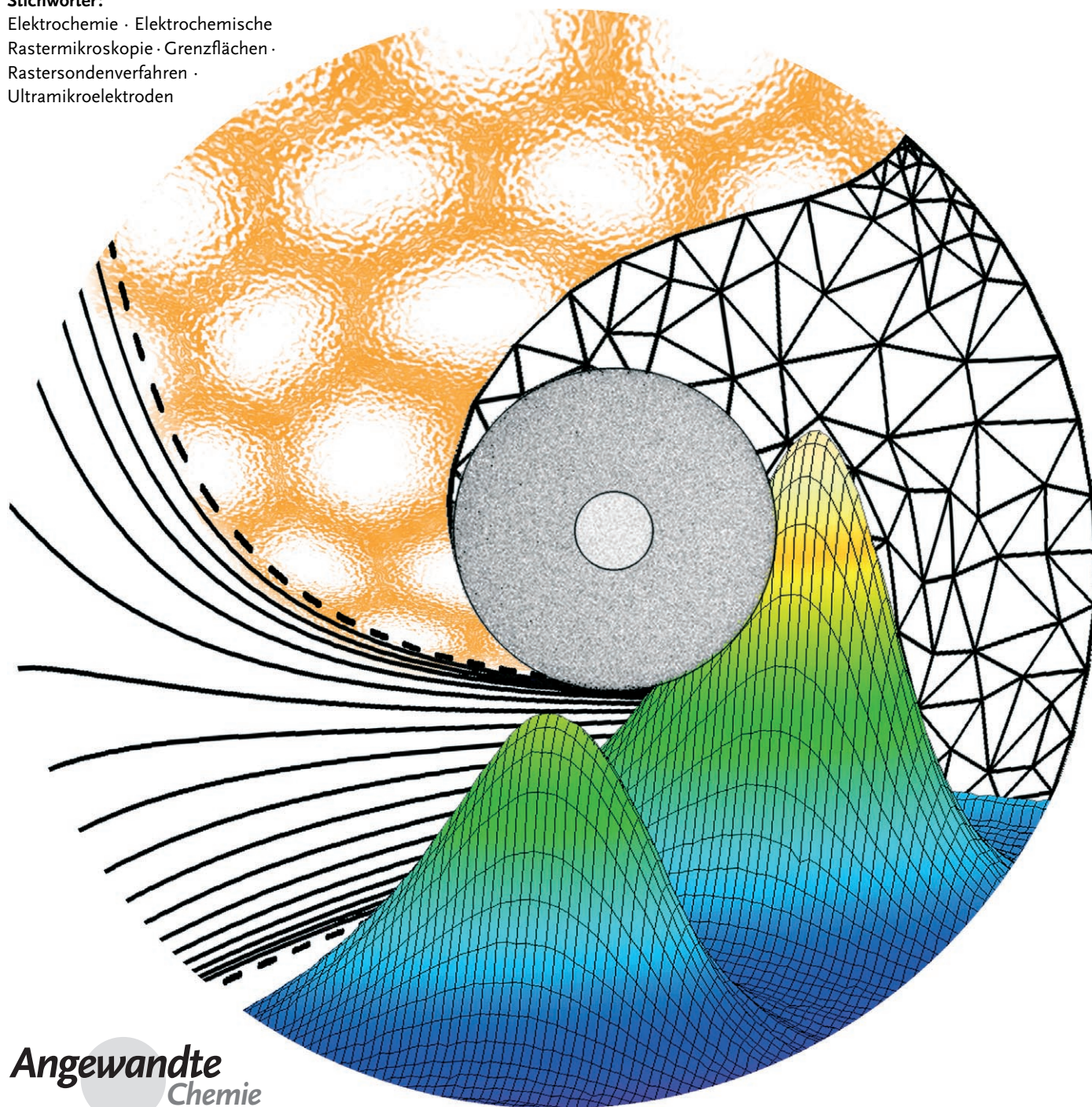


Elektrochemische Rastermikroskopie zur direkten Abbildung von Reaktionsgeschwindigkeiten

Gunther Wittstock,* Malte Burchardt, Sascha E. Pust, Yan Shen und Chuan Zhao

Stichwörter:

Elektrochemie · Elektrochemische Rastermikroskopie · Grenzflächen · Rastersondenverfahren · Ultramikroelektroden



Eine entscheidende Rolle in der Elektrochemie, aber auch in biologischen Systemen oder beim Transport durch Membranen, spielen lokale Prozesse an Fest-flüssig-Grenzflächen oder Flüssig-flüssig-Grenzflächen, die z. B. an Defektstellen, an Poren oder an einzelnen Zellen ablaufen und sich durch integrale Untersuchungsverfahren nur schwer erfassen lassen. Mit der elektrochemischen Rastermikroskopie steht eine Untersuchungsmethode für lokale Grenzflächenreaktionen zur Verfügung, die nach zwei Jahrzehnten Entwicklung eine solide theoretische Basis und eine große Zahl von Anwendungen aufweist. Sie bietet die Möglichkeit, Geschwindigkeiten heterogener Reaktionen direkt abzubilden und Oberflächen durch elektrochemisch erzeugte Reaktanten lokal zu modifizieren. Die Vielfalt der Anwendungen reicht von klassischen elektrochemischen Fragestellungen bei der Untersuchung lokaler Korrosionsphänomene und elektrokatalytischer Reaktionen in Brennstoffzellen, von Sensoroberflächen, Biochips und mikrostrukturierten Analysesystemen bis hin zum Massentransport durch synthetische Membranen, Haut und Gewebe sowie interzellulären Kommunikationsprozessen. Außerdem können Prozesse an Flüssigkeitsoberflächen oder an Flüssig-flüssig-Grenzflächen untersucht werden.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	1605
2. Zweidimensionale Kartierung von Reaktionsgeschwindigkeiten	1607
3. Kinetische Untersuchungen ohne laterale Bewegung der Ultramikroelektrode	1610
4. SECM als Mikrostrukturierungswerkzeug	1614
5. Anwendungsgebiete und spezifische Anforderungen	1617
6. Neue methodische und instrumentelle Entwicklungen	1628
7. Zusammenfassung und Ausblick	1632

1. Einleitung

Was könnten das Screening einer kombinatorischen Bibliothek von Sauerstoffreduktionskatalysatoren für Brennstoffzellen^[1] und die Untersuchung von in vitro befruchteten Rinderembryonen^[2] gemeinsam haben? Beide Untersuchungen bedienen sich der elektrochemischen Rastermikroskopie (SECM, scanning electrochemical microscopy). Bard et al. versorgten die Reduktionskatalysatoren durch Wasserelektrolyse an einer beweglichen Mikroelektrode mit gelöstem Sauerstoff.^[1] Durch Auftragung des Reduktionsstroms am Katalysator-Array gegen die Position der Mikroelektrode konnten die effektivsten Katalysatorzusammensetzungen identifiziert werden. Shiku et al. nutzten eine positionierbare Mikroelektrode zur Messung des Sauerstoffverbrauchs der Rinderembryonen, der eine Beurteilung ihrer Stoffwechselaktivität zuließ.^[2] Diese und weitere sehr unterschiedliche Anwendungen der SECM fußen auf zwei fundamentalen Neuentwicklungen der letzten zwei Jahrzehnte: der breiten Verwendung von mikroskopischen Elektroden und der vielfältigen Nutzung des Rastersondenprinzips.

Seit den achtziger Jahren sind die besonderen Eigenschaften kleiner Elektroden Gegenstand intensiver Untersuchungen.^[3,4] Einer ihrer Vorzüge ist die Ausbildung eines hemisphärischen Diffusionsfeldes, das einen effektiveren Massentransport als an makroskopischen Elektroden ermöglicht. Die besonderen Diffusionseigenschaften führen zur schnellen Einstellung eines stationären Diffusionsgrenzstromes $i_{T,\infty}$, der sich für eine scheibenförmige Elektrode mit einer seitlichen Isolierung aus Gleichung (1) ergibt,^[5] in der n

$$i_{T,\infty} = g n F D c^* r_T \quad (1)$$

die Reaktionsladungszahl, F die Faraday-Konstante, D den Diffusionskoeffizienten des Reaktanten, c^* die Volumenkonzentration des Reaktanten und r_T den Radius der scheibenförmigen aktiven Elektrodenfläche angibt. Der Geometriefaktor g nimmt für eine scheibenförmige Elektrode in einer unbegrenzt ausgedehnten Isolatorschicht den Wert 4 an.^[5]

Für typische Experimente werden die Eigenschaften solcher Elektroden sichtbar, wenn der Durchmesser der Elektrode kleiner als 30 μm ist. Elektroden mit diesen Eigenschaften werden als Ultramikroelektroden (UMEs) bezeichnet.^[3,4] Im folgenden Beitrag soll darüber hinaus impliziert werden, dass scheibenförmige Elektroden mit einer seitlichen isolierenden Einfassung gemeint sind, wenn die Abkürzung UME ohne ergänzende Zusätze steht. Der stationäre Diffusionsgrenzstrom ergibt eine Stromdichte, die größer ist als an konventionellen Elektroden unter hydrodynamischen Bedingungen (etwa an einer rotierenden Scheibenelektrode). Daher bewirkt eine Relativbewegung zwischen UME und Lösung eine vernachlässigbare Verstärkung des Reaktionsstroms. Engstrom et al. nutzten 1986 UMEs als Messfühler zur Erfassung von Konzentrationsprofilen über makroskopischen Elektroden^[6] – rückblickend das erste Experiment der

[*] Prof. Dr. G. Wittstock, M. Burchardt, S. E. Pust, Dr. Y. Shen, Dr. C. Zhao
Carl von Ossietzky-Universität Oldenburg
Institut für Reine und Angewandte Chemie und Institut für Chemie und Biologie des Meeres
26111 Oldenburg (Deutschland)
Fax: (+49) 441-798-3979
E-Mail: gunther.wittstock@uni-oldenburg.de

elektrochemischen Rastermikroskopie. Eine parallele Entwicklung ergab sich aus der Anwendung des Rastertunnelmikroskops in elektrochemischer Umgebung (ECSTM, electrochemical scanning tunneling microscope), das vom grundsätzlichen Aufbau her einige Gemeinsamkeiten mit dem SECM aufweist. Bard et al. beobachteten 1986 ungewöhnlich große Ströme in ECSTM-Experimenten, bei denen sich die Spitze außerhalb der Tunneldistanz befand.^[7] Im Jahre 1989 hatten Bard et al. eine quantitative Beschreibung des Diffusionsgrenzstromes an einer UME als Funktion des Abstandes d zu einer großflächigen ebenen Probe ausgearbeitet.^[8] Damit war klar, dass den Experimenten trotz der instrumentellen Analogien zur ECSTM ein anderes Wechselwirkungsprinzip zugrunde lag, aus dem sich völlig neuartige Anwendungen ergaben. Der englische Begriff „scanning electrochemical microscopy“ wurde geprägt. Hierfür bevorzugen wir die Übersetzung „elektrochemische Rastermikroskopie“. Als Abkürzung erhält aus Gründen der Klarheit aber die englische Abkürzung SECM den Vorzug. Für eine Reihe weiterer spezieller technischer Termini lehnt sich

dieser Aufsatz ebenfalls bewusst an den englischen Sprachgebrauch an. Entsprechend der internationalen Praxis kommen die Akronyme wie SECM und ECSTM sowohl für die Methode als auch für das entsprechende Mikroskop zum Einsatz. Die SECM-Untersuchungen sind in über 1000 Originalbeiträgen dargelegt^[9] und in teilweise fokussierten Übersichtsartikeln zusammengefasst, von denen hier nur eine Auswahl zitiert werden kann.^[10–19]

Ein SECM besteht aus einem Positioniersystem, das die als lokale Sonde verwendete UME und die Probe gegeneinander bewegt (Abbildung 1). Je nach Größe der UME können unterschiedliche Positioniertechniken zum Einsatz kommen, wobei die Anforderungen zunehmen, je kleiner die

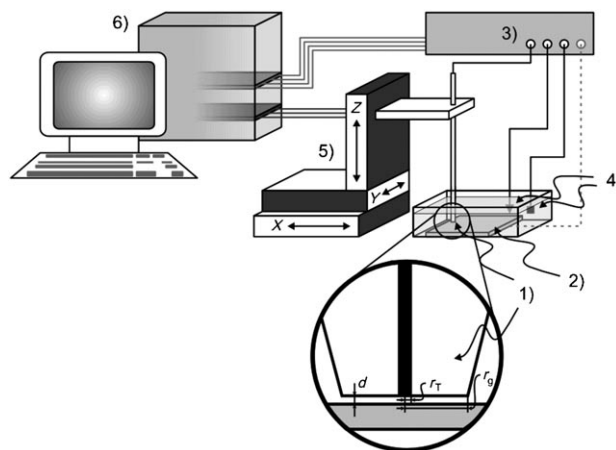
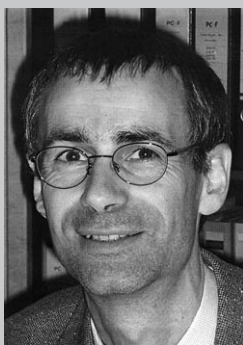


Abbildung 1. Wichtige Baugruppen eines SECM. 1) Scheibenförmige amperometrische Ultramikroelektrode, 2) Probe, 3) Mono- oder Bipotentiostat, 4) Referenz- und Gegenelektrode, 5) Positioniersystem, 6) Steuerrechner.



Gunther Wittstock wurde 1965 in Schwerin geboren. Nach dem Chemiestudium an der Universität Leipzig promovierte er 1994 in analytischer Chemie bei H. Emons und G. Werner. Nach der Habilitation bei R. Scharif in Leipzig nahm er 2001 einen Ruf auf eine Professur für physikalische Chemie an der Universität Oldenburg an. Seine Forschungsinteressen umfassen die Untersuchung von lokalen Reaktionen an Fest-flüssig-Grenzflächen, die Anbindung von biochemischen und biomimetischen Funktionseinheiten an Festkörperoberflächen und lokale elektrochemische Oberflächenmodifikationen.



Malte Burchardt wurde 1979 in Delmenhorst geboren. Er schloss das Chemiestudium 2004 an der Universität Oldenburg ab. Seither ist er Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Wittstock und beschäftigt sich mit der Herstellung und Charakterisierung von gemusterten funktionalen Polyelektrolytmultischichtfilmen.



Sascha E. Pust wurde 1980 in Lingen (Ems) geboren. Er schloss das Chemiestudium 2006 an der Universität Oldenburg mit dem Diplom ab. Zurzeit ist er Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Wittstock und forscht über die kornaufgelösten elektrochemischen Eigenschaften von Passivschichten mehrphasiger titanbasierter Implantatmaterialien.



Yan Shen wurde 1973 in der Inneren Mongolei, Volksrepublik China, geboren. Sie studierte Chemie an der Inner Mongolia Normal University (B.Sc. 1997) und an der Jilin University (M.Sc. 2000 bei Prof. Hengbin Zhang) und promovierte 2003 am Changchun Institute of Applied Chemistry der Chinesischen Akademie der Wissenschaften bei Prof. Shaojun Dong. Sie war Stipendiatin der Alexander von Humboldt-Stiftung und forschte in der Arbeitsgruppe von Prof. Wittstock über die Kinetik von farbstoffsensibilisierten Oxidfilmen und der elektrochemischen Sauerstoffreduktion.



Chuan Zhao wurde 1974 in Shannxi, Volksrepublik China, geboren. Er studierte Chemie an der Northwest University und promovierte dort 2002 bei Prof. Junfeng Song über organische Elektrochemie und Elektroanalytik in Fließsystemen. Von 2002 bis 2006 war er Postdoc bei Prof. Wittstock an der Universität Oldenburg. Seine Forschungen umfassten die elektrochemische Rastermikroskopie und Oberflächenchemie sowie deren Anwendung für biosensorische und zellbiologische Fragestellungen.

verwendeten UMEs sind. Die UME wird als amperometrische Mikroelektrode an einen Potentiostaten angeschlossen. Der Stromkreis wird durch eine Referenzelektrode und eine Gegenelektrode in der Messzelle geschlossen. Die zu untersuchende Probe kann, muss jedoch nicht als zweite Elektrode an einen Bipotentiostaten angeschlossen werden. Damit ähnelt die Messanordnung des SECM aus UME und Probe (Abbildung 2a) einer elektrochemischen Dünnschichtzelle (Abbildung 2b).^[20] Wesentlich ist hierbei, dass redoxaktive

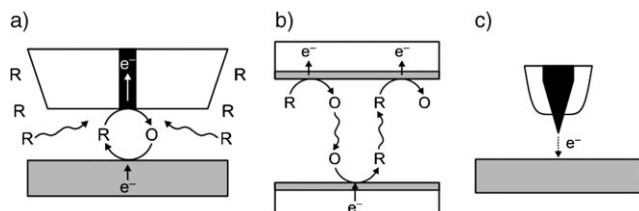


Abbildung 2. Vergleich der Funktionsprinzipien von a) SECM, b) einer elektrochemischen Dünnschichtzelle, c) ECSTM. R steht für die reduzierte Form, O für die oxidierte Form eines Redoxpaares.

Substanzen in der Dünnschichtzelle an den beiden Elektroden abwechselnd oxidiert und reduziert werden können. Das ECSTM (Abbildung 2c) hat mit dem SECM die Positionierbarkeit der Sonde gemein.

Entsprechend dieser Analogie bezeichnet man in der SECM die lokale Sonde häufig auch als „tip“, obwohl es sich meist um eine scheibenförmige UME handelt. Der Sonde zugeordnete Größen wie Radius (r_T),^[8] Stromstärke (i_T) und Elektrodenpotential (E_T) werden deshalb mit „T“ und entsprechende Größen für die Probe mit „S“ (sample, specimen, substrate) indiziert. Der Stromfluss entsteht bei der ECSTM jedoch durch einen quantenmechanischen Tunneleffekt,^[21] also ohne eine elektrochemische Stoffumsetzung, während bei der SECM der Stromfluss zwischen Probe und UME nur durch gelöste Substanzen vermittelt wird, die in (elektro)chemische Reaktionen an der UME und der Probe eintreten. Die UME kann sich daher auch in einem Abstand von der Probe bewegen, der deutlich größer als der Tunnelabstand ist. Die laterale Auflösung der ECSTM ist wegen der kurzen Reichweite des quantenmechanischen Tunneleffekts prinzipiell besser als beim SECM. Entsprechend der unterschiedlichen Wirkmechanismen von ECSTM und SECM ist auch der Informationsgehalt entsprechender Abbildungen komplementär. Während die Unterscheidung beider Methoden konzeptionell klar erscheint, gibt die Deutung einiger Experimente immer wieder Anlass zu intensiven und spannenden Debatten,^[22–27] da sich die instrumentellen Merkmale des SECM mit Erhöhung der lateralen Auflösung weitgehend den ECSTM-Ausrüstungen annähern und eine Zuordnung der Experimente allein auf der Grundlage des verwendeten Geräts immer weniger überzeugend erscheint.

2. Zweidimensionale Kartierung von Reaktionsgeschwindigkeiten

SECM-Abbildungsexperimente können im Generator-Kollektor-Modus (GC-Modus) oder im Feedback-Modus

(FB-Modus; Rückkopplungsmodus) ausgeführt werden. Für beide Modi liegen umfangreiche theoretische Behandlungen vor, die auf der numerischen Lösung der Diffusionsgleichungen beruhen. Gerade die detaillierte quantitative Behandlung vieler SECM-Experimente stellt einen großen Vorzug dieser Technik dar. In diesem Aufsatz werden die Grundprinzipien beider Modi vergleichend diskutiert und die Ergebnisse der theoretischen Arbeiten zusammengefasst. Für deren detaillierte Diskussion muss auf die umfangreiche Originalliteratur und spezialisiertere Übersichtsarbeiten verwiesen werden.^[10,11,13,15]

2.1. Feedback-Modus

2.1.1. Prinzip

Für Messungen im FB-Modus wird der Leitelektrolytlösung eine Redoxform eines quasi-reversiblen Redoxpaares – ein Mediator – zugesetzt. Im Folgenden soll angenommen werden, dass die reduzierte Form R zugesetzt wird, allerdings gelten die Erläuterungen unter Umkehrung der Reaktionsrichtungen auch für Experimente, in denen die oxidierte Mediatorform O vorgelegt wird. An die UME wird ein Potential E_T angelegt, bei dem es zu einer diffusionskontrollierten Umsetzung des Mediators nach Gleichung (2) kommt



und dadurch ein stationärer Reaktionsstrom $i_{T,\infty}$ nach Gleichung (1) entsteht. Der Index „ ∞ “ deutet den quasi unendlichen Abstand d der UME zur Oberfläche der Probe an (Abbildung 3a). Nähert man die UME nun einer isolierenden, inerten Oberfläche an, behindert die Oberfläche die Diffusion von R zur UME (Abbildung 3b), und der Reaktionsstrom i_T nimmt ab. Für dieses Verhalten hat sich die Bezeichnung „negativer Feedback“ eingebürgert.^[17]

Bringt man die UME dagegen über eine Oberfläche, an der der Mediator R durch eine (elektro)chemische Umsetzung regeneriert werden kann, steht eine zusätzliche Quelle für den Reaktanten in Reaktion (2) zur Verfügung, und $i_T(d)$

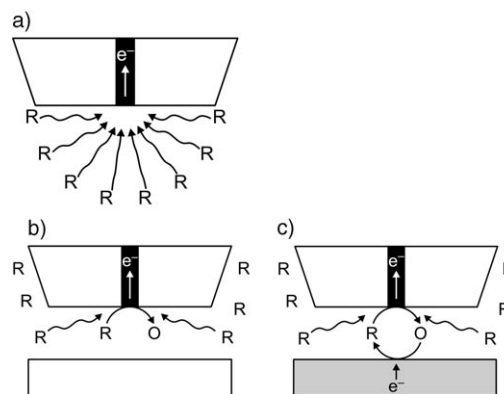


Abbildung 3. Prinzip des Feedback-Modus. a) Stationärer Diffusionsgrenzstrom in der Volumenphase, b) gehinderte Diffusion bei Annäherung der UME an die zu untersuchende Probe (negativer Feedback), c) Mediatorregeneration durch eine heterogene Reaktion an der Probe (positiver Feedback).

erhöht sich gegenüber $i_T(d)$ an einer inerten Probe (Abbildung 3c). Der Begriff „positiver Feedback“ hat sich für dieses Prinzip durchgesetzt.^[17] Für die Mediatorregeneration kommen drei Reaktionstypen infrage: eine elektrochemische Umsetzung des Mediators an der Probe als Umkehrung der Reaktion (2), eine (enzym)katalysierte Reaktion unter Verbrauch von O und Rückbildung von R oder die lokale Oxidation des Probenmaterials durch O.

2.1.2. Bedeutung des UME-Radius

Die Abbildung 4 zeigt die Veränderung von i_T mit d . Diese Kurven lassen sich durch eine langsame Annäherung

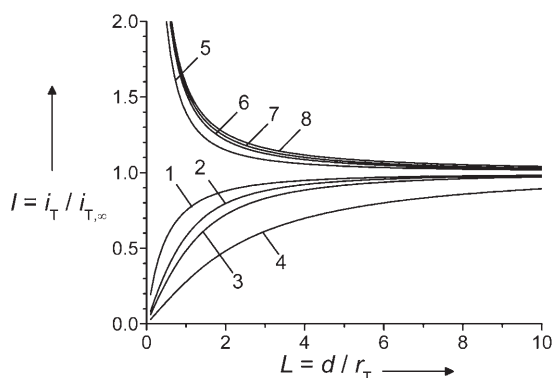


Abbildung 4. Berechnete Strom-Abstands-Kurven für die gehinderte Diffusion (Kurven 1–4) und die diffusionskontrollierte Regeneration des Mediators an der Probe (Kurven 5–8) bei RG -Werten von 1.5 (Kurven 1, 5), 5.1 (2, 6), 10.2 (3, 7) und 1002 (4, 8). Die Kurven wurden mit Näherungsformeln berechnet,^[34] die sich aus digitalen Simulationen ergeben.

der UME an die Probe mit großer Genauigkeit aufzeichnen („Annäherungskurven“). Sie zeigen den normierten Strom $I_T = i_T / i_{T,\infty}$ als Funktion des normierten Abstandes $L = d / r_T$. Durch die Normierung sind die Strom-Abstands-Kurven [Gl. (3) und (4); Abschnitt 2.1.4] unabhängig von der Konzentration des Mediators, dem Diffusionskoeffizienten und r_T . Zu beachten ist jedoch, dass die erreichbare laterale Auflösung, aber auch der zum Erreichen eines gegebenen normierten Stromes (entspricht dem Kontrast) nötige Absolutabstand d , direkt proportional zu r_T sind. Eine Verbesserung der lateralen Auflösung im FB-Modus hängt daher direkt vom Einsatz kleinerer UME ab. Dies führt bei $r_T \leq 1 \mu\text{m}$ zu erheblichen experimentellen Problemen bei der vertikalen Positionierung der UME, die zusammen mit Realisierungsmöglichkeiten für Arbeiten bei konstantem d im Abschnitt 6 besprochen werden.

2.1.3. Bedeutung der seitlichen Isolierung

Der Strom nach Abbildung 3b bildet ein Hintergrundsignal, das durch die Umsetzung von R entsteht, welches aus der Volumenphase zur UME diffundiert. Um eine an der Probe ablaufende Reaktion zu detektieren, muss eine Reaktion an der Oberfläche der Probe in Abbildung 3c einen messbaren zusätzlichen Nachschub an R für die UME liefern.

Die Detektion ist umso einfacher, je kleiner der normierte Strom $I_T = i_T / i_{T,\infty}$ ohne Reaktion an der Probe ist. Da sowohl i_T als auch $i_{T,\infty}$ proportional zur Volumenkonzentration von R sind, hängt I_T nur von L und der Dicke der seitlichen Isolierung ab, die mit der Oberfläche der Probe eine seitlich offene Dünnschichtzelle bildet. Die geometrischen Verhältnisse an Mikroscheibenelektroden lassen sich durch den RG -Wert charakterisieren, der das Verhältnis zwischen dem Radius r_{glass} der isolierenden Ummantelung und dem Radius r_T der aktiven Elektrodenoberfläche beschreibt. Zur Berechnung von $i_{T,\infty}$ muss in Gleichung (1) der geometrieabhängige Vorfaktor g modifiziert werden (z.B. $g = 4.07$ für $RG = 10$, $g = 4.44$ für $RG = 2$, $g = 4.95$ für $RG = 1.2$).^[28]

Wie die Kurven 1–4 in Abbildung 4 illustrieren, ändert sich neben $i_{T,\infty}$ auch die gesamte Strom-Abstands-Kurve für die gehinderte Diffusion: Je größer der RG -Wert, desto kleiner ist I_T bei gegebenen L . Die normierten Ströme für den positiven FB zeigen nur eine geringe Abhängigkeit von RG .

Bei Annahme idealisierter Geometrien, wie sie vielen SECM-Simulationen zugrundeliegen, ist eine Erhöhung der Empfindlichkeit mit steigendem RG zu erwarten, da bei gegebenen d der Signalunterschied zwischen positivem FB und gehinderter Diffusion größer wird. Tatsächlich ist aber die Herstellung von UMEs mit definierter Größe und Form der aktiven Fläche und der isolierenden Einfassung anspruchsvoll. Häufig ist die aktive Elektrodenfläche exzentrisch angeordnet oder nach dem Polieren zurückgesetzt (recessed), oder die Stirnfläche der UME weist eine Verkippung gegen die Probenoberfläche auf, wodurch es insbesondere bei großen RG zu einer Berührung der seitlichen Ummantelung der UME mit der Probe kommen kann, obwohl die aktive Fläche der UME noch einen recht großen Abstand zur Probe aufweist. Diese Probleme sind insbesondere bei UMEs mit großem RG und bei UMEs mit Abmessungen im Nanometermaßstab schwer zu beherrschen.

In der Literatur finden sich daher mehrere Herangehensweisen, die jede für sich ihre Berechtigung haben: 1) Relativ große UMEs lassen sich mit dem entsprechenden Aufwand in perfekter Form herstellen und über ideal glatten Proben einsetzen. Die Simulationen sind dann direkt anwendbar. UMEs mit einem RG von 5–20 scheinen für die Mehrzahl der publizierten FB-Anwendungen einen sinnvollen Kompromiss zwischen Handhabbarkeit, Empfindlichkeit und Positionierbarkeit darzustellen. 2) Für kleine Abweichungen von der idealen Form und Proben mit geringer Rauigkeit sind die idealisierten Simulationen immer noch gute Näherungen, da die Abweichungen im Vergleich zu anderen experimentellen Unsicherheiten klein bleiben. 3) Bei sehr kleinen UMEs verzichtet man schließlich zugunsten einer höheren lateralen Auflösung und einer qualitativen Aussage häufig auf eine exakte quantitative Beschreibung oder unternimmt Simulationen für individuelle Elektroden mit komplexen Geometrien.^[29–31]

2.1.4. Einfluss der Probentopographie und -größe

Bei Vorgabe von r_T , der Sondengeometrie (durch RG für scheibenförmige UMEs) und d wurde i_T für die Grenzfälle der unbegrenzt ausgedehnten, inerten und isolierenden Probe

und der diffusionskontrollierten Mediatorregeneration an der Probe durch Lösung des Diffusionsproblems mit unterschiedlichen numerischen Methoden erhalten.^[8,32–39] Die Simulationen für unterschiedliche d lassen sich für die beiden Grenzfälle durch analytische Näherungen beschreiben. Von den verschiedenen, etwa gleichwertigen Formeln^[40] sei hier nur je eine angegeben. Die Annäherung an eine inerte, isolierende Probe mit einer UME mit $RG=10$ wird durch Gleichung (3) gut erfasst.^[34]

$$I_T^{\text{ins}}(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = \frac{1}{0.40472 + \frac{1.60185}{L} + 0.58819 \exp\left(-\frac{2.37294}{L}\right)} \quad (3)$$

Die Kurven 1–4 in Abbildung 4 für andere RG -Werte erhält man durch Substitution der numerischen Konstanten gegen geeignete Werte.^[34] Den Sondenstrom bei diffusionskontrollierter Regeneration des Mediators und damit das maximal mögliche Signal bei einem gegebenen d beschreibt Gleichung (4) für eine UME mit $RG=10$.^[34]

$$I_T^{\text{cond}}(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = 0.72627 + \frac{0.76651}{L} + 0.26015 \exp\left(-\frac{1.41332}{L}\right) \quad (4)$$

Auch hier stehen weitere Sätze von numerischen Konstanten zur Verfügung, um Kurven für andere RG -Werte zu erhalten.^[34] In Abbildung 4 sind simulierte Strom-Abstands-Kurven für die beiden Grenzfälle und UMEs mit unterschiedlichen RG -Werten dargestellt. Bei Kenntnis des RG -Wertes und der Reaktivität der Probe ermöglichen diese Kurven eine vertikale Positionierung der UME. Die starke Abhängigkeit der Strom-Abstands-Kurven von der Reaktivität der Probe (siehe Abschnitt 2.1.5) verbietet es aber, i_T als Eingangssignal für einen Rückkopplungskreis zur Konstanthaltung von d zu verwenden, wie er bei der STM und der Rasterkraftmikroskopie (SFM, scanning force microscopy) routinemäßig zum Einsatz kommt. Bisher wurden die meisten SECM-Experimente durch Bewegen der UME in einer Ebene ausgeführt (constant height mode). Die Interpretation der Signale von rauen Proben ist daher ohne zusätzliche Informationen kaum möglich.^[41] Eine detaillierte Darstellung von stromunabhängigen Abstandskontrollmechanismen und der Entwicklung kleinerer Messsonden folgt in Abschnitt 6.

Die Kurven in Abbildung 4 wurden für ebene, unendlich ausgedehnte Proben einheitlicher Reaktivität abgeleitet. Praktisch findet man eine gute Übereinstimmung mit dem Experiment, wenn der Radius der untersuchten Probenregion $r_s \geq r_T + 1.5d$ beträgt.^[42,43] Sind die Bereiche einheitlicher Reaktivität auf der Probe kleiner, liegt i_T zwischen den in Abbildung 4 gezeigten Grenzfällen.

2.1.5. Einfluss der heterogenen Kinetik an der Probe

Bei konstantem d ist der UME-Strom i_T ein direktes Maß für die Kinetik der Mediatorregeneration an der Probe. Die Kurven in Abbildung 4 geben dabei lediglich die Grenzfälle wieder, bei denen gar keine Mediatorregeneration (Kurven 1–4) oder diffusionskontrollierte Mediatorregeneration (Kurven 5–8) auftritt. Für jede endliche Reaktionsgeschwindigkeit ergibt sich eine eigene Annäherungskurve, die zwi-

schen diesen Kurven liegt. Für eine Reaktion an der Probe, die einem Zeitgesetz erster Ordnung bezüglich O folgt, sind die normierten Annäherungskurven unabhängig von der Gesamtkonzentration des Mediators. Diese Kurven sind sowohl theoretisch berechnet^[42] als auch experimentell verifiziert worden.^[44] Häufig verwendet wird eine analytische Näherung [Gl. (5) und (6)], die für $RG=10$ und normierte Abstände $0.1 \leq L \leq 1.5$ gilt.^[45]

$$I_T(L) = \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = I_T^{\text{ins}}(L) + I_s^{\text{kin}}(L) \left(1 - \frac{I_T^{\text{ins}}(L)}{I_T^{\text{cond}}(L)}\right) \quad (5)$$

$$I_s^{\text{kin}}(L, k_{\text{eff}}) = \frac{0.78377}{L(1 + \frac{1}{\kappa L})} + \frac{0.68 + 0.3315 \exp\left(-\frac{1.0672}{L}\right)}{1 + \frac{(11/\kappa L) + 7.3}{110 - 40L}} \quad (6)$$

Für I_T^{ins} und I_T^{cond} sind die Ausdrücke nach Gleichung (3) und (4) einzusetzen. Der Parameter $\kappa = k_{\text{eff}} r_T / D$ ist eine dimensionslose Geschwindigkeitskonstante. Aus ihr kann bei Kenntnis des Radius r_T der UME und des Diffusionskoeffizienten D des Mediators eine heterogene Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung k_{eff} [cm s^{-1}] ermittelt werden. Die Abbildung 5 zeigt eine Auswahl von Kurven für unter-

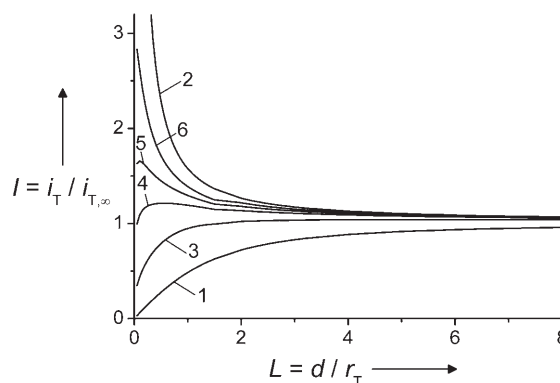


Abbildung 5. Berechnete Strom-Abstands-Kurven mit einer UME ($RG=10$) für gehinderte Diffusion (Gl. (3), Kurve 1), diffusionskontrollierte Mediatorregeneration (Gl. (4), Kurve 2) und kinetisch limitierte Mediatorregeneration (Gl. (5) und (6)) mit $\kappa = k_{\text{eff}} r_T / D = 0.3$ (3), 1.0 (4), 1.8 (5), 3.6 (6).

schiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten an der Probe. Dieses Diagramm hat eine zentrale Bedeutung für viele SECM-Anwendungen. Bei konstantem Arbeitsabstand liefert eine zweidimensionale Abbildung eine direkte Kartierung der lokalen Reaktionsgeschwindigkeit an der Probe. Andererseits kann man die UME an ausgewählten Regionen der Probe positionieren, eine Annäherungskurve aufzeichnen und durch Anpassung an die oben diskutierten Modelle eine lokale Reaktionsgeschwindigkeitskonstante extrahieren, die vielfach auf anderen Wegen nicht zugänglich ist. Beispiele werden in Abschnitt 3 diskutiert.

Komplizierter ist die Situation, wenn die Umsetzung an der Probe eine enzymatische Reaktion ist, die sich häufig durch den Michaelis-Menten-Formalismus beschreiben lässt.^[46] In diesen Fällen nähert sich die Reaktionsgeschwindigkeit bei hohen Mediator- und Substratkonzentrationen einer Reaktion nullter Ordnung bezüglich der Reaktanten an,

während das Hintergrundsignal (Kurven 1–4 in Abbildung 4) proportional zur Volumenkonzentration des Mediators ist (Abschnitt 5.1.1).

2.2. Generator-Kollektor-Modus

2.2.1. Prinzip

Im Generator-Kollektor-Modus (GC-Modus) arbeitet man in einer Lösung, die zunächst keine Verbindung enthält, die an der UME beim Potential E_T umgesetzt werden kann. Wird nun an der Probe lokal eine oxidierbare oder reduzierbare Substanz gebildet, kann diese an der UME detektiert werden, wenn sich die UME in der Nähe der aktiven Region befindet (Abbildung 6a). Diese Arbeitsweise wird auch als

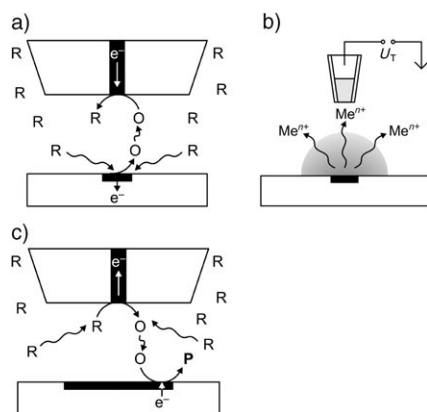


Abbildung 6. Prinzip des Generator-Kollektor-Modus. a) SG/TC-Modus mit amperometrischer UME, b) SG/TC-Modus mit potentiometrischer Mikroelektrode (z. B. ionenselektiver Elektrode), c) TG/SC-Modus.

Sample-Generation/Tip-Collection-Modus (SG/TC) bezeichnet. GC-Experimente lassen sich auch mit potentiometrischen Mikroelektroden durchführen (Abbildung 6b).^[14,47–58] Diese haben als passive Sensoren den Vorteil, die Diffusionsschichten der Probe weniger zu beeinflussen.^[59–64] Dagegen ist ihre Positionierung experimentell aufwendig, da die gehinderte Diffusion nach Gleichung (3) nicht nutzbar ist. Daher wurden sowohl bifunktionale Elektroden als auch kombinierte Rastertechniken eingesetzt (Abschnitt 6).^[58,65]

Schon früh wurde die Möglichkeit aufgezeigt, die UME als lokalen Generator und die Probe als Kollektor zu nutzen (TG/SC, tip-generation/sample-collection, Abbildung 6c).^[66] In ersten Experimenten wurden Reaktanten lokal über einer strukturierten makroskopischen Elektrode durch Ausströmen einer Substanz aus einer positionierbaren Kapillare^[67] oder durch eine enzymatische Reaktion „injiziert“, wobei sich die Enzyme in einer Gel-gefüllten beweglichen Kapillare befanden.^[68] In jüngster Zeit gesellten sich mit elektrochemischen „Flugzeitexperimenten“ (Abschnitt 3), der UME-induzierten Mikrostrukturierung (Abschnitt 4) oder dem Screening von Sauerstoffreduktionskatalysatoren (Abschnitt 5.4) wichtige Anwendungen hinzu.

2.2.2. Quantifizierung im GC-Modus

Der konzeptionellen Einfachheit des GC-Modus mit amperometrischen UMEs stehen einige Probleme bei der quantitativen Interpretation gegenüber:^[13]

- Wenn die aktiven Regionen der Probe groß sind, stellt sich kein stationärer Zustand ein, und die lokalen Konzentrationen der nachzuweisenden Substanz hängen nicht nur von der Position der UME, sondern auch von der Zeit seit dem Einsetzen der Reaktion an der Probe ab.
- Die bewegte Sonde stört die (makroskopische) Diffusionsschicht der Probe durch Konvektion, durch Behinderung der Diffusion der Reaktanten zu der Probenregion unter der UME und durch die gegenseitige Durchdringung der Diffusionsschichten von Probe und UME.
- Eine Stromverstärkung nach dem Prinzip des positiven Feedbacks (Abschnitt 1.2) erreicht signifikante Werte, wenn $d < 3r_T$ ist.

Diese Umstände haben eine strikte theoretische Behandlung, die über frühe Näherungslösungen^[69] hinausgeht, verzögert. Um die Probleme bei der quantitativen Beschreibung zu minimieren, ist es sinnvoll, mit möglichst kleinen UMEs (kleines r_T und kleines RG) zu arbeiten. In diesem Fall wird das Diffusionsfeld der Probe wenig gestört, und FB-Effekte sind auch bei kleinem d vernachlässigbar. Ein anschauliches Beispiel ist die dreidimensionale Vermessung des Diffusionsfeldes einer UME mit 40 μm Durchmesser als Probe mit einer anderen UME als Sonde, die lediglich einen Durchmesser von 80 nm aufwies und daher die beschriebenen Quantifizierungsprobleme umging bzw. minimierte.^[70] Die laterale Auflösung ist im GC-Modus immer schlechter als in vergleichbaren Feedback-Experimenten. Außerdem ist es sehr schwierig, kleine aktive Regionen in der Nähe großer aktiver Bereiche abzubilden.^[71]

Der GC-Modus hat eine wesentlich höhere Empfindlichkeit als der FB-Modus, da der Reaktantfluss von der Probe im Wesentlichen ohne Hintergrundsignal gemessen wird.^[72] Dies macht ihn für die Untersuchung von immobilisierten Enzymen und Zellen besonders geeignet. Darüber hinaus ist er in Situationen angemessen, in denen FB-Experimente prinzipiell nicht möglich sind.^[73,74] Beispiele finden sich in den Abschnitten 5.3–5.6.

3. Kinetische Untersuchungen ohne laterale Bewegung der Ultramikroelektrode

Ein erheblicher Teil der SECM-Literatur beschreibt lediglich die Nutzung von Annäherungskurven unter Verzicht auf eine zweidimensionale Abbildung. Im engeren Sinne stellen solche Experimente daher keine Mikroskopie dar. Trotzdem haben diese Experimente für die Methodenentwicklung und für viele Anwendungsgebiete eine fundamentale Bedeutung, weil das Verständnis von Rastersondenexperimenten immer die Kenntnis der zugrundeliegenden Signal-Abstands-Beziehung voraussetzt. Quantitative Daten lassen sich einfacher aus Annäherungskurven extrahieren als aus 2D-Abbildungen. Schließlich kann das experimentelle

Problem der vertikalen Positionierung für eine Abbildung umgangen werden, da letztlich an allen infrage kommenden Abständen gemessen wird. Aus der Anwendungsperspektive sind solche Messungen wichtig, da sie neue Experimente zu Grenzflächenprozessen ermöglichen, die anders nicht ausgeführt werden können. Aus diesem Grund sollen hier einige wichtige Prinzipien unter weitgehendem Verzicht auf Details vorgestellt werden.

3.1. Stationäre Messungen im Feedback-Modus

Am intensivsten wurde die Geschwindigkeit heterogener Reaktionen im Feedback-Modus unter Nutzung von Gleichungen (3)–(6) untersucht. Dabei kann die Reaktion an der Probe, die erster Ordnung bezüglich des Mediators ist, auch durch kompliziertere Ansätze ersetzt werden. In diesen Fällen erfordert eine Untersuchung Annäherungskurven, die bei unterschiedlichen Mediatorkonzentrationen aufgenommen wurden. Zur Untersuchung elektrochemischer Reaktionen an der Probe arbeitet man im Allgemeinen auch bei unterschiedlichen Elektrodenpotentialen E_s .

3.1.1. Generelle Vorteile der Arbeitsweise

Gegenüber konventionellen elektrochemischen Methoden weist diese Arbeitsweise eine Reihe von Vorteilen auf. Bei kleinem d lassen sich sehr hohe diffusive Stoffflüsse unter stationären Bedingungen realisieren, die die Grenzen der Diffusionskontrolle bei schnellen elektrochemischen Reaktionen verschieben. Gegenüber Experimenten an rotierenden Elektroden entfällt die Fertigung einer mechanisch hochpräzisen Elektrode, die sich bei Rotation elektrisch kontaktieren lässt. Instrumentell anspruchsvolle, extrem schnelle Potentialänderungen wie etwa bei der Chronoamperometrie oder der schnellen Cyclovoltammetrie sind nicht notwendig, wodurch sich die Korrektur des Doppelschichtladungsstroms erübrigt. Da die fließenden Ströme an der UME im Nanoampere-Bereich liegen, ist die Verfälschung des Elektrodenpotentials durch einen nicht kompensierten Spannungsabfall in der Lösung, $U_{\text{drop}} = i_T R_{\text{sol}}$ (R_{sol} : nicht kompensierter Lösungswiderstand), normalerweise kleiner als 1 mV. Die günstigen Massentransportbedingungen und die Abwesenheit experimenteller Artefakte ermöglichten die Bestimmung einer unteren Grenze für die Standardgeschwindigkeitskonstante heterogener Reaktionen sehr schneller Redoxpaare.^[75]

Im Unterschied zur Cyclovoltammetrie erübrigen sich große Potentialexkursionen. Das ist z. B. bei der kinetischen Untersuchung an Elektroden wichtig, die von einer selbstorganisierten Monolage (SAM, self-assembled monolayer) oder potentialabhängigen Passivschichten bedeckt sind. Je nach SAM-System kann es hier bei Potentialänderungen zu Phasenübergängen oder sogar Desorptionsvorgängen kommen, die die Redoxkinetik beeinflussen.

3.1.2. Experimente ohne externe Kontaktierung der Probe

Der entscheidende Vorteil der Methode besteht aber darin, Masse- und Ladungstransferreaktionen an Grenzflä-

chen untersuchen zu können, die sich nicht einfach mit einer externen Potentialquelle verbinden lassen (Abbildung 7).

Das einfachste Beispiel sind Prototypen von Chipstrukturen mit Mikroelektroden und nicht abgedeckten Zuleitungen-

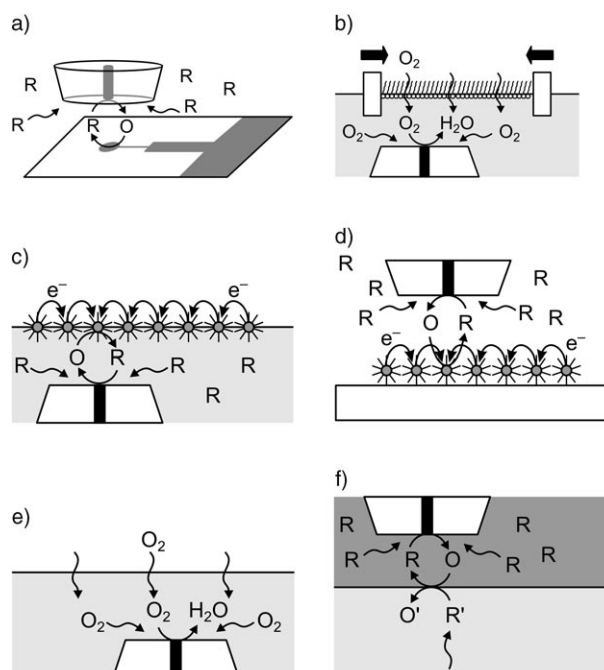


Abbildung 7. Untersuchung von Grenzflächen, die sich schwer extern kontaktieren lassen. a) Mikrostruktur auf einem Chip mit nicht abgedeckter Zuleitungsbahn; b) Polymer- oder Lipidfilm an der Gas-flüssig-Grenzfläche; c) monolagengeschützte Metallnanopartikel an der Gas-flüssig-Grenzfläche; d) monolagengeschützte Metallnanopartikel auf einem isolierenden Träger; e) Gas-flüssig-Grenzfläche mit Massentransport aus der Gasphase; f) Anordnung zur Untersuchung von Transferprozessen an Flüssig-flüssig-Grenzflächen, gegebenenfalls mit einem dünnen Film an der Phasengrenze.

gen. Ein Cyclovoltammogramm würde im Wesentlichen die Reaktion an der flächenmäßig großen Zuleitung zeigen (Abbildung 7a). Weitere Beispiele umfassen dünne Schichten, die an der Gas-flüssig-Grenzfläche (Abbildung 7b,c,e), an isolierenden Grenzflächen (Abbildung 7d) oder Flüssig-flüssig-Grenzflächen (Abbildung 7f) präpariert wurden. In diesen Fällen ist eine externe Polarisation mit einem Potentiostaten unmöglich oder sehr kompliziert.

Ein Potential kann jedoch durch die verwendete Mediatorlösung eingestellt werden: Die Lösung enthält in der Volumenphase im Wesentlichen nur eine Redoxform (hier R). Daher stellt sich nach der Nernstschen Gleichung an einem eingetauchten Körper mit elektronischer Leitfähigkeit ein elektrochemisches Potential ein, das negativ zum Formalpotential E^0 des Mediators liegt. Im Raum zwischen der UME und der Probe wird aber durch die Elektrolyse an der UME das Konzentrationsverhältnis $[O]/[R]$ zugunsten von O verschoben. Dadurch entsteht eine Konzentrationszelle (Abbildung 8), die die Triebkraft für einen lateralen Ladungstransport und die Grenzflächenreaktionen an der Probe liefert. An der Probe wird dagegen in der Nähe der UME O zu R reduziert. Im gleichen Umfang wird weit von der UME

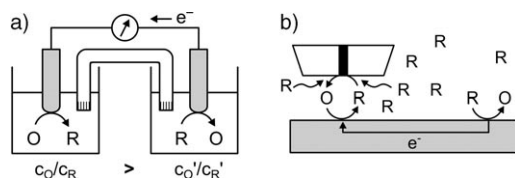


Abbildung 8. a) Konventionelle elektrochemische Konzentrationszelle; b) Entstehung einer Konzentrationszelle in FB-Experimenten.

entfernt R zu O umgesetzt. Da der Gesamtumsatz während des Experiments vernachlässigbar gegenüber dem Gesamtgehalt an R in der Messlösung ist, lässt sich dieser Mechanismus ausreichend lange aufrechterhalten. Voraussetzung ist lediglich, dass die untersuchte Probenoberfläche deutlich größer als die UME ist ($r_s \geq r_T + 1.5d$).^[42] Ist dieser Umstand nicht gegeben und die Probe nicht extern kontaktiert, verhält sich auch ein leitfähiges Material im FB-Experiment wie eine inerte und isolierende Probe nach Gleichung (3).

3.1.3. Gas-flüssig-Grenzflächen

Prozesse an Gas-flüssig-Grenzflächen lassen sich untersuchen, wenn man die UME mit der aktiven Elektrodenoberfläche nach oben in einer Flüssigkeit positioniert und von unten an die Gas-flüssig-Grenzfläche annähert (U-Boot-Elektrode).^[15,76] Die Grenzfläche behindert die Diffusion des Mediators genau wie eine Fest-flüssig-Grenzfläche in der konventionellen Anordnung. Unterliegt jedoch die an der UME umgesetzte Substanz (z.B. O_2) einem Verteilungsgleichgewicht zwischen der Gas- und Flüssigphase, wird aus der Gasphase das verarmte Lösungsvolumen zwischen der UME und der Grenzfläche aufgefüllt, und i_T ist größer als nach Gleichung (3), woraus sich die Kinetik des Phasentransfers von O_2 bestimmen lässt. Führt man die Untersuchungen in einem Langmuir-Trog aus, kann der Einfluss einer organisierten Monolage an der Grenzfläche auf den Phasendurchtritt studiert werden.^[77–79] Außerdem eröffnen solche Systeme die einzigartige Möglichkeit, laterale Transportprozesse, z.B. von Protonen, entlang von Monolagen aus Amphiphilen zu untersuchen.^[80,81]

Mit einem Langmuir-Trog wurden auch extrem dünne Schichten leitfähiger Polymere^[82–85] und monolagenbeschichteter Metallnanopartikel (MPCs, monolayer-protected cluster) an der Gas-flüssig-Grenzfläche^[86–90] oder auf isolierenden Substraten präpariert.^[91] Das Ausmaß der Mediatorregeneration an der Dünnschicht wird wesentlich durch die Kinetik des Ladungstransfers zwischen Mediator und Polymer/Cluster und durch die Ladungstransferprozesse innerhalb der Schicht bestimmt und kann durch einen Vergleich von experimentellen Daten mit digitalen Simulationen abgeschätzt werden.

3.1.4. Grenzflächen zwischen nicht mischbaren Elektrolytlösungen (ITIES, interfaces between two immiscible electrolyte solutions) finden schon seit einiger Zeit große Aufmerksamkeit in der elektrochemischen Grundlagenforschung. Ihre

fundamentale Bedeutung liegt in der Möglichkeit, Ladungstransferreaktionen zwischen Molekülen sehr unterschiedlicher Polarität zu beobachten. Praktische Bedeutung haben die pharmakokinetische Charakterisierung von geladenen Substanzen und Grundlagenuntersuchungen zu hydrometallurgischen Extraktionsverfahren.^[92] Die Grenzflächen ermöglichen sehr unterschiedliche Ladungstransferprozesse.^[93–95] Neben dem Transfer von Ionen^[96–98] können auch Elektronen zwischen verschiedenen Molekülen in der polaren und unpolaren Phase übertragen werden, wobei die Triebkraft für die Reaktion sowohl durch die Differenz der Formalpotentiale als auch durch externe Polarisation bestimmt wird.^[99–103]

Da meist mehrere Transferprozesse simultan ablaufen (z.B. e^- und X^- in Abbildung 9a), ist die Interpretation von

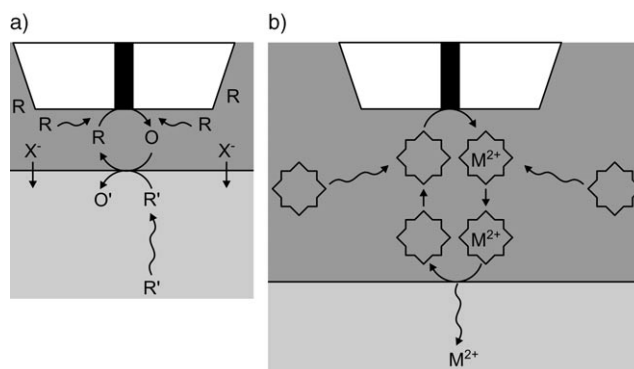


Abbildung 9. Anordnungen zur Untersuchung von Flüssig-flüssig-Grenzflächen. a) Elektronentransfer zwischen zwei unterschiedlichen Redoxsystemen; b) ein Ligand in der organischen Phase übernimmt die Funktion des Mediators für den Transfer eines Kations.

makroskopischen Experimenten mit ITIES häufig kompliziert. Das SECM eröffnete hier wichtige neue Entwicklungsmöglichkeiten (Abbildung 9).^[15,33,76,104–110] Da durch die UME oder die Pipette nur ein kleiner Ausschnitt der Grenzflächen gestört wird, können andere ladungsausgleichende Transferprozesse an der makroskopischen Grenzfläche ablaufen, ohne für den Gesamtvorgang limitierend zu werden. Weitere Variationsmöglichkeiten ergeben sich durch die Veränderung der Konzentration und des Formalpotentials der beteiligten Redoxsysteme und der Einführung von dünnen Schichten an der Flüssig-flüssig-Grenzfläche.^[100,111–114] Diese Möglichkeiten lassen sich noch erweitern, wenn ITIES an der Öffnung von Pipetten präpariert und stabilisiert werden.^[93,99,115]

3.2. Elektrochemische Flugzeitexperimente

Mit dem TG/SC-Modus lassen sich elektrochemische Flugzeitexperimente realisieren (Abbildung 10).^[116] An der UME wird ein reaktives Teilchen (O) erzeugt, das zur Probe diffundiert und dort erneut umgesetzt wird. Wenn die Probe deutlich größer als die UME ist, erreichen im einfachsten Fall alle O die Probe, und der Probenstrom i_s ist gleich i_T (Kollektoreffizienz $\theta = i_s/i_T \approx 1$).

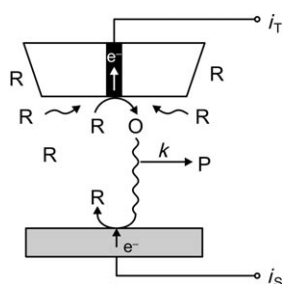


Abbildung 10. Aufbau elektrochemischer Flugzeitexperimente zur Untersuchung eines Elektronentransfers mit nachfolgender homogener Reaktion.

Reagiert O aber während des diffusiven Transports zur Probe in einer homogenen Reaktion ab, verringert sich die Menge an O, die die Probe erreicht, und θ fällt ab. Das Zeitfenster für die Reaktion lässt sich über d in einem Experiment variieren. Aus den gemessenen $\theta = f(L)$ können unter Verwendung von digitalen Simulationen die Geschwindigkeitskonstanten für die mechanistisch unterschiedlichen homogenen Folgereaktionen ermittelt werden.^[117–119] Die Messungen ähneln dem Messprinzip an einer rotierenden Ring-Scheibe-Elektrode, gelten aber wegen der höheren Kollektoreffizienz in Abwesenheit einer homogenen Reaktion als zuverlässiger.^[118]

Untersucht wurden die Reduktion metallorganischer Verbindungen mit nachfolgender homogener Zerfallsreaktion,^[120] die Intermediate der elektrochemischen BH_4^- -Oxidation^[121] und die reduktive Dimerisierung von Dimethylfumarat und Fumaronitril.^[118] Ferner wurden verschiedene elektrochemisch erzeugte Radikale untersucht (Acrylnitril-Radikalanion,^[122] NAD^\bullet ,^[6] $\text{O}_2^{\bullet-}$,^[123] $\text{RNO}_2^{\bullet-}$ ^[124]).

3.3. Stationäre Feedback-Messungen

Obwohl der stationäre Charakter der bisher geschilderten FB-Experimente einen besonderen Vorteil der Methode darstellt, hat sich in der jüngsten Zeit gezeigt, dass chronoamperometrische Messungen [$i_T = f(d, t)$] zusätzliche Informationen liefern können. Das ist insbesondere der Fall, wenn sich die Probe während des Experimentes verändert, weil z. B. eine begrenzte Menge von Redoxäquivalenten an der Oberfläche der Probe verbraucht wird. Eine Herangehensweise ist ein Doppelpotentialsprungexperiment (Abbildung 11).^[76] In einem Potentialsprung wird an der UME durch Elektrolyse eine kleine und definierte Reaktantmenge, z. B. Metallionen, erzeugt (Abbildung 11 a), die sich durch Diffusion ausbreitet. In einem Rücksprungexperiment wird dieser Reaktant wieder eingesammelt (Abbildung 11 c).

Die eingesammelte Reaktantmenge hängt zum einen von der Geometrie ab (Kalibrierung durch ein Kontrollexperiment über einer inerten Oberfläche, Abbildung 11 e, Kurve 1). Zum anderen wird die eingesammelte Reaktantmenge durch den Verbrauch der Reaktanten in einer heterogenen Reaktion an der Probe oder durch Phasendurchtritte verringert (Abbildung 11 b). Die Verringerung der Kollektoreffizienz wird von der Kinetik der Grenzflächenreaktion und/oder

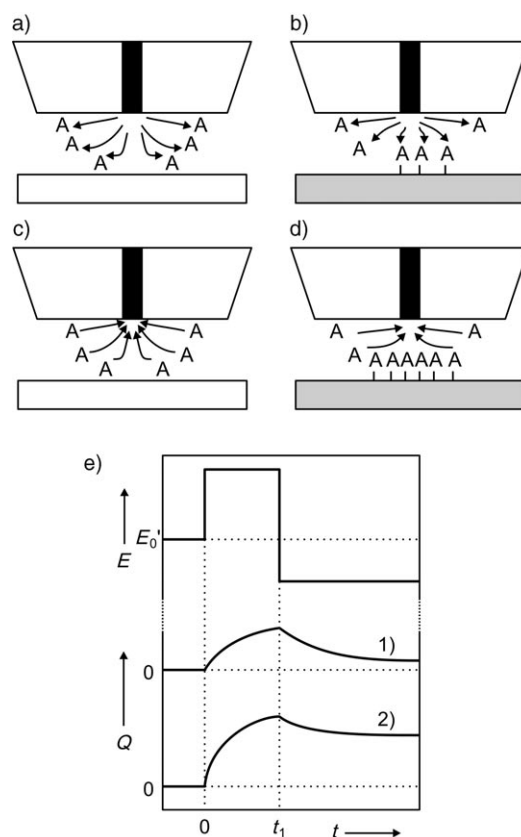


Abbildung 11. Prinzip eines Doppelpotentialsprungexperimentes in einer SECM-Anordnung. a) Erzeugung von Reaktanten im Vorwärtssprung über einer inerten Probe (Ausbreitung durch Diffusion); b) Erzeugung von Reaktanten über einer reaktiven Probe (Diffusion und Reaktion mit der Probe/Phasendurchtritt/Adsorption); c) Rücksprung zum Einsammeln nicht verbrauchter Reaktanten über einer inerten Probe (Kollektoreffizienz durch Geometrie bestimmt); d) Rücksprung über einer reaktiven Probe (Kollektoreffizienz durch Geometrie und Umsatz an der Grenzfläche bestimmt); e) vereinfachte und übertriebene Darstellung des Potentialsprungs und der Antwortsignale über einer inerten Probe (1) und über einer reaktiven Probe (2).

der Kapazität der Grenzfläche (z. B. Zahl der Bindungsstellen) kontrolliert (Abbildung 11 d). Die Reaktion an der Probe kann z. B. ein Phasendurchtritt an Flüssig-flüssig-Grenzflächen,^[96] an Gas-flüssig-Grenzflächen mit aufgetragenen Langmuir-Schichten,^[78,112] eine Adsorptionsreaktion an Langmuir-Schichten^[125] oder an Mineraloberflächen sein.^[126]

3.4. Lokale Störung eines heterogenen Gleichgewichts

Die lokale Störung eines Gleichgewichts wurde vornehmlich zur Induktion von Desorptions- und Auflösungsreaktionen sowie der kinetischen Untersuchung dieser Prozesse eingesetzt. Die UME wird z. B. über einen Ionenkristall positioniert, der sich im Gleichgewicht mit einer gesättigten Lösung seiner Bestandteile befindet. Eine elektrochemische Umsetzung eines gelösten Gleichgewichtspartners an der UME bewirkt eine lokale Untersättigung der Lösung. Die Probe reagiert mit einer lokalen Auflösung, deren Kinetik sich elektrochemisch verfolgen lässt (siehe Abbildung 12 c in

Abschnitt 4.1).^[127–133] Die Methode lässt sich elegant auch mit leitfähigen SFM-Kraftsensoren (cantilever) ausführen, die eine nachfolgende Untersuchung des Materialabtrages ermöglichen.^[134–136] Konzeptionell ähnlich lassen sich Adsorptionsgleichgewichte an Fest-flüssig-Grenzflächen untersuchen.^[137]

4. SECM als Mikrostrukturierungswerkzeug

Die Idee, die UME des SECM zur lokalen Oberflächenmodifikation einzusetzen, ist in der Literatur seit Beginn der SECM-Entwicklung dokumentiert.^[138–143] Der Entwicklungsstand wurde mehrfach in Übersichtsartikeln dargelegt.^[16,144–147] Die SECM-Methode erlaubt chemisch vielfältige und definierte Modifikationen von Oberflächen, die mit anderen Verfahren oft nicht zugänglich sind. Die Vorteile kommen insbesondere dann zum Tragen, wenn das SECM sowohl zur Erzeugung der Strukturen als auch zu ihrer funktionellen Charakterisierung eingesetzt wird. Die quantitative Behandlung der SECM-Experimente erleichtert das mechanistische Verständnis der Verfahren und darauf aufbauend die Übertragung der Wirkprinzipien auf andere technologische Verfahrensvarianten. Die Oberflächenmodifizierung mit dem SECM hat als sequenzielles Strukturierungsverfahren eine grundsätzlich limitierte Geschwindigkeit. Durch den Einsatz kompliziert geformter Mikroelektroden lässt sich diese zwar erhöhen, jedoch weisen parallele Strukturierungsverfahren für Produktionsprozesse prinzipielle Vorteile auf. Trotz dieser eingangs zu erwähnenden Begrenzung sind SECM-Strukturierungsverfahren in der Forschung und Prototypentwicklung sehr wertvoll.

4.1. Lokale Erzeugung von Reaktanten

Um eine lokale Oberflächenmodifizierung mit dem SECM zu erreichen, kann eine von vier Grundkonfigurationen eingesetzt werden (Abbildung 12).

Konzeptionell analog zum FB-Modus kann man an der Mikroelektrode ein Ätzmittel erzeugen, das zu einer lokalen oxidativen Auflösung des Substrates (Abbildung 12a) oder chemischen Oxidation der Oberfläche führt. Dabei wird vielfach der Reaktant für die Mikroelektrode zurückgebildet, sodass sich ein elektrochemischer Feedback ausbildet und über i_T der Fortgang der Oberflächenmodifizierung verfolgt werden kann. Auf diese Weise wurden Cu,^[148] GaAs^[141,143] und Si^[149,150] geätzt und eine Ladungsinjektion verbunden mit einer Farbänderung an Wolframbronzen ausgeführt.^[151] Lokal erzeugte Oxidationsmittel können auch genutzt werden, um dünne organische Filme an Oberflächen umzusetzen. Matsue et al. desaktivierten Enzymfilme mit lokal erzeugtem Br₂ oder HBrO.^[152] Durch Reduktion von Fe³⁺ in einer H₂O₂-haltigen Lösung bildeten Shiku et al. Hydroxylradikale und nutzten sie zur Modifizierung von Alkylsilanschichten auf Glas.^[153] Durch nachfolgende Adsorption oder kovalente Anbindung ließen sich gemusterte Proteinschichten erzeugen. Zur lokalen Steuerung von Proteinadsorption und Zelladhäsion können verschiedene Substrate eingesetzt werden.

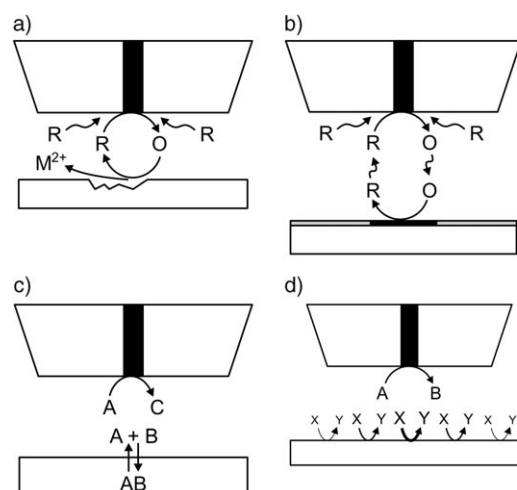


Abbildung 12. Möglichkeiten zur lokalen Oberflächenmodifikation. a) Lokale Erzeugung eines Ätzmittels für Auflösungsprozesse, b) lokale Erzeugung eines Reaktanten zur Umwandlung eines dünnen Oberflächenfilms, c) lokale Störung eines eingestellten heterogenen Gleichgewichts und d) Nutzung der UME als mikroskopische Gegenelektrode.

Kaji et al. entdeckten, dass ein Bromid-Oxidationspuls an einer UME in physiologischen Pufferlösungen die zellabweisenden Eigenschaften einer physisorbierten Albuminschicht aufheben kann.^[154–156] Dieses Phänomen wurde zum „Schreiben“ von Zellanordnungen und zur Einführung multipler Zellpopulationen genutzt. Weiterentwicklungen des Prinzips nutzten eine Templatstruktur aus einem zellabweisenden Polymer und Fibronectin.^[157] Die Fibronectinschichten wurden mikroelektrochemisch für die Zelladhäsion aktiviert, wobei das Templat die Strukturgrenzen definierte. Zhao et al. zeigten später, dass ein Bromid-Oxidationspuls auch die zellabweisenden Wirkungen von Oligoethylenglycol-terminierten SAMs aufheben kann, die als zellabweisende Monolagen in Verbindung mit SAM-gestützten Strukturierungsverfahren sehr verbreitet sind.^[158]

Mikroelektrochemisch erzeugte organische Radikalanionen (z. B. Phthalonitril) können die Oberfläche von Fluorpolymeren graphitisieren (reduzieren).^[159–163] Die entstehenden Oberflächen zeigen lokal ein anderes Benetzungsverhalten^[162] und können nachfolgend metallisiert^[163] oder nach Oxidation mit einem anderen Oligomer modifiziert werden.^[160]

Lokale Materialabscheidungen gelangen, indem eine Vorstufe in Form eines dünnen Films auf der Substratoberfläche abgeschieden und mithilfe eines mikroelektrochemisch erzeugten Oxidations- oder Reduktionsmittels zur gewünschten Mikrostruktur umgesetzt wurde (Abbildung 12b). So wurden protonierte Polyvinylpyridin-Filme mit [PdCl₄]²⁻ und [AuCl₄]⁻ beladen und durch lokal erzeugtes [Ru(NH₃)₆]²⁺ zu Pd- und Au-Mikrostrukturen umgewandelt.^[142] Analog kann elektrochemisch erzeugtes Hydrochinon genutzt werden, um einen aufgedampften AgCl-Film lokal zu elementarem Ag zu reduzieren.^[164] Nach Auflösung des AgCl verbleibt eine Silberlinie auf der Oberfläche, wobei das Substrat auch isolierend sein kann.^[165] Schließlich lassen sich Polymerstrukturen bilden, wenn ein in der Arbeitslösung

unlöslicher Monomerfilm mit einem Oxidationsmittel polymerisiert wird, das von der Mikroelektrode erzeugt wurde.^[165–167] Abgeschieden wurden Poly-(2,5-bis(1-ethylpyrrol-2-yl)thiophen) und Poly(4,4'-dimethoxy-2,2'-bithiophen). Auch der umgekehrte Ansatz wurde beschrieben: Eine UME-induzierte pH-Verschiebung aktivierte das immobilisierte, unlösliche Oxidationsmittel (MnO_2), was eine Polymerisation des gelösten Monomers (Thiophen) auslöste.^[168] Polyanilin wurde direkt auf Substraten abgeschieden, indem die UME den pH-Wert im Zwischenelektrodenraum so verschoob, dass die Elektropolymerisation auf dem Substrat in der Nähe der UME einsetzte, während sie außerhalb dieses Bereiches nicht auftrat.^[169]

Shohat und Mandler nutzten eine lokale pH-Erhöhung zur irreversiblen Abscheidung von $\text{Ni}(\text{OH})_2$.^[170] Im Unterschied zu den oben diskutierten Methoden läuft die protonenverbrauchende Reaktion an der Substratoberfläche und nicht an der UME ab. An einer Hg-UME wird Methylviologen zum Methylviologen-Radikalanion reduziert, das am Pt-Substrat katalytisch durch Protonen oxidiert wird, wodurch die lokale pH-Erhöhung verursacht wird.

Die SECM-Sonde kann auf verschiedene Weisen genutzt werden, um lokal Metallionen in die Lösung abzugeben, die nach Diffusion zum Substrat dort reduziert werden. Gold-UMEs können in Gegenwart von Komplexbildnern aufgelöst werden. Auf leitfähigen und halbleitenden Substraten lassen sich aus den Aureaten Au-Nanopartikel – angeordnet in Mikrostrukturen – erzeugen.^[171,172] Der dabei freigesetzte Komplexbildner schließt den elektrochemischen Feedback und wirkt reaktionslimitierend. Einzelne Nanocluster aus Cobalt erzeugten Schindler et al., indem sie an der Au-Spitze eines ECSTM zunächst Co galvanisch abschieden.^[173–176] Durch einen kurzen anodischen Puls wird das abgeschiedene Co wieder freigesetzt. Dies führt zu einer lokalen Konzentrationserhöhung und einer nachfolgenden galvanischen Abscheidung einzelner Co-Cluster auf einem leitfähigen Substrat. Entscheidend für das Experiment ist eine genaue Einstellung des Substratpotentials. Es wird so gewählt, dass das Nernst-Potential in der Co^{2+} -Lösung nicht unterschritten wird, eine kleine Co^{2+} -Konzentrationserhöhung aber sofort eine galvanische Metallabscheidung auslöst. Größere Co-Strukturen sind durch Auflösung von Co-UMEs zugänglich.^[177]

Mikropipetten, an deren Ende eine Flüssig-flüssig-Grenzfläche präpariert wurde, können für einen potentialgesteuerten Durchtritt von Metallionen genutzt werden, der sich zur Erzeugung diskontinuierlicher Metallstrukturen nutzen lässt.^[178,179] Sauter und Wittstock schieden katalytisch aktive Metallhexacyanoferrate durch Auflösung von Co- und Ni-UMEs und Fällung mit $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ab, das am Substrat gebildet wurde.^[180,181]

4.2. Kopplung heterogener und homogener Reaktionen

Die Ausdehnung von Diffusionsschichten begrenzt das laterale Auflösungsvermögen der SECM-Technik sowohl bei der lokalen Oberflächenmodifizierung als auch bei der Abbildung von Oberflächen. In einer Reihe von Versuchs-

anordnungen kann die Ausdehnung von Diffusionsschichten durch Kopplung mit homogenen Reaktionen im Interelektrodenraum eingeschränkt werden, die die Lebensdauer (und somit die Ausbreitung) der an den Grenzflächen gebildeten Teilchen begrenzt. Voraussetzungen sind die Nutzung schneller homogener Reaktionen und die geschickte Auswahl eines Reaktionssystems, bei dem die Reaktanten der homogenen Reaktion selbst keine elektrochemische Reaktion an der UME eingehen. Bereits 1992 nutzten Engstrom et al. die spezielle Redoxchemie des Neurotransmitters Epinephrin (E).^[182] Nach Oxidation an der Probe setzt sich das zunächst gebildete Chinon (EQ) in einer Reaktion zu Adrenochrom (A) um, das bei negativeren Potentialen als EQ reduziert werden kann. Die UME wird nun so betrieben, dass sie EQ, aber nicht A, im GC-Modus reduzieren kann. Wittstock und Schuhmann nutzten die katalytische Disproportionierung von H_2O_2 durch das Enzym Catalase, um die Lebensdauer von H_2O_2 zu begrenzen, das an der Probe durch immobilisierte Glucoseoxidase lokal gebildet wurde.^[73] Neben der Bedeutung für die Verbesserung der Abbildungsqualität können solche Experimente zur Identifizierung von Produkten komplexer Grenzflächenreaktionen (z. B. bei Korrosionsvorgängen) dienen.

Für FB-Experimente entwickelten Heinze et al. das Konzept der „chemischen Linse“.^[164] Eine Fängerverbindung (scavenger), die der Lösung zugesetzt wird, reagiert mit der an der UME erzeugten Verbindung und fokussiert die Diffusionsschicht unter der UME. Dabei wird der am Substrat modifizierte Bereich unabhängig von der Reaktionskinetik am Substrat. Geeignete Reaktionssysteme wurden für lokale Metallabscheidungen,^[165,183,184] Polymerabscheidungen^[145] und lokales Ätzen^[185] entwickelt. Als exemplarisch kann hier die lokale Ag-Abscheidung auf Metallen gelten (Abbildung 13).

Die Lösung enthält den Komplex $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ und NO_2^- . Das Substrat wird auf einem Potential gehalten, bei dem

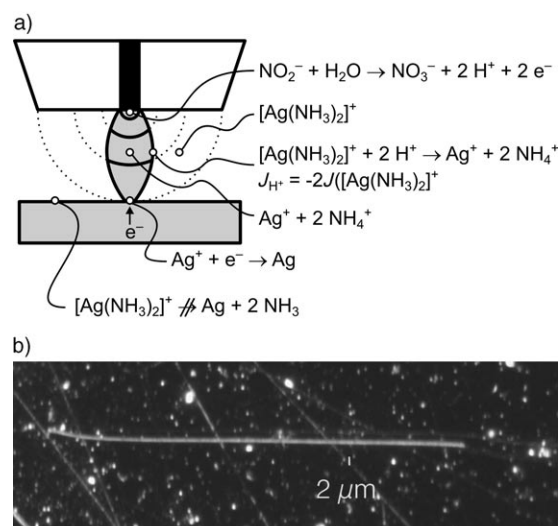
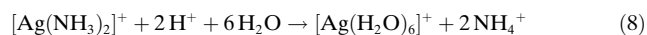
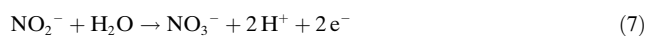


Abbildung 13. Chemische Linse in FB-Experimenten. a) Reaktionsschema; b) Abscheidung einer 1 µm breiten Silberlinie auf Gold. Wiedergabe von (b) mit Genehmigung aus Lit. [184]. Copyright 2005, The Royal Society of Chemistry.

$[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ nicht, wohl aber $[\text{Ag}(\text{H}_2\text{O})_6]^+$ reduziert werden kann. Durch elektrochemische Oxidation von Nitrit nach Gleichung (7) wird lokal der pH abgesenkt und nach Gleichung (8) der Aquasilber-Komplex freigesetzt. Dieser wird dann zur galvanischen Abscheidung am Substrat genutzt (Abbildung 13).



Bei einem Überschuss von NH_3 in der Lösung wird die pH-Verschiebung aber nur in unmittelbarer Umgebung der Elektrode beobachtet, da NH_3 aus der Lösung mit dem gebildeten H^+ reagiert. Wenn eine schnelle homogene Reaktion vorliegt, bildet sich eine scharfe Reaktionszone an der Position aus, bei welcher der von der UME ausgehende diffusive Fluss von H^+ betragsmäßig gleich dem Fluss von NH_3 aus der Volumenphase in den Interelektrodenraum ist. Innerhalb der Zone liegt $[\text{Ag}(\text{H}_2\text{O})_6]^+$ vor, außerhalb $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$. Eine Abscheidung erfolgt nur, wenn die Substratoberfläche die Reaktionszone schneidet. Der modifizierte Bereich kann dabei kleiner sein als die verwendete UME.

4.3. Direktmodus

Im Direktmodus wirkt eine leitfähige Substratoberfläche als Gegenelektrode für die UME. Ein Stromfluss an der UME verursacht einen betragsmäßig gleichen, entgegengesetzt gerichteten Strom i_s an der Substratelektrode. Gelingt es, i_s auf einen engen Bereich um die UME zu fokussieren, kann i_s für Modifizierungen durch lokale Auflösung oder Abscheidungen genutzt werden (siehe Abbildung 12c, Abschnitt 4.1). Anders als im FB-Modus müssen die Reaktionen an der UME und dem Substrat nicht Oxidationen und Reduktionen des gleichen Redoxpaares sein.

Die Fokussierung der Reaktionen kann durch unterschiedliche Methoden gelingen. In frühen Experimenten wurde eine Ag-Elektrode als Substrat genutzt, die mit einem dünnen Ag^+ -beladenen Nafion-Film bedeckt war.^[139,186] Bei der Penetration mit einer Metallspitze definierte die Kontaktfläche von Spitze und Film die wirksame Elektrodenfläche. Der geringe Abstand der Spitze zum Substrat bewirkte eine inhomogene Feldverteilung, die für die Fokussierung sorgte. An der Spitze wurden Ag^+ -Ionen galvanisch zu Silber reduziert. Bei der horizontalen Bewegung der Spitze wurde eine Silberlinie, eingebettet in Nafion, erzeugt. Als Gegenreaktion wurde die Silberauflösung an der Substrat-Nafion-Grenzfläche genutzt. In einer etwas modifizierten Anordnung kam dieser Mechanismus auch für einen hochauflösenden Ätzprozess^[186] und zur Abscheidung von Polyanilin in Nafion zum Einsatz.^[187] Wegen der erheblichen Einschränkungen bei der Wahl der Reaktionssysteme haben diese Experimente keine Fortsetzung gefunden.

Die Fokussierung kann jedoch auch durch Pulsexperimente in Kombination mit Elektropolymerisationsexperimenten erfolgen.^[188] Die Abscheidung elektrisch leitfähiger Polymere erfordert neben der Oxidation des Monomers

chemische Folgereaktionen, bis sich unlösliche Oligomere abscheiden. Bei einer potentiostatischen Oxidation der Monomere verarmt der Interelektrodenraum an Monomeren, und es kommt nicht zur Abscheidung. Schuhmann et al. führten geeignete Pulsprogramme ein, bei denen nach einem Oxidationspuls die Monomere den Interelektrodenraum auffüllen können und auf diese Weise periodisch ausreichende Monomerkonzentrationen für Abscheidungen von Polypyrrol erreicht werden.^[188,189] Die Abscheidungen lassen sich ausgehend von Metallen auch über Isolatoren ausführen.^[190] Durch Zurückziehen der UME wurden dreidimensionale Polymermikrostrukturen erzeugt.^[191] Der Einsatz funktionalisierter Monomere eröffnet Perspektiven für den Einsatz in Biosensoren und Biochips (Abschnitt 5.7.1).^[192]

El-Giar et al. erzeugten im Direktmodus Cu-Nadeln von 2000 μm Länge und 25 μm Durchmesser durch eine galvanische Cu-Abscheidung auf einer Cu-Unterlage mit einer sukzessiv zurückgezogenen UME als Gegenelektrode (Abbildung 14).^[193]

Ein anderer Fokussierungsmechanismus wurde zur lokalen Desorption von SAMs entwickelt.^[194–196] Die UME wird im Abstand von $d \approx r_T$ über einer SAM-bedeckten Au-Substratelektrode positioniert. Substrat und UME werden mit einer Wechselspannung (2–10 kHz, $\pm 1\text{ V}$) verbunden. Bei negativen Potentialen desorbieren die Alkanthiolate, bei positiven Potentialen werden sie oxidativ zersetzt.^[197] Die Desorption setzt wegen der inhomogenen Feldverteilung unmittelbar unter der UME ein, wobei sich die elektrochemische Doppelschichtkapazität des Substrats lokal erhöht.

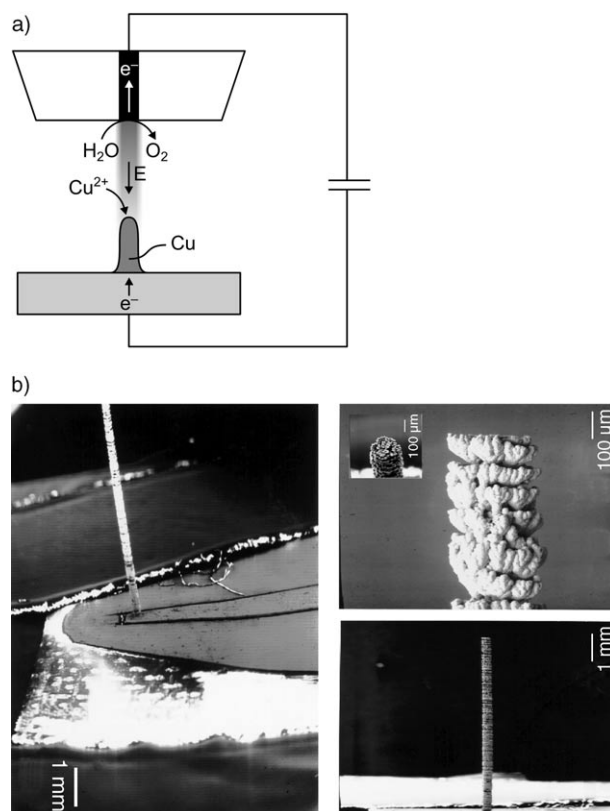


Abbildung 14. Im Direktmodus erzeugte Kupfernadeln. a) Übersicht; b) Antenne auf einem Kraftsensor. Wiedergabe von (b) mit Genehmigung aus Lit. [193]. Copyright 2000, The Electrochemical Society.

Da die UME nur einen begrenzten Strom liefern kann, bricht die Polarisierung der Substratelektrode zusammen, wenn die desorbierten Regionen in etwa die Größe der UME erreicht haben. Die desorbierten Regionen lassen sich ohne große Beeinflussung in engem Abstand platzieren.^[196] Diese Technik kam zur Modifizierung von Monolagen zum Einsatz, wobei insbesondere die Möglichkeit genutzt wurde, die freigelegte Goldoberfläche erneut mit einem anderen, ω -funktionalisierten Thiol oder Disulfid zu modifizieren und einen Ankerpunkt für die Anknüpfung biochemischer Funktionsträger zu schaffen.^[198] Ist das zweite Thiol/Disulfid in der Desorptionslösung vorhanden, lassen sich Desorption und Wiederauffüllen der Au-Fläche in einem Schritt ausführen.^[196]

Oxidschichten lassen sich ebenfalls im Direktmodus erzeugen, indem eine Probe in Gegenwart einer mikroskopischen Gegenelektrode oxidiert wird.^[199] Auf ähnlichen Prinzipien beruht eine Variante der Nanolithographie mit leitfähigen SFM-Spitzen.^[200] Allerdings müssen hierbei neben der lokalen Elektrochemie auch lokale mechanische Wechselwirkungen in Betracht gezogen werden.

Sicher beruhen weitere Oberflächenmodifizierungen, die in STM-Experimenten oder SFM-Experimenten beobachtet oder bewusst erzeugt werden, auf dem Direktmodus. Da es im Einzelfall schwer sein kann, die verschiedenen möglichen Nahfeldwechselwirkungen (feldinduziert, lokale mechanische Wirkung, lokale Elektrochemie) auseinanderzuhalten, soll hier von einer detaillierten Diskussion Abstand genommen werden.

5. Anwendungsgebiete und spezifische Anforderungen

Dieser Abschnitt soll einige angewandte Forschungsrichtungen beleuchten, in denen sich der Einsatz der SECM auch außerhalb spezialisierter elektrochemischer Laboratorien abzeichnet. Mit der Kommerzialisierung der SECM-Technik durch mehrere Anbieter bzw. durch Kooperationen mit den etablierten Forschungsgruppen bildet die Instrumentierung heute kein entscheidendes Hindernis für stärker anwendungsorientierte Untersuchungen.

5.1. Anwendungen in der Korrosionsforschung

Die SECM-Technik kann als ideale Methode zur Aufklärung lokaler Korrosionsphänomene gelten. Sie kann passivierte und aktive Bereiche der Oberfläche abbilden und darüber hinaus durch die lokale Erzeugung von aggressiven Ionen wie Cl^- und Br^- Lochfraßkorrosion initiieren. Die Konzentrationen relevanter Spezies wie Fe^{2+} , Fe^{3+} , O_2 und H_2 können über aktiven Regionen gemessen werden. Wegen der höheren lateralen Auflösung und der größeren Vielfalt möglicher experimenteller Ansätze wird die SECM andere elektrochemische Methoden mit räumlicher Auflösung, z. B. die SRET-Technik (scanning reference electrode technique, Technik der rasternden Referenzelektrode),^[201,202] für Korrosionsuntersuchungen ergänzen oder ersetzen.

5.1.1. Identifizierung von Vorstufenregionen für Lochfraßkorrosion

Auf den meisten metallischen Materialien verhindert eine dünne oxidische Passivschicht die fortlaufende oxidative Auflösung des Metalls. Die lokale Schädigung dieser Passivschicht führt zu mikroskopischen aktiven Regionen, an denen eine schnelle Auflösung des Metalls (Lochfraß) unter Aufrechterhaltung extremer Reaktantkonzentrationen und pH-Werte erfolgt. Die Initiierung des lokalen Zusammenbruchs der Passivschicht ist noch nicht ausreichend gut verstanden. SECM-Untersuchungen von Vorstufenregionen zur Lochfraßkorrosion wurden an Stahl,^[203–207] Ti,^[208–212] Ta,^[213,214] Ni^[215] und Al^[216,217] ausgeführt. Dabei wird eine Metallprobe im Passivbereich so polarisiert, dass eine Umsetzung einer gelösten Verbindung (Br^- , I^- , $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, Nitrobenzol etc.) an einzelnen Regionen der Passivschicht erfolgt. Die entstehenden Reaktionsprodukte können im SG/TC-Modus amperometrisch an der UME detektiert werden. Am Beispiel von Ti/TiO₂ erwiesen sich Regionen, an denen solche Umsetzungen im passiven Zustand abliefen, nach der Änderung der Polarisierung in den Bereich aktiver Korrosion als bevorzugte Orte für den Beginn der Lochfraßkorrosion.^[208,209]

Ein Vorteil der SECM-Methode liegt im zerstörungsfreien Charakter der Untersuchung, die diese Vorstufenregionen bereits im passiven Zustand identifizieren kann. Aus der Theorie für den Stofftransport durch Einzelporen ließ sich abschätzen, dass 69 % des Stromes an einer makroskopischen Ti/TiO₂-Elektrode von 0.79 cm² Fläche durch elf Vorstufenregionen floss, die nur 0.1 % der gesamten Ti/TiO₂-Fläche ausmachten.^[211] Diese Vorstufenregionen können durch Einschlüsse von Fremdelementen definiert sein.^[212] Für einschlußfreie Proben liegen detaillierte Informationen zur Struktur dieser Vorstufenregionen bisher nicht vor. Zwischen verschiedenen Metallen sind dabei interessante Unterschiede zu beobachten. So zeigen die Vorstufenregionen auf Ti/TiO₂ keine chemische Selektivität für die Umsetzung von $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ und Br^- , während Vorstufenregionen auf Ta/Ta₂O₅ eine deutlich unterschiedliche Reaktivität für I^- und $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ aufweisen (Abbildung 15).^[213]

Vorstufenregionen auf Edelstahl sind vermutlich mit schwefelreichen Einschlüssen (MnS) assoziiert. Williams et al. entwickelten eine Methode, um die Entwicklung von Lochfraß in der Umgebung solcher Einschlüsse durch eine Kombination komplementärer mikroskopischer Techniken einschließlich SECM zu verfolgen.^[218] Mit einem ähnlichem Ansatz wurden sulfidische Einschlüsse auf Ni(200) untersucht.^[215] Schwefelverbindungen (HS^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), die von solchen Einschlüssen abgegeben werden, können durch Reaktion mit I_3^- chemisch selektiv nachgewiesen werden. Durch elektrochemische Bildung von I_3^- an der UME erfolgt dieser Nachweis mit lokaler Auflösung.^[206,219] Lister und Pinhero erweiterten dieses Detektionsverfahren um eine Technik zur Messung lokaler elektrischer Feldstärken.^[206] Später nutzten sie zur Verbesserung der zeitlichen Auflösung eine Anordnung von mehreren Mikroelektroden (microelectrode array microscope), die den zeitaufwendigen Rastervorgang vermied und so eine größere Zeitaufklärung ermöglichte als eine

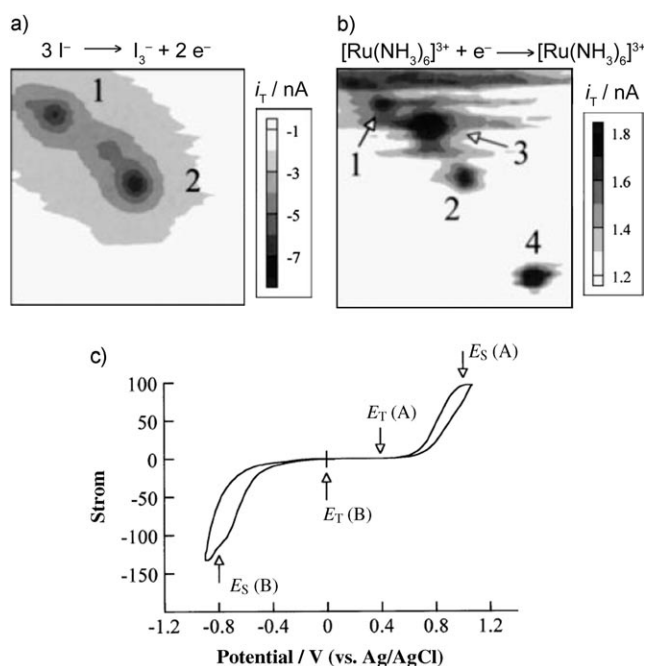


Abbildung 15. Vorstufenregionen für Lochfraßkorrosion auf einer $200 \times 200 \mu m^2$ großen Ta/Ta₂O₅-Probe, abgebildet im SG/TC-Modus in einer Lösung, die sowohl 2.5 mM $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ als auch 10 mM I^- enthält. a) Oxidation von I^- erfolgt nur an den Regionen 1 und 2 ($E_S = 1.0$ V, $E_T = 0.0$ V); b) Reduktion von $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ erfolgt an den Regionen 1–4 ($E_S = -0.8$ V, $E_T = +0.4$ V). c) Das Cyclovoltammogramm der makroskopischen Ta/Ta₂O₅-Probe zeigt die Summe der Reaktionen an allen Vorstufenregionen, ohne die chemische Selektivität der individuellen Regionen erkennen zu lassen ($\nu = 20$ mV s⁻¹). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [213]. Copyright 1999 American Chemical Society.

konventionelle SECM-Aufnahme, allerdings bei einer viel geringeren lateralen Auflösung.^[220]

5.1.2. Lokale Initiierung von Lochfraßkorrosion

Lochfraßkorrosion kann durch hohe Cl^- -Konzentrationen ausgelöst werden. SECM ermöglicht es, lokal und in definierter Weise hohe Cl^- -Konzentrationen zu erzeugen und dadurch das Entstehen einzelner aktiver Löcher zu initiieren.^[221,222] Die Cl^- -Ionen wurden durch die elektrochemische Reduktion von CCl_3COOH an einer amalgamierten Au-UME erzeugt. Der Strom an der Stahlprobe zeigt als Antwort auf die lokal hohe Cl^- -Konzentration das typische Verhalten für die Bildung, das Wachstum und die Repassivierung eines isolierten Korrosionsloches.

5.1.3. Verfolgen der aktiven Korrosion und der Passivierung

Mit der UME kann auch die aktive Korrosion auf einer Reihe von Materialien verfolgt werden. Durch Cyclovoltammogramme an der UME oder durch Verwendung ionensensitiver potentiometrischer Mikroelektroden lassen sich die beim Korrosionsprozess lokal freigesetzten Teilchen identifizieren. Untersuchte Materialien umfassen neben Stahl^[64,223,224] auch Zahnfüllungen aus Amalgamen und me-

tallischen Implantaten,^[225,226] Titan,^[227] Legierungen,^[63,228–233] organische Beschichtungen auf metallischen Substraten,^[234–236] potentiometrische Sensoren aus AgI in Cyanidlösungen,^[237] Silicium in Ätzbädern,^[238] ungeschützte und kohlenstoffbeschichtete ZnSe-Wellenleiter^[239] und amperometrische Biosensoren für NADH-abhängige Dehydrogenasen aus einem Komposit, das als Reservoir für die kontrollierte Abgabe eines Redoxmediators wirkte.^[240] SECM kann auch vorteilhaft eingesetzt werden, um simulierte Korrosionsprozesse bei der Fertigung von integrierten Schaltkreisen zu verfolgen.^[241]

Die Bildung lokal unterschiedlicher Passivschichten wurde auf polykristallinen Ti/TiO₂-Elektroden^[227] im FB-Modus untersucht, wobei die Regionen unterschiedlicher Kinetik der $[Fe(CN)_6]^{3-}$ -Reduktion mit einzelnen Kristalliten, die durch optische Mikroskopie zugänglich sind, übereinstimmen.^[242]

Weitere Untersuchungsmöglichkeiten zur Aufklärung lokaler Korrosionsphänomene zeichnen sich durch Impedanzmessungen an der UME ab.^[229,234,243–245] Damit konnten Defekte in organischen Beschichtungen^[234] und in Passivschichten^[229] visualisiert werden, obwohl die Kontrastentstehung nicht in jedem Fall klar ist und vielen Einflussfaktoren unterliegt.^[244]

5.2. Analytik in der Oberflächentechnik

SECM bietet sich als komplementäre mikroskopische Technik für die Charakterisierung technologischer Oberflächen an, wenn sich die lokale Funktionalität daraus ergibt, ob eine chemische Reaktion abläuft oder inhibiert wird. Rein topographische Abbildungen, die prinzipiell ebenfalls möglich sind, lassen sich z.B. mit der Rasterkraftmikroskopie einfacher und meist in besserer räumlicher Auflösung erhalten.

5.2.1. Untersuchung von Elektrodenmaterialien

Unterschiedlich strukturierte Elektroden bilden selbst einen folgerichtigen Untersuchungsschwerpunkt. Charakterisiert wurde die Redoxkinetik an Elektrodenmaterialien, die als Spray oder Paste auftragbar sind und wegen dieser technologischen Vorteile auf ihre Eignung für verschiedene Einsatzgebiete getestet wurden.^[41,246] Wegen der Zusammensetzung des Materials aus leitenden Partikeln und isolierenden Binde- und Füllmitteln ist eine lokale Charakterisierung des elektrochemischen Verhaltens notwendig. Sehr einfach erhält man mit dem SECM z.B. auch die Verteilung von leitenden und isolierenden Regionen auf mikrostrukturierten Transducern für die elektrochemische Analytik.^[245,247–254] Dies gilt auch dann, wenn die elektrochemisch aktiven Regionen in Poren verborgen und daher für andere Techniken wie SFM nicht zugänglich sind. Ebenfalls möglich ist eine lokale Charakterisierung der Elektronentransferkinetik nach unterschiedlichen Prozessschritten, die z.B. durch Adsorption von Prozesschemikalien zu einer Inhibition des Elektronentransfers oder durch thermische Behandlungen zu einer Aktivierung führen können.^[41] Die zwei Phasen des halbleitenden

Kupfer-Tetracyanochinodimethans wurden im FB-Modus untersucht.^[255] Ebenso konnte mit dem SECM eine halbleitende Phase lokal erzeugt werden.^[256] Shen et al. konnten die Kinetik der Farbstoffregeneration in Farbstoff-sensibilisierten ZnO-Elektroden untersuchen, die für elektrochemische Solarzellen entwickelt werden.^[257]

5.2.2. Untersuchung selbstorganisierter Monolagen

Die lokale Inhibition des Elektronentransfers durch adsorbierte Monolagen liegt auch der Abbildung von gemusterten SAMs auf Gold mit dem SECM zugrunde.^[43, 194, 195, 258] Eine defektfreie Monolage passiviert das Au-Substrat so stark, dass sie sich in SECM-Experimenten wie ein Isolator verhält. Das SECM-Signal reagiert sehr empfindlich auf nicht perfekte Monolagen, da an den Defekten die passivierende Wirkung aufgehoben ist und zu hohen i_T -Werten führt. Ein guter Kontrast von SAM-bedeckter und freier Goldoberfläche belegt dagegen eine geringe Defektdichte. Im Unterschied zu der für diesen Zweck häufig angewandten Cyclovoltammetrie kann man das Anlegen extremer Potentiale (bei denen die SAM selber modifiziert wird) bei SECM-Untersuchungen von SAMs vermeiden.^[259] Durch sequenzielles Anlegen konstanter Potentiale an die SAM-modifizierte Probe können zudem potentialabhängige Eigenschaften bestimmt werden. Die Bildung der SAM mit der Zeit wurde durch Aufnahme von Annäherungskurven verfolgt. Der Auswertung wurde ein Modell einer teilweise bedeckten Elektrode zugrundegelegt, wobei die unbedeckten Regionen kleiner als die UME sind.^[43] Durch Untersuchungen bei verschiedenen Reaktionsbedingungen gelang es Liu et al., die unterschiedlichen Beiträge zum Elektronentransfer über SAMs zu bestimmen.^[260] Die SECM erwies sich weiterhin als geeignet, die durch Kettenlänge, Protonierungs- oder Komplexbildungsgleichgewichte veränderten Eigenschaften von terminal funktionalisierten SAMs zu differenzieren.^[261, 262] Ebenfalls untersucht wurde die Änderung des Passivierungsverhaltens von DNA-haltigen SAMs bei der Bindung von zweiwertigen Kationen.^[263] Zu erwähnen ist auch der Ansatz von Abbou et al. zur Charakterisierung von Polymerketten, die an einem Ende an einer Oberfläche verankert und am anderen Ende mit einer Ferroceneinheit markiert sind.^[264] Durch einen elektrisch leitfähigen Kraftsensor können die Schichten in Lösung kontaktiert werden. Es lassen sich an den wenige Nanometer dicken Monolagen SECM-Annäherungskurven aufnehmen, die die Beweglichkeit der Polymerketten widerspiegeln.

Besondere Vorteile ergeben sich aus der Möglichkeit, das SECM zur Strukturierung von SAMs in Lösung einzusetzen (Abschnitte 4.1 und 4.3) und die erhaltenen Strukturen im gleichen Versuch zu charakterisieren.

5.2.3. Untersuchung von Polymerbeschichtungen

Bei der Untersuchung von Polymerbeschichtungen auf leitfähigen Unterlagen ergänzt die SECM andere schon länger etablierte Verfahren. Dies ist erforderlich, da der Ladungstransport durch Polymerschichten auf sehr unterschiedlichen Mechanismen beruhen kann, deren detaillierte

Analyse wegen der Überlappung der einzelnen Mechanismen immer wieder experimentelle Probleme aufwirft. Wichtige Mechanismen des Ladungstransports sind in Abbildung 16 schematisch dargestellt.

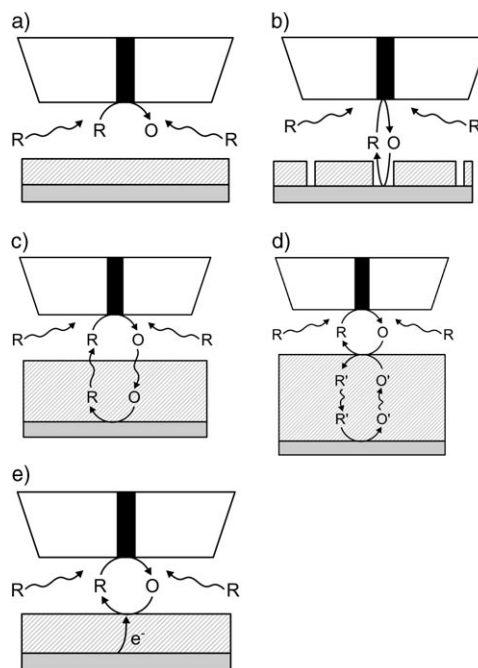


Abbildung 16. Ladungstransport durch Polymerschichten und ihre Untersuchung mit dem SECM. a) Behinderung der Mediator diffusion durch einen inerten, isolierenden und nicht permeablen Film analog zu Abbildung 4, Kurven 1–4; b) gelöste redoxaktive Teilchen erreichen durch Defekte in der Schicht („pinholes“) die Unterlage; c) die redoxaktiven Teilchen lösen sich im Polymer und können darin zur Unterlage diffundieren; d) gelöste redoxaktive Teilchen reagieren mit einem im Polymerfilm befindlichen Redoxmediator; e) gelöste Teilchen tauschen Elektronen mit einem elektronenleitenden Polymer an der Film-Elektrolyt-Grenzfläche aus.

Ein inerten, isolierender und nicht permeabler Film behindert die Diffusion des Mediators, wie in Abbildung 4, Kurven 1–4. Löcher in Beschichtungen („pinholes“, Abbildung 16b) auf leitenden Unterlagen lassen sich mit dem SECM sehr gut analysieren. Dabei treten im GC-Modus und im FB-Modus nur die Poren in Erscheinung, die den gesamten Film durchziehen und die leitfähige Unterlage erreichen – ein großer Vorteil gegenüber z. B. SFM-Aufnahmen, die jede Pore unabhängig von ihrer Tiefe abbilden würden, wenn die Spitzengeometrie es verhindert, dass der Boden der Pore erreicht wird. Anwendung fand diese Arbeitsweise z. B. bei der Untersuchung leitfähiger Polymere, die in neuen Verfahren zur Bohrlochmetallisierung zum Einsatz kommen können.^[265] Haben die Poren einen großen Abstand voneinander, können auch noch Poren detektiert werden, die ein Zehntel der Spitzenabmessungen aufweisen (FB-Modus). Im GC-Modus können die Poren noch kleiner sein.

Die Permeation unterschiedlich großer gelöster Teilchen durch isolierende Polymerfilme (Abbildung 16c) quantifizierten Williams et al.^[266–268] Shiku et al. untersuchten den Einfluss einer Plasmabehandlung auf die O_2 -Permeabilität

von Polydimethylsiloxan.^[269] Bedeutsam ist auch eine Untersuchung von Gyurcsányi et al. zum Ionentransport durch ionenselektive Membranen.^[270] Damit gelang ein direkter experimenteller Nachweis einer Diffusionsschicht an ionenselektiven Elektroden (ISEs), die lange Zeit als völlig äquilibrierte Systeme angesehen wurden. Die Berücksichtigung der Massentransportphänomene an diesen Elektroden unter der Bedingung geringer Analytkonzentrationen ermöglicht eine drastische Verbesserung der Nachweisgrenzen von ISEs.^[271]

Der Elektronentransfer durch im Polymerfilm gelöste Redoxsysteme wurde im Einstich-Modus untersucht (Abbildung 16d), bei dem eine konische UME von der Lösungsseite in den Film eindringt.^[272,273] Dabei können die Redoxsysteme im Film entweder gelöst^[272] oder als redoxaktive Gruppen an die Polymerketten gebunden sein, sodass ein Ladungstransport nur durch einen Elektronentransfer zwischen benachbarten redoxaktiven Gruppen erfolgen kann.^[273]

Der Ladungstransport durch elektronisch leitfähige Polymere (Abbildung 16e) kann vorteilhaft im FB-Modus untersucht werden.^[48,274–285] Der Strom an der UME hängt ab von der Diffusion des Mediators zwischen der UME und der Polymeroberfläche, dem Elektronentransfer an der Polymer-Lösungs-Grenzfläche, dem Ladungstransport innerhalb des Polymerfilms und dem Elektronentransfer zwischen der metallischen Unterlage und dem Polymerfilm. Durch Verändern der Filmdicke, des Elektrodenpotentials und des Abstands zwischen UME und Polymerfilm kann die Geschwindigkeit von drei der betrachteten Prozesse in großen Bereichen variiert werden. Dies ermöglicht eine detaillierte Analyse des Ladungstransfers. Daneben lassen sich auch elektronisch leitfähige Regionen innerhalb von Polymernischen^[277] sowie Alterungsprozesse an solchen Filmen identifizieren.^[282] Elektronisch leitfähige Polymere können elektrochemisch zwischen leitfähigem und isolierendem Zustand geschaltet werden, wobei zur Erhaltung der Ladungsneutralität Gegenionen vom Film aufgenommen oder abgegeben werden müssen. Dieser Gegenionenaustausch kann von der Lösungsseite mit einer Mikroelektrode amperometrisch oder potentiometrisch verfolgt werden.^[48,283–286] Ähnlich kann auch die Substanzabgabe aus technologisch wichtigen Photoresistpolymeren analysiert werden.^[287]

Schließlich profitieren Untersuchungen von Polymermikrostrukturen von dem Umstand, dass das SECM zur Erzeugung derartiger Strukturen eingesetzt werden kann (Abschnitt 4).

5.3. Transport durch Membranen und biologische Gewebe

Das SECM bietet sich zur Untersuchung von lokalen Massentransportprozessen durch Membranen und Gewebe geradezu an. In einem typischen Aufbau wird die zu untersuchende Membran als Trennwand zwischen einem Donorkompartiment und einem Akzeptorkompartiment eingebaut.

Die UME bewegt sich im Akzeptorkompartiment und misst in einer SG/TC-Anordnung die lokalen Konzentrationen der austretenden Teilchen. Durch Verwendung selektiver UMEs (entweder durch ISE oder durch das Arbeiten bei definiertem E_T) erhält man Transportgrößen für einzelne Teilchensorten. Der Transport selbst kann durch einen Konzentrations-, Druck- oder Potentialgradienten durch die Membran angetrieben werden (Abbildung 17).

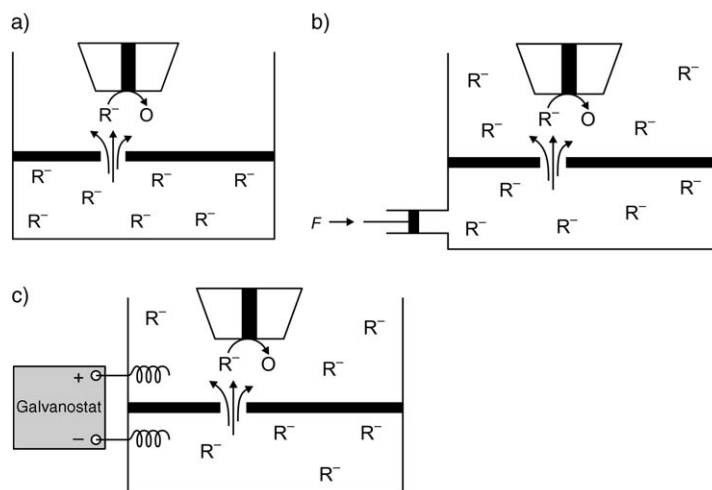


Abbildung 17. Typische Versuchsanordnungen zur Untersuchung von Massentransportprozessen in biologischen Membranen. Die Triebkraft des Transports ist a) ein Konzentrationsgradient zwischen Donor- und Akzeptorkompartiment, b) ein Druckgradient zwischen den Kompartimenten oder c) ein Potentialgradient zwischen den beiden Kompartimenten.

Ist der Massentransport gleichförmig über die Membran verteilt, wie z.B. bei Lipiddoppelschichten, kann man die UME einsetzen, um Konzentrationsprofile im Akzeptorkompartiment unter verschiedenen hydrodynamischen Bedingungen z.B. zur Verfeinerung von Transportmodellen zu messen.^[59–62]

Bei den meisten technischen Membranen oder bei biologischen Geweben, wie z.B. Haut, Zahnbein oder Knorpel, erfolgt der Transport aber zumindest teilweise durch mikroskopische Porensysteme. Die relativen Beiträge verschiedener Transportwege sind vielfach nicht genau bekannt. Ihnen kommt gerade im medizinischen Bereich bei der Entwicklung steuerbarer transdermaler Arzneimittelapplikationsformen und der nichtinvasiven Gewinnung von Körperflüssigkeiten für diagnostische Zwecke eine steigende Bedeutung zu. Entsprechend intensiv wurden SECM-Anwendungen in diesem Bereich mit Beteiligung der Industrie vorangetrieben. Eine umfassende Darstellung der Theorie und der bisher veröffentlichten Anwendungen ist verfügbar.^[288] Aus Platzgründen kann hier nur eine sehr knappe Darstellung der Grundlagen und eine Auflistung experimenteller Untersuchungen erfolgen.

Tritt eine Substanz aus einer Pore aus, erfolgt der Transport im Akzeptorkompartiment durch Diffusion unabhängig vom in der Pore wirkenden Transportmechanismus. Es stellen sich stationäre Konzentrationsverhältnisse über der Poren-

öffnung im Akzeptorkompartiment ein, wenn der Porenradius r_{pore} kleiner als ca. 50 μm ist. Der diffusive Fluss J der Teilchen aus der Porenöffnung ergibt sich, analog zu Gleichung (1), nach Gleichung (9),^[5] wobei $c(z=0, r=0)$ die lokale Konzentration an der Porenöffnung, z und r die vertikale bzw. radiale Entfernung vom Zentrum der Porenöffnung im zylindrischen Koordinatensystem sind.

$$J = 4 D c(z = 0, r = 0) r_{\text{pore}} \quad (9)$$

Wegen der Stationarität von J und der Kontinuitätsbeziehung muss der Fluss am Porenausgang gleich dem Fluss innerhalb einer individuellen Pore sein. Die lokale Konzentration ergibt sich aus gemessenen Konzentrationsverteilungen über einer Porenöffnung [Gl. (10)].^[5,289]

$$c(z, r) = \frac{2 c(z = 0, r = 0)}{\pi} \tan^{-1} \frac{\sqrt{2} r_{\text{pore}}}{\sqrt{(r^2 + z^2 - r_{\text{pore}}^2) + \sqrt{(r^2 + z^2 - r_{\text{pore}}^2)^2 + 4 z^2 r_{\text{pore}}^2}}} \quad (10)$$

Über jeder Pore bildet sich eine lokal erhöhte Konzentration aus, die mit dem SECM gemessen werden kann. Auf diese Weise werden zunächst individuelle Poren lokalisiert. Haben die Poren einen ausreichenden Abstand voneinander, lässt sich die UME über dem Zentrum einer einzelnen Pore ($r=0$, Strommaximum) positionieren, um dort die lokale Konzentration als Funktion des vertikalen Abstandes z zu messen [Gl. (11)].^[290]

$$c(r = 0, z) = \frac{2 c(r = 0, z = 0)}{\pi} \tan^{-1} \frac{r_{\text{pore}}}{z} \quad (11)$$

Eine Kurvenanpassung der Gleichung (11) an $(c(z), z)$ -Wertepaare liefert die unbekannten Parameter $c(r=0, z=0)$ und r_{pore} , die, eingesetzt in Gleichung (9), den Fluss in einer individuellen Pore liefern. Diese Beziehungen gelten streng nur dann, wenn zur Ermittlung der lokalen Konzentrationen eine passive Sonde, z.B. eine ISE, genutzt wird, die bei der Messung die Konzentration der detektierten Teilchen nicht ändert. Bei den publizierten Anwendungen erfolgten die Messungen aber vorwiegend mit amperometrischen UMEs. Bei diesen Elektroden kommt es zu einer Überlagerung der Diffusionsschichten der Porenöffnung und der UME, die als lokale Senke für die zu detektierenden Teilchen wirkt. Durch umfangreiche Untersuchungen an Modellmembranen mit bekannter Porengeometrie konnte nachgewiesen werden,^[291] dass diese Beeinflussungen vernachlässigbar werden, wenn man mit möglichst kleinen UMEs arbeitet und bei der Auswertung von Gleichung (11) nur Werte für $z \geq 2 r_{\text{pore}}$ verwendet. Theoretische Behandlungen für Grenzfälle, bei denen diese Bedingungen nicht eingehalten werden können, liegen ebenfalls vor.^[292,293] Mit der beschriebenen Methode wurde der lokale Stofftransport durch Hautproben in unterschiedlichen Differenzierungsstadien^[289,294–299] und durch Zahnbein^[292,300–302] untersucht, wobei zusätzlich neben der Diffusion noch andere Transportmechanismen (Iontophorese, hydrodynamischer Fluss) genutzt wurden. In allen Fällen ist der Fluss nicht homogen über das Gewebe verteilt. Die Beiträge unterschiedlicher Transportmechanismen wurden

auch an technischen Membranen wie Nafion intensiv untersucht.^[290]

Auf etwas andere Weise geht man bei der Untersuchung von Knorpelgewebe vor.^[303–305] Hierbei wird eine Knorpelprobe am Boden einer konventionellen Messzelle eingebaut. Mit einem hochgeladenen Redoxsystem, das nicht in das Knorpelgewebe permeiert, lässt sich die Topographie der Probe abschätzen. Bei einer Sauerstoffreduktion an der UME wird dagegen das Lösungsvolumen über der Knorpelprobe lokal verarmt und Sauerstoff aus dem Knorpelgewebe nachgeliefert. Aus der Differenz der Messkurven zum Erwartungswert für die gehinderte Diffusion nach der zugehörigen Kurve in Abbildung 4 kann die Permeabilität des Gewebes für Sauerstoff ermittelt werden. Eine weitere Erhöhung der Auflösung und der chemischen Selektivität solcher Messungen erreichten Kueng et al. durch die Integration amperometrischer Enzymelektroden in SFM-Messspitzen.^[306–308] Mit diesem System wurde die Abgabe von Glucose und ATP von Modellmembranen unter physiologischen Bedingungen untersucht. Weitere aktuelle Entwicklungen an Modellsystemen gelten der Kombination topographischer und funktioneller Informationen^[309] und dem Test neuer Messmodi,^[310] die sich z. T. auch an das Prinzip der Rasterionenleitfähigkeitsmikroskopie anlehnen.^[311,312] Der zeitliche Verlauf der Blockierung nanoskopischer Poren durch Nanopartikel konnte ebenfalls verfolgt werden.^[313]

5.4. Katalytische Elektroden und Brennstoffzellen

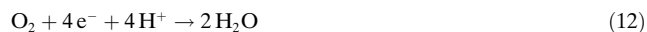
Die mikroskopische Charakterisierung elektrokatalytischer Elektroden hat u.a. in der chemischen Sensorik, bei Elektrosynthesen und bei der Entwicklung der Brennstoffzellentechnologie eine besondere Bedeutung. Die Signalabhängigkeit von kinetischen Prozessen macht die SECM zu einer sinnvollen Ergänzung bestehender Untersuchungsmethoden. Als Beispiel für die kovalente Modifizierung von Elektrodenoberflächen zur Erzielung besonderer Reaktivitätseffekte kann die Modifizierung von Glaskohlenstoff mit 4-Aminobenzoesäure gelten. Die Kinetik der resultierenden Elektroden wurde durch Annäherungskurven im FB-Modus [Gl. (5) und (6)] und Vergleich mit Modellrechnungen charakterisiert.^[314] Eine elektrosynthetische Anwendung ähnlicher Elektroden zur Herstellung von Hydroxylamin aus Salpetersäure untersuchten Halaoui et al.^[315] Dabei kam das SECM bei fixierten Positionen zur Detektion von Reaktionsintermediaten und Produkten zum Einsatz.

Weitere Arbeiten galten der Untersuchung von Reaktionen, die in der Brennstoffzellentechnik bedeutsam sind. Die Verwendung des Mediatorsystems H^+/H_2 wurde im FB-Modus untersucht.^[316–319] Anders als bei vielen bisher besprochenen Redoxmediatoren hängt die Kinetik des Systems H^+/H_2 sehr stark von den elektrokatalytischen Eigenschaften des Elektrodenmaterials ab. Die Gleichungen (5) und (6) wurden zur Ermittlung der potentialabhängigen Geschwindigkeitskonstante für katalytisch aktive Elektroden genutzt, wobei die in Abschnitt 3.1.1 erläuterten Vorteile zum Tragen kommen.^[320] Exemplarisch wurde auch die Untersuchung

komplizierterer Reaktionen wie der Methanoloxidation^[317] oder der katalytischen Aktivität polykristalliner Pt-Elektroden in Gegenwart von Kohlenmonoxid^[321] demonstriert. Die Messverfahren kamen auch zur Untersuchung von kombinatorischen Arrays aus PtRu- und PtRuMo-Elektrokatalysatoren zum Einsatz.^[322,323] Weiterhin wurden Pt-TiO₂-Nanokompositelektroden mit dem H⁺/H₂-System untersucht.^[324]

Die Reaktivität von Metallnanoclustern, die insbesondere in der Brennstoffzellentechnik bedeutsam sind, wurde auf verschiedenen Substraten im GC-Modus charakterisiert. Der Aufbau entsprach ECSTM-Instrumenten mit der Möglichkeit, die Messspitze kontrolliert außerhalb der Tunneldistanz zurückzuziehen. Neben der Reaktivität von Pt-Kolloiden auf hochorientiertem Graphit (HOPG)^[325] wurden besondere Reaktivitätseffekte an einzelnen Pd-Nanoclustern auf Gold untersucht.^[326] Im zweiten Fall wurde zunächst durch einen spitzeninduzierten Effekt ein isolierter Nanocluster erzeugt und bezüglich seiner Topographie mit dem ECSTM charakterisiert.^[327] Nach Vergrößerung des Abstandes wurden die elektrokatalytischen Eigenschaften dieser Cluster im SG/TC-Modus vermessen, und eine sehr starke Abhängigkeit der Aktivität von der Schichtdicke der Cluster wurde gefunden.^[328]

Die Sauerstoffreduktionsreaktion (ORR, oxygen reduction reaction) ist eine technisch und biologisch äußerst wichtige, mechanistisch jedoch komplizierte Reaktion. In einem noch stark vereinfachten Schema müssen in saurer Lösung zumindest drei Reaktionsschritte berücksichtigt werden [Gl. (12)–(14)].



Die Reaktionsgeschwindigkeit ist stark abhängig vom Elektrodenmaterial. Die kinetische Limitierung durch die ORR begrenzt signifikant die Effizienz von Brennstoffzellen und elektrosynthetischen Verfahren. Da es sich um eine irreversible Reaktion handelt, kann zu ihrer Untersuchung nicht auf den FB-Modus zurückgegriffen werden. Einige Untersuchungen erfolgten im TG/SC-Modus (Abbildung 6c).^[1,329–332] Die UME wird in sauerstofffreier Lösung im Abstand von 0.5–3 r_T über der Probe positioniert und bei konstanter Stromstärke zur Erzeugung von molekularem Sauerstoff genutzt. Der lokal erzeugte Sauerstoff diffundiert zur Probe und wird dort reduziert. Durch Auftragung des Probenstroms i_s gegen die laterale Position der UME erhält man eine Kartierung der lokalen Geschwindigkeit der ORR. Solche Messungen dienen z. B. zum Screening von Katalysatorpräparationen (Abbildung 18).

Dieses Prinzip wurde auch genutzt, um sauerstoffreduzierende Enzyme für Biobrennstoffzellen^[331] und Bibliotheken metallischer Reduktionskatalysatoren zu untersuchen.^[1,332] Im letzteren Fall wurde ein Array von Legierungspunkten bestehend aus Pd, Au und Co, in dem die Zusammensetzung systematisch variiert wurde, innerhalb einer Messung untersucht. Die Materialkombinationen, die die beste Aktivität für ORR haben, zeigten die höchsten i_s -Werte

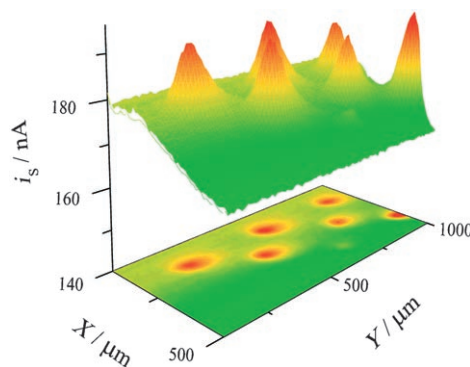


Abbildung 18. TG/SC-Abbildung der ORR-Aktivität eines Arrays von Pt-Spots auf Glaskohlenstoff. An der UME erzeugter O₂ ($i_T = 22$ nA) wird an der Probe katalytisch umgesetzt ($E_s = 0.1$ V). Elektrolyt: 0.5 M H₂SO₄. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [329]. Copyright 2003, American Chemical Society.

beim Passieren der UME. Die ORR kann bei pH 12 auch im FB-Modus gemessen werden, da hier Hydroxidionen als Mediator wirken.^[333] Sie werden an der UME zu O₂ oxidiert und bei der Reduktion an der Pt-Probe regeneriert. Der Einsatzbereich dieser Variante ist nicht nur durch den kleinen pH-Bereich, sondern auch durch die verwendbaren Probenmaterialien sehr begrenzt, da an vielen Metallen bei der ORR im erheblichen Maße H₂O₂ entsteht, das dem Mediator-Kreislauf entzogen würde.

5.5. Untersuchung von biotechnologischen Oberflächen

5.5.1. Abbildung enzymatischer Reaktionen

Die SECM hat sich zu einer wichtigen Methode zur Charakterisierung der Kinetik und der Verteilung von immobilisierten Enzymen an Oberflächen entwickelt, die zur Optimierung von biochemischen Sensoren, Biochips oder Trägermaterialien für Enzyme (Membranen, Schäume, Gele) einsetzbar ist. Die Aktivität immobilisierter Enzyme kann im FB- oder GC-Modus abgebildet werden. Während im FB-Modus nur Oxidasen untersucht werden können (Tabelle 1), lassen sich mit dem GC-Modus auch eine Reihe weiterer Enzyme charakterisieren (Tabelle 2). So ließen sich z. B. für die biotechnologisch und molekularbiologisch bedeutsamen Enzyme alkalische Phosphatase (ALP) und Galactosidase (Gal) geeignete Substrate finden, die beim Potential der UME nicht oxidiert werden, wohl aber das Produkt der enzymatischen Reaktion, *p*-Aminophenol.^[74,334,335]

Tabelle 1 und Tabelle 2 lassen sich entsprechend der unten angegebenen Prinzipien erweitern und sind keinesfalls als abgeschlossen anzusehen. Eine der attraktiven Möglichkeiten des SECM besteht in der Charakterisierung von Enzymen auf Transduceroberflächen unabhängig vom Transducer selbst. Bei der Immobilisierung von Enzymen auf Elektrodenoberflächen kommt es nicht selten zu einer Inhibition von Elektronentransferreaktionen. Mit dem SECM kann dieses Szenario von einer Desaktivierung des Enzyms selbst unterschieden werden. Darüber hinaus erfordert der Trend zur Miniaturisierung von Sensoren und Chipsystemen ent-

Tabelle 1: FB-Abbildung von immobilisierten Oxidoreduktasen.

abgebildetes Enzym	Substrat	Mediator/Reaktion an der UME	Lit.
Glucoseoxidase, EC 1.1.3.4	50–100 mM Glucose	0.05–2 mM Ferrocenmonocarbonsäure, Dimethylaminomethylferrocen, Oxidation 0.05–2 mM $K_4[Fe(CN)_6]$, Oxidation 0.02–2 mM Hydrochinon, Oxidation 0.5 mM $[Os(fpy)(bpy)_2Cl]Cl$, ^[a] Oxidation	[46, 192, 336] [46] [46, 337] [192]
PQQ-abhängige Glucosedehydrogenase, EC 1.1.99.17	50 mM Glucose	0.05–2 mM Ferrocenmonocarbonsäure, 0.05–2 mM Ferrocenmethanol, 0.05–2 mM <i>p</i> -Aminophenol, Oxidation	[338]
NADH-Cytochrom-c-Reduktase, EC 1.6.99.3, innerhalb von Mitochondrien	50 mM NADH	0.5 mM <i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- <i>p</i> -phenylendiamin, Oxidation	[337]
Diaphorase (NADH-Akzeptor-Oxidoreduktase, EC 1.6.99.-)	5.0 mM NADH	0.5 mM Hydroxymethylferrocen, Oxidation	[339]
Meerrettichperoxidase, EC 1.11.1.7	0.5 mM H_2O_2	1 mM Hydroxymethylferrocenium, Reduktion	[340]
Nitratreduktase, EC 1.7.99.4	23–65 mM NO_3^-	0.25 mM Methylviologen, Reduktion	[341, 342]

[a] fpy = Formylpyridin, bpy = Bipyridin.

Tabelle 2: GC-Abbildung von lokalen Enzymaktivitäten.

abgebildetes Enzym	an der UME detektierte Spezies	UME ^[a]	Lit.
Glucoseoxidase EC 1.1.3.4	H_2O_2	amperom. Pt-UME amperom. Enzymelektrode	[73, 343] [344]
PQQ-abhängige Glucosedehydrogenase, EC 1.1.99.17	$[Fe(CN)_6]^{4-}$	amperom. Pt-UME	[338]
Urease EC 3.5.1.5	H^+ NH_4^+	potentiom. Sb-UME Flüssigmembran-ISE	[49] [53]
Meerrettichperoxidase EC 1.11.1.7	Ferrocenderivate	amperom. Pt-UME	[196, 340, 345]
alkalische Phosphatase EC 3.1.3.1	4-Aminophenol	amperom. Pt-UME	[74, 336, 346]
Galactosidase EC 3.2.1.23	4-Aminophenol	amperom. Pt-UME	[334, 335, 347, 348]
Alkoholdehydrogenase EC 1.1.1.1	H^+	potentiom. Sb-UME	[61]
NADPH-abhängige Oxidase in Osteoclasten	O_2^-	Cytochrom-c-modifizierte Au-UME (amperom.)	[349]

[a] amperom.: amperometrisch; potentiom.: potentiometrisch.

sprechende Methoden, mit denen die relative Lage von Elektrodenoberflächen und immobilisierten Enzymschichten untersucht werden kann.^[350] Wie aus Tabelle 1 und Tabelle 2 ersichtlich ist, lassen sich einige Enzyme sowohl im GC-Modus als auch im FB-Modus untersuchen. Bei der Auswahl eines Abbildungsmodus und der Interpretation der Ergebnisse erwiesen sich die folgenden methodischen Überlegungen als hilfreich.

1) Wenn Enzyme auf leitfähigen Oberflächen (Elektroden) immobilisiert sind, kann meist nur der GC-Modus verwendet werden.^[73] Wenn Oxidoreduktasen auf leitfähigen Oberflächen im FB-Modus untersucht werden, kommt es zu einer Überlagerung der Mediatorregeneration durch die en-

zymatische Reaktion und durch einen heterogenen Elektronentransfer mit der leitfähigen Oberfläche (Abbildung 19b).

Obwohl es im Prinzip möglich ist, die Beiträge durch geeignete Kontrollexperimente aufzutrennen,^[192] ist diese Arbeitsweise im Allgemeinen nicht sinnvoll, da der heterogene Elektronentransfer mit einer größeren Geschwindigkeit erfolgt und wegen der Nichtlinearität der Strom-Abstands-Beziehung bezüglich κ (Abbildung 5) ein kleiner zusätzlicher Beitrag durch die enzymatische Reaktion sehr schwer zu identifizieren ist.

2) Wenn der FB-Modus prinzipiell möglich ist, erlaubt er eine wesentlich bessere laterale Auflösung, hat aber eine begrenzte Empfindlichkeit und kann nur für sehr aktive

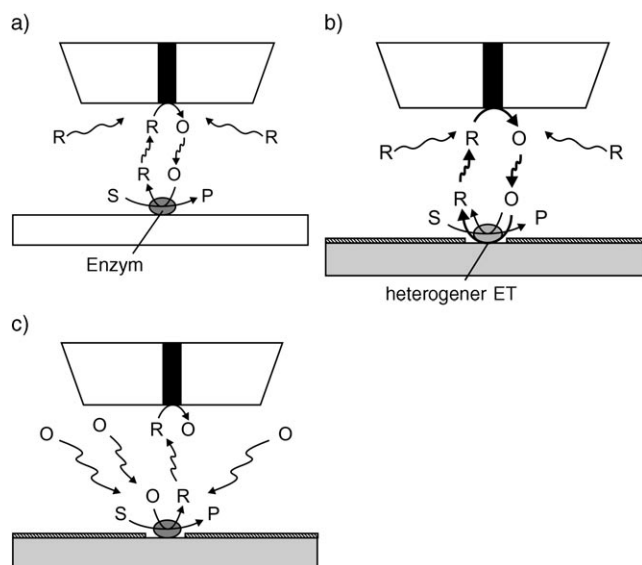


Abbildung 19. Abbildung immobilisierter Enzyme auf Oberflächen. a) Oxidoreduktasen auf einer isolierenden Oberfläche (FB-Abbildung und Quantifizierung möglich); b) Oxidoreduktasen auf einer leitfähigen Oberfläche; Mediatorregenerierung im FB-Modus kann durch die enzymatische Reaktion und/oder einen Elektronentransfer zum Substrat erfolgen; c) GC-Experimente hängen nicht von der Art des Substrats ab.

Enzyme oder Enzyme in hohen Grenzflächenkonzentrationen Γ_{enz} eingesetzt werden. Pierce et al. gaben das Nachweisvermögen quantitativ durch Gleichung (15) an.^[46]

$$k_{\text{cat}} \Gamma_{\text{enz}} \geq 10^{-3} D c / r_{\text{T}} \quad (15)$$

Die linke Seite der Beziehung (15) fasst die enzymabhängigen Größen der Wechselzahl k_{cat} und Γ_{enz} (gegebenenfalls zu ersetzen durch Volumenkonzentration \times Schichtdicke) zusammen. Die rechte Seite enthält die experimentellen Bedingungen: Diffusionskoeffizient D des Mediators, Mediatorkonzentration c und UME-Radius r_{T} . Je kleiner r_{T} und je größer c , desto schwieriger ist die Detektionsbedingung zu erfüllen.

Analog zu Beziehung (15) schlugen Horrocks und Wittstock eine Detektionsbedingung für den GC-Modus vor [Gl. (16)].^[72]

$$k_{\text{cat}} \Gamma_{\text{enz}} \geq D c' / r_{\text{s}} \quad (16)$$

Bei Annahme realistischer Werte für den Radius r_{s} der aktiven Probenregion mit $50 \mu\text{m}$, einer elektrochemischen Detektionsgrenze für die umgesetzte Verbindung an der UME von $c' = 1 \mu\text{M}$, $D = 5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ und einer Monolage des Enzyms ($\Gamma_{\text{enz}} = 1 \times 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$) können Enzyme mit einer Aktivität $k_{\text{cat}} \geq 1 \text{ s}^{-1}$ erfasst werden.^[72]

3) Um die GC-Messungen mithilfe der Gleichungen (10) und (11) quantitativ auszuwerten, muss die enzymmodifizierte Region selbst eine Mikrostruktur sein, über der sich stationäre Diffusionsschichten bilden. Diese Einschränkung existiert für FB-Experimente nicht.

4) Der FB-Modus erfordert ein möglichst kleines d . Der GC-Modus hängt weniger kritisch von d ab, und daher können größere d gewählt werden, sodass hervorstehende Probenanteile oder eine Verkipfung zwischen Probenoberfläche und Rasterebene eher toleriert werden.

5) Die Konzentration des Enzymsubstrats muss sorgfältig ausgewählt werden. Sie sollte deutlich über der zugehörigen Michaelis-Menten-Konstante liegen. Die Gegenwart der UME mit ihrer Glasummantelung behindert auch die Diffusion des Enzymsubstrats zur Probenregion direkt unter der UME.^[344] Dies kann zu einer Unterschätzung der Enzymaktivität in entsprechenden Experimenten führen oder verzerrte Abbildungen hervorrufen.^[351] Die Verwendung von Elektroden mit möglichst kleinem RG ist in GC-Experimenten immer vorteilhaft.

6) Untersuchungen an immobilisierten Enzymen sollten immer von entsprechenden Kontrollexperimenten begleitet werden. Wegen der häufig sehr kleinen Ströme könnten andernfalls andere Faktoren (Probenrauigkeit, lokal unterschiedliche Permeabilität von Beschichtungen) die Ursache von Signalvariationen sein, die fälschlich der Enzymreaktion zugeschrieben würden.

5.5.2. Neue Sensorarchitekturen

Die Möglichkeiten zur Abbildung spezifischer Enzymaktivitäten und zur Oberflächenmodifikation in wässrigen Lösungen (Abschnitt 3) machen das SECM zu einem idealen Werkzeug, um das Potenzial von mikrostrukturierten Oberflächen für Sensoranwendungen zu erkunden.^[343,352,353] So immobilisierten Kuhr et al. Enzyme lediglich auf einem Teil einer Elektrode und nutzten die nicht modifizierten Regionen für eine elektrochemische Detektion mit besonders kurzen Ansprechzeiten, womit sich die gegensätzlichen Anforderungen für beide Funktionen ohne Leistungseinbuße erfüllen ließen.^[353] Mit dem SECM konnte die unterschiedliche Reaktionskinetik an beiden Bereichen dargestellt werden.^[352] In diesem Zusammenhang kam das SECM neben anderen Techniken auch zur Mikroderivatisierung von Elektrodenoberflächen zum Einsatz.^[354]

Wilhelm und Wittstock erzeugten eine Oberfläche mit definierten Anordnungen von Glucoseoxidase (GOx) und Meerrettichperoxidase (HRP) durch eine Kombination von Mikrokontaktdrucken und einer SECM-basierten Modifizierung.^[198] Die Oberfläche konnte sowohl nach dem Mikrokontaktdrucken als auch nach der lokalen elektrochemischen Modifizierung bezüglich ihrer Reaktivität untersucht werden.^[196,355]

Im Ergebnis entstand eine Struktur, bei der eine mikroskopische Region mit GOx modifiziert wurde, die von einem periodischen Gittermuster von HRP umgeben ist (Abbildung 20a). GOx setzt Glucose und O_2 zu Gluconolacton und H_2O_2 um. Letzteres dient als Substrat für die HRP-katalysierte Oxidation von Ferrocenmethanol (Abbildung 20b). Eine GC-Abbildung des entstehenden Ferroceniumderivats macht die kombinierte Wirkung beider Enzyme sichtbar (Abbildung 20c). Die Darstellung zeigt, dass nur in unmittelbarer Umgebung der GOx-modifizierten Region ein wesentlicher Umsatz am HRP-Gitter erfolgt. Eine weitere

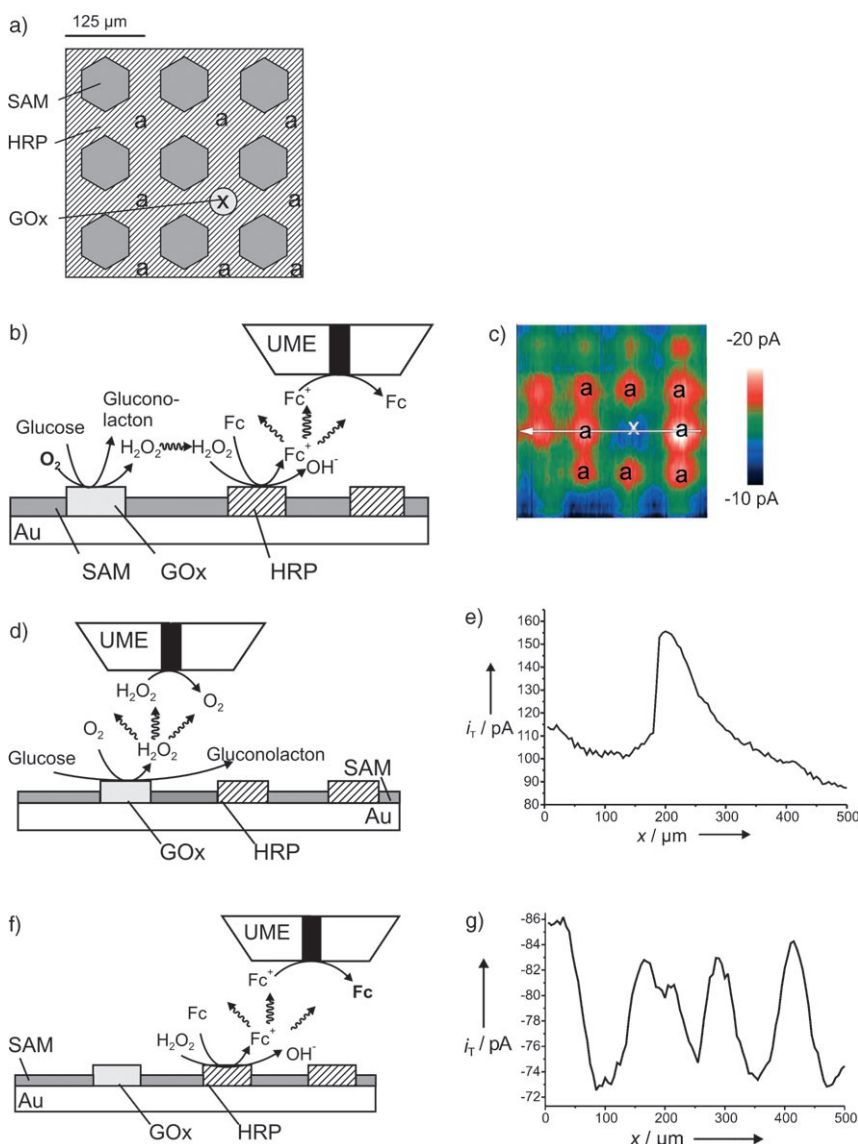


Abbildung 20. Untersuchung einer gemusterten bienzymatischen Oberfläche mit HRP und GOx. a) Anordnung der Enzyme nach der lokalen Derivatisierung mit GOx; b) GC-Experiment; c) experimentelle GC-Abbildung in Gegenwart von O₂, Glucose und Ferrocenmethanol (500 × 500 μm²); d) GC-Experiment zur Abbildung der GOx-Aktivität; e) experimenteller GC-Linienscan zur Detektion von H₂O₂ entlang der in (c) angegebenen Linie. Die Lösung enthält zunächst nur Glucose und O₂. f) GC-Experiment zur Detektion der HRP-Aktivität; g) experimenteller GC-Linienscan entlang der Linie in (c); Die UME detektiert Ferroceniummethanol, die Lösung enthält zunächst nur H₂O₂ und Ferrocenmethanol. Wiedergabe aus Lit. [198].

Ausbreitung der H₂O₂-Diffusionschicht über die Probe wird verhindert. Die individuellen Aktivitäten der beteiligten Enzyme können nach Lösungswechsel und Umschalten von E_T studiert werden. Die GOx-Aktivität kann man in einer Lösung, die Glucose und O₂ (kein Ferrocenmethanol) enthält, durch direkte H₂O₂-Oxidation an der UME erhalten (Abbildung 20d,e). Die HRP-Aktivität lässt sich in einer Lösung verfolgen, in der man H₂O₂ und Ferrocenmethanol vorlegt und das Ferroceniummethanol detektiert (keine Glucose, Abbildung 20f,g). Die größeren Reduktionsströme in periodischen Abständen zeigen die Lage der HRP-modifizierten Bereiche an. Die unterschiedlichen Signale in Abbildung 20c können auf diese Weise auf eine unterschiedliche

Verfügbarkeit von H₂O₂ zurückgeführt werden und eindeutig von einer lokalen Variation der immobilisierten HRP-Enzymaktivität unterschieden werden.

5.5.3. Screeningverfahren für kombinatorische Tests

Das SECM kam ebenfalls zur Charakterisierung einer Reihe neuartiger, nichtmanueller Immobilisierungsverfahren für mikrostrukturierte Transducer zum Einsatz. Die Beispiele umfassen enzymbeladene Hydrogele,^[356] die Abscheidung von Polyelektrolyten durch eine lokale, elektrochemisch ausgelöste pH-Verschiebung^[357] oder die Nutzung von Mikrodispensern.^[358] Ein großes Potenzial besteht für kombinatorische Tests von Gradientenmaterialien, mit denen man zum Zwecke der Optimierung viele unterschiedliche Sensoroberflächen auf einem Substrat simuliert.^[358–360] Die Region mit dem höchsten i_T entspricht dann einer optimalen Sensorarchitektur auf der Probe, die Ausgangspunkt für weitere Sensorentwicklungen sein kann. Auf diese Weise ließe sich das aufwendige Testen von Präparationen mit einer Vielzahl variabler Parameter abkürzen.

5.6. Untersuchungen zum Metabolismus von Geweben und Zellen

Elektrochemische Methoden, vor allem Amperometrie und Voltammetrie, finden bereits seit geraumer Zeit Anwendung bei der Untersuchung zellulärer Prozesse, insbesondere bei der Abgabe von Neurotransmittern.^[361,362] Die Möglichkeit, mit dem SECM genauere Einsichten in biologische Struktur-Funktions-Beziehungen zu gewinnen, wurde schon seit Beginn der

SECM-Entwicklung aufgezeigt und seither weiter ausgebaut.^[17] Die Anwendungen beruhen auf dem FB- oder dem GC-Modus. Bei der Untersuchung zellulärer Systeme treten einige zusätzliche Schwierigkeiten auf. In der konventionellen SECM-Arbeitsweise bewegt sich die UME in einer Ebene über der Probe. Dies sichert einen konstanten Arbeitsabstand d , wenn die Verkippung zwischen Probenoberfläche und Rasterebene vermieden wird und außerdem die Rauigkeit der Probe klein gegenüber r_T (5–20 μm) ist. Adhärenz Zellen sind dagegen hervorstehende Objekte mit Höhenunterschieden im Mikrometerbereich, d.h. sie sind vergleichbar mit r_T . Zum Einhalten eines konstanten d muss daher ein Mechanismus verwendet werden, der die UME der Topographie der

Probe nachführt. Wie in Abschnitt 2.1.4 diskutiert, kann i_T selbst nicht direkt zur Abstandsregulation verwendet werden. Die überzeugendsten Resultate wurden mit einer Scherkraftabstandsregulation erzielt (Abschnitt 6). Außerdem wurde die Positionierung mithilfe eines optischen Mikroskops ausgeführt,^[349,363,364] oder Zellen wurden in speziellen Kavitäten kultiviert, mit deren oberem Rand sie nach dem Anwachsen eine ebene Fläche bildeten.^[365–368] Alternativ kommen auch Doppelmikroelektroden zum Einsatz, bei denen eine UME einen Mediator umsetzt, der nicht mit der Probe wechselwirkt und eine Abstandsbestimmung nach Gleichung (3) ermöglicht.^[369] Die zweite UME detektiert dann das biologisch interessante Molekül. Die gleichzeitige Messung eines Gleichstromsignals zur Detektion von Neurotransmittern und eines hochfrequenten Wechselstromsignals zur Erfassung und Konstanthaltung von d wurde ebenfalls beschrieben.^[370]

5.6.1. Untersuchungen zur photosynthetischen Sauerstoffproduktion, zur lokalen Sauerstoffzehrung und In-vitro-Toxizitätstests

Das SECM wurde zur Untersuchung der lokalen Sauerstoffproduktion an Blättern von *Tradescantia fluminensis* eingesetzt, die noch mit der intakten Pflanze verbunden waren.^[363] Im Dunkeln konnte mit O_2 als Mediator die Topographie der Blattunterseite mit erkennbaren Spaltzellen abgebildet werden. *T. fluminensis* besitzt weiße Blatteile, in denen Chloroplasten nur in den Spaltzellen auftreten. Tsionsky et al. konnten die O_2 -Produktion in einzelnen Spaltzellen erfassen und das Einsetzen der Sauerstoffproduktion nach Einschalten der Lichtquelle verfolgen.^[363] Dieses Herangehen illustriert recht deutlich die Vorteile der SECM-Methode: Lokalisierung einzelner interessierender Zellen aufgrund der Topographie oder der biochemischen Aktivität, Positionierung des Sensors direkt über diesen Objekten und Ausführung einer detaillierteren, oft zeitabhängigen Untersuchung an einer fixierten Position. Ein ähnliches Herangehen ist auch möglich, um den Einfluss von toxischen Substanzen, z.B. von Cd^{2+} , auf die photosynthetische O_2 -Produktion zu messen.^[371] Yasukawa et al. untersuchten die O_2 -Produktion durch einzelne Protoplasten von *Bryopsis plumosa* und ihre Veränderung nach dem Zudosieren verschiedener Chemikalien.^[369,372]

Der Sauerstoffverbrauch individueller Zellen oder von Geweben kann in ähnlicher Weise verfolgt werden: Die UME detektiert über atmungsaktiven Zellen weniger O_2 als über dem Rest der Probe. Besondere Aufmerksamkeit muss bei dieser Arbeitsweise der Differenzierung zwischen größerer Sauerstoffzehrung und der Abschirmung des Massentransports durch hervorstehende Zellen geschenkt werden. Die beschriebenen Beispiele umfassen HeLa-Zellen^[373] und Zellen der Linie SW-480.^[374] Die Sauerstoffzehrung wurde als Funktion der Zeit nach dem Zudosieren von Zellgiften verfolgt, um entweder die Toxizität von Chemikalien zu beurteilen oder für therapeutische Zwecke geeignete Cytostatika auszuwählen.^[375–377] Andere Ansätze für In-vitro-Toxizitätstests nutzten eine Mutante von *S. typhimurium*, die nach Zudosieren eines Mutagens das UmuC-LacZ-Fusionsprotein

mit Galactosidaseaktivität exprimiert. Dessen Aktivität kann mit dem SECM sehr empfindlich verfolgt werden.^[348] In einer Reihe von Arbeiten legten Shiku et al. eine Methode zur Beurteilung von in vitro befruchteten Rinderembryonen dar.^[2,378,379] Die UME wurde für eine differenzielle Messung des Sauerstoffgehalts in der Nähe des Embryos und im Volumen des Kulturmediums genutzt. Die daraus abgeleitete Atmungsaktivität korrelierte mit der Überlebensrate und dem Geschlecht der Embryonen.^[380]

5.6.2. Abgabe von Botenstoffen

Die Abgabe von Neurotransmittern bei der Reizleitung von Zelle zu Zelle konnte schon vor einiger Zeit an isolierten Zellen mithilfe von Kohlefaser-UMEs verfolgt werden.^[361] Hengstenberg et al. nutzten Kohlefaser-UMEs in Kombination mit einer Scherkraftabstandsregulation, um ein grobes topographisches Abbild einer adhären wachsenden PC12-Zelle aufzuzeichnen und anschließend die UME ohne mechanisches Berühren der Zelle über einem ausgewählten Teil der Zelle zu positionieren.^[381] Nach Stimulation durch zugesetzte K^+ -Ionen konnte die Abgabe von Catecholaminen mit hoher Zeitauflösung an der ortsfesten UME beobachtet werden. In ähnlicher Weise wurde die Abgabe von Adrenalin und Noradrenalin aus individuellen sekretorischen Vesikeln von Chromaffin-Zellen untersucht.^[382]

Die Abgabe von Stickstoffmonoxid aus Endothelzellen konnte ebenfalls untersucht werden. NO hat eine große Bedeutung als Botenstoff z.B. im Gefäßsystem. Zur Detektion kam ein elektrokatalytischer Sensor basierend auf substituierten Nickelporphyrinen mit einem Durchmesser von 50 μm zum Einsatz.^[364] Der Sensor wurde mit einer konventionellen Pt-UME (\varnothing 10 μm) zu einer Doppelmikroelektrode kombiniert. Mithilfe der Pt-UME wurde die Sonde unter Verwendung der O_2 -Reduktion sowie von Gleichung (3) über den Zellen positioniert. Die katalytische Elektrode detektierte dann die NO-Abgabe der Zellen.

5.6.3. Funktion und Regulation von knochenabbauenden Zellen

Durch den Einsatz des SECM konnten vertiefte Einsichten in die physiologischen Prozesse bei der Resorption von Knochen durch Osteoclasten erhalten werden.^[55,383,384] Osteoclasten sorgen für die Resorption des Knochenmaterials unter Freisetzung von Ca^{2+} und anderen Verbindungen. Im Knochen besteht ein Gleichgewicht zwischen Knochenaufbau und -abbau, ein Ungleichgewicht zwischen beiden Prozessen liegt bei einer Reihe von Krankheiten, wie z.B. Osteoporose, vor. Konventionell wird die knochenabbauende Aktivität von Osteoclasten in vitro durch eine 18- bis 20stündige Inkubation auf Knochenscheiben gefolgt von einer elektronenmikroskopischen Untersuchung der Resorptionsgruben getestet. Schneller und genauer ist eine Untersuchung der Resorptionsaktivität mit dem SECM, bei der über die Ca^{2+} -Abgabe bereits nach 10 min die Aktivität einzelner Zellen bestimmt werden kann. Die Verzögerung der Resorption nach Fluoridbehandlung konnte ebenfalls im Detail untersucht werden.

Die Zellen reagieren mit einem Ausstoß von Superoxidradikalen auf das Parathyroid-Hormon (PTH). Das Superoxidradikalanion konnte mit einer Cytochrom-c-modifizierten AUME amperometrisch detektiert werden.^[349] Die kurze Zeitspanne zwischen PTH-Zugabe und Superoxiddetektion und die inhibitorische Wirkung von Cholera toxin legt eine direkte Wirkung von PTH auf die Osteoclasten über einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor nahe.

5.6.4. Redoxkapazität einzelner Zellen

Liu et al. zeigten, dass die Redoxregenerierung eines SECM-Mediators direkt in den internen Metabolismus lebender Zellen einkoppeln kann.^[385] Dabei wurden verschiedene Abbildungsmodi eingesetzt: 1) Hydrophile Mediatoren können die Zellmembran nicht überwinden. Eine Abbildung mit diesen Mediatoren liefert eine topographische Information nach Gleichung (3). 2) Wenn eine redoxaktive Verbindung einer Verteilung zwischen dem Inneren der Zelle und dem Medium unterliegt, kann ihre Konzentration durch Elektrolyse an der UME über der Zelle lokal verringert werden. Die Zelle kann darauf mit einer Abgabe der Substanz reagieren. Der zeitliche Verlauf von i_T ermöglicht Rückschlüsse auf die Transportkinetik der Verbindung durch die Zellmembran. 3) Der Mediator kann durch Redoxenzyme in der Zellmembran regeneriert werden, die auf diese Weise die Ladung in das Zellinnere transportieren. 4) Neutrale Redoxmediatoren wie Menadion und Naphthochinon können durch die Lipidschicht diffundieren und direkt die Redoxäquivalente in der Zelle umsetzen.^[386] Feng et al. beobachteten Unterschiede zwischen normalen und metastatischen Tumorzellen, welche sie zu den Proteinexpressionsprofilen der Zellen in Beziehung setzten.^[387] Das generelle Herangehen wurde auch auf Bakterienzellen angewendet.^[388] Die SECM-Experimente wurden im Rahmen einer Theorie interpretiert, die für die Untersuchung von Ladungstransferprozessen an Flüssig-flüssig-Grenzflächen entwickelt wurde, wobei sich zeigen muss, ob diese Modelle auch tiefere Einsichten in die komplexen internen Regulationsprozesse von biologischen Zellen zulassen.

Nagamine et al. beobachteten die metabolische Regulation von Bakterien, die in Collagen-Mikrokissen gebunden waren und osmotischem Stress ausgesetzt wurden.^[389,390] Durch Wechsel der osmotischen Bedingungen änderte sich die Permeabilität der Zellmembran für den hydrophilen Mediator $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Außerdem hing das Verhalten davon ab, ob die Zellen auf einem Medium mit D-Glucose als einziger Kohlenstoffquelle wuchsen. Dies legte nahe, dass die Elektronentransferkette, in die der SECM-Mediator eingreift, stromaufwärts der Atmungskette liegt.^[389]

5.7. SECM als Detektionsmethode für biochemische Assays und für Elektropherogramme

Für die SECM-Detektion in bioanalytischen Tests wurden bisher drei grundsätzlich verschiedene Verfahren herangezogen. Es wurden miniaturisierte Immunassays und DNA-Tests unter Verwendung von Enzymmarkierungen entwi-

ckelt. Weiter gibt es neue Entwicklungen zur Nutzung sehr empfindlicher Metallmarkierungen und markierungsfreie Detektionsverfahren.

5.7.1. Enzymmarkierungen

Die Nutzung von Enzymmarkierungen beruht auf der SECM-Abbildung der lokalen Enzymaktivität, die mit der Menge des gebundenen Analyten korreliert.^[74,340] Die Auswahl der Arbeitsweise wird von den unter Abschnitt 5.5 dargelegten Prinzipien bestimmt. Einen systematischen Vergleich der infrage kommenden Detektionsmethoden stellten Zhao und Wittstock am Beispiel der PQQ-abhängigen Glucosedehydrogenase vor (PQQ = Pyrrolochinolinchinon).^[351] Zusammenfassend hat sich der GC-Modus für diese Untersuchungen eindeutig durchgesetzt.^[74,336,340,345,346,391] Das Produkt der enzymatischen Reaktion wird in unmittelbarer räumlicher Nähe zur Enzymmarkierung erfasst. Dadurch wird die Verdünnung der Substanz in einem größeren Lösungsvolumen vermieden, und die aus diesem Grunde in konventionellen ELISA-Tests nötigen Inkubationszeiten sind nicht erforderlich. Eine Reihe von Immunassays mit SECM-Detektion wurde realisiert.^[340,345,391–395] Die Abbildung 21 zeigt exemplarisch einen Zweifachimmunassay für humanes Plazentalactogen (HPL) und humanes Choriongonadotropin (HCG).^[345] Der Analyt ist durch die Position auf dem Chip bestimmt, während das UME-Signal an der jeweiligen Position eine Quantifizierung ermöglicht. Die Detektion wurde im GC-Modus vorgenommen. Das Enzym Meerrettichperoxidase (HRP) setzt H_2O_2 und Ferrocenmethanol um, und das entstehende Ferrocinium-Ion wird an der UME reduziert.

Magnetische Mikropartikel können als neue Materialien für Immunassays genutzt werden. In einem nicht optimierten Modellassay mit alkalischer Phosphatase (ALP) als Markierungsenzym erreichten Wijayawardhana et al. akzeptable Detektionsgrenzen von $6,4 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ oder $1,4 \times 10^{-15} \text{ mol}$ für murines Immunglobulin G.^[346,396] Weiteres Optimierungspotenzial besteht im Einsatz des Enzyms Galactosidase (Vermeidung des luftempfindlichen Substrats *para*-Aminophenylphosphat für ALP) und in der Nutzung einer katalytischen Nachverstärkung des Signals durch Ankopplung einer zweiten enzymatischen Reaktion (Abbildung 22).^[334,347] In diesem Fall wirkt das an der UME aus *p*-Aminophenol (PAP) gebildete *p*-Chinonimin als Cofaktor für Glucosedehydrogenase. Dabei wird erneut PAP gebildet und kann an der UME detektiert werden. Enzymmarkierungen können auch genutzt werden, um Jahresringe in Holz zu markieren und mit dem SECM abzubilden.^[397]

Fortin et al.^[398] berichteten über einen neuen Ansatz, bei dem zunächst ein DNA-Mikroarray auf der Basis einer lokalen Polypyrrolabscheidung nach Kranz et al.^[188] erfolgte. Durch Einbau von Einzelstrang-DNA-substituierten Monomeren in das Polymer entstand eine sensitive Oberfläche.^[399] Nach Hybridisierung mit einer biotinylierten komplementären DNA wurde Meerrettichperoxidase über eine Streptavidin-Biotin-Bindung angebunden und zur Umsetzung von 4-Chlor-1-naphthol genutzt. Das entstehende unlösliche isolierende Reaktionsprodukt schirmte die Metalloberfläche des Trägerchips ab. Im FB-Modus zeigte sich daher eine erfolgte

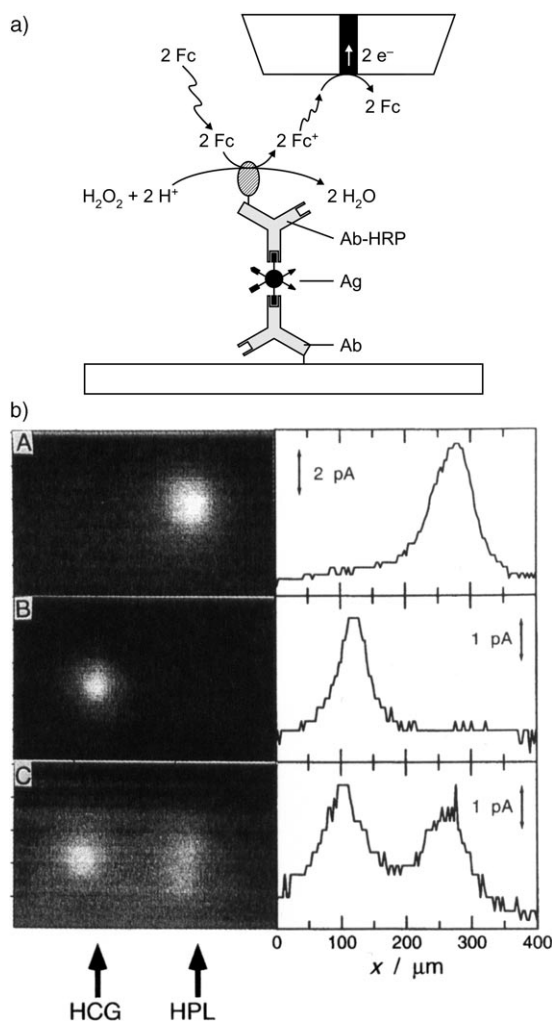


Abbildung 21. a) Aufbau zur SECM-Detektion eines Sandwich-Immunoassays nach Shiku et al.^[345] b) SECM-Abbildungen und Profile des mikrostrukturierten Glasträgers mit (anti-HCG)-Ab und (anti-HPL)-Ab, die auf zwei Regionen immobilisiert waren. Die Aufnahmen erfolgten nach Kontakt mit folgenden Lösungen A) 56 ng mL⁻¹ HPL; B) 2.0 IU mL⁻¹ HCG; C) Mischung mit 31 ng mL⁻¹ HPL + 0.63 IU mL⁻¹ HCG. Nach dem Spülen wurden alle Proben in 20 µg mL⁻¹ (anti-HCG)-Ab-HRP + 7 µg mL⁻¹ (anti-HPL)-Ab-HPL inkubiert. Lösung für den Detektionsschritt: 1.0 mM Ferrocenmethanol + 0.5 mM H₂O₂ + 0.1 M KCl + 0.1 M Phosphatpuffer, pH 7.0; $\nu_T = 9.8 \mu\text{m s}^{-1}$; $E_T = +0.05 \text{ V (Ag/AgCl)}$. Wiedergabe aus *J. Electroanal. Chem.*, 438, H. Shiku, Y. Hara, T. Matsue, I. Uchida, T. Yamauchi, S. 187–190,^[345] Copyright 1997, mit Genehmigung von Elsevier.

Hybridisierung durch verringerte Ströme an.^[400] Komatsu et al. und Takenaka berichteten über eine Stromverstärkung über hybridisierter, immobilisierter DNA, wenn diese Regionen mit einer ferrocensubstituierten interkalierenden Substanz als Mediator im FB-Modus abgebildet werden.^[401,402]

Der Hauptnachteil der SECM-Detektion gegenüber der üblichen Fluoreszenzdetektion sind die langen Messzeiten und damit verbundenen Schwierigkeiten, einen Hochdurchsatz zu realisieren. Dem stehen als Vorteile bei vergleichbarer Empfindlichkeit eine wesentlich preiswertere Instrumentierung und geringere Probleme mit Hintergrundsignalen gegenüber. Daher kann man erwarten, dass die SECM-Detek-

tion auf dem Gebiet der Proteinarrays Bedeutung erlangen wird, wo eine begrenzte Zahl von Arrayelementen detektiert wird und Lesezeiten daher nicht so kritisch sind wie in hochkomprimierten DNA-Arrays. Durch seine Flexibilität ist das SECM das ideale Werkzeug zur Optimierung solcher Detektionsverfahren. Matsue et al. und Nishizawa et al. übertrugen erfolgreich SECM-Wirkprinzipien in miniaturisierte elektrochemische Zellen, in denen dann Assays ohne das mechanisch anspruchsvolle und zeitaufwendige Abrastern der Probe ausgelesen^[403,404] oder Oberflächen modifiziert wurden.^[405]

5.7.2. Metallmarkierungen

Metallmarkierungen finden schon länger Anwendung zum Auslesen von DNA- und Proteinchips oder zum Anfärben von Elektrophoresegelen. Die SECM kann zum Auslesen dieser Markierungen eingesetzt und deutlich empfindlicher als die entsprechende optische Detektion gestaltet werden. Wang et al. markierten Einzelstrang-DNA (ssDNA) mit Au-Nanopartikeln.^[406] Nach Bindung an den komplementären Strang, der an der Chipoberfläche gebunden war, dienten die Au-Partikel als Katalysator für eine stromlose Silberabscheidung. Die gebildete Metallschicht wurde dann im FB-Modus mit [Ru(NH₃)₆]³⁺ als Mediator abgebildet. In diesem Beispiel wirkt das Silber als inerte Metallelektrode, die einen positiven Feedback durch einen heterogenen Elektronentransfer vom reduzierten Mediator ermöglicht. Etwas anders ist das von Carano et al. angewendete Prinzip zur Detektion von Proteinen auf Poly(vinylidendifluorid)-Membranen (PVDF).^[407] Diese Membranen dienen als Folien zum Elektrophoretischen Trennung. In ersten Versuchen wurden die Proteine mit zuvor präparierten Ag-Nanopartikeln markiert. Das an der UME entstehende [Os(bpy)₃]³⁺ löst die Ag-Nanopartikel auf. Inzwischen wurde ein ähnliches Vorgehen für eine Cu-Anfärbung und Detektion mit Ferrocenmethanol als Mediator gezeigt.^[408]

5.7.3. Markierungsfreie Detektion von DNA-Chips

Wang und Zhou bestimmten hybridisierte DNA auf Chipoberflächen, indem sie an der UME das starke Oxidationsmittel [Ru(bpy)₃]³⁺ erzeugten, das danach Guanin innerhalb der DNA-Stränge oxidierte.^[409] Turcu et al. immobilisierten ssDNA in Form von Mikrospots auf Au-Oberflächen.^[410,411] Die negativ geladenen DNA-Stänge inhibierten im FB-Modus die Redoxregeneration mit dem negativ geladenen Mediator [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, ähnlich der Untersuchung von SAMs (Abschnitt 5.2.2). Nach einer Hybridisierung wurde der Strom über den Spots weiter gesenkt, da sich die negative Ladungsdichte an der Chipoberfläche erhöhte.

6. Neue methodische und instrumentelle Entwicklungen

Trotz der Vielfalt der Anwendungen und der Verfügbarkeit kommerzieller Geräte war die Entwicklung bis etwa 2002

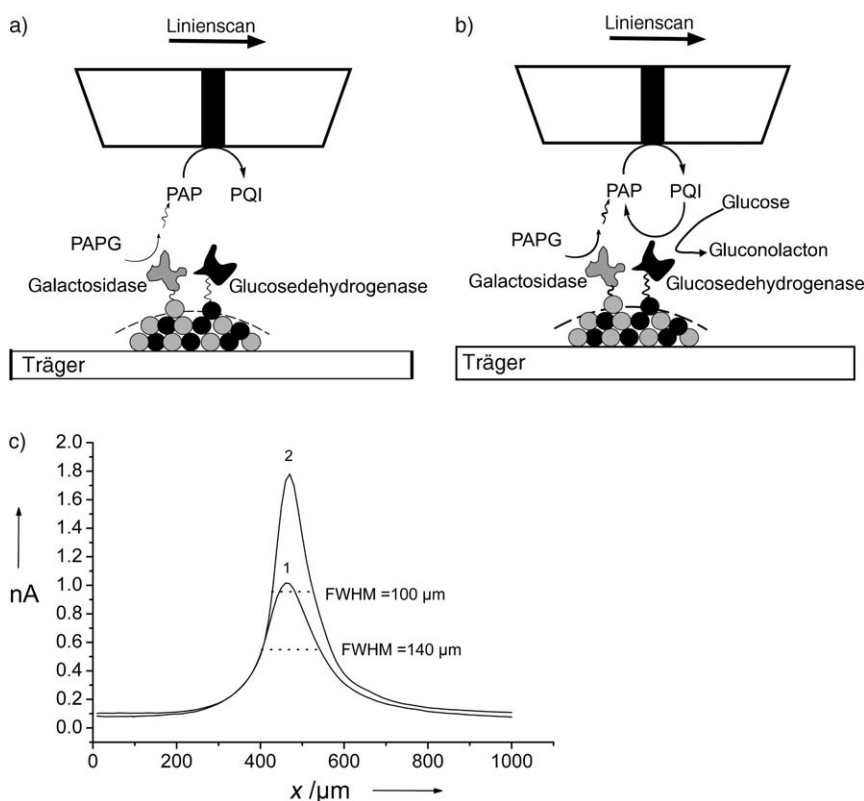


Abbildung 22. a) Messprinzip im konventionellen GC-Modus mit Galactosidase; b) Signalverstärkung durch Glucosedehydrogenase in Gegenwart von Glucose. PAPG: *p*-Aminophenyl-β-D-galactopyranosid, PAP: *p*-Aminophenol, PQI: *p*-Chinonimin; c) SECM-Linienscan über das Zentrum eines Mikrospots im konventionellen GC-Modus (nach (a), Kurve 1, ohne Glucose) und mit Signalverstärkung (nach (b), Kurve 2, mit Glucose). Die Darstellungen sind nicht maßstäblich. Wiedergabe aus Lit. [347].

von methodischen Arbeiten dominiert, wofür es eine Reihe von sehr unterschiedlichen Ursachen gibt. Ein erfolgreiches Arbeiten, insbesondere an nichtidealen Proben, erfordert ein grundlegendes Verständnis der zugrundeliegenden elektrochemischen Prinzipien sowie auch praktische Erfahrung, um geeignete Experimente zu entwerfen und zu realisieren. Da i_T nicht nur vom Arbeitsabstand d , sondern auch von der Reaktivität der Probe abhängt (Abbildung 5), war bereits früh klar, dass stromunabhängige Positionierverfahren dringend erforderlich sind, um in Routineanwendungen eine eindeutige Zuordnung der Messdaten zu Reaktivitätsunterschieden zu erhalten oder die Verkipfung der Probe auszugleichen. Aus jetziger Perspektive sind die Nutzung von UMEs mit Nanometerabmessungen in Verbindung mit Scherkraftsystemen und die Kombination mit anderen experimentellen Techniken als Trends klar erkennbar.

6.1.1. Positionierung über Scherkraftmessungen

Es gelingt immer mehr Forschungsgruppen, UMEs mit Durchmessern $\leq 1 \mu\text{m}$ mit definierter Geometrie herzustellen, zu charakterisieren und unter Nutzung von Scherkraftmessungen an lateral vibrierenden UMEs für Abbildungsexperimente einzusetzen.^[70,412–418] Da die Scherkräfte in einer viskosen Flüssigkeit gemessen werden müssen, in praktischen Experimenten oft auch eine unterschiedliche Füllhöhe un-

vermeidlich ist (Zudosierung von Lösungen) und die mechanischen Eigenschaften der UMEs variieren, ist die Messung dieser Scherkräfte im Routinebetrieb nach wie vor aufwendig. Es existieren zwei Varianten: In der erstmals von Ludwig et al. vorgestellten Variante regt ein piezoelektrischer Aktuator die UME mit einer Frequenz an, die auf die mechanischen Eigenschaften der UME abgestimmt ist.^[412] Die Auslenkung wurde mit etwa 50 nm abgeschätzt ($\ll r_T$). Die Amplitude und Phasenverschiebung der lateralen Bewegung wird entweder durch Projektion eines Beugungsmusters auf eine geteilte Photodiode^[412] oder durch ein zweites piezoelektrisches Element aufgenommen.^[58,245,254,415,419,420] Die optische Detektion erfordert einen Mindestdurchmesser der Sonde, wogegen die piezoelektrische Detektionsvariante sich auch für Elektroden mit sehr kleinen Gesamtdurchmessern eignet. In Abbildung 23 a) ist die Anbringung eines piezoelektrischen Aktuators und Empfängers an einer UME schematisch dargestellt. Weiterhin sind simultan erstellte Aufnahmen des elektrochemischen Signals und der Topographie eines Pt-Bandarrays gezeigt (Abbildung 23 b,c), die die Korrektur der Verkipfung und die Kontrastverstärkung der FB-Abbildung durch kleine Arbeitsabstände zeigen.^[415]

Alternativ kann eine UME an ein Bein eines stimmgabelförmigen Quarzresonators angebracht werden.^[258,397,413,414,416,417] Das Resonanzverhalten des Systems wird in diesem Fall vor allem durch den Quarzresonator bestimmt, wodurch die Elektronik für einen engeren Frequenzbereich ausgelegt werden kann als bei der oben besprochenen Variante. Da die Masse der UME wegen der seitlichen Isolierung wesentlich größer ist als die des Quarzresonators, bestehen auch hier Empfindlichkeitsprobleme. In jedem Fall nimmt durch die Nutzung des Scherkraftmodus die Komplexität der Experimente zu, da neben den elektrochemischen auch die mechanischen Eigenschaften der UME an die Aufgabenstellung angepasst werden müssen.

6.1.2. Kopplungen mit SFM und ECSTM

Die SFM und die elektrochemische Rastertunnelmikroskopie (ECSTM) ermöglichen eine routinemäßige Untersuchung der Topographie mit einer lateralen und vertikalen Auflösung, die der des SECM deutlich überlegen ist. Allerdings liefern beide Methoden zunächst keine chemisch spezifischen Informationen. SECM kann mit anderen Methoden gekoppelt werden, indem man die UME in die Messfühler für andere Sondentechniken (SFM, ECSTM, SNOM) integriert.

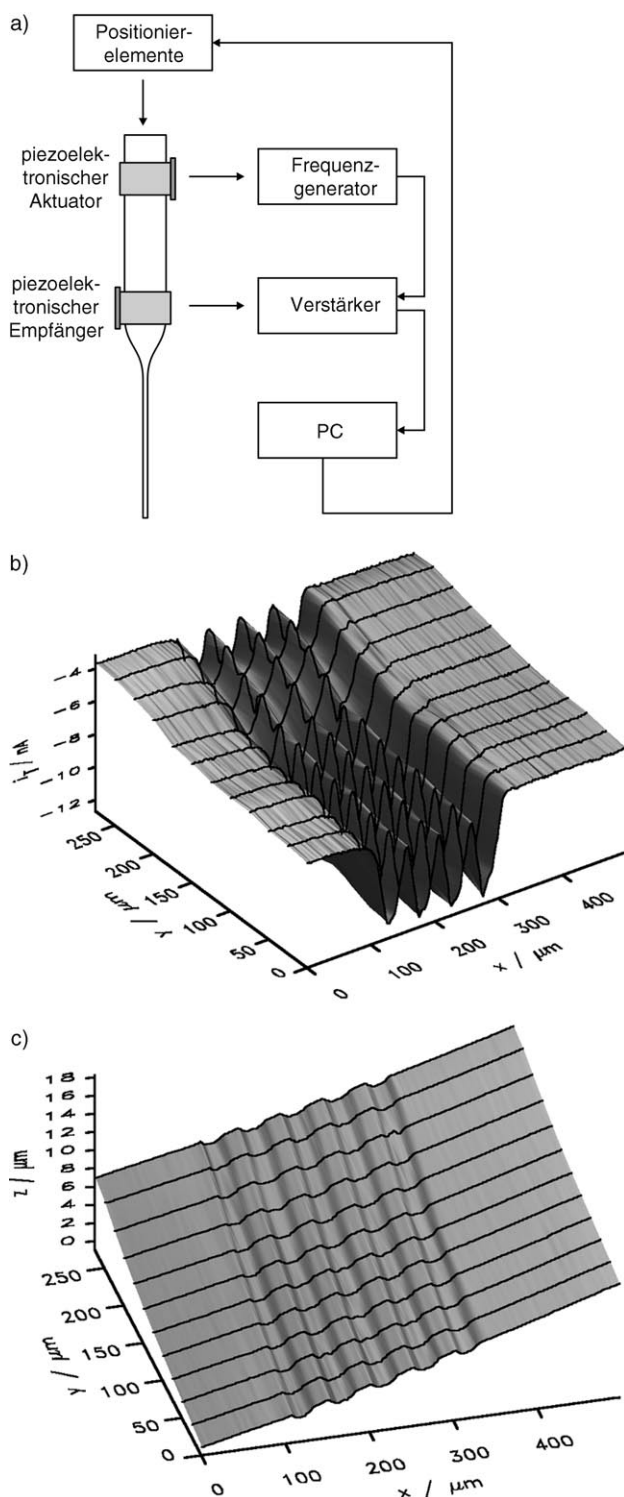


Abbildung 23. Nutzung von Scherkraftmessungen zur Abstandskontrolle in der SECM. a) Piezoelektrisches Detektionssystem für Scherkräfte; b) amperometrische FB- und c) topographische Abbildungen eines Arrays von Pt-Bandelektroden ($500 \times 250 \mu\text{m}^2$). Beide Abbildungen wurden simultan bei konstantem Abstand aufgezeichnet. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [415]. Copyright 2003, Wiley-VCH.

Für solche gekoppelten Systemen bieten sich zwei Aufgabenstellungen an: 1) Mit mikroelektrochemischen Methoden soll die Lösungszusammensetzung lokal (und daher schnell)

modifiziert werden, um dann mit SFM oder ECSTM die resultierenden topographischen Veränderungen an der Oberfläche zu registrieren. Dafür eignen sich metallisch beschichtete und extern kontaktierte SFM-Kraftsensoren^[134,136] oder spezielle ECSTM-Zellkonstruktionen.^[421] Untersucht wurden Auflösungsprozesse an Kristallen und Protonenaustauschprozesse an Polyanilin.^[134,136,421] Die durch die elektrochemische Reaktion beeinflusste Region an der Probe ist dabei wesentlich größer als die durch SFM oder ECSTM erfasste Region. 2) In einem anderen Ansatz versuchte man, räumlich korrelierte SECM- und SFM/ECSTM-Bilddaten aufzuzeichnen. Da SECM und ECSTM einige instrumentelle Gemeinsamkeiten aufweisen, lag es nahe, beide Systeme zu koppeln, um mit dem ECSTM eine topographische Information zu erhalten, der direkt lokale Reaktivitätsdaten aus SECM-Messungen zugeordnet werden können.^[30,218,325,422] Das erste verwendete System arbeitete noch mit relativ großen Elektroden.^[218] Später stellten Kucernak et al. ein System vor, bei dem zunächst die Topographie der Probe mit ECSTM abgebildet wurde, die Sonde dann um eine definierte Strecke zurückgezogen wurde und anschließend in einer konstanten Ebene (und damit bei unterschiedlichen d) eine SECM-Aufnahme aufgezeichnet wurde.^[325] Andere Experimente nutzten die in einem ECSTM-Linienscan erhaltene topographische Information, um die Sonde bei konstantem d über die Oberfläche zu führen („lift-off“).^[30,422]

Mit ECSTM gekoppelte Systeme sind aber in ihrem Einsatzgebiet prinzipiell beschränkt, da sie nicht auf isolierende Proben angewendet werden können. Daher ist den mit SFM gekoppelten Systemen eine wesentlich größere Bedeutung beizumessen. Die Entwicklung wurde entscheidend von Macpherson et al.^[135,309,423–427] und Kranz et al.^[428–431] angestoßen und wird inzwischen auch von weiteren Gruppen betrieben,^[231,233,432–437] wobei sich die verfolgten Konzepte im Detail unterscheiden. Für unterschiedliche praktische Anwendungen bewährten sich die Sonden, die Kranz et al. durch Beschichtung von SFM-Kraftsensoren mit Metallen und einer Isolatorschicht und nachfolgender Bearbeitung mit einem fokussierten Ionenstrahl (FIB, focused ion beam) erhielten.^[428–431] Dabei wird aus der Messspitze ein zentraler Dorn geschnitten, der von einer zurückgesetzten rahmenförmigen Elektrode umgeben ist (Abbildung 24 a).

Der Dorn hält d konstant, und SFM- und SECM-Aufnahmen können gleichzeitig aufgezeichnet werden, wodurch das doppelte Abscannen der Probe entfallen kann. Die Sonden verfügen über sehr gute Abbildungseigenschaften im SFM und eignen sich auch für den Tapping-Modus,^[431] der bei der Untersuchung weicher Proben von Vorteil ist. Die Entwicklung ist bereits so weit ausgereift, dass praktisch relevante Untersuchungen von enzybeladenen Mikrostrukturen^[308,438,439] bearbeitet werden konnten. Abbildung 25 zeigt Aufnahmen der Topographie und der enzymatischen Aktivität von Meerrettichperoxidase, die auf einer SAM auf Gold immobilisiert wurde. Es wurde eine Messung ohne H_2O_2 als Kontrollexperiment (Abbildung 25 b, oben) durchgeführt. Die Messung mit H_2O_2 zeigte die enzymatische Aktivität durch hohe Sondenströme (Abbildung 25 b, rechts unten, hell) und korrelierte sehr gut mit der Topographie der Probe, die im Kontaktmodus aufgenommen wurde.

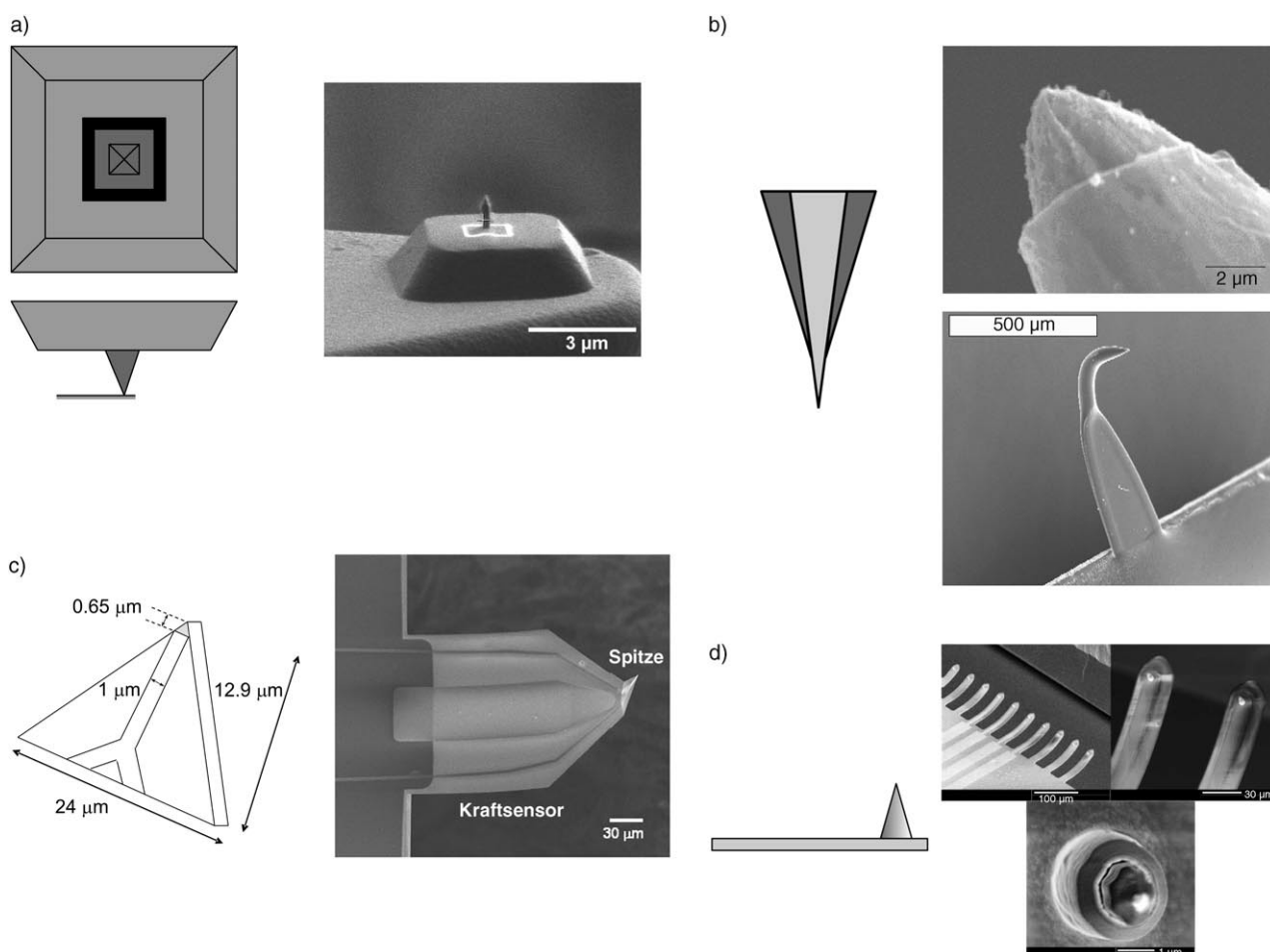


Abbildung 24. Integrierte SFM-SECM-Messsonden. a) Zurückgesetzte Rahmen-Elektrode nach Kranz et al.; b) beschichteter Pt-Draht nach Macpherson et al.; c) umgebogene Pt-Elektrode in Glas oder Quarzisolierung nach Dobson et al.; d) Multispitzenanordnung mit integrierten Elektroden nach Fasching et al. Wiedergabe von (a) mit freundlicher Genehmigung von C. Kranz. Wiedergabe von (b) mit Genehmigung aus Lit. [135] und [423]. Copyright 2000, 2001, American Chemical Society. Wiedergabe von (c) mit Genehmigung aus Lit. [443]. Copyright 2005, American Chemical Society. Wiedergabe von (d) aus *Sens. Actuators B*, 108, R. J. Fasching, Y. Tao, F. B. Prinz, S. 964–972,^[433] Copyright 2005, mit Genehmigung von Elsevier.

Die Methode ist so robust, dass die erhaltenen Elektroden weiter zu Enzymelektroden modifiziert werden konnten, wodurch sich die chemische Selektivität der Messungen erhöhte.^[440,441] Ein limitierender Faktor besteht einstweilen darin, dass die Messsonden individuell angefertigt werden müssen.

Macpherson et al. formten aus Pt-Drähten kleine Blattfedern, die nach Tauchlackisolierung als kombinierte elektrochemische Kraftsensoren verwendet wurden (Abbildung 24b).^[135] Der Einsatz erfolgte in einem Lift-off-Modus^[423] zur Charakterisierung von elektrokatalytischen Elektroden,^[424] Porendiffusion^[309,425] und anderen Modellproben.^[135] Neuere Entwicklungen zielen auf die Herstellung kombinierter Sonden in parallelen Fertigungsprozessen (Abbildung 24c)^[427,442,443] und die Integration von Mikroscheibenelektroden.^[426]

Fasching et al. stellten erste Sondenarrays mit integrierten Elektroden vor (Abbildung 24d).^[433] In nächster Zeit wird daher sicher eine Reihe neuer Anwendungen möglich werden, bei denen der erhöhte Informationsgehalt und die verbesserte laterale Auflösung z. B. bei der Untersuchung von

elektrochemischen Prozessen an Korngrenzen, bei (bio)geochemischen Problemen der Phasenbildung oder bei zellbiologischen Studien genutzt werden.

6.1.3. Weitere gekoppelte Methoden

Sowohl elektrochemische als auch optische Verfahren liefern wichtige funktionelle Informationen von Oberflächen. Eine Kopplung von optischer Nahfeldmikroskopie (SNOM, scanning near-field optical microscopy) und SECM erscheint daher sinnvoll.^[444–447] Eine optische Faser oder eine Kapillare dient als Wellenleiter, eine aufgetragene Metallschicht bildet das Elektrodenmaterial. Kritisch für die Funktion ist auch hier die Isolierung der Seitenflächen der Kapillare von der Elektrolytlösung, sodass nur ein Ring auf der Stirnfläche der Faser als elektrochemisch aktive Fläche verbleibt.^[414,447–449] Auch die Umkehrung, durch elektrogenerierte Chemolumineszenz lokal in Lösung Licht zu erzeugen und dies für eine optische Abbildung zu nutzen, wurde an einer Modellprobe demonstriert.^[450]

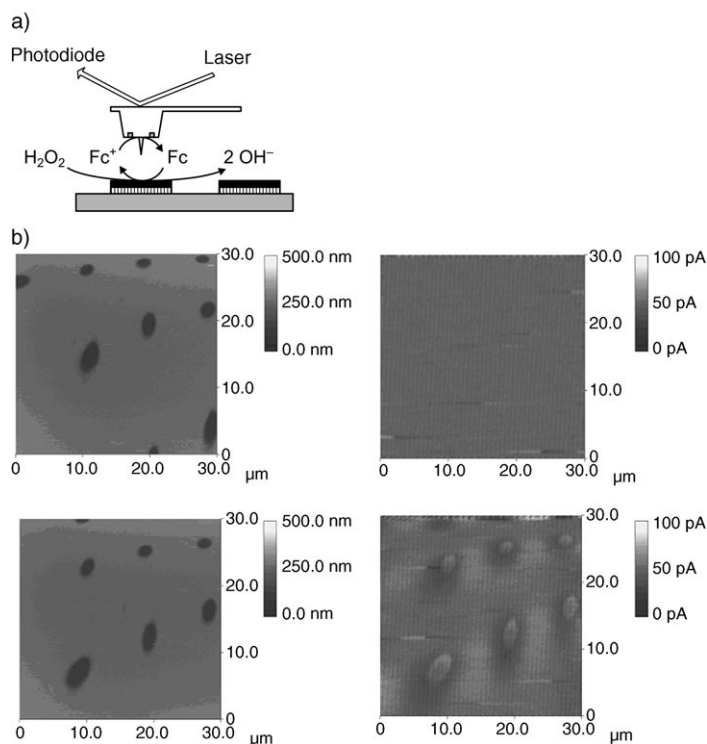


Abbildung 25. Abbildung von Enzymspots mit integrierter SFM-SECM-Messsonde (zurückgezogene Rahmenelektrode). a) Auf einer gemusterten SAM immobilisierte Meerrettichperoxidase katalysiert die Oxidation von Ferrocen-methanol (Fc) zu Ferrociniummethanol (Fc^+) durch H_2O_2 . Der Abstand zwischen Probe und Rahmenelektrode ist durch die Länge der Messspitze (410 nm) vorgegeben. b) Gleichzeitig erfasste Topographie (links) und SECM-FB-Signale (rechts) mit (unten) und ohne (oben) das Enzymsubstrat H_2O_2 . Wiedergabe von (b) aus *Ultramicroscopy*, 100, C. Kranz, A. Kueng, A. Lugstein, E. Bertagnolli, B. Mizaikoff, S. 127–134,^[438] Copyright 2004, mit Genehmigung von Elsevier.

Sehr interessant ist auch die Kombination von SECM und konfokaler Mikroskopie, weil die konfokale Mikroskopie eine dreidimensionale Vermessung von Diffusionschichten ermöglicht,^[451] die mit der lateralen Auflösung des SECM ohne weitere Modifikationen kompatibel ist.^[451,452] Darüber hinaus können photochemische Anregungsprozesse elektrochemisch verfolgt oder lokale Variationen der Lösungszusammensetzung als Triebkraft für Grenzflächenreaktionen genutzt und dann optisch charakterisiert werden.^[452] So erzeugten Boldt et al. an UMEs eine lokale pH-Variation, die das Enzym ATP-Synthase an der Probenoberfläche antrieb.^[452] Die Bewegung der ATP-Synthase konnte durch Messungen des resonanten Fluoreszenzenergietransfers (FRET) simultan verfolgt werden.

Schließlich seien auch noch Kopplungen des SECM mit der Quarzmikrowaage,^[453–457] optischer Spektroskopie^[414] oder Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie^[399,458,459] erwähnt, bei denen entweder die UME zur Auslösung lokaler Reaktionen genutzt wird^[459] oder nach Polarisierung der Probe gleichzeitig Eigenschaftsänderungen, z. B. Masse oder optische Signale, erfasst werden, während die UME die Substanzabgabe oder -aufnahme von der Lösungsseite her verfolgt.^[460]

6.1.4. Grenzen der lateralen Auflösung

Im GC-Modus bestimmt die Ausdehnung der Diffusionsschichten über der Probe die laterale Auflösung. Unterschreitet r_T diese Abmessungen, führt eine weitere Minimierung der UME nicht mehr zu besserer Auflösung. Trotzdem sind gerade für quantitative Arbeiten im GC-Modus möglichst kleine UMEs in jedem Fall sinnvoll (Abschnitt 2.2.2). Der Einsatz konischer Elektroden ist ohne wesentliche Leistungseinbußen möglich.

Im FB-Modus ist die Auflösung dagegen zunächst durch r_T bestimmt. Außerdem ist die Auflösung umso besser, je kleiner d ist. Da hier der normierte Abstand d/r_T entscheidend ist, erfordern kleinere UMEs einen proportional verringerten d . Dieser kann zum einen durch stromunabhängige Abstandskontrollmechanismen (Abschnitt 6.1.1) erreicht werden, erfordert aber auch UMEs, deren aktive Fläche am Apex der meist zu einem flachen Konus geformten Stirnfläche des Elektrodenkörpers liegt.^[254] Dies ist bei Elektroden mit $r_T \approx 100$ nm sehr schwer realisierbar. Schließlich sind Auflösung und Empfindlichkeit miteinander verknüpft. Aus den Kurven in Abbildung 5 lässt sich ersehen, dass eine aktive Region wahrscheinlich detektiert werden kann, wenn sie mindestens ein Signal entsprechend Kurve 3 mit $\kappa = 0.3$ liefert. Da $\kappa = k_{\text{eff}} r_T / D$ eine normierte Geschwindigkeitskonstante ist, muss das minimale k_{eff} mit kleiner werdendem r_T anwachsen. Tabelle 3 illustriert den Sachverhalt: Bei $r_T =$

Tabelle 3: Erforderliche heterogene Geschwindigkeitskonstante k_{eff} , um die Annäherungskurve 3 in Abbildung 5 zu erhalten ($\kappa = 0.3$). $D = 5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

r_T [μm]	12.5	5	1	0.5	0.1	0.05	0.025	0.005
k_{eff} [cm s ⁻¹]	0.0012	0.003	0.015	0.03	0.15	0.3	0.6	3

5 nm müsste $k_{\text{eff}} \geq 3 \text{ cm s}^{-1}$ sein, um durch SECM erkannt zu werden. In konventionellen elektrochemischen Experimenten entspricht eine solche Geschwindigkeitskonstante jedoch annähernd einer diffusionskontrollierten Reaktion. Das SECM wird also „blind“ für alle langsameren Reaktionen. Obwohl über die Herstellung von UMEs mit diesen Abmessungen und definierter Geometrie bereits berichtet wurde,^[461] ist ein erfolgreicher Einsatz für FB-Abbildungen selbst bei Beherrschung der vertikalen Positionierung aus kinetischen Gründen nicht wahrscheinlich. Es ist daher kein überraschender Trend, dass viele Forschungsgruppen sehr kleine Elektroden verwenden, diese aber im empfindlicheren GC-Modus betreiben, obwohl dieser eine schlechtere laterale Auflösung als der FB-Modus aufweist.^[70,233,254,426,438]

7. Zusammenfassung und Ausblick

Die elektrochemische Rastermikroskopie kann zur Untersuchung vielzähliger Reaktionen an Fest-flüssig-Grenzflächen eingesetzt werden. Die Methode liefert eine direkte Abbildung der Reaktivität, auch wenn sich die Topographie der Grenzfläche bei der Reaktion nicht ändert. Beispiele mit starkem Anwendungsbezug umfassen die Untersuchung von

Korrosionsmechanismen von passivierten Metallen, Transportprozesse durch Beschichtungen und Membranen, heterogene Katalyse an Materialien für Brennstoffzellen, Enzymkatalyse an Sensoroberflächen und die metabolische Aktivität intakter Zellen und Organe. Darüber hinaus können die Ergebnisse in vielen Fällen durch einfache Kontinuumsmodelle für den diffusiven Massentransport und die Grenzflächenkinetik quantitativ beschrieben werden. Diese Möglichkeit wird in der elektrochemischen Grundlagenforschung vielfältig genutzt. In diesem Bereich weist die Technik durch ihre stationäre Arbeitsweise an mikroskopischen Flächen große Vorteile gegenüber klassischen Verfahren auf, die vielfach durch Ladeströme, begrenzte Flankensteilheit der realisierbaren Anregungssignale und Ohmsche Spannungsabfälle innerhalb der Messzelle limitiert sind. Die SECM kann heterogene Elektronentransferreaktionen untersuchen, selbst dann, wenn die Grenzfläche nicht mit einer externen Spannungsquelle verbunden wird. Dies ermöglicht es, das Messprinzip auch auf sehr ungewöhnliche Grenzflächen wie organisierte Nanopartikel an Gas-flüssig-Grenzflächen anzuwenden. Aus diesen Gründen ist die SECM aus der elektrochemischen Grundlagenforschung nicht mehr wegzudenken.

Schließlich eröffnet sich die Möglichkeit, Oberflächen durch eine Vielzahl eindeutig definierter chemischer/elektrochemischer Reaktionen lokal zu modifizieren und neue Ansätze für das „Prototyping“ von mikro- und nanostrukturierten Funktionsflächen, z. B. in Biosensoren und Biochips, zu erproben. Die Option, die Funktion der erhaltenen Strukturen im selben experimentellen Aufbau zu testen, macht das SECM zu einem idealen Werkzeug für derartige Aufgabenstellungen.

Der Einsatzbereich der Methode wird sich in Zukunft stark erweitern, falls die routinemäßige Herstellung von integrierten SECM-SFM-Messsonden in Batchverfahren gelingt. Mit diesem bereits absehbaren Durchbruch wird eine deutliche Erhöhung der lateralen Auflösung in Routinemessungen verbunden sein, die den Einsatz der Technik in all den Bereichen ermöglichen wird, in denen heute Rasterkraftmikroskopie in Flüssigkeiten betrieben wird. Dazu zählen insbesondere weitere materialwissenschaftliche Einsatzbereiche, z. B. zur Untersuchung von Korrosionsprozessen an Korngrenzen oder auf einzelnen Gefügephasen, deren Mechanismen bisher unzureichend verstanden sind.

Laufende Arbeiten zur elektrochemischen Rastermikroskopie werden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Wi 1617/6 (Forschungsgruppe Biogeochemie des Watts), Wi 1617/7, Wi 1617/8) und der Niedersächsisch-Israelischen Stiftung gefördert. Die Autoren danken Prof. J. Heinze für hilfreiche Kommentare zum Manuskript sowie allen Kollegen, die uns Originalabbildungen zur Verfügung stellten. Den Vortitel gestaltete Markus Träuble, Carl von Ossietzky-Universität Oldenburg. Dr. Yan Shen dankt für ein Forschungsstipendium der Alexander von Humboldt-Stiftung.

Eingegangen am 11. Juli 2006

Online veröffentlicht am 7. Februar 2007

- [1] J. L. Fernandez, D. A. Walsh, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 357–365.
- [2] H. Shiku, T. Shiraishi, H. Ohya, T. Matsue, H. Abe, H. Hoshi, M. Kobayashi, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3751–3758.
- [3] J. Heinze, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1327–1349; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1268–1288.
- [4] M. Fleischmann, S. Pons, D. R. Rolison, P. P. Schmidt, *Ultramicroelectrodes*, Datatech Systems, Morganton, **1987**.
- [5] Y. Saito, *Rev. Polarogr.* **1968**, *15*, 177–187.
- [6] R. C. Engstrom, M. Weber, D. J. Wunder, R. Burgess, S. Winquist, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 844–848.
- [7] H.-Y. Liu, F.-R. F. Fan, C. W. Lin, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3838–3839.
- [8] J. Kwak, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1221–1227.
- [9] D. O. Wipf, „SECM Bibliography“, zu finden unter http://www.msstate.edu/dept/Chemistry/dow1/secm/secm_bib.html.
- [10] *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**.
- [11] B. R. Horrocks in *Encyclopedia of Electrochemistry*, Vol. 3 (Hrsg.: P. R. Unwin, A. J. Bard, M. Stratmann), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, S. 444–490.
- [12] H. Shiku, H. Ohya, T. Matsue in *Encyclopedia of Electrochemistry*, Vol. 9 (Hrsg.: G. S. Wilson, A. J. Bard, M. Stratmann), **2002**, S. 257, 259–275.
- [13] A. J. Bard, F.-R. F. Fan, M. V. Mirkin in *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 18 (Hrsg.: A. J. Bard), Marcel Dekker, New York, **1994**.
- [14] G. Nagy, L. Nagy, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, *366*, 735–744.
- [15] A. L. Barker, M. Gonsalves, J. V. Macpherson, C. J. Slevin, P. R. Unwin, *Anal. Chim. Acta* **1999**, *385*, 223–240.
- [16] D. Mandler, S. Meltzer, I. Shohat, *Isr. J. Chem.* **1996**, *36*, 73–80.
- [17] A. J. Bard, F.-R. F. Fan, D. T. Pierce, P. R. Unwin, D. O. Wipf, F. Zhou, *Science* **1991**, *254*, 68–74.
- [18] R. C. Engstrom, C. M. Pharr, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1099–1104.
- [19] S. Amemiya, J. Guo, H. Xiong, D. A. Gross, *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 458–471.
- [20] A. T. Hubbard, F. C. Anson in *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 4 (Hrsg.: A. J. Bard), Marcel Dekker, New York, **1970**, S. 129–214.
- [21] H. Siegenthaler in *Scanning Tunneling Microscopy II* (Hrsg.: R. Wiesendanger, H. J. Güntherodt), Springer, Berlin, **1992**, S. 7–49.
- [22] R. Guckenberger, M. Heim, G. Cevc, H. F. Knapp, W. Wiegräbe, A. Hillebrand, *Science* **1994**, *266*, 1538–1540.
- [23] R. Guckenberger, E. Hartmann, W. Wiegräbe, W. Bauermeister in *Scanning Tunneling Microscopy II* (Hrsg.: R. Wiesendanger, H. J. Güntherodt), Springer, Berlin, **1992**, S. 84–92.
- [24] R. Guckenberger, M. Heim, *Science* **1995**, *270*, 1849–1851.
- [25] F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *Science* **1995**, *267*, 871–874.
- [26] F. Forouzan, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 10876–10879.
- [27] N. Patel, M. C. Davies, M. Lomas, C. J. Roberts, S. J. B. Tendler, P. M. Williams, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 5138–5142.
- [28] C. G. Zoski, M. V. Mirkin, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 1986–1992.
- [29] O. Sklyar, A. Kueng, C. Kranz, B. Mizaikoff, A. Lugstein, E. Bertagnolli, G. Wittstock, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 764–771.
- [30] O. Sklyar, T. H. Treutler, N. Vlachopoulos, G. Wittstock, *Surf. Sci.* **2005**, *597*, 181–195.
- [31] M. N. Holder, C. E. Gardner, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, *585*, 8–18.
- [32] M. V. Mirkin, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* **1992**, *328*, 47–62.
- [33] Y. Shao, M. V. Mirkin, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9915–9921.
- [34] J. L. Amphlett, G. Denuault, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9946–9951.
- [35] Y. Selzer, D. Mandler, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 2383–2390.

- [36] J. Galceran, J. Cecilia, E. Companys, J. Salvador, J. Puy, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 7993–8000.
- [37] O. Sklyar, G. Wittstock, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 7499–7508.
- [38] Q. Fulian, A. C. Fisher, G. Denuault, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 4387–4392.
- [39] T. Nann, J. Heinze, *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 3975–3980.
- [40] M. V. Mirkin in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 145–199.
- [41] G. Wittstock, H. Emons, M. Kummer, J. R. Kirchhoff, W. R. Heineman, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, *348*, 712–718.
- [42] A. J. Bard, M. V. Mirkin, P. R. Unwin, D. O. Wipf, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 1861–1868.
- [43] F. Forouzan, A. J. Bard, M. V. Mirkin, *Isr. J. Chem.* **1997**, *37*, 155–163.
- [44] D. O. Wipf, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1991**, *138*, 469–474.
- [45] C. Wei, A. J. Bard, M. V. Mirkin, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 16033–16042.
- [46] D. T. Pierce, P. R. Unwin, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1795–1804.
- [47] G. Denuault, G. Nagy, K. Toth in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 397–444.
- [48] G. Denuault, M. H. T. Frank, L. M. Peter, *Faraday Discuss.* **1992**, *94*, 23–35.
- [49] B. R. Horrocks, M. V. Mirkin, D. T. Pierce, A. J. Bard, G. Nagy, K. Toth, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 1213–1224.
- [50] K. Toth, G. Nagy, C. Wei, A. J. Bard, *Electroanalysis* **1995**, *7*, 801–810.
- [51] C. Wei, A. J. Bard, G. Nagy, K. Toth, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1346–1356.
- [52] R. E. Gyurcsanyi, A.-S. Nybäck, K. Toth, G. Nagy, A. Ivaska, *Analyst* **1998**, *123*, 1339–1344.
- [53] B. R. Horrocks, M. V. Mirkin, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1998**, *94*, 1115–1118.
- [54] I. Kapui, R. E. Gyurcsanyi, G. Nagy, K. Toth, M. Arca, E. Arca, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9934–9939.
- [55] C. E. M. Berger, B. R. Horrocks, H. K. Datta, *Electrochim. Acta* **1999**, *44*, 2677–2683.
- [56] N. J. Gray, P. R. Unwin, *Analyst* **2000**, *125*, 889–893.
- [57] A. Schulte, S. Belger, W. Schuhmann, *Mater. Sci. Forum* **2002**, *394–395*, 145–148.
- [58] M. Etienne, A. Schulte, S. Mann, G. Jordan, I. D. Dietzel, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 3682–3688.
- [59] P. Pohl, S. M. Saparov, Y. N. Antonenko, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 1403–1409.
- [60] P. Pohl, S. M. Saparov, Y. N. Antonenko, *Biophys. J.* **1997**, *72*, 1711–1718.
- [61] Y. N. Antonenko, P. Pohl, E. Rosenfeld, *Arch. Biochem. Biophys.* **1996**, *333*, 225–232.
- [62] Y. N. Antonenko, G. A. Denisov, P. Pohl, *Biophys. J.* **1993**, *64*, 1701–1710.
- [63] J. O. Park, C.-H. Paik, R. C. Alkire, *J. Electrochem. Soc.* **1996**, *143*, L174–L176.
- [64] H. Tanabe, K. Togashi, T. Misawa, U. K. Mudali, *J. Mater. Sci. Lett.* **1998**, *17*, 551–553.
- [65] C. Wei, A. J. Bard, I. Kapui, G. Nagy, K. Toth, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2651–2655.
- [66] C. Lee, J. Kwak, F. C. Anson, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1501–1504.
- [67] R. C. Engstrom, *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 890–894.
- [68] A. Hengstenberg, C. Kranz, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1547–1554.
- [69] R. C. Engstrom, T. Meaney, R. Tople, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 2005–2010.
- [70] N. Baltes, L. Thouin, C. Amatore, J. Heinze, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 1455–1459; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1431–1435.
- [71] O. Sklyar, M. Träuble, C. Zhao, G. Wittstock, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 15869–15877.
- [72] B. R. Horrocks, G. Wittstock in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 445–519.
- [73] G. Wittstock, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 5059–5066.
- [74] G. Wittstock, K.-j. Yu, H. B. Halsall, T. H. Ridgway, W. R. Heineman, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3578–3582.
- [75] M. V. Mirkin, T. C. Richards, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 7672–7677.
- [76] C. J. Slevin, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 10851–10859.
- [77] C. J. Slevin, S. Ryley, D. J. Walton, P. R. Unwin, *Langmuir* **1998**, *14*, 5331–5334.
- [78] J. Zhang, P. R. Unwin, *Langmuir* **2002**, *18*, 1218–1224.
- [79] I. Ciani, D. P. Burt, S. Daniele, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 3801–3809.
- [80] C. J. Slevin, P. R. Unwin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2597–2602.
- [81] J. Zhang, P. R. Unwin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 3814–3819.
- [82] D. Mandler, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 407–410.
- [83] J. Zhang, A. L. Barker, D. Mandler, P. R. Unwin, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9312–9313.
- [84] J. Zhang, D. Mandler, P. R. Unwin, *Chem. Commun.* **2004**, 450–451.
- [85] A. L. Whitworth, D. Mandler, P. R. Unwin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 356–365.
- [86] B. M. Quinn, I. Prieto, S. K. Haram, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 7474–7476.
- [87] B. M. Quinn, P. Liljeroth, K. Kontturi, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12915–12921.
- [88] P. Liljeroth, B. M. Quinn, V. Ruiz, K. Kontturi, *Chem. Commun.* **2003**, 1570–1571.
- [89] D. G. Georganopoulou, M. V. Mirkin, R. W. Murray, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1763–1767.
- [90] P. Liljeroth, D. Vanmaekelbergh, V. Ruiz, K. Kontturi, H. Jiang, E. Kauppinen, B. M. Quinn, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7126–7132.
- [91] P. Liljeroth, B. M. Quinn, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4922–4923.
- [92] H. H. Girault, D. J. Schiffrin in *Electroanalytical Chemistry, Vol. 15* (Hrsg.: A. J. Bard), Marcel Dekker, New York, **1989**, S. 1–141.
- [93] Y. Shao, M. V. Mirkin, *J. Electroanal. Chem.* **1997**, *439*, 137–143.
- [94] A. L. Barker, P. R. Unwin, S. Amemiya, J. Zhou, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 7260–7269.
- [95] B. Liu, M. V. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8352–8355.
- [96] A. L. Barker, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 12019–12031.
- [97] P. Sun, Z. Zhang, Z. Gao, Y. Shao, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3595–3598; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3445–3448.
- [98] F. Li, Y. Chen, P. Sun, M. Zhang, Z. Gao, D. Zhan, Y. Shao, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 3295–3302.
- [99] Y. Selzer, D. Mandler, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 4903–4910.
- [100] B. Liu, M. V. Mirkin, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 3933–3940.
- [101] C. Shi, F. C. Anson, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 1047–1049.
- [102] Y. Bai, P. Sun, M. Zhang, Z. Gao, Z. Yang, Y. Shao, *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 3447–3453.
- [103] Z. Ding, B. M. Quinn, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 6367–6374.
- [104] A. L. Barker, C. J. Slevin, P. R. Unwin, J. Zhang in *Liquid Interfaces in Chemical, Biological, and Pharmaceutical Applications* (Hrsg.: A. G. Volkov), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 283–324.

- [105] Y. Zu, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 6272–6276.
- [106] M. V. Mirkin in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 299–342.
- [107] A. L. Barker, P. R. Unwin, J. Zhang, *Electrochem. Commun.* **2001**, *3*, 372–378.
- [108] Z. Zhang, Y. Yuan, P. Sun, B. Su, J. Guo, Y. Shao, H. H. Girault, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 6713–6717.
- [109] J. Zhang, P. R. Unwin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 3820–3827.
- [110] X. Lu, L. Hu, X. Wang, *Electroanalysis* **2005**, *17*, 953–958.
- [111] M.-H. Delville, M. Tsionsky, A. J. Bard, *Langmuir* **1998**, *14*, 2774–2779.
- [112] J. Zhang, P. R. Unwin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 3979–3983.
- [113] S. Amemiya, Z. Ding, J. Zhou, A. J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *483*, 7–17.
- [114] J. Zhang, J. Strutwolf, S. Cannan, P. R. Unwin, *Electrochem. Commun.* **2003**, *5*, 105–110.
- [115] S. Amemiya, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 4940–4948.
- [116] P. R. Unwin in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 241–298.
- [117] P. R. Unwin, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 7814–7824.
- [118] F. Zhou, P. R. Unwin, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 4917–4924.
- [119] C. Demaille, P. R. Unwin, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 14137–14143.
- [120] T. C. Richards, A. J. Bard, A. Cusanelli, D. Sutton, *Organometallics* **1994**, *13*, 757–759.
- [121] M. V. Mirkin, H. Yang, A. J. Bard, *Electrochem. Soc. Interface* **1992**, *139*, 2212–2217.
- [122] F. Zhou, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 393–394.
- [123] S. Bollo, P. Jara-Ulloa, S. Finger, L. J. Nunez-Vergara, J. A. Squella, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, *577*, 235–242.
- [124] S. Bollo, L. Nunez-Vergara, J. A. Squella, *J. Electrochem. Soc.* **2004**, *151*, E322–E325.
- [125] D. P. Burt, J. Cervera, D. Mandler, J. V. Macpherson, J. A. Manzanares, P. R. Unwin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 2955–2964.
- [126] P. R. Unwin, J. V. Macpherson, R. D. Martin, C. F. McConville, *Proc. Electrochem. Soc.* **2000**, 99–28, 104–121.
- [127] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 1704–1713.
- [128] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11764–11770.
- [129] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1993**, *89*, 1883–1884.
- [130] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 19475–19483.
- [131] P. R. Unwin, J. V. Macpherson, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 109–119.
- [132] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 3338–3351.
- [133] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 14824–14831.
- [134] C. E. Jones, P. R. Unwin, J. V. Macpherson, *ChemPhysChem* **2003**, *4*, 139–146.
- [135] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 276–285.
- [136] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, A. C. Hillier, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6445–6452.
- [137] P. R. Unwin, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 5035–5045.
- [138] C. W. Lin, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1987**, *134*, 1038–1039.
- [139] D. H. Craston, C. W. Lin, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1988**, *135*, 785–786.
- [140] A. J. Bard, G. Denuault, C. Lee, D. Mandler, D. O. Wipf, *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 357–363.
- [141] D. Mandler, A. J. Bard, *Langmuir* **1990**, *6*, 1489–1494.
- [142] D. Mandler, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1990**, *137*, 1079–1086.
- [143] D. Mandler, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1990**, *137*, 2468–2472.
- [144] S. Krämer, R. R. Fuierer, C. B. Gorman, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4367–4418.
- [145] V. Radtke, J. Heinze, *Z. Phys. Chem.* **2004**, *218*, 103–121.
- [146] D. Mandler in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 593–627.
- [147] H. Shiku, T. Matsue in *Sensors Update, Vol. 6* (Hrsg.: H. Baltes, W. Göpel, J. Hesse), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [148] D. Mandler, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1989**, *136*, 3143–3144.
- [149] S. Meltzer, D. Mandler, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1995**, *91*, 1019–1024.
- [150] Y. Zu, L. Xie, B. Mao, Z. Tian, *Electrochim. Acta* **1998**, *43*, 1683–1690.
- [151] I. Turyan, U. O. Krasovec, B. Orel, T. Saraidorov, R. Reisfeld, D. Mandler, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 330–333.
- [152] H. Shiku, T. Takeda, H. Yamada, T. Matsue, I. Uchida, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 312–317.
- [153] H. Shiku, I. Uchida, T. Matsue, *Langmuir* **1997**, *13*, 7239–7244.
- [154] H. Kaji, K. Tsukidate, T. Matsue, M. Nishizawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15026–15027.
- [155] H. Kaji, K. Tsukidate, M. Hashimoto, T. Matsue, M. Nishizawa, *Langmuir* **2005**, *21*, 6966–6969.
- [156] H. Kaji, M. Kanada, D. Oyamatsu, T. Matsue, M. Nishizawa, *Langmuir* **2004**, *20*, 16–19.
- [157] H. Kaji, T. Kawashima, M. Nishizawa, *Langmuir* **2006**, *22*, 10784–10787.
- [158] C. Zhao, I. Witte, G. Wittstock, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5595–5597; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5469–5471.
- [159] C. Combellas, J. Ghilane, F. Kanoufi, D. Mazouzi, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 6391–6397.
- [160] C. Combellas, A. Fuchs, F. Kanoufi, D. Mazouzi, S. Nunige, *Polymer* **2004**, *45*, 4669–4675.
- [161] C. Combellas, F. Kanoufi, D. Mazouzi, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 19260–19268.
- [162] F. Kanoufi, C. Combellas, M. E. R. Shanahan, *Langmuir* **2003**, *19*, 6711–6716.
- [163] C. Combellas, F. Kanoufi, D. Mazouzi, A. Thiebault, *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *556*, 43–52.
- [164] C. Hess, K. Borgwarth, C. Ricken, D. G. Ebling, J. Heinze, *Electrochim. Acta* **1997**, *42*, 3065–3073.
- [165] K. Borgwarth, C. Ricken, D. G. Ebling, J. Heinze, *Ber. Bunsen-Ges.* **1995**, *99*, 1421–1426.
- [166] K. Borgwarth, N. Rohde, C. Ricken, M. L. Hallensleben, D. Mandler, J. Heinze, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 1221–1226.
- [167] C. Marck, K. Borgwarth, J. Heinze, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 47–51.
- [168] C. Marck, K. Borgwarth, J. Heinze, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 747–752.
- [169] J. Zhou, D. O. Wipf, *J. Electrochem. Soc.* **1997**, *144*, 1202–1207.
- [170] I. Shohat, D. Mandler, *J. Electrochem. Soc.* **1994**, *141*, 995–999.
- [171] S. Meltzer, D. Mandler, *J. Electrochem. Soc.* **1995**, *142*, L82–L84.
- [172] E. Ammann, D. Mandler, *J. Electrochem. Soc.* **2001**, *148*, C533–C539.
- [173] M. Hugelmann, P. Hugelmann, W. J. Lorenz, W. Schindler, *Surf. Sci.* **2005**, *597*, 156–172.
- [174] W. Schindler, D. Hofmann, J. Kirschner, *J. Electrochem. Soc.* **2001**, *148*, 124–130.

- [175] W. Schindler, D. Hofmann, J. Kirschner, *J. Appl. Phys.* **2000**, *87*, 7007–7009.
- [176] D. Hofmann, W. Schindler, J. Kirschner, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, *73*, 3279–3281.
- [177] O. de Abril, D. Mandler, P. R. Unwin, *Electrochem. Solid-State Lett.* **2004**, *7*, C71–C74.
- [178] Y. Yatziv, I. Turyan, D. Mandler, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5618–5619.
- [179] I. Turyan, M. Etienne, D. Mandler, W. Schuhmann, *Electroanalysis* **2005**, *17*, 538–542.
- [180] S. Sauter, G. Wittstock, *J. Solid State Electrochem.* **2001**, *5*, 205–211.
- [181] S. Sauter, G. Wittstock, R. Szargan, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 562–569.
- [182] R. C. Engstrom, B. Small, L. Kattan, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 241–244.
- [183] K. Borgwarth, J. Heinze, *J. Electrochem. Soc.* **1999**, *146*, 3285–3289.
- [184] J. Ufheil, C. Hess, K. Borgwarth, J. Heinze, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3185–3190.
- [185] J. Ufheil, F. M. Boldt, M. Börsch, K. Borgwarth, J. Heinze, *Bioelectrochemistry* **2000**, *52*, 103–110.
- [186] O. E. Hüsler, D. H. Craston, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1989**, *136*, 3222–3229.
- [187] Y.-M. Wu, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1989**, *136*, 885–886.
- [188] C. Kranz, M. Ludwig, H. E. Gaub, W. Schuhmann, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 38–40.
- [189] W. Schuhmann, C. Kranz, H. Wohlschläger, J. Strohmeier, *Biosens. Bioelectron.* **1997**, *12*, 1157–1167.
- [190] C. Kranz, M. Ludwig, H. E. Gaub, W. Schuhmann, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 568–571.
- [191] C. Kranz, H. E. Gaub, W. Schuhmann, *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 634–637.
- [192] C. Kranz, G. Wittstock, H. Wohlschläger, W. Schuhmann, *Electrochim. Acta* **1997**, *42*, 3105–3111.
- [193] E. M. El-Giar, R. A. Said, G. E. Bridges, D. J. Thomson, *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 586–591.
- [194] G. Wittstock, R. Hesse, W. Schuhmann, *Electroanalysis* **1997**, *9*, 746–750.
- [195] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Microchim. Acta* **2000**, *133*, 1–9.
- [196] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Electrochim. Acta* **2001**, *47*, 275–281.
- [197] C. A. Widrig, C. Chung, M. D. Porter, *J. Electroanal. Chem.* **1991**, *310*, 335–359.
- [198] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2349–2353; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2247–2250.
- [199] R. C. Tenent, D. O. Wipf, *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150*, E131–E139.
- [200] J. A. Dagata, *Science* **1995**, *270*, 1625–1626.
- [201] H. S. Isaacs, *Corros. Sci.* **1989**, *29*, 313–323.
- [202] H. S. Isaacs, G. Kissel, *J. Electrochem. Soc.* **1972**, *119*, 1628–1632.
- [203] H. Tanabe, Y. Yamamura, T. Misawa, *Mater. Sci. Forum* **1995**, *185–188*, 991–1000.
- [204] Y. Zhu, D. E. Williams, *J. Electrochem. Soc.* **1997**, *144*, 43–45.
- [205] B. T. Luong, A. Nishikata, T. Tsuru, *Electrochemistry* **2003**, *71*, 555–561.
- [206] T. E. Lister, P. J. Pinhero, *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 2371–2378.
- [207] T. E. Lister, P. J. Pinhero, *Proc. Electrochem. Soc.* **2002**, *2002–24*, 368–376.
- [208] N. Casillas, S. J. Charlebois, W. H. Smyrl, H. S. White, *J. Electrochem. Soc.* **1993**, *140*, 142–144.
- [209] N. Casillas, S. J. Charlebois, W. H. Smyrl, H. S. White, *J. Electrochem. Soc.* **1994**, *141*, 636–642.
- [210] S. B. Basame, H. S. White, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 16430–16435.
- [211] S. B. Basame, H. S. White, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9812–9819.
- [212] L. F. Garfias-Mesias, M. Alodan, P. James, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 2005–2010.
- [213] S. B. Basame, H. S. White, *Langmuir* **1999**, *15*, 819–825.
- [214] S. B. Basame, H. S. White, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 3166–3170.
- [215] C. H. Paik, R. C. Alkire, *J. Electrochem. Soc.* **2001**, *148*, B276–B281.
- [216] I. Serebrennikova, H. S. White, *Electrochem. Solid-State Lett.* **2001**, *4*, B4–B6.
- [217] I. Serebrennikova, S. Lee, H. S. White, *Faraday Discuss.* **2002**, *121*, 199–210.
- [218] D. E. Williams, T. F. Mohiuddin, Y. Y. Zhu, *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 2664–2672.
- [219] C.-H. Paik, H. S. White, R. C. Alkire, *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 4120–4124.
- [220] T. E. Lister, P. J. Pinhero, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2601–2607.
- [221] D. O. Wipf, *Colloids Surf. A* **1994**, *93*, 251–261.
- [222] J. W. Still, D. O. Wipf, *J. Electrochem. Soc.* **1997**, *144*, 2657–2664.
- [223] K. Fushimi, M. Seo, *Electrochim. Acta* **2001**, *47*, 121–127.
- [224] E. Voelker, C. G. Inchauspe, E. J. Calvo, *Electrochem. Commun.* **2006**, *8*, 179–183.
- [225] J. L. Gilbert, S. M. Smith, E. P. Lautenschlager, *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, *27*, 1357–1366.
- [226] J. L. Gilbert, L. Zarka, E. Chang, C. H. Thomas, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *42*, 321–330.
- [227] K. Fushimi, T. Okawa, M. Seo, *Electrochemistry* **2000**, *68*, 950–954.
- [228] J. C. Seegmiller, D. A. Buttry, *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150*, B413–B418.
- [229] A. Schulte, S. Belger, M. Etienne, W. Schuhmann, *Mater. Sci. Eng. A* **2004**, *378*, 523–526.
- [230] S. Belger, A. Schulte, C. Hessing, M. Pohl, W. Schuhmann, *Materialwiss. Werkstofftech.* **2004**, *35*, 276–279.
- [231] A. Davoodi, J. Pan, C. Leygraf, S. Norgren, *Electrochem. Solid-State Lett.* **2005**, *8*, B21–B24.
- [232] T. E. Lister, P. J. Pinhero, T. L. Trowbridge, R. E. Mizia, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, *579*, 291–298.
- [233] A. Davoodi, J. Pan, C. Leygraf, S. Norgren, *Appl. Surf. Sci.* **2006**, *252*, 5499–5503.
- [234] B. Ballesteros Katemann, C. G. Inchauspe, P. A. Castro, A. Schulte, E. J. Calvo, W. Schuhmann, *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 1115–1121.
- [235] A. C. Bastos, A. M. Simoes, S. Gonzalez, Y. Gonzalez-Garcia, R. M. Souto, *Prog. Org. Coat.* **2005**, *53*, 177–182.
- [236] R. M. Souto, Y. Gonzalez-Garcia, S. Gonzalez, *Corros. Sci.* **2005**, *47*, 3312–3323.
- [237] K. Toth, G. Nagy, B. R. Horrocks, A. J. Bard, *Anal. Chim. Acta* **1993**, *282*, 239–246.
- [238] G. A. Shreve, C. D. Karp, K. E. Pomykal, N. S. Lewis, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 5575–5580.
- [239] M. Janotta, D. Rudolph, A. Kueng, C. Kranz, H.-S. Voraberger, W. Waldhauser, B. Mizaikoff, *Langmuir* **2004**, *20*, 8634–8640.
- [240] B. Gründig, G. Wittstock, U. Rüdell, B. Strehlitz, *J. Electroanal. Chem.* **1995**, *395*, 143–157.
- [241] C. Gabrielli, E. Ostermann, H. Perrot, V. Vivier, L. Beitone, C. Mace, *Electrochem. Commun.* **2005**, *7*, 962–968.
- [242] K. Fushimi, T. Okawa, K. Azumi, M. Seo, *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 524–529.
- [243] B. Ballesteros Katemann, A. Schulte, E. J. Calvo, M. Koudelka-Hep, W. Schuhmann, *Electrochem. Commun.* **2002**, *4*, 134–138.
- [244] A. S. Baranski, P. M. Diakowski, *J. Solid State Electrochem.* **2004**, *8*, 683–692.
- [245] M. Etienne, A. Schulte, W. Schuhmann, *Electrochem. Commun.* **2004**, *6*, 288–293.

- [246] K. Borgwarth, J. Heinze in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 201–240.
- [247] G. Wittstock, H. Emons, T. H. Ridgway, E. A. Blubaugh, W. R. Heineman, *Anal. Chim. Acta* **1994**, 298, 285–302.
- [248] G. Wittstock, B. Gründig, B. Strehlitz, K. Zimmer, *Electroanalysis* **1998**, 10, 526–531.
- [249] O. Köster, W. Schuhmann, H. Vogt, W. Mokwa, *Sens. Actuators B* **2001**, 76, 573–581.
- [250] C. G. Zoski, N. Simjee, O. Guenat, M. Koudelka-Hep, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 62–72.
- [251] S. Ramirez-Garcia, S. Alegret, F. Cespedes, R. J. Forster, *Analyst* **2002**, 127, 1512–1519.
- [252] O. Sklyar, J. Ufheil, J. Heinze, G. Wittstock, *Electrochim. Acta* **2003**, 49, 117–128.
- [253] J. Ufheil, K. Borgwarth, J. Heinze, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 1316–1321.
- [254] M. Etienne, E. C. Anderson, S. R. Evans, W. Schuhmann, I. Fritsch, *Anal. Chem.* **2006**, 78, 7317–7324.
- [255] A. P. O'Mullane, A. K. Neufeld, A. M. Bond, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 5447–5452.
- [256] A. K. Neufeld, A. P. O'Mullane, A. M. Bond, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13846–13853.
- [257] Y. Shen, K. Nonomura, D. Schlottwein, C. Zhao, G. Wittstock, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 5832–5839.
- [258] H. Yamada, M. Ogata, T. Koike, *Langmuir* **2006**, 22, 7923–7927.
- [259] L. Svobodova, M. Snejdarkova, K. Toth, R. E. Gyurcsanyi, T. Hianik, *Bioelectrochemistry* **2004**, 63, 285–289.
- [260] B. Liu, A. J. Bard, M. V. Mirkin, S. E. Creager, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1485–1492.
- [261] F.-M. Boldt, N. Baltes, K. Borgwarth, J. Heinze, *Surf. Sci.* **2005**, 597, 51–64.
- [262] D. Burshtain, D. Mandler, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, 581, 310–319.
- [263] B. Liu, A. J. Bard, C.-Z. Li, H.-B. Kraatz, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 5193–5198.
- [264] J. Abbou, A. Anne, C. Demaille, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10095–10108.
- [265] G. Wittstock, T. Asmus, T. Wilhelm, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 367, 346–351.
- [266] M. E. Williams, K. D. Benkstein, C. Abel, P. H. Dinolfo, J. T. Hupp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 5171–5177.
- [267] M. E. Williams, J. T. Hupp, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 8944–8950.
- [268] M. E. Williams, K. J. Stevenson, A. M. Massari, J. T. Hupp, *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3122–3128.
- [269] H. Shiku, T. Saito, C.-C. Wu, T. Yasukawa, M. Yokoo, H. Abe, T. Matsue, H. Yamada, *Chem. Lett.* **2006**, 35, 234–235.
- [270] R. E. Gyurcsanyi, E. Pergel, R. Nagy, I. Kapui, B. T. T. Lan, K. Toth, I. Bitter, E. Lindner, *Anal. Chem.* **2001**, 73, 2104–2111.
- [271] E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Electroanalysis* **1999**, 11, 915–933.
- [272] M. V. Mirkin, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, *Science* **1992**, 257, 364–366.
- [273] F.-R. F. Fan, M. V. Mirkin, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 1475–1481.
- [274] C. Lee, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1990**, 62, 1906–1913.
- [275] J. Kwak, C. Lee, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **1990**, 137, 1481–1484.
- [276] K. Borgwarth, D. G. Ebling, J. Heinze, *Electrochim. Acta* **1995**, 40, 1455–1460.
- [277] K. Borgwarth, C. Ricken, D. G. Ebling, J. Heinze, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 356, 288–294.
- [278] G. Wittstock, C. Kranz, D. J. Strike, W. Schuhmann, H. L. Schmidt, *European Microscopy and Analysis* **1996**, 5–7.
- [279] M. Arca, M. V. Mirkin, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 5040–5050.
- [280] M. Tsionsky, A. J. Bard, D. Dini, F. Decker, *Chem. Mater.* **1998**, 10, 2120–2126.
- [281] M. Quinto, S. A. Jenekhe, A. J. Bard, *Chem. Mater.* **2001**, 13, 2824–2832.
- [282] I. C. Jeon, F. C. Anson, *Anal. Chem.* **1992**, 64, 2021–2028.
- [283] J. Kwak, F. C. Anson, *Anal. Chem.* **1992**, 64, 250–256.
- [284] C. Lee, F. C. Anson, *Anal. Chem.* **1992**, 64, 528–533.
- [285] M. H. T. Frank, G. Denuault, *J. Electroanal. Chem.* **1993**, 354, 331–339.
- [286] V. Syritski, R. E. Gyurcsanyi, A. Oepik, K. Toth, *Synth. Met.* **2005**, 152, 133–136.
- [287] J. C. Taylor, R. J. LeSuer, C. R. Chambers, F.-R. F. Fan, A. J. Bard, W. E. Conley, C. G. Willson, *Chem. Mater.* **2005**, 17, 4194–4203.
- [288] B. D. Bath, H. S. White, E. R. Scott in *Scanning Electrochemical Microscopy* (Hrsg.: A. J. Bard, M. V. Mirkin), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 343–395.
- [289] E. R. Scott, H. S. White, J. B. Phipps, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1537–1545.
- [290] B. D. Bath, R. D. Lee, H. S. White, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 1047–1058.
- [291] E. R. Scott, H. S. White, J. B. Phipps, *J. Membr. Sci.* **1991**, 58, 71–87.
- [292] S. Nugues, G. Denuault, *J. Electroanal. Chem.* **1996**, 408, 125–140.
- [293] O. D. Uitto, H. S. White, K. Aoki, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 4577–4582.
- [294] E. R. Scott, A. I. Laplaza, H. S. White, J. B. Phipps, *Pharm. Res.* **1993**, 10, 1699–1709.
- [295] E. R. Scott, J. B. Phipps, H. S. White, *J. Invest. Dermatol.* **1995**, 104, 142–145.
- [296] B. D. Bath, E. R. Scott, J. B. Phipps, H. S. White, *J. Pharm. Sci.* **2000**, 89, 1537–1549.
- [297] B. D. Bath, J. B. Phipps, E. R. Scott, O. D. Uitto, H. S. White, *Stud. Surf. Sci. Catal.* **2001**, 132, 1015–1019.
- [298] O. D. Uitto, H. S. White, *Anal. Chem.* **2001**, 73, 533–539.
- [299] O. D. Uitto, H. S. White, *Pharm. Res.* **2003**, 20, 646–652.
- [300] J. V. Macpherson, M. A. Beeston, P. R. Unwin, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1995**, 91, 899–904.
- [301] J. V. Macpherson, M. A. Beeston, P. R. Unwin, N. P. Hughes, D. Littlewood, *Langmuir* **1995**, 11, 3959–3963.
- [302] P. R. Unwin, J. V. Macpherson, M. A. Beeston, N. J. Evans, D. Littlewood, N. P. Hughes, *Adv. Dent. Res.* **1997**, 11, 548–559.
- [303] N. J. Evans, M. Gonsalves, N. J. Gray, A. L. Barker, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *Electrochem. Commun.* **2000**, 2, 201–206.
- [304] M. Gonsalves, A. L. Barker, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, D. O'Hare, P. C. Winlove, *Biophys. J.* **2000**, 78, 1578–1588.
- [305] J. V. Macpherson, D. O'Hare, P. R. Unwin, C. P. Winlove, *Biophys. J.* **1997**, 73, 2771–2781.
- [306] A. Kueng, C. Kranz, B. Mizaikoff, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, 19, 1301–1307.
- [307] A. Kueng, C. Kranz, B. Mizaikoff, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, 21, 346–353.
- [308] A. Kueng, C. Kranz, A. Lugstein, E. Bertagnolli, B. Mizaikoff, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 3358–3360; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3238–3240.
- [309] C. E. Gardner, P. R. Unwin, J. V. Macpherson, *Electrochem. Commun.* **2005**, 7, 612–618.
- [310] E. N. Ervin, H. S. White, L. A. Baker, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 5564–5569.
- [311] P. K. Hansma, B. Drake, O. Marti, S. A. C. Gould, C. B. Prater, *Science* **1989**, 243, 641–643.
- [312] E. N. Ervin, H. S. White, L. A. Baker, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 5564–5569.

- [313] S. Lee, Y. Zhang, H. S. White, C. C. Harrell, R. Martin Charles, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 6108–6115.
- [314] J. Ye, J. Liu, Z. Zhang, J. Hu, S. Dong, Y. Shao, *J. Electroanal. Chem.* **2001**, 508, 123–128.
- [315] L. I. Halaoui, H. Sharifian, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **2001**, 148, E386–E393.
- [316] J. Zhou, Y. Zu, A. J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* **2000**, 491, 22–29.
- [317] B. C. Shah, A. C. Hillier, *J. Electrochem. Soc.* **2000**, 147, 3043–3048.
- [318] S. Ahmed, S. Ji, L. Petrik, V. M. Linkov, *Anal. Sci.* **2004**, 20, 1283–1287.
- [319] C. G. Zoski, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 6401–6405.
- [320] K. Jambunathan, B. C. Shah, J. L. Hudson, A. C. Hillier, *J. Electroanal. Chem.* **2001**, 500, 279–289.
- [321] K. Jambunathan, A. C. Hillier, *J. Electroanal. Chem.* **2002**, 524–525, 144–156.
- [322] S. Jayaraman, A. C. Hillier, *J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 27–31.
- [323] S. Jayaraman, A. C. Hillier, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 5221–5230.
- [324] S. Daniele, C. Bragato, M. A. Baldo, G. A. Battiston, R. Gerbasi, *Mater. Sci. Forum* **2003**, 413, 147–152.
- [325] A. R. Kucernak, P. B. Chowdhury, C. P. Wilde, G. H. Kelsall, Y. Y. Zhu, D. E. Williams, *Electrochim. Acta* **2000**, 45, 4483–4491.
- [326] J. Meier, A. K. Friedrich, U. Stimming, *Faraday Discuss.* **2002**, 121, 365–372.
- [327] M. G. Del Popolo, E. P. M. Leiva, H. Kleine, J. Meier, U. Stimming, M. Mariscal, W. Schmickler, *Electrochim. Acta* **2003**, 48, 1287–1294.
- [328] J. Meier, J. Schiotz, P. Liu, J. K. Nørskov, U. Stimming, *Chem. Phys. Lett.* **2004**, 390, 440–444.
- [329] J. L. Fernandez, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **2003**, 75, 2967–2974.
- [330] J. L. Fernandez, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 2281–2289.
- [331] J. L. Fernandez, N. Mano, A. Heller, A. J. Bard, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 6515–6517; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6355–6357.
- [332] D. A. Walsh, J. L. Fernandez, A. J. Bard, *J. Electrochem. Soc.* **2006**, 153, E99–E103.
- [333] B. Liu, A. J. Bard, *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106, 12801–12806.
- [334] C. Zhao, J. K. Sinha, C. A. Wijayawardhana, G. Wittstock, *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 561, 83–91.
- [335] T. Kaya, K. Nagamine, N. Matsui, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, *Chem. Commun.* **2004**, 248–249.
- [336] C. A. Wijayawardhana, G. Wittstock, H. B. Halsall, W. R. Heineman, *Anal. Chem.* **2000**, 72, 333–338.
- [337] D. T. Pierce, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 3598–3604.
- [338] C. Zhao, G. Wittstock, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 3145–3154.
- [339] H. Yamada, H. Shiku, T. Matsue, I. Uchida, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1994**, 33, 91–93.
- [340] H. Shiku, T. Matsue, I. Uchida, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 1276–1278.
- [341] G. Wittstock, T. Wilhelm, S. Bahrs, P. Steinrück, *Electroanalysis* **2001**, 13, 669–675.
- [342] J. Zaumseil, G. Wittstock, S. Bahrs, P. Steinrück, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 367, 352–355.
- [343] J. Wang, L.-H. Wu, R. Li, *J. Electroanal. Chem.* **1989**, 272, 285–292.
- [344] B. R. Horrocks, D. Schmidtke, A. Heller, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 3605–3614.
- [345] H. Shiku, Y. Hara, T. Matsue, I. Uchida, T. Yamauchi, *J. Electroanal. Chem.* **1997**, 438, 187–190.
- [346] C. A. Wijayawardhana, G. Wittstock, H. B. Halsall, W. R. Heineman, *Electroanalysis* **2000**, 12, 640–644.
- [347] C. Zhao, G. Wittstock, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 4264–4267; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4170–4172.
- [348] N. Matsui, T. Kaya, K. Nagamine, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, *Biosens. Bioelectron.* **2006**, 21, 1202–1209.
- [349] C. E. M. Berger, B. R. Horrocks, H. K. Datta, *J. Endocrinol.* **1998**, 158, 311–318.
- [350] T. Wilhelm, G. Wittstock, R. Szargan, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, 365, 163–167.
- [351] C. Zhao, G. Wittstock, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, 20, 1277–1284.
- [352] W. B. Nowall, N. Dontha, W. G. Kuhr, *Biosens. Bioelectron.* **1998**, 13, 1237–1244.
- [353] S. E. Rosenwald, N. Dontha, W. G. Kuhr, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 1133–1140.
- [354] W. B. Nowall, D. O. Wipf, W. G. Kuhr, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 2601–2606.
- [355] T. Wilhelm, G. Wittstock, *Langmuir* **2002**, 18, 9485–9493.
- [356] M. Niculescu, S. Gaspar, A. Schulte, E. Csoregi, W. Schuhmann, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, 19, 1175–1184.
- [357] C. Kurzawa, A. Hengstenberg, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 355–361.
- [358] S. Gaspar, M. Mosbach, L. Wallman, T. Laurell, E. Csöregi, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **2001**, 73, 4254–4261.
- [359] F. Turcu, G. Hartwich, D. Schaefer, W. Schuhmann, *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, 26, 325–330.
- [360] M. Maciejewska, D. Schaefer, W. Schuhmann, *Electrochem. Commun.* **2006**, 8, 1119–1124.
- [361] R. N. Adams, *Prog. Neurobiol.* **1990**, 35, 297–311.
- [362] R. M. Wightman, *Science* **2006**, 311, 1570–1574.
- [363] M. Tsionsky, Z. G. Cardon, A. J. Bard, R. B. Jackson, *Plant Physiol.* **1997**, 113, 895–901.
- [364] S. Isik, M. Etienne, J. Oni, A. Bloechl, S. Reiter, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 6389–6394.
- [365] Y.-S. Torisawa, H. Shiku, T. Yasukawa, M. Nishizawa, T. Matsue, *Biomaterials* **2005**, 26, 2165–2172.
- [366] Y.-S. Torisawa, H. Shiku, S. Kasai, M. Nishizawa, T. Matsue, *Int. J. Cancer* **2004**, 109, 302–308.
- [367] Y.-S. Torisawa, H. Shiku, S. Kasai, M. Nishizawa, T. Matsue, *Chem. Senses* **2003**, 19, 28–30.
- [368] Y.-S. Torisawa, T. Kaya, Y. Takii, D. Oyamatsu, M. Nishizawa, T. Matsue, *Anal. Chem.* **2003**, 75, 2154–2158.
- [369] T. Yasukawa, T. Kaya, T. Matsue, *Anal. Chem.* **1999**, 71, 4631–4641.
- [370] R. T. Kurulugama, D. O. Wipf, S. A. Takacs, S. Pongmayteegul, P. A. Garriss, J. E. Baur, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 1111–1117.
- [371] R. Zhu, S. M. Macfie, Z. Ding, *J. Exp. Bot.* **2005**, 56, 2831–2838.
- [372] T. Yasukawa, T. Kaya, T. Matsue, *Chem. Lett.* **1999**, 9, 975–976.
- [373] M. Nishizawa, K. Takoh, T. Matsue, *Langmuir* **2002**, 18, 3645–3649.
- [374] T. Yasukawa, Y. Kondo, I. Uchida, T. Matsue, *Chem. Lett.* **1998**, 767–768.
- [375] Y.-S. Torisawa, A. Takagi, H. Shiku, T. Yasukawa, T. Matsue, *Oncol. Rep.* **2005**, 13, 1107–1112.
- [376] K. B. Holt, A. J. Bard, *Biochemistry* **2005**, 44, 13214–13223.
- [377] Y.-S. Torisawa, H. Shiku, T. Yasukawa, M. Nishizawa, T. Matsue, *Sens. Actuators B* **2005**, 108, 654–659.
- [378] H. Shiku, T. Shiraishi, S. Aoyagi, Y. Utsumi, M. Matsudaira, H. Abe, H. Hoshi, S. Kasai, H. Ohya, T. Matsue, *Anal. Chim. Acta* **2004**, 522, 51–58.
- [379] H. Shiku, Y.-S. Torisawa, A. Takagi, S. Aoyagi, H. Abe, H. Hoshi, T. Yasukawa, T. Matsue, *Sens. Actuators B* **2005**, 108, 597–602.
- [380] B. Agung, T. Otoi, H. Abe, H. Hoshi, M. Murakami, N. W. K. Karja, M. K. Murakami, P. Wongsrikeao, H. Watari, T. Suzuki, *Reprod. Domest. Anim.* **2005**, 40, 51–56.
- [381] A. Hengstenberg, A. Blöchl, I. D. Dietzel, W. Schuhmann, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 942–946; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 905–908.

- [382] L. Pitta Bauermann, W. Schuhmann, A. Schulte, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 4003–4008.
- [383] C. E. M. Berger, H. Rathod, J. I. Gillespie, B. R. Horrocks, H. K. Datta, *J. Bone Miner. Res.* **2001**, *16*, 2092–2102.
- [384] C. E. M. Berger, B. R. Horrocks, H. K. Datta, *Mol. Cell. Endocrinol.* **1999**, *149*, 53–59.
- [385] B. Liu, S. A. Rotenberg, M. V. Mirkin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 9855–9860.
- [386] B. Liu, S. A. Rotenberg, M. V. Mirkin, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 6340–6348.
- [387] W. Feng, S. A. Rotenberg, M. V. Mirkin, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 4148–4154.
- [388] B. Liu, W. Cheng, S. A. Rotenberg, M. V. Mirkin, *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *500*, 590–597.
- [389] K. Nagamine, N. Matsui, T. Kaya, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Nakayama, T. Nishino, T. Matsue, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *21*, 145–151.
- [390] K. Nagamine, T. Kaya, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, *Sens. Actuators B* **2005**, *108*, 676–682.
- [391] S. Kasai, A. Yokota, H. Zhou, M. Nishizawa, T. Onouchi, K. Niwa, T. Matsue, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5761–5765.
- [392] N. Motochi, Y. Hirano, Y. Abiko, D. Oyamatsu, M. Nishizawa, T. Matsue, K. Ushizawa, S. Kawabata, *Chem. Senses* **2002**, *18*, 172–174.
- [393] X. Zhang, X. Peng, W. Jin, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *558*, 110–114.
- [394] D. Ogasawara, Y. Hirano, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, K. Kobori, K. Ushizawa, S. Kawabata, *Chem. Senses* **2004**, *20*, 139–141.
- [395] Y. Hirano, Y. Mase, D. Oyamatsu, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, *Chem. Senses* **2004**, *20*, 754–755.
- [396] C. A. Wijayawardhana, N. J. Ronkainen-Matsuno, S. M. Farrel, G. Wittstock, H. B. Halsall, W. R. Heineman, *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 535–538.
- [397] M. Florencia Garay, J. Ufheil, K. Borgwarth, J. Heinze, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 4028–4033.
- [398] E. Fortin, P. Mailley, L. Lacroix, S. Szunerits, *Analyst* **2006**, *131*, 186–193.
- [399] S. Szunerits, N. Knorr, R. Calemczuk, T. Livache, *Langmuir* **2004**, *20*, 9236–9241.
- [400] E. Fortin, P. Mailley, L. Lacroix, S. Szunerits, *Analyst* **2006**, *131*, 186–193.
- [401] M. Komatsu, K. Yamashita, K. Uchida, H. Kondo, S. Takenaka, *Electrochim. Acta* **2006**, *51*, 2023–2029.
- [402] S. Takenaka, *Polym. J.* **2004**, *36*, 503–512.
- [403] T. Kaya, K. Nagamine, N. Matsui, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, *Chem. Commun.* **2004**, 248–249.
- [404] D. Ogasawara, Y. Hirano, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue, K. Kobori, K. Ushizawa, S. Kawabata, *Chem. Sens.* **2004**, *20*, 139–141.
- [405] H. Kaji, M. Hashimoto, M. Nishizawa, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 5469–5473.
- [406] J. Wang, F. Song, F. Zhou, *Langmuir* **2002**, *18*, 6653–6658.
- [407] M. Carano, N. Lion, J.-P. Abid, H. H. Girault, *Electrochem. Commun.* **2004**, *6*, 1217–1221.
- [408] M. Carano, N. Lion, H. H. Girault, *Chimia* **2005**, *59*, 105–108.
- [409] J. Wang, F. Zhou, *J. Electroanal. Chem.* **2002**, *537*, 95–102.
- [410] F. Turcu, A. Schulte, G. Hartwich, W. Schuhmann, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3564–3567; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3482–3485.
- [411] F. Turcu, A. Schulte, G. Hartwich, W. Schuhmann, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *20*, 925–932.
- [412] M. Ludwig, C. Kranz, W. Schuhmann, H. E. Gaub, *Rev. Sci. Instrum.* **1995**, *66*, 2857–2860.
- [413] P. James, L. F. Garfias-Mesias, P. J. Moyer, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 64–66.
- [414] Y. Lee, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 3626–3633.
- [415] B. Ballesteros Katemann, A. Schulte, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2025–2033.
- [416] M. F. Garay, J. Ufheil, K. Borgwarth, J. Heinze, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 4028–4033.
- [417] H. Yamada, H. Fukumoto, T. Yokoyama, T. Koike, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 1785–1790.
- [418] D. Oyamatsu, Y. Hirano, N. Kanaya, Y. Mase, M. Nishizawa, T. Matsue, *Bioelectrochemistry* **2003**, *60*, 115–121.
- [419] B. Ballesteros Katemann, A. Schulte, W. Schuhmann, *Electroanalysis* **2004**, *16*, 60–65.
- [420] L. P. Bauermann, W. Schuhmann, A. Schulte, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 4003–4008.
- [421] E. Ammann, C. Beuret, P. F. Indermuhle, R. Kotz, N. F. de Rooij, H. Siegenthaler, *Electrochim. Acta* **2001**, *47*, 327–334.
- [422] T. H. Treutler, G. Wittstock, *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 2923–2932.
- [423] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 550–557.
- [424] J. V. Macpherson, J.-P. Gueneau de Mussy, J.-L. Delplancke, *J. Electrochem. Soc.* **2002**, *149*, B306–B313.
- [425] J. V. Macpherson, C. E. Jones, A. L. Barker, P. R. Unwin, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 1841–1848.
- [426] D. P. Burt, N. R. Wilson, J. M. R. Weaver, P. S. Dobson, J. V. Macpherson, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 639–643.
- [427] P. S. Dobson, J. M. R. Weaver, D. P. Burt, M. N. Holder, N. R. Wilson, P. R. Unwin, J. V. Macpherson, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3909–3914.
- [428] C. Kranz, G. Friedbacher, B. Mizaikoff, A. Lugstein, J. Smolier, E. Bertagnolli, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2491–2500.
- [429] A. Lugstein, E. Bertagnolli, C. Kranz, A. Kueng, B. Mizaikoff, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *81*, 349–351.
- [430] A. Lugstein, E. Bertagnolli, C. Kranz, B. Mizaikoff, *Surf. Interface Anal.* **2002**, *33*, 146–150.
- [431] A. Kueng, C. Kranz, B. Mizaikoff, A. Lugstein, E. Bertagnolli, *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *82*, 1592–1594.
- [432] J. Abbou, A. Anne, C. Demaille, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10095–10108.
- [433] R. J. Fasching, Y. Tao, F. B. Prinz, *Sens. Actuators B* **2005**, *108*, 964–972.
- [434] Y. Tao, R. J. Fasching, F. B. Prinz, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* **2004**, 5389, 431–442.
- [435] R. J. Fasching, Y. Tao, F. B. Prinz, *Chem. Senses* **2004**, *20*, 318–319.
- [436] M. R. Gullo, P. L. T. M. Frederix, T. Akiyama, A. Engel, N. F. de Rooij, U. Staufer, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 5436–5442.
- [437] T. Akiyama, M. R. Gullo, N. F. De Rooij, A. Tonin, H.-R. Hidber, P. L. T. M. Frederix, A. Engel, U. Staufer, *Jpn. J. Appl. Phys. Part 1* **2004**, *43*, 3865–3867.
- [438] C. Kranz, A. Kueng, A. Lugstein, E. Bertagnolli, B. Mizaikoff, *Ultramicroscopy* **2004**, *100*, 127–134.
- [439] A. Kueng, C. Kranz, A. Lugstein, E. Bertagnolli, B. Mizaikoff, *Methods Mol. Biol.* **2005**, *300*, 403–415.
- [440] A. Kueng, C. Kranz, B. Mizaikoff, *Sens. Lett.* **2003**, *1*, 2–15.
- [441] A. Kueng, C. Kranz, A. Lugstein, E. Bertagnolli, B. Mizaikoff, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3485–3488; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3419–3422.
- [442] A. L. Barker, P. R. Unwin, J. W. Gardner, H. Rieley, *Electrochem. Commun.* **2004**, *6*, 91–97.
- [443] P. S. Dobson, J. M. R. Weaver, M. N. Holder, P. R. Unwin, J. V. Macpherson, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 424–434.
- [444] N. Casillas, P. James, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1995**, *142*, 16–18.
- [445] P. James, N. Casillas, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1996**, *143*, 3853–3865.
- [446] Y. Lee, Z. Ding, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 3634–3643.
- [447] K. Maruyama, H. Ohkawa, S. Ogawa, A. Ueda, O. Niwa, K. Suzuki, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 1904–1912.

- [448] G. Shi, L. F. Garfias-Mesias, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 2011–2016.
- [449] H. Xiong, J. Guo, K. Kurihara, S. Amemiya, *Electrochem. Commun.* **2004**, *6*, 615–620.
- [450] F.-R. F. Fan, D. E. Cliffel, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2941–2948.
- [451] S. Cannan, I. D. Macklam, P. R. Unwin, *Electrochem. Commun.* **2002**, *4*, 886–892.
- [452] F.-M. Boldt, J. Heinze, M. Diez, J. Petersen, M. Boersch, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 3473–3481.
- [453] D. E. Cliffel, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 1993–1998.
- [454] C. Hess, K. Borgwarth, J. Heinze, *Electrochim. Acta* **2000**, *45*, 3725–3736.
- [455] B. Gollas, P. N. Bartlett, G. Denuault, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 349–356.
- [456] C. Gabrielli, S. Joiret, M. Keddam, H. Perrot, N. Portail, P. Rousseau, V. Vivier, *J. Electrochem. Soc.* **2006**, *153*, B68–B74.
- [457] X. Tu, Q. Xie, C. Xiang, Y. Zhang, S. Yao, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 4053–4063.
- [458] E. Fortin, Y. Defontaine, P. Mailley, T. Livache, S. Szunerits, *Electroanalysis* **2005**, *17*, 495–503.
- [459] J. Xiang, J. Guo, F. Zhou, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 1418–1424.
- [460] D. E. Cliffel, A. J. Bard, S. Shinkai, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4146–4151.
- [461] P. Sun, M. V. Mirkin, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 6526–6534.



Saved Search Alerts – Quick and Easy

Simply register. Registration is fast and free to all internet users.

Saved Search Alerts:

You are notified by e-mail whenever content is published online that matches one of your saved searches—complete with direct links to the new material.

To set a Saved Search alert: Run a search on Wiley InterScience, then click

● **Save Search** on the results page



Once you have saved the query, login to "My Profile" and go to **SAVED SEARCHES**. Click + **Activate Alert** to start getting e-mail results for that query.



WILEY
InterScience®

www.interscience.wiley.com/alerts