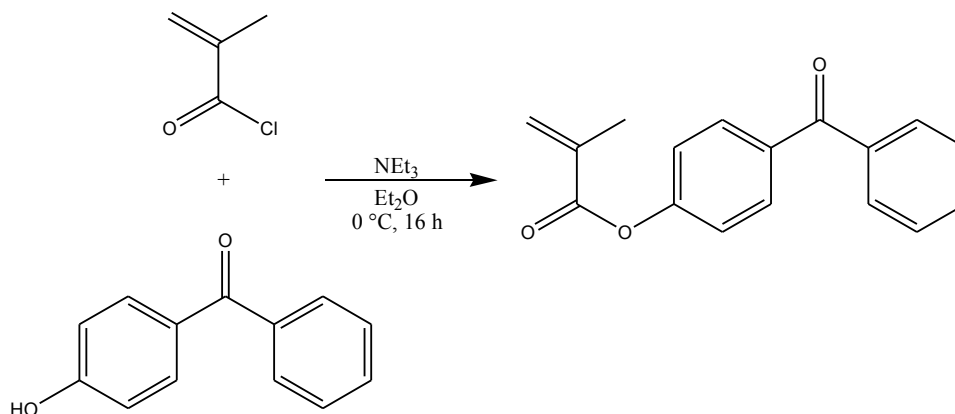
N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	0,57 g (5,035 mmol); 100eq.
Natriumacrylat (SA)	23,7 mg (0,252 mmol); 5 eq.
Methylenbisacrylamid (MBAAm)	40,9 mg (0,256 mmol); 5,3 eq.
Ammoniumperoxodisulfat	11,1 mg (0,049 mmol; 0,9 mol% aller Monomere)
Tetramethylethyldiamin (TMEDA)	11,2 µl (8,6 mg; 0,074 mmol)
Milli-Q Wasser, entgast	11 ml

Die Monomere wurden in ein mit Argon gefülltes Becherglas gegeben und in 7 ml Wasser gelöst. Hinzu wurde das in 4 ml Wasser gelöste Ammoniumperoxodisulfat und das TMEDA gegeben. Es wurde einmal kurz durchmischt und die Lösung dann zügig auf modifizierte Siliciumwafer getropft, so dass deren Oberfläche vollständig bedeckt war. Auf diesen Wafern befand sich eine Schicht von N-[3-(Triethoxysilyl)propyl]acrylamid, welches von Xiaosong Li synthetisiert und immobilisiert worden war.

Wenige Minuten nach dem Auftropfen begann die Lösung trüb zu werden, was innerhalb der folgenden 30 Minuten noch zunahm. Danach konnte keine weitere Veränderung beobachtet werden. Die Proben wurden für 17 Stunden stehen gelassen und anschließend für 3 Tage zur Reinigung in Milli-Q Wasser eingelegt. Das Wasser wurde dabei täglich gewechselt. Man erhielt ein relativ festes Hydrogel mit einer Konsistenz ähnlich Götterspeise. Das Gel konnte nicht von der Oberfläche gespült oder mit Zellstoff durch Abwischen entfernt werden. Bei Vergleichsproben mit Wafern auf denen kein Silan immobilisiert war, ließen sich die Hydrogele leicht mit Wasser von der Oberfläche spülen.

7.2.3 Hydrogele mit Benzophenon

7.2.3.1 Monomersynthese von 4-Methacryloyloxybenzophenon



4-Methacryloyloxybenzophenon

4-Hydroxybenzophenon	10 g (0,05 mol)
Methacrylsäurechlorid	4,8 ml (5,19 g; 0,05 mol)
Triethylamin, absolut	7,7 ml (5,7 g; 0,055 mol)
Diethylether, absolut	65 ml

In einen Dreihalskolben wurden 4-Hydroxybenzophenon und 50 ml Diethylether gegeben. Es wurde suspendiert und das Triethylamin hinzu gegeben. Dann wurde auf 0 °C gekühlt und langsam unter Rühren eine Lösung aus 15 ml Diethylether und 4,8 ml Methacrylsäurechlorid eingetrofft. Es wurde 16 Stunden lang weitergerührt.

Das ausgefallene Triethylammoniumchlorid wurde mittels Büchnertrichter abgetrennt und dreimal mit je 40 ml Diethylether gewaschen. Die organische Phase wurde dreimal mit je 40 ml 0,1 M Salzsäure gewaschen und anschließend mit 15 ml destilliertem Wasser neutral gewaschen. Danach wurde die organische Phase dreimal mit je 40 ml 25 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen und anschließend dreimal mit je 40 ml destilliertem Wasser neutral gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt.

Ausbeute: 94 % eines weißen Pulvers

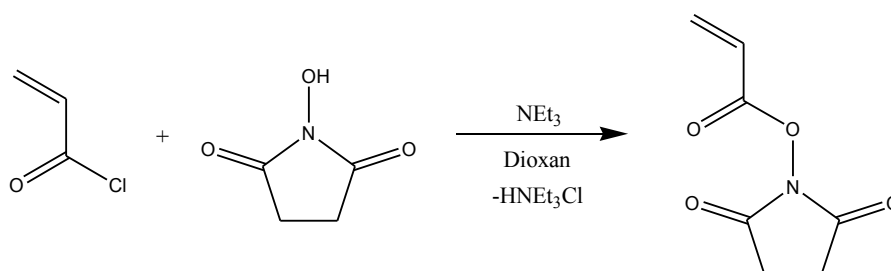
FT-IR (ATR, Pulver):

$\nu/\text{cm}^{-1} = 3049 \text{ w}, 2979 \text{ w}, 2927 \text{ w}, 1730 \text{ s}, 1651 \text{ s}, 1595 \text{ s}, 1497 \text{ w}, 1446 \text{ m}, 1409 \text{ w}, 1318 \text{ m}, 1301 \text{ m}, 1278 \text{ m}, 1199 \text{ s}, 1161 \text{ s}, 1148 \text{ s}, 1126 \text{ s}, 1012 \text{ m}, 937 \text{ s}, 922 \text{ s}, 886 \text{ s}, 805 \text{ m}, 788 \text{ m}, 733 \text{ s}, 696 \text{ s}, 677 \text{ s}, 641 \text{ s}.$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6):

$\delta/\text{ppm} = 2,00 \text{ (s, 3H, -CH}_3\text{)}; 5,93 \text{ (s, 1H, CH}_2\text{=C}_q\text{, } ^2\text{J} = 93,83 \text{ Hz)}; 6,31 \text{ (s, 1H, CH}_2\text{=C}_q\text{, } ^2\text{J} = 93,83 \text{ Hz)}; 7,32\text{-}7,86 \text{ (m, 9H, C-H}_{\text{arom}}\text{)}.$

7.2.3.2 Monomersynthese von *N*-Acryloyloxysuccinimid



N-Acryloyloxysuccinimid

N-Hydroxysuccinimid	5,75 g (0,05 mol)
Acrylsäurechlorid	4,5 ml (5,00 g; 0,055 mol)
Triethylamin, absolut	7,7 ml (5,7 g; 0,055 mol)
1,4-Dioxan, absolut	110 ml

In einen Dreihalskolben wurden N-Hydroxysuccinimid und 80 ml Dioxan gegeben. Der Feststoff wurde gelöst und das Triethylamin hinzu gegeben. Dann wurde auf 12 °C gekühlt und langsam unter Rühren eine Lösung aus 30 ml Dioxan und 4,5 ml Methacrylsäurechlorid eingetropft. Es wurde 16 Stunden lang weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurden 80 ml Dichlormethan hinzu gegeben. Dann wurde dreimal mit jeweils 100 ml eiskaltem Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Danach wurde das Produkt über Nacht im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 73 % eines weißen Pulvers

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Chloroform- d_1):

$\delta/\text{ppm} = 2,83$ (s, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 6,14 (dd, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$, $^3J = 10,7$ Hz); 6,30 (dd, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$, $^3J = 16,9$ Hz); 6,67 (dd, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$, $^3J = 17,3$ Hz).

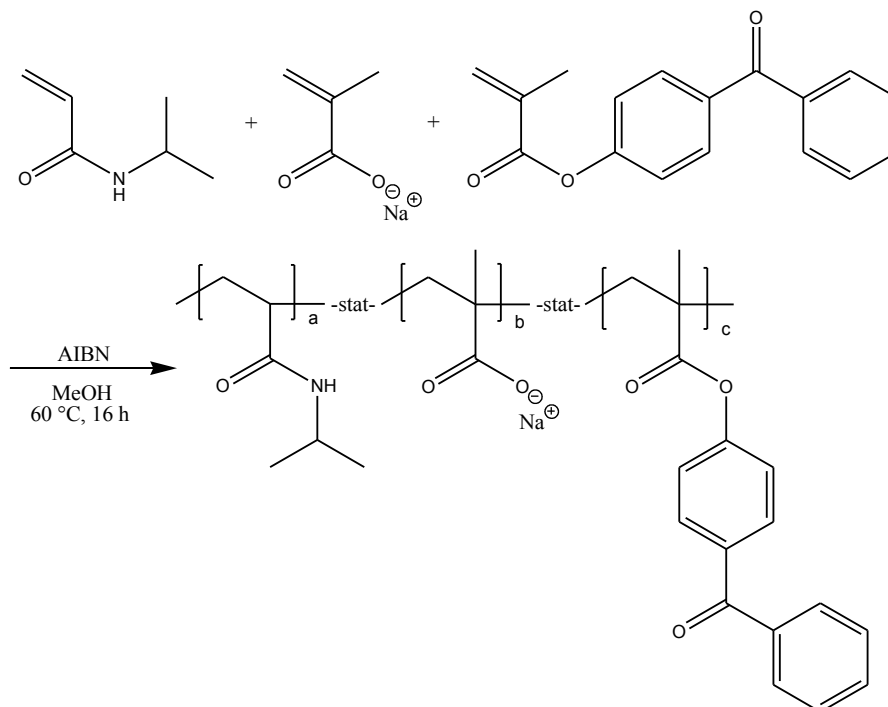
7.2.3.3 *Synthese der Polymere*

Allgemeine Arbeitsvorschrift

Alle folgenden Polymersynthesen wurden nach der folgenden Arbeitsvorschrift durchgeführt.

Unter Schutzgas wurden die berechneten Mengen an Monomer in einen mit Magnetrührstab versehenen, ausgeheizten Schlenkkolben gefüllt und die jeweils angegebene Menge an Initiator (die Prozentangabe bezieht sich auf die molare Menge aller Monomere) und Lösungsmittel hinzugefügt. Anschließend wurde der Kolben verschlossen und es wurde unter ständigem Rühren bei 60 °C über den angegebenen Zeitraum polymerisiert. Danach wurde im zehnfachen Überschuss, bezogen auf das Volumen an eiskaltem Diethylether, ausgefällt. Das ausgefallene Polymer wurde in möglichst wenig Lösungsmittel erneut gelöst und wieder ausgefällt. Anschließend wurde das Polymer aus tert-Butanol gefriergetrocknet.

7.2.3.3.1 Synthese von Poly(NIPAAm-co-SMA-co-MABP)

PIS

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	Natriummethacrylat (SMA)	216 mg (2,00 mmol); 7,5 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	112 mg (0,42 mmol); 1,6 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	7 mg (0,04 mmol; 0,15 mol%)
Solvenz:	Methanol, p.a. über 4 Å Molsieb	20 ml
Dauer:	16 Stunden	
Ausbeute:	12 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

$\nu/\text{cm}^{-1} = 3424 \text{ m}, 3275 \text{ m}, 3076 \text{ w}, 2969 \text{ m}, 2927 \text{ m}, 2869 \text{ w}, 2158 \text{ w}, 2022 \text{ w}, 1976 \text{ w}, 2634 \text{ s}, 1537 \text{ s}, 1454 \text{ m}, 1387 \text{ m}, 1360 \text{ m}, 1168 \text{ m}, 1128 \text{ m}, 970 \text{ w}, 922 \text{ w}, 876 \text{ w}, 831 \text{ w}.$

¹H-NMR (250 MHz, Methanol-d₄):

δ /ppm = 0,64-1,20 (m, 3H, -CH₃); 1,20-1,71 (m, 2H, -CH₂-); 1,71-2,19 (m, 1H, -CH₂-CH-); 3,84 (bs, 1H, CH₃-CH-CH₃); 7,19-7,96 (m, 9H, C-H_{arom}).

Zusammensetzung des Polymers laut ¹H-NMR: NIPAAm:SMA:MABP = 100:17:1

GPC (DMF): M_n = 115.000 g/mol; M_w = 340.000 g/mol; PDI = 2,95

TGA: T_{5%} = 235 °C; T_{max} = 329 °C

DSC: T_g = 136 °C; LCST nicht gefunden

P2S

Monomere: N-Isopropylacrylamid (NIPAAm) 3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.

Natriummethacrylat (SMA) 216 mg (2,00 mmol); 7,5 eq.

Methacryloyloxybenzophenon (MABP) 112 mg (0,42 mmol); 1,6 eq.

Initiator: Azobisisobutyronitril (AIBN) 7 mg (0,04 mmol; 0,15 mol%)

Solvenz: Chloroform, p.a. über 4 Å Molsieb 20 ml

Dauer: 16 Stunden

Ausbeute: 7 % eines weißen Pulvers

FT-IR (ATR, Pulver):

ν /cm⁻¹ = 3424 m, 3278 m, 3073 w, 2969 m, 2930 m, 2872 w, 1636 s, 1536 s, 1458 m, 1387 m, 1363 m, 1278m, 1229 m, 1165 m, 1128 m, 927 w, 835 w.

¹H-NMR (250 MHz, Methanol-d₄):

δ /ppm = 0,65-1,21 (m, 3H, -CH₃); 1,21-1,73 (m, 2H, -CH₂-); 1,73-2,46 (m, 1H, -CH₂-CH-); 3,86 (bs, 1H, CH₃-CH-CH₃); 7,14-8,13 (m, 9H, C-H_{arom}).

Zusammensetzung des Polymers laut ¹H-NMR: NIPAAm:SMA:MABP = 100:24:7

GPC (DMF): M_n = 72.000 g/mol; M_w = 175.000 g/mol; PDI = 2,42

TGA: T_{5%} = 303 °C; T_{max} = 345 °C

DSC: T_g = 119 °C; LCST nicht gefunden

P3S

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	Natriummethacrylat (SMA)	86 mg (0,80 mmol); 3 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	112 mg (0,42 mmol); 1,6 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	7 mg (0,04 mmol; 0,15 mol%)
Solvenz:	Methanol, p.a. über 4 Å Molsieb	20 ml
Dauer:	16 Stunden	
Ausbeute:	7 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

ν/cm^{-1} = 3296 m, 3071 w, 2973 m, 2936 m, 2877 w, 1641 s, 1547 s, 1458 m, 1420 m, 1387 m, 1367 m, 1278 m, 1238 m, 1170 m, 1131 m, 922 m, 835 m.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

δ/ppm = 0,67-1,26 (m, 3H, $-\text{CH}_3$); 1,26-1,72 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$); 1,72-2,30 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$); 3,85 (bs, 1H, $\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_3$); 7,19-7,93 (m, 9H, C-H_{arom}).

Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:SMA:MABP = 100:18:7

GPC (DMF): M_n = 162.000 g/mol; M_w = 402.000 g/mol; PDI = 2,48

TGA: $T_{5\%}$ = 241 °C; T_{max} = 329 °C

DSC: T_g = 128°C; LCST nicht gefunden

P4S

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	Natriummethacrylat (SMA)	86 mg (0,80 mmol); 3 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	112 mg (0,42 mmol); 1,6 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	7 mg (0,04 mmol; 0,15 mol%)
Solvenz:	Methanol, p.a. über 4 Å Molsieb	20 ml
Dauer:	16 Stunden	

Ausbeute: 8 % eines weißen Pulvers

FT-IR (ATR, Pulver):

$\nu/\text{cm}^{-1} = 3302 \text{ m}, 2972 \text{ m}, 2936 \text{ m}, 2878 \text{ w}, 1638 \text{ s}, 1540 \text{ s}, 1458 \text{ m}, 1387 \text{ m}, 1277 \text{ m}, 1237 \text{ m}, 1206 \text{ m}, 1367 \text{ m}, 1171 \text{ m}, 1131 \text{ m}.$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

$\delta/\text{ppm} = 0,65\text{-}1,21 \text{ (m, 3H, -CH}_3\text{)}; 1,21\text{-}1,72 \text{ (m, 2H, -CH}_2\text{-)}; 1,72\text{-}2,38 \text{ (m, 1H, -CH}_2\text{-CH-)}; 3,85 \text{ (bs, 1H, CH}_3\text{-CH-CH}_3\text{)}; 7,18\text{-}7,99 \text{ (m, 9H, C-H}_{\text{arom}}\text{)}.$

Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:SMA:MABP = 100:19:2

$^{13}\text{C-NMR}$ Spinecho (75,5 MHz, Methanol- d_4):

$\delta/\text{ppm} = 22,8 \text{ (s, neg., iPr-CH}_3\text{)}; 31,1 \text{ (s, neg., Rückgrat-CH}_3\text{)}; 32,5\text{-}41,4 \text{ (m, pos., CH}_2\text{)}; 41,7\text{-}45,9 \text{ (m, neg., CH-aliph.)}; 119,6 \text{ (s, pos., C}_q\text{-Aromat)}; 129,6 \text{ (s, neg., CH-Aromat)}; 130,9 \text{ (s, neg., CH-Aromat)}; 132,5 \text{ (s, neg., CH-Aromat)}; 175,2\text{-}177,0 \text{ (m, pos., C=O)}.$

$^{13}\text{C-NMR}$ Inverse Gated-decoupling (75,5 MHz, Methanol- d_4):

$\delta/\text{ppm} = 22,8 \text{ (s, iPr-CH}_3\text{)}; 31,1 \text{ (s, Rückgrat-CH}_3\text{)}; 33,8\text{-}40,7 \text{ (m, CH}_2\text{)}; 41,7\text{-}45,2 \text{ (m, CH-aliph.)}; 119,7 \text{ (s, C-Aromat)}; 129,6 \text{ (s, C-Aromat)}; 130,9 \text{ (s, C-Aromat)}; 132,3\text{-}132,5 \text{ (m, C-Aromat)}; 135,1\text{-}135,4 \text{ (m, C-Aromat)}; 138,7\text{-}139,0 \text{ (m, C-Aromat)}; 175,2\text{-}177,0 \text{ (m, C=O)}; 177,5\text{-}178,3 \text{ (m, C=O)}; 184,1\text{-}184,8 \text{ (m, C=O)}.$

Zusammensetzung des Polymers laut $^{13}\text{C-NMR}$: NIPAAm:SMA:MABP = 100:17:2

GPC (DMF): $M_n = 170.000 \text{ g/mol}$; $M_w = 390.000 \text{ g/mol}$; PDI = 2,29

TGA: $T_{5\%} = 294 \text{ }^\circ\text{C}$; $T_{\text{max}} = 330 \text{ }^\circ\text{C}$

DSC: $T_g = 147 \text{ }^\circ\text{C}$; LCST nicht gefunden

P5S

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	Natriummethacrylat (SMA)	14 mg (0,13 mmol); 0,5 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	71 mg (0,27 mmol); 1 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	7 mg (0,04 mmol; 0,15 mol%)
Solvenz:	Methanol, p.a. über 4 Å Molsieb	20 ml
Dauer:	16 Stunden	
Ausbeute:	5 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

ν/cm^{-1} = 3283 m, 3071 w, 2971 m, 2934 m, 2876 w, 1636 s, 1537 s, 1457 m, 1386 m, 1367 m, 1276 m, 1170 m, 1130 m, 926 w, 883 w, 838 w.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

δ/ppm = 0,59-1,19 (m, 3H, $-\text{CH}_3$); 1,19-1,70 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$); 1,70-2,40 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$); 3,83 (bs, 1H, $\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_3$); 7,12-8,11 (m, 9H, $\text{C}-\text{H}_{\text{arom}}$).

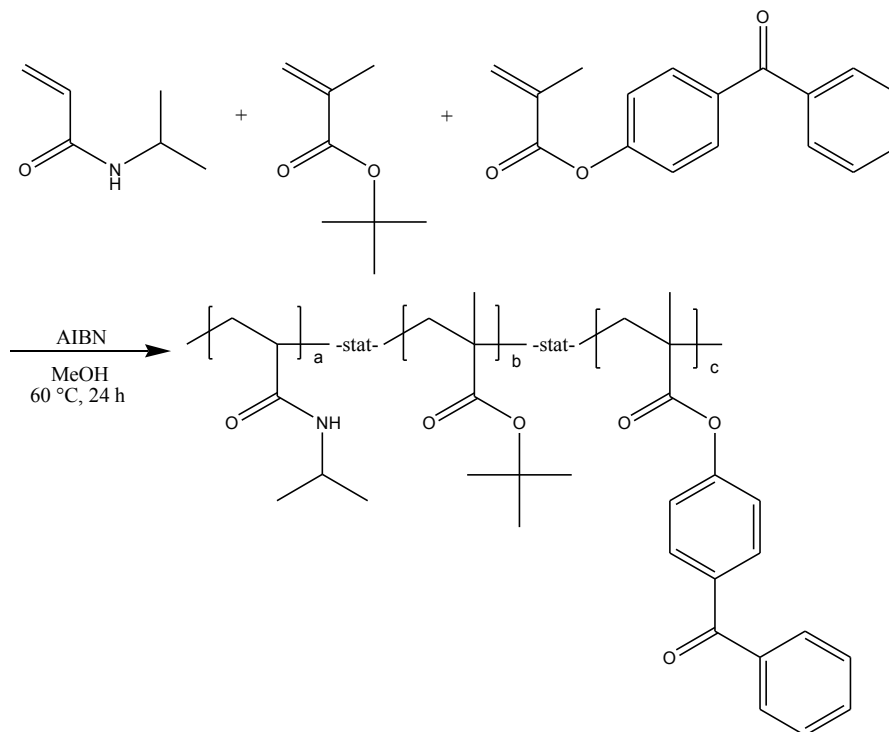
Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:SMA:MABP = 100:11:6

GPC (DMF): M_n = 193.000 g/mol; M_w = 427.000 g/mol; PDI = 2,21

TGA: $T_{5\%}$ = 267 °C; T_{max} = 365 °C

DSC: T_g = 133 °C; LCST nicht gefunden

7.2.3.3.2 Synthese von P(NIPAAm-co-MAtBu-co-MABP)



P6B

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	tert-Butylmethacrylat (MAtBu)	283 mg (1,99 mmol); 7,5 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	113 mg (0,42 mmol); 1,6 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	7 mg (0,04 mmol; 0,15 mol%)
Solvenz:	Methanol, p.a. über 4 Å Molsieb	20 ml
Dauer:	24 Stunden	
Ausbeute:	67 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

$\nu/\text{cm}^{-1} = 3299 \text{ m}, 3065 \text{ w}, 2970 \text{ m}, 2934 \text{ m}, 2875 \text{ w}, 1640 \text{ s}, 1536 \text{ s}, 1457 \text{ m}, 1386 \text{ m}, 1366 \text{ m}, 1169 \text{ m}, 1130 \text{ m}, 925 \text{ m}, 880 \text{ m}, 841 \text{ m}.$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

$\delta/\text{ppm} = 0,62\text{-}1,18$ (m, 3H, $-\text{CH}_3$); $1,18\text{-}1,70$ (m, 2H, $-\text{CH}_2-$); $1,70\text{-}2,51$ (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$); $3,83$ (bs, 1H, $\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_3$); $7,14\text{-}7,84$ (m, 9H, C-H_{arom}).

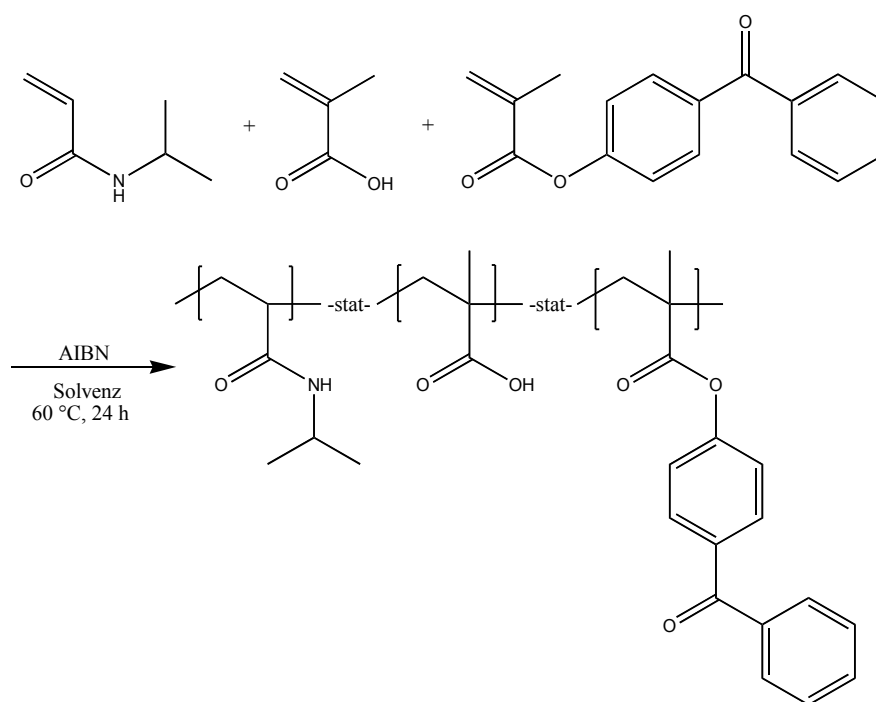
Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:MAAtBu:MABP = 100:12:2

GPC (DMF): $M_n = 149.000$ g/mol; $M_w = 320.000$ g/mol; PDI = 2,14

TGA: $T_{5\%} = 242$ °C; $T_{\text{max}} = 403$ °C

DSC: $T_g = 128$ °C; LCST = 30 °C

7.2.3.3.3 Polymerisation von P(NIPAAm-co-MAA-co-MABP)



P7A

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	Methacrylsäure (MAA)	114 mg (1,33 mmol); 5 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	71 mg (0,27 mmol); 1 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	20 mg (0,12 mmol; 0,4 mol%)
Solvenz:	Methanol, p.a. über 4 Å Molsieb	20 ml

Dauer: 24 Stunden

Ausbeute: 46 % eines weißen Pulvers

¹H-NMR (250 MHz, Methanol-d₄):

δ /ppm = 0,66-1,19 (m, 3H, -CH₃); 1,19-1,71 (m, 2H, -CH₂-); 1,71-2,35 (m, 1H, -CH₂-CH-); 3,84 (bs, 1H, CH₃-CH-CH₃); 7,14-8,12 (m, 9H, C-H_{arom}).

Zusammensetzung des Polymers laut ¹H-NMR: NIPAAm:MAA:MABP = 100:7:11

GPC (DMF): M_n = 132.000 g/mol; M_w = 233.000 g/mol; PDI = 1,77

TGA: T_{5%} = 272 °C; T_{max} = 394 °C

DSC: T_g = 148 °C; LCST nicht gemessen

P8A

Monomere: N-Isopropylacrylamid (NIPAAm) 3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.

Methacrylsäure (MAA) 114 mg (1,33 mmol); 5 eq.

Methacryloyloxybenzophenon (MABP) 71 mg (0,27 mmol); 1 eq.

Initiator: Azobisisobutyronitril (AIBN) 20 mg (0,12 mmol; 0,4 mol%)

Solvenz: Dioxan, absolut 20 ml

Dauer: 24 Stunden

Ausbeute: 88 % eines weißen Pulvers

FT-IR (ATR, Pulver):

ν /cm⁻¹ = 3429 m, 3286 m, 3073 w, 2966 m, 2933 m, 2875 w, 2158 w, 2021 w, 1972 w, 1638 s, 1534 s, 1454 m, 1387 m, 1360 m, 1171 m, 1128 m, 973 w, 924 w, 878 w, 832 w.

¹H-NMR (250 MHz, Methanol-d₄):

δ /ppm = 0,64-1,19 (m, 3H, -CH₃); 1,19-1,70 (m, 2H, -CH₂-); 1,70-2,34 (m, 1H, -CH₂-CH-); 3,83 (bs, 1H, CH₃-CH-CH₃); 7,09-8,10 (m, 9H, C-H_{arom}).

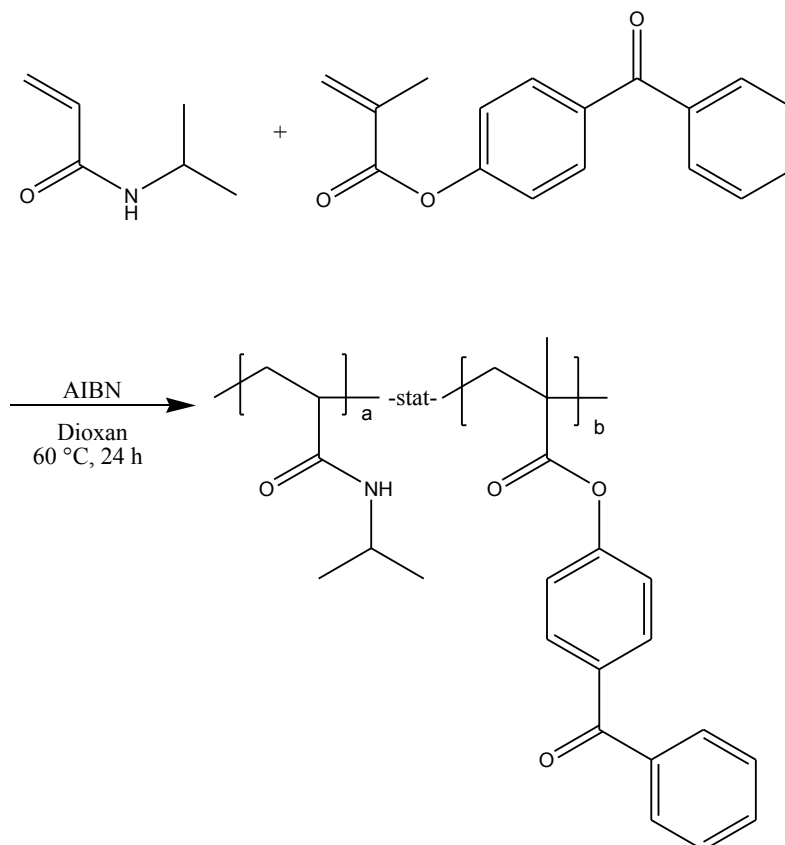
Zusammensetzung des Polymers laut ¹H-NMR: NIPAAm:MAA:MABP = 100:9:10

GPC (DMF): M_n = 144.000 g/mol; M_w = 352.000 g/mol; PDI = 2,44

TGA: T_{5%} = 276 °C; T_{max} = 402 °C

DSC: $T_g = 144\text{ °C}$; LCST = 33 °C

7.2.3.3.4 Polymerisation von P(NIPAAm-co-MABP)



P9

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	71 mg (0,27 mmol); 1 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	20 mg (0,12 mmol; 0,4 mol%)
Solvenz:	Dioxan, absolut	20 ml
Dauer:	24 Stunden	
Ausbeute:	97 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

$\nu/\text{cm}^{-1} = 3426 \text{ m}, 3292 \text{ m}, 3070 \text{ w}, 2963 \text{ m}, 2927 \text{ m}, 2866 \text{ w}, 2161 \text{ w}, 2021 \text{ w}, 1972 \text{ w}, 1637 \text{ s}, 1532 \text{ s}, 1454 \text{ m}, 1381 \text{ m}, 1363 \text{ m}, 1171 \text{ m}, 1125 \text{ m}, 915 \text{ m}.$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

$\delta/\text{ppm} = 0,64\text{-}1,20 \text{ (m, 3H, } -\text{CH}_3\text{)}; 1,20\text{-}1,70 \text{ (m, 2H, } -\text{CH}_2\text{-)}; 1,70\text{-}2,41 \text{ (m, 1H, } -\text{CH}_2\text{-CH-)}; 3,83 \text{ (bs, 1H, CH}_3\text{-CH-CH}_3\text{)}; 7,17\text{-}8,09 \text{ (m, 9H, C-H}_{\text{arom}}\text{)}.$

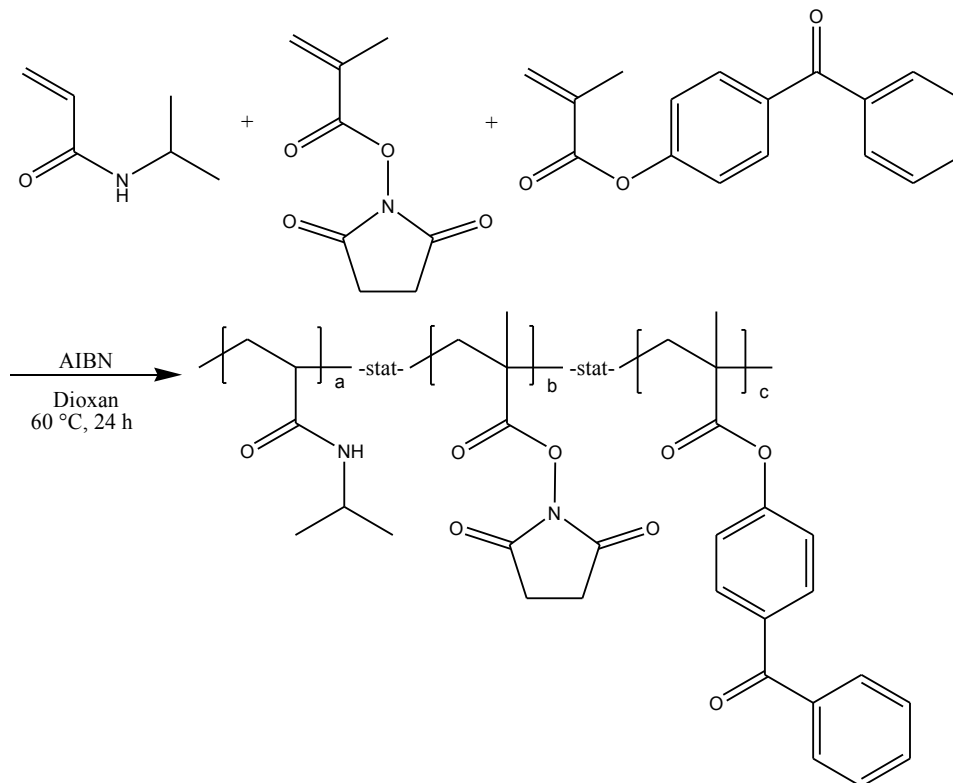
Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:MABP = 100:7

GPC (DMF): $M_n = 80.000 \text{ g/mol}$; $M_w = 223.000 \text{ g/mol}$; PDI = 2,78

TGA: $T_{5\%} = 308 \text{ }^\circ\text{C}$; $T_{\text{max}} = 413 \text{ }^\circ\text{C}$

DSC: $T_g = 119 \text{ }^\circ\text{C}$; LCST = $32 \text{ }^\circ\text{C}$

7.2.3.3.5 Polymerisation von P(NIPAAm-co-NASI-co-MABP)



PI0E

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	N-Acryloyloxysuccinimid (NASI)	90 mg (0,53 mmol); 2 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	71 mg (0,27 mmol); 1 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	18 mg (0,11 mmol; 0,4 mol%)
Solvenz:	Dioxan, absolut	20 ml
Dauer:	24 Stunden	
Ausbeute:	76 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

ν/cm^{-1} = 3297 m, 3071 w, 2972 m, 2936 m, 2877 w, 1737 w, 1636 s, 1535 s, 1458 m, 1387 m, 1367 m, 1208 m, 1171 m, 1131 m, 926 w, 883 w, 838 w.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

δ/ppm = 0,64-1,19 (m, 3H, $-\text{CH}_3$); 1,19-1,73 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$); 1,73-2,51 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$); 2,67-2,89 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 3,84 (bs, 1H, $\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_3$); 6,87-8,14 (m, 9H, C-H_{arom}).

Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:NASI:MABP = 100:2:10

GPC (DMF): M_n = 59.000 g/mol; M_w = 226.000 g/mol; PDI = 3,83

TGA: $T_{5\%}$ = 305 °C; T_{max} = 413 °C

DSC: T_g = 130 °C; LCST = 32 °C

PIIE

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	3,0 g (26,51 mmol); 100 eq.
	N-Acryloyloxysuccinimid (NASI)	0,9 g (5,30 mmol); 20 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	71 mg (0,27 mmol); 1 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	20 mg (0,12 mmol; 0,4 mol%)
Solvenz:	Dioxan, absolut	20 ml

Dauer: 24 Stunden

Ausbeute: 73 % eines weißen Pulvers

FT-IR (ATR, Pulver):

ν/cm^{-1} = 3291 m, 3070 w, 2971 m, 2936 m, 2876 w, 1733 s, 1640 s, 1532 s, 1457 m, 1386 m, 1366 m, 1205 m, 1171 m, 1130 m, 1064 m, 944 w, 837 w.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

δ/ppm = 0,62-1,20 (m, 3H, $-\text{CH}_3$); 1,20-1,75 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$); 1,75-2,59 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$); 2,63-2,94 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 3,83 (bs, 1H, $\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_3$); 6,87-8,14 (m, 9H, C-H_{arom}).

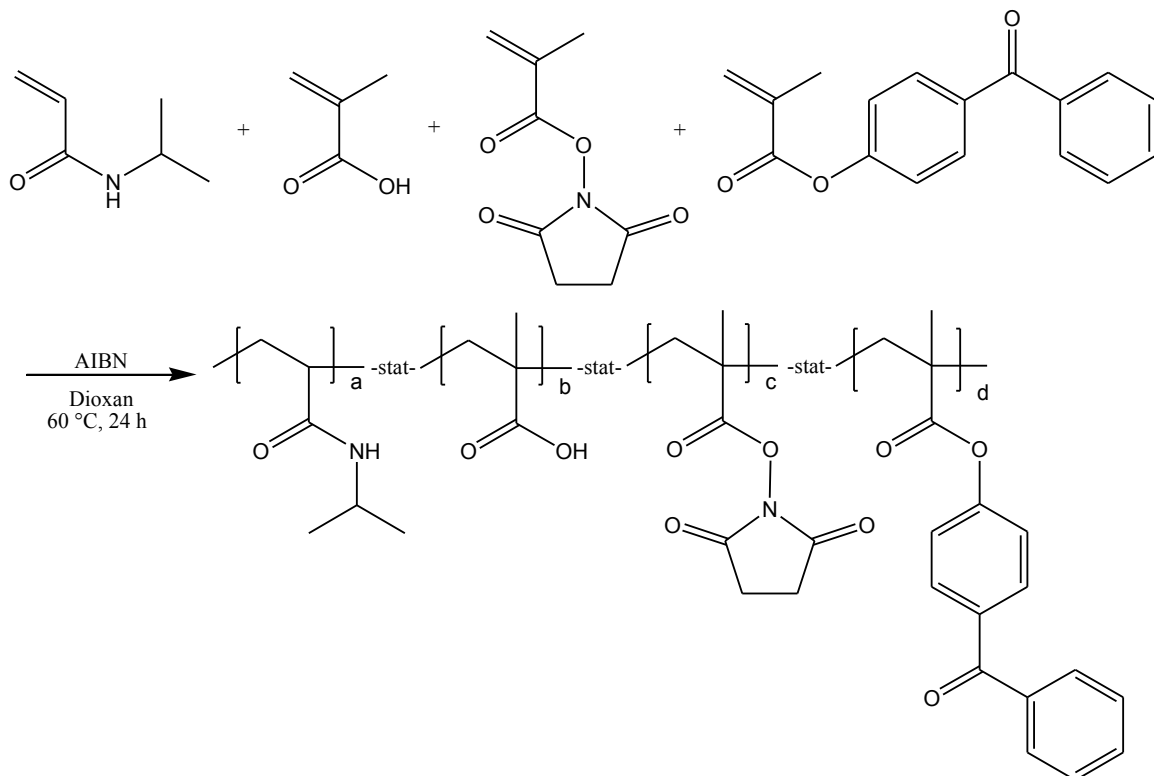
Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:NASI:MABP = 100:19:8

GPC (DMF): M_n = 92.000 g/mol; M_w = 290.000 g/mol; PDI = 3,14

TGA: $T_{5\%}$ = 244 °C; T_{max} = 406 °C; zweistufiger Abbau

DSC: T_g = 129 °C; LCST = 31 °C

7.2.3.3.6 Polymerisation von P(NIPAAm-co-MAA-co-NASI-co-MABP)



PI2AE

Monomere:	N-Isopropylacrylamid (NIPAAm)	2,0 g (17,59 mmol); 100 eq.
	Methacrylsäure (MAA)	76 mg (0,88 mmol); 5 eq.
	N-Acryloyloxysuccinimid (NASI)	151 mg (0,89 mmol); 5 eq.
	Methacryloyloxybenzophenon (MABP)	25 mg (0,09 mmol); 0,5 eq.
Initiator:	Azobisisobutyronitril (AIBN)	16 mg (0,10 mmol; 0,5 mol%)
Solvenz:	Dioxan, absolut	20 ml
Dauer:	24 Stunden	
Ausbeute:	78 % eines weißen Pulvers	

FT-IR (ATR, Pulver):

$\nu/\text{cm}^{-1} = 3315 \text{ m}, 2973 \text{ m}, 2936 \text{ m}, 1701 \text{ s}, 1628 \text{ s}, 1539 \text{ s}, 1459 \text{ m}, 1387 \text{ m}, 1368 \text{ m}, 1240 \text{ m}, 1158 \text{ s}, 831 \text{ m}, 746 \text{ m}.$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Methanol- d_4):

$\delta/\text{ppm} = 0,54\text{-}1,29 \text{ (m, 3H, -CH}_3\text{)}; 1,29\text{-}1,61 \text{ (m, 2H, -CH}_2\text{-)}; 1,61\text{-}2,43 \text{ (m, 1H, -CH}_2\text{-CH-)}; 2,51 \text{ (bs, 4H, -CH}_2\text{-CH}_2\text{-)}; 3,76 \text{ (bs, 1H, CH}_3\text{-CH-CH}_3\text{)}; 7,09\text{-}8,01 \text{ (m, 9H, C-H}_{\text{arom}}\text{)}.$

Zusammensetzung des Polymers laut $^1\text{H-NMR}$: NIPAAm:MAA:NASI:MABP = 100:3:1:8

GPC (DMF): $M_n = 61.000 \text{ g/mol}$; $M_w = 232.000 \text{ g/mol}$; PDI = 3,80

TGA: $T_{5\%} = 198 \text{ }^\circ\text{C}$; $T_{\text{max}} = 407 \text{ }^\circ\text{C}$; zweistufiger Abbau

DSC: $T_g = 87 \text{ }^\circ\text{C}$; LCST nicht gefunden

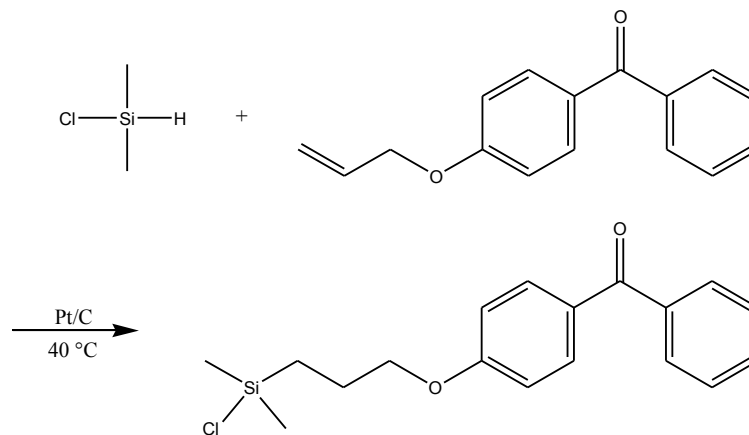
7.2.3.4 Modifikation von Polymer P4S

Um ein Terpolymer **P4A** mit freier Säurefunktionalität zu erhalten, wurde zunächst eine Probe des salzhaltigen Terpolymers **P4S** in Ethanol gelöst und mit Amberlyst 15 Kationenaustauscher 15 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde anschließend filtriert und der abgetrennte Feststoff mit Ethanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde dann im Vakuum entfernt und das erhaltene Polymer mit tert-Butanol im Hochvakuum gefriergetrocknet.

Ausbeute: 86 %, nicht weiter charakterisiert (die allgemeinen Polymereigenschaften, wie etwa Molekulargewicht und Molekulargewichtsverteilung, des säurehaltigen Terpolymers **P4A** sind mit denen des salzhaltigen Terpolymers **P4S** identisch)

7.2.3.5 Synthese der Haftvermittler

7.2.3.5.1 Haftvermittler für Silizium- und Glasoberflächen



4-{3-[chloro(dimethoxy)silanyl]propoxy}benzophenon (BP-Silan)

Dimethylchlorsilan	50 ml (42,6 g; 0,45 mol)
4-Allyloxybenzophenon	5 g (20,98 mmol)
Platin auf Aktivkohle	25 mg

Das destillierte Dimethylchlorsilan wurde zusammen mit 4-Allyloxybenzophenon und

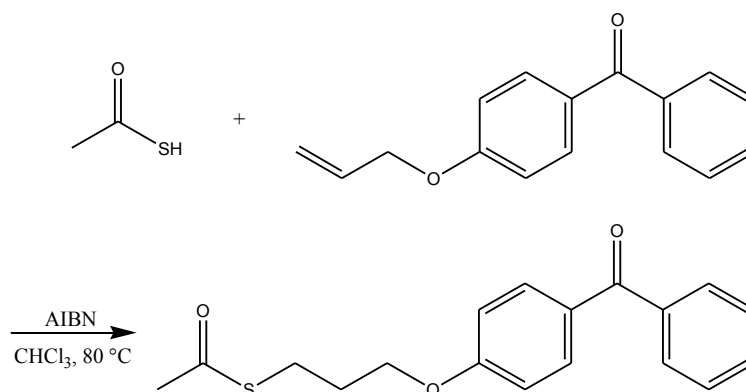
Platin auf Aktivkohle 24 Stunden lang unter Argon bei 40°C refluxiert. Überschüssiges Dimethylchlorsilan wurde durch Destillation entfernt. Der viskose, schwarze Rückstand wurde im Hochvakuum getrocknet und mit absolutem Toluol verdünnt um eine 0,5 molare Lösung zu erhalten. Diese wurde mittels Umkehrfritte unter Argon filtriert.

Ausbeute: 88 % einer klaren, hellgelben Lösung

¹H-NMR (250 MHz, Methanol-d₄):

δ /ppm = 0,44 (s, 3H, -CH₃); 0,45 (s, 3H, -CH₃); 0,97 (t, 2H, -CH₂-Si, ³J = 8,09 Hz); 1,87-1,99 (m, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂-); 4,02 (t, 2H, -O-CH₂-, ³J = 6,48 Hz); 6,90-7,82 (m, 9H, C-H_{arom}).

7.2.3.5.2 Haftvermittler für Goldoberflächen



S-3-(4-Benzoylphenoxy)propylthioacetat (BP-Thioacetat)

4-Allyloxybenzophenon	2 g (19,9 mmol)
Thioessigsäure	1,81 ml (1,93 g; 25,39 mmol)
Azobisisobutyronitril (AIBN)	0,138 g (0,845 mmol; 0,02 mol%)
Chloroform	20 ml

Das 4-Allyloxybenzophenon wurde in Chloroform gelöst und AIBN, sowie Thioessigsäure wurden hinzugefügt. Die Mischung wurde für 4 1/2 Stunden bei 80 °C refluxiert und nach dem Abkühlen zweimal mit je 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung

extrahiert. Die wässrige Phase wurde zweimal mit je 45 ml Petrolether und die organische Phase zweimal mit je 45 ml gesättigter Natriumchloridlösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Produkt wurde säulenchromatographisch gereinigt. Dabei diente eine Mischung aus Cyclohexan und Ethylacetat (10:1) als Laufmittel.

Ausbeute: 56 % einer klaren, gelblichen Lösung

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Chloroform- d_1):

$\delta/\text{ppm} = 2,13$ (pent, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2-$, $^3J = 6,63$ Hz); $2,37$ (s, 3H, $-\text{CH}_3$);
 $3,10$ (t, 2H, $-\text{S-CH}_2-$, $^3J = 6,95$ Hz); $4,12$ (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-O-}$, $^3J = 6,00$ Hz);
 $6,9\text{-}7,9$ (m, 9H, C-H_{arom})

7.3 Präparation von Proben für SPR/OWS-Messungen

7.3.1 Aufbringen von Haftvermittlern

7.3.1.1 Immobilisierung des BP-Silans auf Siliciumdioxid-Oberflächen

Objektträger aus hochbrechendem LaSFN9-Glas wurden gedrittelt und nach mehrfacher Reinigung mit 2 %iger Hellmanex-Lösung mit 2 nm Chrom, 50 nm Gold und 200 nm Siliciumdioxid bedampft. Das BP-Silan wurde auf der Siliciumdioxid-Oberfläche bei Raumtemperatur aus 25 mM Toluol-Lösung unter Zusatz von 1 ml Triethylamin als Base chemisorbiert. Die Lösung mit den Substraten wurde über Nacht stehen gelassen und die Substrate anschließend durch sukzessives Abspülen mit Dichlormethan, Methanol, Toluol und wieder Dichlormethan gereinigt. Nach jedem Abspülschritt wurden die Substrate mit Stickstoffgas trocken geblasen.

7.3.1.2 Immobilisierung des BP-Thioacetats auf Gold-Oberflächen

Objektträger aus hochbrechendem LaSFN9-Glas wurden gedrittelt und nach mehrfacher Reinigung mit 2 %iger Hellmanex-Lösung mit 2 nm Chrom und 50 nm Gold bedampft. Das BP-Thioacetat wurde auf der Gold-Oberfläche bei Raumtemperatur aus 5 mM Toluol-

Lösung immobilisiert. Die Lösung mit den Substraten wurde für 24 Stunden stehen gelassen und die Substrate anschließend durch sukzessives Abspülen mit Toluol und Ethanol gereinigt. Nach jedem Abspülschritt wurden die Proben mit Stickstoffgas trocken geblasen.

7.3.2 Aufbringen von Polymerfilmen und Vernetzung

Dünne Polymerfilme wurden durch Aufschleudern mit einem Spincoater aus ethanolischen Lösungen auf die Substrate aufgebracht. Der Polymeranteil der Lösungen betrug 8-10 gew% und ergab Schichtdicken von ca. 1000-1300 nm bei 4000 Umdrehungen pro Minute und einer Minute Drehzeit. Die Proben wurden über Nacht bei 50°C im Membranpumpenvakuum getrocknet und anschließend in einem Stratalinker 2400 UV-Vernetzer bei einer Wellenlänge von 365 nm eine Stunde lang bestrahlt. Dies entspricht 6,28 J/cm².

7.4 Experimente zum Quellen von Hydrogelen

Die Untersuchungen des temperaturabhängigen Quellverhaltens der Hydrogele wurden durchgeführt, indem die Probe in eine Flusszelle aus Edelstahl eingebracht wurde, welche mit einer Schlauchpumpe verbunden und auf einer Heizplatte befestigt war. Die Temperatur wurde durch elektrische Widerstandsheizung der Heizplatte gegen die permanente Kühlung mit einem Kühlmantel, welcher um die Heizplatte herum angebracht war, eingestellt.

Nach der Messung mit dem Hydrogel in trockenem Zustand, wurde die Flusszelle mit Milli-Q Wasser (mit einem Widerstand von 18,2 MΩ) gefüllt und das Hydrogel eine Stunde lang bei 15 °C gequollen. Während dieses anfänglichen Quellens der Hydrogelschicht kann irreversible Restrukturierung und Verlust von unvernetzten Polymerketten an das umgebende Medium (Wasser) erfolgen.

Um ein stabiles System zu erhalten, wurde zunächst temperaturabhängig gequollen und kollabiert, bevor die SPR/OWS-Messungen durchgeführt wurden. Nach dieser Vorbehandlung sind die Schichtzusammensetzung und -struktur nicht mehr zeitlich

abhängig, und der Quell- und Kollabierprozess vollkommen reversibel.

Dann wurde eine Messung des Winkelspektrums bei konstanter Temperatur durchgeführt. Nach Beendigung dieser Messung wurde die Temperatur um 1 bis 5°C erhöht. Nach jeder Temperaturerhöhung wurde dem Hydrogel 15 Minuten Zeit zum Erreichen des thermischen Gleichgewichtes gegeben, bevor eine neue Messung des Winkelspektrums durchgeführt wurde.

Die Untersuchungen der Abhängigkeit des Quellens von der Salzkonzentration wurde mit Natriumchlorid in Konzentrationen von 0,01 mol/l, 0,1 mol/l, 1 mol/l und 6,1 mol/l in Milli-Q Wasser durchgeführt. Die Messungen wurden bei 14°C und mit der niedrigsten Konzentration beginnend durchgeführt.

Nachdem das Hydrogel für 20 Minuten in die Salzlösung eingebracht worden war, um bis zum Gleichgewichtszustand zu quellen, wurde eine Messung des Winkelspektrums durchgeführt. Danach wurde die Salzlösung durch diejenige mit der nächsthöheren Konzentration ersetzt. Dieser Prozess wurde viermal wiederholt.

7.5 Verwendete Geräte

7.5.1 Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die AFM-Untersuchungen wurden mit einem *Dimension 3100 CL* der Firma *Veeco* durchgeführt. Die dabei verwendeten AFM-Kantilever waren von der Firma *Olympus*, Typ *OMCL-AC160TS-W2* und besaßen Spitzen mit einem Radius von weniger als 10 nm und einem Öffnungswinkel von weniger als 35°. Die verwendete Software *Nanoscope* stammt ebenfalls von der Firma *Veeco*.

7.5.2 Aufdampfanlage

Zum Aufdampfen von Chrom, Gold und Siliciumdioxid auf Objektträger wurde eine Aufdampfanlage der Firma *Balzers*, Modell *PLS 500 E* verwendet. Dazu wurde die

Aufdampfkammer des Gerätes zunächst bis auf einen Druck von $5 \cdot 10^{-6}$ mbar evakuiert und anschließend die Schichten sukzessive aufgedampft. Im Falle der Siliciumdioxid-Schicht wurde die Kammer bis zu einem Druck von $2 \cdot 10^{-4}$ mbar wieder mit Sauerstoff gefüllt, bevor der Aufdampfvorgang begonnen wurde.

7.5.3 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

7.5.3.1 Messung der Glasübergangstemperatur

Die DSC-Messungen wurden mit dem Gerät *DSC 822* der Firma *Mettler Toledo* durchgeführt. Dazu wurden 8-12 mg Polymer in einem 40 μ l Aluminiumtiegel eingewogen und unter Stickstoffatmosphäre in einem Temperaturbereich von -50°C bis 150°C vermessen. Die zyklischen Temperaturprogramme wurden mit einer Heiz- und Abkühlrate von $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ betrieben. Zur Auswertung wurde die zweite Aufheizkurve mit dem Computerprogramm *STARe Version 8.01* von *Mettler* verwendet.

7.5.3.2 Messung der LCST

Die DSC-Messungen wurden mit dem Gerät *DSC 822* der Firma *Mettler Toledo* durchgeführt. Dazu wurden zwei Tropfen einer Polymerlösung mit der Konzentration von 55 mg/ml in einem 40 μ l Aluminiumtiegel eingewogen und unter Stickstoffatmosphäre in einem Temperaturbereich von 5°C bis 70°C vermessen. Die zyklischen Temperaturprogramme wurden mit einer Heiz- und Abkühlrate von $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ betrieben. Bei jedem Erreichen der Minimal- bzw. Maximaltemperatur wurde diese für 5 Minuten konstant gehalten. Zur Auswertung wurde die zweite und dritte Aufheizkurve mit dem Computerprogramm *STARe Version 8.01* von *Mettler* verwendet.

7.5.4 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die GPC-Messungen erfolgten in DMF bei einer Temperatur von 60°C relativ zu Poly(methylmethacrylat)standards. Die Konzentration der gemessenen Proben betrug 2 g/L und die Durchflussgeschwindigkeit 1 ml/min. Gemessen wurde auf *PSS GRAM* Säulen der

Firma *PSS*. Die Detektion der Messsignale erfolgte mit einem Gerät der Firma *Waters Instruments* durch einen Brechungsindexdetektor und einen UV-Detektor. Die Messdaten wurden mit dem Computerprogramm *WinGPC Unity* der Firma *PSS* ausgewertet.

7.5.5 FT-Infrarotspektroskopie (IR)

Die Infrarotspektren wurden an einem Fourier-Transformations-IR-Spektrometer der Firma *Nicolet*, Typ 730, gemessen. Die Substanzen wurden mit Hilfe einer ATR-Einheit in Pulverform vermessen. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit dem Programm *OMNIC E.S.P. 5.1* von *Nicolet*.

7.5.6 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit einem *Spectrospin 250* und die ^{13}C -NMR-Spektren mit einem *Spectrospin 300* der Firma *Bruker* bei Raumtemperatur aufgenommen. Neben den Standardpulsprogrammen für ^1H - und ^{13}C -NMR-Messungen wurden auch Messungen mit dem ^{13}C -*"Spinecho"*- und dem ^{13}C -*"Inverse Gated-decoupling"*-Pulsprogramm durchgeführt. Die Messfrequenz für die ^1H -NMR-Messungen betrug 250 MHz und für die ^{13}C -NMR-Messungen 75,5 MHz. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm relativ zu Tetramethylsilan ($\delta = 0$ ppm) angegeben.

7.5.7 Spincoater

Die Polymerfilme wurden mit einem Spincoater der Firma *Headway Research Inc.* bei 4000 Umdrehungen pro Minute aufgeschleudert. Die Lösungen wurden dazu jeweils vor der Rotation aufgebracht. Die Rotationszeit betrug eine Minute.

7.5.8 Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Die thermogravimetrischen Untersuchungen wurden mit einer Thermowaage der Firma *Mettler Toledo (TGA/SDTA 851e)* in offenen 70 µl Korundtiegeln durchgeführt. Die eingewogene Polymermenge betrug 8-12 mg und wurde unter Stickstoffatmosphäre in einem Temperaturbereich von 25-800°C bei einer Aufheizrate von 10°C/min vermessen. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm *STARe Version 8.01* der Firma *Mettler*.

7.5.9 UV-Vernetzer

Das Vernetzen der Polymerketten, sowie die Anbindung der Ketten an die Oberfläche durch den Haftvermittler wurde mit einem UV Stratalinker 2400 der Firma Stratagene mit 75 Watt bei einer Wellenlänge von 365 nm durchgeführt. Die Belichtungsdauer lag bei einer Stunde, was 6,28 J/cm² entspricht.

8. Zusammenfassung der Arbeit

Gegenstand und Ziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese und Charakterisierung einer Hydrogelmatrix, welche für die Herstellung eines vielseitig verwendbaren Sensors, der mehrere Analyten (Proteine, DNA etc.) in hoher Verdünnung ($c_0 < 50 \text{ fM}$) aus kleinsten Probenmengen (Volumina $< 20 \text{ nl}$) schnell ($t < 1 \text{ min}$) und parallel nachweisen kann, Verwendung finden soll. Der Fokus der Arbeit lag dabei in der Synthese und Charakterisierung von Copolymeren als Hydrogelmatrix, welche geeignetes temperaturabhängiges Verhalten zeigen. Die Copolymere wurden in eine dreidimensionale Netzwerkstruktur überführt und auf einer Goldoberfläche kovalent angebunden, um Delamination zu vermeiden und die Untersuchung mittels Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) und Optischer Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) zu erlauben. Weiterhin wurde das temperaturabhängige Verhalten der Polymernetzwerke in Wasser mittels optischen Messungen (SPR/OWS) untersucht, um Erkenntnisse über die Quell- und Kollabiereigenschaften der Hydrogele zu gewinnen.

8.1 *Synthese und Charakterisierung der Polymere*

Um temperaturschaltbare Hydrogele herzustellen, wurden auf N-Isopropylacrylamid (NIPAAm) basierende Polymere synthetisiert. Es wurde sowohl die für Hydrogele übliche Methode der freien radikalischen Vernetzungspolymerisation in Wasser, wie eine neue, auf Benzophenoneinheiten basierende Syntheseroute, welche die freie radikalische Polymerisation in organischem Medium nutzt, verwendet. Die erstgenannte Methode zeichnet sich durch eine leichte Synthese aus, bietet aber wenige Möglichkeiten in Bezug auf die Charakterisierung der Polymere und die Herstellung von dünnen Filmen. Die auf Benzophenoneinheiten basierende Syntheseroute hingegen bietet viele Möglichkeiten der Polymercharakterisierung und einen leichten Zugang zu dünnen, photovernetzbaaren Filmen. Diese können mit hoher Präzision und Reproduzierbarkeit aus Polymerlösungen durch Aufschleudern mit einem Spincoater hergestellt werden und anschließend durch Belichtung mit UV-Licht von 365 nm Wellenlänge vernetzt werden. Eine gleichzeitige Anbindung an die Substratoberfläche findet statt, wenn sich zwischen dem Substrat und dem Polymerfilm

eine Schicht benzophenon-tragenden Haftvermittlerfilms (z.B. Benzophenon-Thiol oder Benzophenon-Silan) befindet.

Diese Polymere sind Copolymere aus N-Isopropylacrylamid (NIPAAm) und 4-Methacryloyloxybenzophenon (MABP). NIPAAm ist dabei für das temperaturschaltbare Verhalten der Gele verantwortlich und MABP dient als Photovernetzer. Weitere Copolymere, die neben den genannten Monomeren noch andere Funktionen, wie z.B. ionische Gruppen oder Aktivesterfunktionen enthalten, wurden ebenfalls synthetisiert (siehe Abbildung 8.1). Die ionischen/ionisierbaren Gruppen, auf Natriummethacrylat (SMA) bzw. Methacrylsäure (MAA) basierend, stellen einen Polyelektrolytcharakter zur Verfügung und bewirken eine Verstärkung des hydrophilen Charakters des Hydrogels sowie einen erhöhten Quellungsgrad. Mittels Aktivesterfunktionen, basierend auf N-Hydroxysuccinimid (NHS), können Moleküle mit Aminfunktion direkt an das Hydrogel angebunden werden.

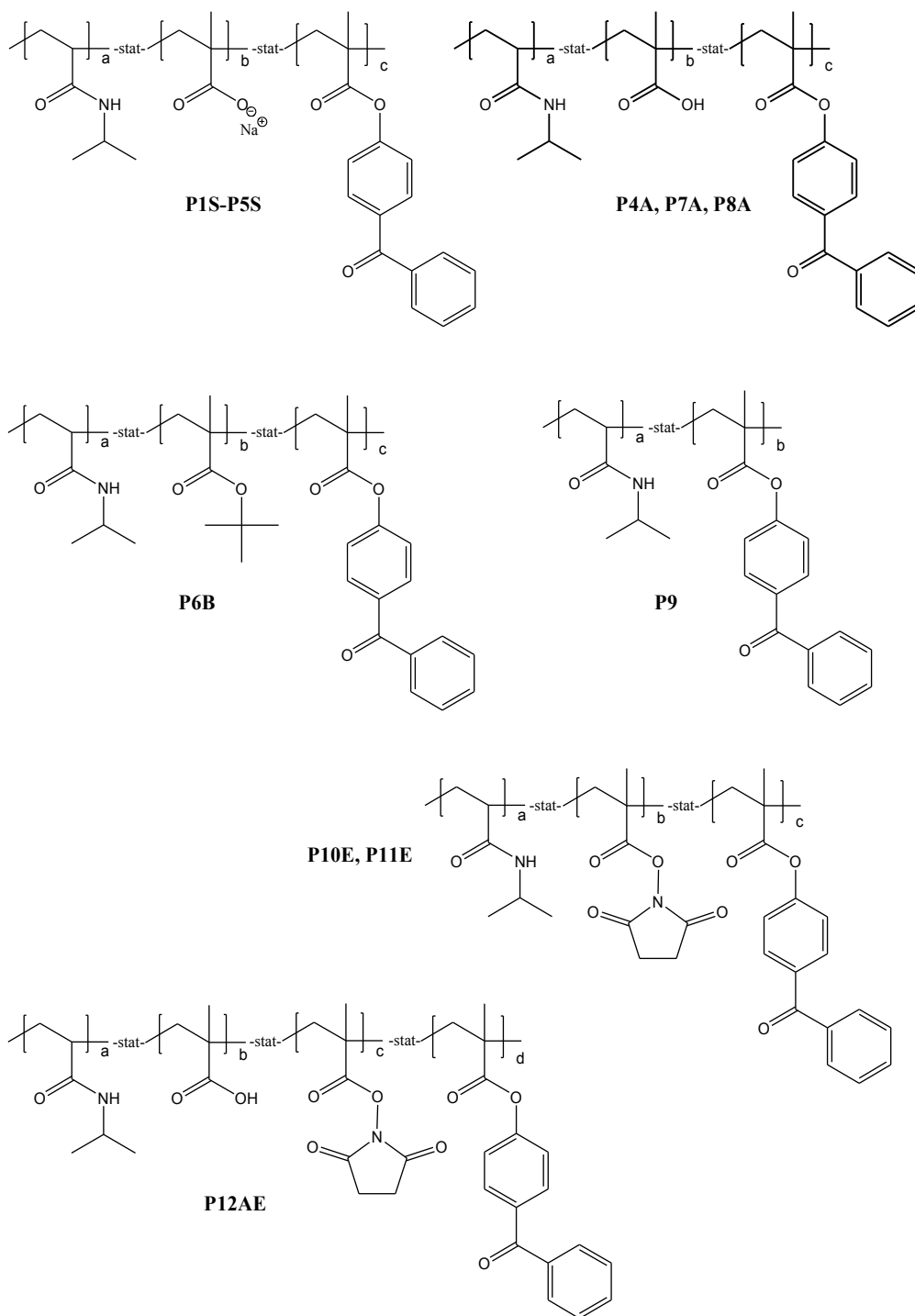


Abbildung 8.1: Übersicht der hergestellten Polymere.

8.2 *Synthese und Charakterisierung der Hydrogele*

Das temperaturabhängige Quellverhalten der Hydrogele wurde in Bezug auf die chemische Zusammensetzung mit der Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie (SPR) und Optischen Wellenleiter-Spektroskopie (OWS) untersucht. Dazu wurde ein SPR-Standardaufbau mit temperierbarem Probenhalter und Messzelle, sowie einem Cryostaten und Temperaturregler ausgestattet. Die Kombination von SPR und OWS erlaubt eine Unterscheidung zwischen Prozessen nahe der Substratoberfläche und Vorgängen, die im gesamten Film stattfinden, da das Oberflächenplasmon nur bis einige hundert Nanometer vom Gold entfernt sensitiv ist, die Wellenleitermoden hingegen aber im gesamten Film verlaufen.

Es zeigte sich, dass die Anwesenheit von Salz im Polymer vor der Vernetzung zum Hydrogel (Natriummethacrylat als Monomer, **P4S**) Inhomogenität, in Form eines Brechungsindexgradienten senkrecht zur Substratoberfläche im vernetzten Hydrogel, hervorruft. Dies ist nicht der Fall, wenn statt des Salzes die Säure (Methacrylsäure als Monomer, **P4A**) verwendet wird. Durch die Inhomogenität lassen sich die Filme mit dem Natriummethacrylat nicht mehr mit dem, üblicherweise zur Auswertung genutzten, Kastenmodell (d.h. ein Brechungsindex über die gesamte Schichtdicke) beschreiben. Die Anwendung der Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung (WKB) auf die Messdaten führt hingegen zu dem gewünschten Ergebnis. Man findet ein kastenähnliches Brechungsindexprofil für das Hydrogel mit der Säure (**P4A**) und ein Gradientenprofil für das Gel mit dem Salz (**P4S**). Letzteres ist nicht nur hydrophiler und insgesamt stärker gequollen, sondern ragt auch weiter in die überstehende Wasserphase hinein. Anhand eines säurehaltigen Hydrogels (**P8A**) konnte der quellungshemmende Einfluss von hohen Salzkonzentrationen gezeigt werden. Weiterhin wurde während des Quellvorgangs eine gewisse Anisotropie gefunden, die aber im vollständig gequollenen und vollständig kollabierten Zustand nicht mehr vorliegt (siehe Abbildung 8.2). Anhand eines Hydrogels ohne ionisierbare Gruppen (**P9**) wurde die Reversibilität des Quell- und Kollabiervorgangs gezeigt. Bei einem Vergleich zwischen einem säurehaltigen Hydrogel (**P8A**, Quellgrad von 7,3) und einem ohne ionisierbare Gruppen (**P9**, Quellgrad von 6,1), hat die Anwesenheit der 8 mol% Säuregruppen eine leichte Verstärkung der Quellung um den Faktor 1,2 bewirkt. Es wurde allerdings ein großer Unterschied bei dem Materialverlust nach dem ersten Quellen

der Gele festgestellt. Das Hydrogel mit Säurefunktionen (**P8A**) hat nur etwa 1,4% an Material verloren, wohingegen der Verlust bei dem Hydrogel **P9** bei 22% lag. Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen (AFM) an diesen beiden Hydrogelen im getrockneten Zustand haben gezeigt, dass nach dem Quellen, Kollabieren und Trocknen bei beiden Gelen eine Porenstruktur vorliegt. Die Porendurchmesser lagen bei bis zu 70 nm für **P8A** und bei bis zu 650 nm für **P9**. In erstgenanntem Fall könnte das Polymernetzwerk teilweise restrukturiert sein und die stärker hydrophilen Einheiten segregieren, wodurch die Poren gebildet wurden. Im zweiten Fall scheinen die Poren hauptsächlich durch herausgelöstes Material entstanden zu sein. Der für **P9** erwartete, diffusionshemmende "Skin-Effekt" ist, wahrscheinlich aufgrund der großen Poren, nicht aufgetreten. Die Kollabiergeschwindigkeiten waren bei beiden Hydrogelen etwa gleich.

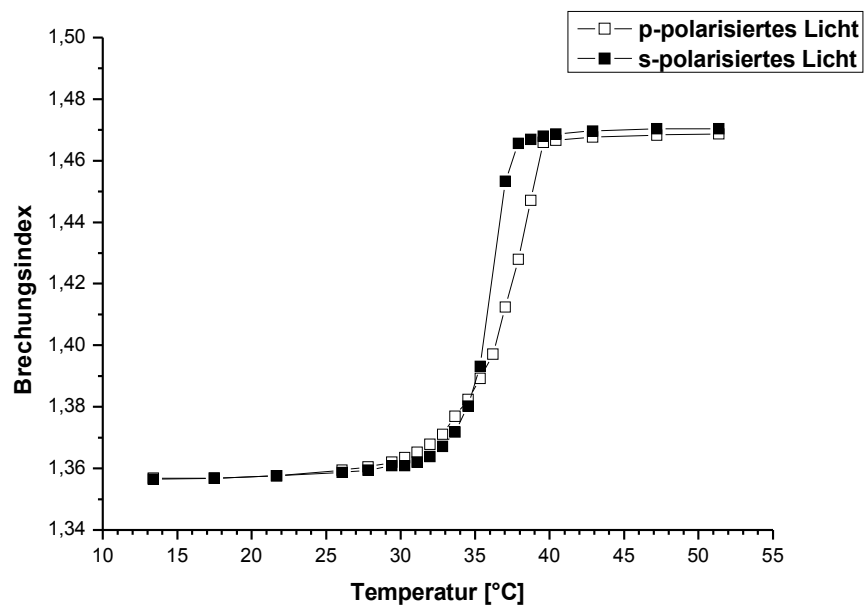


Abbildung 8.2: Temperaturabhängiges Quellverhalten des Polymers **P8A**, gemessen mit p- und s-polarisiertem Licht.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Stoy, V.; Wichterle, A.; Stoy, A. *US-Patent*, US4095877, **1978**
- [2] Schild, H.G. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17*, 163
- [3] Hoffmann, A.S. et al. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *52*, 577
- [4] Kokufuta, E. *Adv. Polym. Sci.* **1993**, *110*, 157
- [5] Beines, P.W.; Klosterkamp, I.; Menges, B.; Jonas, U.; Knoll, W. *Langmuir* **2007**, *23*, 2231
- [6] Heskins, H.; Guillet, J.E. *J. Macromol. Sci., Chem.* **1968**, *A2*, 1441
- [7] Shibayama, M.; Suetoh, Y.; Nomura, S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 6966
- [8] Schild, H.G.; Tirell, D.A. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4352
- [9] Yamazaki, Y.; Tada, T.; Kunugi, S. *Colloid Polym. Sci.* **2000**, *278*, 80
- [10] Ilmain, F.; Tanaka, T.; Kokufuta, E. *Nature* **1991**, *349*, 400
- [11] Otake, K.; Inomata, H.; Konno, M.; Saito, S. *Macromolecules* **1990**, *23*, 283
- [12] Yu, H.; Grainger, D.W. *J. Appl. Polym. Sci.* **1993**, *49*, 1553
- [13] Kuckling, D.; Harmon, M.E.; Frank, C.W. *Macromolecules* **2002**, *35*, 6377
- [14] Hirotsu, S.; Hirokawa, Y.; Tanaka, T. *J. Chem. Phys.* **1987**, *87*, 1392
- [15] Feil, H.; Bae, Y.H.; Feijen, J.; Kim, S.W. *Macromolecules* **1992**, *25*, 5528
- [16] Huglin, M.B.; Liu, Y.; Velada, J.L. *Polymer* **1997**, *38*, 5785
- [17] Erbil, C.; Aras, S.; Uyanik, N. *J. Poly. Sci. A* **1999**, *37*, 1847
- [18] Wu, W.F.; Hsu, C.H. *Polymer* **1998**, *39*, 5393
- [19] Hirose, H.; Shibayama, M. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5336
- [20] Harmon, M.E.; Kuckling, D.; Frank, C.W. *Macromolecules* **2003**, *36*, 162
- [21] Prucker, O.; Naumann, C.A.; Ruhe, J.; Knoll, W.; Frank, C.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8766
- [22] Toomey, R.; Freidank, D.; Ruhe, J. *Macromolecules* **2004**, *37*, 882
- [23] Xue, W.; Hamley, I.W.; Huglin, M.B. *Polymer* **2002**, *43*, 5181
- [24] Tanaka, T. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Vol. 7, John Wiley & Sons
- [25] Qiu, Y.; Park, K. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *53*, 321
- [26] Hoffmann, A.S. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 3

- [27] Peppas, N.A.; Hilt, J.Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1345
- [28] Richter, A.; Kuckling, D.; Howitz, S.; Gehring, T.; Arndt, K.F. *J. Microelectromech. Syst.* **2003**, *12*, 748
- [29] Kishi, R.; Ono, E.; Ichijo, H.; Hirasa, O. *Polymer Gels: Fundamentals and Biomedical Applications*, Plenum Press
- [30] Ohya, S.; Nakayama, Y.; Marsuda, T. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 856
- [31] Richardson, T.P.; Peters, M.C.; Ennett, A.B.; Mooney, D.J. *Nature Biotechnology* **2001**, *19*, 1029
- [32] Maryland, P.; Zhang, Y.; Amidon, G.L.; Yang, V.C. *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *47*, 595
- [33] Sassi, A.P.; Lee, S.H.; Park, Y.H.; Blanch, H.W.; Praunitz, J.M. *J. Appl. Polym. Sci.* **1996**, *60*, 225
- [34] Corkhill, P.H.; Hamilton, C.J.; Tighe, B.J. *Biomaterials* **1989**, *10*, 3
- [35] Corkhill, P.H.; Hamilton, C.J.; Tighe, B.J. *Crit. Rev. Biocompat.* **1990**, *5*, 363
- [36] Page, J.D.; Derango, R.; Huang, A.E. *Colloids and Surfaces A* **1998**, *132*, 193
- [37] Wolpert, S. *Journal of Membrane Science* **1997**, *132*, 23
- [38] Disley, D.M.; Blyth, J.; Cullen, D.C.; You, H.X.; Eapen, S.; Lowe, C.R. *Biosensors & Bioelectronics* **1998**, *13*, 383
- [39] Choi, K.; Ha, Y.; Youn, H.; Choi, J. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* **1997**, *30*, 308
- [40] Singh, P. *Bioconjugate Chemistry* **1998**, *9*, 54
- [41] Sanford, M.S.; Charles, P.T.; Commisso, S.M.; Roberts, J.C.; Conrad, D.W. *Chemistry of Materials* **1998**, *10*, 1510
- [42] Piskin, E. *Int. J. Artif. Organs* **1984**, *7*, 283
- [43] Buijs, J.; White, D.D.; Norde, W. *Colloids and Surfaces B* **1997**, *8*, 239
- [44] Brynda, E.; Houska, M.; Skvor, J.; Ramsden, J.J. *Biosensors & Bioelectronics* **1998**, *13*, 165
- [45] MacBeath, G.; Schreiber, S.L. *Science* **2000**, *289*, 1760
- [46] Joos, T.O. et al. *Electrophoresis* **2000**, *21*, 2641
- [47] Mendoza, L.G.; McQuary, P.; Mongan, A.; Gangadharan, R.; Brignac, S.; Eggers, M. *Biotechniques* **1999**, *27*, 778

- [48] Ferruti, P.; Bettelli, A.; Fere, A. *Polymer* **1972**, *13*, 462
- [49] Knoll, W. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1998**, *49*, 569
- [50] Elias, H.G. *Makromoleküle*, Band 1, Wiley-VCH
- [51] Tieke, B. *Makromolekulare Chemie*, VCH
- [52] Odian, G. *Principles of Polymerization*, Wiley-Interscience
- [53] Turro, N.J. *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books
- [54] Junk, Matthias *Diplomarbeit*, Johannes Gutenberg Universität Mainz, **2007**
- [55] Raether, H. *Surface Plasmon on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings*, Springer Verlag
- [56] Agranovich, V.M. *Surface Polaritons*, North Holland
- [57] Yeh, P. *Optical Waves in Layered Media*, John Wiley & Sons
- [58] Aust, E.F.; Ito, S.F.; Sadowny, M.; Knoll, W. *Trends in Polymer Science* **1994**, *2*, 313
- [59] Knoll, W. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1998**, *49*, 569
- [60] Sambles, J.R.; Bradberry, G.W.; Yang, F. *Contemporary Physics* **1991**, *32*, 173
- [61] Kretschmann, E. *Zeitschrift für Physik* **1971**, *241*, 313
- [62] Born, M.; Wolf, E. *Principles of Optics*, Cambridge University Press
- [63] Lakowicz, J.R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press
- [64] Weisser, M.; Thoma, F.; Menges, B.; Langbein, U.; Mittler-Neher, S. *Opt. Commun.* **1998**, *153*, 27
- [65] Karte, W.; Müller, R. *Integrierte Optik*, Akademische Verlagsgesellschaft Geest und Porttig
- [66] Tien, P.K. *Rev. Mod. Phys.* **1977**, *49*, 361
- [67] Linares, J.; Prieto, X.; Montero, C. *Opt. Mater.* **1994**, *3*, 229
- [68] Guo, X.Q.; Qiu, K.Y.; Feng, X.D. *Makromol. Chem.* **1990**, *191*, 577
- [69] Li, Xiaosong *Masterarbeit*, Johannes Gutenberg Universität Mainz, **2004**
- [70] ChemgaPedia - Enzyklopädie zur Chemie (<http://www.chemgapedia.de>)
- [71] Chiklis, C.K.; Grasshoff, J.M. *J. Polym. Sci.* **1970**, *8*, 1617
- [72] Young, L.J. *J. Polym. Sci.* **1961**, *54*, 411
- [73] D'Agosto, F.; Charreyre, M.T.; Veron, L.; Llauro, M.F.; Pichot, C. *Makromol. Chem. Phys.* **2001**, *202*, 1689
- [74] Brandrup, J.; Immergut, E.H.; Grulke, E.A. *Polymer Handbook*, Wiley-Interscience

- [75] Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag
- [76] Kalinowski, H.O.; Berger, S.; Braun, S. *¹³C-NMR Spektroskopie*, Georg Thieme Verlag
- [77] Prucker, O.; Naumann, C.A.; Rhe, J.; Knoll, W.; Frank, C.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8766
- [78] Persönliche Mitteilung, Dr. Fang Yu, Stanford University, USA
- [79] Gianneli, M.; Beines, P.W.; Roskamp, R.F.; Koynov, K.; Fytas, G.; Knoll, W. *J. Phys. Chem. C* **2007**, akzeptiert
- [80] Schwille, P.; Haustein, E. *Biophysics Textbook Online*, www.biophysics.org/education/schwille.pdf, **2002**
- [81] Persönliche Mitteilung, Maria Gianneli, MPI für Polymerforschung, Mainz

9. Anhang

9.1 *Abkürzungen und Symbole*

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Ar	Aromat
BP-Silan	4-{3-[chloro(dimethoxy)silanyl]propoxy}benzophenon
BP-Thioacetat	S-3-(4-Benzoylphenoxy)propylthioacetat
bs	breites Singulett (NMR)
C _q	quartäres Kohlenstoffatom
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSC	engl.: differential scanning calorimetry
engl.	englisch
eq.	Äquivalente
Et	Ethyl
EtOH	Ethanol
FT-IR	Fouriertransformations-Infrarotspektroskopie
gew%	Gewichtsprozent
GPC	Gelpermeationschromatographie
h	Stunden
iPr	Isopropyl
LCST	Untere Kritische Entmischungstemperatur
m	Multipllett (NMR), mittel (IR)
M	molar
MBAAm	Methylenbisacrylamid
Me	Methyl
MeOH	Methanol

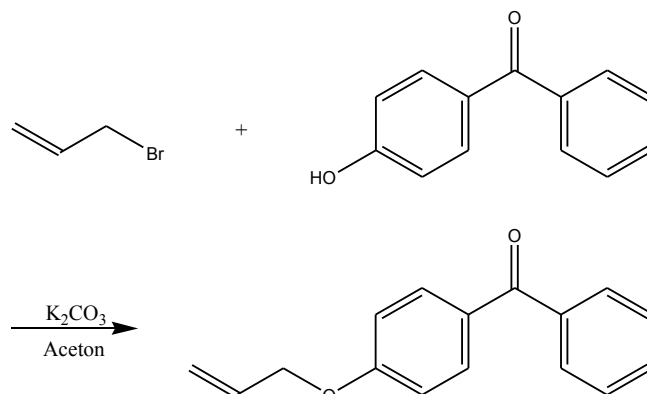
MAA	Methacrylsäure
MABP	4-Methacryloyloxybenzophenon
MAPh	Methacrylsäurephenylester
MAtBu	Methacrylsäure-tert-butylester
MBAAm	N,N'-Methylenbisacrylamid
M _n	Zahlenmittel des Molekulargewichtes
mol%	Molprozent
M _w	Gewichtsmittel des Molekulargewichtes
NASI	N-Acryloyloxysuccinimid
neg.	negative Phasenlage (¹³ C-NMR Spinecho)
n. gef.	nicht gefunden
NHS	N-Hydroxysuccinimid
NIPAAm	N-Isopropylacrylamid
NMR	Kernresonanzspektroskopie
OWFS	Optische Wellenleiter-Fluoreszenzspektroskopie
OWS	Optische Wellenleiter-Spektroskopie
p.a.	Reinheitsgrad: zur Analyse
pent	Pentett (NMR)
PDI	Polydispersitätsindex
pos.	positive Phasenlage (¹³ C-NMR Spinecho)
ppm	engl.: parts per million
Rh6G	Rhodamin Rh6G Fluoreszenzfarbstoff
s	Singulett (NMR), stark (IR)
SA	Natriumacrylat
SMA	Natriummethacrylat

SPFS	Oberflächenplasmonen-Fluoreszenzspektroskopie
SPR	Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie
t	Triplet (NMR)
T _{5%}	Temperatur des 5 %igen Abbaus
T _g	Glaspunkt
TGA	Thermogravimetrische Analyse
T _{max}	Temperatur der maximalen Abbaugeschwindigkeit
TMEDA	Tetramethylethyldiamin
UV	Ultraviolett
w	wenig (IR)
WKB	Wentzel-Kramers-Brillouin-Näherung
δ	chemische Verschiebung (NMR)
λ	Wellenlänge
ν	Wellenzahl (IR)

9.2 Zusätzliche Synthesevorschriften

9.2.1 Synthese von 4-Allyloxybenzophenon

(zur Verfügung gestellt vom AK Prof. Rühle, IMTEK Freiburg)



4-Allyloxybenzophenon

4-Hydroxybenzophenon	0,1 mol
Allylbromid	0,11 mol
Kaliumcarbonat	14 g
Aceton, getrocknet	30 ml
Wasser	50 ml
Diethylether	200 ml
NaOH-Lösung (10 %)	400 ml

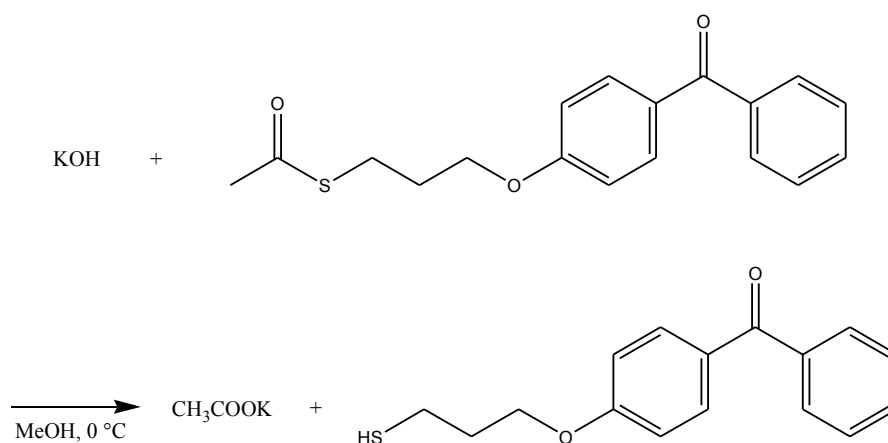
In einem 250 ml Kolben mit Rückflusskühler und Trockenrohr werden 0,1 mol 4-Hydroxybenzophenon und 0,11 mol Allylbromid in 30 ml trockenem Aceton gelöst und mit 14 g Kaliumcarbonat versetzt. Dann erhitzt man unter Rühren drei Stunden zum Rückfluss, kühlt auf Raumtemperatur ab und versetzt die Reaktionsmischung mit 50 ml Wasser. Anschließend wird die resultierende Lösung zweimal mit jeweils 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen werden dann zweimal mit verdünnter Natriumhydroxidlösung (10 %) gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat

getrocknet. Man filtriert vom Feststoff ab und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Eine weitere Reinigung des Produktes kann durch Umkristallisieren aus Methanol erfolgen.

Ausbeute: 80 % eines weißen Pulvers

9.2.2 Umsetzung des BP-Thioacetats zum entsprechenden BP-Thiol

(durchgeführt von Matthias Junk)



(3-Thiopropyl)oxybenzophenon

BP-Thioacetat	2,45 g (7,79 mmol)
Kaliumhydroxid	0,55 g (9,75 mmol)
Methanol	7,5 ml

Kaliumhydroxid wird in Methanol gelöst. Dann wird die Lösung 15 Minuten lang mit Argon gesättigt, um gelösten Sauerstoff zu entfernen, und anschließend auf 0°C gekühlt. Man gibt das BP-Thioacetat hinzu und lässt unter ständigem Rühren auf Raumtemperatur erwärmen. Nach 2 Stunden zeigt ein Dünnschichtchromatogramm (Laufmittel: Hexan/Essigester 10/1) die beendete Reaktion. Zu der Reaktionslösung werden 30 ml Wasser gegeben und anschließend 25 ml Essigester. Die wässrige Phase wurde dann dreimal mit jeweils 25 ml Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen

wurden nochmals mit 50 ml Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Danach wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt nochmals über Nacht im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 94% einer hellgelben, viskosen Flüssigkeit

9.3 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Patrick Beines
geboren am 21.07.1977 in Mönchengladbach-Rheydt
Familienstand ledig, keine Kinder

Beruflicher Werdegang

- 05/2004-07/2007 **Max Planck Institut für Polymerforschung**, Mainz
Promotion im Bereich Polymer Science
Thema: *Synthese und Charakterisierung einer Hydrogelmatrix für die Multianalyt-Sensorik*
- 10/1998-01/2004 **Philipps Universität Marburg**
Chemiestudium mit Spezialisierung in Polymer Science
- 04/2003-01/2004 Diplomarbeit in Polymer Science
Thema: *Synthese von Polyacrolein und Copolymeren durch freie und kontrollierte radikalische Polymerisation*
- 10/2000 Vordiplom
- 08/1997-09/1998 **Johanniter-Unfall-Hilfe**, Mönchengladbach
Zivildienst
- 08/1988-06/1997 **Städtisches Gymnasium an der Gartenstraße**, Mönchengladbach
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Wissenschaftliche Veröffentlichungen

Beines, P.W.; Klosterkamp, I.; Menges, B.; Jonas, U.; Knoll, W. *Langmuir* **2007**, 23(4), 2231

Gianneli, M.; Beines, P.W.; Roskamp, R.; Koynov, K.; Fytas, G.; Knoll, W. *J. Phys. Chem. C*, akzeptiert