

# Chemische Strategien zur Verbesserung der Biokompatibilität und Funktion neuronaler Elektroden

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades  
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation

von

Niklas Burblied, M. Sc.

2021

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Peter Behrens

Korreferent: Prof. Dr. techn. et. rer. nat. habil. Franz Renz

Tag der Promotion: 01.11.2021

## Kurzzusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Herstellung und Charakterisierung funktionaler Elektroden-Beschichtungen auf der Basis verschiedener Kohlenstoff-Nanomaterialien. Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung für Elektroden neuraler Schnittstellen werden die Vorgehensweise und Methoden dementsprechend ausgewählt. Der Fokus liegt dabei auf der Untersuchung im Hinblick auf die Eignung des Einsatzes als Bestandteil des Elektroden-Arrays des Cochlea-Implantats.

Das Cochlea-Implantat ist eine Hörprothese, die es ermöglicht von Schwerhörigkeit und Taubheit betroffenen Menschen wieder einen Höreindruck zu vermitteln bzw. eine deutliche Verbesserung des Hörvermögens zu ermöglichen. Dabei werden die Audiosignale der Umgebung von einem am Kopf befindlichen Mikrofon aufgenommen und an einen im Schädel befindlichen Signalprozessor weitergeleitet, der diese Signale in elektrische Impulse umsetzt, mit denen über das im Innenohr implantierte Elektroden-Array die Nervenzellen des Innenohres direkt stimuliert werden.

Als Beschichtungsmaterial kommen dabei Kohlenstoff-Nanoröhren sowie nanoporöser Kohlenstoff zum Einsatz. Im Falle der Kohlenstoff-Nanoröhren (CNTs; *engl.: carbon nanotubes*) werden kommerziell erhältliche CNTs unterschiedlichen Typs und Reinheit verwendet. Die CNTs werden mittels eines nasschemischen Verfahrens aufgereinigt und mit sauerstoff-haltigen funktionellen Gruppen modifiziert. Dieses Verfahren ermöglicht die Herstellung stabiler wässriger CNT-Dispersionen. Der exemplarisch für die Gruppe der nanoporösen Kohlenstoffe ausgewählte CMK-3 (*Carbon Mesostructured by KAIST-3*) wird über eine Templat-gestützte Synthese hergestellt. Der Einsatz verschiedener Polymere als Dispergierhilfsmittel macht es möglich auch vom nanoporösen Kohlenstoff stabile Dispersionen zu erhalten. Über die Beschichtungsverfahren der Rakel- und der automatisierten Sprühbeschichtung lassen sich mit Hilfe dieser Dispersionen homogene Filme mit einheitlicher guter Qualität reproduzierbar in größerer Anzahl herstellen. Die Schichtdicken der Filme liegen für die sprühbeschichteten CNT-Filme im Bereich von 100 nm und für die sprüh- und rakelbeschichteten Filme des nanoporösen Kohlenstoffs im unteren  $\mu\text{m}$ -Bereich. Neben der detaillierten Charakterisierung der morphologischen und strukturellen Eigenschaften sowie der chemischen Zusammensetzung der Filme konnten zudem die mechanische Stabilität sowie die Stabilität gegenüber wässrigen Lösungen gezeigt werden. Die elektrische Leitfähigkeit der Filme und ihre elektrochemischen Eigenschaften wurden mit Hilfe der Impedanzspektroskopie und Cyclovoltammetrie nachgewiesen.

Im Hinblick auf die mögliche Anwendung im menschlichen Körper als Implantat-Material wird in ausführlichen Zellkultur-Untersuchungen mit verschiedenen Fibroblasten-Zelllinien aber auch mit Spiral-Ganglion-Zellen – den Nervenzellen des Innenohres – die Zytokompatibilität untersucht, um erste Aussagen über die allgemeine Biokompatibilität und generelle Eignung der Materialien treffen zu können.

**Stichworte:** Neuronale Schnittstellen; Cochlea-Implantat; Kohlenstoff-Nanoröhren; nanoporöse Kohlenstoff-Materialien; Beschichtungen; poröse Filme; elektrochemische Charakterisierung; Zellkulturuntersuchungen; Spiral-Ganglion-Zellen.



## Abstract

This thesis examines the manufacturing and characterization of functionalized coatings for electrodes based on carbon nanomaterials. With regard to the possible application for neural interfaces electrodes, procedures and methods are chosen accordingly. The focus is set on the investigation of the feasibility of a usage as component of the electrode arrays of the cochlear implant.

The cochlear implant is a neuroprosthetic device that enables people with severe hearing loss to improve their hearing ability or deaf people even to (re-)gain auditory impressions. Surrounding audio signals are recorded by a microphone that is located at the patient's head. The signals are transmitted to a signal processor implanted in the skull that transduces these signals into electric pulses. These electric pulses stimulate the neurons of the inner ear by an electrode array implanted directly in the inner ear.

For the electrode coatings, carbon nanotubes (CNTs) and nanoporous carbons are used. In case of the carbon nanotubes, commercially available CNTs of different type and purity are utilized. The CNTs are treated via a wet chemical process in order to become purified and modified with oxygen-containing functional groups. This treatment enables after further processing to obtain stable aqueous dispersion of the CNTs. The CMK-3 (*Carbon Mesostructured by KAIST-3*) is selected as an example for the group of nanoporous carbons and synthesized via a template-based procedure. Using different polymers as dispersing agent, it is possible to obtain stable dispersions of the nanoporous carbon as well. With these dispersions, homogenous films with uniformly good quality can be produced with good reproducibility via two coating methods – doctor blading and automated spray-coating. Spray-coated CNT films have a thickness of about 100 nm. The spray-coated and doctor-bladed films of the nanoporous carbon show film thickness in the low  $\mu\text{m}$ -range. In addition to the detailed characterization of the morphological and structural properties and the chemical composition of the films, the mechanical stability and the stability against aqueous solvents is also achieved and tested. The electrical conductivity of the films and their electrochemical properties are proven via impedance spectroscopy and cyclic voltammetry.

For the possible application in the human body as implant material, the cytocompatibility is investigated via detailed cell culture investigations with different cell lines of fibroblasts and spiral ganglion cells – the neurons of the inner ear. With these investigations it is possible to make first statements regarding the biocompatibility and general suitability of the used carbon nanomaterials.

**Keywords:** neural interfaces; cochlea implant; carbon nanotubes; nanoporous carbons; coatings; porous films; electrochemical characterization; cell culture investigations; spiral ganglion cells.



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all den Personen bedanken, die mich in meiner Zeit an der Universität begleitet, gefördert und unterstützt haben und somit direkt oder indirekt ihren Anteil an der Entstehung dieser Arbeit hatten.

Dabei gilt mein allererster Dank Herrn Prof. Dr. Peter Behrens. Nach Bachelor- und Masterarbeit sowie HiWi-Tätigkeit in Ihrem Arbeitskreis haben Sie mir die Möglichkeit gegeben, meine Promotion ebenso unter Ihrer Betreuung zu absolvieren. Besonders die Interdisziplinarität des Themas dieser Arbeit im Rahmen des Exzellenzclusters *Hearing4all* und der damit einhergehende Austausch mit Wissenschaftlern unterschiedlichster Fachrichtungen haben mir nicht nur fachlich geholfen, sondern meinen Horizont menschlich erweitert und dazu sehr viel Spaß bereitet.

Herrn Prof. Dr. Franz Renz danke ich für die Übernahme des Korreferats. Zudem möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Scheper für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission bedanken.

Für die Durchführung der Zellkultur-Untersuchungen und weitergehenden Messungen für diese Arbeit danke ich Frau Prof. Dr. Athanasia Warnecke und Jennifer Harre (geb. Schulze) aus der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde der Medizinischen Hochschule Hannover sowie Antonina Lavrentieva und Marline Kirsch des Instituts für Technische Chemie der Leibniz Universität Hannover. Damian Motz aus dem Arbeitskreis Analytik des Instituts für Anorganische Chemie der Leibniz Universität Hannover danke ich für die Probenvorbereitung und die Messungen zur optischen Emissionsspektrometrie. Der Firma Covestro danke ich für die Anfertigung der Röntgen-Photoelektronenspektren. Zusätzlich gilt mein Dank meinem Bacheloranden Felix Rieck genannt Best sowie meinen Forschungspraktikanten Marcel Schulz und Richard Hinterding für ihre geleistete Arbeit. Außerdem danke ich Jann Lippke, Alexander Mohmeyer, Mandy Jahns, Sergej Springer, Katharina Petrovic (geb. Nolte), Dennes Nettelroth, Bastian Hoppe und Hans-Christoph Schwarz als Mitglieder des AK Behrens für die Anfertigung verschiedener Messungen und mikroskopischer Aufnahmen.

Dem gesamten Arbeitskreis Behrens danke ich nicht nur für die fachliche Unterstützung, sondern vor allem denke ich gerne an die nicht-fachlichen Diskussionen und Aktionen in all den Jahren zurück, in denen ich ein Teil davon sein durfte. Neben der Laufgruppe *Laufomotive Behrens* und dem Fußball-Team *Lokomotive Behrens* soll auch das erfolgreiche Fußball-Team der AC nicht unerwähnt bleiben. Ein besonderer Dank

gilt auch meinem langjährigen Laborpartner und Betreuer von Bachelor- und Masterarbeit Hans-Christoph Schwarz. Bastian Hoppe danke ich für das aufmerksame Korrekturlesen dieser Arbeit. Die guten Seelen des Instituts Songül Noyun, Birgit Zekoll und Merle Feldt, mittlerweile im Promotionsbüro, waren in der gesamten Zeit der Promotion und noch bis heute immer da, um Hilfe und Rat bei vielen verschiedenen Fragen und Problemen zu geben.

Dem Exzellenzcluster *Hearing4all* möchte ich zum einen für die finanzielle Unterstützung meiner Forschung zu dieser Dissertation danken und zum anderen, dass so die Teilnahme am Doktorandenprogramm *Biomedizintechnik mit Schwerpunkt Audiologische Wissenschaften* der Leibniz Universität Hannover im Rahmen des Exzellenzclusters ermöglicht wurde. Die jährlichen Summer Schools und Plenarmeetings boten neben des wissenschaftlichen Austausches auch die Möglichkeit die Mitglieder von *Hearing4all* näher kennenzulernen. Hierbei möchte ich besonders Martin Höhl und Nicole Kallweit hervorheben. Unsere regelmäßigen Zusammentreffen waren immer sehr unterhaltsam.

Besonders danken möchte ich noch Kim Kreisköther und Thomas Asche. Unsere gemeinsamen Erlebnisse während des gesamten Studiums und der Promotion lassen sich hier nicht aufzählen. Nach der Promotion haben sich unsere Wege nach so vielen Jahren nun getrennt, was aber keineswegs ändert, wie wichtig ihr als Freunde für mich wart und weiterhin sein werdet. Gleiches gilt für Torben Meyer-Duderstaedt und Mirja Duderstaedt. Ich möchte auch in vielen Jahren noch mit euch gemeinsam auf die schöne Zeit an der Uni zurückblicken.

Großer Dank gilt meiner gesamten Familie, die in den letzten Jahren immer größer geworden ist. Neben meinen Großeltern Herta und Fritz sowie Irmgard und Günter kann ich mich glücklich schätzen mittlerweile auch meine Schwiegereltern Elke und Lutz und meine Schwägerin Lisa mit Rouven dazuzählen zu können. Wenn ich euch brauche, kann ich immer auf euch zählen!

Der größte Dank gilt meinen Eltern Birgitt und Peter, die mich überhaupt erst zu dem Menschen haben werden lassen, der ich heute bin. Ihr habt mich immer unterstützt und mir Rückhalt gegeben.

Wie sehr ich meiner Frau Laura dankbar bin, lässt sich hier nicht in Worte fassen. Du warst und bist immer für mich da, hast mich immer unterstützt und ich kann mich immer auf dich verlassen. Durch Frida ist jeder Tag noch fröhlicher geworden. Ihr seid als meine Familie mein größter Rückhalt! Und ich freue mich darauf, dass dieses Glück Ende dieses Sommers noch größer wird.

# Inhaltsverzeichnis

	<b>Kurzzusammenfassung</b>	<b>3</b>
	<b>Abstract</b>	<b>5</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>7</b>
	<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>9</b>
	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>12</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>19</b>
	<b>2.1 Neuronale Implantate</b> .....	<b>19</b>
	2.1.1 Anwendungsbeispiele neuronaler Implantate .....	21
	2.1.2 Das menschliche Gehör .....	26
	2.1.3 Das Cochlea-Implantat.....	29
	<b>2.2 Kohlenstoff-Nanomaterialien</b> .....	<b>38</b>
	2.2.1 Kohlenstoff-Nanoröhren.....	39
	2.2.2 Nanoporöse Kohlenstoffe .....	56
<b>3</b>	<b>Methoden und Materialien</b>	<b>69</b>

<b>3.1</b>	<b>Präparative Methoden .....</b>	<b>69</b>
3.1.1	Substratmaterialien .....	69
3.1.2	Kohlenstoff-Nanoröhren als Elektrodenmaterial .....	71
3.1.3	Nanoporöser Kohlenstoff als Elektrodenmaterial .....	74
3.1.4	Zellkulturuntersuchungen.....	79
<b>3.2</b>	<b>Charakterisierungsmethoden.....</b>	<b>89</b>
3.2.1	Elektronenmikroskopische Untersuchungsmethoden .....	89
3.2.2	Konfokalmikroskopie.....	89
3.2.3	Röntgen-Diffraktometrie.....	90
3.2.4	Spektroskopische Methoden .....	91
3.2.5	Optische Emissionsspektrometrie.....	94
3.2.6	Thermogravimetrische Untersuchungen .....	95
3.2.7	Kontaktwinkel-Messungen.....	95
3.2.8	Physisorptions-Untersuchungen.....	95
3.2.9	Elektrochemische Charakterisierung.....	96
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>103</b>
<b>4.1</b>	<b>Kohlenstoff-Nanoröhren als Beschichtungsmaterial für neuronale Elektroden .....</b>	<b>103</b>
4.1.1	Aufreinigung und Modifizierung von Kohlenstoff-Nanoröhren und Herstellung stabiler Dispersionen .....	104
4.1.2	Charakterisierung der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren .....	116
4.1.3	Zytokompatibilitäts-Untersuchungen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren .....	130
4.1.4	Fazit der Ergebnisse der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren.....	141
<b>4.2</b>	<b>Nanoporöse Kohlenstoffe als Beschichtungsmaterial neuronaler Elektroden .....</b>	<b>142</b>

4.2.1	Herstellung des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 über das Templat-Verfahren.....	142
4.2.2	Charakterisierung der Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 .....	161
4.2.3	Biokompatibilitäts-Untersuchungen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff.....	187
4.2.4	Fazit zu den Ergebnissen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff .....	207
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>211</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>219</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>228</b>
7.1	Ergänzende Abbildungen.....	228
7.2	Lebenslauf.....	240
7.3	Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge .....	240

## Abkürzungsverzeichnis

ABI	<i>auditory brainstem implant (dt.: Hirnstamm-Implantat)</i>
AFM	<i>atomic force microscopy (dt.: Rasterkraft-Mikroskopie)</i>
AMI	<i>auditory midbrain implant (dt.: Hörprothese im Mittelhirn)</i>
ANOVA	<i>analysis of variance (dt.: Varianzanalyse)</i>
BCA	<i>bicinchoninic acid (dt.: Bicinchoninsäure)</i>
BCI	<i>brain-computer interface (dt.: Gehirn-Computer-Schnittstelle)</i>
BET	<i>Brunauer-Emmett-Teller (Entwickler des BET-Modells)</i>
BDNF	<i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BSA	<i>bovine serum albumin (dt.: Rinderalbumin)</i>
ccp	<i>cell culture plastic (dt.: Zellkultur-Kunststoff)</i>
C	<i>condensator (dt.: Kondensator)</i>
Chit	Chitosan
CI	Cochlea-Implantat ( <i>engl.: cochlear implant</i> )
CMC	Carboxymethylcellulose
CMK-3	<i>Carbon Mesostructured by KAIST-3</i>
CNT	<i>carbon nanotubes (dt.: Kohlenstoff-Nanoröhren)</i>
COOH	Carboxyl
CPE	<i>constant phase element (dt.: konstantes Phasenelement)</i>
CTB	<i>CellTiter-Blue</i>
CV	Cyclovoltammetrie
CVD	<i>chemical vapour deposition (dt.: chemische Gasphasenabscheidung)</i>
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DFT	Dichtefunktionaltheorie ( <i>engl.: density functional theory</i> )
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
EDXS	<i>energy dispersive X-ray spectroscopy (dt.: Energiedispersive Röntgen-Spektroskopie)</i>
eq	<i>equivalent (dt.: Äquivalent)</i>
FET	Feldeffekt-Transistor
H4A	<i>Hearing4all</i>

---

HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperaziny)-ethansulfonsäure
ICP-OES	<i>inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> (dt.: optische Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppelten Plasmas)
IHCs	<i>inner hair cells</i> (dt.: Innere Haarzellen)
IMPT	<i>Institut für Mikroproduktionstechnik</i>
KAIST	<i>Korea Advanced Institute of Science and Technology</i>
Lam	Laminin
LOD	<i>limit of detection</i> (dt.: Nachweisgrenze)
Orn	Poly-D/L-ornithin
MCM-41	<i>Mobil Composition of Matter No. 41</i>
MEA	Multielektroden-Array
MHH	<i>Medizinische Hochschule Hannover</i>
MOF	<i>metal-organic framework</i> (dt.: metall-organische Gerüstverbindung)
MOSFET	<i>metal oxide semiconductor FET</i> (dt.: Metall-Oxid-Halbleiter-FET)
MWCO	<i>molecular weight cut-off</i> (dt.: Ausschlussgrenze)
MWNT	<i>multi wall nanotube</i>
NIR	Nahinfrarot
NLDFT	<i>non-local density functional theory</i> (dt.: nicht-lokale Dichtefunktionaltheorie)
NMC	Lithium-Nickel-Mangan-Cobalt-Oxid ( <i>häufig auch: Li-NMC</i> )
NMP	<i>N-Methyl-2-pyrrolidon</i>
OHCs	<i>outer hair cells</i> (dt.: Äußere Haarzellen)
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> (dt.: phosphatgepufferte Salzlösung)
PBT	<i>Triton X-100</i> in PBS
PDDA	<i>poly-Diallyldimethyl-Ammoniumchlorid</i>
PFA	Paraformaldehyd
PI	Propidiumiodid
PTFE	Polytetrafluorethylen
PP	Polypropylen
PVDF	Polyvinylidenfluorid
QSDF	<i>quenched solid density functional theory</i>
R	<i>resistor</i> (dt.: Widerstand)

## Abkürzungsverzeichnis

---

$R^2$	Bestimmtheitsmaß
RBM	<i>radial breathing mode</i>
REM	Rasterelektronenmikroskop
$S_a$	mittlere arithmetische Höhe
SBA-15	<i>Santa Barbara Amorphous-15</i>
SEM	<i>standard error of the mean</i> (dt.: Standardfehler des Mittelwertes)
SGC	<i>spiral ganglion cell</i> (dt.: Spiral-Ganglion-Zelle)
SGN	<i>spiral ganglion neuron</i> (dt.: Spiral-Ganglion-Neuron)
SWNT	<i>single wall nanotube</i>
TEOS	Tetraethoxysilan
TierSchG	Tierschutzgesetz
THS	Tiefen-Hirn-Stimulation
UEA	<i>Utah</i> -Elektroden-Array
VLS	<i>vapor-liquid-solid</i> (dt.: Dampf-Flüssigkeit-Feststoff)
VSS	<i>vapor-solid-solid</i> (dt.: Dampf-Feststoff-Feststoff)
XPS	<i>X-ray photoelectron spectroscopy</i> (dt.: Röntgen-Photoelektronenspektroskopie)
XRD	<i>X-ray diffraction</i> (dt.: Röntgen-Diffraktometrie)

# 1 Einleitung

*Hören für alle* – so lässt sich das Exzellenzcluster *Hearing4all* nicht nur wörtlich ins Deutsche übersetzen, der Name stellt gleichzeitig auch dessen Vision und sein Ziel dar.<sup>1,2</sup> Als Teil eines Projektes des interdisziplinären Forschungsverbundes bildete dieses Leitmotiv die Motivation und Grundlage der Forschungsarbeiten, aus denen diese Arbeit entstanden ist.

Das Gehör ist als aktivstes Sinnesorgan maßgeblich an grundlegenden Bereichen des Alltags der menschlichen Gesellschaft beteiligt. Es spielt eine entscheidende Rolle in der Kommunikation, der Orientierung und der Sicherheit eines Menschen. Diese außerordentliche Bedeutung wird jedoch häufig erst wahrgenommen, wenn es zu Beeinträchtigungen der Hörfähigkeit kommt. Mit allein in Deutschland über 15 Millionen Betroffenen (Stand: 2017) zählt Schwerhörigkeit zu einer unterschätzten Volkskrankheit. Der Anteil der Betroffenen nimmt mit dem Lebensalter zu und somit wächst die gesellschaftliche Relevanz durch den demographischen Wandel stetig.<sup>2</sup>

In diesem Kontext stellt das Cochlea-Implantat eine Möglichkeit dar, Menschen zu helfen, die unter hochgradiger Schwerhörigkeit oder gar völliger Taubheit leiden. Es handelt sich dabei um ein Hörimplantat, welches zu den neuronalen Implantaten zählt. Patienten mit einer Innenohrschwerhörigkeit werden bei dieser Behandlungsmethode Platinelektroden direkt in die Cochlea (*dt.*: Gehörschnecke, ein Teil des Innenohres) eingesetzt. Eine ebenfalls in den Schädel des Patienten implantierte Empfangsspule wandelt akustische Signale, die es von einem nicht-implantierten, am Kopf des Patienten befestigten Mikrofon erhält, in eine definierte Abfolge elektrischer Impulse um. Über die im Innenohr des Patienten eingesetzten Elektroden werden die Nervenzellen direkt stimuliert und es entsteht ein Höreindruck.<sup>3,4</sup>

Trotz der Tatsache, dass das Cochlea-Implantat und im Speziellen auch die verwendeten Elektroden bereits seit mehr als 35 Jahren erfolgreich eingesetzt werden, bildet die weitere Verbesserung ein Schwerpunktthema der Forschungen des Exzellenzclusters *Hearing4all*. So gibt es aktuelle Bestrebungen zur Verbesserung der Eigenschaften des Implantats selbst und der für das Implantat eingesetzten Materialien. Ziel dieser Bestrebungen ist es, nicht nur die grundlegenden Eigenschaften immer weiter zu optimieren, sondern ebenso über neue Konzepte neue Eigenschaften oder gar zusätzliche Funktionalitäten für das Implantat zu generieren. Denkbar ist hierbei beispielsweise die Integration implantat-assoziiertes Wirkstofffreisetzungssysteme. Vor allem für die äußeren Bestandteile des Implantats, die im Körper in direktem Kontakt mit Gewebe und

Körperflüssigkeiten stehen, spielt die Auswahl der verwendeten Materialien eine entscheidende Rolle. Dabei wird versucht, für diese Bestandteile des Implantats die Biokompatibilität und für die Elektrode ihre elektrochemischen Eigenschaften immer weiter zu verbessern. Dies kann über die strukturelle Veränderung der bestehenden Materialien, die Verwendung neuer Materialien für die Elektrodenkontakte oder aber über die Beschichtung der bestehenden Elektrodenkontakte mit bisher nicht verwendeten Materialien realisiert werden. Neben einer Vielzahl anderer Materialien, wie leitfähigen Polymeren, Silizium oder Iridium-Oxid gehören Kohlenstoff-Nanomaterialien zu den Kandidaten, wenn der Einsatz vollständig neuer Materialien für diese Anwendung in Betracht gezogen wird.<sup>5</sup>

Kohlenstoff-Nanoröhren (*engl.: carbon nanotubes*, CNTs) gehören ebenso wie Graphen und Fullerene zu den graphitischen Kohlenstoff-Nanomaterialien und werden seit ihrer im Jahr 1991 veröffentlichten Entdeckung aufgrund ihrer außergewöhnlichen Struktur und ihrer herausragenden Eigenschaften intensiv erforscht.<sup>6</sup> Ihre elektrischen, mechanischen und thermischen Eigenschaften in Kombination mit der stark ausgeprägten chemischen Stabilität machen sie interessant für mikroelektronische, sensorische oder katalytische Anwendungen sowie in mechanisch verstärkten Verbundmaterialien.<sup>7</sup> Dazu gelten sie als vielversprechendes Nanomaterial in der Bio- oder auch Nanomedizin.<sup>8</sup> Insbesondere für den Einsatz von Kohlenstoff-Nanoröhren in Beschichtungen neuronaler Mikroelektroden konnten bereits vielversprechende Ergebnisse in der Literatur gezeigt werden.<sup>9-11</sup> Von entscheidender Bedeutung für alle potenziellen Anwendungsbeispiele von Kohlenstoff-Nanoröhren in der Medizin ist aber die Frage der Biokompatibilität bzw. Toxizität. Bisher führte die Komplexität und Vielfältigkeit der Strukturen und der Eigenschaften von CNTs in den veröffentlichten Studien zu manchmal differierenden Resultaten und teils gegensätzlichen Schlüssen.<sup>12-16</sup>

Nanoporöse Kohlenstoff-Materialien mit geordneter Struktur zeichnen sich durch sehr hohe spezifische Oberflächen, einheitliche Porendurchmesser und hohe Adsorptionskapazitäten aus. Dazu kommen Eigenschaften wie hohe thermische, chemische und mechanische Stabilität.<sup>17,18</sup> Populär ist vor allem ihr Einsatz als Adsorbens für Makromoleküle, als Trägermaterial in der heterogenen Katalyse, aber ebenso in elektrischen Anwendungen wie Superkondensatoren oder Batterien.<sup>19-22</sup> Ein Einsatz von nanoporösem Kohlenstoff in biomedizinischen Anwendungen ist bisher noch nicht so intensiv in den Fokus der Forschung gerückt, wie es bei Kohlenstoff-Nanoröhren der Fall ist. Dennoch gibt es in der Forschung Beispiele für Wirkstoff-Freisetzungssysteme oder biologische Sensoren, bei denen nanoporöse Kohlenstoff-Materialien zum Einsatz kamen.<sup>23,24</sup>

Allerdings gibt es bisher sowohl für Kohlenstoff-Nanoröhren als auch nanoporöse Kohlenstoffe kaum kommerzielle Anwendungen.

Beginnend bei der Auswahl und der Synthese der Materialien müssen mit geeigneten Untersuchungsmethoden sowohl die Struktur, die Zusammensetzung und die Eigenschaften der Kohlenstoff-Materialien detailliert untersucht und charakterisiert werden. Die angestrebte Verwendung der Materialien als Beschichtungen von Edelmetall-Elektroden führt dazu, dass Methoden etabliert werden müssen, die Kohlenstoff-Materialien so zu modifizieren bzw. vorzubereiten, dass aus ihnen Beschichtungen hergestellt werden können. Die Wahl und Entwicklung geeigneter Beschichtungsmethoden wird sowohl von den Materialien der späteren Beschichtungen als auch von den Substratmaterialien, in diesem Fall Edelmetall-Substrate wie Platin oder Gold, beeinflusst. Ziel muss es dabei sein, dass mit der gewählten Beschichtungsmethode größere Anzahlen homogener beschichteter Substrate bei guter Qualität und guter Reproduzierbarkeit hergestellt werden können. Diese Filme müssen hinsichtlich ihrer morphologischen Eigenschaften und vor allem mit Blick auf die potentielle Anwendung hinsichtlich ihrer elektrischen Eigenschaften und ihrer Stabilität untersucht werden.

Ein wichtiger Bestandteil dieser Arbeit besteht darin, die generelle Eignung der Materialien bzw. Beschichtungen für einen Einsatz in einer biomedizinischen Anwendung wie dem Cochlea-Implantat zu untersuchen. Dazu gehört neben der detaillierten Charakterisierung der Kohlenstoff-Nanomaterialien und ihrer Beschichtungen vor allem die Testung im Rahmen von Zellkultur-Untersuchungen, um Aussagen zu ihrer grundlegenden Biokompatibilität treffen zu können. Diese Untersuchungen werden in Zusammenarbeit mit der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde der Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) sowie dem *Institut für Technische Chemie der Leibniz Universität Hannover* durchgeführt.

Insgesamt ergeben sich für diese Arbeit drei Schwerpunkte bzw. Fragestellungen, die es gilt für die beiden verschiedenen Materialien – Kohlenstoff-Nanoröhren und nanoporöser Kohlenstoff – zu bearbeiten: Synthese bzw. Modifizierung und Analyse der Kohlenstoff-Materialien, Herstellung und Charakterisierung der Beschichtungen sowie Untersuchungen zur Biokompatibilität der Beschichtungen. Der Fokus liegt dabei auf dem potentiellen Einsatz für neuronale Mikroelektroden und im Speziellen für die Elektroden des Cochlea-Implantats.



## 2 Grundlagen

Das Kapitel *Grundlagen* dient dazu, einen kurzen Überblick über neuronale Implantate und im Speziellen über das Cochlea-Implantat zu liefern. Das Cochlea-Implantat als erfolgreich eingesetztes neuronales Implantat ist einer der möglichen Anwendungsbereiche der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Elektrodenbeschichtungen auf der Basis verschiedener Kohlenstoff-Nanomaterialien. Im weiteren Verlauf werden diese Kohlenstoff-Nanomaterialien genauer beschrieben und dabei vor allem auf die Struktur, Synthese und die Anwendungsmöglichkeiten dieser Materialien genauer eingegangen.

### 2.1 Neuronale Implantate

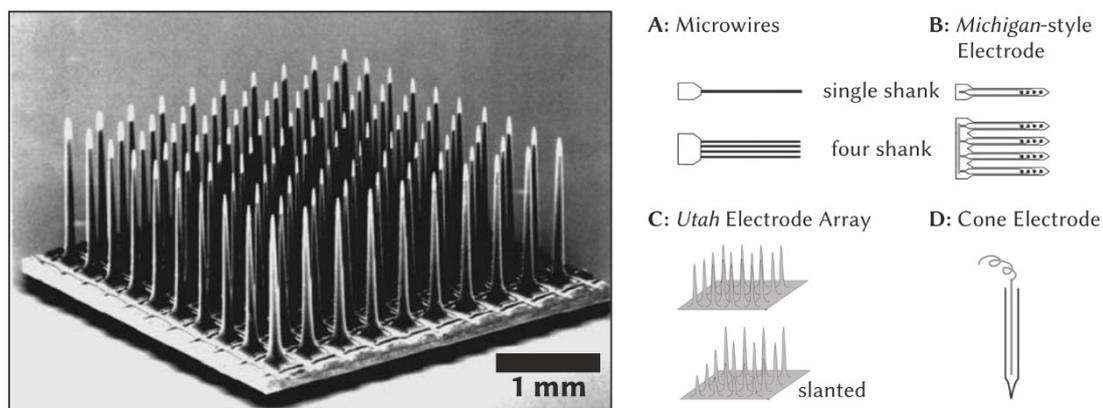
In diesem Abschnitt werden kurz die Grundlagen und einige ausgewählte Beispiele neuronaler Implantate erläutert. Im Detail wird anschließend eines der am erfolgreichsten angewendeten Beispiele neuronaler Implantate und potenzielles Anwendungsgebiet der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Elektrodenbeschichtungen beschrieben: das Cochlea-Implantat (CI). Für das bessere Verständnis der Funktionsweise des CI wird dazu das menschliche Gehör bzw. der Prozess des Hörens erläutert.

Als neuronale Implantate bzw. Neuroprothesen werden im Allgemeinen Schnittstellen zwischen dem Nervensystem und einem elektronischen Bauteil bzw. einer Schaltung bezeichnet. Dabei werden einzelne Mikroelektroden oder auch Multielektroden-Arrays (MEAs) zur Stimulation von Nervengewebe verwendet, um Fehlfunktionen des Nervensystems zu korrigieren oder sogar verloren gegangene Funktionen wiederherzustellen. Genauso existieren Anwendungen, bei denen Elektroden zur reinen Aufzeichnung von Nervensignalen verwendet werden und hierbei ebenfalls als neuronale Schnittstelle dienen.<sup>25,26</sup>

Im Allgemeinen lässt sich die Funktionsweise solcher Elektroden damit beschreiben, dass die Änderung von Ladungspotentialen innerhalb und außerhalb von Zellen in einen Stromfluss umgewandelt wird bzw. umgekehrt. Bei der Aufzeichnung von Signalen, die bei der Anregung von Neuronen (ebenso wie auch von Muskelzellen) hervorgerufen werden, führt der Fluss von Ionen durch Ionenkanäle in den Membranen der Zellen zu einer Potentialänderung (Verschiebung von Ionen als Ladungsträger), die von den Elektroden in einen Stromfluss (Verschiebung von Elektronen als Ladungsträger) umgesetzt werden. Werden die Elektroden zur Stimulation verwendet, führt der Stromfluss

dementsprechend zu einem Ionenfluss im Medium. Die so induzierte Depolarisation kann die Öffnung spannungsaktivierter Ionenkanäle in den Membranen der Zellen auslösen, was eine weitere Verstärkung der Depolarisation bewirkt. Im Falle von Neuronen wird dadurch ein Aktionspotential ausgelöst (bei Muskelzellen dementsprechend eine Kontraktion).<sup>27</sup>

In Abbildung 2.1 ist das *Utah*-Elektroden-Array als eins der bekanntesten Beispiele für ein Multielektroden-Array abgebildet (*links*). Außerdem sind die Designs verschiedener Generationen von Elektroden schematisch dargestellt (*rechts*).



**Abbildung 2.1: Darstellung des Utah-Elektroden-Array (UEA) (*links*) sowie schematische Darstellung verschiedener Generationen von Multielektroden-Technologien (*rechts*).** Das standardmäßige *Utah*-Elektroden-Array besitzt 100 Mikroelektroden in einer 10x10-Anordnung [bearbeitet nach<sup>28</sup>] (*links*). Des Weiteren existieren auch die in der Abbildung dargestellten Elektroden-Designs zur Anwendung in neuronalen Implantaten (*rechts*) [bearbeitet nach<sup>27</sup>]: (A) Mikrodrähte (*engl.: microwires*) und (B) Michigan-Elektroden (*engl.: Michigan-style electrodes*), mit einem bzw. vier Schäften. (C) Das Standard-*Utah*-Elektroden-Array sowie in geneigtem Design (*engl.: slanted*) und (D) Glaskegel-Elektroden (*engl.: (glass) cone electrode*).

Die Anwendung solcher Elektroden ist vor allem in der intrakortikalen Neurostimulation oder aber der Aufnahme von Nervensignalen verbreitet. Sie penetrieren dabei direkt den Cortex und bieten so die Möglichkeit, Aktionspotentiale einzelner oder kleiner Populationen von Neuronen aufzunehmen.<sup>27</sup> Die in Abbildung 2.1 dargestellten unterschiedlichen Typen neuronaler Elektroden unterscheiden sich dabei in ihrer Anzahl einzeln ansteuerbarer Elektroden bzw. der Fähigkeit eine Vielzahl verschiedener Nervensignale getrennt voneinander aufnehmen zu können. Außerdem unterscheiden

sie sich in der lokalen Genauigkeit der Stimulation bzw. Aufnahme in Bezug auf die Eindringtiefe in das Gewebe.<sup>27</sup>

Elektroden dieser Art werden zudem nach Art ihres potenziellen Einsatzgebietes eingeteilt. Dabei wird zwischen *in-vivo* (implantierbar) und *in-vitro* (nicht implantierbar) verwendeten Elektroden bzw. MEAs unterschieden. Im Falle neuronaler Implantate handelt es sich also folglich um *in-vivo* Elektroden. Auf die Vielzahl *in-vitro* verwendeter Elektroden und ihrer Anwendungen wird im Folgenden nicht näher eingegangen.

### 2.1.1 Anwendungsbeispiele neuronaler Implantate

Neuronale Implantate lassen sich allgemein nach ihrem Anwendungsgebiet unterscheiden: motorische und sensorische Neuroprothesen. Im Folgenden werden diese beiden Gruppen neuronaler Implantate erläutert und jeweils aktuelle Anwendungsbeispiele beschrieben. Aufgrund der Vielzahl möglicher Anwendungsgebiete und laufender Forschungsbestrebungen wird in diesem Abschnitt nur eine Auswahl vorgestellt.

#### *Motorische Neuroprothesen*

Motorische Neuroprothesen werden heutzutage bisher vor allem dazu eingesetzt motorische Störungen zu beheben. Ein prominentes Beispiel dafür ist die Tiefen-Hirn-Stimulation (THS). Sie kann dazu dienen, Erkrankungen wie das *Parkinson*-Syndrom, Tremor, Dystonie und das *Tourette*-Syndrom zu behandeln. Bei der THS werden den Patienten in einer minimalinvasiven Operation feine Elektroden in einem definierten Areal des Hirns platziert, um dieses elektrisch stimulieren zu können. Beim Patienten vorherrschende krankhafte Signalveränderungen, welche die normale Hirnfunktion beeinträchtigen, werden so beseitigt und die Beschwerden somit deutlich spürbar verringert. Bei einer solchen Anwendung wird die motorische Neuroprothese auch als Hirnschrittmacher bezeichnet.<sup>29,30</sup>

In einem noch frühen Entwicklungsstadium befinden sich Anwendungen wie *brain-computer interfaces* (BCIs) oder neuronale Implantate zur Steuerung motorischer Prothesen (z.B. Arm- oder Handprothesen). Das grundlegende Design und die Funktionsweise eines solchen BCIs lassen sich wie folgt beschreiben: Signale des Gehirns werden über Elektroden, welche auf der Kopfhaut oder direkt im Gehirn platziert sind, aufgenommen und anschließend auf die spezifischen Merkmale der Signale hin analysiert, die den Willen des Anwenders widerspiegeln. Diese Merkmale werden verarbeitet und in Befehle umgesetzt, die ein technisches Gerät verarbeitet. Dabei kann es sich um ein einfaches Textverarbeitungsprogramm bzw. einen Sprachcomputer, einen Cursor auf

einem Bildschirm oder aber auch um einen Rollstuhl sowie eine Neuroprothese handeln.<sup>31,32</sup>

### *Sensorische Neuroprothesen*

Sensorische Neuroprothesen werden dazu eingesetzt physikalische Reize (z.B. Schall, Licht etc.) in Signale umzusetzen, die neuronal verwertet werden können. Dies dient dazu eingeschränkte oder gar verloren gegangene Sinnesfunktionen (z.B. Hören, Sehen) zu verbessern, wiederherzustellen oder komplett zu ersetzen. Es gibt aber ebenso Implantate, die zur Behebung von sensorischen Störungen eingesetzt werden und somit auch zu den sensorischen Neuroprothesen gezählt werden. Dazu gehören Implantate zur Schmerzunterdrückung und auch zur Wiederherstellung des Gleichgewichts.<sup>26</sup>

Aufgrund des möglichen Anwendungsfeldes, der in dieser Arbeit hergestellten Elektrodenbeschichtungen wird im Folgenden vor allem auf die neuronalen Implantate zur Wiederherstellung der akustischen Wahrnehmung und im Speziellen das Cochlea-Implantat eingegangen. Anwendungsgebiete und Arten weiterer sensorischer Neuroprothesen werden jeweils nur kurz beschrieben.

Implantate zur Schmerzunterdrückung (*auch*: Schmerzschrittmacher) können bei chronischen Schmerzen eingesetzt werden, die durch Neuropathie des Rückenmarks oder peripher sensibler Nerven hervorgerufen werden. Wenn diese Schmerzen weder medikamentös noch operativ behoben werden können, ist es möglich das Schmerzempfinden durch die Überstimulation von Nervenfasern zu unterdrücken. Die Nervenfasern werden somit blockiert und können keine Impulse weiterleiten. Häufigstes Beispiel für ein solches Implantat sind Rückenmarks-Stimulatoren, bei denen stabförmige Elektroden in den Rückenmarksraum geschoben werden und die Sendequelle der Elektroden unter der Haut implantiert wird (*siehe*: Abbildung 2.2). Über eine externe Steuereinheit kann der Patient den Grad der Stimulation selbstständig variieren. Diese Behandlungsmethode zur Schmerzbehandlung wird schon lange Zeit und relativ häufig verwendet (bereits seit 30 Jahren mit weltweit jährlich etwa 14.000 neuronalen Implantate, Stand: 2006)<sup>26,33</sup>. Es gibt jedoch wenige Bestrebungen zur Weiterentwicklung und kaum systematische Studien zur klinischen Wirksamkeit.<sup>26,33</sup>



**Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der Rückenmarks-Stimulation (*links*) sowie Darstellung des Implantats zur Neurostimulation (*rechts*).** Ein implantierbarer Neurostimulator (*rechts*) sendet über eine dünne Elektrode schwache elektrische Signale an die Nerven nahe des Rückenmarks (*links*).<sup>34</sup>

Implantate zur Wiederherstellung des Gleichgewichtssinns sind noch in einer sehr frühen Phase der Erforschung. Es gibt erste teilweise erfolgreiche Tierversuche, jedoch bisher noch keine zugelassenen klinischen Studien am Menschen. Eine Idee ist es, ein künstliches Gleichgewichtsorgan zu implantieren, bei dem auf einem Silicium-Chip insgesamt sechs Sensoren integriert sind. Jeweils drei dieser Sensoren registrieren die Drehungen bzw. die Beschleunigungen in allen drei Raumrichtungen. Diese Daten sollen umgewandelt und direkt an den Gleichgewichtsnerv mittels elektrischer Impulse übertragen werden.<sup>26</sup>

Aktueller hingegen sind Bestrebungen über neuronale Implantate die optische Wahrnehmung wiederherzustellen. Dabei gibt es zwei unterschiedliche Ansätze – zum einen die Kortikal-Implantate zur direkten Stimulation des Gehirns und zum anderen Retina-Implantate, bei denen die Netzhaut stimuliert werden soll. Beim Retina-Implantat wird mit Hilfe einer Kamera, die zum Beispiel in das Gestell einer Brille integriert werden kann, ein Videosignal der Umgebung aufgenommen. Dieses Signal wird zu einer Stimulationssequenz verarbeitet, in ein Radiofrequenzsignal umgewandelt und drahtlos an eine Empfangseinheit weitergeleitet, die direkt im Augapfel des Patienten eingesetzt wurde. Diese Einheit dekodiert das Signal und leitet es über ein Mikrokabel direkt an die Stimulationseinheit – ein Mikroelektroden-Array direkt auf der Retina. Hierüber wird die Retina mit elektrischen Pulsen stimuliert. Kortikal-Implantate funktionieren nach einem vergleichbaren Prinzip. Jedoch wird hier die Empfangseinheit in den Schädel des Patienten implantiert, ein Mikroelektroden-Array in bzw. auf dem visuellen Kortex platziert und dieser direkt mit elektrischen Pulsen stimuliert. Somit sind beide Implantate

theoretisch in der Lage die verlorengegangene Sehfähigkeit eines Patienten wiederherzustellen. Die Stimulation erfolgt an jeweils unterschiedlichen Abschnitten der Signalweiterleitung der visuellen Wahrnehmung. Somit hängt ein Einsatz von der jeweiligen Art der Schädigung des Patienten ab, die zum Verlust der Sehfähigkeit geführt hat. In diesen beiden Fällen wird unterschieden, ob eine Schädigung der Netzhaut oder des Sehnervs vorliegt.<sup>35,36</sup> Hierbei lassen sich Analogien zu den unterschiedlichen Funktionsweisen der verschiedenen neuronalen Gehörimplantate ziehen, die in den folgenden Absätzen beschrieben werden. Welches Implantat zur Herstellung der akustischen Wahrnehmung eingesetzt werden kann, hängt auch in diesen Fällen von der Art der Schädigung ab, die beim Patienten zum Verlust des Hörvermögens geführt hat.

Im Gegensatz zu Implantaten zur Wiederherstellung der optischen Wahrnehmung sind neuronale Gehörimplantate verhältnismäßig weit verbreitet. Neben intensiven klinischen Studien über sie gibt es einige Vertreter, die Patienten bereits in großer Zahl erfolgreich und standardmäßig implantiert werden. Ein prominentes und erfolgreich eingesetztes neuronales Implantat und Beispiel für eine sensorische Neuroprothese zur Wiederherstellung der akustischen Wahrnehmung ist das Cochlea-Implantat (CI). In Deutschland werden jährlich ca. 3.000 Patienten mit Cochlea-Implantat-Systemen versorgt und insgesamt hören bereits etwa 25.000 bis 30.000 Menschen in Deutschland mit Hilfe eines CI (Stand: 2013)<sup>37</sup>. Es wird mittlerweile seit über 30 Jahren standardmäßig implantiert.<sup>5</sup> Patienten, deren Taubheit oder Schwerhörigkeit durch ein Fehlen oder eine Schädigung der Sinneszellen (Haarzellen) im Innenohr hervorgerufen wird, können mit dieser Art Implantat behandelt werden. Dabei werden die Nervenzellen des Innenohrs mit Hilfe von Elektroden, die direkt ins Innenohr eingesetzt werden, durch elektrische Impulse stimuliert, wodurch für die Patienten ein Höreindruck entsteht. Der Aufbau und die Funktionsweise des CI werden aufgrund der Relevanz für diese Arbeit in einem gesonderten Kapitel detailliert beschrieben (s. u. Kapitel 2.1.3).

Zu den weiteren neuronalen Implantaten, die zur Wiederherstellung der akustischen Wahrnehmung eingesetzt werden können, zählt das auditorische Hirnstamm-Implantat (ABI, engl.: *auditory brainstem implant*). Es kann als ein modifiziertes Cochlea-Implantat angesehen werden. Im Gegensatz zum CI wird jedoch die Stimulation nicht im Innenohr durchgeführt, sondern es wird der Hirnstamm bzw. der erste Hörkern (*nucleus cochlearis*) im Hirnstamm elektrisch stimuliert. Diese Art der Stimulation wird bei Patienten verwendet, die durch eine Schädigung des Hörnervs ihr Hörvermögen verloren haben. Eine erste klinische Implantation wurde bereits 1979 durchgeführt. Verstärkt eingesetzt wurde das ABI jedoch erst seit den 90er Jahren. Im Jahr 2009 waren es etwa 1.100 Patienten weltweit, die ein ABI trugen.<sup>38</sup>



**Abbildung 2.3: Aufbau des auditorischen Hirnstamm-Implantats (ABI, engl.: *auditory brain-stem implant*).** Es sind die einzelnen Bestandteile des ABI dargestellt: Sprachprozessor und Sendespule sowie das eigentliche Implantat mit der Empfängerspule und dem Elektrodenarray (*links*)<sup>39</sup>. Der Aufbau ist, bis auf das Elektrodenarray, analog zu dem des Cochlea-Implantats (vergleiche Abbildung 2.8). Das Elektrodenarray besteht aus zwölf aktiven Elektroden und einer Referenzelektrode, außerdem ist ein Polyester-Netz an dem Array angebracht (*rechts*).<sup>40</sup>

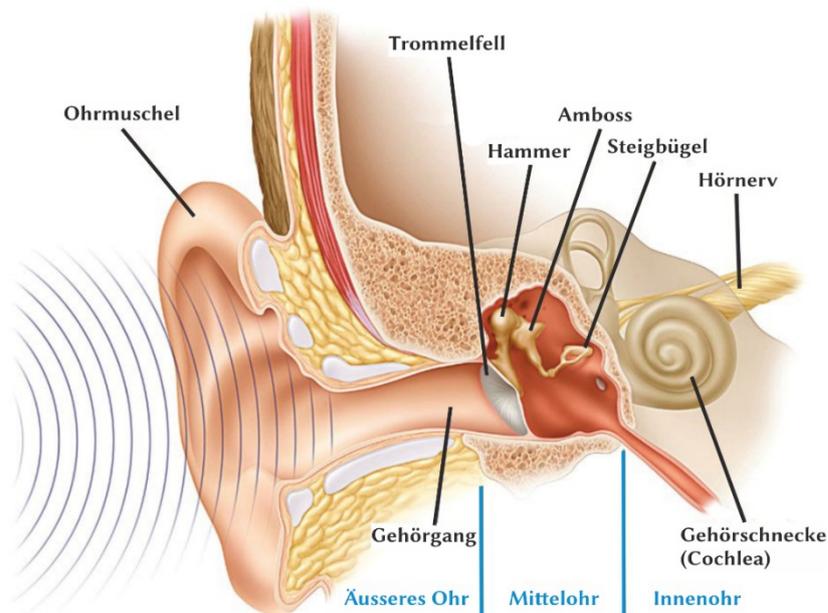
In Abbildung 2.3 ist der Aufbau des ABI mit dem Sprachprozessor sowie dem internen Implantat dargestellt, der deutlich dem Aufbau des CI ähnelt (vergleiche mit dem Aufbau des Cochlea-Implantats in Abbildung 2.8 weiter unten). Lediglich die verwendete Elektrode zeigt deutliche Unterschiede.<sup>26</sup>

Ein verhältnismäßig neues Hörimplantat ist die Hörprothese zur Stimulation des Mittelhirns (AMI, engl.: *auditory midbrain implant*). Bei diesem Implantat wird analog zur Tiefen-Hirn-Stimulation und im Gegensatz zum ABI eine tieferliegende Hirnregion elektrisch stimuliert. In diesem Fall wird der *inferior colliculus* stimuliert. Dieser ist im Vergleich zum *nucleus cochlearis* ein auf der Hörbahn höher gelegener Topos und der zentrale Teil des auditorischen Systems. Bei dieser Technik werden stabförmige Multielektroden-Arrays mit etwa 20 Ring-Elektroden aus Platin verwendet (die Anzahl kann je nach Hersteller variieren). Sie ähneln den Elektroden, welche beim ABI verwendet werden, sind jedoch deutlich kleiner und haben im Allgemeinen deutlich mehr Elektrodenkontakte. Bei der Implantation wird das Elektroden-Array direkt im Gehirn entlang des *inferior colliculus* positioniert. Aktuell wird dieses Implantat noch nicht standardmäßig Patienten implantiert, sondern ist auf dem Stand intensiver klinischer Studien und

befindet sich in der Entwicklungsphase. Dabei stellt der operative Zugang bzw. die korrekte und einheitliche Platzierung der Elektrode aktuell noch eine der größten Herausforderungen dar.<sup>38</sup>

### 2.1.2 Das menschliche Gehör

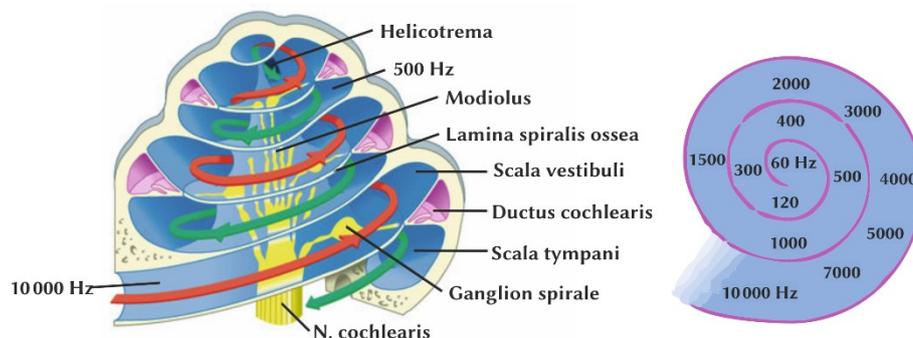
Um die Funktion des später im Detail beschriebenen Cochlea-Implantats besser verstehen zu können, wird in diesem Abschnitt der normale Hörvorgang genauer betrachtet. Der Vorgang des Hörens lässt sich grob in vier Abschnitte unterteilen: den *Schallantransport* über das äußere Ohr und das Mittelohr, die *Schalltransformation* in der Cochlea, die *Reizfortleitung* in den Nerven und die *Reizverarbeitung* in der zentralen Hörbahn. Für den Bezug zum Cochlea-Implantat wird detaillierter auf die *Schalltransformation* im Innenohr eingegangen.



**Abbildung 2.4: Schematische Übersicht über das Hörsystem.** Das äußere Ohr mit der Ohrmuschel dient zur Schallaufnahme. Im Mittelohr werden die Schallwellen durch das Trommelfell und die Gehörknöchel in mechanische Schwingungen umgewandelt. Im Innenohr sitzt das eigentliche Hörsinnesorgan in der Cochlea [bearbeitet nach<sup>41</sup>].

Schallwellen, also mechanische Schwingungen, im Frequenzbereich von etwa 16 bis 20.000 Hz sind in der Lage das menschliche Hörorgan zu reizen. Über das äußere Ohr (Ohrmuschel und Gehörgang) gelangen diese Schallwellen zum Trommelfell, welches in Schwingungen versetzt wird (*siehe*: Abbildung 2.4). Die drei Gehörknöchelchen des Mittelohres übertragen diese Schwingungen in das flüssigkeitsgefüllte Innenohr. Dieser Vorgang wird auch als *Schallantransport* bezeichnet.

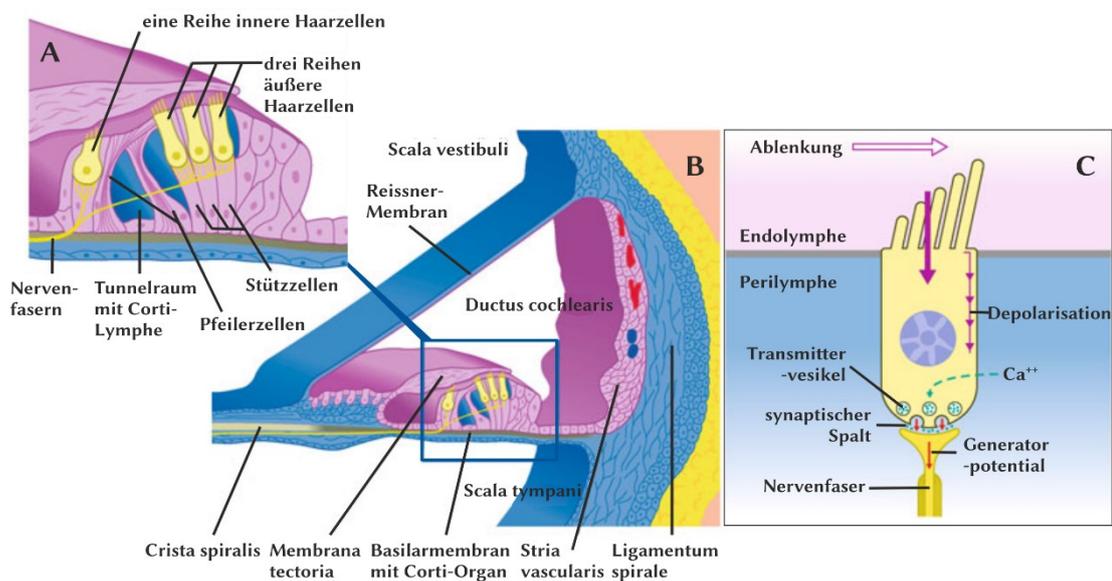
In der Cochlea erfolgt nun die *Schalltransformation*. Dort entsteht eine sogenannte Wanderwelle, die sich entlang der Windungen der Schnecke ausbreitet (*siehe*: Abbildung 2.5). An einem frequenzspezifischen Ort entlang der Basilarmembran wird ein Amplitudenmaximum ausgebildet und die elastische Membran dadurch verformt und ausgelenkt. Hierbei kommt es zu einer Dispersion, also der räumlichen Trennung nach Frequenzen. Jede Frequenz wird an einer bestimmten Stelle der Basilarmembran entlang der Schnecke durch ein Amplitudenmaximum der Wanderwelle abgebildet; dies wird auch als tonotope Organisation der Cochlea bezeichnet. Ermöglicht wird dies dadurch, dass die Breite der Basilarmembran zunimmt, ihre Elastizität sich verändert und der Durchmesser des knöchernen Kanals abnimmt. Somit wächst die Amplitude der Wanderwelle bis zu einer bestimmten Stelle mit maximaler Auslenkung an und fällt danach schnell zusammen.



**Abbildung 2.5: Schematische Darstellungen der Gehörschnecke.** Links ist schematisch der Querschnitt durch die Gehörschnecke in Richtung der Schneckenachse (Modiolus) mit Verlaufsrichtung der Perilymphe (*roter Pfeil*: aufwärts, gegen den Uhrzeigersinn; *grüner Pfeil*: abwärts, mit dem Uhrzeigersinn) dargestellt [bearbeitet nach<sup>3</sup>]. Rechts ist eine tonotopische Abbildung der Frequenzen auf der Basilarmembran gezeigt [erstellt nach<sup>3</sup>].

Die Auslenkung der Basilmembran führt zu einer Erregung der Hörsinneszellen, den sogenannten Haarzellen. Die Erregung der Haarzellen durch hohe Frequenzen erfolgt am Eingang der Cochlea bzw. der Schneckenbasis, durch niedrigere Frequenzen an der Schneckenspitze (siehe: Abbildung 2.5).

Wie in Abbildung 2.6 dargestellt, liegen die drei Reihen äußerer und die eine Reihe innerer Haarzellen im Corti-Organ im *ductus cochlearis*. Dieser liegt zwischen den beiden Gängen der Cochlea, die *scala tympani* abgetrennt durch die Basilmembran und die *scala vestibuli* durch die Reissner-Membran.



**Abbildung 2.6: Schematische Darstellungen des Corti-Organs (A) als Ausschnitt aus dem Ductus cochlearis (B) sowie des Erregungsvorgangs innerhalb der Haarzelle (C).** Die Hörsinneszellen, Haarzellen, sind in Gelb dargestellt und befinden sich im Corti-Organ (A) innerhalb des *ductus cochlearis* (B) zwischen der *scala vestibuli* und *scala tympani*. Die mechanische Ablenkung der Sinneshärchen der Haarzellen löst eine Signalkaskade innerhalb der Haarzelle aus und führt zu einem Aktionspotential in den Nervenfasern (C). [bearbeitet nach<sup>3</sup>]

Durch Auslenkung der Basilmembran kommt es zur Verschiebung der *membrana tectoria*. Dadurch wirken Scherkräfte, die die Sinneshärchen der Haarzellen in tangentialer Richtung verschieben (siehe: Abbildung 2.6 C). Diese Ablenkung dient als Reiz und führt zur Öffnung von Ionenkanälen in die Haarzellen. Durch das Einströmen von

Kalium-Ionen aus der Endolymphe kommt es zu einer Depolarisation an der Zellmembran der Haarzelle und es strömen sofort Calcium-Ionen aus der Perilymphe bzw. Cortilymphe ein. Dadurch kommt es zur Entleerung von Transmittervesikeln in den synaptischen Spalt und es baut sich ein postsynaptisches Generatorpotential aus. Wird ein bestimmter Wert überschritten, löst dies ein Aktionspotential in der Nervenfasern aus. Die Haarzellen wandeln somit die mechanische Schwingungsenergie zunächst in ein chemisches Signal und anschließend in elektrische Energie um, was als *mechanoelektrische Transduktion* bezeichnet wird.

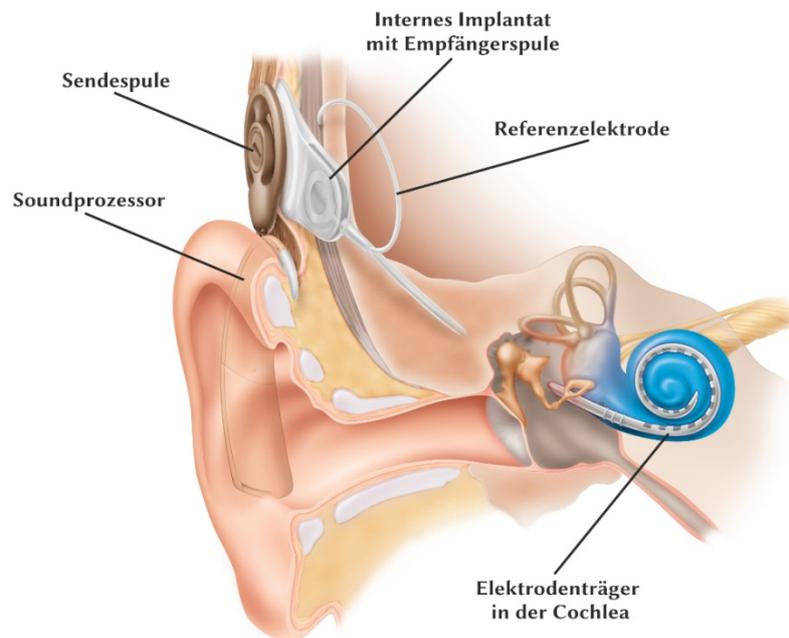
Für die Übermittlung der Sinnesinformation sind vor allem die inneren Haarzellen zuständig. Die äußeren Haarzellen haben die zusätzliche Funktion eines cochleären Verstärkers. Sie sind in der Lage durch aktive Kontraktion ihres Aktinfilament-Skeletts die Amplitude der Wanderwelle zu verstärken und benachbarte Abschnitte der Basilarmembran zu dämpfen. Dieser Prozess wird als *elektromechanische Transduktion* bezeichnet. Es erhöht die Empfindlichkeit und das Frequenzauflösungsvermögen des Gehörs erheblich. Die *Reizfortleitung* erfolgt dann über die Nervenfasern und die *Reizverarbeitung* in der zentralen Hörbahn.

### 2.1.3 Das Cochlea-Implantat

Wie bereits beschrieben, ist das Cochlea-Implantat ein besonders populäres neuronales Implantat und eine therapeutisch erfolgreich eingesetzte sensorische Neuroprothese. Es handelt sich um eine elektronische Hörprothese, welche bei ausgefallener Innenohrfunktion eines Patienten als funktioneller Ersatz der Sinneszellen dienen kann. Dabei werden die Nervenzellen direkt in der Hörschnecke stimuliert.

#### *Aufbau des Cochlea-Implantats*

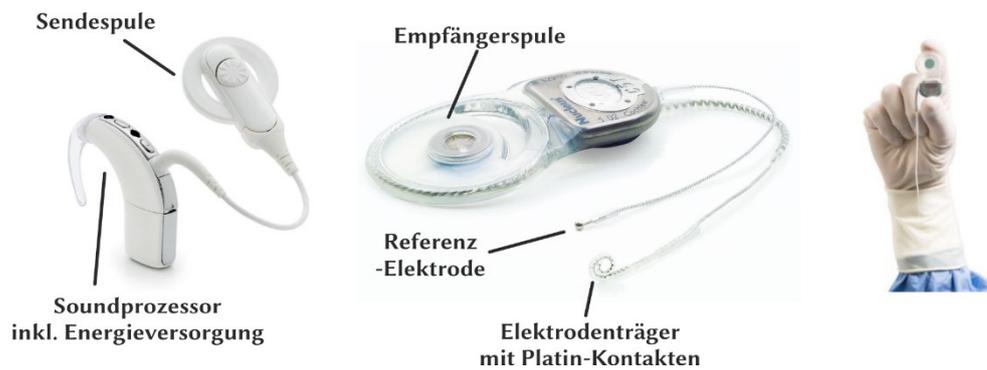
Wie in Abbildung 2.7 dargestellt, ist das Cochlea-Implantat grundlegend aus zwei Teilen aufgebaut: dem externen Teil, welcher aus dem Soundprozessor und der Sendespule besteht, und dem eigentlichen Implantat mit der Empfängerspule sowie der in die Cochlea eingesetzten und im Elektrodenträger eingebetteten Elektrode mit ihren einzelnen Stimulationskontakten.<sup>3,4</sup>



**Abbildung 2.7: Schematische Darstellung des Aufbaus des Ohres mit eingesetztem Cochlea-Implantat.** Der externe Teil des Implantats besteht aus Soundprozessor und Sendespule. Der interne Teil, das eigentliche Implantat, ist in den Schädelknochen des Patienten eingesetzt, wobei der Elektrodoträger direkt in der Cochlea sitzt. [bearbeitet nach<sup>42</sup>]

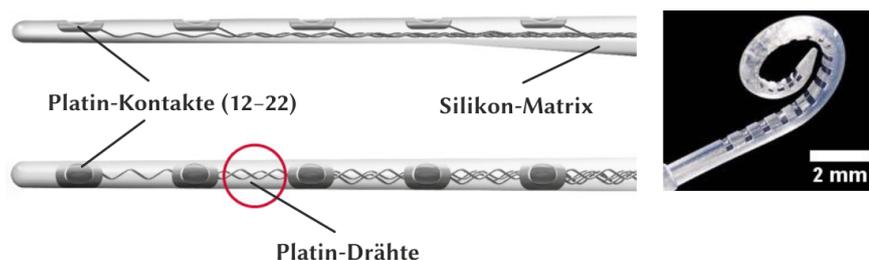
Der Soundprozessor enthält ein Mikrofon zur Schallaufnahme. Die auditorische Information wird in eine vorgegebene Abfolge von elektrischen Impulsen umgesetzt. Im seitlich am Kopf hinter dem Ohr mittels Magneten befestigten Teil des Cochlea-Implantats sitzt die Sendespule, über die mit Hilfe von Radiowellen diese Signale transkutan an den internen Teil des Implantats übertragen werden. Außerdem sitzt im externen Teil des Implantats eine Batterie als Energieversorgung, wobei die Energie mittels Induktion ebenfalls transkutan an den internen Teil des Implantats übertragen wird.

Das eigentliche Implantat, welches in ein ausgebohrtes Knochenbett hinter dem Mastoid unter der Haut eingepflanzt wird, empfängt die Signale des Soundprozessors mit Hilfe der Empfängerspule. Sie werden dekodiert und an die einzelnen Elektroden in der Cochlea geleitet. Der Elektrodoträger wird durch die Mastoidhöhle und über das runde Fenster in die *scala tympani* bzw. die basale Schneckenwindung der Cochlea eingeführt. Das Gehäuse des internen Implantats besteht meist aus Titan, ist jedoch häufig zusätzlich mit Silikon ummantelt.



**Abbildung 2.8: Darstellung der einzelnen Bestandteile des Cochlea-Implantats.** Der externe Teil, welcher hinter dem Ohr und außen am Kopf getragen wird, besteht aus Soundprozessor und Sendespule (*links*)<sup>43</sup>. Das eigentliche Implantat mit der Empfängerspule wird in ein Knochenbett im Schädel des Patienten eingesetzt. Der Elektrodenträger mit den für die Stimulation verwendeten Platin-Kontakten in die Cochlea eingeführt (*mittig*)<sup>44</sup>. Als Größenvergleich ist der interne Teil des Implantats in einer menschlichen Hand dargestellt (*rechts*)<sup>45</sup>.

Der Aufbau des Elektrodenträgers ist schematisch in Abbildung 2.9 dargestellt. Er besteht aus etwa 12 bis 22 einzelnen Platin-Kontakten. Die Anzahl der Elektroden variiert je nach Hersteller, unterschiedlichen Ausführungen und Größe des Cochlea-Implantats. Jeder einzelne Platin-Kontakt ist über einen Platin-Draht mit dem Implantat verbunden. Der gesamte Elektrodenträger ist umhüllt von einer Silikon-Matrix, so dass nur die einzelnen Platin-Kontakte freiliegen.<sup>5,46</sup>



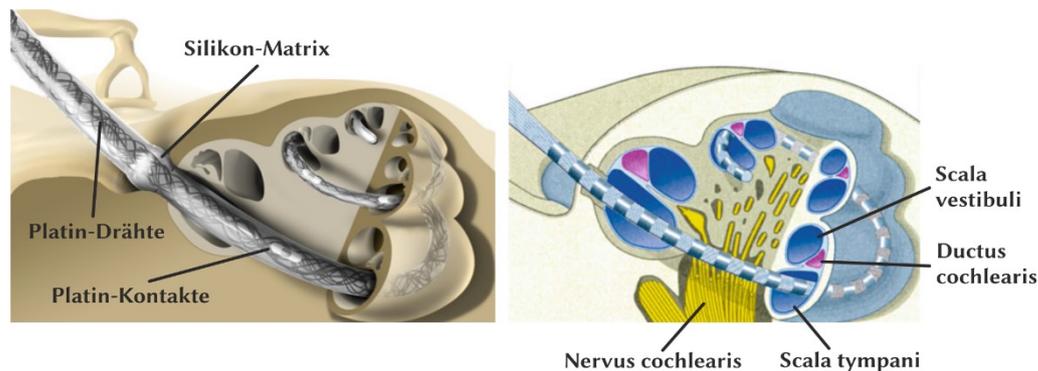
**Abbildung 2.9: Darstellung des Elektrodenträgers des Cochlea-Implantats.** Schematischer Aufbau des Elektrodenträgers des Cochlea-Implantats (*links*) [bearbeitet nach<sup>47</sup>] sowie fotografische Aufnahme mit Größenskala (*rechts*) [bearbeitet nach<sup>48</sup>].

Silikon wird als Material für die Ummantelung der Drähte und Elektroden vor allem deswegen verwendet, weil es die nötige Flexibilität bietet, um den Elektrodenträger über das runde Fenster einzuführen und die Windungen bzw. Krümmung der Cochlea nachzuempfinden (*siehe: rechts* in Abbildung 2.9). Außerdem findet es bereits seit 60 Jahren als Material in der Medizin Anwendung und weist eine exzellente Biokompatibilität auf. Teilweise werden vorgeformte Elektroden verwendet, um den Abstand zwischen den Kontakten und den Nervenzellen im Modiolus zu verringern. Gleichzeitig bietet Silikon aber die nötige Steifigkeit um sicherzustellen, dass der Elektrodenträger sicher und reproduzierbar in der Cochlea positioniert und ohne Traumata eingeführt werden kann.<sup>5</sup> Jedoch wird die Gesamtsteifigkeit der Elektrode weniger durch das Material der Ummantelung, sondern größtenteils durch die innenliegenden Platin-Drähte bestimmt. Vor allem ihre geometrische Konfiguration hat Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften der Elektrode.<sup>5</sup>

Platin als Kontaktmaterial bei elektrischer Stimulation findet Anwendung, da es wie andere Edelmetalle eine sehr geringe Reaktivität und hohe Korrosionsbeständigkeit aufweist. Es weist außerdem eine hohe Verträglichkeit im Kontakt mit menschlichem Gewebe auf und ist im Vergleich zu beispielsweise Iridium relativ weich und lässt sich dadurch besser verarbeiten. Aus diesen Gründen stellt Platin bis heute weiterhin das beste aktuell verfügbare Elektrodenmaterial dar.

### *Funktionsweise des Cochlea-Implantats*

Die einzelnen Elektrodenkontakte des Cochlea-Implantats liegen, wie in der Abbildung 2.7 weiter oben und hier in Abbildung 2.10 schematisch dargestellt, unterschiedlich tief in der *scala tympani* der Cochlea.



**Abbildung 2.10: Zwei schematische Darstellungen der intracochleären Lage des Elektrodenträgers in der *scala tympani*.** In der drei-dimensionalen Darstellung der Cochlea sind der Aufbau des Elektrodenträgers mit der Silikon-Matrix, den Platin-Drähten und -Kontakten sowie die Windungen der Cochlea mit ihren Kammern und die Ansätze der Gehörknöchelchen des Mittelohres zu sehen (*links*)<sup>47</sup>. In der Zeichnung der Cochlea ist zusätzlich die Lage des Hörnervs dargestellt und die einzelnen Bereiche der Cochlea sind farblich hervorgehoben (*rechts*) [bearbeitet nach<sup>3</sup>].

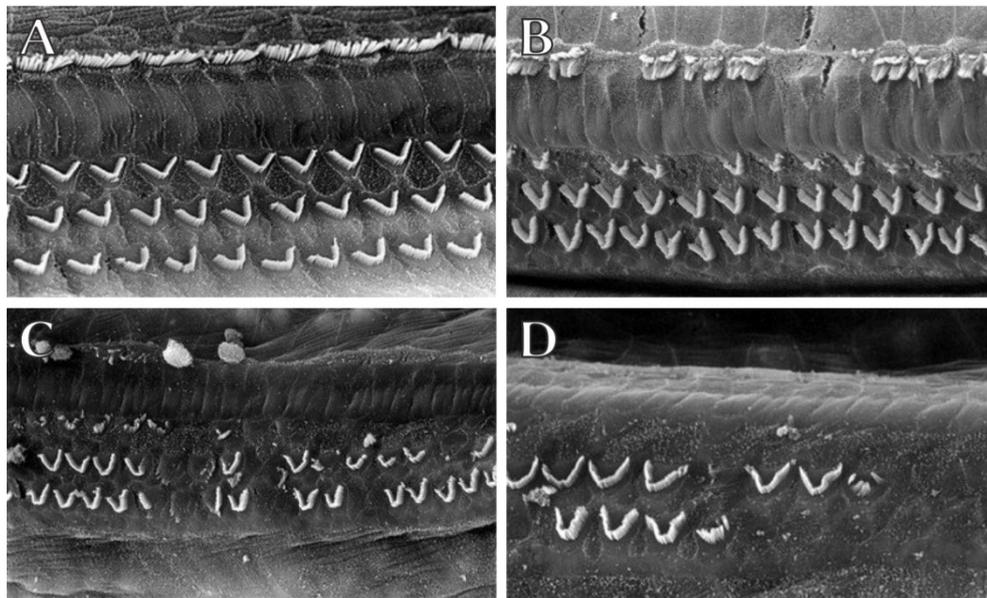
Dadurch ist es möglich, verschiedene Abschnitte der Basilarmembran und die dazugehörigen Ganglienzellen des Hörnervs mit Hilfe elektrischer Pulse zu reizen. Dies folgt dem Prinzip der tonotopen Reizung, um die Frequenz-Orts-Transformation bei normaler Funktion des intakten Innenohres nachzubilden, wie es in Abschnitt 2.1.2 und Abbildung 2.5 erläutert wurde. Zusätzlich kann über die Variation der Reizrate an den einzelnen Elektroden die zeitliche Struktur der akustischen Informationen weitergeleitet werden.

#### *Pathophysiologie des Innenohres*

Im Gegensatz zu konventionellen Hörgeräten können Cochlea-Implantate auch ohne Resthörvermögen eingesetzt werden. Sie finden vor allem bei ein- oder beidseitiger cochleärer bzw. innenohrbedingter Taubheit Anwendung. Dabei liegt bei den meisten Patienten eine Schädigung der Hörsinneszellen, den Haarzellen, vor. Es handelt sich somit um eine sensorische Taubheit oder auch Schallempfindungsschwerhörigkeit.

Voraussetzung hierfür ist jedoch, dass sowohl der Hörnerv als auch die zentrale Hörbahn des Patienten intakt sind. Sind hingegen die Hörnerven zerstört und handelt es sich somit um einen neuralen Hörverlust, können andere Implantate das Hörvermögen wiederherstellen (*siehe*: auch Abschnitt 2.1.1), z.B. das auditorische Hirnstammimplantat (ABI) oder das Mittelhirnimplantat (AMI).

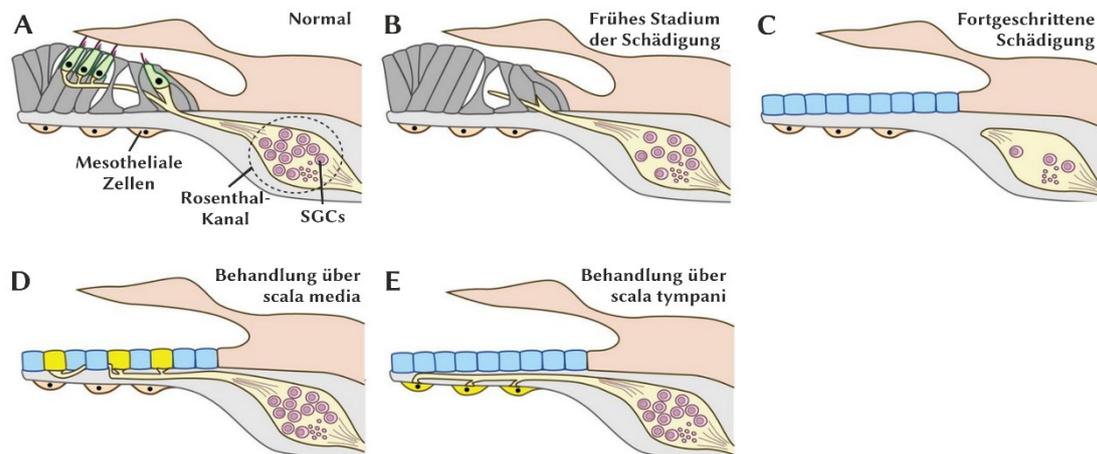
Es gibt unterschiedliche Grade, nach denen die Schädigung der Haarzellen klassifiziert werden kann. In Abbildung 2.11 sind rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen aus dem Inneren der Cochlea einer Ratte dargestellt. Hier sind zum einen der Zustand in der gesunden Cochlea mit intakten Haarzellen und zum anderen die verschiedenen Grade der Schädigung des Innenohres zu sehen. Im Normalzustand, einer gesunden Cochlea, sind eine Reihe innerer Haarzellen (IHCs) und drei Reihen äußerer Haarzellen (OHCs) zu erkennen (*siehe: A in Abbildung 2.11*).



**Abbildung 2.11: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen aus dem Inneren der Cochlea einer Ratte zur Darstellung der Auswirkungen von Schalltraumata auf die Haarzellen in der Cochlea.** Zu sehen sind der Normalzustand in der gesunden Cochlea (A) sowie die Auswirkungen bzw. Schädigungen von Schalltraumata verschiedenen Grades (B bis D) [bearbeitet nach<sup>49</sup>].

Bei einem Schalltrauma der Stufe 1 sind einige IHCs und einige OHCs der ersten Reihe bereits verschwunden (B). Höhere Schallintensitäten führen zu einem Schalltrauma der Stufe 2, bei dem die IHCs vollständig verschwunden sind. Die OHCs der ersten Reihe sind ebenso nahezu vollständig verschwunden und zusätzlich sind Schäden in der zweiten und dritten Reihe aufgetreten (C). Bei einer weiteren Erhöhung des Lärmpegels und einem Trauma der Stufe 3 verbleiben in den Frequenz-Regionen des dazugehörigen Geräusches nur wenige OHCs (D).

Im Normalzustand sind die inneren und äußeren Haarzellen über die peripheren Nervenfasern innerviert, die von den Spiral-Ganglion-Zellen (SGCs) im Rosenthal-Kanal ausgehen (*siehe: A* in Abbildung 2.12).



**Abbildung 2.12: Schematische Darstellung des auditorischen Sinnesepithels und des Hörnervs im Normalzustand im Vergleich zum Zustand im ertaubten Corti-Organ (A bis C).** Außerdem ist die Wirkung einer Behandlung mit einem Neurotrophin über die *scala media* (D) oder *scala tympani* (E) dargestellt [bearbeitet nach<sup>50</sup>].

Mit dem Verlust der Haarzellen geht eine Rückbildung der Nervenfasern einher, da sie ihr Ziel verlieren (*siehe: B*). Außerdem bilden die Stützzellen erstes Narbengewebe. Ein Verlust erster Spiral-Ganglion-Zellen setzt ebenso ein. Bei einem extrem schweren Grad der Schädigung ist das gesamte Corti-Organ durch eine einzelne Schicht kubischer Epithel-Zellen ersetzt. In einem solchen Fall haben sich die peripheren Nervenfasern meist vollständig zurückgebildet und es ist ein beträchtlicher Teil der SGCs abgestorben (*siehe: C*).<sup>50</sup>

In der Literatur werden unter anderem zwei Ansätze beschrieben, um den Prozess der Rückbildung der peripheren Nervenfasern und den Verlust der Spiral-Ganglion-Zellen einzudämmen bzw. sogar umzukehren. Sie sind beide ebenfalls schematisch in Abbildung 2.12 (D und E) dargestellt. Die Grundidee ist eine lokale Behandlung mit viralen Vektoren direkt im Innenohr, wodurch Zellen des Corti-Organs zur Ausschüttung von Neurotrophinen angeregt werden. Die Nervenfasern sollen nun in Richtung der Quelle der Neurotrophin-Ausschüttung, den durch den Einfluss der viralen Vektoren

transduzierten Zellen (*gelb* markiert in *D* und *E* in Abbildung 2.12), wachsen. Zusätzlich soll auch das Überleben der SGCs verbessert werden. Erfolgt die Behandlung über die *scala media* kommt es zur Ausschüttung von Neurotrophinen über Zellen des flachen Epithels, die Nervenfasern wachsen dementsprechend in Richtung dieser Zellen (*siehe: D*). Bei einer Behandlung über die *scala tympani* sollen die mesothelialen Zellen transduziert werden und Neurotrophine exprimieren. Die Nervenfasern würden zu diesen Zellen und demnach zur Basilarmembran wachsen.<sup>50</sup>

Es gibt jedoch auch Überlegungen und Versuche Neurotrophine oder andere Wirkstoffe direkt im Innenohr freizusetzen und nicht über transduzierte Zellen. Auch in dem Fall erhofft man sich neuroprotektive (verbessertes Überleben des SGCs) und regenerative Wirkungen (gesteigerte und gegebenenfalls gerichtete Aussprossung neuer Nervenfasern).<sup>51-53</sup>

### *Bestrebungen zur Verbesserung der Elektroden des Cochlea-Implantats*

Trotz der Tatsache, dass das Cochlea-Implantat und auch im Speziellen die verwendeten Elektroden bereits seit mehr als 35 Jahren erfolgreich eingesetzt werden, gibt es weiterhin fortlaufende und aktuelle Bestrebungen zur Verbesserung der Eigenschaften des Implantats selbst und der für das Implantat eingesetzten Materialien.<sup>5</sup>

Um die dauerhafte Funktionstüchtigkeit des Innenohrimplantats zu gewährleisten, müssen nach *Ernst Lehnhardt* grundsätzlich folgende klinische Voraussetzungen gegeben sein:<sup>5,54</sup>

- Die verwendeten Materialien müssen vom Organismus toleriert werden.
- Das Einführen des Elektrodenträgers sollte keinen zusätzlichen Schaden verursachen.
- Die chirurgische Technik sollte so wenig invasiv wie möglich sein.
- Die elektrische Stimulation des Hörnervs muss effizient und dauerhaft nicht-schädigend sein.
- Es sollte ein möglichst geringes Risiko bestehen, dass im späteren Verlauf durch das Implantat Infektionen über das Mittelohr in die flüssigkeitsgefüllten Räume des Innenohres gelangen können.

Diese Punkte führen dazu, dass an die Materialien, welche im Cochlea-Implantat eingesetzt werden, besondere Anforderungen bezüglich ihrer mechanischen und elektrischen Eigenschaften sowie ihrer Biokompatibilität und ihrer Langzeitstabilität gestellt werden müssen.<sup>5</sup>

Bei den aktuellen Bestrebungen liegt hierbei für die Elektroden des Cochlea-Implantats der Fokus hauptsächlich auf der Verbesserung der Eigenschaften der Biomaterialien in Bezug auf ihre Biokompatibilität und der Optimierung der Elektroden-Nerven-Schnittstelle. Weitere entscheidende Punkte sind die Reduzierung der Größe der einzelnen Elektroden innerhalb des Elektrodenträgers, um es möglich zu machen eine höhere Anzahl an Elektroden verwenden zu können. Dadurch soll ebenso die Anzahl der unabhängig voneinander stimulierbaren Kanäle erhöht werden können. Neue oder modifizierte Materialien sollten im Hinblick auf diese Zielstellungen ausgewählt und untersucht werden.

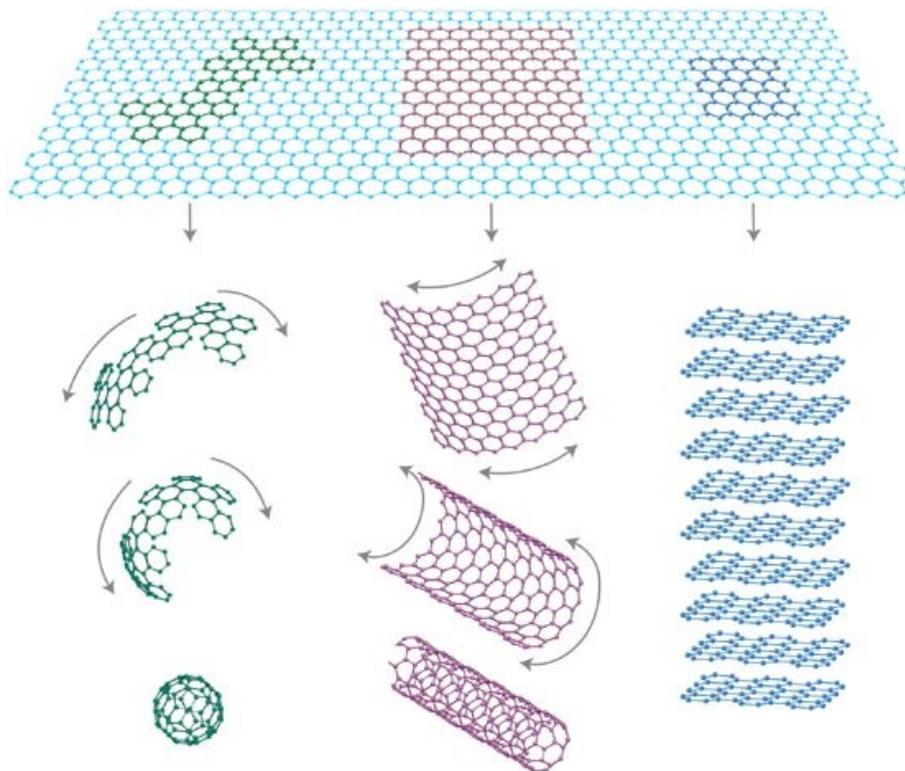
Für die Elektroden des Cochlea-Implantats kommen beispielsweise leitfähige Polymere oder Silizium-Elektroden in Frage. Neben der Erforschung solcher vollständig neuer oder bisher nicht für diese Anwendung verwendeter Materialien ist eine Funktionalisierung der konventionell verwendeten Elektrodenoberflächen eine vielversprechende Möglichkeit. Dabei lassen sich beispielsweise nach *Stöver* und *Lenarz* fünf unterschiedliche Wege der Oberflächenfunktionalisierung unterscheiden (andere Einteilungen oder weitere Möglichkeiten sind denkbar):<sup>5</sup>

- *Physikalisch*: Strukturierung der bestehenden Elektroden-Oberfläche.<sup>55</sup>
- *Chemisch*: Aufbringen von Beschichtungen anderer Substanzen.<sup>52</sup>
- *Biochemisch*: Anbindung von Signal-Proteinen.<sup>51</sup>
- *Biologisch*: Aufbringen eines Filmes modifizierter Zellen zur Freisetzung biologischer Substanzen.<sup>50,56</sup>
- *Lokale Wirkstofffreisetzung*: Anbindung oder Freisetzung von Wirkstoffen/Medikamenten direkt auf der Oberfläche des Elektrodenträgers oder der Elektroden.<sup>51,53,57,58</sup>

Neben der in den Literaturreferenzen angegebenen Möglichkeiten für die einzelnen Arten der Oberflächenfunktionalisierung der Cochlea-Elektroden gibt es selbstverständlich eine Vielzahl weiterer Beispiele, auf die im Rahmen dieser Arbeit nicht näher eingegangen wird. Ansatz für die vorliegende Arbeit ist eine chemische Funktionalisierung der Oberfläche der Platin-Elektroden mit Hilfe verschiedener Kohlenstoff-Nanomaterialien. Im folgenden Abschnitt werden daher diese Materialien näher beschrieben und erläutert.

## 2.2 Kohlenstoff-Nanomaterialien

Seit den ersten Berichten durch *Kroto et al.* zu Fullerenen und ihren verwandten Verbindungen Mitte der 80er Jahre und der Entdeckung der Kohlenstoff-Nanoröhren (CNTs; engl.: *carbon nanotubes*) durch *Iijima* im Jahr 1991 begann die Ära der Kohlenstoff-Nanomaterialien und es kam seitdem zu einem enormen Anstieg der Aktivitäten in diesem völlig neuen Forschungsfeld.<sup>6,59</sup> Im Jahr 2004 kam mit der Entdeckung des Graphens durch *Geim, Novoselov* und ihren Mitarbeitern eine weitere Modifikation des Kohlenstoffs hinzu.<sup>60</sup> Anschaulich betrachtet, kann Graphen als der Ursprung aller graphitischen Kohlenstoff-Materialien angesehen werden (*siehe*: Abbildung 2.13).



**Abbildung 2.13: Schematische Darstellung und Veranschaulichung von Graphen als zwei-dimensionale Grundlage aller graphitischen Materialien:** Es kann zu null-dimensionalen Fullerenen geformt, zu ein-dimensionalen Kohlenstoff-Nanoröhren aufgerollt und zum drei-dimensionalen Graphit gestapelt werden (*von links nach rechts*).<sup>61</sup>

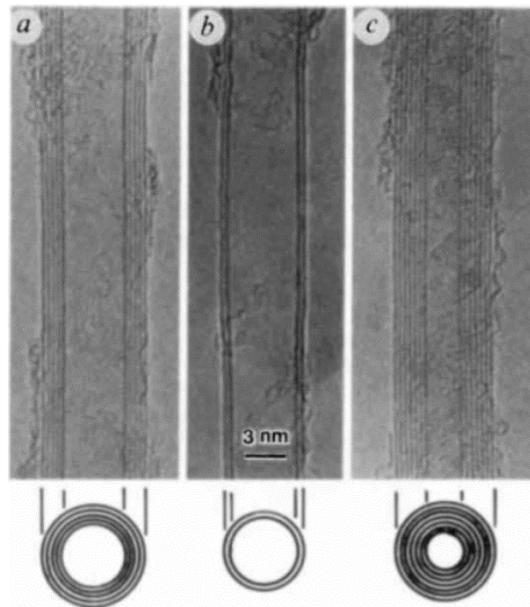
Die zwei-dimensionale Schicht aus in einem Winkel von  $120^\circ$ , bienenwabenförmig angeordneten Kohlenstoff-Atomen kann zu allen anderen Dimensionalitäten geformt werden: gewickelt zu den null-dimensionalen *Buckyballs*, zusammengerollt zu ein-dimensionalen Nanoröhren oder gestapelt zum drei-dimensionalen Graphit.<sup>61</sup> Damit kann nur die Struktur des weiteren Kohlenstoff-Allotrops Diamant nicht direkt über die Struktur des Graphens beschrieben werden. Dank ihrer außergewöhnlichen elektrischen, thermischen, chemischen und mechanischen Eigenschaften haben Kohlenstoff-Nanomaterialien einen einzigartigen Stellenwert in den Nanowissenschaften.<sup>62</sup>

Im Folgenden wird von diesen Vertretern der graphitischen Kohlenstoff-Nanomaterialien ausschließlich auf die Kohlenstoff-Nanoröhren näher eingegangen, da nur sie im Rahmen dieser Arbeit zum Einsatz kamen. Ein weiterer Abschnitt beschäftigt sich darüber hinaus mit nanoporösen Kohlenstoffen. Diese Gruppe von Kohlenstoff-Materialien zählt nicht zu den graphitischen Kohlenstoff-Nanomaterialien im eigentlichen Sinne. Sie bestehen zwar ebenso aus Kohlenstoff-Atomen und können partiell graphitische Domänen aufweisen. Allerdings zeigen die nanoporösen Kohlenstoffe keine kristalline Fernordnung, so dass sich die Struktur nicht direkt vom Graphen ableiten lässt. Durch ihr nanoporöses Porensystem handelt es sich bei ihnen jedoch ebenso um Nanomaterialien.

Sowohl Kohlenstoff-Nanoröhren als auch nanoporöse Kohlenstoffe wurden in dieser Arbeit als Materialien zur Beschichtung von Edelmetall-Elektroden verwendet.

### 2.2.1 Kohlenstoff-Nanoröhren

*Sumio Iijima* gilt als Entdecker der Kohlenstoff-Nanoröhren. In seiner Veröffentlichung aus dem Jahre 1991 in *Nature* wurden diese noch als spiralförmige Mikrokanälchen aus graphitischem Kohlenstoff (*engl.: helical microtubules of graphitic carbon*) bezeichnet.<sup>6</sup> In diesem Artikel beschrieb *Iijima* als Erster die erst später als solche bezeichneten *multi wall nanotubes* (MWNTs). In Abbildung 2.14 ist die erste transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme dreier mehrwändiger Kohlenstoff-Nanoröhren gezeigt. Im Querschnitt dieser Nanoröhren sind sowohl die unterschiedlichen Wandanzahlen als auch die unterschiedlichen Durchmesser der inneren Röhren zu erkennen.

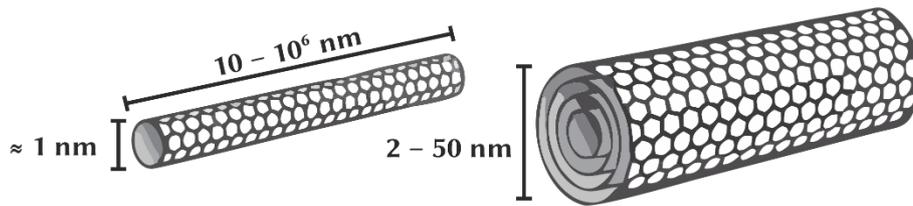


**Abbildung 2.14:** Erstes, von *Sumio Iijima* veröffentlichtes Elektronenmikrograph von Kohlenstoff-Nanoröhren aus dem Jahr 1991. Die gezeigten *multi wall nanotubes* weisen jeweils eine unterschiedliche Anzahl von Wänden sowie unterschiedliche Durchmesser der innersten Röhren auf: (a) Aus fünf graphitischen Lagen bestehende Nanoröhre mit einem Durchmesser von 6.7 nm; (b) zwei-lagige Röhre, 5.5 nm Durchmesser; (c) sieben-lagige Röhre, 6.5 nm Durchmesser, mit dem kleinsten Innendurchmesser (2.2 nm).<sup>6</sup>

Schon zwei Jahre später zeigte er in einer weiteren Veröffentlichung *single wall nanotubes* (SWNTs) und nutzte bereits den Begriff *carbon nanotubes* (CNTs, dt.: Kohlenstoff-Nanoröhren).<sup>63</sup>

#### *Struktur und Eigenschaften von Kohlenstoff-Nanoröhren*

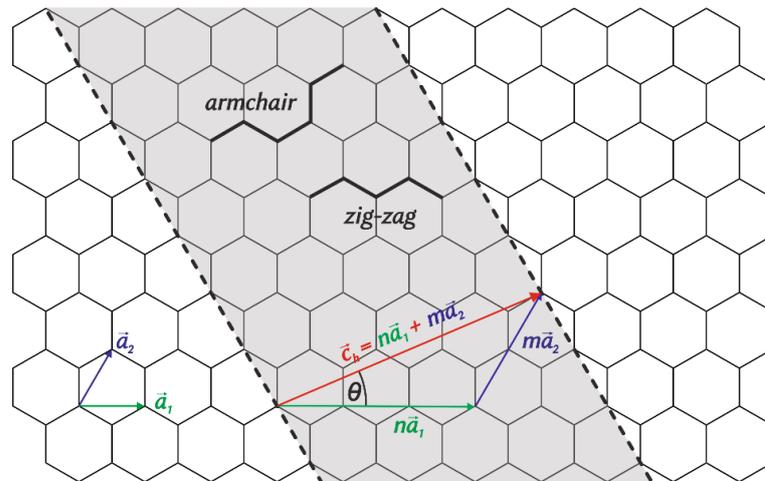
Kohlenstoff-Nanoröhren können als an einer Kante zusammengerollter und darüber verbundener Ausschnitt einer Schicht Graphen angesehen werden. Sie bestehen wie alle weiteren graphitischen Kohlenstoff-Modifikationen ausschließlich aus  $sp^2$ -hybridisierten Kohlenstoff-Atomen, die in einer wabenartigen Struktur aus Sechsecken angeordnet sind. Wie in Abbildung 2.15 schematisch dargestellt, wird grundsätzlich nach den weiter oben schon genannten beiden Arten von Kohlenstoff-Nanoröhren unterschieden: einwandige bzw. aus einer Röhre bestehende *single wall nanotubes* (SWNTs) sowie die mehrwandigen, aus mehreren ineinander geschobenen Röhren unterschiedlichen Durchmessers bestehenden *multi wall nanotubes* (MWNTs).



**Abbildung 2.15: Schematische Darstellung des Aufbaus einer *single wall nanotube* (SWNT) und einer *multi wall nanotube* (MWNT).** SWNTs (*links*) bestehen aus einer Röhre und weisen einen Durchmesser von etwa 1 nm auf. Die Länge liegt dabei meist im Bereich zwischen 10 nm und bis zu 1 mm ( $10^6$  nm). MWNTs (*rechts*) bestehen aus mehreren ineinander geschobenen Röhren mit jeweils unterschiedlichen Durchmessern. Dabei kann der Gesamtdurchmesser je nach Anzahl und Einzeldurchmesser der einzelnen Röhren im Bereich von 2 bis 50 nm liegen. [bearbeitet nach<sup>64</sup>]

Die Durchmesser einer einzelnen SWNT liegen dabei im Bereich von 1 nm, bei einer Länge von 10 bis  $10^6$  nm (bzw. 1 mm). In speziellen Veröffentlichungen werden aber auch Möglichkeiten beschrieben Stränge aus SWNTs mit bis zu 20 cm Länge oder aber auch einzelne Nanoröhren mit einer Länge von bis zu einem halben Meter zu synthetisieren.<sup>64–66</sup> Eine MWNT weist in Abhängigkeit der Anzahl und des jeweiligen Durchmessers der ineinander geschobenen Röhren einen Durchmesser von 2 bis 20 nm auf bei vergleichbarer, stark unterschiedlicher Länge.<sup>64</sup>

Neben der Unterscheidung zwischen SWNTs und MWNTs lassen sich CNTs anhand der Art und Weise einteilen, wie die Schicht aus graphitischen Kohlenstoff-Atomen zu einer Röhre aufgerollt ist. In Abbildung 2.16 ist schematisch dargestellt, dass eine Kohlenstoff-Nanoröhre als Ausschnitt einer Graphen-Schicht betrachtet werden kann, der entlang einer Achse aufgerollt und verbunden wird (*gestrichelte Linien*). In Abhängigkeit der Orientierung der Hexagone innerhalb eines solchen Ausschnittes einer Graphen-Schicht lassen sich dabei die folgenden drei Typen an Kohlenstoff-Nanoröhren unterscheiden: *armchair*, *zig-zag* und *chiral*.



**Abbildung 2.16: Schematische Darstellung zur Unterscheidung der unterschiedlichen Typen an Kohlenstoff-Nanoröhren: zig-zag, armchair und chiral.** Kohlenstoff-Nanoröhren können als aufgerollter Ausschnitt einer Graphen-Schicht betrachtet werden (gestrichelte Linie). Anhand des chiralen Vektors  $C_h$  mit den Einheitsvektoren  $a_1$  und  $a_2$  sowie den dazugehörigen Indizes  $n$  und  $m$  lassen sich Typ und Durchmesser von Kohlenstoff-Nanoröhren festlegen. Mit Hilfe des sich daraus ergebenden chiralen Winkels  $\theta$  ist zudem ein Maß für die Helikalität („Grad der Verdrehung“) gegeben [erstellt nach<sup>67,68</sup>].

Mit Hilfe des chiralen Vektors  $C_h$  lässt sich sowohl die Orientierung der Hexagone innerhalb als auch die Breite des Ausschnittes beschreiben. Dieser lässt sich in die Teilvektoren  $a_1$  und  $a_2$ , die auf die Einheitsvektoren eines hexagonalen Gitters zurückgeführt werden können, sowie ihre jeweiligen Indizes  $n$  und  $m$  zerlegen. Daraus ergibt sich die ebenso in Abbildung 2.16 dargestellte Formel für den chiralen Vektor  $C_h$ :

$$\vec{C}_h = n \cdot \vec{a}_1 + m \cdot \vec{a}_2 \quad (1)$$

$C_h$ : Chiraler Vektor;  $a_1$ ,  $a_2$ : Gittervektoren;  $n$ ,  $m$ : Indizes.

Darüber hinaus ergibt sich auch der in der Abbildung ebenfalls gekennzeichnete chirale Winkel  $\theta$ . Dieser Winkel kann als Maß der Helikalität bzw. des „Grades der Verdrehung“ innerhalb einer Kohlenstoff-Nanoröhre angesehen werden. Dabei existieren zwei Grenzfälle für den chiralen Winkel  $\theta$ : zig-zag ( $0^\circ$ ) und armchair ( $30^\circ$ ). Namensgebend ist dabei die Anordnung der Kohlenstoff-Bindungen entlang des Umfangs einer Nanoröhre, wie für beide Fälle in Abbildung 2.16 angedeutet. Für den zig-zag-Typ ergeben sich die Indizes  $(n,0)$  und den armchair-Typ  $(n,n)$  mit  $n = m$ . Für Winkel im Bereich

von  $0^\circ$  bis  $30^\circ$  ergeben sich Indizes  $n \neq m$  für die sogenannten *chiralen* Kohlenstoff-Nanoröhren. Der Betrag des chiralen Vektors  $C_h$  definiert zudem den Durchmesser der Nanoröhre, da die interatomaren Abstände der Kohlenstoff-Atome bzw. die Bindungslängen bekannt sind.

Die Chiralität der Kohlenstoff-Nanoröhren hat dabei Einfluss auf ihre Eigenschaften, wobei maßgeblich die elektrischen Eigenschaften beeinflusst werden. Es konnte gezeigt werden, dass in Abhängigkeit der Chiralität Kohlenstoff-Nanoröhren metallische oder aber halbleitende Eigenschaften aufweisen. So zeigen CNTs des Typs *armchair* sowie Nanoröhren mit  $n - m = 3 \cdot x$  metallisches, alle anderen Typen an CNTs halbleitendes Verhalten.<sup>67</sup>

Die herausragenden elektrischen Eigenschaften von Kohlenstoff-Nanoröhren sind einer der Hauptgründe, warum für eine Vielzahl von Anwendungen die Eignung von CNTs untersucht wurde. Das elektronische Bändermodell von SWNTs ähnelt sehr stark dem des Graphen. Für metallische SWNTs kommt es zu Überlappungspunkten von Valenz- und Leitungsband. Halbleitende SWNTs hingegen weisen eine Bandlücke auf. Mit abnehmendem Durchmesser steigt dabei die Größe der Bandlücke an. Für metallische Kohlenstoff-Nanoröhren konnten theoretische Studien zeigen, dass es sich bei idealen SWNTs für Distanzen in der Größenordnung von einem Mikrometer um ballistische Leiter handelt. Die Streuung von Elektroden kann für diesen Fall vernachlässigt werden. Durch Verunreinigungen oder Defekte im Gitter der CNTs wird die freie Weglänge der Elektronen reduziert und die Leitfähigkeit sinkt.<sup>69</sup>

Im Gegensatz zu SWNTs wurden die elektrischen Eigenschaften von MWNTs nicht im selben Detailgrad untersucht. Dies lässt sich auf die deutlich höhere Komplexität aufgrund des Aufbaus bzw. der Struktur von MWNTs zurückführen. Jede einzelne Röhre trägt mit ihren unterschiedlichen elektronischen Charakteristika und den Unterschieden in der Chiralität zu den elektrischen Eigenschaften der gesamten MWNT bei. Ebenso kommt es zu Einflüssen durch die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Röhren innerhalb der MWNT. Dennoch ist der Elektronentransport vor allem durch Leitung der äußersten Röhre dominiert. Bei einer hohen Anzahl von Wänden in MWNTs verringert sich ihr Widerstand und die Leitfähigkeit steigt somit.<sup>70</sup>

Neben den außergewöhnlichen elektrischen Eigenschaften zeigen Kohlenstoff-Nanoröhren auch in Bezug auf ihre mechanischen Eigenschaften erstaunliche und vielversprechende Ergebnisse. Sowohl theoretische Berechnungen als auch experimentelle Daten konnten zeigen, dass CNTs härter als Diamant sind und dabei sowohl einen sehr hohen Elastizitätsmodul (*Young-Modul*) als auch eine sehr hohe Zugfestigkeit besitzen.

Mit Hilfe von AFM-Untersuchungen (*atomic force microscopy*, dt.: Rasterkraft-Mikroskopie) ermittelten *Yu et al.* beispielsweise für den *Young*-Modul Werte im Bereich von 300 bis 1500 GPa (Mittelwert: 1000 GPa) bei Zugfestigkeiten von 10 bis 50 GPa (Mittelwert: 30 GPa).<sup>71</sup> Diese Werte liegen im Bereich von Graphen, was theoretischen Vorhersagen entspricht, und damit deutlich über den Werten der aktuell verwendeten Werkstoffe wie Stahl oder Hochleistungskeramiken liegt.

Darüber hinaus zeigen Kohlenstoff-Nanoröhren außerdem herausragende thermische Eigenschaften. Ebenso wie die weiteren Kohlenstoff-Allotrope Diamant und Graphit weisen sie eine außergewöhnlich geringe Wärmekapazität und hohe Wärmeleitfähigkeit auf. Für ideale SWNTs sollten die thermischen Eigenschaften vergleichbar sein mit denen von Graphen. Durch die Wechselwirkung zwischen den einzelnen Röhren in MWNTs ähneln die thermischen Eigenschaften von MWNTs eher dem drei-dimensionalen Graphit.<sup>69</sup> Für eine einzelne SWNT mit 2.6  $\mu\text{m}$  Länge bei einem Durchmesser von 1.7 nm ermittelten *Pop et al.* Wärmeleitfähigkeiten im Bereich von  $3500 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  bei Raumtemperatur.<sup>72</sup> *Kim et al.* konnten für einzelne MWNTs ebenfalls Werte über  $3000 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  bei Raumtemperatur messen.<sup>73</sup>

### *Herstellung von Kohlenstoff-Nanoröhren und ihr Wachstumsmechanismus*

Zur Herstellung von Kohlenstoff-Nanoröhren haben sich seit ihrer Entdeckung unterschiedliche Verfahren etabliert. Zu den drei wichtigsten gehören die elektrische Bogenentladung, Laserverdampfung und die katalytische Zersetzung gasförmiger Kohlenstoffquellen (oder auch chemische Gasphasenabscheidung (CVD) genannt).<sup>7</sup>

Während einer elektrischen Bogenentladung zwischen zwei Graphitstäben bildet sich bei Temperaturen von über  $3000 \text{ }^\circ\text{C}$  atomarer Kohlenstoff. Durch die Anwesenheit bestimmter Übergangsmetall-Nanopartikel (Fe, Co oder Ni) als Katalysator kommt es zur Bildung von SWNTs. Bei der Verwendung reiner Graphit-Elektroden entstehen MWNTs. Über dieses Verfahren wurden die ersten in der Literatur beschriebenen CNTs von *Iijima* synthetisiert.<sup>6,7,69</sup>

Für die Laserverdampfung wird atomarer Kohlenstoff mittels Laserbestrahlung von Graphit erhalten. Auch in diesem Verfahren werden Temperaturen größer als  $3000 \text{ }^\circ\text{C}$  erreicht. Die auch hier notwendigen metallischen Katalysator-Partikel zur Synthese von SWNTs sind dem Graphit beigemischt. Ohne die Katalysator entstehen ebenso MWNTs.<sup>7,69,74</sup>

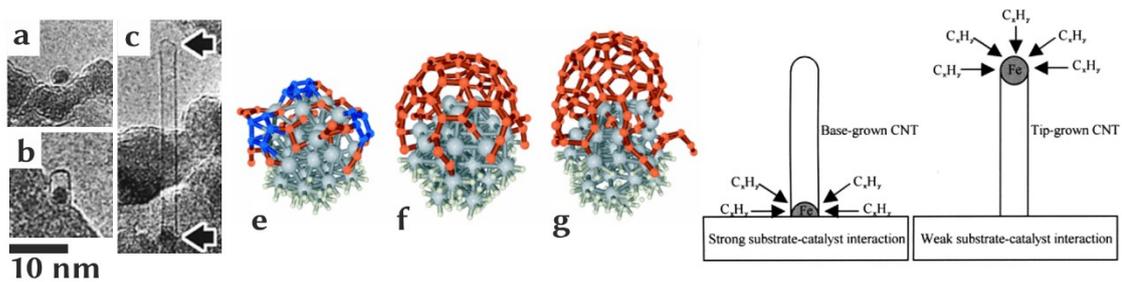
Im Gegensatz dazu lassen sich bei der chemischen Gasphasenabscheidung (CVD) Kohlenstoff-Nanoröhren schon bei deutlich niedrigeren Temperaturen ( $1000\text{--}1100 \text{ }^\circ\text{C}$ ) jedoch unter der Verwendung hoher Drücke ( $30\text{--}50 \text{ atm}$ ) synthetisieren. Hierbei kommt

es zur Zersetzung einer gasförmigen Kohlenstoffquelle (z.B. Kohlenmonoxid oder ein Kohlenwasserstoff) an metallischen Nanopartikeln (Fe oder Co). Diese Nanopartikel werden über Pyrolyse geeigneter Präkursor-Verbindungen (z.B.  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ ) erzeugt.<sup>7,74</sup>

Diese Verfahren unterscheiden sich vor allem in der maximal erreichbaren Produktionsrate. So lassen sich für die elektrische Bogenentladung Produktionsraten in der Größenordnung von  $120 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$  und für die Laserverdampfung von etwa  $50 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$  erreichen. Mit der chemischen Gasphasenabscheidung können hingegen deutlich leichter größere Mengen produziert werden ( $50 \text{ kg}\cdot\text{d}^{-1}$ ). Trotz der Fortschritte in den Produktionsmethoden sind die Kosten im Hinblick auf Anwendungen im technischen Maßstab noch verhältnismäßig hoch. Dies lässt sich größtenteils auf die Synthese der benötigten Katalysator-Partikel aber auch auf die relativ schlechte Reinheit der CNTs nach der Synthese zurückführen, die eine aufwändige Aufreinigung nach sich zieht. Außerdem liegen die CNTs üblicherweise als Bündel vor.<sup>7</sup>

Es gibt alternative Synthesemethoden, bei denen einzelne und dazu weitestgehend verunreinigungsfreie Kohlenstoff-Nanoröhren erhalten werden können. Diese Verfahren sind jedoch nur für sehr geringe Mengen geeignet. Die oben genannten Katalysator-Nanopartikel werden hierfür auf ein Substrat aufgebracht. Über Lithographie-Verfahren oder Dünnschicht-Techniken ist es möglich solche Nanopartikel mit kontrolliertem Durchmesser sowie in einem definierten Abstand zueinander auf dem Substrat zu deponieren. Im anschließenden CVD-Verfahren wachsen von diesen Partikeln ausgehend isolierte Kohlenstoff-Nanoröhren.<sup>7,69,75</sup>

Isolierte Kohlenstoff-Nanoröhren sind nicht nur für spezielle Anwendungen oder zur Untersuchung der Eigenschaften einzelner CNTs interessant. Sie bieten auch die Möglichkeit genaueres Verständnis über den Wachstumsmechanismus von Kohlenstoff-Nanoröhren gewinnen zu können. Die Untersuchung und anschließende Visualisierung des Mechanismus werden dabei sowohl über die direkte Beobachtung von Experimenten mittels elektronenmikroskopischer Techniken als auch über die graphische Darstellung von Simulations-Ergebnissen vorgenommen.<sup>75-77</sup> In Abbildung 2.17 sind diese beiden Möglichkeiten sowie ein schematisches Modell des CNT-Wachstums dargestellt. Auf den transmissions-elektronenmikroskopischen Aufnahmen von *Li et al.* ist jeweils eine Kohlenstoff-Nanoröhre zu drei verschiedenen Phasen des Wachstums an einem metallischen Nanopartikel im CVD-Prozess zu sehen (*links, a-c*).



**Abbildung 2.17: Visualisierungen des Wachstumsmechanismus von Kohlenstoff-Nanoröhren an Metall-Katalysator-Nanopartikeln im CVD-Verfahren.** Dargestellt sind drei transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahmen in jeweils unterschiedlichen Phasen des Wachstums einer Kohlenstoff-Nanoröhre aus einem Metall-Nanopartikel (*links, a-c*) [bearbeitet nach<sup>75</sup>]. Außerdem sind verschiedene Momentaufnahmen einer *ab-initio* Molekül-Dynamik-Simulation gezeigt, die frühe Stadien des Wachstums einer SWNT auf einem 1 nm großen Eisen-Katalysator-Nanopartikel visualisieren (*mittig, e-g*) [bearbeitet nach<sup>76</sup>]. Metall-Atome sind in grau, Wasserstoff-Atome in Weiß und Kohlenstoff-Atome in Orange bzw. in Blau hervorgehoben. Das rechts dargestellte Modell zeigt schematisch das CNT-Wachstum an einem Eisen-Nanopartikel sowie den Einfluss der Substrat-Katalysator-Wechselwirkungen.<sup>78</sup>

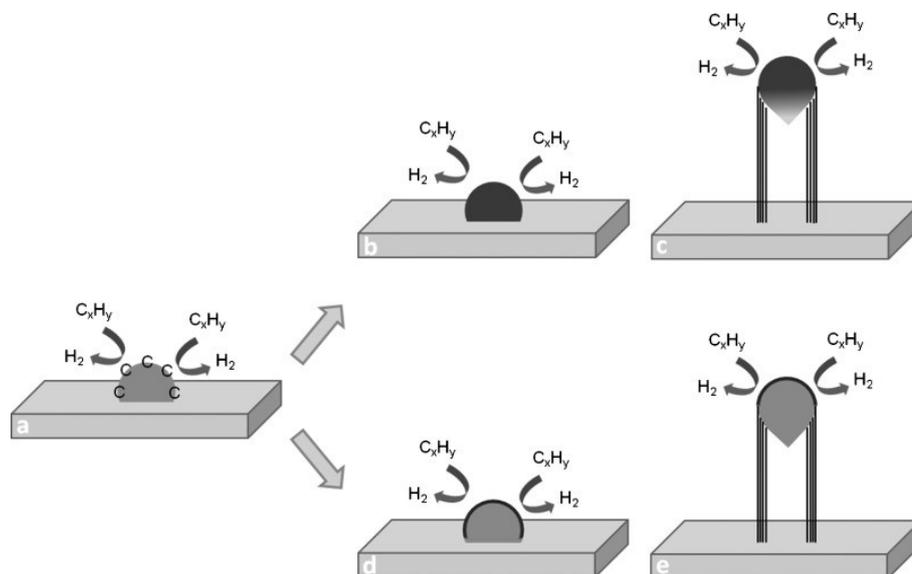
Zu Beginn des Wachstums der CNT ist das Metall-Nanopartikel von einer einlagigen graphitischen Hülle umgeben (*a*). Im weiteren Verlauf ist eine ultra-kurze (ca. 4 nm) Nanoröhren-Kapsel zu erkennen, die ausgehend vom 2 nm großen Nanopartikel gewachsen ist (*b*). Das fortschreitende Wachstum dieser Kapsel führt zu einer Nanoröhre, die in der weiteren gezeigten Aufnahme bereits eine Länge von etwa 40 nm erreicht hat (*c*). Das Metall-Partikel befindet sich weiterhin auf dem Substrat (*unterer Pfeil*). Das obere Ende der Nanoröhre ist geschlossen (*oberer Pfeil*).<sup>75</sup>

Drei Momentaufnahmen einer *ab-initio* Molekül-Dynamik-Simulation zeigen frühe Stadien des Wachstums einer SWNT auf einem 1 nm großen Eisen-Katalysator-Nanopartikel (*mittig, e-g*). Nach der Diffusion von Kohlenstoff-Atomen an der Metall-Oberfläche bilden sich C-C-Bindungen sowie erste Pentagone und Hexagone (*e, blau hervorgehoben*). In der weiteren Folge entsteht eine Kappe aus  $sp^2$ -koordinierten Kohlenstoff-Atomen, die sich immer mehr zu einer  $sp^2$ -gebundenen Graphen-Schicht ausbildet (*f*). Die Nanoröhre beginnt zu wachsen (*g*).<sup>76</sup>

Für das Wachstum von Kohlenstoff-Nanoröhren an Metall-Katalysator-Nanopartikeln auf einer Substrat-Oberfläche sind zwei mögliche Modelle schematisch dargestellt (*rechts*). Bei starker Substrat-Katalysator-Wechselwirkung verbleibt das Katalysator-Nanopartikel auf der Substrat-Oberfläche und es entstehen sogenannte *base-grown* CNTs.

Dementsprechend entstehen bei schwacher Wechselwirkung *tip-grown* CNTs. Das Katalysator-Partikel wird durch das Wachstum der CNTs von der Substrat-Oberfläche angehoben.<sup>78</sup>

Der zugrundeliegende detaillierte Wachstumsmechanismus von CNTs wurde ausgiebig durch verschiedenste Arbeitsgruppen untersucht, um so ein tiefergehendes Verständnis und Kontrolle über die Qualität bzw. Reinheit und ihre Eigenschaften zu erlangen.<sup>79</sup> So haben sich unterschiedliche Ansätze zur Beschreibung des Mechanismus entwickelt. Zwei populäre und häufig beschriebene Modelle sind der VLS- (*vapor-liquid-solid*, dt.: Dampf-Flüssigkeit-Feststoff) und der VSS-Mechanismus (*vapor-solid-solid*, dt.: Dampf-Feststoff-Feststoff), die beide schematisch in Abbildung 2.18 dargestellt sind.<sup>79,80</sup>



**Abbildung 2.18: Schematische Darstellung zweier Modelle zur Beschreibung des CNT-Wachstumsmechanismus.** (a) Erster Schritt ist bei beiden Modellen die Zersetzung des kohlenstoffhaltigen Präkursors an der Oberfläche des Katalysator-Partikels. (b) Beim VLS-Mechanismus (*vapor-liquid-solid*, dt.: Dampf-Flüssigkeit-Feststoff) kommt es anschließend zur Diffusion von Kohlenstoff-Atomen durch das Partikel, wobei die Kohlenstoff-Atome gelöst vorliegen. (c) Im dritten Schritt kommt es zur Präzipitation von Kohlenstoff am Metall-Substrat-Interface und der Bildung einer Nanoröhre. (d-e) Im Gegensatz dazu diffundiert die Kohlenstoff-Spezies beim VSS-Mechanismus (*vapor-solid-solid*, dt.: Dampf-Feststoff-Feststoff) ausschließlich an der Oberfläche des Katalysator-Partikels.<sup>79</sup>

Der VLS-Mechanismus wurde zum ersten Mal von *Wagner* und *Ellis* zur Beschreibung des Wachstums von Silizium-Whiskers aus Gold-Tröpfchen vorgeschlagen.<sup>81</sup> Dieses Modell ist weit verbreitet um das CNT-Wachstum aber auch das Wachstum anderer ein-dimensionaler Nanomaterialien zu erklären. Es befindet sich jedoch in stetiger Weiterentwicklung und wird weiterhin kontrovers diskutiert.<sup>82-84</sup> Wie in Abbildung 2.18 schematisch dargestellt, lässt sich der VLS-Mechanismus in drei Schritte unterteilen, die den drei Aggregatzuständen für die Namensgebung des Mechanismus entsprechen. Im ersten Schritt kommt es zur Zersetzung des kohlenstoff-haltigen, gasförmigen Präkursors an der Oberfläche des Katalysator-Partikels und anschließend zur Diffusion von Kohlenstoff-Atomen durch das Partikel. Es wird dabei von in Lösung befindlichen Kohlenstoff-Atomen und einem flüssigen Katalysator-Partikel ausgegangen. Im letzten Schritt kommt es zur Präzipitation von Kohlenstoff am Metall-Substrat-Interface und der Bildung einer Nanoröhre. Dieser Mechanismus ist das seit der Entdeckung von CNTs am häufigsten akzeptierte Modell für das CNT-Wachstum und wird vor allem beim Einsatz traditioneller Katalysatoren, wie den üblicherweise verwendeten Übergangsmetallen Fe, Co und Ni, angewendet.<sup>79</sup>

Als weiteres Modell wird häufig der VSS-Mechanismus zur Erklärung des CNT-Wachstumsmechanismus genutzt. Dieses Modell wurde im Laufe der Jahre immer populärer zur Beschreibung des Wachstums von CNTs auf nicht-klassischen Katalysatoren, wie Si, SiO<sub>2</sub>, SiC oder Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in nanopartikulärer Form. Ursprünglich wurde es von *Persson et al.* 2004 zur Erklärung des Wachstums von GaAs-Nanodrähten und später ebenso auf das Wachstum von Kohlenstoff-Nanoröhren angewendet.<sup>85,86</sup> Im Unterschied zum VLS-Mechanismus kommt es beim VSS-Mechanismus im zweiten Schritt ausschließlich zu einer Diffusion der Kohlenstoff-Atome an der Oberfläche des Katalysator-Partikels. Es liegt keine flüssige Phase vor.

Doch auch mit diesen beiden Modellen lassen sich nicht alle Teilaspekte beim Wachstum von Kohlenstoff-Nanoröhren vollständig erklären. So kam es in der Folge zur Weiterentwicklung dieser beiden Modelle, aber auch zur Entwicklung neuer Modelle. Beispielhaft sei hier das von *Lu* und *Miao* propagierte Nano-*Czochralski*-Modell genannt. Sie ziehen hierbei Analogien zum *Czochralski*-Verfahren, das allgemein durch die industrielle Produktion von hochreinen Silizium-Einkristallen für die Halbleiter-Industrie bekannt ist. Das Katalysator-Partikel dient hierbei im übertragenen Sinn als Nano-Schmelztiegel. Es reagiert mit dem umgebenen kohlenstoff-haltigen Gas bei hohen Temperaturen und absorbiert so kontinuierlich Kohlenstoff-Atome bis zur Übersättigung des Partikels. Die Übersättigung führt schließlich zur Nukleation einer CNT-Kappe, die dem Kristallkeim entspricht. Die damit gestartete Präzipitation von Kohlenstoff-Atomen

führt zur Ausbildung einer Extrusionskraft, was dem Kristallziehen beim makroskopischen *Czochralski*-Verfahren entspricht. Während des Wachstums rotiert die CNT relativ zum Katalysator-Partikel und kann somit als Schneckenextrusion betrachtet werden (*engl.: screw extrusion*). Die Präzipitations-Rate der Kohlenstoff-Atome und die Rotationsgeschwindigkeit der CNT bestimmen den chiralen Winkel und damit die Chiralität der CNT-Röhre. Somit liefert dieses Modell einen Erklärungsansatz zur Entstehung der unterschiedlichen CNT-Typen und chiralen CNTs im Speziellen.<sup>87</sup>

#### *Aufreinigung und Modifizierung von Kohlenstoff-Nanoröhren*

Werden Verfahren zur Herstellung größerer Mengen an Kohlenstoff-Nanoröhren verwendet, liegen die CNTs üblicherweise als Bündel vor. Außerdem enthält das synthetisierte Rohmaterial daneben noch weitere Kohlenstoff-Substanzen, wie amorphen Kohlenstoff und Fullerene, sowie Verunreinigungen durch die metallischen Katalysator-Partikel. Eine beispielhafte mehrschrittige Aufreinigungs-Prozedur kann wie folgt aussehen: in einem ersten Schritt erfolgt bei einer Temperatur von 350 °C in normaler Luft-Atmosphäre eine thermische Oxidation zur Entfernung des amorphen Kohlenstoffs aus dem Rohmaterial. Die Metallpartikel werden anschließend durch Behandlung mit siedender nicht oxidierender Säure (z.B. HCl) aufgelöst. Durch die vorangegangenen Reinigungsschritte kommt es zur Entstehung von Defekten in den Kohlenstoff-Nanoröhren. Diese werden über eine abschließende thermische Behandlung im Vakuum bei 1100 °C zum Großteil ausgeheilt.<sup>7</sup>

Vereinzelte Kohlenstoff-Nanoröhren, die für viele Untersuchungen oder Anwendungen gewünscht sind, können bei diesen Synthesewegen über Ultraschall-Behandlungen wässriger Dispersionen der CNTs erhalten werden. Da unbehandelte Kohlenstoff-Nanoröhren aber sowohl in Wasser als auch in allen organischen Lösungsmitteln nicht löslich sind, kommt es schon kurz nach einer solchen Behandlung mit Ultraschall zur erneuten Präzipitation des festen CNT-Materials. Um eine dauerhafte Vereinzelung der CNTs sicherzustellen und über einen längeren Zeitraum stabile Dispersionen zu erhalten ist jedoch eine weitere Modifizierung der Kohlenstoff-Nanoröhren notwendig.<sup>7,88</sup>

Die unterschiedlichen Ansätze zur Modifizierung von CNTs können in drei grundlegende Kategorien eingeteilt werden: die direkte kovalente Anbindung funktioneller Gruppen an das  $\pi$ -konjugierte Skelett der CNTs über chemische Reaktionen, die nicht-kovalente Adsorption oder Umhüllung durch funktionelle Moleküle wie Tenside oder Polymere und das endohedrale Ausfüllen des inneren leeren Hohlraums der CNTs.<sup>7,64,88</sup>

Die direkte kovalente Funktionalisierung von CNTs bietet eine Vielzahl unterschiedlicher Möglichkeiten. Durch die graphitischen Seitenwände und ihre Kappen liefern CNTs zwei Bereiche mit verschiedenen Reaktivitäten für eine mögliche Funktionalisierung. Aufgrund der Anwesenheit von Kohlenstoff-Fünfringen weisen die Kappen eine relativ hohe Reaktivität auf, die etwa vergleichbar mit der von Fullerenen ist. Im Vergleich dazu ist eine Funktionalisierung an den Seitenwänden der Röhren deutlich ungünstiger. So müssten beispielsweise für Additions-Reaktionen an den partiellen C–C-Doppelbindungen  $sp^2$ - in  $sp^3$ -Zentren umgewandelt werden, was in der graphitischen Struktur aufgrund der dafür notwendigen Änderung der Bindungsgeometrie (trigonalplanar zu tetraedrisch) energetisch erschwert wäre. Dies gilt jedoch nur für ideale Kohlenstoff-Nanoröhren. Reale CNTs weisen grundsätzlich Defekte auf. Es wird etwa von einem Defekt-Anteil in der Größenordnung von 1–3% ausgegangen. An solchen Defekten sind Reaktionen günstiger, so dass auch die Seitenwände die Möglichkeit zur Funktionalisierung bieten. In vielen Fällen liefert die für die Aufreinigungs-Prozedur angewendete Oxidation die Grundlage für nachfolgende Reaktionen. Durch die Einwirkung starker oxidierender Säure kommt es zur Öffnung der CNT-Kappen und es bilden sich Löcher in den Seitenwänden. Außerdem kommt es zur Bildung von sauerstoff-haltigen funktionellen Gruppen (Carbonyl- aber vor allem Carboxyl-Gruppen) an den geöffneten Enden der Nanoröhren sowie an den Defekten innerhalb der Seitenwände. Bei fortwährender Behandlung beginnt der oxidative Abbau der CNTs unter Bildung von  $\text{CO}_2$ . Bei der Anwendung sehr harscher Oxidationsbedingungen, beispielsweise mit einem Gemisch aus konzentrierter Salpeter- und Schwefelsäure in Kombination mit Ultraschall-Behandlung, kann es zum Abbau der vormals über 1  $\mu\text{m}$  langen Nanoröhren zu Röhren mit resultierenden Längen im Bereich von 100–300 nm kommen. Dagegen kann über mildere Oxidationsbedingungen (z.B. konzentrierte Salpetersäure) eine Verkürzung der Röhren minimiert werden. Der Vorteil hierbei ist, dass die ursprünglichen Eigenschaften der CNTs (z.B. mechanische und elektrische) nach ihrer Synthese weitestgehend erhalten bleiben. Die eingeführten sauerstoff-haltigen Gruppen können nicht nur als Ausgangsbasis für weiterführende Reaktion, wie der Bildung von Amiden und Estern dienen, sie führen außerdem dazu, dass sich die *van-der-Waals*-Wechselwirkungen zwischen den Nanoröhren verringern. Die nach ihrer Synthese in Bündeln vorliegenden CNTs lassen sich leichter vereinzeln und ihre Löslichkeit in Wasser und organischen Lösungsmitteln erhöht sich.<sup>7,88</sup>

Inklusive der eben beschriebenen Einführung von Carboxyl-Gruppen mit nachfolgenden Reaktionen lassen sich folgende drei grundlegende Wege zur kovalenten Modifizierung von Kohlenstoff-Nanoröhren unterscheiden:<sup>7,88</sup>

- Oxidation mit anschließenden Reaktionen an Carboxyl-Gruppen
- Additionsreaktionen an der Seitenwand
- Nukleophile Substitutionsreaktionen an fluorierten Nanoröhren

An den Carboxyl-Gruppen oxidierter CNTs lassen sich diese, wie bereits kurz beschrieben, über nachfolgende Reaktionen, wie der klassischen Veresterung oder Amidierung, weitergehend chemisch modifizieren. Dem gegenüber bieten Additionsreaktionen den Vorteil des direkten Anbringens funktioneller Gruppen. Die unterschiedlichen reaktiven Spezies (z.B. Radikale, Carbene oder Nitrene), die für die Reaktion erforderlich sind, werden meist auf thermische Weise erzeugt.

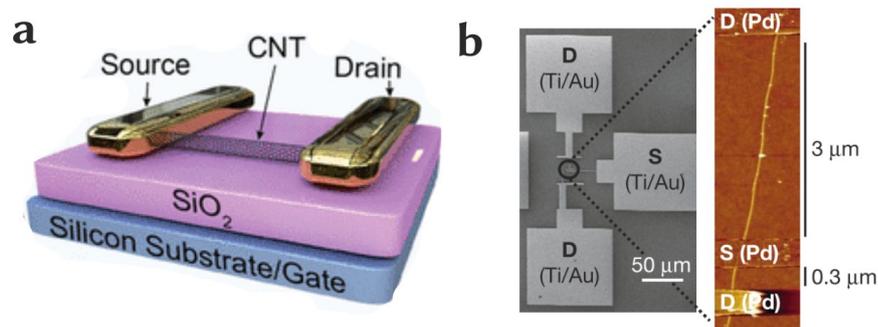
#### *Anwendungsperspektiven von Kohlenstoff-Nanoröhren*

Die Kombination aus herausragenden elektrischen, mechanischen und thermischen Eigenschaften in Kombination mit der relativ stark ausgeprägten Inertheit bei gleichzeitiger Möglichkeit der chemischen Modifizierung macht Kohlenstoff-Nanoröhren interessant für eine Vielzahl potenzieller Anwendungsgebiete. Aufgrund dieser Fülle an Optionen werden an dieser Stelle fünf ausgewählte Möglichkeiten näher beschrieben. Auf Beispiele der Biomedizin wird aufgrund der Relevanz für diese Arbeit im darauffolgenden Unterabschnitt näher eingegangen. Die folgende Auswahl gehört zu populären und häufig in der Literatur beschriebenen potenziellen Anwendungen von CNTs:<sup>7</sup>

- Feldeffekt-Transistoren<sup>89-91</sup>
- Chemische oder biologische Sensoren<sup>92,93</sup>
- Trägermaterial in der heterogenen Katalyse<sup>94</sup>
- Mechanisch verstärkte Verbundmaterialien<sup>95</sup>
- Spitzen für Rasterkraftmikroskope.<sup>96</sup>

Für Transistorbauelemente sind ausschließlich halbleitende Kohlenstoff-Nanoröhren von Interesse. Bei allen bisherigen und aktuellen Syntheseverfahren fallen jedoch ausschließlich CNT-Produkte an, die eine Mischung aus metallischen und halbleitenden Kohlenstoff-Nanoröhren sind. Um die CNTs nach ihren elektrischen Eigenschaften aufzutrennen sind deshalb aufwändige Trennverfahren notwendig, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen wird. Ein Einsatz von halbleitenden Kohlenstoff-Nanoröhren in Feldeffekt-Transistoren (FET) böte die Möglichkeit deutlich kleinere Transistoren bauen zu können und die höhere elektrische Leitfähigkeit der CNTs den Vorteil, dass sich höhere Schalt- und Transitfrequenzen erreichen ließen. Erste funktionsfähige CNT-

FETs wurden bereits 1998 von *Tans et al.* vorgestellt und werden bis heute stetig weiterentwickelt.<sup>89–91,97</sup> In Abbildung 2.19 sind sowohl der schematische Aufbau eines CNT-FET nach *Noyce et al.* sowie die beispielhafte Umsetzung von *Javey et al.* anhand von mikroskopischen Aufnahmen dargestellt.<sup>90,91</sup>



**Abbildung 2.19: Schematische Darstellung sowie mikroskopische Aufnahmen eines CNT-Feld-effekt-Transistors (CNT-FET).** (a) Die schematische Darstellung des CNT-FET zeigt den Aufbau analog zu einem üblichen MOSFET (*metal oxide semiconductor FET*, dt.: Metall-Oxid-Halbleiter-FET). Metallische Source- und Drain-Kontakte sind über eine einzelne CNT verbunden und auf einer 90 nm dicken Schicht des Dielektrikums  $\text{SiO}_2$  platziert. Darunter befindet sich Silizium als Substrat bzw. Gate.<sup>90</sup> (b) Die elektronenmikroskopische (*links*) und die rasterkraftmikroskopische Aufnahme (*rechts*) zeigen repräsentativ die Umsetzung zweier CNT-FETs an einer einzelnen SWNT. Die SWNT ist direkt durch Palladium-Elektroden kontaktiert. Durch zwei Drain-Kontakte (D) an den Enden der SWNT und einen mit unterschiedlichem Abstand (0,3 und 3  $\mu\text{m}$ ) dazwischen platzierten Source-Kontakt (S) lassen sich mit einer SWNT zwei unterschiedliche CNT-FETs realisieren (*rechts*). Die Pd-Kontakte sind jeweils mit einem metallischen Ti-Au-Bonding-Pad verbunden (*links*).<sup>91</sup>

Als Komponenten chemischer oder biologischer Sensoren eignen sich CNTs besonders deshalb, da es sich im Fall von SWNTs bei sämtlichen Atomen der Kohlenstoff-Nanoröhren um Oberflächen-Atome handelt. Chemische Sensoren nutzen dabei das Prinzip des partiellen Ladungstransfers von auf der CNT-Oberfläche adsorbierten Analyt-Molekülen. Dieser führt zu einer Änderung der Dichte freier Ladungsträger in den Kohlenstoff-Nanoröhren und daraus resultiert eine Änderung des elektrischen Widerstands, welcher als Sensorsignal erfasst werden kann. Gegenüber herkömmlichen Sensoren aus klassischen Halbleiter-Materialien lassen sich solche Sensoren bei Raumtemperatur betreiben. Für Moleküle, die eine hohe Tendenz aufweisen als Elektronen-Donor (z.B.  $\text{NH}_3$ ) oder -Akzeptor ( $\text{NO}_2$ ) zu dienen, ist keine weitere Funktionalisierung der

CNTs notwendig.<sup>7,92</sup> In Biosensoren könnten die CNTs beispielsweise mit Nukleinsäure, Proteinen oder Enzymen funktionalisiert werden, um selektiv in Lösung befindliche Substanzen nachzuweisen. *Besteman et al.* haben halbleitende SWNTs mit dem Enzym Glucoseoxidase gekoppelt und konnten mit diesem Biosensor die Anwesenheit von Glucose nachweisen.<sup>7,93</sup>

In der heterogenen Katalyse könnten CNTs als Trägermaterial für Katalysatoren dienen. Im Vergleich zur seit langer Zeit als Katalysator-Trägermaterial verwendeten Aktivkohle bieten CNTs neben einer ebenso hohen spezifischen Oberfläche zusätzlich die Vorteile einer definierten Morphologie und chemischen Zusammensetzung. Der vielleicht größte Vorteil ist jedoch die Möglichkeit der kovalenten Anbindung molekularer Katalysator-Komplexe. Ein solches Beispiel wurde mit der Anbindung eines Organo-Vanadyl-Komplexes an CNTs zur Katalyse der Cyanosilylierung von Aldehyden bereits 2004 von *Baleizão et al.* beschrieben.<sup>7,94</sup>

Aufgrund ihrer hohen mechanischen Zugfestigkeit in Kombination mit ihrem hohen Längen/Durchmesser-Verhältnis bei geringer Dichte stellen Kohlenstoff-Nanoröhren ein vielversprechendes Füllmaterial zur Verstärkung von Werkstoffen dar. Insbesondere organische Polymere aber ebenso Keramiken oder Metalle sind dabei angedacht. Um eine effektive Übertragung der mechanischen Belastung auf CNTs zu gewährleisten ist eine gute Verknüpfung von Werkstoff-Matrix und Nanoröhren über beispielsweise kovalente Bindungen notwendig. Dabei muss eine ausreichende Dichte an funktionellen Gruppen gegeben sein, um eine optimale Anbindung zu gewährleisten. Gleichzeitig dürfen dabei aber die mechanischen Eigenschaften der CNTs durch einen erhöhten Funktionalisierungsgrad nicht negativ beeinflusst werden.<sup>7,98</sup> *Yao et al.* haben dafür eine Polymerisation direkt auf der Oberfläche von SWNTs realisiert. Die radikalische Polymerisation eines Methacrylsäureesters wurde dazu über einen an den SWNTs gebundenen Initiator gestartet und somit wurden die Polymerketten an die Nanoröhren gebunden.<sup>95</sup>

In Rasterkraftmikroskopen werden mit Hilfe einer feinen Spitze Oberflächen abgetastet. Ein Einsatz von Kohlenstoff-Nanoröhren als Spitze würde zum einen aufgrund des Durchmessers der Röhren von wenigen Nanometern die laterale Auflösung der Methode und zum anderen durch das große Länge/Durchmesser-Verhältnis ermöglichen größere Höhenunterschiede in Oberflächenprofilen untersuchen zu können. Daneben könnte durch eine chemische Funktionalisierung der geöffneten Enden der CNTs ein Mapping in Abhängigkeit der chemischen Wechselwirkung der Oberfläche mit der spezifischen funktionellen Gruppe der CNT durchgeführt werden.<sup>7,96</sup>

Wie bereits erwähnt, handelt es sich hierbei nur um ausgewählte Beispiele. Superkondensatoren, Lithiumionen-Batterien, Dünnschicht-Elektronik, Beschichtungs-Anwendungen, Wasserstoff-Speicherung sowie Wasserfilter gehören zu den unzähligen weiteren Ideen, bei denen Potenzial zur Anwendung von CNTs gesehen wird, auf die hier jedoch nicht näher eingegangen wird.<sup>98,99</sup>

### *Kohlenstoff-Nanoröhren in der Biomedizin*

Wie im vorangegangenen Abschnitt bereits beschrieben, gelten Kohlenstoff-Nanoröhren allgemein als vielversprechendes Nanomaterial für den technologischen Fortschritt in einer Vielzahl verschiedener Anwendungsgebiete, so auch in der Bio- oder Nanomedizin.<sup>8</sup> Dabei stehen folgende Bereiche bei den Bestrebungen Kohlenstoff-Nanoröhren anzuwenden besonders im Fokus:

- Kontrollierte Freisetzung oder Einschleusung von Wirkstoffen<sup>100</sup>
- Bildgebende Verfahren in der Medizin<sup>101</sup>
- Hyperthermie-Therapie<sup>102,103</sup>
- (Gerichtetes) Zellwachstum auf Oberflächen oder Scaffolds<sup>104–106</sup>
- Beschichtung neuronaler Mikroelektroden.<sup>9–11</sup>

Bei Bestrebungen zur kontrollierten Freisetzung bzw. Einschleusung von Wirkstoffen mit Hilfe von Kohlenstoff-Nanoröhren lassen sich zwei grundlegende Ansätze unterscheiden: die Freisetzung kleiner Medikamenten-Moleküle und die von Bio-Makromolekülen. Für kleinere Medikamenten-Moleküle ergeben sich theoretisch drei Möglichkeiten der Beladung der Kohlenstoff-Nanoröhren mit dem Wirkstoff. Neben einer kovalenten Anbindung lassen sich ebenso Adsorption der Moleküle auf der Oberfläche der Nanoröhren über  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen oder eine Einkapselung im Inneren der Nanoröhren realisieren. Wobei letztere Möglichkeit bisher vor allem mit Hilfe theoretischer Berechnungen und nicht über experimentelle Ergebnisse gezeigt werden konnte.<sup>100</sup> Für Makromoleküle spielt letzterer Ansatz aufgrund der erheblich größeren Moleküldurchmesser naturgemäß keinerlei Rolle. Bei beiden Ansätzen kann sich zu Nutzen gemacht werden, dass funktionalisierte Kohlenstoff-Nanoröhren abhängig von der Art ihrer Funktionalisierung und ihrer Größe in Zellen durch Endozytose oder aber auch durch passive Diffusion eindringen können.<sup>100</sup> Aber ebenso entscheidend ist, dass für SWNTs der Prozess der Exozytose zum Verlassen von Zellen gezeigt werden konnte.<sup>107</sup>

Für bildgebende Verfahren in der Medizin ist der Einsatz von Kohlenstoff-Nanoröhren als Reagenz zur selektiven Molekül-, Zell- oder Gewebe-Markierung von Interesse. Dabei werden sich die intrinsischen Nahinfrarot-Fluoreszenz-Eigenschaften von CNTs, ihre starke Fähigkeit zur *Raman*-Streuung sowie ihre hohe optische Absorption oder auch die Photolumineszenz speziell funktionalisierter CNTs zu Nutze gemacht.<sup>100,101</sup>

Die gezielte Therapie mit Hyperthermie zur lokalen Bekämpfung von Tumoren beschreibt einen sehr speziellen Anwendungsfall, bei dem Kohlenstoff-Nanoröhren ebenfalls aufgrund ihrer starken Absorption von NIR-Strahlung zum Einsatz kommen könnten. Bei der Anregung mit NIR-Laserlicht wird eine nicht unwesentliche Menge an Wärme generiert. Werden die CNTs gezielt in Krebs-Zellen eingebracht, kann diese Methode dazu verwendet werden die Krebszellen und damit den Tumor durch exzessive Behandlung mit Wärme thermisch zu zerstören.<sup>102,103</sup>

Deutlich weiter verbreitet ist der Ansatz, Kohlenstoff-Nanoröhren als Substrat für Zellen zu verwenden. Dabei gibt es sowohl Bestrebungen auf klassischen, ebenen Oberflächen als auch in drei-dimensionalen Gerüsten im *Tissue Engineering* (*dt.*: Gewebekonstruktion bzw. Gewebezüchtung) das Zellwachstum durch den Einsatz von CNTs zu verbessern. Die intrinsische Nanostrukturierung der CNTs soll dabei ähnlich der biologischen extrazellulären Matrix wirken.<sup>108</sup> Durch ihre elektrische Leitfähigkeit sind CNTs aber vor allem interessant als Substrat für das Wachstum von Nervenzellen und die Ausbildung neuronaler Netzwerke. In einer Vielzahl von Veröffentlichungen konnten unterschiedliche Arbeitsgruppen zeigen, wie zwei-dimensionale Beschichtungen<sup>109</sup>, Matten<sup>110</sup> oder drei-dimensionale Scaffolds<sup>104,105</sup> jeweils auf der Basis von Kohlenstoff-Nanoröhren das Wachstum und die Differenzierung von Nervenzellen fördern konnten.

Einen äußerst spezialisierten, aber vielversprechenden Teilbereich der Biomedizin stellt der Einsatz von Kohlenstoff-Nanoröhren für neuronale Mikroelektroden dar. Als Beschichtung bestehender Mikroelektroden-Technologien<sup>11</sup>, als Komposit mit leitfähigen Polymeren<sup>9</sup> oder gar in einer ausschließlich aus Kohlenstoff-Nanoröhren bestehenden Mikroelektrode zeigten CNTs vielversprechende Ergebnisse. Sowohl die Aufnahme der Signale von Nervenzellen als auch deren Stimulation konnte durch den Einsatz CNT-basierter bzw. -modifizierter Elektroden verbessert werden. Diese Veröffentlichungen und Resultate dienten als Motivation dafür in dieser Arbeit die Eignung von CNTs für einen Einsatz im Rahmen des Cochlea-Implantats zu untersuchen.

Von entscheidender Bedeutung für alle potenziellen Anwendungsbeispiele von Kohlenstoff-Nanoröhren in der Medizin ist die Frage der Biokompatibilität bzw. Toxizität. Das toxische Potential wurde mittlerweile an vielen unterschiedlichen Zelllinien und

Tiermodellen untersucht. Die Toxizität hängt von verschiedensten Eigenschaften der Kohlenstoff-Nanoröhren ab. Länge, Aspekt-Verhältnis, spezifische Oberfläche, Grad der Aggregation, Grad und Art weiterer Modifizierungen, Reinheit, Konzentration und Dosis spielen dabei beispielsweise eine Rolle.<sup>12</sup> Durch diese Komplexität und Vielfältigkeit der Eigenschaften von CNTs wurden in den veröffentlichten Studien unterschiedliche Resultate erzielt und teils gegensätzliche Schlüsse gezogen.<sup>13–16</sup> Dementsprechend existieren aktuell immer noch konträre Aussagen bezüglich der Toxizität von CNTs und der daraus folgenden Gefährlichkeit für den menschlichen Organismus. Exemplarisch lassen sich hierbei die beiden Studien von *Marchesan et al.* und *Magrez et al.* nennen, die aufgrund des unterschiedlichen Aufbaus ihrer Studien zu gegensätzlichen Aussagen über die Zytotoxizität funktionalisierter Kohlenstoff-Nanoröhren kommen.<sup>8,111</sup> Hinzu kommt, dass bisher nur sehr wenige Studien die Auswirkungen einer Langzeitexposition von CNTs und eine daraus folgende mögliche chronische Toxizität betrachten.<sup>12</sup>

### 2.2.2 Nanoporöse Kohlenstoffe

Poröse, anorganische Festkörper-Materialien im Allgemeinen und speziell poröse Kohlenstoff-Materialien sind aufgrund ihrer Eigenschaften interessant für eine Vielzahl von Anwendungsbereichen. Durch ihre offene Struktur und ihre hohe Oberfläche (innere und äußere Oberfläche) weisen sie eine ausgeprägte Fähigkeit zur Adsorption und katalytischen Aktivität auf.

Generell können verschiedene Typen poröser, anorganischer Festkörper-Materialien unterschieden werden, was ebenso auf die porösen Kohlenstoff-Materialien angewendet werden kann. Zum einen lassen sich poröse Materialien nach IUPAC-Definition anhand der Durchmesser ihrer Poren in mikro- (< 2 nm), meso- (> 2 nm und < 50 nm) und makroporöse (> 50 nm) Materialien klassifizieren.<sup>112</sup> Zum anderen können poröse Materialien in einer nicht strikten, eindeutigen Einteilung anhand der Struktur und Ordnung ihres Porensystems in geordnet und ungeordnet eingeteilt werden. Dabei weisen poröse Materialien mit einer geordneten Struktur eher Poren mit einheitlichem Porendurchmesser und gleicher Porengestalt auf, was zu einer engen Verteilung des Porendurchmessers führt. Diese Eigenschaft ist unabhängig davon, ob die Struktur des Festkörpers auf atomarer Ebene kristallin oder amorph ist. Poröse Materialien mit ungeordneter Struktur weisen tendenziell breitere Verteilungen der Porendurchmesser auf und besitzen dementsprechend Poren mit einer Vielzahl unterschiedlicher Durchmesser.<sup>17</sup>

Um die grundlegende Eignung mesoporöser Kohlenstoffe für eine Anwendung als Beschichtung neuronaler Elektroden erstmalig zu untersuchen, wurde im Rahmen dieser Arbeit exemplarisch ein spezieller Typ nanoporöser Kohlenstoffe ausgewählt. Die

Wahl fiel dabei auf den sogenannten CMK-3 (*Carbon Mesostructured by KAIST-3*). Als mesoporöser Kohlenstoff mit geordneter Porenstruktur wurde CMK-3 von *Jun et al.* im Jahr 2000 erstmals publiziert.<sup>113</sup> Die gut kontrollier- und einstellbaren Eigenschaften des CMK-3, wie beispielsweise enge und einheitliche Porenverteilung sowie Porendurchmesser im mesoporösen Bereich, machen ihn zu einem idealen Kandidaten, um als Ausgangsbasis für die Untersuchung des potentiellen Einsatzes nanoporöser Kohlenstoff-Materialien als Beschichtung neuronaler Implantate zu dienen. Aufgrund der Tatsache, dass CMK-3 in der Arbeitsgruppe *Behrens* bereits ein etabliertes Material darstellte, konnte der Fokus auf die Entwicklung beschichtungsfähiger Dispersionen und auf aus diesen hergestellte Filme des porösen Kohlenstoffs gelegt werden. Bei der Synthese des reinen CMK-3-Feststoffes konnte auf bekannte Synthesevorschriften zurückgegriffen werden.<sup>114,115</sup>

In den folgenden Unterabschnitten des Kapitels wird zuerst die Synthese nanoporöser Kohlenstoffe im Allgemeinen, aber auch die des CMK-3 im Speziellen, per templat-gestütztem Verfahren näher erläutert. Des Weiteren werden die Eigenschaften sowie die Struktur des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 beschrieben. Es folgt eine Zusammenstellung der Anwendungsgebiete nanoporöser Kohlenstoffe sowie ein kurzer Abschnitt mit Fokus auf mögliche Anwendungen nanoporöser Kohlenstoffe im Bereich der Biomedizin.

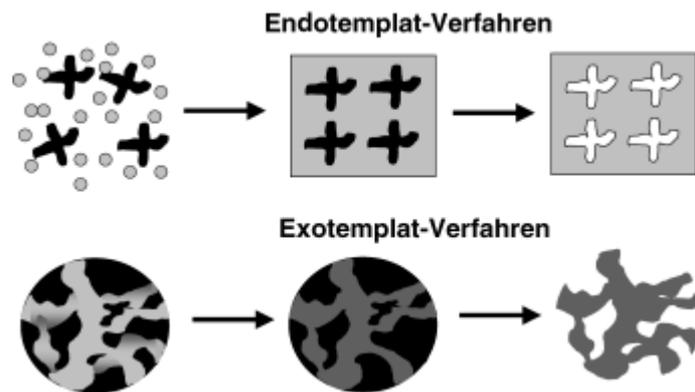
#### *Templat-gestützte Verfahren zur Herstellung nanoporöser Kohlenstoffe*

Für die Forschung und eine Vielzahl von Anwendungen besteht großes Interesse poröse Festkörper-Materialien und Festkörper-Materialien mit großer Oberfläche zu synthetisieren. Dies gilt für anorganische Materialien im Allgemeinen, aber auch für die in dieser Arbeit relevanten Kohlenstoff-Materialien.

Zur Herstellung von Materialien mit großer Oberfläche gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten. Zum einen lässt sich ein feinteiliges Bulkmaterial herstellen, das eine große spezifische Oberfläche aufweist, und zum anderen ein hoch poröses Bulkmaterial. Interessant ist vor allem die Steuerung von Struktur- und Textureigenschaften im Nanometerbereich. Beruhte zu Beginn die kontrollierte Synthese von porösen Festkörpern vor allem auf erfahrungsgemäßer Variation von Syntheseparametern, kam es in der Zeolith-Forschung mit den Templat-Synthesen erstmals zur Einführung von Designkonzepten. Zwar suggeriert der Begriff Templat (aus dem Englischen: *template*, dt.: Schablone), dass das Porensystem des synthetisierten Festkörpers eine Nachbildung des Templats ist. So ist dies bei mikroporösen Festkörpern in den seltensten Fällen zutreffend. Bei mesoporösen Festkörpern (z.B. inversen Opalen) hingegen lässt sich der

hergestellte Festkörper in vielen Fällen als exakte Negativ-Nachbildung des Templats ansehen. Daher wurde für solche Verfahren der Begriff *Nanocasting* (dt.: Nano-Gießen) populär.<sup>17,116</sup>

Bezüglich der Funktionsweise von Templaten lassen sich zwei unterschiedliche Strategien unterscheiden: das Endo- bzw. das Exotemplat-Verfahren. In Abbildung 2.20 sind diese beiden Verfahren schematisch dargestellt.



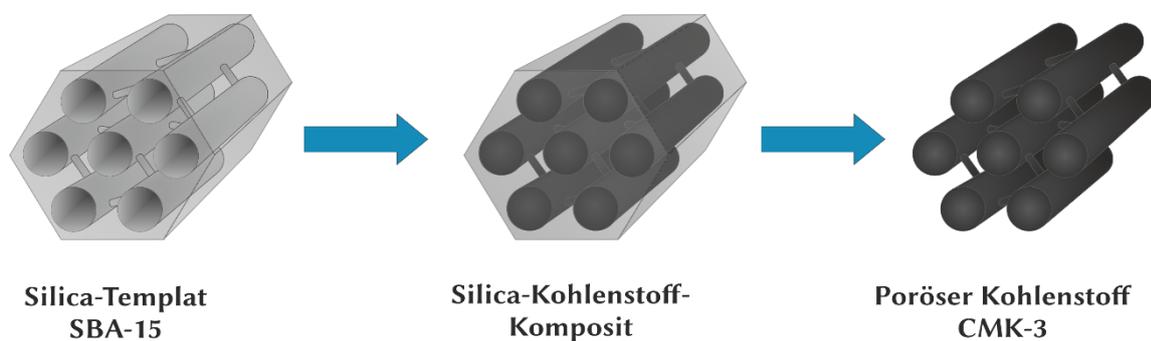
**Abbildung 2.20: Schematische Darstellung des Endo- und Exotemplat-Verfahrens zur Synthese poröser Materialien.** Beim Endotemplat-Verfahren (*oben*) werden molekulare und supramolekulare Spezies als Templat verwendet, die in den wachsenden Festkörper eingeschlossen werden. Im Exotemplat-Verfahren dienen poröse Feststoffe als Templat und werden von einer Vorläuferverbindung des zu synthetisierenden, späteren Feststoffes infiltriert. Beide Verfahren haben gemein, dass das jeweilige Templat vom zwischenzeitlich entstandenen Komposit-Material entfernt wird, um das gewünschte poröse Material zu erhalten.<sup>116</sup>

Für das Endotemplat-Verfahren werden molekulare und supramolekulare Spezies als Templat verwendet. Sie liegen als isolierte Vorstufen vor. Der zu synthetisierende Festkörper wächst um diese isolierten Einheiten herum und schließt sie ein. Beim Exotemplat-Verfahren hingegen wird von einem porösen Feststoff als Templat ausgegangen. Das Templat liegt anschaulich als Gerüst mit Hohlräumen vor. Diese werden von einer Vorläuferverbindung des späteren Feststoffes infiltriert. In beiden Fällen entsteht zwischenzeitlich ein Komposit-Material aus späterem, gewünschtem Feststoff und dem Templat. Durch selektive Entfernung des Templats wird jeweils das poröse Festkörper-Material bzw. der Feststoff mit großer Oberfläche erhalten.<sup>116</sup>

Die Synthese mesoporöser Kohlenstoff-Materialien mit einer geordneten Struktur analog zur Herstellung mesoporöser Silica-Materialien gestaltete sich lange Zeit als

sehr schwierig. Über eine an den klassischen Sol-Gel-Prozess angelehnte Synthese mit Hilfe eines tensid-basierten Templats ist dies nicht möglich. Durch die Verwendung von Exotemplaten, also fester Template (*engl.: hard templates*) auf der Basis mesoporöser Silica-Materialien, ergaben sich neue Möglichkeiten in der Herstellung periodischer Kohlenstoff-Strukturen. Mit diesem sogenannten *Nanocasting* lassen sich von einem Silica-Templat ausgehend über einen drei-stufigen Syntheseweg mesoporöse Kohlenstoffe mit geordneter Struktur herstellen.<sup>17,116</sup>

Diese von *Jun et al.* für den mesoporösen Kohlenstoff CMK-3 angewendete Synthesestrategie ist schematisch in der folgenden Abbildung 2.21 dargestellt.<sup>113</sup>



**Abbildung 2.21: Schematische Darstellung der *Nanocasting*-Synthesestrategie am Beispiel der Herstellung des geordneten mesoporösen Kohlenstoffs CMK-3.** Im ersten Schritt des *Nanocasting*-Prozesses zur Herstellung des mesoporösen Kohlenstoffs CMK-3 dient das per Sol-Gel-Prozess synthetisierte mesoporöse Silica-Material SBA-15 als Exotemplat zur Infiltration mit einem Kohlenstoff-Präkursor. Anschließend kommt es per thermischer Carbonisierung zur Bildung eines Silica-Kohlenstoff-Komposits. Im letzten Schritt wird das Silica-Netzwerk selektiv entfernt und der mesoporöse Kohlenstoff CMK-3 wird erhalten [nach<sup>115,117</sup>].

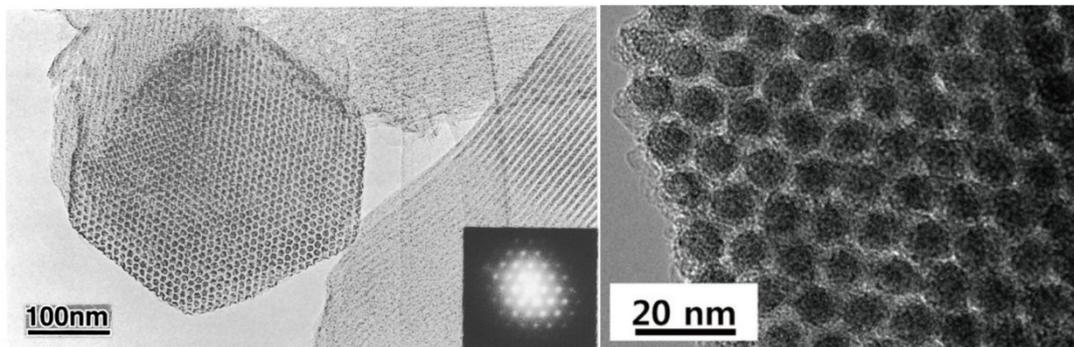
Als Exotemplat für die Synthese des Kohlenstoffs CMK-3 wird das mesoporöse Silica-Material SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous-15*) verwendet. Zuvor wurde SBA-15 über eine klassische Sol-Gel-Synthese mit Hilfe des Block-Copolymers *Pluronic P123* als Templat und Tetraethoxysilan (TEOS) als Silica-Vorläuferverbindung synthetisiert. Wie beim *Nanocasting* üblich, wird das Exotemplat von einer Kohlenstoff-Vorläuferverbindung, im Falle dieser Arbeit Glucose, infiltriert und so anschließend per thermischer Carbonisierung ein Silica-Kohlenstoff-Komposit hergestellt. Um den reinen porösen Kohlenstoff zu erhalten, wird im letzten Schritt der Herstellungs-Prozedur das Silica-

Templat selektiv entfernt. Dazu wurde in dieser Arbeit Flusssäure verwendet. Die genauen Prozeduren oder Parameter sowohl zur Synthese des Kohlenstoffs CMK-3 als auch zum verwendeten Silica-Templat SBA-15 sind im Abschnitt *Methoden und Materialien* in den jeweiligen Unterabschnitten des Kapitels 3.1.3 *Nanoporöser Kohlenstoff als Elektrodenmaterial* zu finden.

### *Struktur und Eigenschaften nanoporöser Kohlenstoffe*

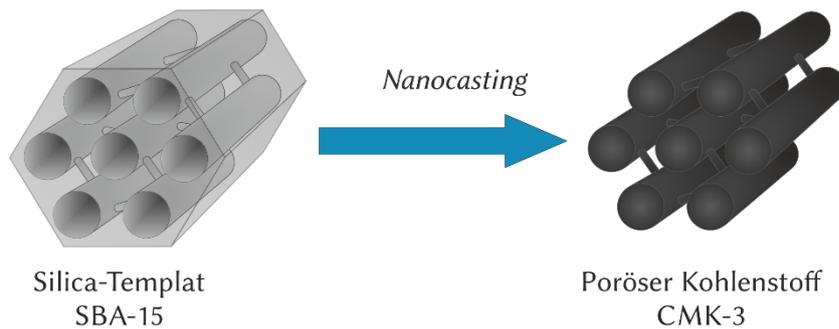
Nanoporöse Kohlenstoff-Materialien mit geordneter Struktur zeichnen sich im Allgemeinen durch sehr hohe spezifische Oberflächen (typischerweise 1300–2000 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>), einheitliche Porendurchmesser und hohe Adsorptionskapazitäten aus. Dazu weisen sie eine relativ hohe thermische, chemische und mechanische Stabilität auf. Für Syntheserouten bei niedrigen Temperaturen (700–1000 °C) sind die Kohlenstoffe hauptsächlich amorph und weisen nur geringe oder keine Graphitisierung auf. Bezüglich der Porenformen, ihrer Konnektivität und der Dicke der Porenwände gibt es eine enorme Vielzahl unterschiedlicher Kohlenstoff-Materialien, die abhängig von den unterschiedlichen Silica-Templaten mit verschiedensten Strukturen und Porendurchmessern synthetisiert wurden.<sup>17,18</sup>

In dieser Arbeit wurde das Silica-Templat SBA-15 zur Herstellung des mesoporösen Kohlenstoffs CMK-3 genutzt. Von *Jun et al.* erstmals im Jahr 2000 publiziert, zeigen die in Abbildung 2.22 gezeigten transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen die hexagonale Anordnung sowohl für die mikrometergroßen Partikel als auch auf der Ebene der Poren im unteren Nanometer-Bereich.



**Abbildung 2.22: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3.** Die linke Aufnahme zeigt entlang der Anordnung der Stäbchen bzw. Poren ein hexagonales, mikrometergroßes Partikel (*links in der Aufnahme*) sowie senkrecht zu der Richtung der Poren deren Anordnung (*rechts in der Aufnahme*).<sup>113</sup> In höherer Vergrößerung wird in der rechten Aufnahme die hexagonale Anordnung der Poren noch deutlicher.<sup>118</sup>

Gemäß des *Nanocasting*-Ansatzes und der Nutzung von SBA-15 als Exotemplat entsteht mit dem mesoporösen Kohlenstoff CMK-3 strukturell betrachtet eine exakte, inverse Replik des SBA-15. Die Strukturen beider Materialien sind in Abbildung 2.23 nochmals schematisch dargestellt. SBA-15 besteht aus hexagonal angeordneten zylindrischen Röhren mit einem Durchmesser von 9 nm, was analog zur honigwaben-artigen Struktur des Silicas MCM-41 (*Mobil Composition of Matter No. 41*) ist.<sup>119</sup> SBA-15 weist jedoch zusätzlich Verbindungen zwischen diesen Röhren durch Mikroporen in Porenwänden auf. Dementsprechend weist CMK-3 als inverses Replika Nano-Stäbe aus Kohlenstoff auf, die etwa einen Durchmesser von 7 nm aufweisen. Die Zentren zweier benachbarter Röhren sind im Abstand von 10 nm angeordnet, was zu einem Abstand der Oberflächen zweier Röhren von 3 nm führt. Die Kohlenstoff-Stäbe sind durch Abstandhalter verbunden, die ebenfalls aus Kohlenstoff bestehen. Sie entstehen durch die Kanalverbindenden Mikroporen von SBA-15, die bei der Synthese von CMK-3 mit Kohlenstoff ausgefüllt werden. Außerdem zeigen die synthetisierten Partikel des CMK-3 dieselbe Morphologie wie die Ausgangspartikel des Silica-Templats SBA-15.<sup>113,117,120,121</sup>



**Abbildung 2.23: Schematische Darstellung der Struktur des Silica-Templats SBA-15 sowie des porösen Kohlenstoffs CMK-3.** Das als Exotemplat genutzt Silica SBA-15 weist eine Struktur mit hexagonal angeordneten Röhren eines Durchmessers von 9 nm auf. Diese Kanäle sind durch Mikroporen in den Porenwänden verbunden. Als exaktes, inverses Replik zeigt die Struktur von CMK-3 Stäbchen mit einem Durchmessers von 7 nm, die durch Abstandhalter verbunden sind.

Die Struktur von CMK-3 führt zu einer Einordnung in die zwei-dimensionale Raumgruppe  $p6mm$ , analog zur Struktur von SBA-15. Diese hoch-geordnete hexagonale Struktur des Kohlenstoffs CMK-3 lässt sich nur durch die verbundenen Kanäle des SBA-15 erreichen. Bei vergleichbaren Synthesen mit MCM-41 als Templat entstehen Nano-Stäbe aus Kohlenstoff, die untereinander nicht verbunden sind. Somit kommt es in diesem nicht zur Ausbildung einer hexagonalen Struktur der Stäbe.<sup>113</sup>

Anzumerken ist, dass unter Verwendung des Templats SBA-15 nanoporöse Kohlenstoffe mit einer vom CMK-3 abweichenden Struktur erhalten werden können. Mit Hilfe angepasster Synthesebedingungen und einem anderen Kohlenstoff-Präkursor (z.B. Fulfurylalkohol) wird bei ansonsten analogem Syntheseweg der nanoporöse Kohlenstoff CMK-5 erhalten. Im Unterschied zu CMK-3 werden bei der Synthese von CMK-5 die Kanäle des Templats SBA-15 nur unvollständig gefüllt. Im weiteren Verlauf entstehen deshalb miteinander verbundene Röhren aus Kohlenstoff.

### *Potenzielle Anwendungsfelder nanoporöser Kohlenstoffe*

Nanoporöse Kohlenstoff-Materialien sind vor allem aufgrund ihrer sehr großen spezifischen Oberflächen, der Möglichkeit ihre Porenstruktur einzustellen und ihre Partikelmorphologie zu kontrollieren interessant für viele verschiedene Anwendungsbereiche. Folgende vier Bereiche gehören dabei zu den populärsten:

- Adsorbens für Makromoleküle<sup>19,122,123</sup>
- Trägermaterial in der heterogenen Katalyse<sup>20,124,125</sup>
- Superkondensatoren<sup>21,126–128</sup>
- Batterien bzw. Akkumulatoren.<sup>22,129–132</sup>

Es gibt eine enorme Vielzahl nanoporöser Kohlenstoff-Materialien, die auf unterschiedlichsten Wegen synthetisiert wurden und die in diesen Bereichen bereits verwendet werden oder ihre Eignung dahingehend untersucht wird. Doch im Speziellen für den in dieser Arbeit schwerpunktmäßig verwendeten mesoporösen Kohlenstoff CMK-3 gibt es in der Literatur für jeden dieser Bereiche veröffentlichte Beispiele.

Ein klassische Anwendung poröser Materialien ist die Verwendung als Adsorbens für Gase oder Makromoleküle in Anwendungsfeldern wie der Medizin, Trinkwasseraufbereitung, Abwasser- oder Abgasreinigung. Das häufig in diesen Bereichen verwendete Kohlenstoff-Material Aktivkohle weist dabei eine breite Verteilung ihrer Porendurchmesser auf, die sich vom mikro- über den meso- bis hin zum makroporösen Bereich erstreckt.<sup>122</sup> Dies bringt den Vorteil einer breiten Adsorption vieler verschiedener Moleküle mit stark unterschiedlichen Größen. Oxidische, Silica-basierte Materialien wie Zeolithe verfügen über klar definierte Porendurchmesser und können zur spezifischen Adsorption von Molekülen definierter Größe verwendet werden. Zur Adsorption bestimmter Moleküle ist die im Vergleich stärker ausgeprägtere Hydrophobizität von kohlenstoff-basierten Materialien von Vorteil. In diesen Fällen finden nanoporöse Kohlenstoffe wie der mesoporöse CMK-3 Anwendung. Für die Adsorption des beispielhaft ausgewählten Moleküls L-Histidin konnten *Vinu et al.* systematisch die effektivere Adsorption auf CMK-3 im Vergleich zum Silica-Templat SBA-15 und konventioneller Aktivkohle zeigen.<sup>123</sup> Zusätzlich dazu bietet das Kohlenstoff-Gerüst des CMK-3 die Möglichkeit einer Modifizierung mit funktionellen Gruppen, um die Effektivität der spezifischen Adsorption weiter zu erhöhen. *Jeong et al.* haben eine Funktionalisierung des CMK-3 mit Amin-Gruppen über einen dreistufigen Syntheseweg erreicht, der eine Oxidation mit Salpetersäure, Behandlung mit Thionylchlorid und anschließender Reaktion mit Ethylendiamin einschließt. Sowohl der so modifizierte CMK-3 als auch der nicht-modifizierte CMK-3 zeigten vielversprechende Ergebnisse in der Entfernung von Chemikalien aus Abwasser, die Benzolringe in ihrer Struktur aufweisen. Beispielhaft wurde dies anhand der Substanz Bisphenol-A untersucht.<sup>19</sup>

Als Trägermaterial in der heterogenen Katalyse finden poröse Kohlenstoff-Materialien wie beispielsweise Aktivkohle seit Beginn der Entwicklung der jeweiligen Ver-

fahren Anwendung. Im Zuge einer immer weiter fortschreitenden Spezialisierung, Optimierung und der Entwicklung neuer Verfahren werden auch spezifische Kohlenstoff-Materialien wie CMK-3 in diesem Bereich genutzt. So entwickelten *Hu et al.* einen recyclebaren Katalysator für die Oxidation von Phenol auf der Basis eines Komposits aus Eisen-Nanopartikeln als aktiver Katalysator und CMK-3 als Trägermaterial.<sup>125</sup> Nach ähnlichem Prinzip haben *Kuppan* und *Selvam* Platin-Nanopartikel direkt in der Struktur des CMK-3 per Reduktion synthetisiert und so ein effektives Katalysator-Material zur elektrokatalytischen Oxidation von Methanol erhalten.<sup>124</sup> Es gibt viele weitere Beispiele, bei denen vor allem Nanopartikel von Übergangsmetallen zur Katalyse von Oxidations- oder Hydrierungsreaktionen organischer Moleküle auf CMK-3 als Trägermaterial fixiert werden.<sup>20</sup>

Superkondensatoren sind eine spezielle Klasse elektrochemischer Energiespeicher-Medien und zeichnen sich vor allem durch die Möglichkeit des besonders schnellen Be- und Entladens aus. Aus diesem Grund sind sie vor allem für Einsatzgebiete interessant, bei denen in kurzer Zeit große Mengen an elektrischer Energie aufgenommen oder bereitgestellt werden müssen. Sie gehören, wie die bisher beschriebenen Beispiele, zu den Anwendungen, bei denen generell nanoporöse Kohlenstoff-Materialien wie Aktivkohle eingesetzt werden.<sup>128</sup> Gerade geordnete, mesoporöse Kohlenstoff-Materialien wie CMK-3 weisen jedoch aufgrund ihrer bereits beschriebenen Eigenschaften ein enormes Potential zum Einsatz als Elektroden-Material in Doppelschicht-Superkondensatoren auf. Dabei wurden bisher vor allem die Eignung von Kompositen aus einem geordneten, mesoporösen Kohlenstoff wie CMK-3 und Übergangsmetallverbindungen wie Oxiden, Sulfiden oder auch metall-organischen Gerüstverbindungen (MOFs; *engl.: metal-organic frameworks*) untersucht.<sup>21,126,127</sup> Es sind Komposite beschrieben worden, bei denen RuO<sub>2</sub> und CNTs in die Struktur des CMK-3 integriert und so deutlich höhere Leistungs- und Energiedichten gegenüber reinem CMK-3 erreicht wurden.<sup>126</sup> In anderen Veröffentlichungen führte schon die Kombination aus CNTs und CMK-3 als reines Kohlenstoff-Komposit-Material zu großen Kapazitätswerten, hohen Entladungsraten und guter Zyklenstabilität. Die CMK-3-Partikel dienten in den von *Yan et al.* beschriebenen Arbeiten als Kern und die direkt in der Struktur des CMK-3 synthetisierten Kohlenstoff-Nanoröhren als Hülle, woraus sich eine Morphologie der entstehenden Partikel ergab, die an die Rambutan- bzw. Litschi-Frucht erinnerte.<sup>127</sup> Neben diesen raffinierten Kombinationen verschiedener Materialien konnten *Mousavi Safavi* und *Kiani* zeigen, dass allein CMK-3 das Potential hat in Superkondensatoren verwendet zu werden und neben einer exzellenten Langzeitstabilität ebenso gute Werte für die elektrischen Kennzahlen liefert.<sup>21</sup>

Eine weitere Anwendung, bei denen Kohlenstoff-Materialien als Elektroden-Material eingesetzt werden, sind Batterien bzw. Akkumulatoren. Neben herkömmlichem Graphit, Aktivkohle oder Kohlenstoff-Nanopartikeln sind durch die Weiterentwicklung bestehender Batterietechnologien und Erforschung neuer Batterie-Konzepte geordnete, mesoporöse Kohlenstoffe wie CMK-3 immer mehr in den Fokus gerückt.<sup>22,129-132</sup> Klassischerweise dient das kohlenstoff-basierte Material als Anodenmaterial des Akkumulators bzw. der Batterie. Der Feststoff, der als Aktivmaterial dient, wird mit Hilfe eines Binderpolymers auf einer passiven Ableitelektrode aus Metall fixiert. Die Aufbringung auf die Oberfläche dieser Elektrode erfolgt über den Weg einer Elektrodenpaste oder Dispersion mit Hilfe verschiedenster Beschichtungsmethoden, wie Sprüh- oder Rakelbeschichtung. Diese Pasten oder Dispersionen beinhalten, neben dem Binderpolymer und dem dispergierten Kohlenstoff, flüchtige Lösungsmittel, die nach der Beschichtung der Elektrodenfolie in einem Trocknungsprozess wieder entfernt werden.<sup>130</sup> Saikia *et al.* haben in einer vergleichenden Studie die beiden mesoporösen Kohlenstoffe CMK-3 und den nicht strukturell verwandten CMK-8 auf ihre Eignung hin in Lithium-Ionen-Batterien als Anodenmaterial zu dienen untersucht und verglichen. Idee bei der Verwendung geordneter, mesoporöser Kohlenstoffe in Lithium-Ionen-Batterien ist es, durch die geordneten, mesoporösen Kanäle die Diffusionswege der Lithium-Ionen zu verkürzen und gleichzeitig durch die drei-dimensionale Struktur der Poren und ihrer Wände einen kontinuierlichen Pfad für den schnellen Elektronentransport zu liefern, was zu hohen Leitfähigkeiten führt.<sup>129</sup>

#### *Nanoporöser Kohlenstoff in der Biomedizin*

Ein Einsatz von nanoporösem Kohlenstoff in biomedizinischen Anwendungen ist bisher nicht so intensiv in den Fokus der Forschung gerückt, wie die oben beschriebenen Ideen zur Verwendung von Kohlenstoff-Nanoröhren in diesem Gebiet. Dennoch gibt es Beispiele, bei denen die Eignung nanoporöser Kohlenstoff-Materialien aber auch speziell von CMK-3 für den Einsatz im Rahmen biomedizinischer Anwendungen untersucht worden ist. Hier wurden bisher vor allem die zwei folgenden Anwendungsfälle beschrieben:

- Freisetzung von Wirkstoffen<sup>23,133</sup>
- Biologische Sensoren.<sup>24,134</sup>

Analog zu den Kohlenstoff-Nanoröhren oder auch anderen porösen Materialien, wie nanoporöser Silica, wird sich von nanoporösen Kohlenstoff-Materialien erhofft, sie

zur lokalen und kontrollierten Freisetzung von Wirkstoffen einzusetzen. Eine der wenigen Studien, bei denen explizit CMK-3 dafür verwendet wurde, ist 2013 von der Arbeitsgruppe um *Karavasili* vorgestellt worden. Hierbei wurde CMK-3 ohne jegliche post-synthetische Modifizierung eingesetzt, um die beiden hydrophoben Medikamente Ibuprofen und Indomethacin einzulagern. Sie stellten dabei unterschiedliche Freisetzungsprofile der beiden Medikamente in simulierter Magenflüssigkeit (pH = 1.2) fest. Wie bei allen biomedizinischen Anwendungen ist die Bio- bzw. Zytokompatibilität der eingesetzten Materialien von entscheidender Bedeutung. Mit Hilfe von Experimenten mit der Caco-2-Zelllinie konnten durch Beobachtung der Zell-Profilierung und -Viabilität positive Resultate diesbezüglich gezeigt werden. Gleichzeitig konnten sie die zelluläre Aufnahme von CMK-3-Partikeln in diese Zellen nachweisen und so erfolgreich zeigen, dass CMK-3 als Carrier für schlecht wasserlösliche Wirkstoffe dienen kann.<sup>23</sup> Mit einer vergleichbaren Vorgehensweise untersuchten *Kim et al.* bereits 2008 die Verwendung von CMK-1 als Carrier für Wirkstoffe, die im Normalfall die Membran von Zellen nicht durchdringen können. Auch in diesem Fall zeigten sich positive Resultate bezüglich Biokompatibilität des Kohlenstoff-Materials, der effektiven zellulären Aufnahme von wirkstoff-beladenen CMK-1-Partikeln und lokalen Freisetzung des Wirkstoffes innerhalb von Zellen der untersuchten Zelllinie.<sup>133</sup>

Analog zum Einsatz von Kohlenstoff-Nanoröhren in Sensor-Anwendungen und der im vorangegangenen Unterkapitel beschriebenen Verwendung nanoporöser Kohlenstoffe als Elektroden-Material, zeigen nanoporöse Kohlenstoff-Materialien wie CMK-3 vielversprechende Ergebnisse in Bio-Sensor-Anwendungen. Beispielfähig lassen sich hier die Arbeiten von *Kochana et al.* nennen. Sie immobilisierten das Enzym Tyrosinase auf CMK-3 und synthetisierten durch den Zusatz des poly-kationischen Polymers *poly*-Diallyldimethyl-Ammoniumchlorid (PDDA), Nafion und eines TiO<sub>2</sub>-Sols eine Matrix, mit Hilfe derer sie das enzym-beladene Kohlenstoff-Material auf einer Graphit-Elektrode aufbrachten. So erhielten sie einen elektrochemischen Bio-Sensor zum Nachweis von Tyramin, einer toxischen Substanz, die in eiweiß-haltigen Lebensmittel vorkommen kann.<sup>134</sup> Nicht explizit CMK-3, aber ein mit Hilfe des Templats SBA-15 und strukturell sehr ähnlicher nanoporöser Kohlenstoff, wurde von *Bao et al.* 2012 per Mikrowellen-Synthese hergestellt. In diesem Fall wurde das Protein Hämoglobin auf dem Kohlenstoff-Material immobilisiert, welches auf eine Kohlenstoff-Elektrode aufgebracht wurde. Über elektrochemische Untersuchungen konnten sie zeigen, dass die so präparierte Elektrode als sensitiver Bio-Sensor für Wasserstoffperoxid dienen kann.<sup>24</sup>

Weitere analoge Anwendungen von nanoporösen Kohlenstoffen im Bereich der Biomedizin sind denkbar und es wird deutlich, welches Potential der Einsatz von CMK-3

aufgrund seiner Eigenschaften aufweist. Sowohl die beschriebenen Beispiele, bei denen CMK-3 als Elektroden-Material eingesetzt wurde, als auch die positiven Resultate bezüglich der Bio- bzw. Zytokompatibilität dieses Materials dienten als Motivation CMK-3 in dieser Arbeit zu verwenden, um eine Eignung als Material zur Beschichtung neuronaler Elektroden zu untersuchen.



## 3 Methoden und Materialien

Im ersten Abschnitt dieses Kapitels werden die in dieser Arbeit angewendeten präparativen Methoden beschrieben. Im zweiten Abschnitt folgen die verwendeten analytischen Methoden inklusive der Beschreibung des Ablaufs sowie die Parameter der durchgeführten Messungen und Charakterisierungsmethoden.

### 3.1 Präparative Methoden

In den folgenden Unterkapiteln werden die Durchführung der Experimente und Herstellungsverfahren erläutert. Außerdem werden die verwendeten Materialien und die genutzten Beschichtungsverfahren beschrieben.

Für die Synthesen und Reinigungsprozeduren wurde ausschließlich Reinstwasser verwendet. Dies weist eine Leitfähigkeit von  $0.055 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  auf und wurde über eine Anlage des Typs *MicroPure* (*Thermo Electron LED GmbH*, Deutschland) gereinigt. Die verwendeten organischen Lösungsmittel Aceton ( $\geq 99.5\%$ ), Ethanol ( $\geq 99.8\%$ ) und Isopropanol ( $\geq 99.5\%$ ) wurden von *Carl Roth* (Deutschland) bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet.

#### 3.1.1 Substratmaterialien

In diesem Abschnitt wird erläutert, welche Substratmaterialien verwendet bzw. wie die Substrate hergestellt wurden. Außerdem wird die Durchführung des Reinigungsprozesses beschrieben, welcher für alle Substrate vor den Beschichtungsprozessen durchgeführt wurde.

##### *Bezugsquellen der verwendeten Substratmaterialien*

Für die Beschichtungen mit unterschiedlichen Kohlenstoff-Materialien wurden sowohl Edelmetall-Substrate aus Gold vor allem aber aus Platin genutzt.

Als Goldsubstrate wurden mit Gold beschichtete Silicium-Wafer (Au-Orientierung  $\langle 111 \rangle$ , Si-Orientierung  $\langle 100 \rangle$ ; *Sigma Aldrich*, Deutschland) verwendet. Auf die native  $\text{SiO}_2$ -Schicht der Silicium-Wafer wurde vom Hersteller eine 5 nm dicke Haftschiicht aus Titan aufgebracht. Die darauf aufgebraachte Goldschicht weist eine Dicke von 100 nm auf. Üblicherweise wurden Substrate der Größe  $1.5 \times 1.5 \text{ cm}^2$  verwendet. Die Wafer wurden dazu mit Hilfe eines Diamant-Schreibers geritzt und in die entsprechende Größe der

benötigten Probenstücke gebrochen. Alternativ wurden sie mit einer Präzisions-Trennschleifmaschine Disco DAC551 (*Disco Hi-Tec Europe GmbH*, Deutschland) am *Institut für Mikroproduktionstechnik* (IMPT) der *Leibniz Universität Hannover* in ebenfalls 1.5 x 1.5 cm<sup>2</sup> große Probenstücke geteilt.

Platin-Substrate wurden vom IMPT angefertigt. Dabei wurden 4-Zoll Silicium-Wafer (Durchschnittliche Dicke: 525 µm, Si-Orientierung <100>; *Siegert Wafer*, Deutschland) verwendet, was einem realen Durchmesser von 100 mm der Wafer entspricht. Die Silicium-Wafer wurden ebenfalls mit einer dünnen Haftschrift aus Titan versehen. Anschließend wurde in einer Kathodenzerstäubungs- bzw. Sputteranlage (*MRC-Materials Research Corporation*, USA) eine 100 nm Schicht aus Platin aufgebracht. Die Wafer wurden ebenfalls mit einer Trennschleifmaschine in 1.5 x 1.5 cm<sup>2</sup> große Probenstücke geteilt.

Vor dem Trennschleif-Prozess wurde zum Schutz der empfindlichen Metalloberfläche der Fotolack *AZ 9260* (*MicroChemicals*, Deutschland) aufgetragen. Dieser wurde vor der eigentlichen Reinigung und Verwendung der Probenstücke durch gründliches Abspülen – zuerst mit Aceton und anschließend mit Isopropanol – entfernt. Nach Trocknung der Substrate im Stickstoff-Strom erfolgte die im Folgenden beschriebene Reinigung.

### *Reinigung der Substrate mit Piranha-Säure*

Für alle Beschichtungen wurden die Gold- und Platin-Substrate direkt vor dem eigentlichen Beschichtungsvorgang mit Hilfe von Piranha-Säure gereinigt. Dazu wurden die Substrate aufrecht in einer Halterung aus Teflon fixiert. Anschließend wurden sie mindestens 30 Minuten mit frisch angesetzter Piranha-Säure-Lösung behandelt. Diese wurde aus konzentrierter Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 98%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) und Wasserstoffperoxid-Lösung (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, > 35%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) im Verhältnis von 2 zu 1 hergestellt. Danach wurden die Substrate nacheinander intensiv mit Reinstwasser, Ethanol und Isopropanol gespült und in der jeweiligen Lösung mindestens 15 Minuten unter Rühren gelagert. Direkt vor der Beschichtung wurden die einzelnen Substrate im Stickstoff-Strom getrocknet. Um optimale Benetzungseigenschaften der Oberflächen zu gewährleisten, wurde der Beschichtungsprozess jeweils direkt nach dem Reinigungsvorgang durchgeführt.

### 3.1.2 Kohlenstoff-Nanoröhren als Elektrodenmaterial

In diesem Abschnitt werden die einzelnen Schritte beschrieben, die nötig waren, um Kohlenstoff-Nanoröhren als Beschichtungsmaterial für Edelmetallelektroden einsetzen zu können. Einem Aufreinigungs- und Modifizierungsprozess der Kohlenstoff-Nanoröhren folgte die Herstellung langzeitstabiler wässriger Dispersionen. Diese Dispersionen wurden in einem Sprühbeschichtungsprozess zur Beschichtung von Platin- und Goldsubstraten eingesetzt.

#### *Bezugsquellen der unterschiedlichen verwendeten Kohlenstoff-Nanoröhren*

Für den Hauptteil der im Folgenden beschriebenen Experimente und durchgeführten Zellkulturuntersuchungen wurden zwei unterschiedliche *single wall nanotubes* (SWNTs; *SWeNT CG200*, *SouthWest NanoTechnologies*, USA und *SWCNT*, *Fraunhofer IWS Dresden*, Deutschland) und eine Sorte von *multi wall nanotubes* (MWNTs; *Baytubes C70P*, *Bayer MaterialScience*, Deutschland) verwendet. Einzelne Experimente zur Aufreinigung und Modifizierung der Kohlenstoff-Nanoröhren und Untersuchungen wurden außerdem mit weiteren SWNTs durchgeführt: *Tuball SWNT75* (*OCSiAl Ltd.*, Deutschland), *SWeNT CG300* (*SouthWest Nanotechnologies*, USA), *SWeNT SG65i* (halbleitend; *SouthWest Nanotechnologies*, USA) und *NC1101* (Carboxyl-modifiziert; *Nanocyl*, Belgien).

#### *Aufreinigung und Modifizierung der Kohlenstoff-Nanoröhren*

Die unterschiedlichen Kohlenstoff-Nanoröhren der verschiedenen Hersteller wurden jeweils demselben Aufreinigungs- bzw. Modifizierungsprozess unterzogen. Um etwaige Katalysator-Rückstände aus dem Herstellungsprozess der Kohlenstoff-Nanoröhren zu entfernen und die Kohlenstoff-Nanoröhren mit Carboxyl-Gruppen (COOH-Gruppen) zu modifizieren, wurden die von den Lieferanten bereitgestellten CNTs mit einer oxidierenden Säure behandelt.<sup>135–137</sup> Zu den CNT-Formulierungen wurde konzentrierte Salpetersäure (HNO<sub>3</sub>, 70%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) langsam zugetropft, um eine zu heftige Reaktion zu vermeiden. Je nach CNT-Ausgangsmaterial wurden unterschiedliche Ansatzgrößen verwendet. Es wurde von 250 mg und von 3.5 g CNT-Ausgangsmaterial ausgegangen. Dabei wurden jeweils zwischen 50 und 100 mL Salpetersäure pro Gramm des CNT-Ausgangsmaterials verwendet. Anschließend wurde die Temperatur auf 130 °C erhöht und das Gemisch sechs Stunden mit konzentrierter Salpetersäure unter Rückfluss behandelt. Entstehende nitrose Gase wurden in regelmäßigen Abständen mit Hilfe eines Argon-Gasstroms ausgetrieben. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch in das doppelte Volumen Reinstwasser

gegossen. Es folgten diverse Wasch- und Zentrifugierschritte jeweils mit Reinstwasser, bis ein  $pH$ -Wert größer zwei erreicht wurde und die CNTs nicht mehr per Zentrifugation von der Waschlösung abtrennbar waren. Anschließend wurde das Gemisch für eine Woche in dest. Wasser dialysiert, wobei die Dialyselösung in regelmäßigen Abständen ausgetauscht und der  $pH$ -Wert überprüft wurde. Für große Volumina (ca. 250 mL) wurde ein Dialyseschlauch (Typ 27/32, Wandstärke: 0.023 mm, Breite 34 mm, Durchmesser: 21.5 mm, MWCO: 14 kD; *Visking, Carl Roth*, Deutschland) und für geringe Volumina (ca. 20 mL) ein Dialyseröhrchen (MWCO: 6–8 kDa; *Pur-A-Lyzer Mega 600 Dialysis Kit, Sigma Aldrich*, Deutschland) verwendet. Nach Beendigung des Dialyseprozesses wurde das Gemisch in einen Kolben überführt. Eine anschließende Gefriertrocknung führte zu einem leichten und voluminösen CNT-Feststoff.

### *Herstellung von wässrigen Dispersionen aus modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren*

Zur Herstellung langzeitstabiler wässriger Dispersionen aus den verschiedenen aufgereinigten und modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren wurden die Kohlenstoff-Nanoröhren-Pulver zuerst in Reinstwasser vordispersiert. Dazu wurde CNT-Pulver in einem Massenanteil von 0.1 m% zum Wasser hinzugefügt und in einem Glasgefäß mindestens 30 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Anschließend erfolgte eine Behandlung mit einem Ultraschalldesintegrator (*Branson Digital Sonifier 450D, Branson Ultrasonics*, USA) bei einer Leistung von 160 W für eine Stunde.

Analog wurde auch bei SWNTs des Typs *NC1101* vom Hersteller *Nanocyl* (Belgien) verfahren, die vom Hersteller bereits eine Oberflächenmodifizierung mit Carboxyl-Gruppen erhalten hatten und daher nicht weiter behandelt wurden. Außerdem wurde auch der Versuch unternommen unbehandelte CNTs auf diese Weise in Wasser zu dispergieren.

Damit die Dispersionen der Kohlenstoff-Nanoröhren für Beschichtungsversuche verwendet werden konnten, wurden sie mit Reinstwasser auf einen CNT-Massenanteil von 0.01 m% weiter verdünnt.

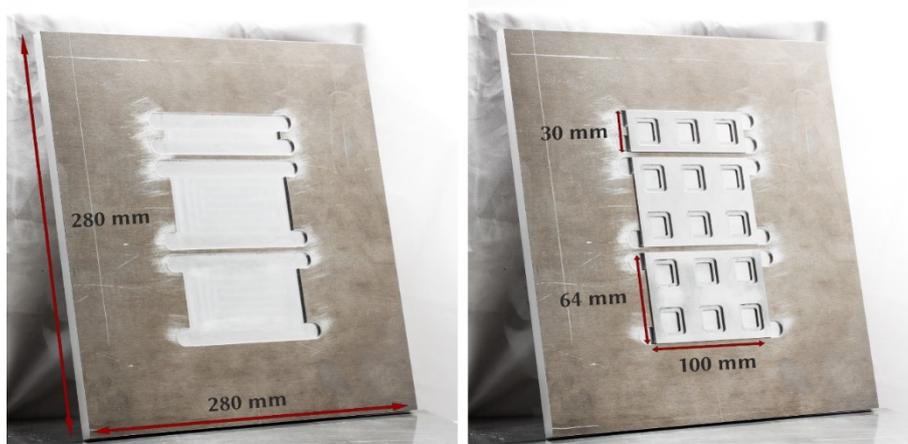
### *Beschichtung mit Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Für die manuelle Sprühbeschichtung wurde eine Airbrush-Pistole des Typs *AFC-101A* des Herstellers *Conrad Electronic* mit einer 0.35 mm Edelstahlsteckdüse verwendet. Als Trägergas wurde Stickstoff mit einem Druck von 3 bar genutzt. In einer Halterung aus Aluminium wurden drei Substrate auf einer Heizplatte platziert, die auf

120 °C geheizt wurde. Es wurden 2 mL-Portionen der Beschichtungslösung in den Flüssigkeitsbehälter der Sprühpistole gefüllt, insgesamt wurden 12 mL verwendet. Der vollständige Beschichtungsvorgang bestand aus 500 einzelnen, kurzen Sprühstößen.

Die automatisierte Sprühbeschichtung der Substrate erfolgte mit Hilfe eines Sprühroboters. Hierbei handelte es sich um einen Tischroboter *Tabletop-Roboter TT* der Firma *Walther Systemtechnik* (Deutschland), welcher mit einem ansteuerbaren *xyz*-Arm, einem Sprühventil des Typs *SMS-02* und einer externen Heizplatte ausgestattet war. Zur Programmierung des Roboters wurde die Software *PC Interface Software for X-SEL 7.6.6.0* der Firma *IAICorp* verwendet. Das verwendete Sprüh-Programm wurde in der *SEL*-Sprache geschrieben.

Mit Hilfe der automatisierten Sprühbeschichtung war es möglich eine größere Anzahl an Substraten gleichzeitig innerhalb eines Vorgangs zu beschichten. Dazu wurde eine Halterung aus Aluminium angefertigt, in der bis zu 15 Substrate für die Sprühbeschichtung fixiert werden konnten. Diese Halterung wurde auf der Heizplatte platziert. Durch die Verwendung von Aluminium wurde eine gute Wärmeübertragung zwischen der Heizplatte und der Halterung sowie der Halterung und den Substraten sichergestellt. Die Halterung ist in Abbildung 3.1 dargestellt.



**Abbildung 3.1:** Darstellung der Halterung aus Aluminium zur Fixierung von bis zu 15 Substraten für die automatisierte Sprühbeschichtung.

Durch die Halterungen wurde die zu beschichtende Fläche der einzelnen Substrate von 225 mm<sup>2</sup> (15 x 15 mm<sup>2</sup>) auf 196 mm<sup>2</sup> (14 x 14 mm<sup>2</sup>) verringert. Das Beschichtungsprogramm wurde so erstellt, dass die Substrate jeweils mit 500 Sprühstößen beschichtet wurden. Dazu wurden die einzelnen Zeilen und Spalten der Probenhalterung jeweils nacheinander aus beiden Richtungen 125 Mal durch den Roboter abgefahren. Das gesamte Programm, welches aus dem Hauptprogramm und zwei Unterprogrammen besteht, ist im Anhang in Abbildung 7.1 gezeigt.

Als Trägergas wurde ebenfalls Stickstoff verwendet, wobei ein Vordruck von 5 bar, ein Materialdruck von 1 bar und ein Zerstäuberdruck von 0.6 bar eingestellt wurde. In die große Kartusche des Sprühventils wurden 90 mL Beschichtungslösung gefüllt. Es wurde eine Runddüse verwendet und das Ventil wurde mit 15 Klicks geöffnet. Die Heizplatte wurde auf eine Temperatur von 150 °C eingestellt, was einer effektiven Temperatur von 130 °C auf der Aluminiumplatte entsprach (per Kontaktthermometer überprüft).

Sowohl bei der manuellen als auch bei der automatisierten Sprühbeschichtung wurden die Proben im Anschluss an den Beschichtungsvorgang für 24 h im Umluftofen bei 60 °C getrocknet.

### 3.1.3 Nanoporöser Kohlenstoff als Elektrodenmaterial

Der nanoporöse Kohlenstoff CMK-3 wurde über eine Templat-Synthese mit Hilfe des nanoporösen Silicas SBA-15 hergestellt. Damit dieser Kohlenstoff als Material zur Beschichtung von Metall-Substraten bzw. Elektroden dienen konnte, wurden im Folgenden Elektrodenpasten und Dispersionen aus diesem Kohlenstoff hergestellt. Des Weiteren sind in diesem Abschnitt die verwendeten Beschichtungsmethoden beschrieben.

#### *Synthese des nanoporösen Silica-Templats SBA-15*

Die Synthese des Silica-Templats SBA-15 basierte auf den Arbeiten von *Zhao et al.*<sup>121,138</sup> und *Heinroth*<sup>115</sup>. In einem Rundkolben wurden 400 mL Salzsäure (2 M; *Sigma Aldrich*, Deutschland) vorgelegt und auf 30 °C erwärmt. Anschließend wurden 20.1 g des Block-Copolymers *Pluronic P123* (3.5 mmol, 1.8 eq; *Sigma Aldrich*, Deutschland) im Umluftofen bei 60 °C verflüssigt, langsam hinzugegeben und für ca. 3 h kräftig gerührt, bis eine homogene, schlierenfreie Mischung entstanden war. Nach Erhöhung der Temperatur auf 40 °C wurden 42 mL Tetraethoxysilan (TEOS, 190 mmol, 1.0 eq; *Sigma Aldrich*, Deutschland) hinzugefügt und für weitere 12 h bei 40 °C gerührt.

Es bildete sich ein voluminöser, weißer Niederschlag. Das gesamte Reaktionsgemisch wurde in ein Polypropylen-Gefäß (PP) überführt und alterte für 72 h bei 100 °C im Umluftofen. Nach der Alterungszeit und Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Feststoff mit Hilfe von Unterdruck abfiltriert und mit dest. Wasser so lange gewaschen, bis das Waschwasser neutral war und es zu keiner Schaumbildung mehr kam. Anschließend wurde der Feststoff mehrfach mit Ethanol gewaschen und 24 h bei 90 °C im Umluftofen getrocknet. Zur Entfernung des Polymers wurde der Feststoff im Calcinationsofen an Luft für 12 h bei 500 °C mit einer Aufheizrate von 4 °C·min<sup>-1</sup> calciniert.

#### *Herstellung des Silica-Kohlenstoff-Komposits*

Die Synthese des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 erfolgte über die Exotemplat-Synthese (*siehe: 2.2.2*) mit Hilfe des nanoporösen Silica-Templats SBA-15. Als Zwischenschritt wurde dabei über die Infiltration des Kohlenstoffpräkursors Saccharose und anschließender Carbonisierung ein Silica-Kohlenstoff-Komposit hergestellt.<sup>113,115</sup>

Folgende zweistufige Reaktionsvorschrift gilt für ein Gramm des Silica-Templats SBA-15 und wurde je nach erhaltener Menge des Templats bzw. gewünschter Menge des Produkts dementsprechend angepasst. Im ersten Imprägnationsschritt wurden 1.3 g Saccharose (*Sigma Aldrich*, Deutschland) in 5 mL Wasser gelöst und 80 µL konzentrierte Schwefelsäure (96%) zugegeben. Zu der klaren Lösung wurde 1 g des Templats SBA-15 langsam portionsweise hinzugegeben und die entstandene weiße viskose Masse anschließend 10 min kräftig gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch zuerst für 6 h bei 100 °C und dann für weitere 6 h bei 160 °C im Umluftofen behandelt. Für den zweiten Imprägnationsschritt wurde diese Prozedur mit dem entstandenen braunen Pulver wiederholt. Das braune Pulver wurde dafür einer äquivalenten Saccharose-Lösung hinzugefügt und anschließend demselben Temperaturprogramm unterzogen.

Zur Carbonisierung der Kohlenstoffvorläuferverbindung wurde das Produkt in einem Calcinationsofen für 3 h im Argon-Strom bei 900 °C erhitzt. Zuvor wurde die Temperatur mit einer Aufheizrate von 1 °C·min<sup>-1</sup> erhöht.

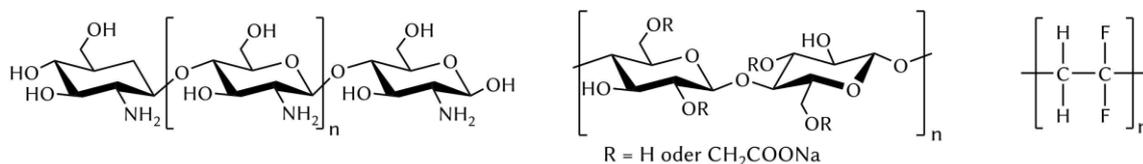
#### *Entfernung des Silica-Templats und Herstellung des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3*

Zur Entfernung des Silica-Templats aus dem erhaltenen Silica-Kohlenstoff-Komposit wurde Flusssäure (40%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) verwendet. In einem Polypropylen-Becherglas wurden zu 1 g des Silica-Kohlenstoff-Komposits unter vorsichtigem Rühren 7.2 mL Flusssäure gegeben. Anschließend wurde das Gemisch für 5 h gerührt.

Nach dem Ätzzvorgang wurde der schwarze Feststoff abfiltriert und intensiv mit dest. Wasser und anschließend mit Ethanol gewaschen. Die Trocknung des Feststoffes erfolgte anschließend bei 80 °C im Umluftofen.

### Herstellung von Elektrodenpasten

Zur Herstellung von Elektrodenpasten aus dem nanoporösen Kohlenstoff CMK-3 wurde der Kohlenstoff mit Hilfe eines Binder-Polymers in einem Lösungsmittel dispergiert. Als Vergleich wurde ebenfalls eine kommerziell hergestellte, pulverförmige Aktivkohle (*Sigma Aldrich*, Deutschland; reinst, Methylenblau-Adsorption  $\geq 12$  ml) verwendet und analog zu Elektrodenpasten verarbeitet. Diese Elektrodenpasten konnten im Folgenden für die Beschichtung von Elektroden genutzt werden. Es wurden drei unterschiedliche Binder-Polymere verwendet: Chitosan (Chit)<sup>130</sup>, das Natriumsalz der Carboxymethylcellulose (CMC)<sup>139</sup> und Polyvinylidenfluorid (PVDF)<sup>140</sup>. Die Strukturformeln dieser drei Binder-Polymere sind in Abbildung 3.2 dargestellt.



**Abbildung 3.2: Strukturformeln der drei in dieser Arbeit verwendeten Binder-Polymere zur Herstellung der Elektrodenpasten aus nanoporösen Kohlenstoffen:** Chitosan (Chit), das Natriumsalz der Carboxymethylcellulose (CMC) und Polyvinylidenfluorid (PVDF) (von links nach rechts).

Es wurde Chitosan (mittleres Molekulargewicht; *Sigma Aldrich*, Deutschland) mit einem Deacetylierungsgrad von 75–85% verwendet. Einzelne Experimente wurden mit einem Chitosan mit geringerem Molekulargewicht (Deacetylierungsgrad:  $\geq 75\%$ ; *Sigma Aldrich*, Deutschland) durchgeführt. Zur weiteren Verwendung in den Elektrodenpasten wurde das Chitosan in 6-%iger Essigsäure (0.1 M; *Sigma Aldrich*, Deutschland) mit einer Konzentration von 7.5–30 mg·mL<sup>-1</sup> gelöst. Außerdem wurden Elektrodenpasten aus drei unterschiedlichen Natriumsalzen der Carboxymethylcellulose (*Sigma Aldrich*, Deutschland) hergestellt: mittlere Viskosität (Substitutionsgrad: 0.60–0.95), Molekulargewicht: 90.000 g·mol<sup>-1</sup> (Substitutionsgrad: 0.7) und Molekulargewicht: 250.000 g·mol<sup>-1</sup> (Substitutionsgrad: 0.7). Diese wurden jeweils in Reinstwasser gelöst

(13.8–44 mg·mL<sup>-1</sup>). Als einziges vollständig synthetisches Binder-Polymer wurde pulverförmiges PVDF (*Sigma Aldrich*, Deutschland) mit einem vom Hersteller angegebenen mittleren Molekulargewicht von 534.000 g·mol<sup>-1</sup> verwendet. Zur Herstellung der Polymer-Lösung (31–54 mg·mL<sup>-1</sup>) wurde *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP, ≥ 99%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) verwendet.

Bei der Herstellung der Elektrodenpasten wurden sowohl die Massenkonzentration der Binder-Polymer-Lösung, als auch das Massenverhältnis Binder-Polymer zu Kohlenstoff sowie das Volumen an Binder-Polymer-Lösung pro Gramm Kohlenstoff variiert.

Unabhängig von der Materialzusammensetzung erfolgte die Herstellung der Elektrodenpasten nach einer allgemeinen Vorgehensweise. Das Binder-Polymer wurde in dem jeweiligen Lösungsmittel mit einem definierten Massengehalt durch Einsatz eines Vortexmischers und Lagerung für 12 Stunden bei 60 °C im Umluftofen gelöst. Dabei wurde der Massengehalt des Binder-Polymers so variiert, dass die Viskosität der Lösung eine gute Verarbeitung ermöglichte und sich die daraus hergestellte Elektrodenpaste für die Beschichtung eignete. Ein bestimmtes Volumen (2–3.5 mL) der Binder-Polymer-Lösung wurde tropfenweise zu einer definierten Menge des Kohlenstoff-Materials (500 mg) hinzugefügt. Das Gemisch wurde währenddessen mit Hilfe eines Metallspatels gut durchmischt. Nach dieser Vorvermischung erfolgte der eigentliche Vermischungsvorgang nach zwei unterschiedlichen Prozeduren.

Zur Vermischung der drei Komponenten wurde zum einen eine sogenannte duale asymmetrische Zentrifuge des Typs *SpeedMixer*<sup>TM</sup> der Firma *Hauschild & Co. KG* (Deutschland) verwendet. Es wurde ein Mischprogramm durchgeführt, welches aus fünf Zyklen à 2 min bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 1140 rpm bestand. Die Vermischung erfolgte in 12 mL-PP-Bechern.

Als weitere Methode zur Vermischung bei der Herstellung der Elektrodenpasten diente eine Planetenkugelmühle des Typs *PM100* des Herstellers *Retsch* (Deutschland). Kohlenstoff und Binder-Polymer-Lösung wurden dazu direkt in einem Mahlbecher (ZrO<sub>2</sub>, Mahlbechergröße: 50 mL), wie oben beschrieben, vermengt. Zu der vorvermischten Paste wurde eine ZrO<sub>2</sub>-Mahlkugel (Durchmesser: 2 cm) gegeben. Es wurde ein 20-minütiges Mahlprogramm mit einer Drehzahl von 400 rpm angewendet, bei dem alle fünf Minuten die Drehrichtung gewechselt wurde.

Sowohl die Vermischung in der dualen asymmetrischen Zentrifuge als auch in der Planetenkugelmühle zur Herstellung der Elektrodenpasten wurden direkt vor den Beschichtungsvorgängen ausgeführt, da sich die Elektrodenpasten nicht als langzeitstabil erwiesen und zu zeitnahe Eintrocknen neigten.

### *Herstellung von Dispersionen der porösen Kohlenstoffe*

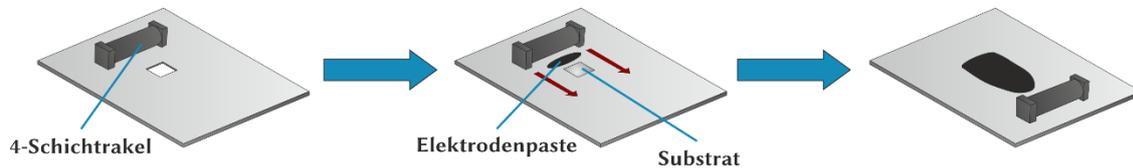
Zur Anwendung bei der Sprühbeschichtung wurden wässrige Dispersionen der porösen Kohlenstoffe mit Chitosan als Binder-Polymer hergestellt, die eine deutlich geringere Viskosität als die für die Rakelbeschichtung verwendeten Elektrodenpasten aufwiesen. Dafür gab es zwei unterschiedliche Vorgehensweisen. Zum einen wurden die fertig vermischten Elektrodenpasten direkt mit Reinstwasser im Verhältnis 1:100 verdünnt. Zum anderen wurden die einzelnen Komponenten, Binder-Polymerlösung, Kohlenstoff und Wasser, direkt in einem Gefäß mit Hilfe eines Ultraschalldesintegrators vermischt. Dazu wurden 2 mL der entsprechenden Chitosan-Lösung mit 18 mL Reinstwasser verdünnt und anschließend erfolgte die Zugabe des Kohlenstoffs. Das Gemisch wurde für 30 Minuten im Ultraschall-Bad behandelt und danach mit weiteren 180 mL Reinstwasser verdünnt. Die Dispersion wurde mit einem Ultraschalldesintegrator (*Branson Digital Sonifier 450D, Branson Ultrasonics, USA*) bei einer Leistung von 100 W für 15 Minuten behandelt.

### *Beschichtungsmethoden zur Herstellung von Elektrodenbeschichtungen aus porösen Kohlenstoffen*

Zur Beschichtung der Metallsubstrate mit Elektrodenpasten aus porösem Kohlenstoff bzw. Aktivkohle wurde neben der Methode der Rakelbeschichtung ebenfalls die Sprühbeschichtung eingesetzt. Das grundlegende Prozedere der Rakelbeschichtung zur Herstellung von kohlenstoffhaltigen Beschichtungen für Elektroden basiert auf den Arbeiten von *Thomas Marks et al.* und wurde für die spezifischen Voraussetzungen angepasst und modifiziert.<sup>140</sup>

Für die Rakelbeschichtungen wurde als Unterlage bzw. Halterung für die Substrate eine 15 x 20 cm<sup>2</sup> große Aluminium-Platte verwendet. Diese Platte ist mit einer Vertiefung versehen worden, in die die Substrate (1.5 x 1.5 cm<sup>2</sup>) so eingesetzt werden konnten, dass nur ein geringer Spalt sowie kein Höhenunterschied zwischen der Substrat-Oberfläche und der Oberfläche der Aluminium-Platte bestand. Der Beschichtungsvorgang ist schematisch in Abbildung 3.3 dargestellt. Direkt nach der in Abschnitt 3.1.1 im Unterkapitel *Reinigung der Substrate mit Piranha-Säure* beschriebenen Behandlung wurden die Substrate in die Vertiefung der Platte eingesetzt. Die frisch vermischte Elektrodenpaste wurde mit Hilfe eines Spatels oder einer Direktverdränger-Pipette auf die Platte direkt vor das Substrat aufgetragen. Die Rakel wurde anschließend mit möglichst konstanter Geschwindigkeit manuell über die Platte gezogen. Das beschichtete Substrat

wurde vorsichtig aus der Halterung entfernt und, soweit nicht anders angegeben, für mind. 12 h bei 80 °C im Umluftofen getrocknet.



**Abbildung 3.3: Schematische sequentielle Darstellung der Beschichtung eines Substrates mit Hilfe der Rakelbeschichtung.** Das zu beschichtende Substrat wurde in die Vertiefung der dafür angefertigten Platte eingesetzt. Anschließend wurde die Elektrodenpaste vor das Substrat aufgetragen und die Rakel über das Substrat gezogen.

Für die Rakelbeschichtungen wurde eine Lackhantel des Herstellers *BYK-Gardner GmbH* (Deutschland) verwendet. Dabei handelt es sich um eine 4-Schichttrakel aus rostfreiem Edelstahl, welche eine Filmbreite von 80 mm und vier verschiedene Spalthöhen (50, 100, 150 und 200  $\mu\text{m}$ ) bietet. Um die optimale Qualität der Beschichtungen zu erreichen, wurden neben der Variation bei der Zusammensetzung und Vermischung der Elektrodenpasten auch die unterschiedlichen Spalthöhen sowie unterschiedliche Volumina der auf die Platte aufgetragenen Elektrodenpaste verwendet. Standardmäßig wurde die Spalthöhe von 200  $\mu\text{m}$  verwendet.

Die generelle Vorgehensweise der Sprühbeschichtung wurde bereits in Abschnitt 3.1.2 im Unterkapitel *Sprühbeschichtung mit Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren* erläutert. Es wurden die Dispersionen verwendet, die, wie im vorangegangenen Unterkapitel *Herstellung von Dispersionen aus den porösen Kohlenstoffen* beschrieben, hergestellt wurden. Direkt vor der Verwendung wurden diese nochmals 30 Minuten mit dem Ultraschallbad behandelt.

### 3.1.4 Zellkulturuntersuchungen

Um Aussagen über die Bio- bzw. Zytokompatibilität der kohlenstoff-basierten Beschichtungen erhalten zu können, wurden verschiedene Zellkultur-Experimente durchgeführt. Dabei wurden sowohl Zellen direkt auf den Kohlenstoff-Filmen kultiviert als auch in Zellkulturmedium, in welchem zuvor die Kohlenstoff-Filme gelagert wurden. In diesem Abschnitt werden die Durchführung dieser Experimente sowie deren Auswertung und Analyse beschrieben. Diese Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit

der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde* der *Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) sowie dem *Institut für Technische Chemie* der *Leibniz Universität Hannover* durchgeführt.

### *Durchführung der Zellkulturuntersuchungen mit Fibroblasten und Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Die Zellkulturuntersuchungen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren mit NIH3T3-Fibroblasten wurden von *Jennifer Schulze* aus der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde* der *Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) durchgeführt.

Für erste Zytokompatibilitäts-Tests der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren wurde die murine Fibroblasten-Zelllinie NIH3T3 verwendet. Diese wurde lentiviral infiziert, damit das grün fluoreszierende Protein (GFP) als Marker exprimiert werden konnte. Die Generierung des lentiviralen Vektors und Prozedur der Infektion wurde detailliert von *Warnecke et al.* (2007)<sup>141</sup> beschrieben.

Die NIH3T3-Fibroblasten wurden in *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM, hoher Glucose-Gehalt; *Biochrom*, Deutschland) unter Standardbedingungen (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) kultiviert. Zusätzlich wurden sowohl 10% fetales Kälberserum (FCS, engl.: *fetal calf serum*; *Biochrom*, Deutschland) als auch 1% Penicillin (*Biochrom*, Deutschland) zugesetzt. Die Zellen wurden mit einer Dichte von  $1 \cdot 10^4$  Zellen pro Probe in einer 6er-Zellkultur-Multiwell-Platte (*Greiner Bio-One*, Deutschland) ausgesät. Nachdem den Zellen die Möglichkeit gegeben wurde auf den Proben zu adhären, wurden die Proben nach 24 h in eine neue 6er-Zellkultur-Platte übertragen. Die Morphologie und Proliferation der Zellen wurden täglich mit Hilfe eines Auflichtmikroskops (*Olympus BX51*, *Olympus*, Deutschland) überprüft und es wurden repräsentative Bilder aufgenommen. Nach vier Tagen wurden die Zellen von den Proben mit Hilfe einer Trypsin-EDTA-Lösung (0.25%; *Biochrom*, Deutschland) zur folgenden Quantifizierung abgelöst. Die Anzahl der lebenden Zellen wurde anschließend mit Hilfe einer *Neubauer-Kammer* (*Blaubrand Neubauer improved*, *Brand*, Deutschland) und dem Trypanblau-Ausschlusstest (Verdünnung 1:2; *Sigma Aldrich*, Deutschland) bestimmt.

### *Durchführung der Zellkulturuntersuchungen mit Spiral-Ganglion-Nervenzellen und Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Um den Einfluss auf Nervenzellen für die unterschiedlichen Arten von Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren zu ermitteln, wurden frisch isolierte Spiral-

Ganglion-Zellen (SGC, *engl.: spiral ganglion cell*) auf CNT-beschichteten Platin-Substraten kultiviert. Die Präparation der Zellen und die eigentlichen Zellkulturen wurden von *Jennifer Schulze* und *Athanasia Warnecke* aus der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH)* durchgeführt.

Die primäre Zellkultur der SGCs wurde aus neonatalen *Sprague-Dawley*-Ratten präpariert. Zu diesem Zweck wurden nach der Dekapitation der Tiere die Cochleae isoliert und unter dem Mikroskop zerlegt. Anschließend wurde nach dem von *Wefstaedt et al. (2005)*<sup>142</sup> beschriebenen Protokoll vorgegangen, um die enzymatische und mechanische Abtrennung des *Ganglion spirale* durchzuführen. Danach wurde die Anzahl der lebenden Zellen mit Hilfe einer *Neubauer-Kammer (Blaubrand Neubauer improved, Brand, Deutschland)* und dem Trypanblau-Ausschlusstest (Verdünnung 1:2; *Sigma Aldrich, Deutschland*) bestimmt. Die beschichteten und unbeschichteten Platin-Substrate wurden in einer 12er-Zellkultur-Testplatte (*TPP Techno Plastic Products, Schweiz*) platziert. Die abgetrennten Spiral-Ganglion-Zellen wurden mit einer Dichte von  $1 \cdot 10^4$  Zellen pro Probe pro Well ausgesät. Die SGC-Kulturen wurden unter Standardbedingungen in SGC-Medium kultiviert, welches aus serum-freiem Medium (*Panserin 401, PAN Biotech, Deutschland*) ergänzt durch HEPES (2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure, 25 mM Endkonzentration; *Life Technologies, USA*), Glucose ( $6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; *Braun AG, Deutschland*), Penicillin ( $30 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; *Grünenthal GmbH, Deutschland*), *N-2-Supplement* ( $3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; *Life Technologies, USA*) sowie Insulin ( $5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; *Sigma Aldrich, Deutschland*) besteht. Nach der Inkubation über 48 h wurden die SGCs 10 min mit Paraformaldehyd-Lösung (PFA, 4%; *Sigma Aldrich, Deutschland*) fixiert und anschließend mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS; PBS-Tabletten, *Life Technologies, Deutschland*) gespült. Die SGCs wurden auf den drei unterschiedlichen CNT-Beschichtungen (Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs) und unbeschichtetem Platin kultiviert.

Außerdem erfolgte eine Kultivierung auf unbeschichtetem Platin und dem Boden der Zellkultur-Platten, welche mit Poly-D/L-ornithin ( $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; *Sigma Aldrich, USA*) und Laminin ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , murin; *Life Technologies, USA*) beschichtet wurden. Diese dienten als weitere Kontrollen. Für diese Beschichtung wurden die beiden jeweiligen Stammlösungen (Poly-D/L-ornithin:  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; Laminin:  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) mit PBS auf die oben genannten Konzentrationen verdünnt. Zuerst wurde die Poly-D/L-ornithin-Lösung für eine Stunde bei Raumtemperatur in das jeweilige Well gegeben. Anschließend wurde die Lösung entfernt und das Well mit PBS gewaschen. Dasselbe wurde für die Laminin-

Lösung bei 37 °C wiederholt. Auch hier wurde nach Entfernen der Lösung mit PBS gespült. Die Proben wurden nach der Beschichtung mit Poly-D/L-ornithin und Laminin unter PBS bei 4 °C gelagert.

### *Erklärung zu den ethischen Grundsätzen bei der Isolierung von Spiral-Ganglion-Neuronen aus neonatalen Ratten*

Die Experimente und Analysen der in dieser Arbeit gezeigten Ergebnisse zu Zellkulturuntersuchungen mit Spiral-Ganglion-Neuronen wurden im Zeitraum von März 2014 bis Oktober 2015 durchgeführt. Die Experimente wurden in Übereinstimmung mit den institutionellen Richtlinien für den Tierschutz der *Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) durchgeführt und folgten den Standards, die im deutschen *Tierschutzgesetz* (TierSchG) und in der *Europäischen Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere* beschrieben werden. Die Euthanasie für die *in-vitro*-Experimente wurde durch die zuständige lokale Behörde (*Institut für Versuchstierkunde und Zentrales Tierlaboratorium, Medizinische Hochschule Hannover*) unter der Nummer 2013/44 registriert und genehmigt sowie regelmäßig, wie vom Gesetzgeber gefordert, angezeigt. Für die exklusive Tötung von Tieren zur Gewebeanalyse in der Wissenschaft ist keine weitere Genehmigung nötig, wenn keine weitere Behandlung im Vorfeld erfolgt ist (§4). Die Ratten wurden zu Studien- und Forschungszwecken gezüchtet und geboren. Der Zuchtbestand wurde von der Firma *Charles River* geliefert und zusammen mit seinen Würfen in der lizenzierten Einrichtung, dem *Institut für Versuchstierkunde und Zentrales Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover*, untergebracht. Um die Stressbelastung der neonatalen Ratten zu minimieren, wurde die Euthanasie durch Dekapitation von einer lizenzierten Person vor jeglicher weiterer Experimentierung durchgeführt.

### *Immunfluoreszenz-Anfärbung der Spiral-Ganglion-Zellkulturen*

Die abgetrennten SGC-Kulturen sind gemischte Zellkulturen, die neben den Nervenzellen auch aus Fibroblasten und Gliazellen bestehen. Zur Identifizierung der Spiral-Ganglion-Neuronen (SGNs) in den gemischten SGC-Kulturen wurde ein Neurofilament-Antikörper (200 kDa, monoklonal aus der Maus, Klon RT97; *Leica Biosystems*, Deutschland) als neuron-spezifischer Marker verwendet. Die Gliazellen wurden mit dem *S100*-Antikörper (S100 Isoform, polyklonal aus dem Kaninchen; *abcam*, Großbritannien) angefärbt. Alle auf den Platin-Proben kultivierten Zellen wurden mit Paraformaldehyd-Lösung (PFA, 4%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) fixiert und mit *Triton X-100* (0.25%; *Sigma*

*Aldrich*, Deutschland) für 10 min in PBS permeabilisiert. Nach dreimaligem jeweils fünfminütigem Waschen mit 0.1% *Triton X-100* in PBS (PBT; *Sigma Aldrich*, Deutschland) wurden die Proben 1 h in einem Blockpuffer inkubiert, der 5% FCS (*Biochrom*, Deutschland) enthielt. Anschließend wurden die Proben weitere drei Male für 3 min mit PBT gewaschen und die Zellen in einer Lösung aus den primären Antikörpern anti-Neurofilament (1:500) und anti-S100 (1:50) über Nacht bei 4 °C inkubiert. Die Lösung wurde mit einem Antikörper-Verdünnungspuffer verdünnt, der 2% FCS (*Biochrom*, Deutschland) und 1% Rinderalbumin (BSA, *Sigma Aldrich*, Deutschland) in PBT enthielt. Es folgten drei Waschschrte für jeweils 5 min in PBT und danach eine Inkubation für 1 h bei Raumtemperatur in Lösungen der fluoreszenz-konjugierten sekundären Antikörper *Alexa Fluor 488* (1:1000, anti-Maus aus der Ziege; *Jackson ImmunoResearch*, USA) und *Alexa Fluor 594* (1:500, anti-Kaninchen aus der Ziege; *Jackson ImmunoResearch*, USA) sowie 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI, 1:250; *AppliChem*, Deutschland). Zum Abschluss wurden die Proben noch mit PBS gewaschen und darin gelagert. Es wurden mit Hilfe eines Auflichtmikroskops (*Olympus BX51*, *Olympus*, Deutschland) repräsentative Bilder der Proben aufgenommen und die Anzahl der überlebenden SGNs bestimmt, indem alle neurofilament-positiven Zellen mit einer Neuriten-Länge von mindestens dreimal dem Durchmesser des Zellsomata (auch *Perikaryon* genannt) gezählt wurden.<sup>143</sup>

#### *Durchführung der Zellkulturuntersuchungen mit CNT-Überständen*

Um den Einfluss möglicher freigesetzter Substanzen aus den Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren zu untersuchen, wurden Zellkulturuntersuchungen mit Spiralganglion-Zellen und CNT-Überständen durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden CNT-beschichtete Platin-Proben über fünf Tage in DMEM inkubiert, dem sowohl 10% FCS (*Biochrom*, Deutschland) als auch 1% Penicillin und Streptomycin (*Biochrom*, Deutschland) hinzugefügt wurden. Die Überstände wurden gesammelt und zu frisch isolierten SGCs (*s.o.*) hinzugegeben. Die abgetrennten SGCs wurden mit einer Dichte von  $1 \cdot 10^4$  Zellen pro Well in einer 96er-Zellkultur-Multiwell-Platte (*Nunc*, *Nunclon Surface*, *Thermo Fisher Scientific*, USA) ausgesät und für 48 h in einer 1:1-Mischung aus den gesammelten Überständen der drei unterschiedlichen Typen von CNT-beschichteten Proben und dem SGC-Medium kultiviert. Eine Aussaat-Kontrolle wurde bereits 4 h nach der Ausplattierung fixiert. Als weitere Kontrollen wurden SGCs in SGC-Medium ohne Serum-Zusatz (Medium-Kontrolle), in SGC-Medium ergänzt durch  $50 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  BDNF (*In-vitrogen by Life Technologies*, USA) (BDNF-Kontrolle) und serum-haltigem Medium (FCS-Kontrolle) kultiviert. Nach einer Inkubationszeit von 48 h wurden die Zellen für 10 min mit einem 1:1-Gemisch aus Aceton (*J.T. Baker*, Niederlande) und Methanol (*Carl*

Roth, Deutschland) fixiert und mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS; PBS-Tabletten, Life Technologies, Deutschland) gewaschen.

Zur Quantifizierung des neuronalen Überlebens wurde eine neuron-spezifische Färbung zur Identifizierung der SGNs verwendet. Die fixierten Zellen wurden dementsprechend mit dem Neurofilament-Antikörper (200 kDa, monoklonal aus der Maus, Klon RT97; Leica Biosystems, Deutschland), einem sekundären biotinyliertem Maus-Antikörper und einer ABC-Komplex-Lösung unter der Verwendung des *Vectastain Elite ABC Kit* (Vector Laboratories Inc., USA) angefärbt. Die Prozedur wurde bereits detailliert in der Literatur beschrieben.<sup>142</sup> Die Antikörper-Komplexe wurden durch den Zusatz von Diaminobenzidin (*Peroxidase Substrate Kit DAB*, Vector Laboratories Inc., USA) sichtbar gemacht. Als lebende Zellen wurden neurofilament-positive Zellen definiert, deren Neurite eine Länge von mindestens dreimal des Durchmessers des Zellsomata aufwiesen.<sup>143</sup> Mit Hilfe eines Auflichtmikroskops (*Olympus BX51*, Olympus, Deutschland) wurde ihre Anzahl bestimmt und repräsentative wurden Bilder aufgenommen. Die Überlebensrate wurde bestimmt, indem die Anzahl an lebenden Neuronen pro Well in Beziehung gesetzt wurde zur mittleren Aussaat-Dichte (mittlere Anzahl der Neuronen in der Aussaat-Kontrolle) derselben Zellkultur-Platte.

Diese Zellkulturen und lichtmikroskopischen Aufnahmen der Proben wurden von Jennifer Schulze und Athanasia Warnecke aus der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde* der *Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) durchgeführt.

### *Statistische Analyse der Zellkultur-Untersuchungen mit CNTs*

Zur weiteren Auswertung wurden die Zellkulturuntersuchungen mit CNT-Beschichtungen mit Hilfe von statistischen Analysemethoden ausgewertet. Dazu wurde das Programm *Prism 5* (*GraphPad*, USA) verwendet. Die Ergebnisse wurden mit einer einfachen Varianzanalyse (ANOVA, engl.: *analysis of variance*) validiert und anschließend folgte ein multipler Vergleichstest nach der *Bonferroni*-Methode. Es wurde das übliche Signifikanzniveau von  $P < 0.05$  verwendet.<sup>144</sup> Alle quantitativen Daten repräsentieren das Mittel von jeweils mindestens drei unabhängigen Ansätzen ( $N$ ), wobei für jede Probe mindestens ein Duplikat mit einbezogen wurde ( $n$ ). Die Fehlerbalken in den dazugehörigen Abbildungen geben den Standardfehler des Mittelwertes (SEM, engl.: *standard error of the mean*) an. Die Signifikanzniveaus wurden wie folgt festgelegt: \* $p < 0.05$  (signifikant); \*\* $p < 0.01$  (sehr signifikant); \*\*\* $p < 0.001$  (hoch signifikant).<sup>144</sup>

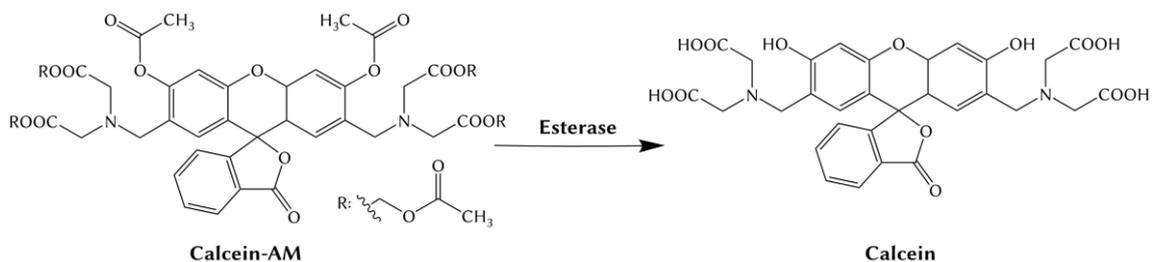
*Durchführung der Zellkulturuntersuchung mit Fibroblasten und Beschichtungen aus porösen Kohlenstoffen*

Zellkulturuntersuchungen mit zwei verschiedenen Zelllinien von Fibroblasten (L929 und GFP-NIH3T3) und den Beschichtungen mit porösen Kohlenstoffen wurden von *Dr. Antonina Lavrentieva* vom *Institut für Technische Chemie* der *Leibniz Universität Hannover* durchgeführt. Einleitende Experimente wurden von *Jennifer Schulze* aus der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde* der *Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) durchgeführt. Das Pierce Protein Assay sowie die Messungen der Glucose- und Lactat-Konzentration wurden außerdem von *Marline Kirsch*, ebenfalls vom *Institut für Technische Chemie*, durchgeführt.

Vor Beginn der Durchführung der eigentlichen Kultivierung der Zellen wurden die beschichteten und unbeschichteten Proben mindestens 30 min von beiden Seiten UV-sterilisiert (UV-C, 200–280 nm). Es wurde für alle Untersuchungen 1 mL pro Well bzw. Probe DMEM (*Biochrom*, Deutschland) mit einem Zusatz von 1% Penicillin und Streptomycin (*Biochrom*, Deutschland) als Medium verwendet. Diesem Medium wurden außerdem 10% Humanserum AB (S-41-M; *c.c.pro GmbH*, Deutschland) hinzugefügt. Teilweise wurde vor der Kultivierung ein Schritt zur Gleichgewichtseinstellung zwischen Proben und Bestandteilen des Mediums eingefügt. Dazu wurden die Proben über 24 Stunden in 1 mL Medium bzw. Humanserum-Lösung gelagert und diese Lösung anschließend entfernt. Die Kultivierung fand jeweils unter Standardbedingungen (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) in 12er-Zellkultur-Multiwell-Platten (*Cellstar*<sup>®</sup>, *Greiner Bio-One*, Deutschland) statt. Als weitere Kontrolle wurde eine 6er-Zellkultur-Multiwell-Platte (*Sarstedt*, Deutschland) mit einer Wachstumsoberfläche für adhärenzte Zellen verwendet. Die Kultivierungszeit wurde bei den unterschiedlichen Experimenten variiert (24, 72 und 96 h). Die Zellen wurden jeweils mit einer Dichte von  $1 \cdot 10^4$  bzw.  $1.4 \cdot 10^4$  Zellen pro Probe bzw. Well ausgesät und vorher in 250 bzw. 400 µL Medium suspendiert. Nachdem den Zellen Zeit gegeben wurde zu adhären, wurden die 1 mL Medium hinzugefügt. Während der Kultivierung wurden Zeitraffer-Aufnahmen mit einem Mikroskop des Typs *Lumascop 600* (*Etaluma*, USA) aufgenommen. Nach der Kultivierung wurden fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen mit einem inversen Mikroskop des Typs *Olympus IX50* (*Olympus*, Deutschland) angefertigt.

L929-Fibroblasten wurden nach der Kultivierung auf den Proben mit Calcein-AM (3 µM in DMEM basal; *Merck Millipore*, Deutschland) und Propidiumiodid (PI, 2.5 µM; *Sigma Aldrich*, Deutschland) für eine *Lebend-Tot-Färbung* (*live-dead-staining*) angefärbt. Nach der Zugabe der jeweiligen Lösung wurde für 15 min inkubiert. Hierbei wird das

nicht-fluoreszierende Reagenz Calcein-AM als Acetoxymethylester des Fluoreszenzfarbstoffes Calcein zum Test der Zell-Viabilität für die kurzzeitige Markierung lebender Zellen verwendet. Durch die Maskierung mit den Acetoxymethyl-Gruppen kann Calcein-AM durch die Zellmembran in lebende Zellen transportiert werden. Gleichzeitig können so Calcium-Ionen von dem Molekül nicht komplexiert werden. Innerhalb lebender Zellen setzen Esterasen Calcein-AM enzymatisch durch Abspaltung der Acetoxymethyl-Gruppen so zu Calcein um (*siehe*: Abbildung 3.4). Calcein chelatisiert Calcium-Ionen innerhalb der Zelle, dies führt zu einer intensiven, grünen Fluoreszenz. Abgestorbene Zellen hingegen besitzen keine aktiven Esterasen, die Calcein-AM zu Calcein umsetzen könnten. Daher kommt es zu keiner grünen Fluoreszenz bei abgestorbenen Zellen.<sup>145</sup>



**Abbildung 3.4: Reaktion der Vorläufer-Reagenz Calcein-AM zum Fluoreszenzfarbstoff Calcein mit Hilfe von Esterasen.** Durch Maskierung der Carboxyl-Gruppen von Calcein mit Acetoxymethyl-Gruppen kann der Vorläufer Calcein-AM in lebende Zellen eindringen. Über die Abspaltung dieser Gruppen durch unspezifische Esterase-Aktivität im Inneren von lebenden Zellen entsteht der Fluoreszenzfarbstoff Calcein. Dieser ist in der Lage Calcium-Ionen innerhalb der Zellen zu chelatisieren, was zu einer intensiven grünen Fluoreszenz führt.<sup>145</sup>

Gleichzeitig können durch die Verwendung von Propidiumiodid abgestorbene Zellen ebenfalls mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops sichtbar gemacht werden. Propidiumiodid wirkt als Nukleinsäure-Interkalator und kann nur die perforierte Zellmembran von toten Zellen nicht aber die intakte von lebenden durchdringen. Wenn Propidiumiodid in DNA interkaliert, weist es eine rote Fluoreszenz auf.<sup>145</sup>

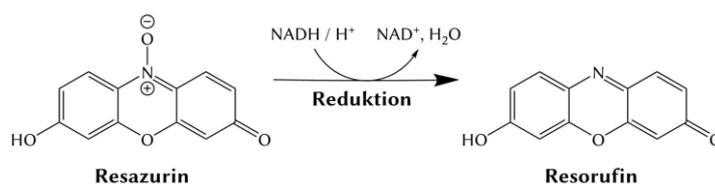
Somit kann durch fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen bei den zwei unterschiedlichen jeweiligen Anregungswellenlängen und nachträgliche Überlagerung dieser zwei Aufnahmen eine simultane orts aufgelöste Identifizierung lebender und toter Zellen

erfolgen. In diesen Bildern weisen dementsprechend lebende Zellen eine grüne Färbung und tote Zellen eine rote Färbung auf.

Eine Quantifizierung erfolgt über die Auszählung der auf den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen lebendigen, grün gefärbten Zellen mit Hilfe der Software *ImageJ 1.49m* (National Institutes of Health, USA). Dazu wurden für jede Probe fünf repräsentative Bilder aufgenommen und die auf diesen Aufnahmen sichtbaren Zellen durch eine definierte Vorgehensweise automatisiert über die Software ausgezählt.

Außerdem wurden mit den Beschichtungen der porösen Kohlenstoffe Extraktions-Tests nach der ISO-Norm 10993-12:2012 (*Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 12: Probenvorbereitung und Referenzmaterialien*) durchgeführt. Dazu wurden die jeweiligen Proben für 72 h in 1 mL DMEM in 12er-Zellkultur-Multiwell-Platten (*Cellstar*<sup>®</sup>, *Greiner Bio-One*, Deutschland) unter Standardbedingungen inkubiert. Anschließend wurden 100 µL des Extraktionsmediums entnommen. L929-Fibroblasten wurden in einer Konzentration von 8000 Zellen/Well in einer 96er-Zellkultur-Micro-Platte (*Cellstar*<sup>®</sup>, *Greiner Bio-One*, Deutschland) in 100 µL DMEM (+ 1% Penicillin und Streptomycin, + 10% FCS) ausplattiert und für 24 h inkubiert. Danach wurde das Medium entfernt, 100 µL/Well des Extraktionsmediums hinzugefügt und weitere 24 h inkubiert.

Die Bestimmung der Zellanzahlen erfolgt mit Hilfe des *CellTiter-Blue* (CTB)-Assays. Dabei handelt es sich um einen Viabilitätstest, der anhand der metabolischen Aktivität indirekt die Viabilität der Zellen bestimmt. In dem CTB-Reagenz ist der dunkelblaue Farbstoff Resazurin enthalten, welcher von lebenden Zellen zu dem pinken fluoreszenten Resorufin reduziert wird. Resorufin absorbiert Licht der Wellenlänge 579 nm und emittiert Licht der Wellenlänge 584 nm.



**Abbildung 3.5: Reduktion des blauen Farbstoffes Resazurin zum rosafarbenen, fluoreszierenden Farbstoff Resorufin.** Die metabolische Aktivität aktiver lebender Zellen führt zur Reduktion von Resazurin zum fluoreszierenden Resorufin. Die entstehende Fluoreszenz ist proportional zur Anzahl lebender Zellen.

Zur Verwendung des CTB-Assays wurde das Zellmedium vollständig entfernt, anschließend einmal mit PBS-Lösung gewaschen und die 10%ige CTB-Lösung hinzugegeben. Die Proben wurden dann 30 min unter Standardbedingungen inkubiert. Die Fluoreszenz wurde anschließend mit Hilfe eines Fluoreszenzplattenlesegeräts *Fluoroskan Ascent* (*Thermo Scientific GmbH*, Deutschland; Extinktion: 544 nm, Emission: 590 nm) bestimmt.

Für einige Experimente wurden die GFP-NIH3T3-Fibroblasten zusätzlich nach der Kultivierung fixiert und die Zellkerne mit DAPI (DAPI-Stammlösung: 0.5 mg·mL<sup>-1</sup> DAPI in Reinstwasser; DAPI-Puffer: 100 mM Tris pH 7, 150 mM NaCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5 MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Nonidet) angefärbt. Außerdem wurden zur folgenden Quantifizierung die Zellen von den Proben mit Hilfe einer Trypsin-EDTA-Lösung (0.25%; *Biochrom*, Deutschland) abgelöst. Dazu wurden pro Well 500 µL dieser Lösung hinzugegeben und nach fünf Minuten bei 37 °C weitere 500 µL Medium. Anschließend wurde für fünf Minuten bei 300 g zentrifugiert. Der entstandene Pellet aus Zellen wurde in 20 µL Medium resuspendiert und mit 20 µL Trypanblau-Lösung behandelt. Die Anzahl der lebenden Zellen wurde anschließend mit Hilfe einer *Neubauer-Kammer* (*Blaubrand Neubauer improved*, *Brand*, Deutschland) und dem Trypanblau-Ausschlusstest (Verdünnung 1:2; *Sigma Aldrich*, Deutschland) bestimmt.

Zur Bestimmung der Glucose- und Lactat-Konzentration im Medium vor und nach der Kultivierung wurde ein *YSI 2900/2950* (*Xylem Inc.*, USA) verwendet. Außerdem wurde die Osmolarität mit Hilfe eines *Osmomat 3000* (*Gonotec GmbH*, Deutschland) bestimmt.

Die zur Inkubation der Proben verwendeten Humanserum-Lösungen wurden für ausgewählte Experimente mit Hilfe des *Pierce BCA Protein Assays* auf ihre Protein-Konzentration sowohl vor als auch nach der Inkubation der Filme aus nanoporösen Kohlenstoffen und der entsprechenden Kontrollen untersucht. Dabei wurde das *Pierce™ 660nm Protein Assay* von *Thermo Scientific* verwendet und streng der vom Hersteller vorgegebenen Vorgehensweise gefolgt. Dazu wurde eine Standard-Kurve mit bekannter Protein-Konzentration eines vorverdünnten BSA-Protein-Assay-Standards im Bereich von 0 bis 2 mg·mL<sup>-1</sup> (0.25-Schritte) angesetzt. Je 10 µL der Standard-Lösungen sowie der Proben-Lösungen (60-fach verdünnt) wurden in eine 96-Well-Platte pipettiert. Nach Zugabe von jeweils 150 µL der Protein-Assay-Reagenz wurde die abgedeckte Platte bei mittlerer Geschwindigkeit für eine Minute mit einem Schüttler behandelt. Anschließend wurde nach fünf-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur die Absorbanz jeder Lösung bei 660 nm mit Hilfe eines Plattenreaders (*AE.L.VIS GmbH*, Deutschland) bestimmt.

## 3.2 Charakterisierungsmethoden

Dieses Kapitel dient zur Erläuterung und Beschreibung der in dieser Arbeit verwendeten Analysemethoden. Für Standardmethoden wird vor allem auf die Durchführung der Messungen, die jeweiligen Messparameter und etwaige Besonderheiten der Messungen bzw. in der Probenvorbereitung eingegangen. In einigen Fällen wurde intensiver auf die spezifischen Auswertungsmethoden eingegangen.

### 3.2.1 Elektronenmikroskopische Untersuchungsmethoden

Im Rahmen dieser Arbeit diente die Rasterelektronenmikroskopie dazu die Topographie und Morphologie der Materialien und der hergestellten Filme zu untersuchen.

Zur Untersuchung der Filme wurden diese auf ihrer Rückseite mit Hilfe eines Diamantstiftes angeritzt und Probenstücke geeigneter Größe gebrochen. Diese wurden mit Hilfe eines Graphit-Klebe pads auf einem Messing- bzw. Edelstahl-Probenträger fixiert. Im Falle von Querschnitts-Aufnahmen erfolgte diese Fixierung auf speziellen Probenträgern senkrecht zur Messebene. Feststoffe wurden direkt auf ein Graphit-Klebe pad aufgebracht, welches auf einem Messing-Probenträger fixiert war. Überschüssige, nicht haftende Feststoff-Partikel wurden vorsichtig im Stickstoff-Strom entfernt.

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen wurden an einem Feldemissions-Rasterelektronenmikroskop des Typs *JSM-6700F* und an einem Rasterelektronenmikroskop des Typs *JSM-6610LV* des Herstellers *JEOL* durchgeführt. Für das Feldemissions-Rasterelektronenmikroskop wurde ein Arbeitsabstand von 3 mm sowie eine Beschleunigungsspannung von 2 kV gewählt. Diese Messungen wurden von *Katharina Nolte*, *Dennes Nettelroth* und *Bastian Hoppe* durchgeführt.

### 3.2.2 Konfokalmikroskopie

Die Konfokalmikroskopie konnte zum einen zur Bestimmung der Schichtdicke der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren und zum anderen zur Visualisierung der Topographie und Bestimmung der Rauheit der Filme dienen.

Konfokalmikroskopische Aufnahmen wurden an einem *Leica DCM 3D* des Herstellers *Leica Microsystems* von *Hans-Christoph Schwarz* durchgeführt. Als Objektiv wurde ein *EPI 150X-L* verwendet und ein 3  $\mu\text{m}$  konfokaler *z*-Scan durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software *Leica DCM3D 3.2.3.5* des Herstellers *Sensofar* und mit der Software *Gwyddion 2.45* vom *Tschechischen Metrologie-Institut* in Brunn,

Tschechien. Dabei wurde jeweils eine Fläche von  $5440 \mu\text{m}^2$  ( $85 \times 64 \mu\text{m}^2$ ) der Probe gescannt.

Durch das mechanische Entfernen von Teilen der CNT-Beschichtungen konnten mit Hilfe der konfokalmikroskopischen Aufnahmen die Schichtdicken der Filme bestimmt werden. Zur Entfernung der CNT-Beschichtung wurde mit Hilfe eines Kunststoffspatels ein starker Kontaktdruck ausgeübt, um die glatte Platinoberfläche möglichst nicht zu beschädigen.

Zur Ermittlung der Schichtdicke gibt es zwei unterschiedliche Ansätze: Auswertung der Höhenprofile an den erzeugten Kanten zwischen Substrat und Schicht sowie Betrachtung der Histogramme der ermittelten Datenpunkte der Höheninformationen.

### 3.2.3 Röntgen-Diffraktometrie

Die synthetisierten porösen Kohlenstoffe und Silica-Templates sowie die kommerziellen Aktivkohlen wurden mittels Röntgen-Beugungsmethoden in Reflexionsgeometrie untersucht. Dabei wurden die Untersuchungen im Bereich kleiner Beugungswinkel durchgeführt, um Aussagen über die jeweiligen Porensysteme treffen zu können. Die Messungen wurden an einem *Theta-Theta*-Diffraktometer des Herstellers *STOE* (Deutschland) durchgeführt. Durch einen Sekundärmonochromator aus Graphit-[002] vor dem Detektor wurde von der polychromatischen Röntgen-Strahlung ausschließlich  $\text{CuK}\alpha_1$ -Strahlung ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ) durchgelassen. Die Feststoffe wurden im Bereich kleiner Winkel von  $0.7\text{--}4^\circ 2\theta$ , einer Schrittweite von  $0.01^\circ 2\theta$  und einer Messzeit von 10 s pro Schritt gemessen. Die Auswertung der Daten erfolgte mit der Software *WinXPow* des Herstellers *STOE*.

Da für den porösen Kohlenstoff CMK-3 und das Silica-Templat SBA-15 nur sehr wenige und zudem stark verbreiterte Reflexe auftreten bzw. erwartet wurden, war eine automatische Indizierung mit Hilfe der Software *WinXPow* nicht möglich. Daher erfolgte die Auswertung der Reflexe auf Grundlage der *Bragg*-Gleichung. Für die beiden Substanzen wurde ein hexagonales Kristallgitter und ein hexagonales Porensystem in der Ebenengruppe  $p6mm$  erwartet.<sup>113,138</sup> Hierfür ergibt sich aus der quadratischen *Bragg*-Gleichung für die erste Beugungsordnung folgende Gleichung zur Berechnung der Gitterkonstante  $a_1$ :

$$a_1 = \frac{\lambda}{\sin \theta} \cdot \sqrt{\frac{h^2 + hk + k^2}{3}} \quad (2)$$

$a_1$ : Gitterkonstante;  $\lambda$ : Wellenlänge der Röntgen-Strahlung;  $\theta$ : Reflexposition;  $h, k$ : *Millersche Indices*.

### 3.2.4 Spektroskopische Methoden

Im Rahmen dieser Arbeit wurden diverse unterschiedliche spektroskopische Methoden zur Charakterisierung und Untersuchung der verschiedenen Materialien und Elektroden verwendet. Dabei wurde die *Raman*-Spektroskopie genutzt, um Informationen über die Struktur der verwendeten Kohlenstoff-Nanoröhren zu erhalten. Die *UV-Vis*-Spektroskopie wurde hingegen zum qualitativen bzw. semi-quantitativen Nachweis der CNTs in ihren wässrigen Dispersionen verwendet. Energiedispersive Röntgen-Spektroskopie (EDXS) und Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) dienten zur Untersuchung der elementaren Zusammensetzung von Feststoffen bzw. Filmen.

#### *Raman-Spektroskopie*

Als gebräuchliche Methode zur Untersuchung von Kohlenstoff-Nanomaterialien wurde die *Raman*-Spektroskopie in dieser Arbeit dazu verwendet, um Informationen über die Struktur, Fehlstellen und mögliche funktionelle Gruppen der verwendeten Kohlenstoff-Nanoröhren zu erhalten.<sup>146–148</sup>

Alle graphitischen Materialien haben dieselben *Raman*-Banden gemeinsam, die sich nur gering in ihrer Lage, Form oder Intensität unterscheiden. Bei etwa  $1580 \text{ cm}^{-1}$  lässt sich die sogenannte *G*- bzw. Graphit-Bande beobachten. Diese Bande kann der Anregung der Schwingung der C–C-Doppelbindungen des polyaromatischen Gerüsts zugeordnet werden. Im Bereich von  $1350 \text{ cm}^{-1}$  erscheint im Raman-Spektrum dieser Materialien die sogenannte *D*- bzw. Defekt-Bande, die durch die Defekte in den Schichten hervorgerufen wird und deren Intensität mit zunehmender Anzahl dieser Defekte ansteigt. Das Verhältnis der Intensitäten der *D*- und *G*-Bande kann dazu genutzt werden die durchschnittliche Größe  $L_G$  der intakten  $sp^2$ -hybridisierten Bereiche innerhalb einer graphitischen Schicht zu berechnen. Dazu wurde von *Cançado et al.* folgender empirischer mathematischer Zusammenhang beschrieben:<sup>149</sup>

$$L_G = 2.4 \cdot 10^{-10} \cdot \lambda_L^4 \cdot \left( \frac{I_D}{I_G} \right)^{-1} \quad (3)$$

$L_G$  : Größe der  $sp^2$ -hybridisierten Bereiche einer graphitisierten Schicht in nm;  $\lambda$  : Wellenlänge des Lasers in nm;  $I_D, I_G$  : Intensität der  $D$ - bzw.  $G$ -Bande

Über diese empirisch ermittelte Formel lassen sich aus den Intensitätsverhältnissen der jeweiligen  $D$ - und  $G$ -Banden die jeweiligen Kohärenzlängen in der Ebene  $L_G$  für ein graphitisches Material ermitteln. Als Maß für die Ausdehnung des  $sp^2$ -hybridisierten Anteils innerhalb der CNTs bzw. des Kohlenstoff-Materials stellt  $L_G$  somit einen Indikator für den Grad der Graphitisierung<sup>150</sup> der CNTs dar und gibt Hinweise auf die Anwesenheit funktioneller Gruppen<sup>151</sup>.

Des Weiteren kann bei  $2700 \text{ cm}^{-1}$  die  $G'$ - oder auch  $2D$ -Bande beobachtet werden, welche einen Oberton der  $D$ -Bande darstellt. Für SWNTs kommt die Besonderheit hinzu, dass unterhalb von  $500 \text{ cm}^{-1}$  eine Serie von Banden erscheinen. Diese Banden werden als  $RBM$ -Banden (*engl.: radial breathing mode*) bezeichnet. Sie treten nur bei SWNTs auf und entstehen durch die Expansion und Kontraktion der Röhren. Die Lage der Banden korreliert mit dem Durchmesser der Nanoröhren und kann Informationen über die Aggregation der Röhren untereinander liefern.

Zur Probenvorbereitung wurde eine geringe Menge des CNT-Materials in Ethanol aufgeschlämmt, auf ein Stück eines gold-beschichteten Silicium-Wafers getropft und an der Luft trocknen gelassen. Die Untersuchungen mittels *Raman*-Spektroskopie wurden an einem *Raman*-Mikroskop des Typs *Senterra* des Herstellers *Bruker* durchgeführt. Für die Messungen wurde ein Laser mit einer Wellenlänge von  $532 \text{ nm}$  und einer Leistung von  $10 \text{ mW}$  verwendet. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software *Opus* des Herstellers *Bruker*.

### *UV-Vis-Spektroskopie*

Die *UV-Vis*-Spektroskopie wurde in dieser Arbeit zum qualitativen bzw. semi-quantitativen Nachweis der Kohlenstoff-Nanoröhren in ihren Dispersionen verwendet. Dabei wurden CNT-Dispersionen in einer dezimalen Verdünnungsreihe definierter Massenkonzentrationen ( $10^{-2}$  bis  $10^{-6} \text{ m\%}$ ) untersucht.

Die wässrigen Dispersionen der Kohlenstoff-Nanoröhren wurden mit einem *UV-Vis*-Spektrometer des Typs *Varian Cary 5E* des Herstellers *Agilent Technologies* untersucht. Die Messungen wurden im Wellenlängenbereich von  $300$  bis  $800 \text{ nm}$  in einer

Quarz-Küvette (10 mm) durchgeführt. Die jeweiligen CNT-Dispersionen mit unterschiedlichen Massenkonzentrationen wurden dabei direkt in die Küvette gefüllt. Die Scan-Rate der Messungen betrug  $600 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$  bei einem Daten-Intervall von 1 nm.

#### *Energiedispersive Röntgen-Spektroskopie*

Die energiedispersive Röntgen-Spektroskopie (EDXS) diente im Rahmen dieser Arbeit zur Untersuchung der elementaren Zusammensetzung des porösen Kohlenstoffs CMK-3 und seiner Filme.

Für die EDXS-Untersuchungen wurden die pulverförmigen Feststoffe direkt in eine zylindrische Vertiefung eines Aluminiumträgers gegeben und glattgestrichen. Zur Untersuchung der Filme wurden diese auf ihrer Rückseite mit Hilfe eines Diamantstiftes angeritzt und Probenstücke geeigneter Größe gebrochen. Diese wurden mit Hilfe eines Graphit-Klebebands auf einem Aluminium-Probenträger fixiert.

Die Messungen erfolgten an einem Rasterelektronenmikroskop des Typs *JSM-6610LV* des Herstellers *JEOL* mit integriertem Silicium-Drift-Detektor *XFlash Detector 410-M* der Firma *Bruker Nano*. Die Beschleunigungsspannung lag bei 10 kV und der Arbeitsabstand bei 10 mm. Durchgeführt wurden diese Messungen von *Bastian Hoppe*.

#### *Röntgen-Photoelektronenspektroskopie*

Ähnlich zur energiedispersiven Röntgen-Spektroskopie (EDXS) wurde die Röntgen-photoelektronenspektroskopie (XPS) zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung genutzt. In diesem Fall wurden jedoch vor allem die Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren im Hinblick auf Katalysator-Rückstände, die elementare Zusammensetzung an der Oberfläche der Beschichtung sowie Hinweise für eine Modifizierung der CNTs untersucht.

Röntgen-Photoelektronenspektren der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren wurden von der Firma *Covestro* an einem *Versa Probe* Spektrometer des Herstellers *Physical Electronics* angefertigt. Es wurde ein Basisdruck von  $10^{-8}$  mbar eingestellt. Monochromatische  $\text{AlK}_\alpha$ -Röntgen-Photonen (1486.68 eV) wurden in einem Winkel von  $45^\circ$  relativ zum Elektronenanalysator-Eingang eingestrahlt. Für Übersichtsspektren wurden die Photoelektronen mit Hilfe eines konzentrischen halbkugelförmigen Analysators detektiert, welcher bei einer konstanten Durchgangsenergie von 187.5 eV betrieben wurde. Der Photoemissionswinkel  $\theta$  wurde auf  $54.7^\circ$  festgelegt. Die Röntgen-Quelle wurde mit 50 W und einer Spotgröße von 200  $\mu\text{m}$  betrieben. Für die drei unterschiedlichen Typen

von Kohlenstoff-Nanoröhren wurden jeweils zwei Proben an jeweils zwei Messpunkten untersucht.

### 3.2.5 Optische Emissionsspektrometrie

Zur weiteren Charakterisierung der Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren wurde die optische Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppelten Plasmas (ICP-OES, engl.: *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) verwendet. Diese Analysemethode gibt die Möglichkeit Aussagen über die Elementzusammensetzung der aufgereinigten Kohlenstoff-Nanoröhren bzw. der aus ihnen hergestellten Dispersionen zu treffen.

Die Prozedur der Probenvorbereitung sowie die nachfolgende Analyse per ICP-OES basieren auf den Arbeiten von *Yang et al. (2010)*<sup>152</sup> und wurden von *Damian Motz* aus dem *Arbeitskreis Analytik des Instituts für Anorganische Chemie der Leibniz Universität Hannover* durchgeführt. Um die Metallrückstände der zur Herstellung der Kohlenstoff-Nanoröhren verwendeten Katalysatoren, die auf und in den Kohlenstoff-Nanoröhren eingekapselt vorliegen können, zu extrahieren, wurde eine mikrowellenunterstützte Behandlung mit Salpetersäure und Wasserstoffperoxid verwendet. Dazu wurden von den drei unterschiedlichen Typen von Kohlenstoff-Nanoröhren jeweils 3 g der jeweiligen Dispersionen mit 3 mL Salpetersäure (65%, nach *subboiled*-Aufreinigung; *Sigma Aldrich*, Deutschland) und 4 mL Wasserstoffperoxid-Lösung (30%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) vermischt. Danach erfolgte der Mikrowellenaufschluss in einer Mikrowelle des Typs *turboWAVE* des Herstellers *MLS GmbH*. Entsprechend den Arbeiten von *Yang et al.* wurde dafür eine zweistufige Prozedur verwendet. Die Temperatur wurde in einer Rampe mit einer Heizleistung von 1200 W innerhalb von 20 min auf 170 °C erhöht, gefolgt von einer Verweilzeit von 5 min bei dieser Temperatur. Anschließend wurde durch eine Rampe mit 1200 W auf 185 °C geheizt und diese Temperatur für 15 min gehalten. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Proben mit Reinstwasser auf 30 g verdünnt. Vor der Analyse wurden alle Proben durch einen metallfreien PTFE-Filter (0.45 µm; VWR, Deutschland) gefiltert. Für die ICP-OES-Analyse wurde ein *Spectro AR-COS*-System des Herstellers *Spectro Analytical Instruments* verwendet. Die zu analysierenden Metalle wurden in Übereinstimmung der drei unterschiedlichen Proben und den jeweils höchsten detektierten Intensitäten gewählt, welche den höchsten Gehalten entsprachen. Folgende Metalle wurden in allen drei Proben untersucht und quantifiziert (jeweils verwendete Kalibrationsbereiche in Klammern): Kobalt (15–100 µg·kg<sup>-1</sup>), Eisen, Molybdän, Nickel, Zink (20–100 µg·kg<sup>-1</sup>), Magnesium (50–100 µg·kg<sup>-1</sup>) und Calcium (50–2500 µg·kg<sup>-1</sup>). Wenn nötig, wurden die Proben weiter verdünnt.

### 3.2.6 Thermogravimetrische Untersuchungen

Die Thermogravimetrie (TG) fand im Rahmen dieser Arbeit Anwendung, um die Massenänderung der verwendeten Materialien in Abhängigkeit von Temperaturänderungen zu untersuchen. Im Speziellen für Kohlenstoff-Materialien kann diese Methode Aufschluss über die Reinheit liefern und Hinweise auf anorganische Rückstände bzw. Verunreinigungen der Materialien geben. Außerdem lässt sich der dreistufige Prozess der Templat-Synthese des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 gut über diese Untersuchungen verfolgen.

Die thermogravimetrischen Untersuchungen wurden an einer Thermo- waage *STA 429* des Herstellers *Netzsch* von *Katharina Nolte* und *Sergej Springer* durchgeführt. Die Messungen erfolgten im Luftstrom im Bereich von 35 °C bis 1000 °C mit einer Aufheizrate von 5 K·min<sup>-1</sup>. Zur Analyse der Daten wurde die Software *Proteus Thermal Analysis 4.3.1* des Herstellers *Netzsch* verwendet.

### 3.2.7 Kontaktwinkel-Messungen

Zur Charakterisierung der Benetzungseigenschaften der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff und möglicher Unterschiede aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Binderpolymere wurden Kontaktwinkel-Messungen mit Reinstwasser als Testflüssigkeit durchgeführt.

Die Kontaktwinkel-Messungen wurden an einem Gerät des Typs *Surftens Original* des Herstellers *OEG - Gesellschaft für Optik, Elektronik & Gerätetechnik* (Deutschland) durchgeführt. Eine im Gerät fest installierte Spritze wurde mit Reinstwasser befüllt. Die Proben wurden direkt auf dem Probentisch platziert. Durch einen jeweils gleich gewählten Abstand von Kanüle zu Probenoberfläche wurde für jede Einzelmessung eine ähnliche Tropfengröße sichergestellt. Die Erstellung der Fotos der Wassertropfen auf der Probenoberfläche sowie die Bestimmung der jeweiligen Kontaktwinkel wurden über die dazugehörige Software *Surftens* des Herstellers durchgeführt. Pro Probe wurden jeweils mindestens drei Einzelmessungen durchgeführt.

### 3.2.8 Physisorptions-Untersuchungen

Zur näheren Untersuchung der Porensysteme und Bestimmung der spezifischen Oberfläche der nanoporösen Materialien wurden Physisorptions-Untersuchungen durchgeführt.

Die Stickstoff-Physisorptions-Messungen bei 77 K wurden an einer *Autosorb 3B* des Herstellers *Quantachrome* durchgeführt. Die Argon-Physisorptions-Messungen bei

87 K wurden an einer *Autosorb 1* ebenfalls vom Hersteller *Quantachrome* durchgeführt. An beiden Geräten wurden die Messungen von *Jann Lippke*, *Mandy Jahns* und *Alexander Mohmeyer* angefertigt. Feststoffe wurden direkt in die speziellen Messkammern aus Glas abgegeben. Im Falle der Filme wurden zehn beschichtete Proben in eine dafür vorgesehene Messkammer mit größerem Volumen gegeben. Statt des Gewichtes wurde die mit dem Kohlenstoff-Material beschichtete Fläche bestimmt und in Beziehung zu den Messergebnissen gesetzt. Die Proben wurden zur Aktivierung vor den Messungen mindestens für 24 Stunden bei 80 °C im Vakuum ausgeheizt. Zur Auswertung wurde die Software *ASiQwin 2.0* des Messgeräte-Herstellers *Quantachrome* verwendet. Zur Bestimmung der BET-Oberflächen wurde der in der Software implementierte *Micropore BET-Assistent* genutzt. Zur Berechnung der jeweiligen Porenweitenverteilungen sowie der Porenvolumina wurden die ebenfalls implementierten DFT-Modelle und dazugehörigen Berechnungen angewendet. Die jeweils für diese Berechnungen verwendeten Kernels sind in der jeweiligen Darstellung der Messung und des Fits angegeben.

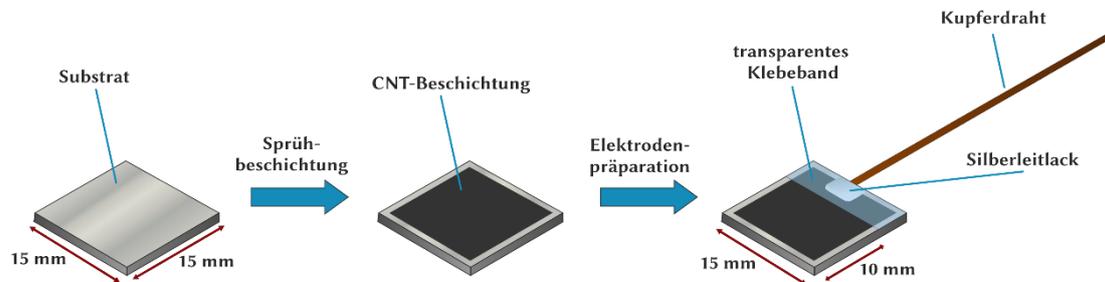
### 3.2.9 Elektrochemische Charakterisierung

Zur elektrochemischen Charakterisierung der unterschiedlichen kohlenstoff-basierten Beschichtungen auf Metall-Substraten wurden sowohl die Methode der Impedanzspektroskopie als auch die Cyclovoltammetrie eingesetzt. Neben dem allgemeinen Messaufbau für beide Methoden und der Elektrodenpräparation wird auch kurz auf spezifische Methoden der Auswertung bei beiden Methoden eingegangen.

#### *Messaufbau und Elektrodenpräparation*

Die Untersuchungen beschichteter sowie unbeschichteter Metall-Substrate mittels Impedanzspektroskopie und Cyclovoltammetrie wurden an einem *Princeton Applied Research Versastat 4* Potentiostaten des Herstellers *Ametek Scientific Instruments* (Deutschland) durchgeführt. Für alle Messungen wurde eine Standard-Dreielektroden-Anordnung verwendet, bei der jeweils eine Ag/AgCl-Elektrode als Referenzelektrode und ein Platin-Draht als Gegenelektrode diente (beide: *Ametek Scientific Instruments*, Deutschland). Die Gegenelektrode bestand aus einem Glasröhrchen mit poröser Glasfritte, in der der Platindraht eingesetzt wurde und die mit demselben Elektrolyten wie die Messzelle befüllt wurde. Die Referenzelektrode bestand aus einem sich nach unten hin verjüngenden Glasröhrchen ebenfalls mit einer porösen Glasfritte. Als Elektrolyt wurde Natriumchlorid-Lösung (0.85%; *Sigma Aldrich*, Deutschland) gewählt.

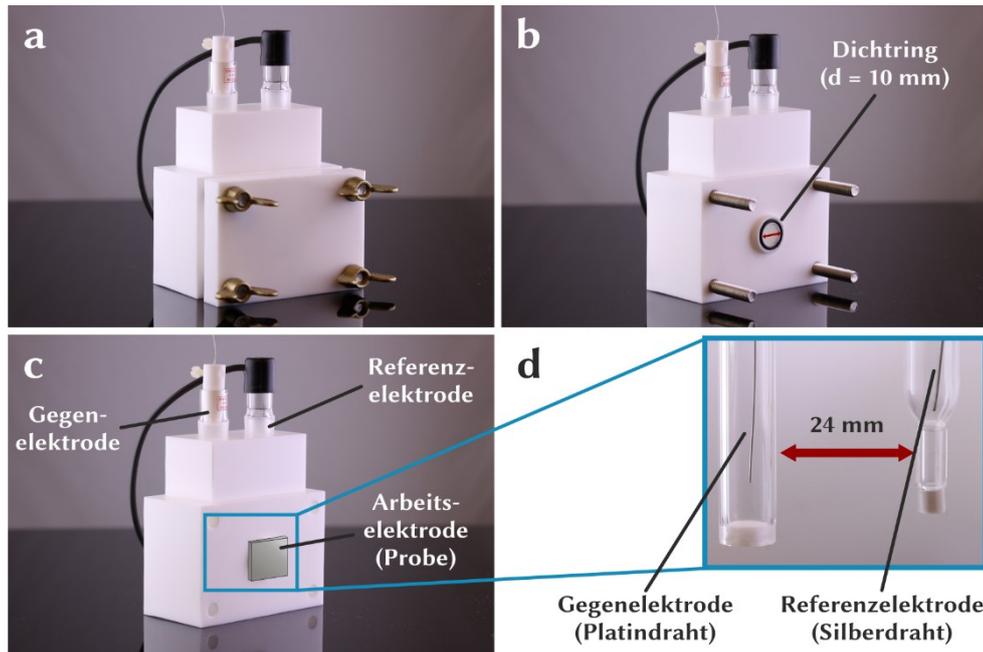
Für die CNT-beschichteten Platin-Substrate erfolgte eine spezielle Präparation, um sie als Elektroden für die elektrochemischen Charakterisierungsmethoden verwenden zu können. Diese Präparation ist schematisch in Abbildung 3.6 dargestellt.



**Abbildung 3.6: Schematische Darstellung der Elektrodenpräparation der CNT-beschichteten Platin-Substrate.** Nach der Sprühbeschichtung wurden mit Hilfe eines Silberleitlackes etwa 8 cm eines Kupferdrahtes auf der Probe fixiert. Anschließend wurde diese Kontaktstelle mit transparentem Klebeband isoliert.

Nach der Sprühbeschichtung mit den Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren wurden etwa 8 cm Kupfer-Draht ( $\geq 99.9\%$ , Durchmesser: 1 mm; *Sigma Aldrich*, Deutschland) durch das Auftragen von Silberleitlack (*Ferro GmbH*, Deutschland) mit Hilfe eines Pinsels an der oberen Kante des Substrates bzw. der Beschichtung fixiert. Der Lack wurde für mindestens 12 h an der Luft getrocknet. Anschließend wurde die durch den Silberleitlack erzeugte Kontaktstelle zwischen Kupferdraht und Beschichtung bzw. Substrat mit Hilfe von transparentem Klebeband isoliert. Dadurch wurde die aktive Elektrodenfläche von  $225 \text{ mm}^2$  ( $15 \times 15 \text{ mm}^2$ ) auf  $150 \text{ mm}^2$  ( $15 \times 10 \text{ mm}^2$ ) reduziert. Die Messungen wurden in einer Messzelle aus Glas (*Analytical Cell Kit*) des Herstellers *Princeton Applied Research* mit der oben beschriebenen Elektrodenanordnung durchgeführt. In dieser Messzelle wurden 80 mL der Elektrolyt-Lösung verwendet.

Des Weiteren wurden für die elektrochemischen Messungen eigens Messzellen aus Teflon angefertigt. Mit diesen Messzellen war es möglich die beschichteten und unbeschichteten Substrate direkt ohne weitere Probenpräparation im Hinblick auf ihre elektrochemischen Eigenschaften zu untersuchen. In Abbildung 3.7 ist solch eine Messzelle detailliert dargestellt.



**Abbildung 3.7: Messzelle zur elektrochemischen Charakterisierung.** (a): Vollständig aufgebaute Messzelle; (b): Messzelle ohne Teflon-Abdeckung und Flügelmutter, Öffnung für Probe und Dichtring sind sichtbar; (c): schematische Darstellung der Positionierung der Probe (Arbeits-elektrode), Schrauben fehlen im Vergleich zum vorherigen Bild, die drei Elektroden sind gekennzeichnet; (d): Blick in das Innere der Messzelle, Gegen- (Platindraht) und Referenzelektrode (Silberdraht) sind in den Glasröhrchen mit poröser Glasfritte gezeigt.

Zwei Bohrungen im Deckel der Messzelle gewährleisten, dass Gegen- und Referenzelektrode in einem festen Abstand zueinander (24 mm) und zur Arbeits-elektrode an einer definierten Position in die Messzelle eingesetzt werden konnten. So konnte eine definierte Geometrie der drei Elektroden gewährleistet werden. In dieser Messzelle wurden 50 mL der Elektrolyt-Lösung verwendet. Die aktive Elektrodenfläche wurde durch die Öffnung der Messzelle und den verwendeten Dichtungsring auf  $78.5 \text{ mm}^2$  verringert.

### *Impedanzspektroskopie*

Im Gegensatz zu klassischen Methoden der Elektrochemie, die entweder mit einer konstanten Spannung (z. B. Chronoamperometrie)<sup>153</sup> oder mit einer Wechselspannung mit definierter Frequenz und großer Amplitude (z. B. Cyclovoltammetrie)<sup>154</sup> arbeiten, wird bei der Impedanzspektroskopie eine sinusförmige Wechselspannung mit kleiner Amplitude und variierender Frequenz verwendet.<sup>155</sup>

Bei der Impedanzspektroskopie wird an ein zu untersuchendes, elektrochemisches System eine Wechselspannung mit definierter Amplitude angelegt und deren Frequenz variiert. Ermittelt wird dann die frequenzabhängige Impedanz (Wechselstromwiderstand) des Systems. Dabei kann es sich bei dem elektrochemischen System um Festkörperelektrolyte, gelöste Substanzen oder auch Oberflächenbeschichtungen handeln.<sup>155</sup> Bei der Auswertung der gemessenen Daten dient ein Ersatzschaltbild dazu die physikalischen Eigenschaften des elektrochemischen Systems über die Kombination von Reihen- und Parallelschaltungen einfacher Impedanzelemente zu beschreiben. Diese Elemente können Bauteile beschreiben, wie sie in elektrischen Schaltungen vorkommen (z. B. *Ohmsche* Widerstände, Kondensatoren etc.). Im Folgenden werden kurz die in dieser Arbeit verwendeten Impedanzelemente erläutert: Widerstand, Kondensator und konstantes Phasenelement.

Im Falle eines einfachen *Ohmschen* Widerstands  $R$  entspricht die Impedanz  $Z$  dem Widerstand  $R$ . Es tritt weder eine Frequenzabhängigkeit noch eine Phasenverschiebung auf. Widerstände treten bei Durchtrittsreaktionen zwischen Elektronen- und Ionenleitern, Elektrolytwiderständen oder auch Widerständen von Deckschichten auf.<sup>156</sup>

Bei Kondensatoren hingegen wirkt sich der Ladungsfluss auf die Spannung aus. Dieses dynamische Verhalten eines Kondensators kann über folgende Gleichung beschrieben werden:<sup>155</sup>

$$\begin{array}{c} \text{—} \text{||} \text{—} \\ \text{C} \end{array} \quad Z_c = \frac{1}{C \cdot i \cdot \omega} \quad (4)$$

$Z_c$  : Impedanz des Kondensators  $C$ ;  $C$  : Kapazität,  $i$  : imaginäre Einheit;  $\omega$  : Kreisfrequenz ( $= 2\pi \cdot f$ )

Elektrochemische Prozesse mit einem solchen Verhalten sind beispielsweise die Aufladung von *Helmholtz*- und elektrochemischen Doppelschichten, aber auch Adsorptionsvorgänge an Elektroden.<sup>156</sup>

Da der Beschreibung realer Systeme bzw. Elektrodenprozesse mit Hilfe der *idealen Impedanzelemente* – Widerstand, Kondensator und Spule – Grenzen gesetzt sind, wurden *nicht ideale Impedanzelemente* eingeführt, um Abweichungen vom Idealverhalten besser beschreiben zu können. Solche Abweichungen können durch nicht einheitliche Materialeigenschaften an der Oberfläche von Elektroden entstehen. In der Realität sind Elektrodenoberflächen beispielsweise nie völlig glatt und einheitlich, sondern besitzen eine gewisse Rauheit. Um darauf zurückzuführende Abweichungen des elektrochemischen Verhaltens beschreiben zu können, wurde das *konstante Phasenelement* (CPE, engl.: *constant phase element*) eingeführt:<sup>157,158</sup>

$$\begin{array}{c} \lll \\ \text{CPE} \end{array} \quad Z_{\text{CPE}} = \frac{1}{[C \cdot (i \cdot \omega)^\alpha]} \quad (5)$$

$Z_{\text{CPE}}$  : Impedanz des konstanten Phasenelements CPE;  $C$  : Kapazität,  $i$  : imaginäre Einheit;  $\omega$  : Kreisfrequenz ( $= 2\pi \cdot f$ );  $\alpha$  : Faktor zu Kompensation von Abweichungen durch nicht ideal glatte Elektrodenoberflächen ( $0 < \alpha < 1$ ).

Der Exponent  $\alpha$  ist dabei ein Faktor, der diese Abweichungen von der ideal glatten Elektrodenoberfläche beschreibt. In den Grenzfällen  $\alpha = 1$  entspricht das CPE einem idealen Kondensator, für  $\alpha = 0$  einem *Ohmschen* Widerstand. Für  $\alpha = 0.5$  ergibt sich der Fall einer *Warburg*-Impedanz.<sup>155,159</sup> Damit kann über ein Ersatzschaltbild mit einem CPE das Verhalten einer nicht idealen Elektrode besser beschrieben werden und zusätzlich dazu kann  $\alpha$  demnach als Maß für die Glätte der Elektrodenoberfläche angesehen werden.<sup>157,158</sup>

Vor den Messungen wurde, nach Einsetzen der Elektroden und Befüllen der Messzellen mit dem Elektrolyten, mindestens zehn Minuten die Einstellung des Gleichgewichts abgewartet. Anschließend wurde nach einer 120 s Messung des Ruhepotentials (*open circuit potential*) ein Wechselstrom mit einer Amplitude von 10 rms mV angelegt und die Werte der Impedanz im Bereich von  $10^{-1}$  (oder  $10^{-2}$ ) bis  $10^5$  Hz an jeweils 10 Messpunkten pro Dekade bestimmt. Durchgeführt wurden die Messungen mit Hilfe der Gerätesoftware *VersaStudio* der Firma *Ametek Scientific Instruments*. Die Auswertung der Messungen mittels Ersatzschaltbildern erfolgte mit der Software *ZView* der Firma *Scribner Associates*.

### *Cyclovoltammetrie*

Wie bereits im vorangegangenen Abschnitt erwähnt, gehört die Cyclovoltammetrie zu den klassischen Methoden der Elektrochemie.<sup>154,160</sup> Im Gegensatz zur Chronoamperometrie wird zwischen Arbeits- und Gegenelektrode keine zeitlich konstante Spannung angelegt. Vielmehr wird mit einer konstanten Potentialvorschubgeschwindigkeit das Potential  $E$  von einem Startpotential  $E_{\text{start}}$  bis zu einem Umkehrpotential  $E_\lambda$  variiert. Ist dieses Potential erreicht wird die Richtung der Spannungsänderung umgekehrt und  $E$  bis zum erneuten Erreichen von  $E_{\text{start}}$  variiert. Ein solcher Durchlauf wird als Zyklus bezeichnet (*single cycle CV*). Häufig werden mehrere dieser Zyklen abgefahren (*multiple cycle CV*). Der dreiecksförmige (bzw. sägezahnförmige) Spannungsverlauf beim Durchlaufen dieser Zyklen ist namensgebend für die Bezeichnung *Dreiecksspannungsmethode*, unter der die Cyclovoltammetrie ebenfalls bekannt ist. Im Vergleich mit

der im vorherigen Abschnitt beschriebenen Impedanzspektroskopie werden deutlich höhere Spannungen angelegt und es fließen ebenso deutlich größere Ströme.

Neben Informationen über die Thermodynamik von Redoxprozessen können Cyclovoltammogramme Aussagen über die Kinetik heterogener Elektronentransferprozesse und angekoppelter chemischer Reaktionen liefern.<sup>160</sup>

Sind im Elektrolyten keine redoxaktiven Substanzen vorhanden, sind die maximalen negativen und positiven Umkehrpotentiale ausschließlich durch die Zersetzung des Elektrolyten bestimmt. Die Ströme sind dann in einem wässrigen Elektrolyten ausschließlich auf den Auf- und Abbau von Wasserstoff- und Sauerstoff-Chemisorptionschichten als Deckschichten auf den Elektroden zurückzuführen. In einem solchen Fall ist die Kapazität der Doppelschicht  $C_D$  über Potentialvorschubgeschwindigkeit  $v$  (entspricht im Fall der Cyclovoltammetrie der Scan-Rate der Messung) direkt mit der Stromdichte  $j$  verknüpft. Für ein Potential von  $E = 0$  V lässt sich damit über folgende Formel mit der Differenz der Stromstärken von Hin- und Rücklauf der Messung  $\Delta j$  die Doppelschichtkapazität  $C_D$  für dieses Potential berechnen:<sup>161,162</sup>

$$C_D = \frac{\Delta j}{2 \cdot v} \quad (5)$$

$C_D$  : Doppelschichtkapazität;  $v$  : Scan-Rate der Messung;  $\Delta j$  : Stromstärke-Differenz bei  $E = 0$  V.

Da im Rahmen dieser Arbeit Natriumchlorid-Lösung als Elektrolyt verwendet wurde und keine weiteren redoxaktiven Substanzen zugesetzt wurden, konnte mit Hilfe dieser Formel der Einfluss auf die Doppelschichtkapazitäten für die verschiedenen mit nanoporösem Kohlenstoff beschichteten Filme untersucht und mit denen unbeschichteter Platinelektroden verglichen werden.

Die Cyclovoltammogramme wurden im Spannungsbereich von  $-0.4$  bis  $+0.4$  V bei einer Scan-Rate von  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  mit jeweils fünf Zyklen durchgeführt. Zur Durchführung der Messungen, Bestimmung der Stufenhöhen und eingeschlossenen Flächen in den Cyclovoltammogrammen wurde die Gerätesoftware *VersaStudio* der Firma *Ametek Scientific Instruments* verwendet.



## 4 Ergebnisse

Im ersten Abschnitt dieses Kapitels erfolgt die Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse zu den mit Kohlenstoff-Nanoröhren durchgeführten Experimenten. Im Hinblick auf eine Anwendung als Beschichtung neuronaler Elektroden wurden Kohlenstoff-Nanoröhren zur Herstellung wässriger Dispersionen aufgereinigt und modifiziert. Aus diesen Dispersionen wurden Beschichtungen auf Edelmetall-Substraten hergestellt und ausführlich charakterisiert.

Im darauffolgenden Abschnitt erfolgt eine analoge Betrachtung der Ergebnisse zu den Experimenten mit nanoporösen Kohlenstoffen. Dies schließt neben der Synthese des Kohlenstoffs, die Herstellung wässriger Dispersion sowie Anfertigung und ausführliche Charakterisierung von Beschichtungen auf Edelmetall-Substraten ein.

### 4.1 Kohlenstoff-Nanoröhren als Beschichtungsmaterial für neuronale Elektroden

In diesem ersten Unterkapitel des Ergebnis-Abschnittes dieser Arbeit werden die Ergebnisse der Experimente zu Kohlenstoff-Nanoröhren dargestellt, erläutert und diskutiert. Die Kohlenstoff-Nanoröhren wurden hinsichtlich ihrer Eignung als Beschichtungsmaterial neuronaler Elektroden untersucht.

Zunächst werden die Ergebnisse des Aufreinigungsprozesses der Kohlenstoff-Nanoröhren beschrieben. Im Zuge dieser Aufreinigung erfolgte ebenso eine Modifizierung der CNTs, wodurch die Herstellung stabiler wässriger Dispersionen ermöglicht wurde. Diese Dispersionen wurden im Folgenden bei der Sprühbeschichtung zur Herstellung von CNT-Filmen auf Edelmetall-Substraten verwendet. Diese Filme wurden ausführlich hinsichtlich ihrer Beschaffenheit, Zusammensetzung, elektrischer Eigenschaften und Stabilität charakterisiert. In einem gesonderten Unterkapitel werden die Ergebnisse der mit den CNT-Filmen durchgeführten Zellkultur-Untersuchungen diskutiert, um die mögliche biomedizinische Anwendung zu bewerten.

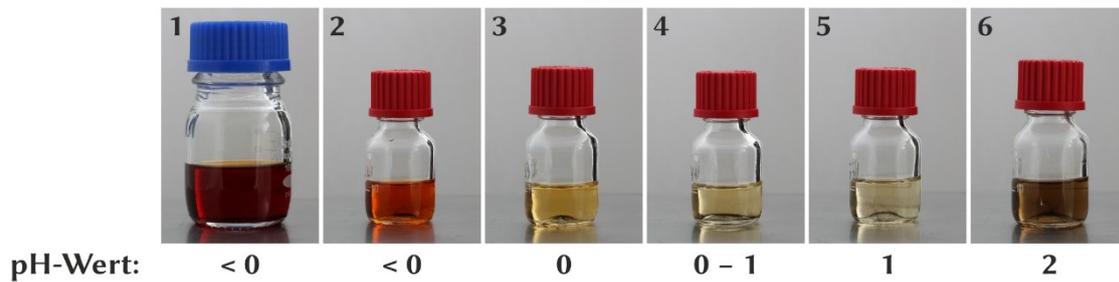
Zum Abschluss dieses Abschnittes erfolgt eine kurze Zwischenzusammenfassung und ein Fazit zu den erzielten Ergebnissen der Experimente mit Kohlenstoff-Nanoröhren.

#### 4.1.1 **Aufreinigung und Modifizierung von Kohlenstoff-Nanoröhren und Herstellung stabiler Dispersionen**

Die Aufreinigung und Modifizierung der unbehandelten, kommerziell erhältlichen Kohlenstoff-Nanoröhren erfolgten über eine Behandlung mit Salpetersäure unter Rückfluss und anschließender Dialyse sowie Trocknung. Die so hergestellten CNT-Feststoffe wurden mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie, *Raman*-Spektroskopie sowie Thermogravimetrie untersucht. Außerdem wurden die Reaktionslösungen und die Ausbeute des Aufreinigungsprozesses betrachtet. Die hergestellten wässrigen CNT-Dispersionen wurden hinsichtlich ihrer Stabilität sowie spektroskopisch untersucht. Zusätzlich erfolgte eine Analyse auf Verunreinigungen durch Metall-Rückstände aus dem Syntheseprozess der CNTs. Dabei wurden vor allem drei verschiedene CNT-Ausgangsmaterialien verwendet (Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs und SWeNT SWNTs). Ergebnisse zu weiteren verwendeten CNT-Ausgangsmaterialien sind jeweils im Anhang dargestellt.

##### *Untersuchungen während des Aufreinigungsprozesses der Kohlenstoff-Nanoröhren*

In Abbildung 4.1 sind die Überstände der einzelnen Wasch- und Zentrifugationsschritte für eine beispielhafte Aufreinigung der Kohlenstoff-Nanoröhren dargestellt. Die tiefrotbraune Färbung der ersten beiden Lösungen ist auf die, während der Aufreinigung entstandenen, nitrosen Gase zurückzuführen. Mit zunehmender Anzahl an Wasch- und Zentrifugationsschritten nimmt diese Färbung ab und der *pH*-Wert steigt an. Geringe Mengen der CNTs verbleiben nach jedem Schritt in der Lösung und führen zu geringen Verlusten bei der Ausbeute des CNT-Feststoffes. Ab einem *pH*-Wert größer 2 sind die CNTs nicht mehr vollständig durch Zentrifugation von der Waschlösung abtrennbar. Nach dem sechsten Waschschrift (*siehe*: Bild 6 in Abbildung 4.1) ist dies daran zu erkennen, dass die Lösung beginnt eine leichte Schwarzfärbung anzunehmen, da die CNTs bei diesen Bedingungen nun dispergiert in der Lösung vorliegen.

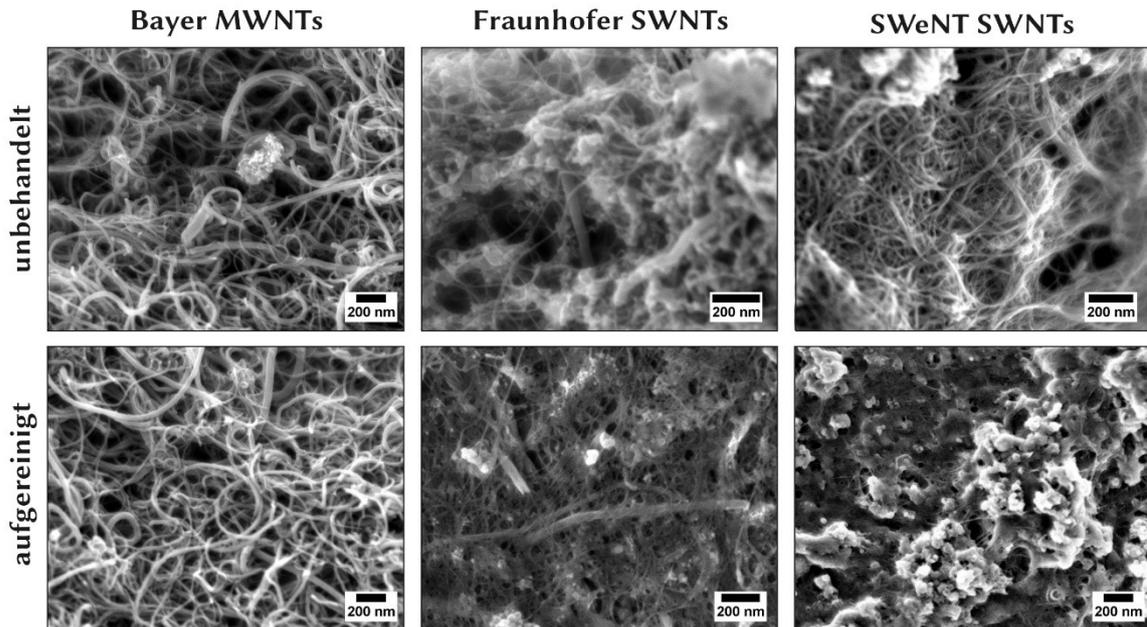


**Abbildung 4.1:** Überstände der verschiedenen Waschküpfel für die Aufreinigung der Kohlenstoff-Nanoröhren. Beispielhaft sind die Überstände der Aufreinigung für die *SWeNT CG200 single wall nanotubes* dargestellt.

Dies entspricht den Beobachtungen aus Vorarbeiten von *Bibin et al.* innerhalb der Arbeitsgruppe von *Prof. Peter Behrens*, dass sich nach der Aufreinigung mit oxidierenden Säuren und daraus folgender Modifizierung der Kohlenstoff-Nanoröhren mit sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppen ab einem *pH*-Wert größer als 2 stabile Dispersionen bilden und es kaum mehr zur Sedimentation der CNTs kommt.<sup>137</sup> Kleinere *pH*-Werte führen zu nahezu neutralen Zeta-Potentialen der CNTs. Dementsprechend sinkt das Zeta-Potential für höhere *pH*-Werte zu deutlich niedrigeren negativen Werten ( $< -30$  mV).

#### *Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Kohlenstoff-Nanoröhren*

Untersuchungen der verwendeten Kohlenstoff-Nanoröhren mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie lieferten Informationen über ihre Längen und Durchmesser. Laut den Angaben der Hersteller der CNTs liegen die Durchmesser der *single wall nanotubes* (SWNTs) im Bereich von 1 nm und ihre Länge sollte mehr als 1  $\mu\text{m}$  betragen. Die *multi wall nanotubes* (MWNTs) sollte uneinheitliche Durchmesser zwischen 5 und 20 nm aufweisen und mit den SWNTs vergleichbare Längen. Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigen diese Angaben (*siehe*: Abbildung 4.2). Die Bayer MWNTs bestehen aus einer Mischung von Nanoröhren mit unterschiedlichen Durchmessern (Abbildung 4.2 *links*). Die Aufnahmen der Fraunhofer SWNTs zeigen größtenteils sehr dünne Nanoröhren, jedoch sind auch einige mit sehr großen Durchmessern sichtbar (Abbildung 4.2 *mittig*). Im Gegensatz dazu zeigen die Aufnahmen der SWeNT SWNTs durchgängig Röhren mit kleinem Durchmesser (Abbildung 4.2 *rechts*).



**Abbildung 4.2:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der unbehandelten (*oben*) und aufgereinigten (*unten*) Kohlenstoff-Nanoröhren: Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs (von links nach rechts).

In den Aufnahmen der unbehandelten CNT-Pulver (Abbildung 4.2 *oben*) zeigt sich die Anwesenheit von aus dem Herstellungsprozess verbliebenen anorganischen Katalysator-Partikeln. Die Fraunhofer SWNTs weisen dabei den höchsten Gehalt dieser Partikel in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen auf (Abbildung 4.2 *mittig oben*). Nach der Säure-Behandlung ist die Menge an Katalysator-Partikeln für alle drei Typen von CNTs deutlich reduziert (Abbildung 4.2 *unten*). Allerdings sind im Falle der aufgereinigten SWeNT SWNTs Ablagerungen mit einer anderen Morphologie als den verbliebenen Katalysator-Partikeln sichtbar (Abbildung 4.2 *rechts unten*).

Neben den hier dargestellten Ergebnissen für die drei verschiedenen CNTs (Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs und SWeNT SWNTs) wurden Experimente mit weiteren Kohlenstoff-Nanoröhren durchgeführt. Die Aufreinigung halbleitender CNTs des Typs SG65i des Herstellers SWeNT führte zu einer Zersetzung der CNTs, was anhand der rasterelektronischen Aufnahmen ersichtlich ist (*siehe*: Abbildung 7.2 im Anhang) und im Folgenden durch *Raman*-Spektren und thermogravimetrische Messungen vor und nach der Aufreinigung (*siehe*: TG-Kurven in Abbildung 7.4 im Anhang) bestätigt werden konnte. Diese CNTs fanden somit keine Verwendung in weiteren Experimenten.

Des Weiteren sind Aufnahmen (*siehe*: Abbildung 7.2 im Anhang) von CNTs dargestellt, die bereits vom Hersteller mit COOH-Gruppen modifiziert wurden (Nanocyl NC1101) und zur direkten Herstellung wässriger Dispersionen verwendet wurden. Diese Aufnahmen weisen keine Besonderheiten auf. Eine Aufreinigung dieser CNTs wurde aufgrund der bereits bestehenden Modifizierung nicht durchgeführt.

#### *Thermogravimetrische Untersuchungen der Kohlenstoff-Nanoröhren*

Die Ergebnisse der thermogravimetrischen Analysen der unbehandelten und aufgereinigten CNT-Pulver, die im Luftstrom durchgeführt wurden, stimmen mit den aus den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen erhaltenen Informationen überein. In Tabelle 4.1 sind die prozentualen Restmassen nach der thermogravimetrischen Analyse der unbehandelten und aufgereinigten CNT-Pulver aufgelistet.

**Tabelle 4.1: Rückstände der Kohlenstoff-Nanoröhren-Zubereitungen in Prozent nach der thermogravimetrischen Analyse im Luftstrom.** Diese Methode hat einen typischen Fehler von etwa 1 m%. Unter der gepunkteten Linie sind die ergänzenden Daten für die ebenfalls untersuchten weiteren CNTs dargestellt.

Handelsname	CNT-Sorte	Rückstand / m%	
		unbehandelt	aufgereinigt
<i>Baytubes C70P</i>	MWNT	3	1
<i>Fraunhofer SWNT</i>	SWNT	29	14
<i>SWeNT CG200</i>	SWNT	6	9
<i>SWeNT SG65i</i>	SWNT, halbleitend	3	17
<i>Nanocyl NC1101</i>	SWNT, COOH-modifiziert	0	n. z.

Diese Anteile entsprechen den Oxiden der Katalysator-Bestandteile. Wie erwartet, zeigen die Fraunhofer SWNTs den größten Rückstand anorganischer Komponenten sowohl vor als auch nach der Aufreinigung. Es wurde jedoch eine Reduktion dieses

Rückstandes von 29 auf 14 m% durch die Säure-Behandlung der CNTs erreicht. Der Hersteller gibt für die unbehandelten Fraunhofer SWNTs eine Reinheit von etwa 70% für die SWNTs in ihrer CNT-Zubereitung an. Die unbehandelten Bayer MWNTs weisen schon ohne weitere Behandlung eine sehr hohe Reinheit von über 97% auf (Herstellerangabe: > 95%). Es konnte dennoch darüber hinaus eine weitere Reduktion des anorganischen Gehalts auf 1 m% durch den Aufreinigungsprozess erreicht werden. Nur die SWeNT SWNTs zeigen einen leichten Anstieg von 6 auf 9 m% für den jeweiligen Rückstand nach der thermogravimetrischen Analyse. Diese Zunahme lässt sich möglicherweise mit der Aufnahme löslicher anorganischer Salze während des Dialyse-Prozesses oder der teilweisen Entfernung von Kohlenstoff-Material, bspw. amorpher Kohlenstoff, durch Oxidation erklären. Die Verläufe der TG-Kurven (*siehe*: Abbildung 7.3 im Anhang) liefern keine weiteren Informationen zur Modifizierung oder Reinheit der CNTs.

Für die halbleitenden SWNTs SWeNT SG65i steigt der anorganische Rückstand nach der Aufreinigung von 3 auf 17 m% an. Dies spricht ebenfalls für eine Zersetzung der CNTs während des Aufreinigungsprozesses. Die bereits vom Hersteller COOH-modifizierten SWNTs Nanocyl NC1101 zeigen nahezu keinen anorganischen Rückstand nach der thermischen Behandlung. Die jeweiligen TG-Kurven sind ebenfalls im Anhang dargestellt (*siehe*: Abbildung 7.4).

### *Ausbeuten für den Aufreinigungs- und Modifizierungsprozess der Kohlenstoff-Nanoröhren*

Die Ausbeuten nach dem Aufreinigungsprozess für die modifizierten unterschiedlichen Kohlenstoff-Nanoröhren variierten stark (*siehe*: Tabelle 4.2), was zum einen auf die verschiedenen Zusammensetzungen der unterschiedlichen CNT-Formulierungen zurückzuführen ist, die als Ausgangsmaterial für die Aufreinigung verwendet wurden. Zum anderen unterschieden sich die Materialverluste während der Durchführung sehr stark, da durch die verschiedenen Ansatzgrößen unterschiedliche Gefäßgrößen für die Zentrifugation und Dialyse verwendet werden mussten. Zeigten die modifizierten Bayer MWNTs eine Ausbeute von nahezu 90%, liegt diese für die Fraunhofer SWNTs trotz der zehnfachen Ansatzgröße bei gerade einmal knapp 6%. Die SWeNT SWNTs liegen dazwischen mit einer Ausbeute von 26.7%.

**Tabelle 4.2: Ausbeute der modifizierten unterschiedlichen Kohlenstoff-Nanoröhren nach dem Aufreinigungsprozess mit Salpetersäure.** Die Ausbeute ist jeweils in Milligramm und Massenprozent angegeben, jeweils bezogen auf die Masse des verwendeten Ausgangsmaterials. Unter der gepunkteten Linie sind die ergänzenden Daten für die ebenfalls untersuchten weiteren CNTs dargestellt.

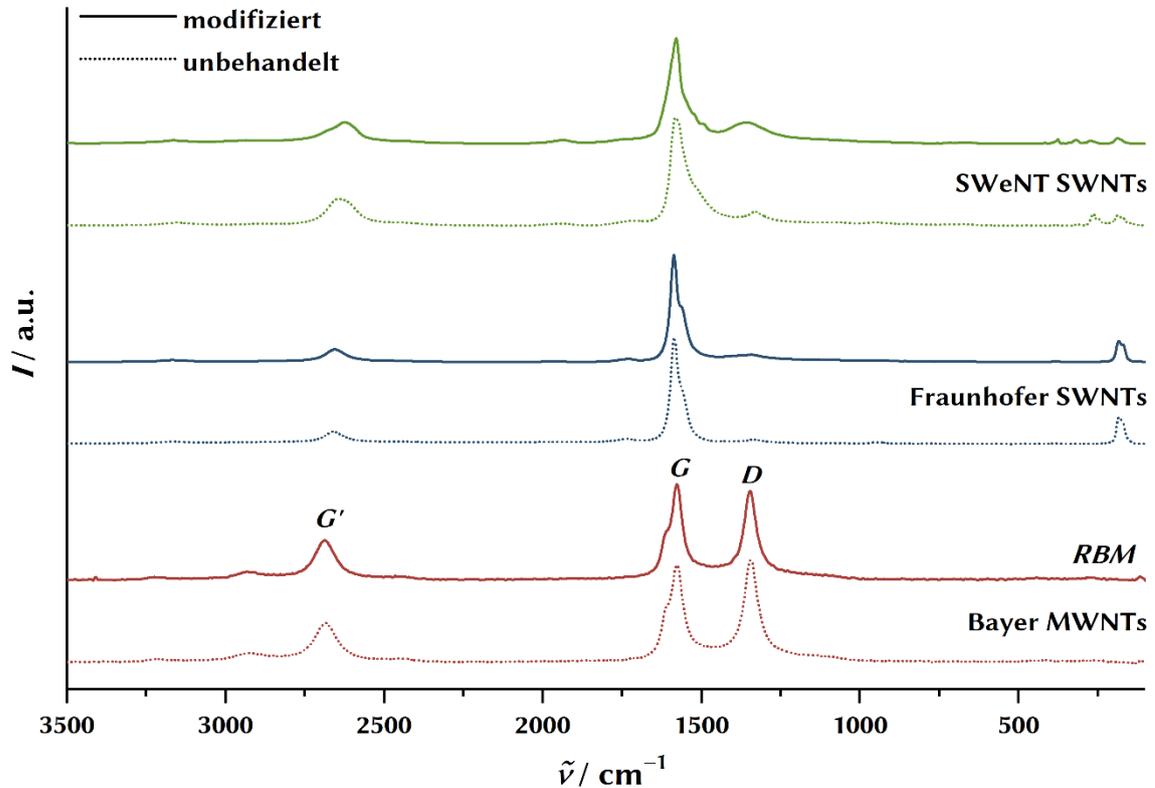
Handelsname	CNT-Sorte	Ausgangsmaterial	Ausbeute modifizierter CNTs	
		/ mg	/ mg	/ m%
<i>Baytubes C70P</i>	MWNT	288	259	89.8
<i>Fraunhofer SWNT</i>	SWNT	3400	189	5.6
<i>SWeNT CG200</i>	SWNT	237	63.3	26.7
<i>SWeNT SG65i</i>	SWNT, halbleitend	231	120	51.9

Die thermogravimetrischen Untersuchungen der Kohlenstoff-Nanoröhren zeigten bereits, dass die unbehandelten Fraunhofer SWNTs den größten Anteil anorganischen Katalysator-Materials und damit einhergehend den größten Massenverlust bezüglich der anorganisch-oxidischen Rückstände durch den Aufreinigungsprozess aufweisen.

#### *Raman-spektroskopische Untersuchungen der Kohlenstoff-Nanoröhren*

Raman-Spektroskopie ist eine gebräuchliche Methode zur Untersuchung von Kohlenstoff-Nanomaterialien, im Speziellen für  $sp^2$ -gebundene Kohlenstoff-Allotrope wie Graphen<sup>146,148</sup> und Kohlenstoff-Nanoröhren<sup>147</sup>. Raman-Spektren können Informationen über die Struktur, Fehlstellen, Dotierung und funktionelle Gruppen von Kohlenstoff-Nanoröhren liefern. Die Raman-Spektren vor und nach der Säure-Behandlung weisen die typischen  $G$ -,  $D$ - und  $G'$ -Banden für graphitische Materialien auf (siehe: Abbildung 4.3). Die  $G$ -Bande ist die primäre Raman-aktive Mode in Graphit und repräsentiert das vibratorische Verhalten der  $sp^2$ -gebundenen Kohlenstoff-Atome in der quasi-planaren Schicht-Konfiguration innerhalb der Kohlenstoff-Nanoröhren. Sie tritt bei  $1582\text{ cm}^{-1}$  auf. Die  $D$ -Bande liegt bei  $1350\text{ cm}^{-1}$  und ist bekannt als Unordnungs- oder Defekt-Mode. Diese Schwingungsmode lässt sich auf die offenen Enden der Kohlenstoff-Nanoröhren und die Defekte innerhalb einer Röhre zurückführen. Die  $G'$ -Mode

( $\approx 2700 \text{ cm}^{-1}$ ) ist die harmonische Oberschwingung der *D*-Bande und ist häufig auch als *2D*-Bande bekannt.



**Abbildung 4.3: Raman-Spektren der unbehandelten und modifizierten CNT-Materialien.** Die unbehandelten CNT-Materialien sind als gepunktete Linien und die modifizierten als durchgezogene Linien dargestellt. Die Spektren wurden zur Identifizierung der typischen *G*-, *D*- und *G'*-Banden für graphitische Materialien sowie der für SWNTs typischen RBM-Banden verwendet und die dazugehörigen Intensitäten dieser Banden zur Berechnung der  $L_G$ -Werte genutzt.

Das Verhältnis der Intensitäten von *G*- und *D*-Bande wird gerne verwendet, um die Qualität von fehlgeordneten Kohlenstoff-Materialien zu bewerten.<sup>146,148,163</sup> Im Vergleich zu SWNTs zeigen MWNTs üblicherweise hohe Intensitäten der *D*-Bande (siehe: Abbildung 4.3), da die hohe Anzahl konzentrisch aufgerollter Graphit-Schichten zu einer hohen Defektdichte führt. In den Spektren der SWNTs (siehe: Abbildung 4.3) tritt eine weitere Reihe von Banden bei niedrigen Wellenzahlen auf, die der *radial breathing mode*

zugeschrieben und auch als *RBM*-Bande bezeichnet werden. Diese Banden sind spezifisch für SWNTs und entsprechen der radialen Kontraktion und Expansion der Röhren. Die zugehörigen Wellenzahlen dieser Banden können theoretisch Informationen über den Durchmesser der Röhren und ihren Grad der Aggregation geben. Dies wurde in diesem Fall jedoch nicht weiterverfolgt.

Aus den Intensitätsverhältnissen der jeweiligen *D*- und *G*-Banden lässt sich die Kohärenzlänge in der Ebene  $L_G$  über die empirisch ermittelte Formel (Gleichung (2) in 3.2.4) nach *Cançado et al.* berechnen, die Informationen zur Defektdichte liefert.<sup>149</sup> Der hier als Kohärenzlänge bezeichnete Wert  $L_G$  kann als Maß für die Ausdehnung des  $sp^2$ -hybridisierten Anteils innerhalb der CNTs bzw. des Kohlenstoff-Materials angesehen werden. Es ist somit ein Indikator für den Grad der Graphitisierung<sup>150</sup> der CNTs und gibt Hinweise auf die Anwesenheit funktioneller Gruppen.<sup>151</sup>

**Tabelle 4.3: Berechnete Kristallitgrößen  $L_G$  der unbehandelten und aufgereinigten CNT-Pulver.** Die aufgelisteten Werte stellen den Mittelwert drei unabhängiger Messungen und die dazugehörige Standardabweichung dar. Unter der gepunkteten Linie sind die ergänzenden Daten für die ebenfalls untersuchten weiteren CNTs dargestellt.

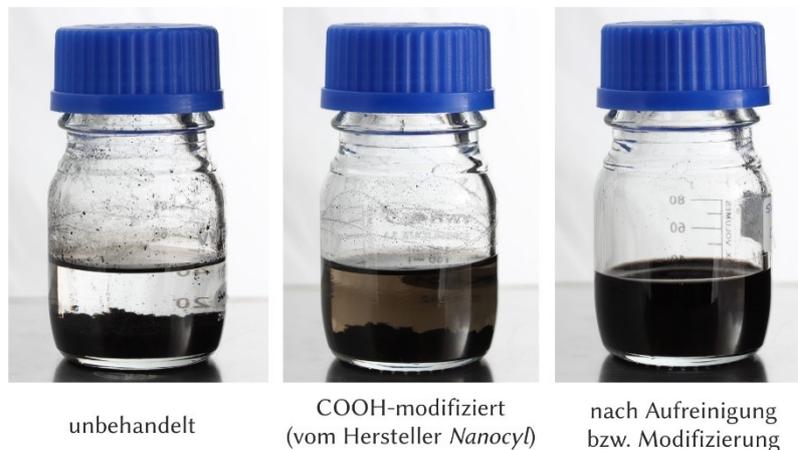
Handelsname	CNT-Sorte	Kristallitgröße $L_G$ / nm	
		unbehandelt	modifiziert
<i>Baytubes C70P</i>	MWNT	$17 \pm 2$	$20 \pm 2$
<i>Fraunhofer SWNT</i>	SWNT	$518 \pm 12$	$277 \pm 8$
<i>SWeNT CG200</i>	SWNT	$170 \pm 24$	$110 \pm 21$
<i>SWeNT SG65i</i>	SWNT, halbleitend	$142 \pm 10$	$20 \pm 1$
<i>Nanocyl NC1101</i>	SWNT, COOH-modifiziert	$93 \pm 8$	n. z.

Die in Tabelle 4.3 aufgelisteten  $L_G$ -Werte vor und nach der Aufreinigung zeigen, dass die Säurebehandlung der Kohlenstoff-Nanoröhren zu niedrigeren Werten für  $L_G$  führt. Dies ist ein Anzeichen für eine erhöhte Anzahl von Defekten und das kann als Hinweis auf eine erfolgreiche Modifizierung der Kohlenstoff-Nanoröhren mit Carboxyl-

Gruppen durch die Behandlung mit Salpetersäure interpretiert werden.<sup>151</sup> Dies ist in Übereinstimmung mit der guten Dispergierbarkeit der modifizierten CNTs in Wasser nach der Aufreinigung. Im Gegensatz dazu sind unbehandelte Kohlenstoff-Nanoröhren in Wasser nicht dispergierbar.<sup>164</sup>

### *Wässrige Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

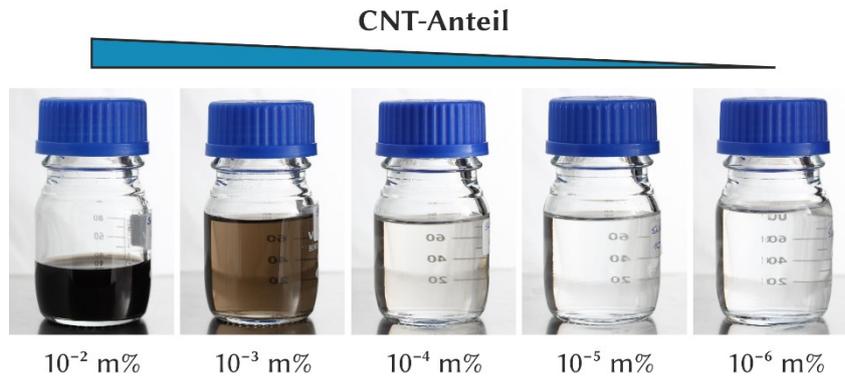
Die geringe Dispergierbarkeit von reinen, unbehandelten Kohlenstoff-Nanoröhren lässt sich auf ihre Tendenz zurückführen, sich aufgrund der Entropieminimierung zu Bündeln oder Strängen zusammenzufügen. Diese beinhalten hunderte dicht-gepackter CNTs, die durch die *van-der-Waals*-Anziehungsenergie von etwa  $500 \text{ eV} \cdot \mu\text{m}^{-1}$  für den Kontakt der Röhren untereinander fest verbunden sind.<sup>164</sup> Daher ist es selbst mit mechanischen Dispergierv Verfahren wie einer Behandlung durch Ultraschall nicht möglich, langzeit-stabile Dispersionen von unbehandelten Kohlenstoff-Nanoröhren in Wasser zu erhalten. In Abbildung 4.4 ist zu sehen, dass sich bei unbehandelten Kohlenstoff-Nanoröhren schon kurze Zeit nach der Behandlung mit Hilfe eines Ultraschalldesintegrators der schwarze CNT-Feststoff als Präzipitat am Boden des Gefäßes absetzt und die überstehende Lösung vollständig klar und farblos verbleibt.



**Abbildung 4.4: Wässrige Dispersionen unterschiedlicher Arten von Kohlenstoff-Nanoröhren.** Gezeigt sind die wässrigen Dispersionen unbehandelter, vom Hersteller *Nanocyl* COOH-modifizierter und im Rahmen dieser Arbeit aufgereinigter bzw. modifizierter Kohlenstoff-Nanoröhren (*von links nach rechts*). Diese Aufnahmen wurden jeweils etwa eine Stunde nach dem Dispergiervorgang mittels Ultraschalldesintegrator angefertigt.

Eine kovalente Modifizierung der Kohlenstoff-Nanoröhren mit funktionellen Gruppen, beispielsweise mit Carboxyl-Gruppen, soll dem Abhilfe schaffen und eine Dispergierbarkeit ermöglichen. Der Hersteller *Nanocyl* bietet kommerziell erhältliche *single wall nanotubes NC1101* mit einer solchen Modifizierung an. Diese besitzen laut Herstellerangaben eine zehn-prozentige Modifizierung an Carboxyl-Gruppen.<sup>165</sup> Dies führt jedoch nicht zu einer nennenswerten Erhöhung der Dispergierbarkeit dieser CNTs im Vergleich zu den unbehandelten CNTs, wie in Abbildung 4.4 deutlich zu sehen ist. Nach der Behandlung mit Ultraschall setzt sich auch hier nach kurzer Zeit der CNT-Feststoff am Boden des Gefäßes ab. Nur eine leichte Färbung der überstehenden Lösung deutet an, dass wenige CNTs dispergiert wurden. Die Lösung verbleibt jedoch klar. Im Gegensatz dazu führt der in dieser Arbeit verwendete Aufreinigungs- und Modifizierungsprozess mit Salpetersäure als oxidierender Säure zu langzeit-stabilen tiefschwarzen und undurchsichtigen Dispersionen der CNTs in Wasser (*siehe*: Abbildung 4.4). Nach dem Dispergiervorgang mit Hilfe eines Ultraschalldesintegrators ist kein Präzipitat zu beobachten. Erst einige Tage später lässt sich ein leichter Bodensatz eines schwarzen Feststoffes beobachten, wobei die Dispersion weiterhin stabil sowie tiefschwarz und undurchsichtig ist. Durch kurze Behandlung im Ultraschallbad ist der Feststoff wieder vollständig dispergierbar. Diese wässrigen Dispersionen von Kohlenstoff-Nanoröhren sind langzeitstabil über den beobachteten Zeitraum von mehreren Jahren. Da keine weiteren Zusätze oder Dispergierhilfsmittel zum Einsatz kommen und somit nur die COOH-modifizierte CNTs und Wasser in den Dispersionen enthalten sind, werden keine Alterungsprozesse o.ä. beobachtet. Aufgrund dieser verschiedenen Gründe wurden für die Durchführung der in dieser Arbeit beschriebenen Beschichtungsprozesse (*s.o.*) ausschließlich wässrige Dispersionen der selbst aufgereinigten bzw. modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren verwendet. Mit unaufgereinigten oder kommerziell erhältlichen modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren wären über wässrige Dispersionen keine homogenen Beschichtungen möglich gewesen.

Es wurden Verdünnungsreihen der wässrigen CNT-Dispersionen erstellt. Die Ausgangsdispersionen hatten jeweils einen Massenanteil von 0.1 m%. Jeweils zehnfache Verdünnungen wurden bis zu  $10^{-6}$  m% durchgeführt. In Abbildung 4.5 sind diese Verdünnungen in Reihenfolge abnehmenden CNT-Anteils dargestellt.

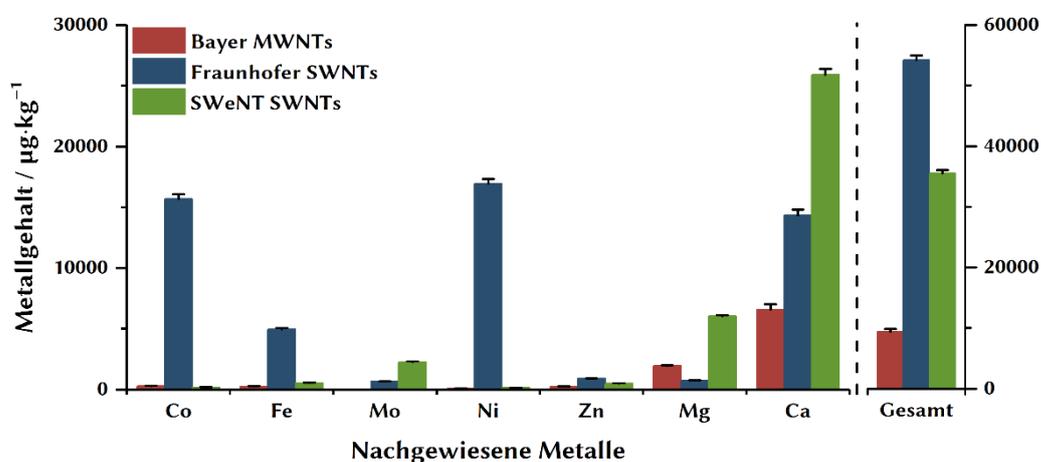


**Abbildung 4.5:** Wässrige Dispersionen von Kohlenstoff-Nanoröhren mit unterschiedlichem Massenanteil (von links nach rechts abnehmend). Bis zu einem Massenanteil von  $10^{-4}$  m% ist die Färbung der Dispersion mit bloßem Auge erkennbar, bis  $10^{-5}$  m% mit Hilfe eines UV-Vis-Spektrometers nachweisbar. Höher verdünnte Dispersionen der CNTs lassen sich nicht mittels UV-Vis-Spektroskopie von Wasser unterscheiden.

Die durch die dispergierten Kohlenstoff-Nanoröhren verursachte schwarze Färbung der Dispersionen ist bis zu einem Massenanteil von  $10^{-3}$  m% deutlich erkennbar. Im Vergleich mit reinem Wasser lässt sich bis zu  $10^{-4}$  m% optisch ein Unterschied wahrnehmen. Zur weiteren Untersuchung der Dispersionen wurden UV-Vis-Spektren (siehe: Anhang Abbildung 7.5) angefertigt. In den Spektren lassen sich, abgesehen von der Herabsetzung der Transmission über den gesamten gemessenen Wellenlängenbereich mit zunehmenden Massenanteil der CNTs, keine zusätzlichen Absorptionsbanden im Vergleich zu reinem Wasser feststellen. Eine Herabsetzung der Transmission ist bis zu einem Massenanteil  $10^{-5}$  m% der CNTs zu beobachten. Bei einem Massenanteil von  $10^{-6}$  m% lässt sich im UV-Vis-Spektrum des gemessenen Wellenlängenbereichs kein Unterschied mehr zu reinem Wasser erkennen.

Um Aussagen über die Zusammensetzung der wässrigen CNT-Dispersionen und der aufgereinigten Kohlenstoff-Nanoröhren treffen zu können, wurden ICP-OES-Analysen der drei in dieser Arbeit weitestgehend verwendeten CNT-Dispersionen (Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs) durchgeführt. Diese Methode lieferte Informationen über den Metall-Gehalt der Dispersionen (siehe: Abbildung 4.6 und Tabelle 4.4), wodurch genauere Aussagen bezüglich der Zusammensetzung der anorganischen Rückstände möglich sind. Typische Metalle, die für die Katalysatoren bei der Herstellung von CNTs verwendet werden, sind Cobalt, Eisen, Molybdän und Nickel. Deren Gehalte

konnten ermittelt und quantifiziert werden. Außerdem wurden die Erdalkalimetalle Magnesium und Calcium sowie Zink in signifikanten Mengen detektiert.



**Abbildung 4.6:** Darstellung der durch ICP-OES-Analyse ermittelten Metallgehalte der verschiedenen CNT-Dispersionen. Die Metallgehalte beziehen sich auf die Dispersionen mit einem CNT-Massenanteil von 0.1%.

Die Summe der Metallgehalte der Dispersionen zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Mengen der anorganischen Rückstände der CNT-Pulver nach der thermogravimetrischen Analyse. Insgesamt weisen die Dispersionen der Fraunhofer SWNTs den höchsten Metallgehalt auf und die der Bayer MWNTs den geringsten. Die Übergangsmetalle zeigen sehr unterschiedliche Gehalte für die drei verschiedenen untersuchten CNT-Dispersionen, was offenkundig von den vom Hersteller verwendeten Katalysatoren abhängt. Aufgrund der geringen detektierten Gehalte und im Hinblick auf die schlechte Löslichkeit noch vorhandener Katalysator-Partikel nach der Aufreinigung und ihrer Einkapselung in die CNTs sind zytotoxische Effekte durch ihre reduzierte Bioverfügbarkeit limitiert.<sup>152</sup> Alle drei Dispersionen weisen verhältnismäßig hohe Gehalte der Erdalkalimetalle Calcium und Magnesium auf, was höchstwahrscheinlich von den Katalysatorträgermaterialien stammt.

**Tabelle 4.4:** Mit Hilfe der ICP-OES-Analyse ermittelte Metallgehalte der verschiedenen CNT-Dispersionen. Die Metallgehalte beziehen sich auf die Dispersionen mit einem CNT-Massenanteil von 0.1%. LOD: limit of detection (dt.: Nachweisgrenze).

CNT-Dispersion	Metallgehalt / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$							Gesamt
	Co	Fe	Mo	Ni	Zn	Mg	Ca	
Bayer MWNTs	284.3 $\pm 18.7$	266.6 $\pm 18.4$	< LOD	60.9 $\pm 21.5$	262.59 $\pm 4.54$	1959.1 $\pm 23.1$	6575 $\pm 452$	9408.49 $\pm 453.88$
Fraunhofer SWNTs	15697 $\pm 380$	4943 $\pm 126$	668.8 $\pm 15.3$	16956 $\pm 371$	907.06 $\pm 4.49$	734.4 $\pm 23.8$	14350 $\pm 468$	54256.26 $\pm 719.56$
SWeNT SWNTs	181.9 $\pm 21.5$	554.1 $\pm 17.4$	2252.8 $\pm 62.8$	132.1 $\pm 21.4$	497.69 $\pm 4.32$	6039.6 $\pm 89.8$	25915 $\pm 471$	35573.19 $\pm 484.86$

Zur genaueren Betrachtung der Angaben zu den einzelnen Metallen sind in Tabelle 4.4 die Zahlenwerte der über ICP-OES ermittelten Metall-Gehalte zusätzlichen zur grafischen Darstellung des Säulendiagrammes in Abbildung 4.6 dargestellt. Die im Vergleich zu der Dispersion der Fraunhofer SWNTs geringen Gehalte an Übergangsmetallen der Bayer MWNT- und SWeNT SWNT-Dispersionen können anhand der Zahlenwerte besser unterschieden und verglichen werden.

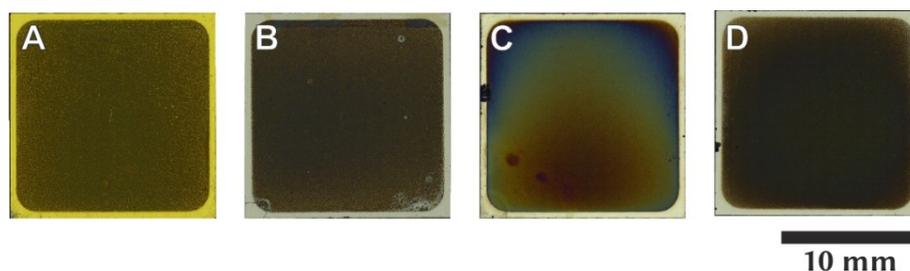
#### 4.1.2 Charakterisierung der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren

Im vorangegangenen Abschnitt wurden die Ergebnisse der Aufreinigung bzw. Modifizierung von Kohlenstoff-Nanoröhren sowie die Herstellung von wässrigen Dispersionen aus diesen CNTs beschrieben. Die wässrigen CNT-Dispersionen (0.01 m%) dienen zur Herstellung von CNT-Beschichtungen auf Gold- aber vor allem auf Platin-Substraten. Der Fokus lag auf der Entwicklung eines Prozesses zur Herstellung größerer Stückzahlen von CNT-Filmen in guter und vor allem reproduzierbarer Qualität über die Methode der automatisierten Sprühbeschichtung. In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse zur Entwicklung dieses Prozesses beschrieben. Dabei werden die Morphologie und Topographie der CNT-Filme, ihre elementare Zusammensetzung und elektrischen Eigenschaften detailliert beschrieben. Es folgen die Ergebnisse zu Untersuchungen hinsichtlich der Stabilität der CNT-Filme.

### *Morphologie und Topographie der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Zur Untersuchung der Morphologie und Topographie der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren wurde vor allem die Homogenität der Beschichtungen über die gesamte Probenfläche, die Morphologie auf nanoskopischer Ebene sowie die Oberflächenstruktur betrachtet. Außerdem wurde die Schichtdicke ermittelt. Es wurden sowohl fotografische Aufnahmen als auch licht-, konfokal-, und elektronenmikroskopische Methoden für diese Untersuchungen verwendet. Zunächst wird dabei die Entwicklung des automatisierten Sprühprozesses für CNT-Filme auf Gold- und Platin-Substraten gezeigt. Anschließend liegt der Fokus auf der Charakterisierung der CNT-Filme der verschiedenen CNTs auf Platin-Substraten, die über den automatisierten Sprühprozess hergestellt wurden und für Untersuchungen zu ihrer Biokompatibilität in Zellkulturexperimenten verwendet wurden.

In Abbildung 4.7 sind lichtmikroskopische Aufnahmen verschiedener, per automatisierter Sprühbeschichtung beschichteter CNT-Filme dargestellt. Von links nach rechts ist die Entwicklung des Sprühprozesses zu erkennen.

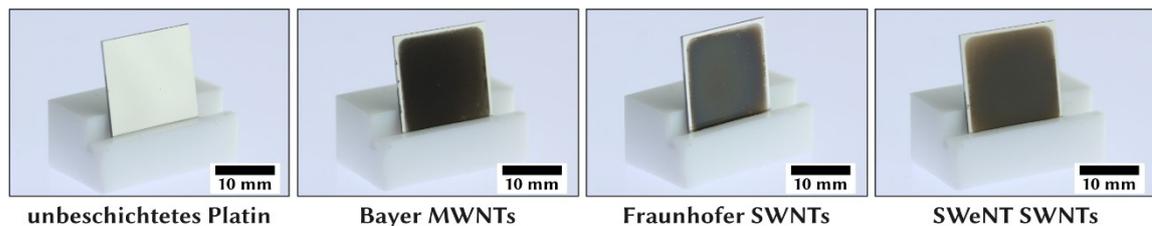


**Abbildung 4.7: Lichtmikroskopische Aufnahmen eines CNT-beschichteten Gold-Substrates (A) und dreier Platin-Substrate (B-D).** Es ist der erfolgreiche Übergang von Gold- zu Platin-Substraten (A zu B) sowie die Optimierung des automatisierten Sprüh-Prozesses hin zu homogenen Beschichtungen der gesamten Substrat-Fläche (B-D) gezeigt.

Von anfänglich kommerziell erhältlichen Gold-Substraten (A) wurde der Prozess erfolgreich auf vergleichbare Platin-Substrate (B-D) übertragen, die eigens vom IMPT angefertigt wurden (siehe: 3.1.1). Die ungleichmäßige Beschichtung – bei A und B scheint teilweise das Substrat durch – konnte über die Anpassung der Prozessparameter immer weiter optimiert werden, so dass bei C die gesamte Probenfläche vollständig beschichtet wurde. Die Kanten der CNT-beschichteten Substrate sind jedoch bei allen Proben dieser

Art nicht beschichtet und exponieren blankes Platin aufgrund der Geometrie des Probenhalters (*siehe*: Beschreibung des Beschichtungsprozesses in Abschnitt 3.1.2). Außerdem sind bei der Probe *C* Interferenzfarben zu erkennen, was auf Höhenunterschiede innerhalb der Schicht zurückzuführen ist. Bei *D* ist dieses Phänomen nicht zu beobachten, die gesamte Probenfläche erscheint homogen beschichtet. Nur an den Rändern der Beschichtung treten leichte Unregelmäßigkeiten auf.

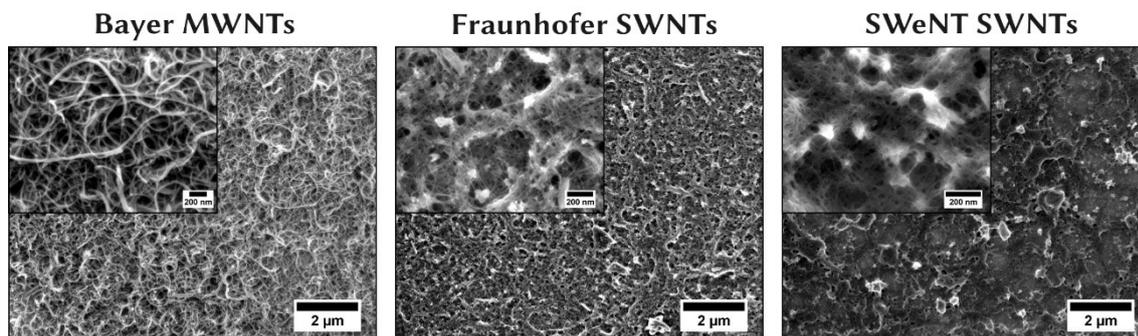
Die Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren (CNTs) auf den Platin-Substraten, die für weitere Zellkulturuntersuchungen verwendet wurden, wurden mit Hilfe von wässrigen Dispersionen der drei verschiedenen aufgereinigten CNTs über einen automatisierten Sprühbeschichtungsprozess hergestellt. Fotografische Aufnahmen zeigen homogene Beschichtungen über die gesamte beschichtete Substrat-Oberfläche (*siehe*: Abbildung 4.8). Zum Vergleich ist ganz links in Abbildung 4.8 ein unbeschichtetes Platin-Substrat dargestellt.



**Abbildung 4.8:** Aufnahmen eines unbeschichteten Platin-Substrates (*ganz links*) und der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren auf den Platin-Substraten (*weiter von links nach rechts*): Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs. Die Kanten der CNT-beschichteten Substrate sind nicht beschichtet und exponieren blankes Platin aufgrund der Geometrie der verwendeten Probenhalterung.

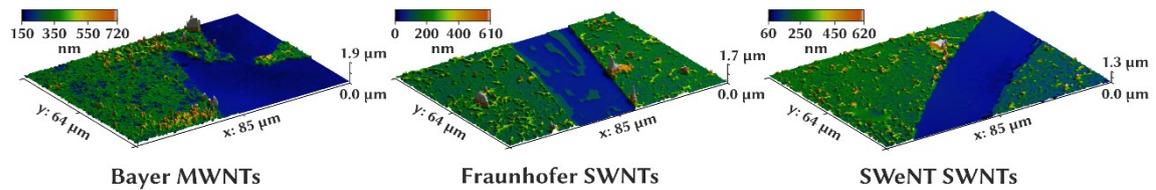
In Abbildung 4.9 sind rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der CNT-Beschichtungen dargestellt. Bei niedrigen Vergrößerungen sind die homogen beschichteten Bereiche auch im Mikrometer-Bereich erkennbar. Sowohl für die Bayer MWNTs als auch die Fraunhofer SWNTs sind keine Verunreinigungen in den Beschichtungen erkennbar. Bei höheren Vergrößerungen werden bei den aus SWeNT SWNTs hergestellten Filmen die Verunreinigungen deutlich sichtbar. Aber auch die Fraunhofer-SWNT-basierten Filme zeigen die Anwesenheit kleiner anorganischer Partikel. Möglicherweise handelt es sich dabei um noch vorhandene Katalysator-Partikel. Im Gegensatz zu den

Aufnahmen der CNT-Pulver (*siehe*: Abbildung 4.2 in Kapitel 4.1.1) weisen die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der aus Fraunhofer SWNTs hergestellten Filme keine Nanoröhren mit sehr großen Durchmessern auf. Dies ist möglicherweise auf die schlechte Dispergierbarkeit dieser größeren Nanoröhren in Wasser zurückzuführen. In allen drei Fällen zeigen die Kohlenstoff-Nanoröhren keine bevorzugte Orientierung, bilden aber ein willkürlich angeordnetes Netzwerk aus verwobenen Nanoröhren (Abbildung 4.9).



**Abbildung 4.9:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren auf Platin-Substraten: Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs (*von links nach rechts*). Die niedrigeren Vergrößerungen zeigen homogen beschichtete Proben; in den höheren Vergrößerungen in den Einschüben jeweils links oben sind die willkürlich angeordneten Netzwerke aus Kohlenstoff-Nanoröhren erkennbar.

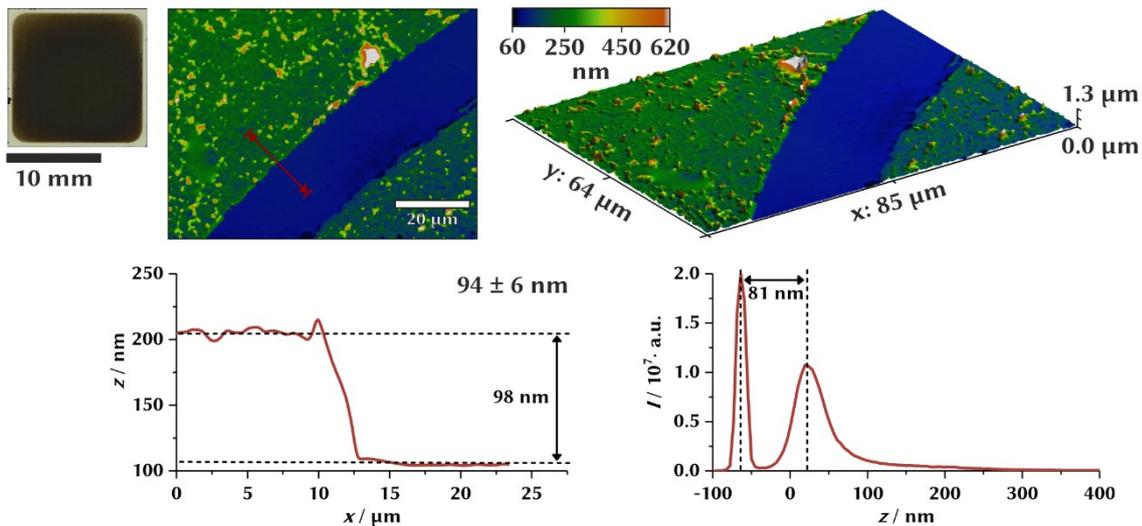
Die REM-Aufnahmen weisen auf eine raue Oberfläche der Filme im Nanometerbereich hin, dies wird durch die konfokalmikroskopischen Aufnahmen bestätigt. Um die Schichtdicke der CNT-Beschichtungen zu bestimmen, wurde diese in kleinen Bereichen der Proben vor den Aufnahmen entfernt (*siehe*: Abschnitt 3.2.2). Die klar definierten Kanten zwischen Beschichtung und Substrat erlauben die Bestimmung der Schichtdicken der CNT-Beschichtungen. In Abbildung 4.10 sind die drei-dimensionalen Projektionen der konfokalmikroskopischen Aufnahmen dieser Bereiche der jeweiligen Proben dargestellt. Dunkelblaue Bereiche in den Bildern repräsentieren die blanke, planare Platin-Oberfläche der Substrate. Grün, gelb, orange und weiß gefärbte Bereiche kennzeichnen dementsprechend die unterschiedlichen Höhen der Beschichtungen.



**Abbildung 4.10: Drei-dimensionale Darstellungen der konfokalmikroskopischen Aufnahmen der CNT-beschichteten Platin-Substrate: Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs (von links nach rechts).** Teile der CNT-Beschichtungen wurden mechanisch entfernt. Die entstandenen Kanten zwischen Beschichtung und Substrat wurden dazu verwendet die Schichtdicke der Beschichtungen mit Hilfe konfokalmikroskopischer Scans zu bestimmen. Dunkelblaue Bereiche in den Bildern repräsentieren die blanke ebene Platin-Oberfläche der Substrate. Grün, gelb und orange gefärbte Bereiche kennzeichnen dementsprechend die unterschiedlichen Höhen der Beschichtungen.

Die drei-dimensionalen Darstellungen geben einen Eindruck über die Rauheit der Oberfläche und die Homogenität der Beschichtungen. Vereinzelt sind mikrometer-hohe Erhebungen bzw. Unebenheiten zu erkennen. Insgesamt liegt die Höhe aller drei CNT-Beschichtungen im unteren Nanometer-Bereich. Die Beschichtungen der beiden SWNTs wirken homogener, in diesen Aufnahmen sind weniger blaue Bereiche des Substrates in den beschichteten Bereichen zu erkennen. Die Entfernung der Beschichtung in Teilbereichen war für alle drei Beschichtungen erfolgreich.

Über die freigelegten, ebenen Bereiche der Substratoberfläche und die dadurch erzeugten definierten Kanten zwischen Schicht und Substrat lassen sich, wie in 3.2.2 beschrieben, mit Hilfe von zwei unterschiedlichen Methoden die Schichtdicken der CNT-Filme bestimmen: Auswertung der Höhenprofile an den Kanten sowie Histogramme der Höhendaten für die gesamte Probe. In Abbildung 4.11 sind beispielhaft für einen CNT-Film der SWeNT SWNTs eine lichtmikroskopische Übersichtsaufnahme der gesamten Probe, die Darstellungen der konfokalmikroskopischen Aufnahme als zwei-dimensionale Aufsicht sowie drei-dimensionale Projektion dargestellt. Außerdem sind ein beispielhaftes Höhenprofil, dessen Verlauf in der zwei-dimensionalen Übersicht gekennzeichnet ist, und das Histogramm der Höhendaten für die gemessenen Datenpunkte gezeigt.



**Abbildung 4.11: Darstellung der konfokalmikroskopischen Aufnahme eines CNT-beschichteten Platin-Substrates (SWeNT SWNTs) zur Bestimmung der Schichtdicke.** Es sind sowohl eine lichtmikroskopische Aufnahme der gesamten Probe (*oben links*) als auch die Darstellungen der konfokalmikroskopischen Aufnahme in zwei-dimensionaler Aufsicht (*oben mittig*) sowie als drei-dimensionale Projektion (*oben rechts*) abgebildet. Außerdem sind ein beispielhaftes Höhenprofil (*unten links*) an einer erzeugten Kante und ein Histogramm der Höheninformationen der gemessenen Datenpunkte (*unten rechts*) dargestellt.

Wie in dieser Abbildung gezeigt, kann an den erzeugten Kanten die Höhendifferenz zwischen Substratoberfläche und der Schicht bestimmt werden. Es wurde für die drei unterschiedlichen CNT-Filme jeweils mit fünf Höhenprofilen an den erzeugten Kanten ein Mittelwert für die Dicke der jeweiligen Schicht und die dazugehörige Standardabweichung der Messwerte bestimmt. Zusätzlich wurde über das Histogramm der Höhendaten der gemessenen Datenpunkte die Schichtdicke ermittelt. Dies wird dadurch möglich, dass durch das teilweise Entfernen der Schicht zwei Maxima in der Verteilung der Höhendatenpunkte entstehen. Die Differenz dieser Maxima ergibt die Schichtdicke. Voraussetzungen sind dabei jedoch immer, dass die ebene Fläche der Messung keinen Kippwinkel aufweist und ausreichend große Bereiche der Beschichtung entfernt wurden. Außerdem ist es wichtig, dass die Beschichtung in den entsprechenden Bereichen nahezu vollständig entfernt werden konnte. Ebenso muss es sich um eine Schicht mit relativ einheitlicher Schichtdicke handeln. Trifft dies alles nicht oder nur eingeschränkt zu, kommt es zur Verbreiterung der Maxima und im Extremfall gar nicht erst zur Ausbildung zweier klar definierter Maxima. In den drei Fällen der CNT-Filme konnte jedoch

jeweils für beide Methoden bei allen drei Beschichtungen die Schichtdicke bestimmt werden. In Tabelle 4.5 sind diese Werte aufgelistet. Für die CNT-Filme der Bayer MWNTs und der Fraunhofer SWNTs sind die graphischen Darstellungen der Messungen in Abbildung 7.7 und Abbildung 7.8 im Anhang zu finden. Zusätzlich wurde als Kenngröße für die Rauheit der Oberfläche die mittlere arithmetische Höhe der Beschichtung bestimmt. Hierfür wurde ein vollständig beschichteter Teilbereich mit definierter Fläche ( $1109.56 \mu\text{m}^2 = 33.1 \times 33.1 \mu\text{m}^2$ ) betrachtet. Auch diese Werte sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

**Tabelle 4.5: Anhand der konfokalmikroskopischen Aufnahmen ermittelte Schichtdicken der CNT-Filme auf Platin-Substraten sowie die mittlere arithmetische Höhe  $S_a$  als Kenngröße für die Rauheit der Oberfläche.** Die Schichtdicken wurden über die Höhenprofile an den erzeugten Kanten mit fünf verschiedenen Profilen je Probe und über das Histogramm der Höhendaten für die gesamte Probe ermittelt. Die mittlere arithmetische Höhe  $S_a$  als Kenngröße für die zwei-dimensionale Rauheit der Oberfläche wurde für eine Fläche von  $1109.56 \mu\text{m}^2$  ( $33.1 \times 33.1 \mu\text{m}^2$ ) in einem vollständig beschichteten Bereich der Probe bestimmt.

	Bayer MWNTs	Fraunhofer SWNTs	SWeNT SWNTs
Schichtdicke (Höhenprofil) / nm	$118 \pm 11$	$100 \pm 15$	$94 \pm 6$
Schichtdicke (Histogramm) / nm	132	94	81
Rauheit $S_a$ / nm	36	49	40

Es wird deutlich, dass die Werte für die Schichtdicken zwischen den beiden Methoden geringe Unterschiede aufweisen. Alle Werte liegen jedoch jeweils im Bereich um 100 nm. Das arithmetische Mittel der zwei-dimensionalen Rauheit bzw. die mittlere arithmetische Höhe  $S_a$  weist Werte im Bereich von 30 bis zu 50 nm auf. Das bedeutet, dass die Oberflächen in Relation zur absoluten Schichtdicke sehr rau sind. Dennoch ist anzumerken, dass sich sowohl die Werte der Schichtdicke als auch der Rauheit im unteren Nanometerbereich befinden. Angesichts der rauen Oberflächen der Beschichtungen und den Fehlern sowohl für die Messung als auch für die Auswertungsmethoden ist es sinnvoller, nur einen generellen Bereich der Schichtdicken von 60 bis zu 150 nm für alle

drei verschiedenen CNT-Beschichtungen anzugeben. Vergleiche der Werte für die drei unterschiedlichen CNT-Filme untereinander sind nur bedingt möglich.

#### *Elementare Zusammensetzung der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Untersuchungen der CNT-Filme mit Hilfe der Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) lieferten Informationen über die elementare Zusammensetzung an der Oberfläche der Beschichtungen und können Tabelle 4.6 entnommen werden.

**Tabelle 4.6:** Per Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) bestimmte elementare Zusammensetzungen für die Oberflächen der drei verschiedenen hergestellten CNT-Filme. Nur Elemente mit einem Prozentsatz größer 0.5 at% sind aufgelistet.

CNT-Film	Oberflächenzusammensetzung / at%			
	C	O	N	Ca
Bayer MWNTs	80.0 ± 8.2	17.1 ± 6.9	1.5 ± 0.9	0.7 ± 0.5
Fraunhofer SWNTs	73.7 ± 1.2	22.9 ± 1.0	2.2 ± 0.2	0.6 ± 0.1
SWeNT SWNTs	79.2 ± 7.5	17.7 ± 6.7	1.7 ± 0.6	0.7 ± 0.5

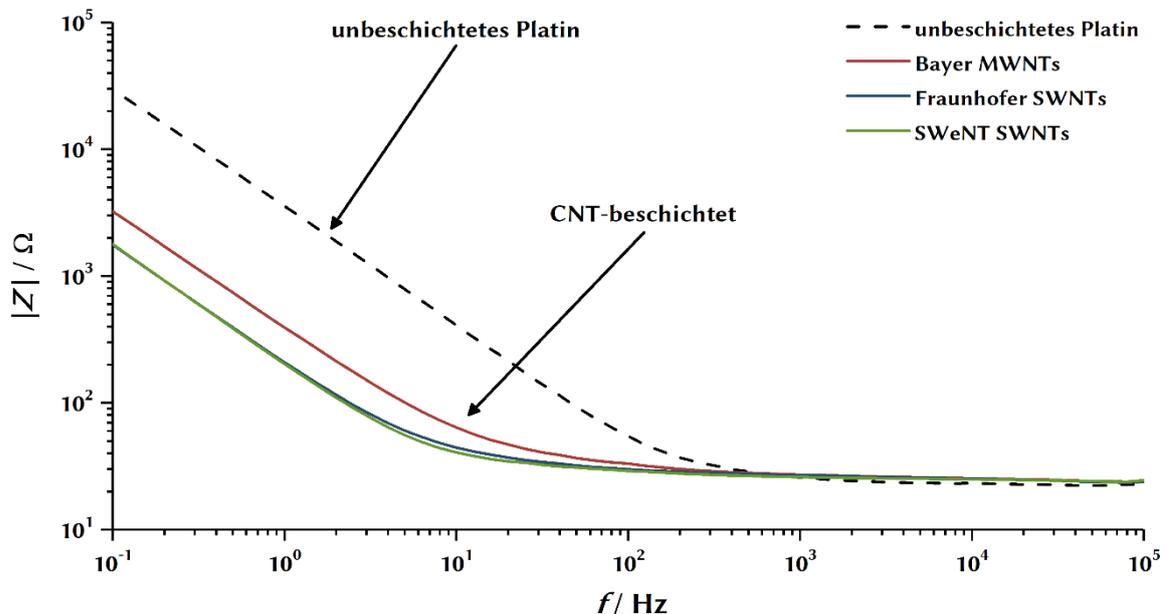
Die hohen Sauerstoffgehalte sind ein weiterer Nachweis dafür, dass die Modifizierung der CNTs mit sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppen erfolgreich war. Der Stickstoff-Gehalt ist trotz des Aufreinigungsprozesses mit Salpetersäure verhältnismäßig gering. Im Gegensatz zur Analyse der CNT-Dispersionen mit ICP-OES wurden bei den XPS-Untersuchungen der CNT-Filme keine Übergangsmetalle auf den Oberflächen der Beschichtungen detektiert. Dabei ist die Informationstiefe dieser Methode zu beachten, welche bis zu etwa 10 nm liegt. Entweder sind die Metall-Gehalte zu gering für diese Analysetechnik oder die Partikel, die diese Metalle enthalten, sind nicht an der Oberfläche der Beschichtungen, sondern in den CNTs eingekapselt.

#### *Elektrische Eigenschaften der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren für Elektroden<sup>9-11</sup> oder sogar reine Kohlenstoff-Nanoröhren-Elektroden<sup>166</sup> als Anwendung für Nerven-Schnittstellen sind

zuletzt immer weiter in den Fokus gerückt. *Keefe et al.* haben im Jahr 2008 gezeigt, dass Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren auf Mehrelektroden-Arrays (MEAs) die Aufnahmequalität und die elektrische Stimulierung *in vitro* in neuronalen Zellkulturen und *in vivo* an Ratten und Affen durch das Herabsetzen der Impedanz und den erhöhten Ladungstransfer verbessern.<sup>11</sup> *Baranauskas et al.* konnten durch die Reduzierung der Impedanz mit einer CNT-Beschichtung auf neuronalen Mikroelektroden eine Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses bei der Aufnahme von neuronalen Signalen feststellen.<sup>9</sup> Darüber hinaus führen geringere Impedanzen zu einer zielgerichteteren Stimulierung der Zielzellen.

Im Hinblick auf eine potentielle Anwendung von CNT-beschichteten neuronalen Elektroden wurden die elektrischen Eigenschaften der CNT-Filme auf den Platin-Oberflächen mit Hilfe der Impedanzspektroskopie untersucht.



**Abbildung 4.12: Impedanzspektroskopie-Scans der verschiedenen CNT-beschichteten Platin-Substrate im Vergleich mit einer unbeschichteten Platin-Elektrode.** Rot: Bayer MWNTs, blau: Fraunhofer SWNTs, grün: SWeNT SWNTs, gestricheltes schwarz: unbeschichtete Platin-Substrate.

Die Scans (Abbildung 4.12) für die unbeschichtete Elektrode und für alle CNT-beschichteten Elektroden zeigen einen typischen Anstieg des Betrags der Impedanz für

niedrigere Frequenzen, wohingegen der Betrag der Impedanz im Bereich hoher Frequenzen aufgrund des unkompenzierten Widerstands des Elektrolyten nahezu konstant verläuft, wobei die Verläufe sowohl für CNT-beschichtete als auch für unbeschichtete Platin-Elektroden gleich sind.<sup>167</sup> Die CNT-Beschichtungen bringen eine Absenkung des Betrags der Impedanz im Bereich niedriger Frequenzen (unter  $10^2$  Hz) im Vergleich zu den blanken, unbeschichteten Platin-Elektroden mit sich. Die Verringerung der Impedanz von etwa einer Größenordnung wurde bei allen drei unterschiedlichen Typen von CNT-Beschichtungen festgestellt. Die Absenkung der Impedanz ist vor allem auf die vergrößerte Oberfläche der Elektrode durch die Beschichtung mit CNTs zurückzuführen. Ähnliche Absenkungen der Impedanz wurden schon für CNT-Beschichtungen und -Filme berichtet.<sup>9–11</sup> Verglichen mit gebräuchlichen Mikroelektroden<sup>10,11</sup> sind die hier dargestellten absoluten Werte des Betrags der Impedanz sehr gering, was auf die vergleichsweise große Oberfläche der Elektrodenkontakte zurückzuführen ist ( $150 \text{ mm}^2$ ).

Die resultierenden Kapazitätswerte wurden mit Hilfe der in Abbildung 4.13 dargestellten Ersatzschaltbilder berechnet und sind in Tabelle 4.7 dargestellt. Die CNT-Beschichtungen führen zu mindestens 10-mal höheren Kapazitäten der Elektroden ( $300\text{--}600 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^2$ ) im Vergleich zu den unbeschichteten Platin-Elektroden ( $20\text{--}30 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^2$ ), wobei die Filme aus *single wall nanotubes* doppelt so hohe Kapazitätswerte aufweisen wie die aus *multi wall nanotubes*.



**Abbildung 4.13: Darstellung der Ersatzschaltbilder zur Berechnung von Widerständen und Kapazitäten aus den Messungen der Impedanzspektroskopie für die CNT-Filme und unbeschichtetes Platin: R-C-Reihenschaltung für unbeschichtete Platin-Elektroden (links) und R-CPE-Reihenschaltung für CNT-beschichtete Elektroden (rechts).** Um die Kapazitätswerte für die Elektroden zu berechnen, wurden Ersatzschaltbilder gewählt, die entweder aus einem konstanten Phasenelement (CPE, *engl.*: constant phase element) oder einem Kondensator (C, *engl.*: condensator) zusammen mit einem Widerstand (R, *engl.*: resistor) bestehen. Das CPE wurde gewählt, um die Daten für die CNT-Filme mit rauen bzw. porösen Oberflächen anzupassen, wohingegen ein normaler Kondensator gewählt wurde, um die Daten für die planaren Platin-Oberflächen anzupassen.<sup>167,168</sup>

Auch wenn die Reduktion der Impedanz aufgrund der CNT-Beschichtungen und die resultierenden höheren Kapazitätswerte der CNT-beschichteten Elektroden klar ersichtlich sind, wurden von anderen Forschergruppen größere Änderungen der Impedanz für solche CNT-modifizierten Elektroden berichtet.<sup>11,169</sup> Allerdings beziehen sich diese Ergebnisse auf Mikroelektroden, bei denen die Ausgangsimpedanzen der unbeschichteten Elektroden deutlich größer sind. Werden größere Elektroden für eine Modifizierung verwendet, z. B. durch das Aufbringen nanoskaliger Säulen aus Gold auf der Elektrodenoberfläche, wurden vergleichbare Ergebnisse erhalten.<sup>167,170</sup>

**Tabelle 4.7: Berechnete Werte für Widerstände und Kapazitäten der hergestellten CNT-Filme.**  $\alpha$  ist ein Exponent, der Inhomogenitäten im System kompensiert, die z. B. durch die Doppelschicht-Kapazitäten von porösen oder rauen Oberflächen verursacht werden können (*siehe*: 3.2.9). Die Berechnungen basieren auf einer repräsentativen Messung einer Probe für jede Art von Beschichtung bzw. für unbeschichtetes Platin. Die aufgelisteten Fehler stellen die von der Software ermittelten Fehler für die Berechnung dar.

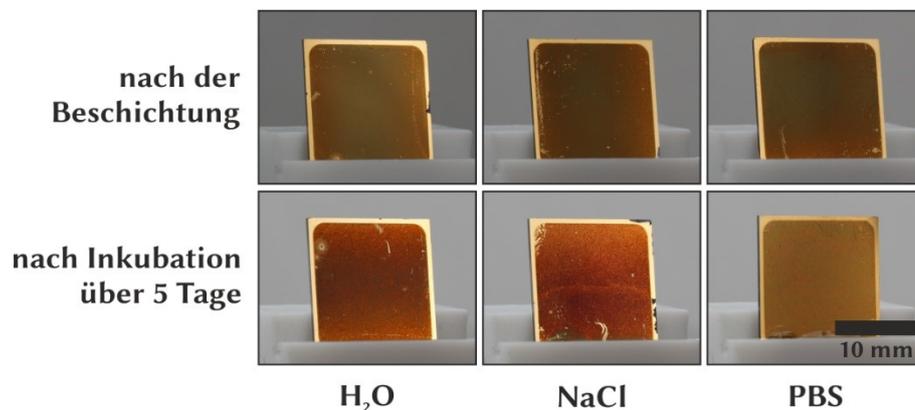
	<b>Bayer MWNTs</b>	<b>Fraunhofer SWNTs</b>	<b>SWeNT SWNTs</b>	<b>unbeschichtetes Platin</b>
<b>Elektrischer Widerstand</b> / $\Omega$	27.1 $\pm$ 0.3	27.0 $\pm$ 0.3	26.5 $\pm$ 0.2	24.2 $\pm$ 0.5
<b>Normierte Kapazität</b> / $\mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$	335 $\pm$ 6	617 $\pm$ 11	610 $\pm$ 10	27.4 $\pm$ 0.5
<b>Exponent <math>\alpha</math></b> / -	0.88 $\pm$ 0.01	0.89 $\pm$ 0.01	0.92 $\pm$ 0.01	-

#### *Stabilität der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Für eine mögliche Anwendung der Filme als Beschichtung von Elektroden, die als neurale Schnittstelle dienen sollen, ist die Stabilität ein entscheidender Faktor. Dabei spielt sowohl die mechanische als auch die Stabilität gegenüber Flüssigkeiten und Lösungen eine Rolle. Dies wird am Beispiel des Cochlea-Implantats deutlich. Während der Implantation wirken starke mechanische Belastungen. Anschließend ist die Elektrode im Idealfall über Jahrzehnte im Einsatz und dementsprechend dauerhaft mit Körperflüssigkeiten im direkten Kontakt. Dabei muss über den gesamten Zeitraum die Stabilität

der Elektrode sichergestellt werden. Zum einen um die gleichbleibende und optimale Funktion des Implantats zu gewährleisten, aber zum anderen dürfen sich keine Stoffe aus der Elektrode bzw. der Beschichtung herauslösen, die möglicherweise unerwünschte Reaktionen im Körper auslösen könnten. Für die aktuell ohne weitere Beschichtungen verwendeten Platin-Elektroden sowie die Ummantelung aus Silikon sind all diese Voraussetzungen gegeben und mit Studien überprüft.<sup>5</sup> Neue Materialien bzw. Beschichtungen müssen dementsprechend auf ihre Eignung hinsichtlich Stabilität im Allgemeinen und Langzeitstabilität untersucht werden.

Erste Untersuchungen in Bezug auf die Stabilität der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren wurden mit Gold-Substraten durchgeführt, die mit Hilfe der Sprühbeschichtung, wie in Abschnitt 3.1.2 beschrieben, mit Fraunhofer SWNTs beschichtet wurden. Wie bei der Charakterisierung der Morphologie und Topographie der CNT-Filme bereits beschrieben, liegt die Schichtdicke dieser sprühbeschichteten CNT-Filme im Bereich von 100 nm. Voruntersuchungen hatten bereits gezeigt, dass die CNT-Filme, die über wässrige Dispersionen der kovalent carboxyl-modifizierten CNTs hergestellt wurden, grundsätzlich eine gute Stabilität gegenüber Wasser aufweisen.



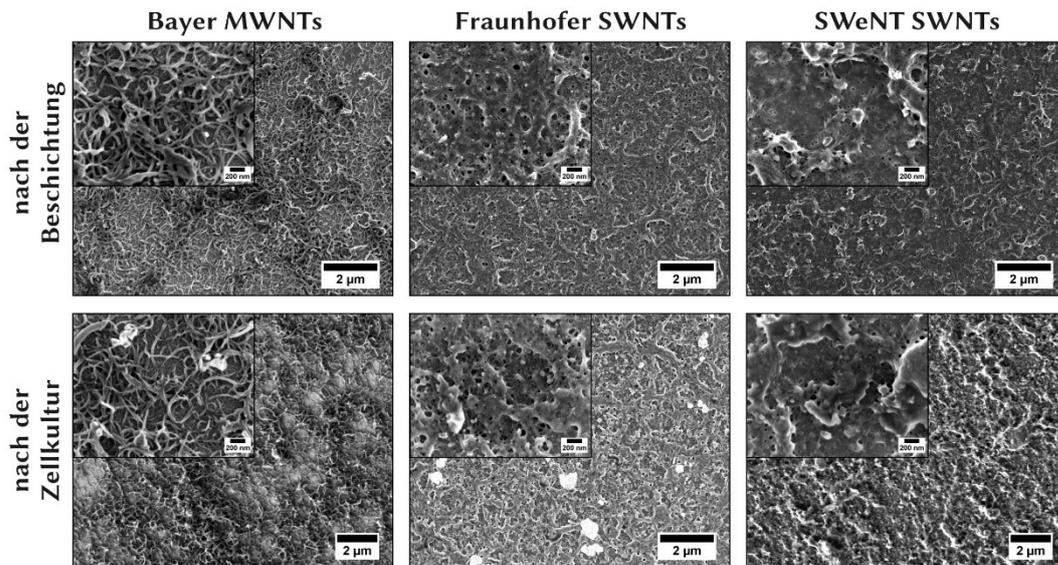
**Abbildung 4.14:** Aufnahmen sprühbeschichteter CNT-Filme vor und nach fünftägiger Inkubation in Reinstwasser (H<sub>2</sub>O), Natriumchlorid-Lösung (NaCl) und phosphatgepufferter Salzlösung (PBS). Optisch lassen sich keine Unterschiede vor und nach der Behandlung erkennen. Im Rahmen dieser Untersuchung sind die CNT-Beschichtungen stabil gegenüber den eingesetzten drei Flüssigkeiten bzw. Lösungen.

Im Gegensatz dazu zeigen Filme, die über polymerstabilisierte wässrige CNT-Dispersionen hergestellt wurden, deutlich schlechtere Hafteigenschaften.<sup>171</sup> Bei diesen

Untersuchungen wurden die CNT-Filme jedoch lediglich mit Wasser abgespült. Die Schichten der polymerstabilisierten Dispersionen lösten sich bereits vollständig ab, wohingegen die der carboxyl-modifizierten CNTs dieser Behandlung widerstanden. Zur weitergehenden Charakterisierung der Stabilität wurden die CNT-Filme nun über fünf Tage in drei verschiedenen Lösungen bei einer Temperatur von 37 °C inkubiert. Dazu wurden Reinstwasser, wässrige Natriumchlorid-Lösung (0.85 m%) und phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, engl.: *phosphate buffered saline*) verwendet. Es handelt sich dabei jeweils um isotonische Salzlösungen. Nach der fünftägigen Inkubation wurden die Proben mit Reinstwasser abgespült und getrocknet. In Abbildung 4.14 sind Aufnahmen der Proben vor und nach dieser Behandlung dargestellt. Anhand dieser Aufnahmen wird deutlich, dass sich optisch keine Unterschiede für die Filme vor und nach der Inkubation in den drei unterschiedlichen verwendeten Flüssigkeiten erkennen lassen. Im Rahmen dieser grundlegenden Untersuchungen sind die CNT-Beschichtungen stabil gegen Wasser und salzhaltige Lösungen.

Grundlegende Aussagen zur mechanischen Stabilität und der Stabilität gegen wässrige Lösungen können durch optische Beobachtungen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren nach den elektrochemischen Messungen und nach den Zellkultur-Untersuchungen getroffen werden. In beiden Fällen sind keine Veränderungen nach den Experimenten erkennbar. Dies trifft genauso zu, wenn die CNT-Filme eine Woche Reinstwasser ausgesetzt waren. Des Weiteren wurde das Wasser, in dem die CNT-Filme ausgesetzt wurden, mit Hilfe eines UV-Vis-Spektrometers untersucht. Es war keine Veränderung der Absorption dieser Lösungen gegenüber unbehandeltem Reinstwasser detektierbar, obwohl sich mit dieser Methode CNT-Massenanteile von bis zu  $10^{-5}$  m% in CNT-Dispersionen nachweisen ließen.

Zusätzlich wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen vor und nach den Zellkulturexperimenten mit den NIH3T3-Fibroblasten durchgeführt und verglichen. Die Aufnahmen zeigen keine signifikanten Veränderungen in Morphologie und Schichtdicke bei den CNT-Beschichtungen nach den Zellkulturexperimenten (*siehe*: Abbildung 4.15 und Abbildung 7.6 im Anhang). Dementsprechend lässt sich eine generelle Stabilität der Filme sowohl gegenüber Wasser als auch gegenüber Flüssigkeiten mit komplexer Zusammensetzung, wie dem Zellkulturmedium, feststellen. Sogar das Ablösen der Fibroblasten mit Trypsin-EDTA-Lösung hatte keinen erkennbaren Einfluss auf die Beschichtungen.



**Abbildung 4.15: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren auf den Platin-Substraten nach der Beschichtung (oben) und nach den Zellkultur-Untersuchungen (unten): Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs (von links nach rechts).** Es sind jeweils zwei unterschiedliche Vergrößerungen dargestellt. Die Vergleiche zwischen vor und nach den Zellkultur-Experimenten lassen keine Unterschiede in den Schichten erkennen.

In Bezug auf die mechanische Stabilität lässt sich konstatieren, dass die CNT-Filme der normalen Handhabung während des Herstellungsprozesses und den weiteren folgenden Experimenten und Untersuchungen ohne Kratzer, Abplatzungen oder anderen optisch erkennbaren Beschädigungen standhalten. Offenkundig sind diese Beanspruchungen nicht mit den Anforderungen an die Beschichtungen vergleichbar, die sie für eine mögliche Anwendung im Cochlea-Implantat erfüllen müssten. Während der Implantation müssten die Beschichtungen großen Scherkräften widerstehen, auch wenn bei manchen Typen von Implantaten die Elektrodenkontakte etwas in der Silikonhülle eingelassen sind. In jedem Fall wären weitere Untersuchungen bezüglich der mechanischen Stabilität der CNT-Beschichtungen unerlässlich, um eine weitergehende Eignung der Beschichtungen für diese potentielle Anwendung zu bewerten.

#### 4.1.3 Zytokompatibilitäts-Untersuchungen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren

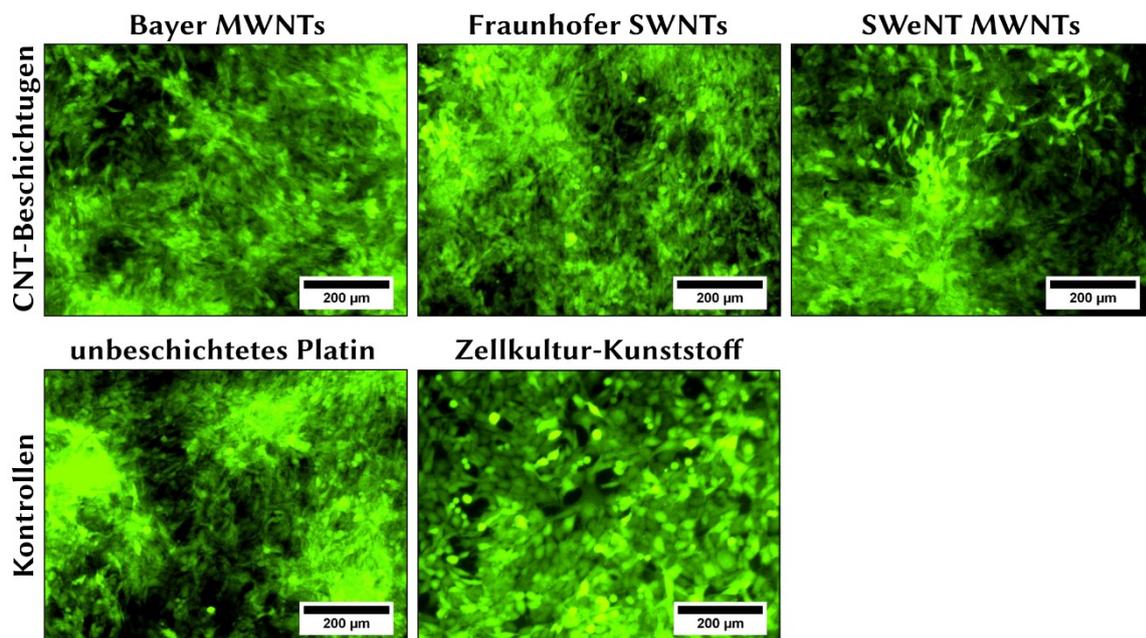
Die Zyto- und Biokompatibilität von Kohlenstoff-Nanoröhren und ihren Beschichtungen sind weiterhin in der Diskussion.<sup>8</sup> Aufgrund von unterschiedlichen Herstellungsprozessen (Arten und Mengen der verwendeten Katalysatoren) und variierender Eigenschaften der Kohlenstoff-Nanoröhren (Länge, Durchmesser, mögliche Modifizierungen, Reinheit und Grad der Graphitisierung) kann eine allgemeine Aussage zur Biokompatibilität von CNTs derzeit nicht geliefert werden. Aus diesem Grund sind weitere Studien zu diesem Thema von wesentlichem Interesse. In dieser Arbeit werden deshalb Untersuchungen zur generellen Zytokompatibilität verschiedener CNT-Zubereitungen unter Verwendung von NIH3T3-Fibroblasten als Standard-Zelllinie für verhältnismäßig robuste Zellen präsentiert. Spezifischer sind hingegen die Untersuchungen zur Interaktion von CNT-Filmen mit Spiral-Ganglion-Zellen, welche die spezifischen glutamatergen Neuronen des Innenohres einschließen. Dabei handelt es sich bisher um die erste Studie, die sich mit diesem Thema beschäftigt. Von Bedeutung sind solche Untersuchungen im Hinblick auf die potentielle Anwendung der CNT-Filme als Beschichtung von Cochlea-Elektroden. Eine Besonderheit ist dabei, dass sowohl das Ausgangsmaterial für die Beschichtungslösungen als auch die Beschichtungen selbst ausschließlich aus Kohlenstoff-Nanoröhren bestehen. Das bedeutet, dass sowohl die Materialien als auch die Filme frei von jeglichen Dispergierhilfsmitteln wie Polymeren sind. Dadurch ist es eher möglich den tatsächlichen Einfluss der CNTs auf die Zellen zu untersuchen.

Im Folgenden werden die Ergebnisse zu den Zellkulturuntersuchungen der CNT-Filme auf Platin-Substraten mit Fibroblasten und Spiral-Ganglion-Zellen sowie von Experimenten mit Überständen in Zellmedium inkubierter CNT-Filme mit Spiral-Ganglion-Zellen vorgestellt. Zur Auswertung dienen sowohl fluoreszenz- bzw. lichtmikroskopische Aufnahmen sowie Auszählungen der Zellen über unterschiedliche Methoden. Wie in 3.1.4 beschrieben, erfolgte die Durchführung der Zellkulturen durch *Jennifer Schulze* und *Athanasia Warnecke* aus der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH)*.

##### *Zellkulturuntersuchungen mit Fibroblasten und Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Fibroblasten wurden auf den CNT-Filmen kultiviert, um allgemeine Informationen in Bezug auf die Zytokompatibilität der CNT-Beschichtungen auf Platin-Substraten

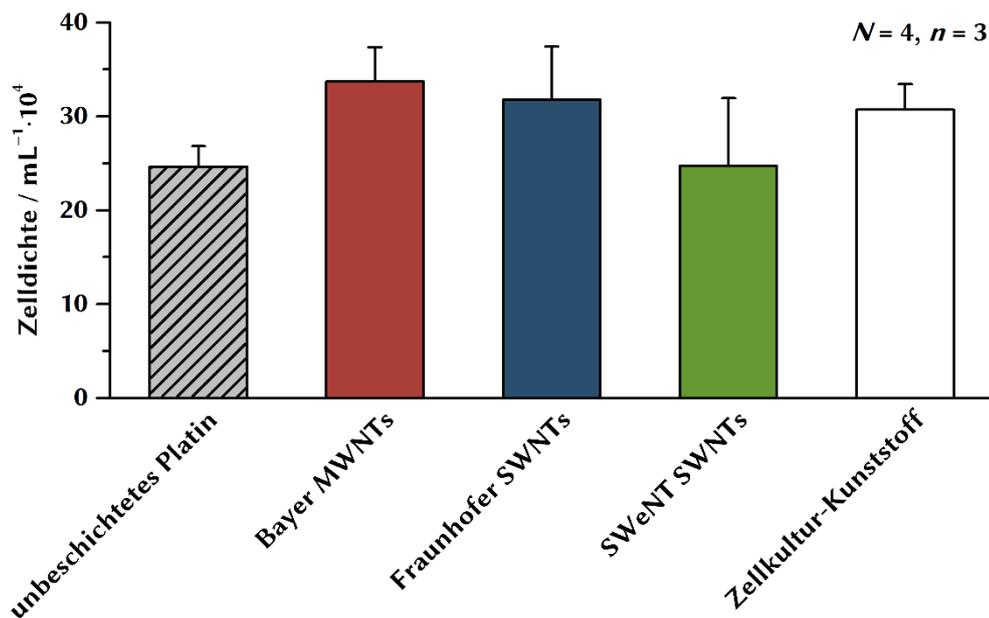
zu gewinnen. Dafür wurden die Zell-Viabilität und Proliferation von GFP-exprimierenden NIH3T3-Fibroblasten untersucht. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen nach vier Tagen Kultivierungszeit zeigen sowohl eine gute Viabilität als auch Proliferation der Fibroblasten auf allen CNT-beschichteten Proben, die vergleichbar mit dem unbeschichteten Platin und dem Kunststoff der Zellkulturplatten sind (*siehe*: Abbildung 4.16).



**Abbildung 4.16:** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der GFP-exprimierenden NIH3T3-Fibroblasten ( $N = 4$ ,  $n = 3$ ) nach vier Tagen Kultivierungszeit auf den CNT-beschichteten Platin-Substraten und den beiden Kontroll-Proben. Als Kontrollen dienten Zellkultur-Kunststoff und unbeschichtete Platin-Substrate.

Die ermittelten Anzahlen der Zellen auf den Filmen der Bayer MWNTs und Fraunhofer SWNTs und ebenfalls die des Zellkultur-Kunststoffes sind alle auf demselben Niveau und deuten auf eine exzellente Zytokompatibilität dieser CNT-Beschichtungen für Fibroblasten hin (*siehe*: Abbildung 4.17). Die SWeNT SWNT-Beschichtungen weisen Zellzahlen im Bereich des unbeschichteten Platins auf und zeigen damit ebenfalls noch eine gute Zytokompatibilität. Jedoch unterstützen diese CNT-Filme die Zellen nicht in

dem Maß wie der Zellkultur-Kunststoff oder die anderen CNT-Beschichtungen. Möglicherweise adhäreren die Zellen nicht so gut wie auf den anderen beiden Typen von CNT-Filmen und lösen sich leichter ab. Im Allgemeinen weisen jedoch alle unterschiedlichen untersuchten Beschichtungen vorteilhaftes zytokompatibles Verhalten auf, was sowohl mit den unbeschichteten Platin-Oberflächen als auch mit der Oberfläche des Zellkultur-Kunststoffes vergleichbar ist.

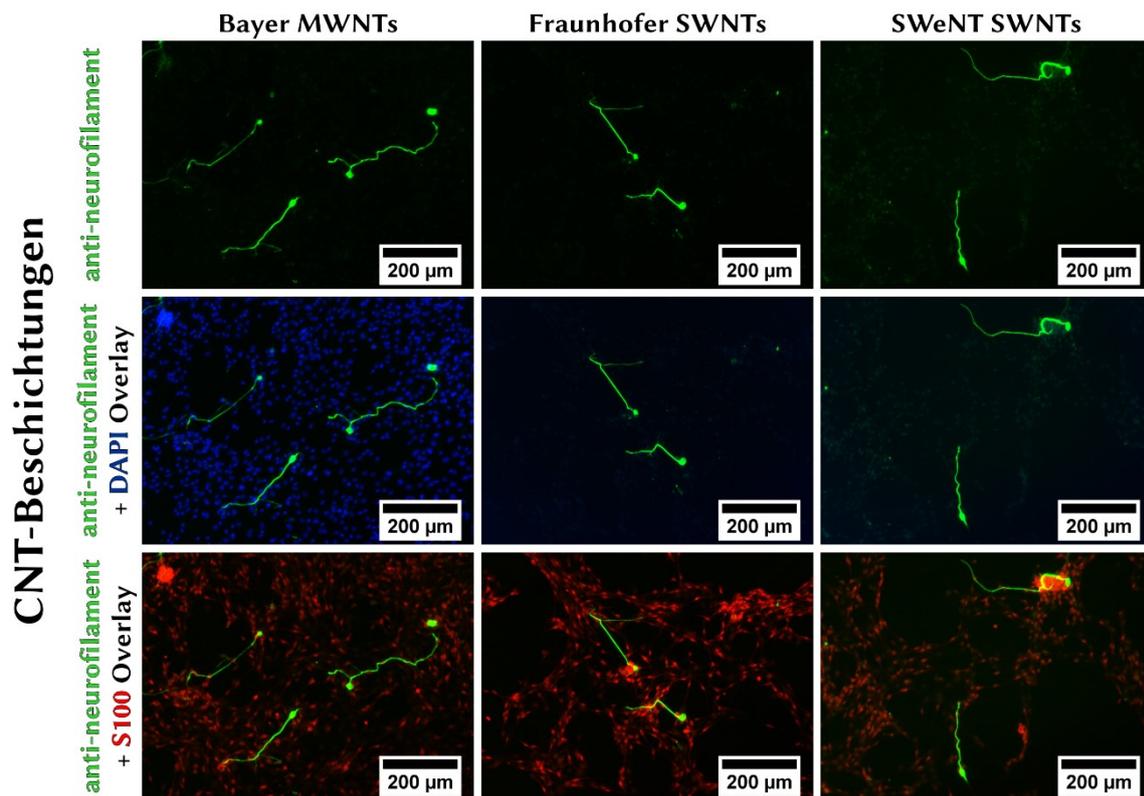


**Abbildung 4.17:** Vergleich der ermittelten Zelldichten der NIH3T3-Fibroblasten ( $N = 4$ ,  $n = 3$ ), die auf den CNT-Beschichtungen und unbeschichteten Platinsubstraten sowie dem Zellkultur-Kunststoff vier Tage kultiviert wurden. Die hier dargestellten Werte stellen die Mittelwerte + den Standardfehler des Mittelwertes dar. Eine einfache Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem multiplen Vergleichstest nach der *Bonferroni*-Methode wurde genutzt, um die Mittelwerte zu vergleichen. Die Unterschiede stellten sich jedoch nicht als signifikant dar.

#### *Zellkulturuntersuchungen mit Spiral-Ganglion-Nervenzellen und Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren*

Eine wichtige Zielsetzung in dieser Arbeit war es, die Verwendung von Kohlenstoff-Nanoröhren in neuronalen Implantaten für das auditorische System voranzutreiben. Eine potentielle Strategie war dabei die Beschichtung der Platin-Oberflächen von

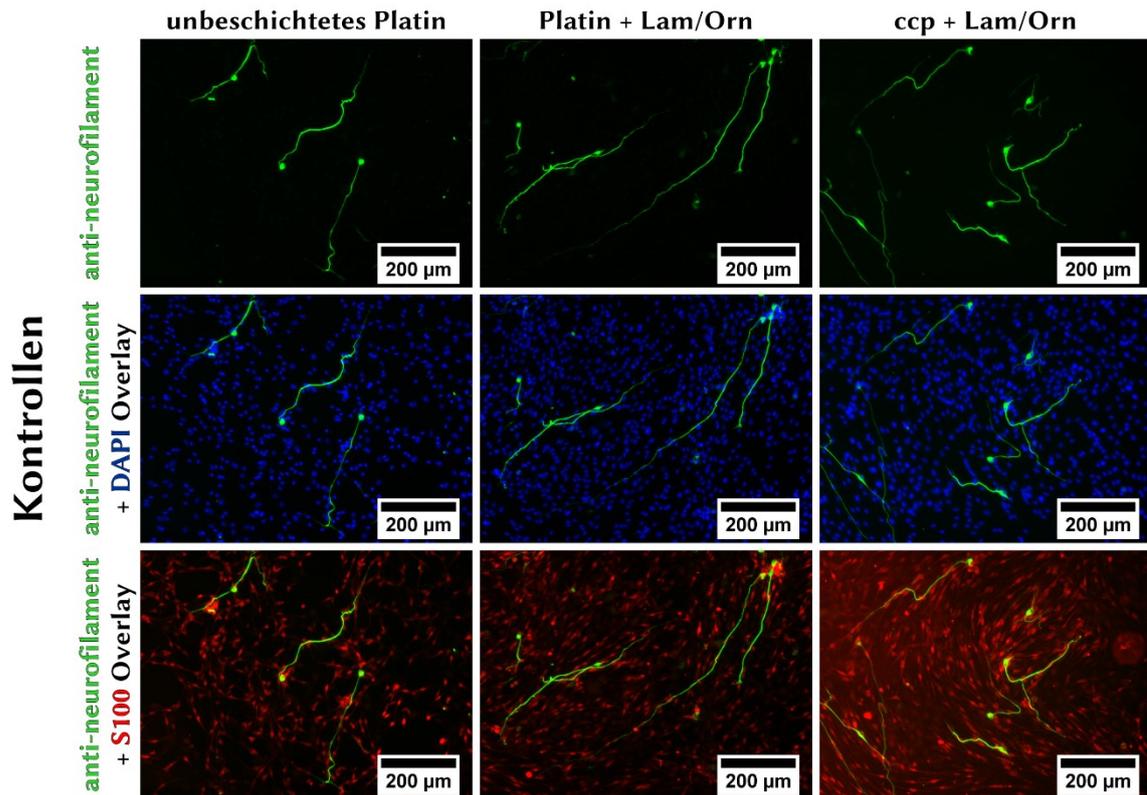
Elektroden neuronaler Prothesen mit CNTs. Deshalb waren die spezifischen Wechselwirkungen der primären auditorischen Nervenzellen, d. h. der Spiral-Ganglion-Nervenzellen (SGNs), mit den CNT-Beschichtungen von entscheidender Bedeutung. Aus diesem Grund wurde die Zytokompatibilität der in dieser Arbeit entwickelten CNT-Beschichtungen mit Zellkulturen von Spiral-Ganglion-Zellen (SGCs) untersucht.



**Abbildung 4.18: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der immunofluoreszenz-angefärbten Spiral-Ganglion-Zellkulturen, die 48 Stunden auf den CNT-beschichteten Platin-Substraten kultiviert wurden ( $N = 4$ ,  $n = 2$ ).** Die Spiral-Ganglion-Nervenzellen (*grün*) der gemischten SGC-Kulturen sind neurofilament-positiv. Zusätzlich sind die Zellkerne (*blau*) mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) fluoreszenz-gefärbt und die Gliazellen (*rot*) wurden mit S100 angefärbt. Diese Aufnahmen sind dargestellt als Überlagerung kombiniert mit den Anti-Neurofilament-Aufnahmen.

Repräsentative fluoreszenz-mikroskopische Aufnahmen der SGC-Kulturen, die nach der zweitägigen Kultivierung immunozytochemisch für Neurofilament angefärbt wurden, zeigen das Überleben der Neuronen und das Neuriten-Wachstum für alle CNT-

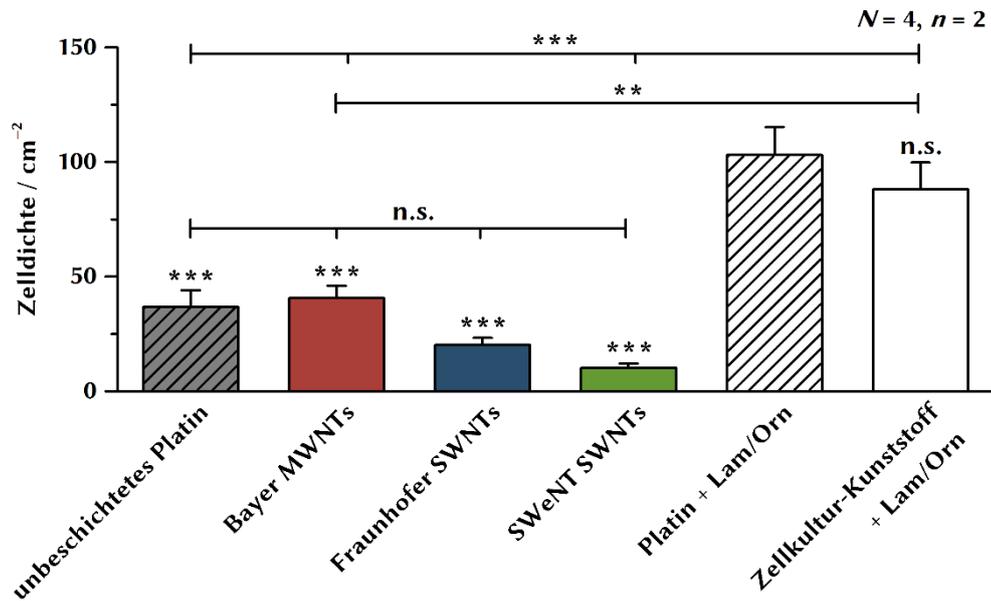
Proben (Abbildung 4.18) und Kontrollen (Abbildung 4.19). Die Laminin- und poly-D/L-ornithin-beschichteten Platin-Oberflächen und die Oberflächen des Zellkulturplatten-Kunststoffes zeigen die größte Anzahl an Neuronen mit dem längsten Neuriten-Wachstum (Abbildung 4.19). Diese zwei Bedingungen sind ein Indikator dafür, dass die Isolierung der SGC-Kultur erfolgreich war und die Zellkultur wie üblich gewachsen ist.



**Abbildung 4.19:** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der immunfluoreszenz-angefärbten Spiral-Ganglion-Zellkulturen, die 48 Stunden auf den Platin-Substraten und den Laminin- und Poly-d/l-ornithin-beschichteten (Lam/Orn) Kontroll-Oberflächen kultiviert wurden ( $N = 4$ ,  $n = 2$ ). Die Spiral-Ganglion-Nervenzellen (*grün*) der gemischten SGC-Kulturen sind neurofilament-positiv. Zusätzlich sind die Zellkerne (*blau*) mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) fluoreszenz-gefärbt und die Gliazellen (*rot*) wurden mit S100 angefärbt. Diese Aufnahmen sind dargestellt als Overlays kombiniert mit den Anti-Neurofilament-Aufnahmen. ccp: *cell culture plastic* (dt.: Zellkultur-Kunststoff).

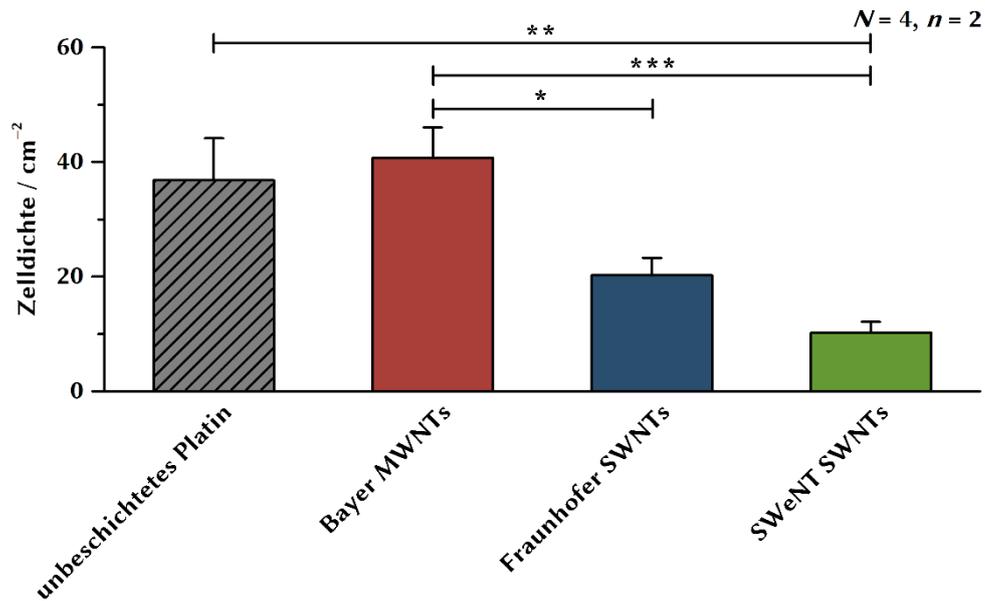
Auf der blanken Platin-Oberfläche konnten im Vergleich zu den Laminin- und Poly-D/L-ornithin-beschichteten Proben kürzere und weniger verzweigte Neuriten beobachtet werden. Dies deutet auf eine weniger günstige Wechselwirkung zwischen den SGNs und den reinen Platin-Oberflächen hin. Ein Neuriten-Wachstum konnte ebenfalls auf den CNT-beschichteten Platin-Proben beobachtet werden. Die Neuronen sind sowohl in Größe als auch in Anzahl vergleichbar mit den Neuronen auf den unbeschichteten Platin-Oberflächen und zeigen ebenfalls eine gesunde Morphologie. Allerdings haben sich auf den SWNT-basierten Beschichtungen weniger Neuronen angeheftet und es haben auch weniger Neuronen auf diesen Beschichtungen überlebt.

Die Anzahl der lebenden SGNs wurde unter dem Fluoreszenzmikroskop bestimmt. Die Werte für die Zellen pro  $\text{cm}^2$  Probe sind in Abbildung 4.21 dargestellt und bekräftigen die Ergebnisse der fluoreszenz-mikroskopischen Einzelaufnahmen. Die Anzahl der lebenden SGNs für das Laminin- und Poly-D/L-ornithin-beschichtete Platin ( $103 \text{ Zellen}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) und den Zellkulturplatten-Kunststoff ( $88 \text{ Zellen}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) sind die höchsten (*siehe*: Abbildung 4.20). Diese Ergebnisse waren zu erwarten, da die Poly-D/L-ornithin- und Laminin-Beschichtung ideale Wachstumsbedingungen für Neuronen bietet (extrazelluläre Proteine erlauben Neuronen zu adhären) und zur Kontrolle der Qualität für die SGN-Zellkultur dient. Die Zelldichten für die untersuchten CNT-beschichteten und unbeschichteten Platin-Proben sind in Abbildung 4.21 dargestellt und liegen unter weniger als der Hälfte der für die Laminin- und Ornithin-beschichteten Proben.



**Abbildung 4.20: Vergleich der ermittelten Zelldichten der Spiral-Ganglion-Zellen (SGCs) nach zweitägiger Kultivierungszeit ( $N = 4, n = 2$ ).** Die Zellen sind sowohl auf CNT-beschichteten als auch auf unbeschichtetem Platin-Substraten gewachsen. Zum Vergleich wurden die Zellen ebenfalls auf unbeschichtetem Platin und Zellkultur-Kunststoff kultiviert, beides mit Laminin und Poly-D/L-ornithin beschichtet. Neurofilament-positive Zellen wurden unter dem Fluoreszenzmikroskop gezählt. Die hier dargestellten Werte stellen die Mittelwerte + den Standardfehler des Mittelwertes dar ( $N = 4, n = 2$ ). Die Sternchen geben die Signifikanz der Zellen pro cm<sup>2</sup> der verschiedenen Proben im Vergleich mit Laminin- und Poly-D/L-ornithin-beschichtetem Platin an. Die statistische Bewertung erfolgte mit einer einfachen Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem multiplen Vergleichstest nach der *Bonferroni*-Methode (n.s.: nicht signifikant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

Relevant ist der Vergleich der Ergebnisse für die untersuchten Proben untereinander. Die CNT-Filme, die aus *multi wall nanotubes* (Bayer MWNTs, 40 Zellen·cm<sup>-2</sup>) bestehen, zeigen eine vergleichbare Zahl überlebender SGNs wie die unbeschichteten Platin-Proben (36 Zellen·cm<sup>-2</sup>). Beschichtungen aus *single wall nanotubes* ergeben durchgängig geringere Überlebensraten für die Neuronen, auch wenn in den Screening-Versuchen mit der Fibroblasten-Zelllinie kein direkter zytotoxischer Effekt für SWNT-basierte Beschichtungen gezeigt werden konnte. Die Anzahl der gezählten SGNs ist signifikant geringer für die Fraunhofer SWNTs (20 Zellen·cm<sup>-2</sup>) im Vergleich zu den Bayer MWNTs (40 Zellen·cm<sup>-2</sup>) und für die SWeNT SWNTs (10 Zellen·cm<sup>-2</sup>) hoch signifikant. Der Unterschied der Zahl von SGNs auf den SWeNT SWNT-Beschichtungen war ebenfalls sehr signifikant geringer verglichen mit dem unbeschichteten Platin.



**Abbildung 4.21: Vergleich der ermittelten Zelldichten der Spiral-Ganglion-Zellen (SGCs) nach zweitägiger Kultivierungszeit ( $N = 4$ ,  $n = 2$ ).** Die Zellen sind sowohl auf CNT-beschichteten als auch auf unbeschichteten Platin-Substraten gewachsen. Neurofilament-positive Zellen wurden unter dem Fluoreszenzmikroskop gezählt. Die hier dargestellten Werte stellen die Mittelwerte + den Standardfehler des Mittelwertes dar ( $N = 4$ ,  $n = 2$ ). Die Sternchen geben die Signifikanz der verschiedenen Resultate an. Die statistische Bewertung erfolgte mit einer einfachen Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem multiplen Vergleichstest nach der *Bonferroni*-Methode (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

Damit SGNs in Zellkultur überleben können, müssen ihnen eine ideale Umgebung zur Zelladhäsion und außerdem eine ausreichende Menge an Unterstützungszellen angeboten werden. In der menschlichen Cochlea wurde gezeigt, dass die unmyelinisierten (marklosen) Zellsomata der SGNs von Satelliten-Gliazellen umgeben sind.<sup>172</sup> Nach der Degenerierung im peripheren Verlauf festigen sich Dendriten der SGNs durch eine konzertierte Aktion der Satelliten-Gliazellen unter Einbezug von Cx43-vermittelter GJ-Signalisierung.<sup>173</sup>

Die Isolierungsprozedur der SGCs führt zu einer gemischten Kultur, die SGNs, Gliazellen und Fibroblasten beinhaltet. Durch die Anfärbung der Zellen mit einem neuronenspezifischen Neurofilament-Antikörper können die SGNs von den weiteren Unterstützungszellen unterschieden werden. Durch die ergänzende Färbung mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) sind die Zellkerne aller Zelltypen in fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen nachweisbar. In den übereinander gelegten Bildern von DAPI- und

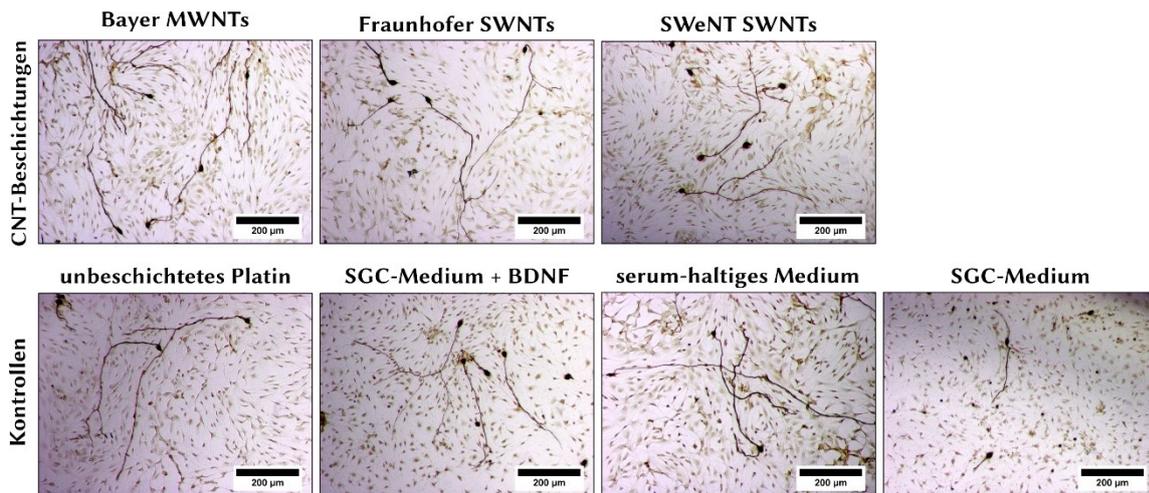
Neurofilament-Färbung in Abbildung 4.18 ist erkennbar, dass die DAPI-Färbung der Zellen auf den SWNT-Beschichtungen beeinträchtigt ist. Es sind keine blaugefärbten Zellkerne erkennbar. Allerdings zeigt ein für Gliazellen spezifischer Antikörper (S100) die Anwesenheit der zusätzlichen Unterstützungszellen. Durch das Beispiel der MTT-Zytotoxizitäts-Analyse ist bereits bekannt, dass SWNTs Immunofluoreszenz-Nachweise beeinflussen können, indem sie mit Reaktanten oder Produkten der Anfärbungsreaktionen wechselwirken.<sup>16,174</sup> Ein ähnlicher Fall scheint hier vorzuliegen. Dies unterstreicht die enorme Wichtigkeit, unterschiedliche Analysen bei der Bestimmung der Ergebnisse von biologischen Tests zu verwenden, im Speziellen in Anwesenheit von hochgradig oberflächen-aktiven Materialien wie die hier vorliegenden aufgereinigten und modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren.

*Xie et al.* haben im Jahr 2006 starke Wechselwirkungen im Nanobereich zwischen Spiral-Ganglion-Neuronen des Rückenmarks und modifizierten MWNTs propagiert.<sup>110</sup> Es wurde angenommen, dass die funktionellen Gruppen der CNTs als Ankerpunkte fungieren und dadurch sowohl die Adhäsion der Neuronen verbessern als auch das Neuriten-Wachstum fördern. Auch wenn die angewendete Aufbereitung der CNTs mit der Vorgehensweise von *Xie et al.* vergleichbar ist, konnten ähnliche Beobachtungen für die Spiral-Ganglion-Neuronen nicht gemacht werden. Darüber hinaus zeigten die Autoren, dass Neuriten auf Oberflächen unmodifizierter CNTs deutlich kürzer waren als auf denen funktionalisierter CNTs. *Kim et al.* berichteten 2014, dass das Wachstum von Neuriten bei Neuronen, die auf CNT-beschichteten Oberflächen kultiviert wurden, ein bis zwei Tage verzögert einsetzt im Vergleich zu Standard-Beschichtungen.<sup>106</sup>

### *Zellkulturuntersuchungen mit Spiral-Ganglion-Nervenzellen und CNT-Überständen*

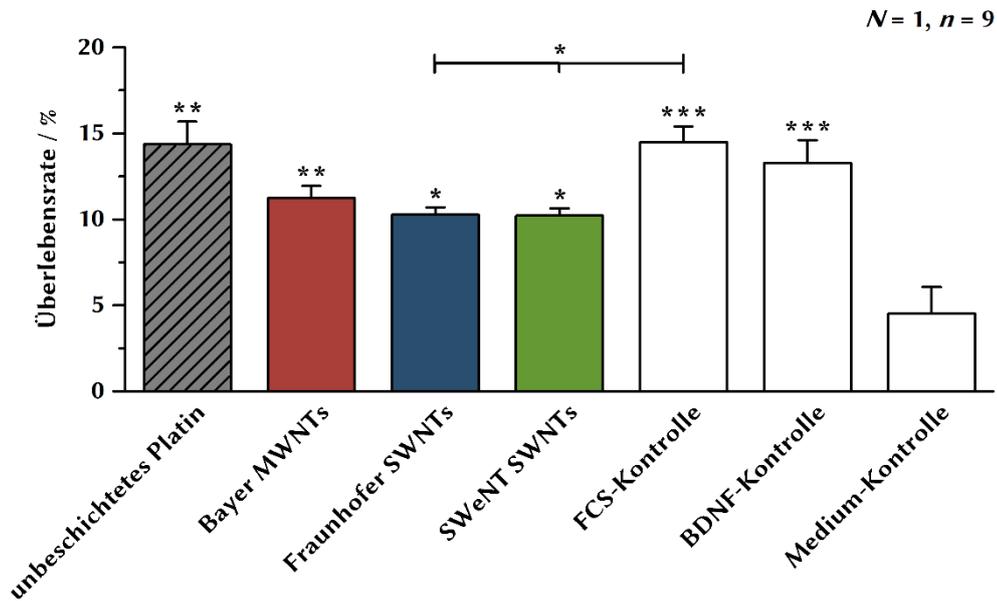
Die Zellkultur-Experimente mit den Spiral-Ganglion-Zellen auf CNT-Filmen zeigen eingeschränkte neuronale Adhäsion, geringe Verlängerung der Neuriten und kleinere Überlebensraten der Neuronen auf SWNT-basierten Beschichtungen. Die schlechteren Resultate, welche mit den Beschichtungen der *single wall nanotubes* erhalten wurden, können zum einen mit verbleibenden Katalysator-Partikeln oder anorganischen Salzen vom Aufreinigungsprozess zusammenhängen. Daher wurden weitere Experimente mit SGN-Zellkulturen durchgeführt. Bei diesen Experimenten wurden Überstände verwendet, die durch die Inkubation der entsprechenden Film-Proben in serumhaltigem Zellkulturmedium erhalten wurden. Dabei wurden sowohl CNT-beschichtete als auch unbeschichtete Platin-Filme verwendet. Diese Überstände wurden anschließend zur SGC-Kultur hinzugefügt. Die Zellen wurden für zwei Tage in einem 1:1-Gemisch aus SGC-Medium (serum-frei) und den gesammelten Überständen (serum-haltig) kultiviert.

Repräsentative durchlicht-mikroskopische Aufnahmen zeigen das Proliferations-Verhalten der SGNs und ihr Neuriten-Wachstum (*siehe*: Abbildung 4.22). Morphologisch sind keine Unterschiede zwischen allen getesteten Bedingungen zu erkennen. Nur die Medium-Kontrolle ohne Serum (SGC-Medium) zeigt eine geringere Anzahl überlebender Neuronen.



**Abbildung 4.22: Durchlicht-mikroskopische Aufnahmen der Spiral-Ganglion-Zellen (SGCs) nach zweitägiger Kultivierungszeit ( $N = 1$ ,  $n = 9$ ).** Die Proben unterschieden sich in der Zusammensetzung der verwendeten Medien. Die Medien enthielten die Überstände der Inkubation der CNT-beschichteten (Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs) und unbeschichteten Platin-Substrate in serum-haltigem Medium. Zum Vergleich wurden SGCs auch in durch BDNF ergänztem SGC-Medium (BDNF-Kontrolle), serum-haltigem Medium (FCS-Kontrolle) und auch serum-freiem SGC-Medium (Medium-Kontrolle) kultiviert.

Durch die Quantifizierung kann eine signifikante Erhöhung der Überlebensrate der in den gesammelten Überständen kultivierten SGNs bei allen getesteten Bedingungen im Vergleich zu der Medium-Kontrolle beobachtet werden (Abbildung 4.23). Dies wird durch die Ergebnisse der lichtmikroskopischen Aufnahmen bestätigt. Überstände von SWNT-beschichteten Proben (Fraunhofer SWNTs und SWeNT SWNTs) resultierten in signifikant verringerten Überlebensraten im Vergleich mit der FCS-Kontrolle. Interessanterweise sind die Überlebensraten der SGNs, die in den serum-haltigen Überständen der unbeschichteten Platin-Proben kultiviert wurden, vergleichbar zu den Werten der FCS- und BDNF-Kontrolle.



**Abbildung 4.23: Überlebensrate der Spiral-Ganglion-Neuronen nach zwei Tagen Kultivierungszeit ( $N = 1, n = 9$ ).** Die Überlebensraten wurden nach der zweitägigen Kultivierung in den Überständen von den CNT-beschichteten Proben bestimmt, indem die Anzahl der Neuronen in Beziehung zur Aussaat-Kontrolle gesetzt wurde. Die Überstände wurden von CNT-beschichteten (Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs) und unbeschichteten Platin-Substraten gesammelt, die in serum-haltigem Medium (FCS-Kontrolle) inkubiert wurden. SGC-Medium ergänzt mit BDNF (BDNF-Kontrolle), serum-haltiges Medium (FCS-Kontrolle) und SGC-Medium ohne den Zusatz jeglicher Wachstumsfaktoren (Medium-Kontrolle) wurden als Kontrollen verwendet. Die hier dargestellten Werte stellen die Mittelwerte + den Standardfehler des Mittelwertes dar ( $N = 1, n = 9$ ). Die Sternchen geben die Signifikanz der Überlebensraten für die unterschiedlichen Bedingungen im Vergleich zu der Negativ-Kontrolle (Medium-Kontrolle) an. Die statistische Bewertung erfolgte mit einer einfachen Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem multiplen Vergleichstest nach der *Bonferroni*-Methode (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

Ob diese Ergebnisse auf lösliche toxische Komponenten zurückzuführen sind, die durch die CNT-Beschichtungen freigesetzt werden, oder durch die Aufnahme von Nährstoffen aus dem Serum durch die CNT-Beschichtungen, kann mit Hilfe dieses experimentellen Aufbaus nicht unterschieden werden. Die Störung der DAPI-Färbung auf den SWNT-basierten Filmen ist ein Anzeichen dafür, dass *single wall nanotubes* starke Wechselwirkungen mit Molekülen in Lösung zeigen.

Da die neuronalen Überlebensraten, die in den Experimenten mit den Kulturen der gesammelten Überstände erhalten wurden (Abbildung 4.23), deutlich höher sind als nach der direkten Kultivierung der Neuronen auf den Beschichtungen (Abbildung 4.21),

kann angenommen werden, dass die Behinderung der Adhäsion und der Differenzierung auf den Substraten – und keine direkten toxische Effekte – der Hauptgrund für die reduzierte Anzahl von Zellen auf den CNT-beschichteten Proben sind, die in Abbildung 4.21 dargestellt sind. Die Überlebensraten in den Experimenten mit den CNT-Überständen, die vergleichbar mit denen des unbeschichteten Platins sind, deuten darauf hin, dass die Neuronen adäquates Substrat für ein verbessertes Überleben benötigen, wie es bspw. durch die Beschichtungen mit Laminin und Poly-D/L-ornithin geboten wird.

#### 4.1.4 Fazit der Ergebnisse der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren

In diesem Teilabschnitt dieser Arbeit wurden die chemische Verarbeitung von unbehandelten Kohlenstoff-Nanoröhren, die Herstellung von CNT-Beschichtungen auf Platin-Substraten, die Charakterisierung der elektrischen Eigenschaften dieser Beschichtungen, sowie eine grundlegende Untersuchung zur Zytokompatibilität und Zellkulturuntersuchungen mit Spiral-Ganglion-Nervenzellen beschrieben.

Die chemische Aufreinigung und Oberflächenmodifizierung der unterschiedlichen CNTs war erfolgreich und erlaubte die Herstellung langzeit-stabiler wässriger CNT-Dispersionen frei von Dispergierhilfsmitteln. Dies eröffnete die Möglichkeit Platin-Substrate mit dem kosteneffizienten Prozess der automatisierten Sprühbeschichtung zu beschichten. Diese Methode ist sehr gut dafür geeignet große Anzahlen an Proben herzustellen. Einheitliche und homogene Beschichtungen der modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren auf Platin wurden mit einer sehr guten Reproduzierbarkeit erhalten. Solche Beschichtungen verbessern die elektrischen Eigenschaften, was für eine Anwendung bei neuronalen Elektroden gewünscht ist. Eine generelle vorteilhafte Zytokompatibilität der CNT-Beschichtungen wurde über Zellkultur-Untersuchungen mit NIH3T3-Fibroblasten bestimmt. Für Spiral-Ganglion-Nervenzellen zeigten ausschließlich die CNT-Beschichtungen der Bayer MWNTs mit unbeschichtetem Platin vergleichbare Anzahlen überlebender Zellen. Im Gegensatz dazu zeigen die CNT-Beschichtungen aus SWNTs signifikant verringerte Anzahlen an SGNs verglichen mit den MWNT-Beschichtungen und unbeschichtetem Platin. Hervorzuheben ist, dass ein positiver Effekt auf die Biokompatibilität der Nervenzellen – wie er für andere Typen von CNTs mit anderen Typen von Neuronen beobachtet werden konnte – nicht ermittelt werden konnte.<sup>175–177</sup> In diesem Zusammenhang muss berücksichtigt werden, dass es sich bei Spiral-Ganglion-Nervenzellen um extrem sensitive Zellen handelt. Für eine höhere Überlebensrate wären möglicherweise weitere Anreize nötig, wie beispielsweise eine Beschichtung mit Laminin oder die Anwesenheit neuroprotektiver Faktoren. Dennoch scheint es im Hinblick auf

eine generelle Unsicherheit bezüglich medizinischer Anwendungen von CNTs zweifelhaft, ob Anwendungen von CNT-Beschichtungen auf neuronalen Elektroden erfolgreich sein werden. Im Speziellen, da nicht vollständig ausgeschlossen werden kann, dass einzelne Kohlenstoff-Nanoröhren sich aus Beschichtungen herauslösen könnten und frei beweglich im Körper vorliegen könnten.<sup>8</sup> In den in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen konnte des Weiteren gezeigt werden, dass Vorsicht bei der Verwendung bewährter biologischer Assays wie der DAPI-Färbung geboten ist, wenn Materialien mit großen und hoch-reaktiven Oberflächen wie *single wall carbon nanotubes* verwendet werden. Aufgrund der großen spezifischen Oberfläche und deren Reaktivität ist es möglich, dass Chemikalien gebunden werden können und somit effektiv aus dem Testsystem entfernt werden.<sup>16,174</sup>

### **4.2 Nanoporöse Kohlenstoffe als Beschichtungsmaterial neuronaler Elektroden**

Neben den Kohlenstoff-Nanoröhren wurde als ein weiteres Kohlenstoff-Material nanoporöser Kohlenstoff auf seine Eignung hin untersucht, als Beschichtung für neuronale Elektroden zu fungieren. In diesem Abschnitt werden zuerst die Ergebnisse der Synthese des nanoporösen Kohlenstoff CMK-3 dargestellt und erläutert. Um die Prozessierung dieses Kohlenstoffs für verschiedene Beschichtungsmethoden zu ermöglichen, wurden sowohl Pasten als auch Dispersionen hergestellt. Damit wurden über Rakel- und Sprühbeschichtung Filme auf Platin-Substraten hergestellt und ausführlich hinsichtlich Morphologie, Zusammensetzung, Oberfläche, Stabilität und insbesondere ihrer elektrischen Eigenschaften untersucht. Im Hinblick auf eine biomedizinische Anwendung wurden die Beschichtungen mit Hilfe von Zellkultur-Untersuchungen hinsichtlich der Zytokompatibilität überprüft. Die Beschreibung und Auswertung dieser Untersuchungen sind in einem gesonderten Unterkapitel am Ende dieses Abschnittes zu finden. Abschließend folgen eine Zusammenfassung sowie ein Fazit der Experimente und Untersuchungen zu nanoporösen Kohlenstoffen.

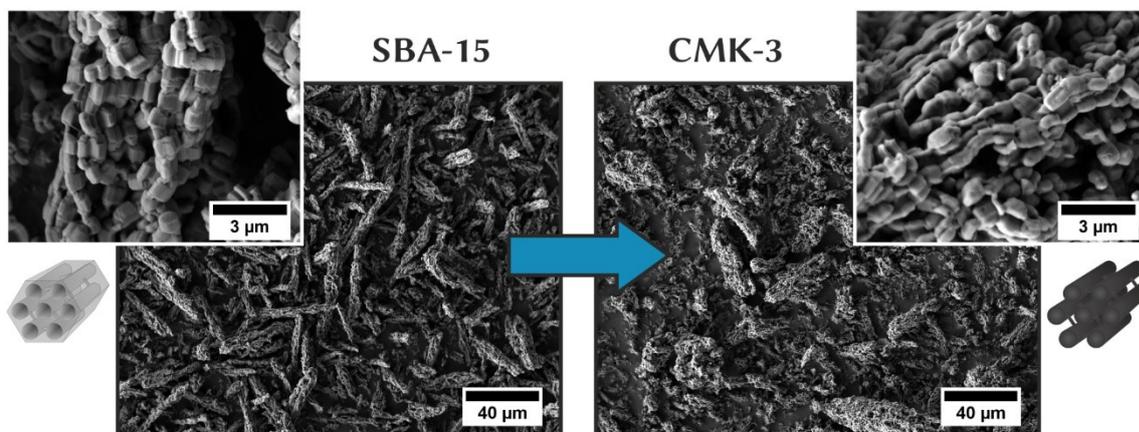
#### **4.2.1 Herstellung des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 über das Templat-Verfahren**

In diesem Kapitel werden kurz die Ergebnisse zur Herstellung des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 dargestellt und erläutert. Die Synthese des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 erfolgte über die Exotemplat-Synthese mit Hilfe des nanoporösen Silica-

Templats SBA-15. Als Zwischenschritt wurde dabei über die Infiltration des Kohlenstoffpräkursors Saccharose und anschließender Carbonisierung ein Silica-Kohlenstoff-Komposit hergestellt. Die Entfernung des Silica-Templats aus diesem Komposit erfolgte mit Hilfe von Flusssäure. Da es sich um eine in der Literatur und auch innerhalb der Arbeitsgruppe bekannte und etablierte Synthese handelt, wurden keine weiteren Parameter variiert.<sup>114,115,178</sup> Außerdem wird in diesem Abschnitt beschrieben, wie aus dem nanoporösen Kohlenstoff CMK-3 Pasten und wässrige Dispersionen zur Herstellung von Beschichtungen angefertigt wurden. Zusätzlich dazu erfolgt ein Vergleich von CMK-3 mit einer kommerziell erhältlichen Aktivkohle, die als Referenzmaterial für einen nanoporösen Kohlenstoff diente.

### *Synthese des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3*

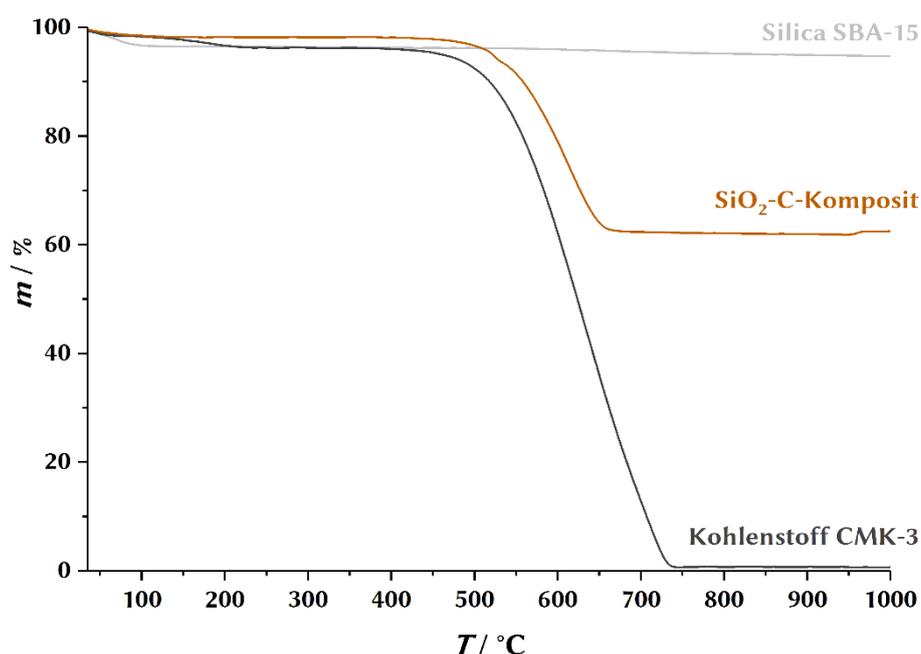
Der nanoporöse Kohlenstoff CMK-3 wurde über das sogenannte Templat-Verfahren hergestellt (*siehe*: 2.2.2). Als Templat dient das nanoporöse Silica SBA-15. In Abbildung 4.24 sind die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen des verwendeten Silica-Templats SBA-15 und des daraus synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 in zwei unterschiedlichen Vergrößerungen dargestellt.



**Abbildung 4.24:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des Silica-Templats SBA-15 (*links*) und des daraus synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (*rechts*). Es sind jeweils zwei unterschiedliche Vergrößerungen dargestellt: eine Übersicht über die jeweiligen Partikel (*großes Bild*) und eine Nahaufnahme eines einzelnen Partikels (*in der Ecke oben*).

Anhand dieser Aufnahmen wird deutlich, dass die Morphologie der Partikel des Silica-Vorläufers SBA-15 und des daraus entstandenen Kohlenstoffs CMK-3 nahezu identisch sind. Beide Feststoffe bestehen aus 30–50  $\mu\text{m}$  langen und etwa 10  $\mu\text{m}$  breiten nadelförmigen Partikeln mit stark aufgerauter Oberfläche. Beim CMK-3 ist die Nadelform deutlich weniger ausgeprägt bzw. teilweise keine klar einheitliche Form der Partikel erkennbar. Die Größe der Partikel ist jedoch vergleichbar. Bei höheren Vergrößerungen ist deutlich erkennbar, dass die Partikel jeweils aus stark verwachsenen hexagonalen Prismen bestehen. Diese Prismen haben einen Durchmesser von etwa 1  $\mu\text{m}$  und ebenso eine Höhe von etwa 1  $\mu\text{m}$ . Für den CMK-3 sind die Kanten der hexagonalen Prismen nicht so deutlich ausgeprägt. Zusammenfassend zeigen diese Aufnahmen, dass über das Templat-Verfahren die Morphologie der Partikel des Silicas SBA-15 auf den Kohlenstoff übertragen wurde bzw. die Morphologie während des Syntheseprozesses erhalten blieb, was mit den theoretischen Überlegungen zur Templat-Synthese übereinstimmt.

Mit Hilfe der thermogravimetrischen Analyse des Silica-Vorläufers, des während des Syntheseprozesses erhaltenen Silica-Kohlenstoff-Komposits und des schlussendlich erhaltenen Kohlenstoffs lassen sich Aussagen über die Zusammensetzung der Stoffe sowie über die einzelnen Schritte der Synthese treffen. In Abbildung 4.25 sind die thermogravimetrischen Messungen dieser drei Stoffe dargestellt.



**Abbildung 4.25: Thermogravimetrische Messungen des Silica-Templats SBA-15 (grau), Silica-Kohlenstoff-Komposits (braun) und des daraus synthetisierten Kohlenstoffs CMK-3 (schwarz).** Das Silica SBA-15 zeigt nur geringe Massenverluste bei der thermischen Behandlung, der Kohlenstoff CMK-3 zersetzt sich nahezu rückstandsfrei. Über die Größe der Stufe der Zersetzung des Kohlenstoffs für das Silica-Kohlenstoff-Komposit lässt sich der Kohlenstoff-Anteil im Komposit bestimmen.

Anhand der gemessenen TG-Kurve des SBA-15 und den in Tabelle 4.8 dargestellten Massenverlusten ist zu erkennen, dass die Entfernung des Block-Copolymers Pluronic® P123, welches zur Synthese von SBA-15 verwendet wurde, durch die vorhergehende zwölfstündige Calcination bei 500 °C erfolgreich war. Der Massenverlust unterhalb von 100 °C lässt sich auf die Desorption von Wasser zurückführen, welches an der Oberfläche des Silicas adsorbiert war. Schon ab einer Temperatur von 100 °C kommt es zu keiner signifikanten Massenänderung mehr. Die geringe Massenabnahme oberhalb einer Temperatur von 600 °C kann mit der Kondensation an der Silica-Oberfläche lokalisierter Silanol-Gruppen begründet werden.<sup>120</sup>

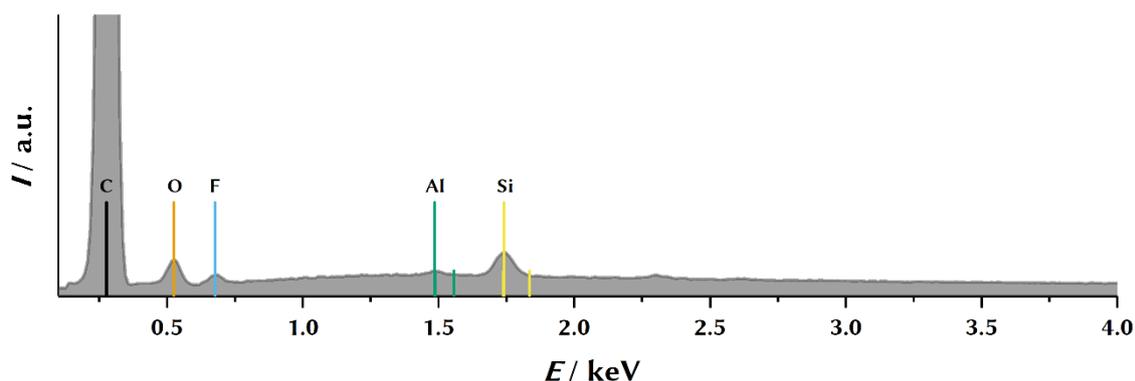
Die thermogravimetrische Analyse des Silica-Kohlenstoff-Komposits zeigt, dass nach der Infiltration durch den Kohlenstoff-Präkursor und die folgende Carbonisation unter Ausschluss von Sauerstoff der Kohlenstoff-Anteil im Komposit bei etwa 36% liegt. In Tabelle 4.8 sind die prozentualen Massenverluste der drei Substanzen für verschiedene relevante Temperaturbereiche sowie der Rückstand nach der Messung aufgelistet.

**Tabelle 4.8: Prozentuale Massenverluste und Massentrückstände während bzw. nach der thermogravimetrischen Analyse des Silica-Templats SBA-15, SiO<sub>2</sub>-C-Komposits und des Kohlenstoffs CMK-3.** Die Massenverluste sind in drei relevanten Temperaturbereichen dargestellt.

	Massenverlust / %			Rückstand /%
	RT – 100 °C	100 – 250 °C	250 – 1000 °C	
Silica SBA-15	3	0	2	95
SiO <sub>2</sub> -C-Komposit	2	0	36	62
Kohlenstoff CMK-3	1	2	96	1

Die thermische Zersetzung des Kohlenstoffs beginnt sowohl im Falle des Komposits als auch beim reinen Kohlenstoff bei einer Temperatur von etwa 500 °C. Der reine Kohlenstoff CMK-3 zersetzt sich dabei nahezu vollständig, der Rückstand liegt nach der thermischen Behandlung bei gerade mal einem Prozent und damit im Fehlerbereich der Messmethode. Dies zeigt auch, dass die Entfernung des Silica-Templats durch die Flusssäure-Behandlung erfolgreich war und vollständig abgelaufen ist.

Zur Ermittlung der Element-Zusammensetzung des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 wurde der Feststoff mit Hilfe der energiedispersiven Röntgen-Spektroskopie (EDXS) untersucht. Dies dient vor allem dazu, mögliche Verunreinigungen zu identifizieren und als weiterer Hinweis auf die erfolgreiche Entfernung des Templats. In Abbildung 4.26 ist das EDX-Spektrum des CMK-3 dargestellt.



**Abbildung 4.26: Energiedispersives Röntgen-Spektrum des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3.** Neben Kohlenstoff (*schwarz*) konnten die Elemente Sauerstoff (*orange*), Fluor (*blau*), Aluminium (*grün*) und Silicium (*gelb*) qualitativ nachgewiesen werden. Die charakteristischen Röntgenlinien der Elemente sind in der jeweiligen Farbe markiert, die wichtigsten Linien sind besonders hervorgehoben.

Neben Kohlenstoff konnten die Elemente Sauerstoff, Fluor, Aluminium und Silicium qualitativ über die Emission der charakteristischen Röntgen-Strahlung nachgewiesen werden. Der Sauerstoff ist möglicherweise auf einen geringen Anteil an Sauerstoff-Funktionalitäten des Kohlenstoffs zurückzuführen, die durch die thermische Behandlung bei der Karbonisierung entstanden sind. Zwar wurde unter Sauerstoff-Ausschluss gearbeitet, ein Zutritt geringer Mengen an Sauerstoff kann in diesem Prozess jedoch nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Eine andere Möglichkeit der Herkunft des Sauerstoffs besteht im Sauerstoff-Anteil vom verbliebenem Silica-Templat, da auch Silicium nachgewiesen wurde. Sowohl die Anwesenheit von Silicium und Sauerstoff als auch von Aluminium können aber auch auf nachträgliche Verunreinigungen aus der Umgebung sowohl bei der Lagerung als auch bei der Probenvorbereitung zurückzuführen sein, da es sich jeweils im Vergleich mit Kohlenstoff um sehr geringe Mengen handelt. Das nachgewiesene Fluor lässt sich jedoch mit ziemlicher Sicherheit auf Fluorid-Spezies zurückführen, die aus der zur Entfernung des Silica-Templats verwendeten Flusssäure stammen. Der Waschprozess scheint nicht ausgereicht zu haben, um diese vollständig aus dem Porensystem zu entfernen. Ein Einbau des Fluorids in die Struktur des Kohlenstoffs wäre theoretisch denkbar, ist für die hier gewählten Reaktionsbedingungen jedoch unwahrscheinlich. Hierzu wären reines Fluor oder deutlich höhere Temperaturen notwendig.<sup>179</sup> Es handelt sich jedoch insgesamt um sehr geringe Mengen Fluorid. Eine genauere

quantitative Auswertung der Element-Zusammensetzung lässt diese Messmethode in diesem Fall nicht zu.

Zur Untersuchung der Porensysteme der hergestellten Feststoffe wurden Röntgen-Pulverdiffraktogramme im Bereich kleiner Winkel ( $< 4^\circ 2\theta$ ) aufgenommen. Diese Diffraktogramme des Silica-Templats, des Silica-Kohlenstoff-Komposits und des Kohlenstoffs sind in Abbildung 4.27 dargestellt.

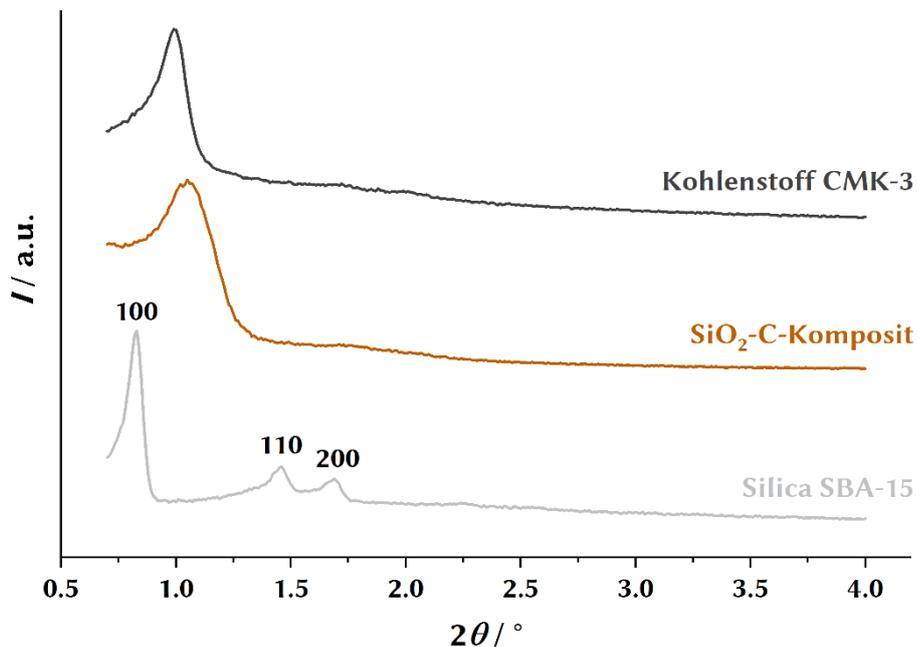


Abbildung 4.27: Röntgen-Pulverdiffraktogramme im Bereich kleiner  $2\theta$ -Winkel des Silica-Templats SBA-15 (hellgrau), Silica-Kohlenstoff-Komposits (braun) und des daraus synthetisierten Kohlenstoffs CMK-3 (dunkelgrau). Für SBA-15 ist die Indizierung der drei Reflexe angegeben.

Das Röntgen-Pulverdiffraktogramm des Silicas SBA-15 zeigt in diesem Winkelbereich drei Reflexe, was auf ein mesoporöses Porensystem mit hoher Ordnung schließen lässt. Beim Diffraktogramm des Silica-Kohlenstoff-Komposits und des Kohlenstoffs CMK-3 ist der erste Reflex deutlich ausgeprägt, die beiden weiteren Reflexe sind für CMK-3 im Untergrund der Messung zu erahnen. Die detektierbaren Reflexe lassen sich jeweils in der hexagonalen Raumgruppe  $P6mm$  indizieren. Für alle drei XRDs sind dies

der (100)-Reflex, für SBA-15 zusätzlich der (110)- und der (200)-Reflex. Die nach Gleichung (1) (siehe: 3.2.3) ermittelten Gitterkonstanten sind in Tabelle 4.9 zusammen mit den jeweiligen Literaturwerten aufgelistet.<sup>113,138</sup>

**Tabelle 4.9:** Aus den Röntgen-Pulverdiffraktogrammen berechnete Werte für die Gitterkonstante  $a_1$  sowie die dazugehörigen Literaturwerte.<sup>113,138</sup> Für die Berechnungen wurden jeweils die Beugungswinkel des (100)-Reflexes verwendet, für den SBA-15 zusätzlich die Werte des (110)- und des (200)-Reflexes. Für das Silica-Kohlenstoff-Komposit sind keine Literaturwerte verfügbar.

	Gitterkonstante $a_1 / \text{Å}$	
	Experimenteller Wert	Literaturwert
Silica SBA-15	$121 \pm 1$	120
SiO <sub>2</sub> -C-Komposit	98	-
Kohlenstoff CMK-3	103	97

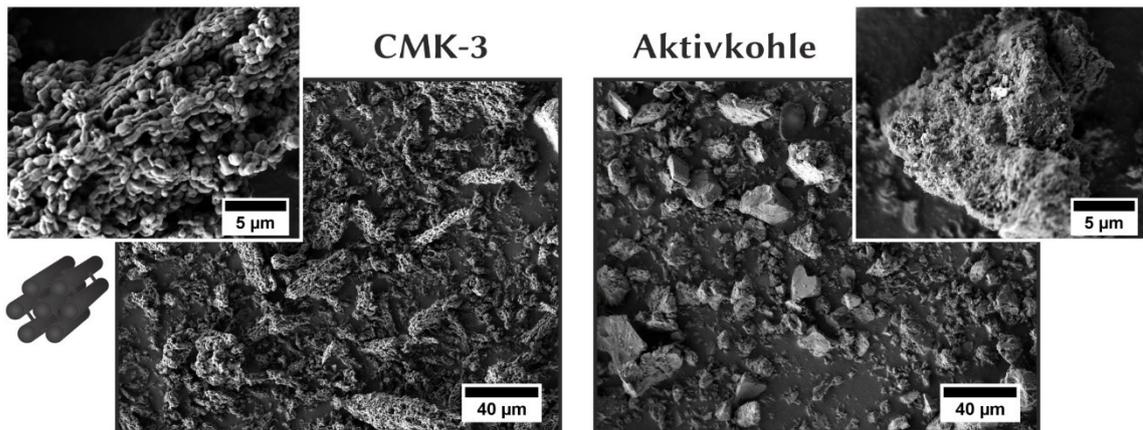
Die jeweiligen Werte für die Gitterkonstanten des Silica SBA-15 und nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 stehen in guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten. Dabei sollte aber berücksichtigt werden, dass die Gitterkonstante von den jeweiligen Syntheseparametern beeinflusst wird (u.a. Dauer der Reaktion, Reaktionstemperatur, anschließende Waschvorgänge sowie verwendete Lösungsmittel). Daher sind in der Literatur auch von den hier aufgelisteten abweichende Werte für die Gitterkonstanten zu finden. Die Arbeitsgruppen um *Ryoo* und ebenso um *Stucky* haben dies ausführlich am Beispiel des SBA-15 beschrieben.<sup>120,121</sup> Wie bereits anhand der Verschiebung der Reflexe in den XRDs des Komposits und des Kohlenstoffs zu größeren  $2\theta$ -Werten ersichtlich, sind die Gitterkonstanten des Komposits und des CMK-3 kleiner als die des Silica-Templats SBA-15. Dies spricht, wie auch erwartet, für kleinere Porendurchmesser des Kohlenstoff-Materials.

Somit konnte gezeigt werden, dass die Synthese des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 über die Route des Silica-Templats SBA-15 erfolgreich war. Dabei blieb sowohl die Morphologie der Partikel erhalten und auch das geordnete Porensystem wurde übertragen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass das Silica-Templat über die Behandlung mit Flusssäure vollständig entfernt werden konnte.

*Vergleich des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 mit Aktivkohle*

Eine kommerziell erhältliche Aktivkohle (*siehe*: 3.1.3) wurde in dieser Arbeit als Vergleichs-Material bei der Herstellung von Beschichtungen auf der Basis poröser Kohlenstoffe verwendet. Ähnlich wie der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte Kohlenstoff CMK-3 weisen Aktivkohlen hohe spezifische Oberflächen auf und besitzen Poren mit Durchmessern im Nanometerbereich. Üblicherweise liegt bei Aktivkohlen jedoch kein geordnetes Porensystem mit einheitlichen Porendurchmessern vor, wie dies beim CMK-3 der Fall ist. In diesem Abschnitt werden kurz die Eigenschaften der verwendeten Aktivkohlen mit denen des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 verglichen.

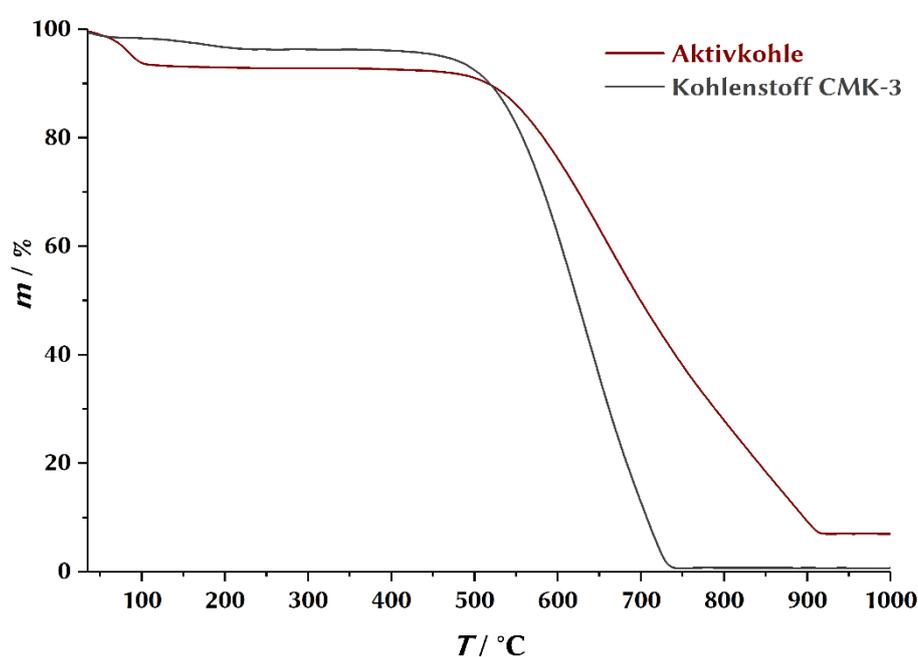
In Abbildung 4.28 sind rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Aktivkohle und des CMK-3 in jeweils zwei Vergrößerungen dargestellt. In den größer dargestellten Übersichtsaufnahmen ist erkennbar, dass die hier verwendete Aktivkohle ähnliche Partikelgrößen aufweist wie der synthetisierte CMK-3. Größere Partikel liegen im Bereich von 10 bis 50  $\mu\text{m}$ , es gibt jedoch auch deutlich kleinere Partikel.



**Abbildung 4.28:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (*links*) im Vergleich zu einer kommerziell erhältlichen pulverförmigen Aktivkohle (*rechts*). Es sind jeweils zwei unterschiedliche Vergrößerungen dargestellt: eine Übersicht über die jeweiligen Partikel (*großes Bild*) und eine Nahaufnahme eines einzelnen Partikels (*in der Ecke oben*).

Im Gegensatz zu den eher nadel- oder auch stabförmigen Partikeln des CMK-3 ist für die Aktivkohle keine einheitliche Partikelmorphologie erkennbar. In der Übersicht wirken die Flächen der Aktivkohle-Partikel deutlich glatter als die des CMK-3. Bei näherer Betrachtung ist die feine raue Oberfläche dieser Partikel erkennbar. Spezifische Formen, wie die verwachsenen hexagonalen Prismen des CMK-3, sind nicht vorhanden.

Die thermogravimetrische Messung der Aktivkohle (*siehe*: Abbildung 4.29) zeigt ebenfalls eine Desorption von Wasser unterhalb von 100 °C, der Massenverlust liegt bei dieser Stufe bei etwa 7% und ist somit deutlich größer als bei CMK-3. Ab 500 °C setzt auch hier die kontinuierliche Zersetzung des Kohlenstoffs ein.



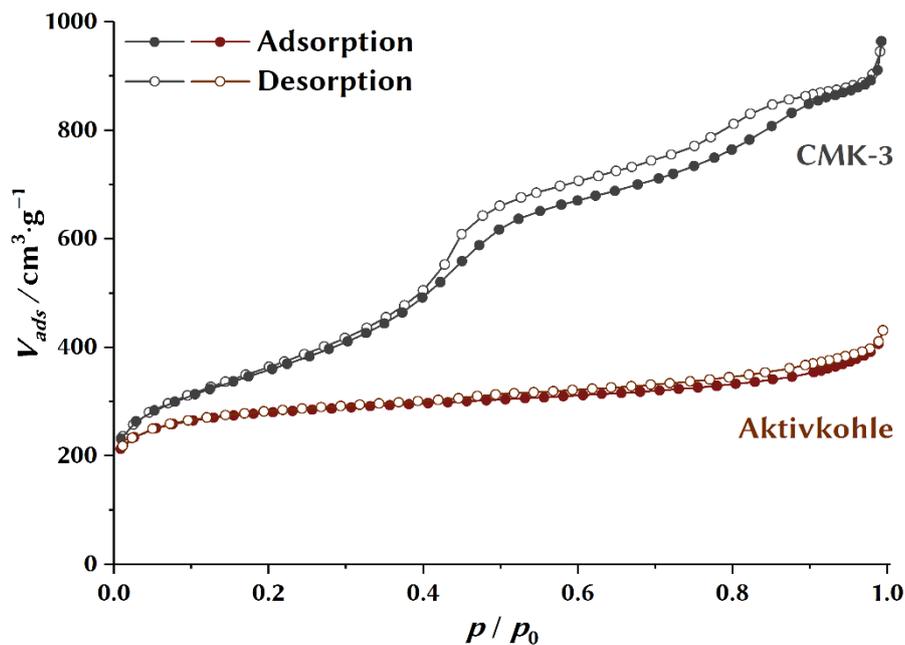
**Abbildung 4.29: Thermogravimetrische Messungen des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (dunkelgrau) und der verwendeten Aktivkohle (rot).** Im Vergleich zeigt die Aktivkohle eine höhere Desorption von Wasser. Außerdem ist die Zersetzung der Aktivkohle erst ab einer Temperatur von über 900 °C abgeschlossen und sie weist einen höheren Rückstand nach der Messung im Vergleich zum Kohlenstoff CMK-3 auf. Dieser wird nahezu rückstandsfrei oxidiert.

Im Gegensatz zu CMK-3 ist diese jedoch erst bei 900 °C abgeschlossen, wohingegen bei CMK-3 schon ab etwa 770 °C keine weiteren Massenverluste auftreten. Der Anteil an anorganischen Substanzen, die als Rückstand nach der thermischen Zersetzung

zurückbleiben, ist mit 7% ebenfalls bei der Aktivkohle deutlich höher. Aufgrund des großtechnischen Herstellungsverfahrens der Aktivkohle sind vor allem Phosphate als mögliche anorganische Verunreinigungen denkbar.

Anhand der röntgen-diffraktometrischen Untersuchungen der Aktivkohle wird deutlich, dass die Aktivkohle im Gegensatz zu CMK-3, wie erwartet, kein geordnetes Porensystem aufweist. Im dafür relevanten Winkelbereich ( $< 4^\circ 2\theta$ ) können keinerlei Reflexe detektiert werden. Weitere Aussagen über die Aktivkohle sind anhand dieser Messungen nicht möglich. Das Diffraktogramm der Aktivkohle ist im Anhang in Abbildung 7.9 dargestellt.

Zur genaueren Charakterisierung des Porensystems bzw. der Oberfläche der beiden porösen Kohlenstoffe wurden jeweils Messungen von Stickstoff-Physisorptions-Isothermen durchgeführt. In Abbildung 4.30 sind Isothermen für CMK-3 und die verwendete Aktivkohle dargestellt.



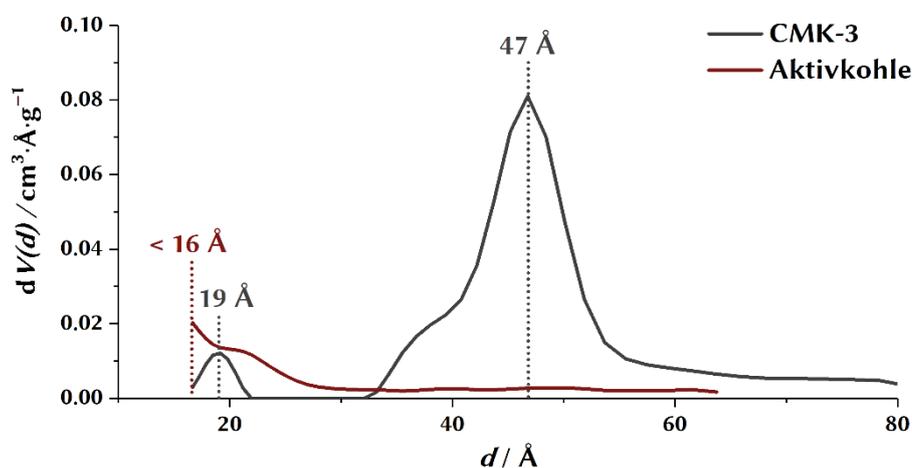
**Abbildung 4.30:** Stickstoff-Physisorptions-Isothermen des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (dunkelgrau) und der verwendeten Aktivkohle (rot). Es ist jeweils die Adsorption (ausgefüllte Kreise) und die Desorption (nicht ausgefüllte Kreise) dargestellt.

Die dunkelgrau dargestellte Physisorptions-Isotherme des CMK-3 lässt sich als eine für mesoporöse Materialien charakteristische Typ-IVa-Isotherme beschreiben. Wie ebenfalls für solche Materialien üblich, weist sie eine ausgeprägte Hysterese auf, die dem Typ H1 zugeordnet werden kann.<sup>180</sup> Der Typ der Isotherme und der Hysterese-Schleife entsprechen denen eines mesoporösen Materials mit zylindrischen Poren relativ einheitlicher Größe. Die Hysterese verläuft jedoch relativ flach über einen großen Druckbereich. Dies erinnert ebenso an eine Hysterese-Schleife des Typs H4, welcher häufig bei aggregierten Kristallen mikro-mesoporöser Kohlenstoffe auftritt.<sup>180,181</sup>

Die rot dargestellte Isotherme der Aktivkohle weist weder eine ausgeprägte Hysterese noch einen starken Anstieg des adsorbierten Volumens bei hohen Relativdrücken auf. Der Verlauf der Isotherme lässt sich daher am ehesten dem Verlauf des Typs Ia zuordnen. Dabei ist der Verlauf vor allem durch enge Mikroporen mit einem Durchmesser  $< \sim 1$  nm bestimmt.

Somit lässt sich festhalten, dass es sich bei CMK-3 um ein mesoporöses Material mit zusätzlichen Mikroporen handelt, während die Aktivkohle nur Mikroporen besitzt.

Um die anhand der gemessenen Isothermen getroffenen Annahmen über die Porengrößen der beiden Stoffe zu überprüfen bzw. zu bestätigen, wurden mit Hilfe der DFT-Methode die Porenweitenverteilungen für beide Kohlenstoffe berechnet. Sie sind in Abbildung 4.31 dargestellt.



**Abbildung 4.31:** Nach der DFT-Methode berechnete Porenweitenverteilungen des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (*dunkelgrau*) und der verwendeten Aktivkohle (*rot*). Die jeweiligen DFT-Fits sowie die verwendeten Kernels zur Berechnung sind im Anhang in Abbildung 7.10 und Abbildung 7.11 dargestellt.

Für den synthetisierten porösen Kohlenstoff CMK-3 liegt die Porengröße im mesoporösen Bereich bei einer Größe von 47 Å bzw. 4.7 nm. Ein weiteres Maximum in der Porenweitenverteilung ist an der Grenze zum mikroporösen Bereich bei etwa 19 Å bzw. 1.9 nm. Diese Werte stehen in guter Übereinstimmung zu den Arbeiten von *Gor et al.*, anhand derer die Berechnungen durchgeführt wurden.<sup>182</sup>

Die verwendete Aktivkohle weist, wie anhand der Isotherme bereits erwartet, kaum Mesoporen auf, sondern wird vor allem durch Mikroporen dominiert. Die Porenweitenverteilung zeigt erst unterhalb eines Porendurchmessers von ca. 25 Å bzw. 2.5 nm einen breiten Anstieg der Kurve. Ein Maximum ist nicht zu beobachten, die Kurve steigt bis zu Werten von 16 Å bzw. 1.6 nm an. Poren mit kleinerem Durchmesser lassen sich mit dem verwendeten Adsorbat Stickstoff nicht untersuchen. Dementsprechend liefern die Berechnungen der Porenweitenverteilung keine Werte in diesem Bereich.

Außerdem wurden nach der BET-Methode die Oberflächen der beiden Stoffe anhand der Isothermen bestimmt. Die dazugehörigen Multi-Point-BET-Plots sind im Anhang in Abbildung 7.10 und Abbildung 7.11 zu finden. Die Werte zu den BET-Oberflächen des CMK-3 und der Aktivkohle sowie das Porenvolumen und die ermittelten Porenweiten sind in Tabelle 4.10 aufgelistet.

**Tabelle 4.10:** Ergebnisse der Auswertung der Physisorptions-Untersuchungen für den synthetisierten Kohlenstoff CMK-3 und die verwendete Aktivkohle. Die *Multi-Point*-BET-Plots und die DFT-Fits sowie weitere Parameter, die zur Berechnung dieser Werte verwendet wurden, sind im Anhang in Abbildung 7.10 und Abbildung 7.11 zu finden.

	Kohlenstoffmaterial	
	CMK-3	Aktivkohle
BET-Oberfläche / $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	1256	1058
Porenvolumen / $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$	1.4	0.6
Porenweite / Å	47 (und 19)	< 20

Die spezifische BET-Oberfläche des CMK-3 liegt bei  $1256 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  und ist damit größer als die der verwendeten Aktivkohle ( $1058 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ). Jedoch weisen somit beide

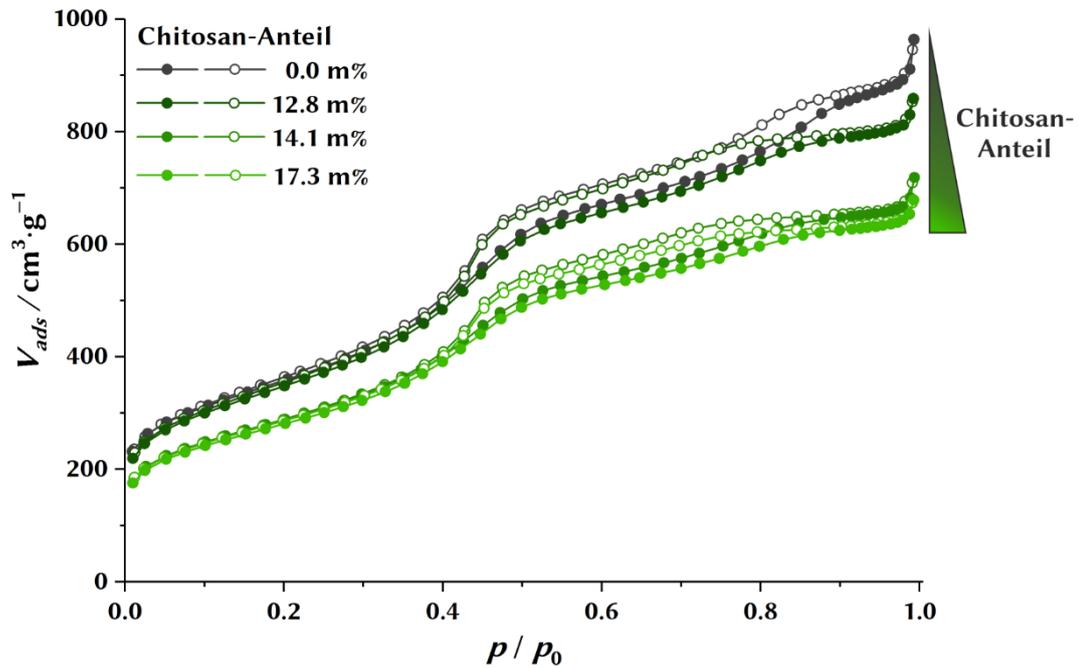
Feststoffe verhältnismäßig große und für poröse Kohlenstoffe bzw. Aktivkohlen typische spezifische Oberflächen auf und liegen in einem vergleichbaren Bereich. Die Porenvolumina unterscheiden sich mit  $1.4$  und  $0.6 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  bei CMK-3 und Aktivkohle jedoch deutlich, was auf die oben beschriebenen und in der Tabelle aufgelisteten Unterschiede in den Porendurchmessern zurückgeführt werden kann. Teilweise wurden in der Literatur mit bis zu  $1520 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  größere Oberflächen bei ähnlichen Porenvolumina ( $1.3 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ ) für CMK-3 erzielt.<sup>113</sup> Andere Veröffentlichungen beschreiben jedoch vergleichbare Werte ( $1320 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  und  $1.3 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ ).<sup>23</sup>

In diesem Abschnitt konnte gezeigt werden, dass der synthetisierte nanoporöse Kohlenstoff CMK-3 und die hier verwendete Aktivkohle zum Teil vergleichbare Eigenschaften aufweisen. Sie weisen ähnliche Partikelgrößen auf und zeigen ähnliches Verhalten bei der thermischen Zersetzung. Ihre spezifischen Oberflächen sind vergleichbar, jedoch zeigt die Aktivkohle weder ein geordnetes Porensystem noch besitzt sie Mesoporen. Die Aktivkohle dient jedoch im Folgenden als Referenz- bzw. Vergleichsmaterial für einen mikroporösen Kohlenstoff.

#### *Elektrodenpasten aus nanoporösen Kohlenstoffen und Aktivkohle*

Sowohl aus dem synthetisierten Kohlenstoff CMK-3 als auch aus der Aktivkohle wurden Elektrodenpasten hergestellt. Dazu wurden, wie im Unterabschnitt von 3.1.3 *Herstellung von Elektrodenpasten* beschrieben, die Kohlenstoff-Materialien mit einem Binder-Polymer und einem Lösungsmittel zu einer hoch-viskosen Paste vermischt. Hierfür wurden unter anderem Carboxymethylcellulose (CMC) und Polyvinylidenfluorid (PVDF) verwendet. Der Fokus lag jedoch vor allem auf der Verwendung von Chitosan (Chit).

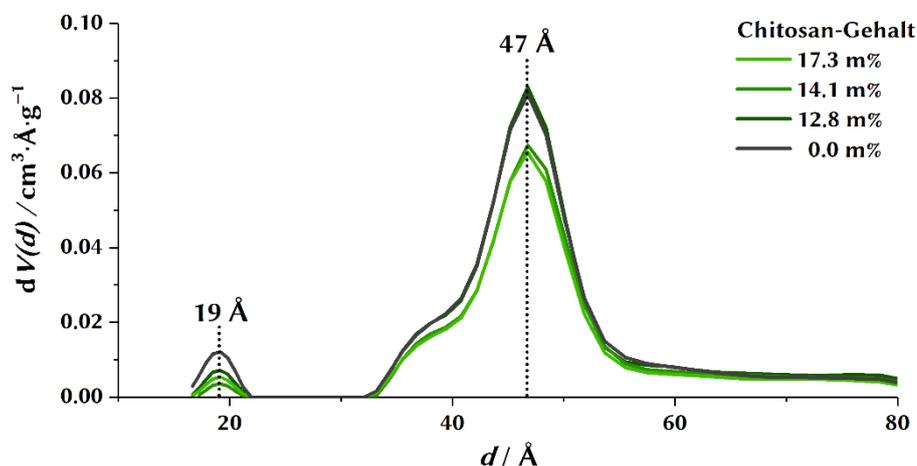
Um zu untersuchen, welchen Einfluss das Binder-Polymer auf die Oberfläche und das Porensystem des porösen Kohlenstoffs CMK-3 hat und wie sich das auf spätere Beschichtungen auswirken kann, wurden die Chitosan-CMK-3-Elektrodenpasten mit unterschiedlichen Chitosan-Anteilen getrocknet und Physisorptions-Messungen an diesen Feststoffen durchgeführt. Die dazugehörigen Physisorptions-Isothermen sowie die Isotherme des reinen CMK-3 sind in Abbildung 4.32 dargestellt.



**Abbildung 4.32: Stickstoff-Physisorptions-Isotherme des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (dunkelgrau) im Vergleich mit denen der getrockneten Chitosan-CMK-3-Elektrodenpasten (dunkel- bis hellgrün).** Die Elektrodenpasten weisen steigende Chitosan-Anteile auf (12,8, 14,1 und 17,3 m%), wobei reiner CMK-3 einen Chitosan-Anteil von 0,0 m% darstellt. Es ist jeweils die Adsorption (ausgefüllte Kreise) und die Desorption (nicht ausgefüllte Kreise) dargestellt.

Alle drei Isothermen der getrockneten Chitosan-CMK-3-Elektrodenpasten mit unterschiedlichen Chitosan-Anteilen weisen die schon für reines CMK-3 typische Typ-IVa-Isotherme mit einer H1-Hysterese auf. Die Isothermen verschieben sich jedoch mit steigendem Chitosan-Anteil zu niedrigeren adsorbierten Volumina, wobei der Verlauf der Isotherme identisch bleibt. Lediglich bei hohen Relativdrücken ( $0,7 < p/p_0 < 0,9$ ) ist der Anstieg bei der Adsorption der Elektrodenpasten nicht so ausgeprägt im Vergleich zum reinen Kohlenstoff CMK-3. Dies ist möglicherweise ein Anzeichen dafür, dass durch den Einfluss des in den Elektrodenpasten verwendeten Polymers, in diesem Fall Chitosan, der Anteil der Mesoporen mit großem Durchmesser geringer wird bzw. durch das Ausfüllen der Poren mit Polymer die Durchmesser abnehmen. Eine weitere Erklärung wäre das Auffüllen der interpartikulären Porosität durch das Polymer. Anhand der Isothermen ist ein Einfluss auf Mesoporen mit kleineren Durchmessern oder auch auf die Mikroporen nicht feststellbar. Genauere Aussagen darüber lassen sich anhand der über

die DFT-Methode berechneten Porenweitenverteilungen treffen, die in Abbildung 4.33 dargestellt sind.



**Abbildung 4.33:** Nach der DFT-Methode berechnete Porenweitenverteilung des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 (*dunkelgrau*) im Vergleich mit denen der getrockneten Chitosan-CMK-3-Elektrodenpasten (*dunkel- bis hellgrün*). Die Elektrodenpasten weisen steigende Chitosan-Anteile auf (12,8, 14,1 und 17,3 m%), wobei reiner CMK-3 einen Chitosan-Anteil von 0,0 m% darstellt. Die jeweiligen DFT-Fits sowie die verwendeten Kernels zur Berechnung sind im Anhang in Abbildung 7.12 bis Abbildung 7.14 dargestellt.

Die anhand der Isothermen berechneten Porenweitenverteilungen zeigen sehr deutlich, dass sich durch die Verwendung des Binder-Polymers in den Elektrodenpasten nicht der Durchmesser der Poren des CMK-3 ändert. Alle Porenweitenverteilungen der unterschiedlichen Chitosan-Anteile liefern exakt dieselben Maxima wie die des reinen CMK-3 bei Porendurchmesser von 47 und 19 Å.

Bei zusätzlicher Betrachtung der über die BET-Methode ermittelten Oberflächen, die in Tabelle 4.11 aufgelistet sind, zeigt sich, dass mit steigendem Chitosan-Anteil die Oberflächen der getrockneten Elektroden zwar deutlich sinken. Werden die BET-Oberflächen jedoch auf den jeweils verwendeten Kohlenstoff-Anteil in den Pasten bezogen, ergeben sich Werte die nahezu denen des reinen Kohlenstoffs CMK-3 entsprechen. Abweichungen lassen sich zum einen auf Ungenauigkeiten beim Abwiegen zurückführen, da jeweils geringe Massen im unteren Milligramm-Bereich verwendet werden. Dies ist sowohl bei der Probenvorbereitung für die Sorptionsmessung als auch bei der Herstel-

lung der Elektrodenpasten relevant. Außerdem muss der allgemeine Messfehler der Methode berücksichtigt werden. Es wurde für jede Probe jeweils nur eine Messung zur Auswertung verwendet. Das Porenvolumen nimmt ebenso mit steigendem Chitosan-Anteil ab. Bei einer Umrechnung auf den Kohlenstoff-Anteil in der getrockneten Elektrodenpaste ergeben sich, analog zu den Berechnungen für die Oberflächen, Porenvolumina ( $1.2\text{--}1.5\text{ cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$ ), die nahezu denen des reinen Kohlenstoff CMK-3 entsprechen ( $1.4\text{ cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$ ).

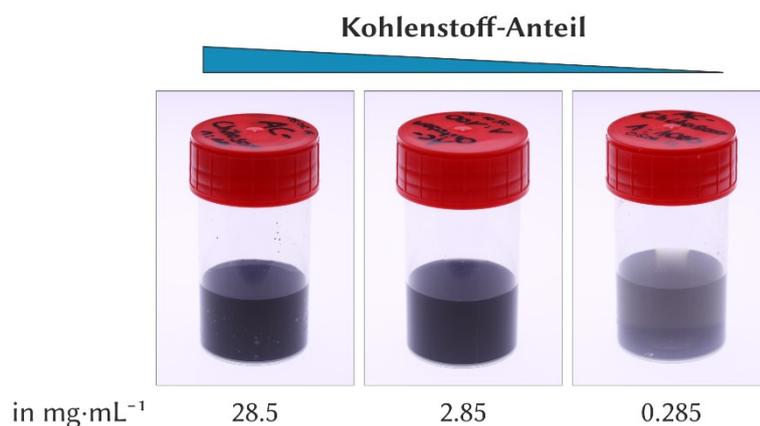
**Tabelle 4.11: Ergebnisse der Auswertung der Stickstoff-Physisorptions-Untersuchungen für den synthetisierten Kohlenstoff CMK-3 im Vergleich mit denen der getrockneten Chitosan-CMK-3-Elektrodenpasten.** Die BET-Oberflächen sind sowohl in Bezug auf ein Gramm Messsubstanz bzw. getrocknete Elektrodenpaste als auch umgerechnet auf ein Gramm des in der getrockneten Paste enthaltenen Kohlenstoffs angegeben. Die *Multi-Point*-BET-Plots und die DFT-Fits sowie weitere Parameter, die zur Berechnung dieser Werte verwendet wurden, sind im Anhang in Abbildung 7.12 bis Abbildung 7.14 zu finden.

Chitosan-Gehalt / m%	BET-Oberfläche / $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ (getrocknete Paste)	BET-Oberfläche / $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ (Kohlenstoff)	Porenvolumen / $\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$	Porenweite / Å
0	1256	1256	1.4	47 (und 19)
12.8	1230	1411	1.3	47 (und 19)
14.1	1020	1187	1.0	47 (und 19)
17.3	994	1202	1.0	47 (und 19)

Somit konnte für das Beispiel Chitosan gezeigt werden, dass die Verwendung des Binder-Polymers in den Elektrodenpasten keinen bzw. nur geringen Einfluss auf die Oberfläche und auf das Porensystem des porösen Kohlenstoffs CMK-3 hat. Weder die Oberfläche noch die Durchmesser der Poren werden verändert. Dies gilt jedoch nur für den hier untersuchten Bereich von Chitosan-Anteilen in den Elektrodenpasten. Dieser stellt gleichzeitig den Bereich dar, in denen die Viskositäten der Pasten für die verwendeten Beschichtungsmethoden als geeignet anzusehen sind.

### Wässrige Dispersionen der nanoporösen Kohlenstoffe und Aktivkohle

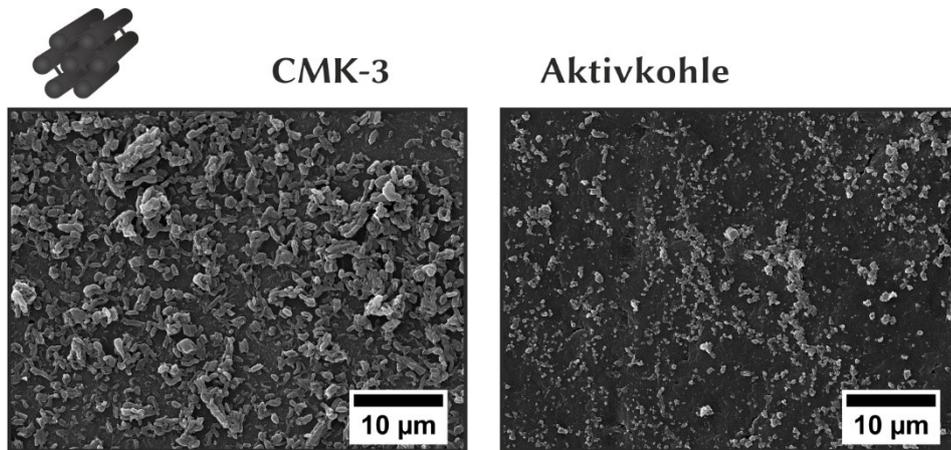
Zur Verwendung bei der Sprühbeschichtungsmethode wurden aus den hochviskosen Elektrodenpasten niederviskose Dispersionen hergestellt. In Abbildung 4.34 sind beispielhafte Aufnahmen solcher wässriger Dispersionen von Aktivkohle mit unterschiedlichem Massenanteil dargestellt.



**Abbildung 4.34: Wässrige Dispersionen von Aktivkohle mit Chitosan als Binder-Polymer in verdünnter Essigsäure mit unterschiedlichem Kohlenstoff-Massenanteil (von links nach rechts abnehmend).** Diese Dispersionen wurden durch Verdünnung der Elektrodenpasten mit Reinstwasser und anschließender Behandlung mit dem Ultraschalldesintegrator hergestellt. Die Massenanteile entsprechen 10-,100- und 1000-facher Verdünnung der Elektrodenpaste.

Sowohl die in dieser Arbeit verwendete Aktivkohle als auch der synthetisierte nanoporöse Kohlenstoff CMK-3 konnten erfolgreich als wässrige Dispersionen unter Zuhilfenahme des Binder-Polymers Chitosan dispergiert werden. Dabei spielte es keine Rolle, ob der Weg über eine Verdünnung der Elektrodenpaste oder direkt über die Vermischung der Einzelkomponenten gewählt wurde. Jeweils war eine Behandlung mit dem Ultraschalldesintegrator notwendig, um eine hinreichende Qualität der Dispersion zu erreichen und das Absetzen von Feststoff zu verhindern. Diese Dispersionen wiesen eine ausreichend gute Stabilität auf, um als Beschichtungslösung für die Sprühbeschichtungsmethode zu dienen. Eine Langzeitstabilität (> 6 Monate) ist ebenfalls gegeben, so dass die Dispersionen mehrfach verwendet werden konnten. Jedoch musste vor jeder Verwendung eine erneute Behandlung mit dem Ultraschalldesintegrator durchgeführt werden um den teilweise abgesetzten Feststoff zu redispersieren.

Inwieweit sich der Herstellungs-Prozess der Dispersionen auf die beiden Kohlenstoff-Materialien auswirkt, wurde mit Hilfe von rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen überprüft. Dabei sind vor allem die Partikelgrößen-Verteilung und mögliche Veränderungen der Partikelgrößen interessant. In Abbildung 4.35 sind die Aufnahmen der wässrigen Dispersionen des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 und der verwendeten Aktivkohle dargestellt. Chitosan diente als Binder-Polymer und wurde in verdünnter Essigsäure gelöst.



**Abbildung 4.35:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der wässrigen Dispersionen von CMK-3 (*links*) und Aktivkohle (*rechts*) mit Chitosan als Binder-Polymer in verdünnter Essigsäure. Die Dispersionen wurden direkt auf den Probenträger getropft und getrocknet.

Im Vergleich zu den Aufnahmen der reinen Feststoffe beider Kohlenstoff-Materialien (*siehe*: Abbildung 4.28 auf Seite 150) wird deutlich, dass die Partikeldurchmesser in den Dispersionen geringer sind. In der wässrigen Chitosan-Dispersion sind die CMK-3-Partikel 1–2 µm groß und liegen größtenteils vereinzelt und gleichmäßig verteilt vor. Der synthetisierte Feststoff des CMK-3 besteht hingegen aus 30–50 µm langen und etwa 10 µm breiten nadelförmigen Partikeln. Das spricht zum einen dafür, dass die kleineren Partikel eher dispergierbar sind als größere, und zum anderen, dass es bei der Behandlung in der Kugelmühle bzw. mit dem Ultraschalldesintegrator möglicherweise zu einer Vereinzelung der Primärpartikel kommt, aus denen die größeren Partikel des CMK-3 aufgebaut sind. Es lassen sich kaum mehr nadelförmige Partikel erkennen. Die beobachteten Partikel weisen hauptsächlich eine gleichförmige Morphologie auf. Nur

teilweise sind noch größere Partikel (bis zu ca. 8  $\mu\text{m}$ ) erkennbar, die aus verwachsenen kleineren Partikeln zu bestehen scheinen.

Für die Aktivkohle ist der Unterschied der Partikelgrößen zwischen dem Ausgangsmaterial und den wässrigen Dispersionen mit Chitosan noch deutlicher. Waren im Ausgangsmaterial der Aktivkohle neben kleineren Partikeln vor allem Partikel im Bereich von 10 bis 50  $\mu\text{m}$  vorhanden, liegen in der Dispersion nahezu nur Partikel kleiner gleich 1  $\mu\text{m}$  vor. Auch hier kann es durch die Behandlung zur Dispergierung zu einem Aufbrechen der größeren Partikel gekommen sein. Viel wahrscheinlicher ist in diesem Fall jedoch, dass ausschließlich Partikel mit geringem Durchmesser dispergiert werden konnten. Dies wird durch die Beobachtung des nicht dispergierten Feststoffes untermauert, der nach der Behandlung als Bodensatz zurückblieb.

Für den Beschichtungsprozess und die Qualität der späteren Beschichtungen sollten die geringeren Partikel-Durchmesser in den Dispersionen von Vorteil sein. Die Gefahr eines möglichen Verstopfens von Düsen während der Sprühbeschichtung sollte sinken. Außerdem ist es mit kleineren, einheitlich geformten Partikeln eher möglich Beschichtungen mit gleichmäßigen Schichtdicken der Filme herzustellen.

#### 4.2.2 Charakterisierung der Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3

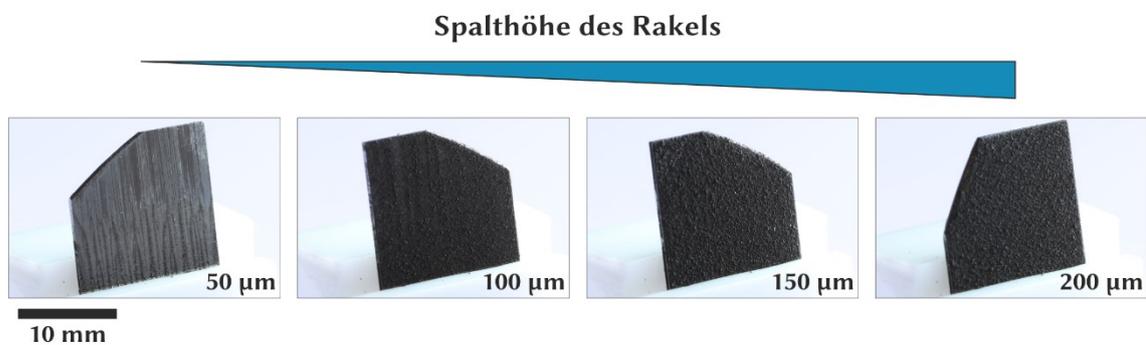
Elektrodenpasten und Dispersionen beider poröser Kohlenstoffe, Aktivkohle und CMK-3, wurden zur Herstellung von Filmen auf Edelmetall-Substraten über unterschiedliche Beschichtungsmethoden verwendet. In diesem Abschnitt werden die Entwicklung der Beschichtungsprozedur für die porösen Kohlenstoffe erläutert sowie die Ergebnisse der Verwendung unterschiedlicher Binder-Polymere für die Kohlenstoff-Filme dargestellt. Im weiteren Verlauf werden die auf dem Binder-Polymer Chitosan basierenden Filme eingehender charakterisiert, wobei der Fokus auf der Morphologie der Schichten, ihren elektrischen Eigenschaften, ihrer spezifischen Oberfläche und der Stabilität der Beschichtungen liegt.

##### *Entwicklung der Beschichtungsprozedur für porösen Kohlenstoff auf Platin-Substraten*

Zur Entwicklung einer Prozedur zur Beschichtung von Platin-Substraten mit porösen Kohlenstoffen wurde für erste Versuche nach einer von *Thomas Marks et al.* veröffentlichten Anleitung zur Herstellung von Elektroden zur Anwendung für Lithium-Ionen-Batterien vorgegangen.<sup>140</sup> Aufgrund der unterschiedlichen Anwendungsgebiete

wurde die Zusammensetzung der Elektrodenpaste stark angepasst. Auf ein für Elektroden in Lithium-Ionen-Batterien übliches aktives Speichermaterial für Lithium-Ionen, wie das in der zugrundeliegenden Veröffentlichung verwendete NMC (Lithium-Nickel-Mangan-Cobalt-Oxid), wurde komplett verzichtet. Als Kohlenstoff-Material wurde Aktivkohle statt Carbon Black verwendet. Die Gründe hierfür liegen in den in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen vergleichbaren Eigenschaften der Aktivkohle zu dem in dieser Arbeit synthetisierten nanoporösen Kohlenstoff CMK-3. Als Binder-Polymer wurde jedoch ebenfalls PVDF und ebenso als Lösungsmittel NMP verwendet. Die Vermischung der einzelnen Komponenten zur Elektrodenpaste erfolgte in einer identischen Prozedur. Statt auf einer Aluminium-Folie wurde diese Paste mit Hilfe der in 3.1.3 beschriebenen Halterung und eines 4-Schichtrakels auf die platin-beschichteten Silicium-Probenstücke aufgetragen.

Zu Beginn wurde untersucht, welche Spalthöhen des 4-Schichtrakels in dieser Anordnung verwendet werden können. Das verwendete 4-Schichtrakel bietet vier verschiedene festgelegte Spalthöhen (50, 100, 150 und 200  $\mu\text{m}$ ). In Abbildung 4.36 ist anhand fotografischer Aufnahmen dargestellt, wie sich die verschiedenen Spalthöhen des verwendeten Rakels bei gleicher Zusammensetzung der aufgetragenen Elektrodenpaste und identischen Trocknungsbedingungen auf die Qualität der hergestellten Filme aus Kohlenstoff auf den Platin-Substraten auswirken.

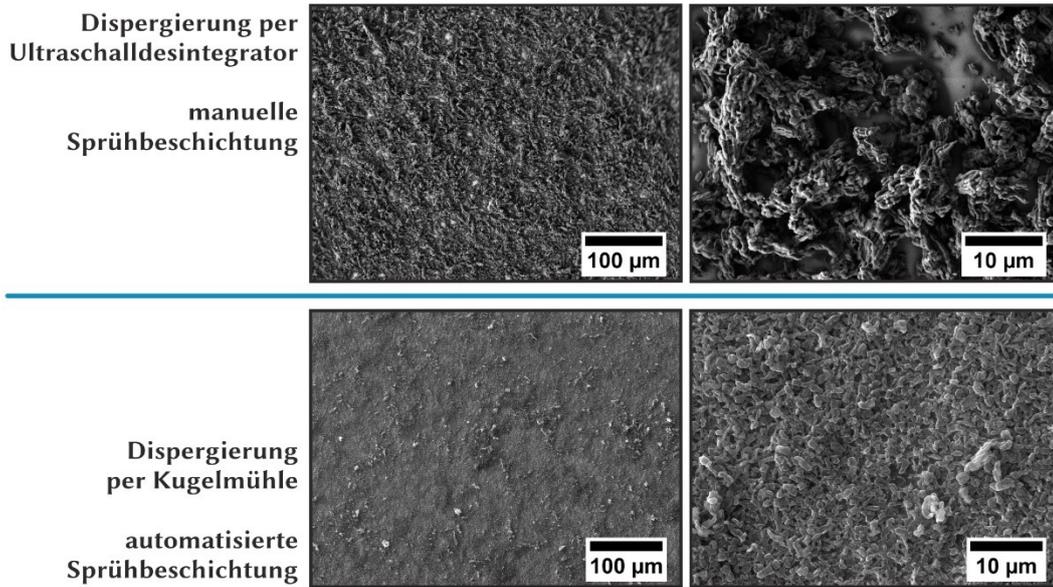


**Abbildung 4.36: Mit Aktivkohle als Kohlenstoff-Material und PVDF als Binder-Polymer beschichtete Filme, hergestellt per Rakelbeschichtung mit variierenden Spalthöhen.** Das verwendete 4-Schichtrakel bietet vier verschiedene festgelegte Spalthöhen (50, 100, 150 und 200  $\mu\text{m}$ ). Die Aufnahmen zeigen beschichtete Platin-Substrate mit von links nach rechts ansteigenden Spalthöhen des Rakels. Es wurde jeweils dieselbe Elektrodenpaste verwendet. Für 50  $\mu\text{m}$  Spalthöhe sind in der Beschichtung starke Riefen und Rillen sowie eine sehr inhomogene Bedeckung des Substrates zu erkennen, bei 100  $\mu\text{m}$  nur noch leichte Riefen. Ab der Spalthöhe von 150  $\mu\text{m}$  erscheint die Beschichtung homogen und gleichmäßig, wenn auch sehr rau. Zwischen 150 und 200  $\mu\text{m}$  sind optisch keine Unterschiede erkennbar.

Es zeigt sich, dass die Beschichtung bei der geringsten Spalthöhe von 50  $\mu\text{m}$  starke Riefen und Rillen sowie eine sehr inhomogene Bedeckung des Substrates aufweist. Bei 100  $\mu\text{m}$  sind zwar Riefen und Rillen weiterhin erkennbar, jedoch ist die Bedeckung des Substrates gleichmäßig. Bei der Verwendung der größten für dieses Rakel möglichen Spalthöhen von 150 und 200  $\mu\text{m}$  sind keine Rillen in der Beschichtung mehr erkennbar. Die Beschichtung wirkt auf den Aufnahmen sehr homogen über das gesamte Substrat verteilt, auch wenn sie sehr rau erscheint und große Partikel zu erkennen sind. Unterschiede zwischen den mit Spalthöhen von 150 und 200  $\mu\text{m}$  hergestellten Proben sind optisch nicht erkennbar.

In dieser hier verwendeten Anordnung bei der Herstellung der Filme per Rakelbeschichtung – 4-Schichtrakel, beschichtete Silicium-Wafer als Substrate und Aluminium-Platte als Halterung bzw. Untergrund – liefern somit die niedrigen Spalthöhen keine zufriedenstellenden Ergebnisse in Bezug auf die Qualität der Filme. Zum einen können Höhenunterschiede, Kratzer und Unebenheiten der Aluminium-Platte dafür verantwortlich sein. Zum anderen ist es möglich, dass die Aussparung in der Halterung nicht exakt die Tiefe hat, die nötig wäre, dass Substrat und Aluminium-Platte eine vollständige plane Fläche ohne Versatz bilden. Für geringere Spalthöhen wirkt sich dies jeweils stärker aus. Aus diesen Gründen wurden bei den weiteren Experimenten vornehmlich die größeren Spalthöhen verwendet.

Zur Herstellung der Elektrodenpasten und der wässrigen Dispersionen der nanoporösen Kohlenstoffe wurden unterschiedliche Methoden verwendet. In Abbildung 4.37 ist anhand rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen dargestellt, wie sich dies auf die Homogenität und Morphologie der Filme auswirkt.



**Abbildung 4.37:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zweier per Sprühbeschichtung auf Platin-Substraten hergestellter CMK-3-Chitosan-Filme in jeweils zwei Vergrößerungen. Die Filme wurden über unterschiedliche Methoden hergestellt. Die Komponenten wurden direkt mit Hilfe eines Ultraschalldesintegrators zur wässrigen Dispersion vermischt und per manueller Sprühbeschichtungen auf die Platin-Substrate aufgetragen (*oben*). Außerdem wurde in einer Kugelmühle eine Elektrodenpaste hergestellt und anschließend zur Dispersion verdünnt. Die Beschichtung erfolgte in diesem Fall per automatisiertem Sprühprozess.

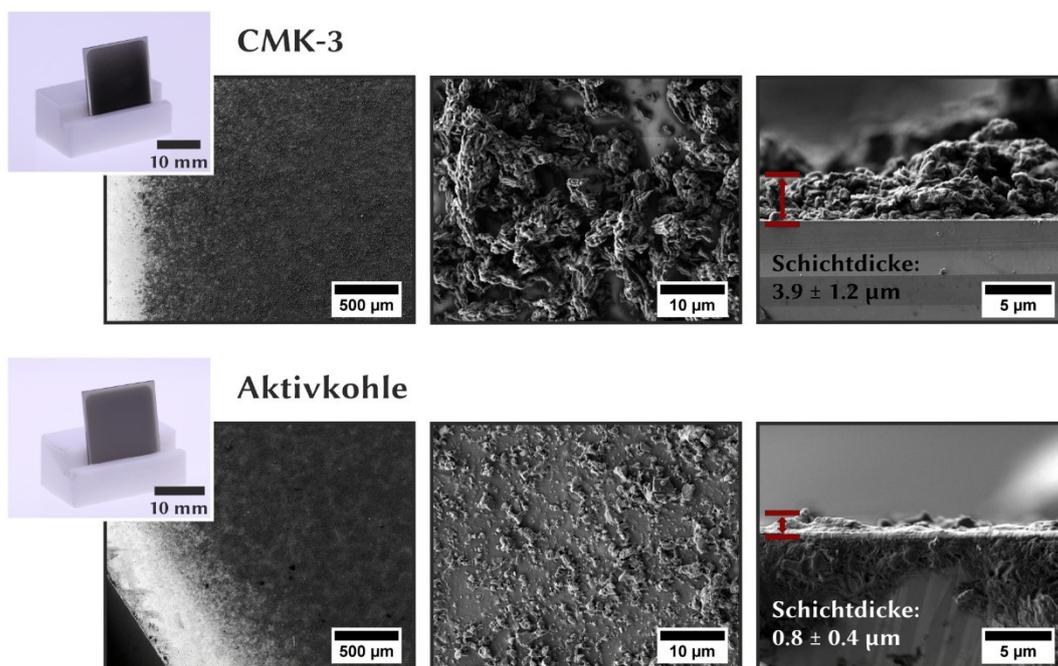
Eine Methode zur Herstellung der Dispersionen der nanoporösen Kohlenstoffe ist die Komponenten direkt mit Hilfe eines Ultraschalldesintegrators zu vermischen. Die Schichten, die so hergestellt wurden, zeigen eine raue Oberfläche und bestehen aus großen Partikeln. Bei höheren Vergrößerungen zeigt sich außerdem, dass Teile des Substrates nicht von Kohlenstoff bedeckt sind. Diese Bereiche haben die Größe von mehreren Quadratmikrometern. Wurde hingegen zuerst mit Hilfe der Kugelmühle aus den Komponenten eine Elektrodenpaste hergestellt und diese anschließend zur Dispersion verdünnt, sind die Filme homogener und weisen eine wesentlich geringere Rauheit auf. Die einzelnen Partikel des Kohlenstoffs, aus denen die Schicht aufgebaut ist, sind kleiner und gleichförmiger. Außerdem scheint die gesamte Fläche des Substrates vollständig homogen bedeckt zu sein.

Somit wurde im Folgenden die Methode über die Herstellung der Elektrodenpaste per Kugelmühle und anschließender Verdünnung zur Dispersion gewählt um die

Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 herzustellen, da so eine höhere Qualität und Homogenität der Filme erreicht werden konnte.

#### *Vergleich der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff mit Filmen aus Aktivkohle*

Aktivkohle wurde zum Vergleich als Referenzmaterial für einen porösen Kohlenstoff verwendet. Aus diesem Grund wurden ebenso Filme der Aktivkohle auf Platin-Substraten hergestellt und mit denen des CMK-3 verglichen. Trotz ähnlicher Eigenschaften des synthetisierten Kohlenstoffs CMK-3 und der verwendeten Aktivkohle (*siehe*: Unterkapitel *Vergleich des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 mit Aktivkohle* in 4.2.1) ergeben sich für die Filme deutliche Unterschiede.



**Abbildung 4.38:** Fotografische sowie rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines per manueller Sprühbeschichtung mit CMK-3-Chitosan und eines mit Aktivkohle-Chitosan beschichteten Platin-Substrates. Die fotografische Aufnahme liefert eine Übersicht über die gesamte Probe (*links oben*). Bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen sind zwei unterschiedliche Vergrößerungen dargestellt (*links und mittig*) sowie eine Querschnittsaufnahme eines Filmes (*rechts*), über welche die Dicke der Beschichtung aus Kohlenstoff bestimmt wurde.

In Abbildung 4.38 sind sowohl fotografische als auch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von jeweils einem mit dem synthetisierten nanoporösen Kohlenstoff CMK-3 und Aktivkohle beschichteten Platin-Substrat dargestellt. Die Filme wurden jeweils per manueller Sprühbeschichtung aufgebracht und die dafür verwendeten Kohlenstoff-Chitosan-Dispersionen wurden ebenfalls jeweils nach derselben Prozedur hergestellt.

In den fotografischen und den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen geringer Vergrößerung lassen sich kaum Unterschiede zwischen den CMK-3- und den Aktivkohle-Filmen erkennen. Die beschichteten Flächen sind in beiden Fällen homogen bedeckt. Bei größeren Vergrößerungen wirken die Schichten jeweils sehr rau und ungleichmäßig. In den höheren Vergrößerungen und vor allem in den Querschnittsaufnahmen werden die Unterschiede deutlich. Die Partikelgröße in den Schichten ist für die Aktivkohle deutlich geringer. Sie liegt größtenteils im Bereich von einem Mikrometer und darunter, wohingegen die Partikel des CMK-3 in diesem Fall im Größenbereich von 10  $\mu\text{m}$  liegen. Für die Filme des CMK-3 sind Teilflächen des Substrates nicht vollständig mit Kohlenstoff-Partikeln bedeckt. Bei der Aktivkohle sind große Flächen des Substrates nicht bedeckt. Es lässt sich nicht von einer durchgehenden Schicht sprechen, vielmehr sind nur vereinzelte Partikel der Aktivkohle auf der Oberfläche des Substrates verteilt. Diese Beobachtungen stimmen mit den Erkenntnissen aus den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Dispersionen überein (*siehe*: Unterkapitel *Wässrige Dispersionen der nanoporösen Kohlenstoffe und Aktivkohle* in 4.2.1). Die Schichtdicke ist aufgrund der vereinzelt Partikel und ihrer Größe ebenfalls im Bereich von einem Mikrometer. Für CMK-3 ist zwar ebenfalls keine einheitliche Schichtdicke erkennbar, jedoch liegt diese im Bereich von 4  $\mu\text{m}$ . Hier ergibt sich in den Querschnittsaufnahmen eine saubere Bruchkante, durch die sowohl Substrat als auch Kohlenstoff-Schicht gut erkennbar sind. Für den Aktivkohle-Film scheint die Beschichtung über die Kante zu fließen bzw. zu „quillen“. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um das als Binder verwendete Biopolymer Chitosan. Eine vergleichbare Beobachtung war bei allen weiteren Aufnahmen anderer Filme bisher optisch nicht erkennbar.

### *Filme aus nanoporösem Kohlenstoff mit verschiedenen Binder-Polymeren*

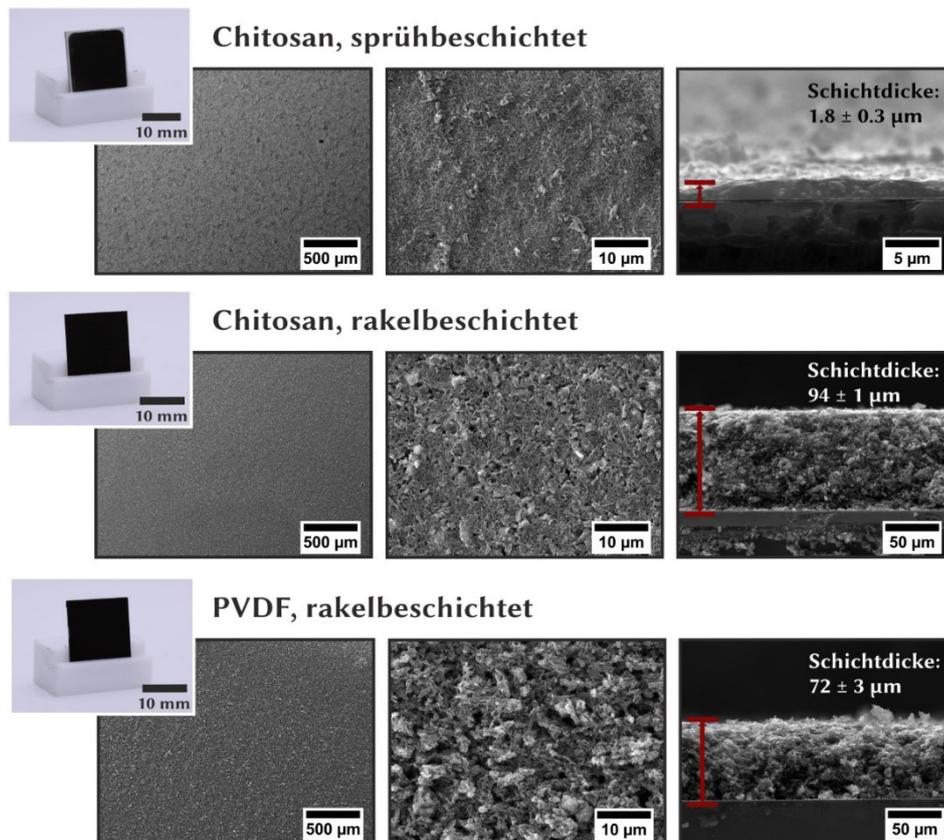
Neben den zwei unterschiedlichen Beschichtungsmethoden – Sprüh- und Rakelbeschichtung – wurde auch der Einfluss der Verwendung unterschiedlicher Binder-Polymeren in den Elektrodenpasten bzw. den Dispersionen des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auf die daraus hergestellten Filme untersucht. Dabei wurden unter anderem die zwei in wässrigen Lösungen löslichen Polymere Carboxymethylcellulose (CMC) und

Chitosan (Chit) sowie das nur in organischen Lösungsmitteln lösliche Polyvinylidenfluorid (PVDF) getestet. Der Einsatz von PVDF als Binder-Polymer in Elektrodenpasten zur Herstellung von Elektroden-Beschichtungen vor allem für die Verwendung in Batterien<sup>140,183</sup> oder Superkondensatoren<sup>184,185</sup> ist sowohl in der Forschung als auch in der kommerziellen Anwendung weit verbreitet. In fester Form wird PVDF unter anderem in den Biowissenschaften und in der Medizintechnik erfolgreich eingesetzt. Für den Einsatz in Elektrodenpasten ist jedoch der Einsatz von organischen Lösungsmitteln notwendig. Hier wird vor allem *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) verwendet. Dies ist ein Lösungsmittel, welches sowohl reizende Eigenschaften aufweist als auch als CMR-Gefahrstoff eingestuft ist. Daher gibt es immer mehr Bestrebungen umweltverträglichere Alternativen für den Einsatz von PVDF zu erforschen und zu etablieren. Wasserlösliche bzw. in wässrigen Medien lösliche Biopolymere wie Chitosan (Chit)<sup>130</sup> oder Carboxymethylcellulose (CMC)<sup>139,186</sup> sind dabei vielversprechende Kandidaten und wurden in den letzten Jahren bereits auf ihre Eignung zur Anwendung als Binder-Polymer in Elektroden von Batterien untersucht. Aus diesem Grund wurden diese beide Biopolymere zur Herstellung der Filme des nanoporösen Kohlenstoffs auf Platin-Substraten gewählt, um zu untersuchen, ob ein Einsatz der Polymere in neuronalen Elektroden ebenso möglich ist.

Die Filme der Carboxymethylcellulose zeigten jedoch erhebliche Probleme in ihrer Stabilität gegenüber Wasser. Schon das bloße Eintauchen der CMC-basierten CMK-3-Filme auf Edelmetall-Substraten führte zur sofortigen und vollständigen Auflösung der Schicht. Optimierungsversuche der Beschichtungs- sowie Trocknungs-Prozedur führten zu keiner relevanten Verbesserung der Stabilität. Diese Untersuchungen wurden unter anderem im Rahmen der Bachelorarbeit von *Felix Rieck genannt Best* durchgeführt.<sup>187</sup> Da eine Stabilität gegenüber Wasser elementar für eine mögliche spätere Anwendung aber auch für weitere Untersuchungen wie die elektrochemische Charakterisierung oder Zellkultur-Experimente ist, wurde im weiteren Verlauf dieser Arbeit auf die Verwendung der Carboxymethylcellulose als Binder-Polymer verzichtet. Ebenso wird an dieser Stelle auf eine ausführlichere Beschreibung bzw. Charakterisierung der Filme auf der Basis von CMC verzichtet. Der Fokus liegt vor allem auf Chitosan als vielversprechende, wasserlösliche Alternative zum ebenfalls verwendeten Binder-Polymer Polyvinylidenfluorid.

In Abbildung 4.39 sind jeweils die fotografischen als auch rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen eines sprühbeschichteten (*oben*) und eines rakelbeschichteten (*mittig*) CMK-3-Chitosan-Filmes sowie eines rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filmes (*unten*) dargestellt. Neben Aufsichts-Aufnahmen, um einen Eindruck von der Oberfläche der Beschichtung zu erhalten, wurden mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops

ebenfalls Querschnittsaufnahmen angefertigt. Mit diesen Aufnahmen konnten die Schichtdicke des jeweiligen Filmes bestimmt und weitere Informationen über den Aufbau und die Gestalt der Schicht erhalten werden.



**Abbildung 4.39: Fotografische sowie rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von drei unterschiedlichen CMK-3-Filmen auf Platin-Substraten.** Es sind ein sprühbeschichteter (*oben*) und ein rakelbeschichteter (*mittig*) CMK-3-Chitosan-Film sowie ein rakelbeschichteter CMK-3-PVDF-Film (*unten*) dargestellt. Die fotografische Aufnahme liefert jeweils eine Übersicht über die gesamte Probe (*links oben*). Bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen sind zwei unterschiedliche Vergrößerungen dargestellt (*links und mittig*) sowie eine Querschnittsaufnahme des Filmes (*rechts*), über welche die Dicke der Beschichtung aus Kohlenstoff bestimmt wurde.

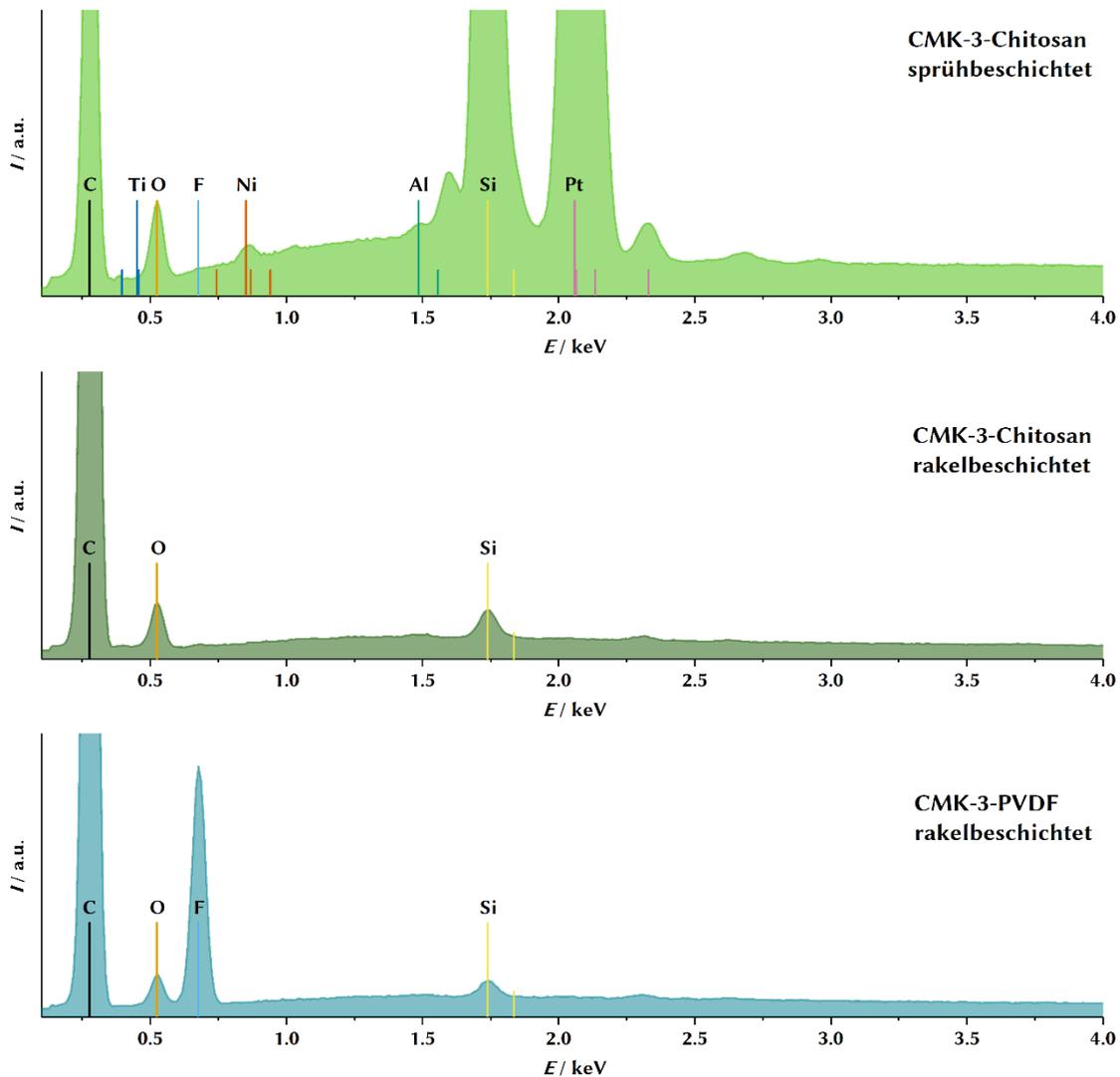
Die fotografischen Aufnahmen der Proben zeigen keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Filmen mit Ausnahme der an den Rändern des Substrates freiliegen-

den Platin-Oberfläche für den sprühbeschichteten Film. Diese werden durch den verwendeten Probenhalter hervorgerufen. Anhand der Aufnahmen nicht ersichtlich, aber bei Betrachtung der Proben sofort erkennbar, ist der deutliche Unterschied in den Schichtdicken. Dieser wird durch rasterelektronische Querschnittsaufnahmen bestätigt. Bei der Sprühbeschichtung wird eine Schichtdicke von gerade mal 2  $\mu\text{m}$  erreicht. Dabei ist zu bedenken, dass die Partikel der Dispersionen eine Größe im Bereich von 1  $\mu\text{m}$  aufweisen. Niedrigere Schichtdicken sind für homogen bedeckte Filme also in diesem Fall nicht realisierbar. Die rakelbeschichteten Filme hingegen weisen etwa 50-fach höhere Schichtdicken auf (94 bzw. 72  $\mu\text{m}$ ). In den Aufsichts-Aufnahmen geringer Vergrößerung ist für alle drei Filme eine sehr gute Homogenität erkennbar. Die Substrat-Oberflächen sind vollständig und gleichmäßig über beide Beschichtungsmethoden und ebenso über Verwendung zweier unterschiedlicher Binder-Polymere mit einer zusammenhängenden Schicht aus Partikeln des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 bedeckt worden. Die Oberflächen der Beschichtungen des sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes und des rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filmes scheinen auf diesen Aufnahmen rauer im Vergleich zu der des rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes. Die Aufnahmen höherer Vergrößerung bestätigen dies. Die Oberfläche beider CMK-3-Chitosan-Filme wirkt geschlossen, nur einzelne Partikel auf der Oberfläche sorgen für eine Rauheit. Für den sprühbeschichteten Film sind nahezu keine Löcher in der dichten Schicht erkennbar, für den rakelbeschichteten Film wenige. Im Gegensatz dazu erscheint die Oberfläche des rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filmes weder dicht noch geschlossen. Es sind klar einzelne Partikel und somit auch Löcher in der Schicht erkennbar. Inwieweit dieser Unterschied der Oberfläche der Filme durch das jeweilige verwendete Polymer verursacht wird oder ob möglicherweise die unterschiedlichen verwendeten Lösungsmittel in den Elektrodenpasten – Wasser und *N*-Methyl-2-pyrrolidon – dafür verantwortlich sind, kann an dieser Stelle nicht weitergehend aufgeklärt werden. Möglicherweise führt das unterschiedliche Trocknungs- bzw. Verdampfungsverhalten bei der Entfernung der Lösungsmittel während der Trocknung im Umluftofen zum teilweisen Aufbrechen der Schicht-Oberfläche. Aufgrund der Größenverhältnisse der Unebenheiten bzw. Löcher im Mikrometer-Bereich erscheint dies jedoch als unwahrscheinlich. Wahrscheinlicher ist die Annahme, dass die unterschiedlichen Eigenschaften der Polymere bzw. der Polymer-Lösungen während des Rakelbeschichtungs-Prozesses die Ausbildung einer ebenen, dichten Oberfläche der Beschichtung begünstigen bzw. behindern.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass sowohl über die beiden Beschichtungsmethoden – Sprüh- und Rakel-Beschichtung – als auch mit verschiedenen Binder-Polymeren – Chitosan und PVDF – homogene Schichten des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auf Platin-Substraten hergestellt werden konnten.

### *Elementzusammensetzung der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff*

Zur Ermittlung der Elementzusammensetzung der Beschichtungen des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 wurden die Filme mit Hilfe der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDXS) untersucht. Dies dient vor allem dazu mögliche Verunreinigungen in den Beschichtungen zu identifizieren. Dabei dient die EDX-Untersuchung des reinen CMK-3-Feststoffes als Vergleich (*siehe*: Abbildung 4.26), wodurch Aussagen darüber getroffen werden können, inwieweit sich die Zusammensetzung der CMK-3-Schichten von der des Feststoffes unterscheidet. In Abbildung 4.40 sind die EDX-Spektren für jeweils einen sprühbeschichteten und einen rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan-Film und einen rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Film dargestellt.



**Abbildung 4.40: Energiedispersive Röntgen-Spektren drei unterschiedlicher CMK-3-Filme auf Platin-Substraten.** Es sind die Spektren eines sprühbeschichteten (*oben in hellgrün*) und eines rakelbeschichteten (*mittig in dunkelgrün*) CMK-3-Chitosan-Filmes sowie eines rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filmes (*unten in blau*) dargestellt. Neben dem Kohlenstoff (*schwarz*) der Beschichtung konnten teilweise die Elemente Platin (*rosa*), Titan (*dunkelblau*) und Silicium (*gelb*) für das Substrat qualitativ nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden teilweise die Elemente Sauerstoff (*orange*), Fluor (*hellblau*), Nickel (*rot*) und Aluminium (*grün*) qualitativ nachgewiesen. Die charakteristischen Röntgen-Linien der Elemente sind in der jeweiligen Farbe markiert, die Linien der wichtigsten Übergänge sind besonders hervorgehoben.

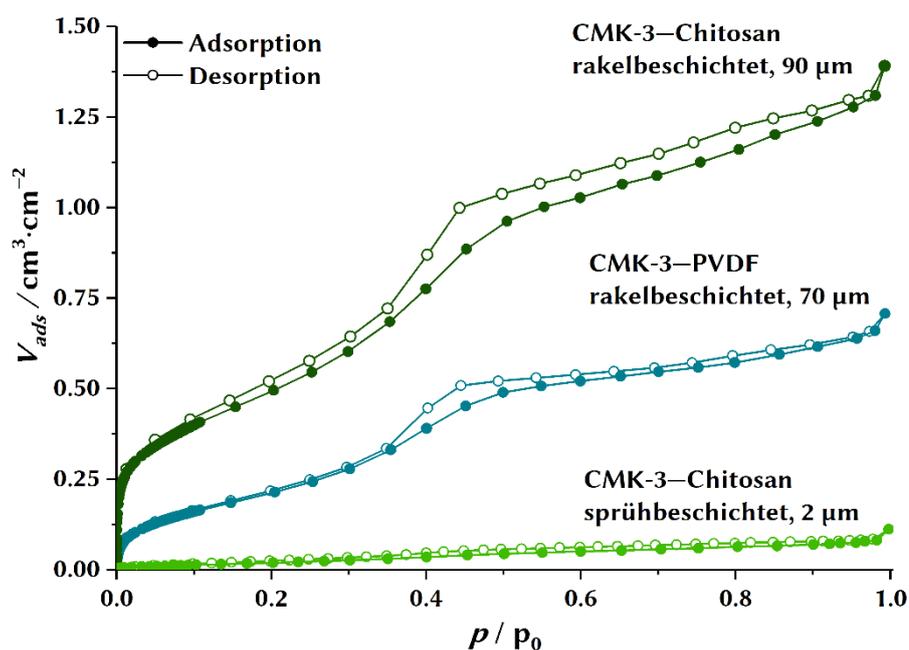
Für die Spektren der rakelbeschichteten CMK-3-Filme ließen sich vor allem die Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff und Silicium nachweisen. Sauerstoff und Silicium lässt sich, wie schon für die EDXS-Untersuchungen des reinen Feststoffes CMK-3 beschrieben, auf Templat-Rückstände oder nachträgliche Verunreinigungen zurückführen. Sauerstoff könnte auf einen gewissen Grad der Sauerstoff-Funktionalisierung des Kohlenstoffs hindeuten. Im Falle der CMK-3-Chitosan-Filme lässt sich der Sauerstoff-Anteil jedoch vor allem auf das verwendete Binder-Polymer Chitosan zurückführen. Ebenso verhält es sich für den hohen nachgewiesenen Fluor-Anteil für den CMK-3-PVDF-Film, welcher durch das Polymer PVDF in die Schichten eingebracht wird. Für den sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Film treten neben den bisher genannten Elementen auch Metalle der Nebengruppen sowie Aluminium auf, aber auch Silicium zeigt ein deutlich höheres Signal und hat damit einen höheren Anteil. Im Anhang in Abbildung 7.18 ist ein größerer Ausschnitt des Spektrums dargestellt, da für Teile dieser Elemente auch Signale bei höheren Energien auftreten. Sowohl Platin, Titan als auch der hohe Silicium-Anteil lassen sich eindeutig dem Substrat zuordnen. Das Substrat besteht aus Silicium und einer 100 nm dicken Schicht aus Platin. Zwischen diesen beiden Materialien wurde eine 5 nm dicke Haftschrift aus Titan aufgebracht. Durch die im Vergleich zu den rakelbeschichteten Filmen deutlich dünneren Schichten und der teilweise nicht vollständig beschichteten Oberfläche erhält man für die EDXS-Messungen Signale vom unter der Kohlenstoff-Beschichtung befindlichen Substrat. Geringe Nickel-Anteile sind vermutlich als typische Verunreinigung auf das Platin-Metall zurückzuführen. Nickel und Platin gehören beide zur Nickelgruppe, die teilweise auch als Platingruppe bezeichnet wird.

Somit konnte über die EDXS-Untersuchungen gezeigt werden, dass auch nach dem Prozess der Dispergierung des Kohlenstoffs und dem jeweiligen Beschichtungsprozess keine weiteren Verunreinigungen in die Schichten eingebracht wurden.

### *Oberflächeneigenschaften der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff*

Um die Oberfläche der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff CMK-3 zu charakterisieren wurden zu einer Sorptionsmessung durchgeführt, um die effektive Vergrößerung der Oberfläche der Filme durch die Beschichtung mit dem porösen Kohlenstoff-Material beurteilen zu können. Dies spielt im späteren Verlauf sowohl für die elektrischen Eigenschaften als auch für die Wechselwirkungen mit biologischen Systemen eine entscheidende Rolle. Des Weiteren können mit Hilfe dieser Messungen Aussagen über den Erhalt des Porensystems des CMK-3 in den Filmen getroffen werden. Zum anderen wurden die Benetzungseigenschaften der Filme über Kontaktwinkel-Messungen untersucht, um die Hydrophilie bzw. Hydrophobie der Oberflächen einschätzen zu können.

Analog zum CMK-3-Ausgangsmaterial und den Elektrodenpasten wurden ebenfalls Physisorptions-Untersuchungen beschichteter Filme mit Argon (87 K) als Adsorptiv durchgeführt. In Abbildung 4.41 sind die Isothermen von CMK-3-Filmen mit unterschiedlichen Binder-Polymeren und unterschiedlichen Schichtdicken dargestellt – jeweils von rakelbeschichteten Filmen mit Chitosan bzw. PVDF als Binder-Polymer und einer Schichtdicke von etwa 90  $\mu\text{m}$  bzw. 70  $\mu\text{m}$  sowie von sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmen mit etwa 2  $\mu\text{m}$  Schichtdicke.

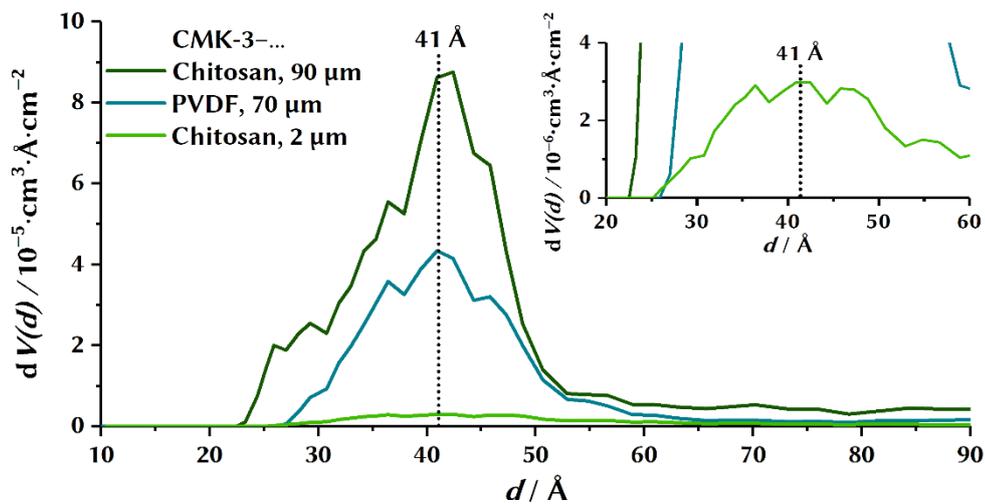


**Abbildung 4.41: Argon-(87 K)-Physisorptions-Isothermen der CMK-3-Filme auf Platin mit verschiedenen Binder-Polymeren und Schichtdicken.** Es sind die Isothermen sprühbeschichteter (2  $\mu\text{m}$ , hellgrün) und rakelbeschichteter (90  $\mu\text{m}$ , dunkelgrün) CMK-3-Chitosan-Filme sowie rakelbeschichteter CMK-3-PVDF-Filme (70  $\mu\text{m}$ , blau) dargestellt. Für die Messungen wurden jeweils zehn beschichtete Substrate verwendet. Es ist jeweils die Adsorption (ausgefüllte Kreise) und die Desorption (nicht ausgefüllte Kreise) dargestellt.

Die Isothermen weisen augenscheinlich deutliche Unterschiede in den jeweiligen adsorbierten Volumina auf. Dies ist zum einen auf die großen Unterschiede in den Schichtdicken zurückzuführen. Besonders deutlich wird dies im Vergleich der rakel- und der sprühbeschichteten Filme (90 zu 2  $\mu\text{m}$ ). Dementsprechend ist erheblich weniger poröses Material auf der Oberfläche der Filme vorhanden. Zum anderen wird analog zu

den Ergebnissen der Physisorptions-Untersuchungen für die Elektrodenpasten klar, dass der Einfluss des Binder-Polymer PVDF auf die spezifische Oberfläche des CMK-3 wesentlich größer ist als der des Chitosans. Somit werden aufgrund der geringeren Oberfläche bei nur geringem Unterschied der Schichtdicken (90 zu 70  $\mu\text{m}$ ) kleinere Mengen Argon adsorbiert. Der Verlauf der Isothermen ist jeweils ähnlich und entspricht damit ebenso dem bereits beschriebenen Verlauf der Isothermen des reinen CMK-3 und der getrockneten Elektrodenpasten.

Eine übliche Methode zur Bestimmung geringer Oberflächen und der Oberfläche von Filmen mittels Physisorption ist Verwendung von Krypton als Adsorptiv.<sup>188</sup> Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Untersuchung der kohlenstoff-basierten Beschichtungen bewusst Argon bei einer Temperatur von 87 K als Adsorptiv verwendet. Ein Vorteil der Sorptionsmessungen der Filme mit Argon bei 87 K gegenüber den Messungen mit Krypton ist die Möglichkeit der Untersuchung der Porendurchmesser über die DFT-Methode.<sup>189–191</sup> Für die drei unterschiedlichen Filme wurden jeweils die Porenweitenverteilungen nach dieser Methode berechnet, welche in Abbildung 4.42 dargestellt sind.



**Abbildung 4.42:** Nach der DFT-Methode berechnete Porenweitenverteilungen der CMK-3-Filme auf Platin mit verschiedenen Binder-Polymeren und Schichtdicken. Es sind die Verteilungen sprühbeschichteter (2  $\mu\text{m}$ , hellgrün) und rakelbeschichteter (30  $\mu\text{m}$ , dunkelgrün) CMK-3-Chitosan-Filme und rakelbeschichteter CMK-3-PVDF-Filme (30  $\mu\text{m}$ , blau) dargestellt. Des Weiteren ist ein vergrößerter Ausschnitt der Verteilung dargestellt (rechts oben). Die jeweiligen DFT-Fits sowie die verwendeten Kernels zur Berechnung sind im Anhang in Abbildung 7.15 bis Abbildung 7.17 zu finden.

In den Porenverteilungen der Filme beider Binder-Polymere und der verschiedenen Schichtdicken zeigt sich jeweils ein Maximum bei einem Porendurchmesser von 41 Å bzw. 4.1 nm. Dies stimmt exakt mit den Werten überein, die aus den Porenweitenverteilungen anhand der Argon-(87 K)-Isothermen des reinen CMK-3 und der getrockneten Chitosan- bzw. PVDF-Elektrodenpasten ermittelt wurden. Selbst bei den nur 2 µm-dicken, per Sprühbeschichtung hergestellten CMK-3-Chitosan-Filmen ist in der Vergrößerung ein Maximum für diesen Porendurchmesser erkennbar. Durch die geringen Mengen an adsorbierten Argon-Volumina auf der Oberfläche der Filme ist es jedoch deutlich weniger ausgeprägt im Vergleich zu den beiden wesentlich dickeren Schichten der Rakelbeschichtung. Das für den reinen CMK-3 und die Chitosan-Elektrodenpaste weitere beobachtete Maximum im Bereich der Mikroporen bei etwa 10 Å bzw. 10 nm kann bei den Filmen nicht beobachtet werden, was auf die geringen adsorbierten Volumina zurückgeführt werden kann. Anhand dieser Physisorptions-Untersuchungen konnte jedoch nicht nur nachgewiesen werden, dass das mesoporöse Porensystem des CMK-3 selbst in den Filmen erhalten bleibt, sondern auch, dass die Poren weiterhin zugänglich sind und somit die Eigenschaften der Beschichtungen in der Anwendung maßgeblich beeinflussen können.

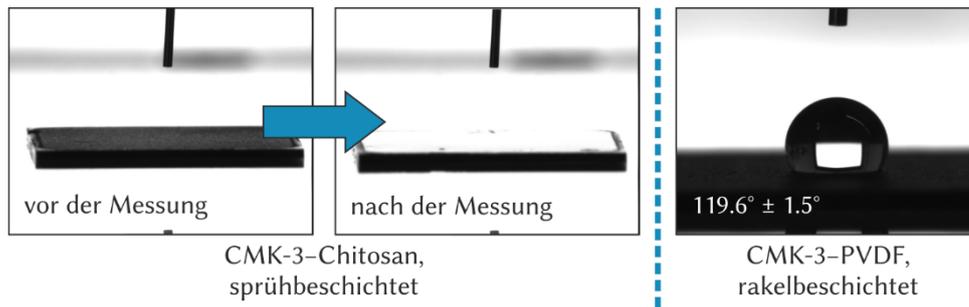
Zusätzlich zu der Darstellung der Isothermen und Porenweitenverteilungen sind in Tabelle 4.12 sowohl die über die Isothermen ermittelten BET-Oberflächen und Porenvolumina als auch die bereits beschriebenen, über die DFT-Berechnungen bestimmten Porenweiten der CMK-3-Filme aufgelistet.

**Tabelle 4.12:** Ergebnisse der Auswertung der Argon-(87 K)-Physisorptions-Untersuchungen für die CMK-3-Filme auf Platin mit verschiedenen Binder-Polymeren und Schichtdicken. Die *Multi-Point*-BET-Plots und die DFT-Fits sowie weitere Parameter, die zur Berechnung dieser Werte verwendet wurden, sind im Anhang in Abbildung 7.15 bis Abbildung 7.17 zu finden.

Binder-Polymer	Schichtdicke / $\mu\text{m}$	BET-Oberfläche / $\text{m}^2 \cdot \text{cm}^{-2}$	Porenvolumen / $\text{nL} \cdot \text{cm}^{-2}$	Porenweite / $\text{Å}$
Chitosan	90	16970	1667	42
PVDF	70	7830	840	41
Chitosan	2	940	127	41

Die Werte für die BET-Oberflächen bestätigen die bereits anhand der Isothermen gezogenen Schlussfolgerungen. Die ermittelten Werte der Porenvolumina für die verschiedenen Filme verhalten sich im Vergleich analog zu den Werten der BET-Oberflächen. Es konnte also mit Hilfe der Sorptionsuntersuchungen der CMK-3-Filme mit Argon als Adsorptiv gezeigt werden, dass sich die BET-Oberfläche mit steigender Schichtdicke deutlich erhöht. Auch bei sehr dicken Filmen ist das Porensystem weiterhin zugänglich. Außerdem wird die Porenweite des CMK-3 sowohl durch den Einsatz eines Binder-Polymeren als auch die Filmbildung nicht beeinflusst. Die Untersuchungen der Filme lieferten zu denen des reinen nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 analoge Porenweiten. Diese Beobachtungen gelten sowohl für das Polymer Chitosan als auch für PVDF.

Zur Charakterisierung der Benetzungseigenschaften der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff mit den zwei verschiedenen Binder-Polymeren, Chitosan und PVDF, wurden Kontaktwinkel-Messungen durchgeführt. In Abbildung 4.43 sind die Aufnahmen dieser Messungen dargestellt.



**Abbildung 4.43: Kontaktwinkelmessungen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff CMK-3 mit unterschiedlichen Binder-Polymeren: Chitosan und PVDF.** Das Binder-Polymer Chitosan führt in den Kohlenstoff-Filmen zur vollständigen Benetzung der Oberfläche durch den bei der Messung eingesetzten Wassertropfen. Die Bestimmung eines Kontaktwinkels ist nicht möglich, die Oberfläche weist eine hohe Hydrophilie auf. PVDF hingegen führt zu einem sehr hydrophoben Kohlenstoff-Film, der Kontaktwinkel liegt hier bei ca.  $120^\circ$ .

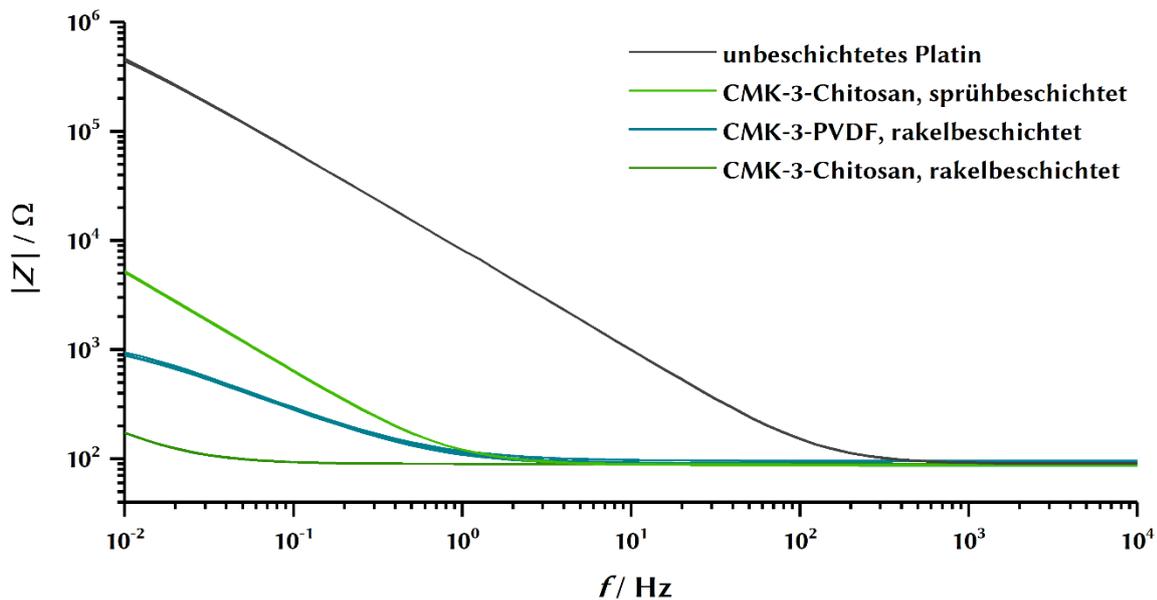
Wie erwartet, weisen die Filme, bei denen Chitosan als Binder-Polymer eingesetzt wurde, hydrophile Eigenschaften auf.<sup>192</sup> Ein Kontaktwinkel, um das Ausmaß der Hydrophilie zu bewerten, ließ sich jedoch für diese Filme nicht bestimmen. Der zur Messung des Kontaktwinkels eingesetzte Wassertropfen wurde nach Kontakt mit dem Film sofort in die Beschichtung eingesogen und verteilte sich über die gesamte beschichtete Fläche. Dies lässt sich an den Aufnahmen dieser Proben nach der Messung erkennen. Hier wird auch deutlich, dass ausschließlich die beschichtete Fläche der Probe durch das Wasser benetzt wird. Die unbeschichteten Ränder der Probe, an denen die reine Platin-Oberfläche freiliegt, ist nicht durch das Wasser des Tropfens bedeckt. Da kein Tropfen mehr auf der Oberfläche zu erkennen ist, lässt sich kein Wert für einen Kontaktwinkel bestimmen. Der hergestellte Film ist damit als stark hydrophil zu charakterisieren. Die Beobachtungen lassen sich jedoch nicht nur primär mit den hydrophilen Eigenschaften der Filme erklären, sondern vor allem durch die Kapillarkräfte, die durch das poröse System des Kohlenstoffs wirken, wodurch das Wasser in die Schicht gesogen wird. Für die Beschichtungen mit PVDF konnten über die Bestimmung des Kontaktwinkels des Wassertropfens auf der Oberfläche der Filme (*siehe*: Abbildung 4.43 *rechts*) die hydrophoben Eigenschaften nachgewiesen werden.<sup>193</sup> Der Mittelwert des Kontaktwinkels liegt für fünf verschiedene Messungen bei ca.  $120^\circ$ . Ein Einsaugen des Tropfes in die Beschichtung lässt sich für diese Proben nicht beobachten. Die Filme des nanoporösen Kohlenstoff CMK-3 auf Platin unterscheiden sich demnach stark in ihren Benetzungsei-

genschaften aufgrund der Verwendung der zwei verschiedenen Binder-Polymere, Chitosan und PVDF. Sowohl die Untersuchungen zu den elektrischen Eigenschaften als auch die biologischen Tests wurden in wässrigen Medien durchgeführt. Somit können diese Unterschiede in der Hydrophilie der Filme unter Umständen eine entscheidende Rolle spielen. Aufgrund der hydrophoben Eigenschaften der PVDF-basierten Filme ist möglicherweise nicht die gesamte Oberfläche der Beschichtungen in wässrigen Medien zugänglich und es ergeben sich dadurch Einflüsse auf die Untersuchungen.<sup>184</sup>

### *Elektrische Eigenschaften der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff*

Der Einsatz von porösen Kohlenstoffen bzw. poröser Kohlenstoff-Materialien im Allgemeinen als Elektroden-Material oder -Beschichtung ist für Batterie-Anwendungen<sup>132,194</sup> und Superkondensatoren<sup>128,185</sup> weit verbreitet. Eine Anwendung poröser Kohlenstoffe in Elektroden für Neuralprothesen wurde in der Literatur selten beschrieben. Hier standen im Bereich der Kohlenstoff-Materialien vor allem Kohlenstoff-Nanoröhren<sup>11,195</sup> oder aber auch Graphen<sup>196,197</sup> im Fokus. Im Rahmen dieser Arbeit wurden aus diesem Grund ebenso die elektrischen Eigenschaften der CMK-3-basierten Filme untersucht, um zu überprüfen, ob ein Einsatz in neuronalen Implantaten denkbar wäre.

Analog zur Untersuchung der elektrischen Eigenschaften der CNT-Filme (*siehe*: Unterkapitel *Elektrische Eigenschaften der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren* in 4.1.2) wurden die Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auf den Platin-Substraten mit Hilfe der Impedanzspektroskopie untersucht. In Abbildung 4.44 sind die frequenzabhängigen Verläufe des Betrags der Impedanz  $|Z|$  dieser Messungen dargestellt. Sie zeigen dieselben Charakteristika wie schon die Messungen der CNT-Filme. Es ist sowohl der typische Anstieg der Impedanz im Bereich niedriger Frequenzen als auch der konstante und für alle Messungen nahezu gleiche Verlauf der Impedanz für höhere Frequenzen zu beobachten. Dieser konstante Verlauf lässt sich auch in diesem Fall auf den unkompenzierten Widerstand des Elektrolyts zurückführen.<sup>167</sup> Dementsprechend zeigen auch die CMK-3-Beschichtungen eine Verringerung der Impedanz gegenüber den blanken, unbeschichteten Platin-Elektroden im Bereich niedriger Frequenzen (unter  $10^2$  Hz). Zeigten sich für die CNT-Filme abnehmende Impedanzen von etwa einer Größenordnung, sind für die CMK-3-Filme Verringerungen von zwei bis zu drei Größenordnungen zu beobachten.



**Abbildung 4.44: Impedanzspektroskopische Messungen von drei unterschiedlichen CMK-3-Filmen im Vergleich mit der Messung eines unbeschichteten Platin-Substrates.** Es sind je drei Messungen eines sprühbeschichteten (*hellgrün*) sowie eines rakelbeschichteten (*dunkelgrün*) CMK-3-Chitosan-Filmes und eines rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filmes (*blau*) im Vergleich mit einem unbeschichteten Platin-Substrat (*grau*) dargestellt.

Der Grad der Verringerung der Impedanz gegenüber der unbeschichteten Platin-Elektrode nimmt mit steigender Schichtdicke zu. Wobei sich zusätzlich auch der konstant verlaufende Bereich der Kurve im Bereich hoher Frequenzen ausdehnt. Für die unbeschichtete Platin-Elektrode liegt dieser Bereich etwa bei Frequenzen  $> 10^3$  Hz. Für den sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Film und den rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Film erfolgt ein Anstieg des Betrags der Impedanz zwischen  $10^0$  und  $10^1$  Hz; beim rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan-Film hingegen erst für Frequenzen  $< 10^{-1}$  Hz. Sowohl diese Beobachtung als auch die Verringerung des Betrags der Impedanz lässt sich auf die Erhöhung der Oberfläche der Elektrode durch die Beschichtung mit nanoporösem Kohlenstoff zurückführen. Dies steht im Einklang mit den Physisorptions-Untersuchungen zur Bestimmung der Oberfläche der CMK-3 Filme im vorherigen Unterkapitel.

Zur Quantifizierung der Impedanz-Verringerung bzw. der damit einhergehenden Erhöhung der Kapazität durch die Beschichtung der Elektroden mit nanoporösem Kohlenstoff wurden die Messungen, ebenfalls analog zur Auswertung für die CNT-Filme, über das Modell eines Ersatzschaltbildes beschrieben. Dabei fand das bereits für die

CNT-Filme verwendete Modell einer R-CPE-Reihenschaltung Anwendung (*siehe*: Abbildung 4.13) und bildete die Grundlage für die Kurvenanpassung, woraus anschließend die Berechnung der in Tabelle 4.13 aufgelisteten normierten Kapazitäten für die unbeschichtete und die mit CMK-3 beschichteten Elektroden erfolgen konnte. Ebenfalls berechnet wurden der elektrische Widerstand  $R$  für die gegebene Messanordnung sowie der Exponent  $\alpha$  als Maß der Abweichung vom Modell eines idealen, planaren Kondensators.

**Tabelle 4.13: Berechnete Werte für Widerstände und Kapazitäten der hergestellten CMK-3-Filme und von unbeschichtetem Platin.**  $\alpha$  ist ein Exponent, um Inhomogenitäten des Systems zu kompensieren, die z. B. durch die Doppelschicht-Kapazitäten von porösen oder rauen Oberflächen verursacht werden können (*siehe*: 3.2.9). Die dargestellten Werte stellen den Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler für die Berechnungen von je drei unabhängigen Messungen einer Probe dar.

	unbeschichtetes Platin	Chitosan sprühbeschichtet	PVDF rakelbeschichtet	
<b>Elektrischer Widerstand / <math>\Omega</math></b>	$89.9 \pm 0.2$	$87.0 \pm 0.5$	$89.6 \pm 0.3$	$86.9 \pm 0.6$
<b>Normierte Kapazität / <math>\mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}</math></b>	$27.48 \pm 0.02$	$3004 \pm 48$	$313549 \pm 39178$	$7017 \pm 179$
<b>Exponent <math>\alpha</math> / -</b>	$0.93 \pm 0.00$	$0.94 \pm 0.00$	$0.56 \pm 0.06$	$0.79 \pm 0.00$

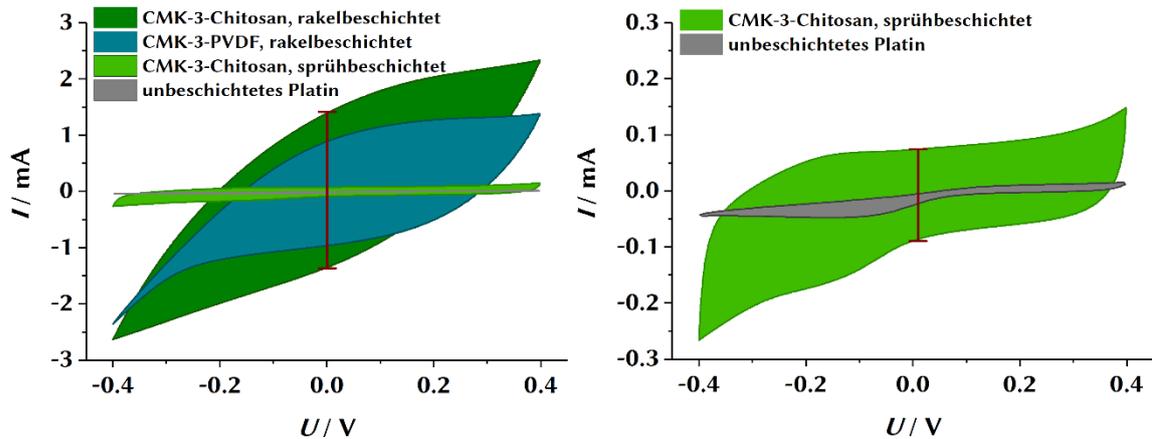
Die berechneten elektrischen Widerstände sind für alle vier Elektroden nahezu gleich. Dieser hängt ausschließlich von der verwendeten Messanordnung (Abstand und Art der Mess-Elektroden, der verwendeten Elektrolyt-Lösung sowie deren Volumen, effektive Fläche der Proben-Elektrode) ab, welche für diese Messungen jeweils identisch gewählt wurde. In den impedanzspektroskopischen Messungen stellt sich dieser Wert als konstant verlaufender Teil der jeweiligen Kurve dar. Die ebenfalls berechnete normierte Kapazität und der Exponent  $\alpha$  hingegen sind für die gemessenen Elektroden und damit die Beschichtungen spezifisch. Die Werte für die Kapazität untermauern deutlich die bereits anhand des Verlaufes der Messkurven getroffenen Aussagen. Über die Erhöhung der Oberfläche der Elektroden durch die CMK-3-Beschichtungen konnte die Kapazität enorm gesteigert werden. Weist die unbeschichtete Platin-Elektrode eine Kapazität von  $27.48 \mu\text{F}$  bzw.  $0.027 \text{ mF}$  auf, führt bereits der etwa  $2 \mu\text{m}$  dicke sprühbeschichtete

CMK-3–Chitosan-Film zu einer um eine Größenordnung höheren Kapazität von 3 mF. Wobei die Kapazität für die rakelbeschichteten Filme mit 7 mF für den CMK-3–PVDF-Film und sogar 313 mF für den CMK-3–Chitosan durch dickere Beschichtungen noch weiter gesteigert werden konnte.

Die Entwicklung der Werte für den Exponent  $\alpha$  aus der Formel (5) (*siehe*: 3.2.9), welche das Verhalten des CPE-Elements beschreibt, zeigen außerdem, inwieweit das elektrochemische Verhalten der Elektroden von dem eines idealen, planaren Plattenkondensators abweicht. Zeigen das unbeschichtete Platin und der sprühbeschichtete CMK-3–Chitosan Film mit 0.93 bzw. 0.94 noch ein Verhalten, das dem eines idealen Kondensators ( $\alpha = 1$ ) sehr ähnlich ist, weisen die rakelbeschichteten Filme mit 0.79 für den CMK-3–PVDF-Film und 0.56 für den CMK-3–Chitosan Werte auf, die durch die Unebenheiten auf der Oberfläche der Elektrode bzw. das poröse System der Kohlenstoff-Beschichtung zu einer deutlichen Abweichung vom Verhalten eines idealen Kondensators führen.

Des Weiteren zeigen diese Messungen, dass es sowohl zu einer leitenden Verbindung zwischen dem Platin-Substrat und der Kohlenstoff-Beschichtung gekommen ist, als auch, dass die Verwendung der Binder-Polymere in den Elektrodenpasten bzw. Dispersionen nicht zu einer Beeinträchtigung der Leitfähigkeit der Beschichtung geführt hat.

Neben den impedanzspektroskopischen Messungen wurden die Filme der nanoporösen Kohlenstoffe mit Hilfe der Cyclovoltammetrie untersucht. Im Gegensatz zu der Impedanzspektroskopie werden bei dieser Messmethode deutlich höhere Spannungen angelegt bzw. ein festgelegter Spannungsbereich mehrmals zyklisch abgefahren. Cyclovoltammetrie bietet dadurch die Möglichkeit elektrolytische Reaktionen im gewählten Spannungsbereich zu identifizieren und idealerweise auch die Normalpotentiale dieser Reaktionen zu quantifizieren.<sup>154</sup> In Abbildung 4.45 sind die Cyclovoltammogramme der drei unterschiedlichen CMK-3-Filme im Vergleich mit einem unbeschichteten Platin-Substrat dargestellt. Die Messungen wurden im Spannungsbereich von  $-0.4$  bis  $+0.4$  V bei einer Scan-Rate von  $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  durchgeführt. Dieser Bereich wurde zum einen gewählt, um sowohl eine Sauerstoff- als auch eine Wasserstoff-Entwicklung zu vermeiden, und zum anderen, um eine Überlast am Potentiostaten zu verhindern.



**Abbildung 4.45: Cyclovoltammogramme von drei unterschiedlichen CMK-3-Filmen im Vergleich mit der Messung eines unbeschichteten Platin-Substrates.** Es sind jeweils der fünfte Messzyklus eines sprühbeschichteten (*hellgrün*) und eines rakelbeschichteten (*dunkelgrün*) CMK-3-Chitosan-Filmes und eines rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filmes (*blau*) im Vergleich mit einem unbeschichteten Platin-Substrat (*grau*) dargestellt. Gemessen wurden jeweils fünf Zyklen im Spannungsbereich von  $-0.4$  bis  $0.4$  V bei einer Scan-Rate von  $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Zur besseren Erkennbarkeit der Messungen des sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes und des unbeschichteten Platin-Substrates ist ein vergrößerter Ausschnitt der Stromstärke dargestellt (*rechts*). Die Differenzen der Stromstärken zwischen positivem und negativem Potentialzyklus bei einer Spannung von  $0$  V sind durch die rote Stufe gekennzeichnet.

In der Übersicht aller vier Messungen (*links*) sind die Unterschiede zwischen Messungen der verschiedenen Filme deutlich erkennbar. Zur besseren Erkennbarkeit sind die Messungen des sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes und des unbeschichteten Platin-Substrates gesondert mit einem vergrößerten Ausschnitt des Stromstärke-Bereichs dargestellt (*rechts*). Das Cyclovoltammogramm des rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes erstreckt sich über einen Stromstärke-Bereich von etwa  $5 \text{ mA}$  ( $-2.5$  bis  $2.3 \text{ mA}$ ), während die Messung des unbeschichteten Platin-Substrates gerade mal einen Bereich von ca.  $0.07 \text{ mA}$  ( $-0.06$  bis  $0.01 \text{ mA}$ ) abdeckt. Mit einer roten Stufe ist in beiden Diagrammen die Differenz der Stromstärke für eine Spannung von  $0$  V gekennzeichnet, mit der sich über Formel (5) die Doppelschichtkapazität  $C_D$  bestimmen lässt. Die entsprechenden, berechneten Werte sind in Tabelle 4.14 aufgelistet. Sowohl die Differenzen der Stromstärken für eine Spannung von  $0$  V als auch die Stromstärke-Bereiche der gesamten Messungen nehmen mit steigender Schichtdicke bzw. zunehmender Oberfläche der Elektroden zu. Dementsprechend verhalten sich die durch den positiven und negativen Pfad des jeweiligen Zyklus eingeschlossenen Flächen in den Mes-

sungen (*siehe*: Tabelle 4.14) analog. Die Formen der Messungen lassen sich als blattförmig beschreiben. Daraus und durch die Abwesenheit von Peaks in den Messungen wird deutlich, dass es zu keinen elektrolytischen Reaktionen im betrachteten Spannungsbereich kommt. Es findet somit keine Elektrolyse der verwendeten Elektrolyt-Lösung (0.85%ige NaCl-Lösung) statt und ebenso kommt es zu keinen Zersetzungsreaktionen der Beschichtungen. Die CMK-3-Filme und das unbeschichtete Platin verhalten sich in dieser Umgebung somit inert und die Beschichtungen sind unter den gegebenen Bedingungen stabil. Dies ist beides Voraussetzung für eine angedachte Anwendung als Beschichtung neuronaler Elektroden.

**Tabelle 4.14:** Anhand der Cyclovoltammogramme ermittelte normierte Doppelschicht-Kapazitäten  $C_D$  sowie Auflistung der durch die Messkurven eingeschlossenen Flächen und maximale Stromstärke-Spannen der jeweiligen Messungen. Die Kapazitäten wurden über die Differenzen der Stromstärken zwischen positivem und negativem Potentialzyklus der jeweiligen Messungen bei einer Spannung von 0 V berechnet. Es ist jeweils der Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler aus den gemessenen fünf Zyklen dargestellt.

	unbeschichtetes Platin	Chitosan sprühbeschichtet	PVDF raketbeschichtet
<b>Normierte Doppelschicht-Kapazität <math>C_D</math> / <math>\text{mF}\cdot\text{cm}^{-2}</math></b>	$0.8 \pm 0.4$	$4.2 \pm 0.2$	$88.3 \pm 1.9$
<b>Eingeschlossene Fläche / <math>\text{mC}</math></b>	$2.0 \pm 0.5$	$8.2 \pm 0.7$	$117.1 \pm 1.6$
<b>Stromstärke Spanne / <math>\text{mA}</math></b>	$0.07 \pm 0.02$	$0.46 \pm 0.04$	$5.01 \pm 0.06$

Sowohl die dargestellten Cyclovoltammogramme als auch die daraus ermittelten Werte zeigen deutlich, dass mit der über die Beschichtung mit nanoporösem Kohlenstoff einhergehenden Vergrößerung der Oberfläche der Elektroden die Doppelschicht-Kapazität deutlich erhöht wurde.

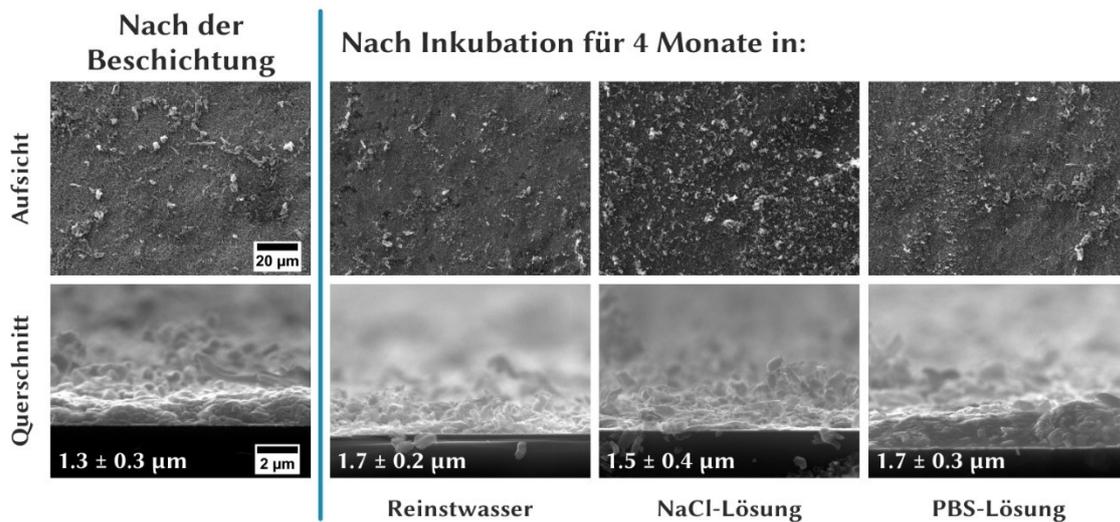
Die Ergebnisse und Auswertungen der impedanzspektroskopischen und cyclovoltammetrischen Messungen stehen in guter Übereinstimmung mit ähnlich gearteten Messungen der Forschergruppe um *Offenhäuser* aus Jülich von 2008. Hier wurde die

Oberfläche von Gold-Elektroden durch das Aufbringen nanoskaliger Gold-Säulen deutlich erhöht und es konnten vergleichbare Beobachtungen für die elektrochemische Charakterisierung gemacht werden.<sup>167,170</sup>

### *Stabilitätsuntersuchungen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff*

Wie schon im Unterkapitel *Stabilität der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren* des Abschnittes 4.1.2 zur Charakterisierung der CNT-Filme beschrieben wurde, ist die Stabilität der in dieser Arbeit hergestellten Filme, sowohl mechanisch als auch gegenüber Flüssigkeiten und Lösungen, ein entscheidendes Kriterium für eine mögliche Anwendung in neuronalen Implantaten. Analog zur Charakterisierung der CNT-Filme wurden die Filme von CMK-3 auf Platin hinsichtlich ihrer Stabilität untersucht.

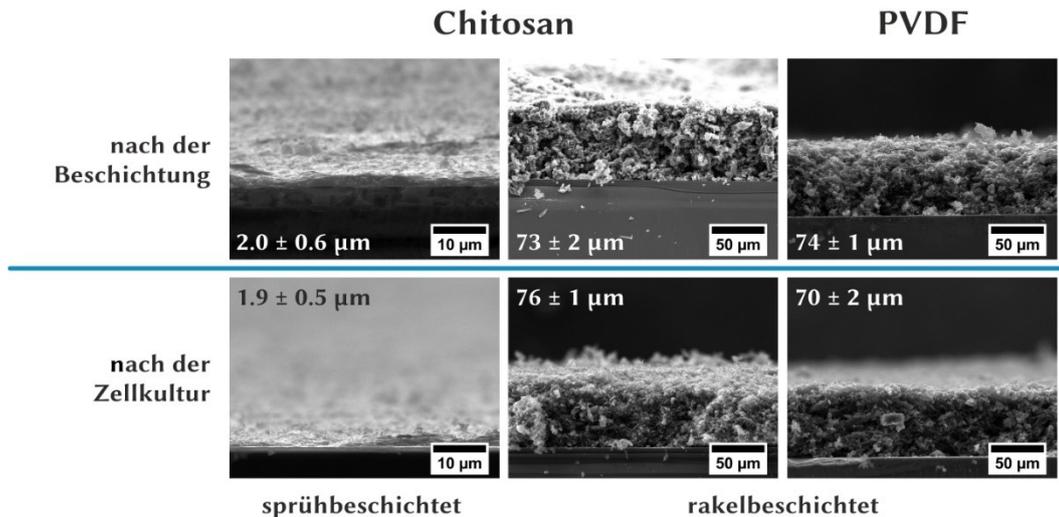
Die sprühbeschichteten CMK-3–Chitosan-Filme wurden zu diesem Zweck über eine Woche bzw. vier Monate in drei verschiedenen wässrigen Lösungen (Reinstwasser, Natriumchlorid-Lösung und phosphatgepufferte Salzlösung) gelagert. Die Proben wurden während dieser Zeit in einer Teflon-Halterung aufrechtstehend fixiert und die Lösungen über die gesamte Zeit bei Raumtemperatur gerührt. Vor und nach der Inkubation wurden rasterelektronenmikroskopische Aufsicht- und Querschnittsaufnahmen angefertigt. Diese Aufnahmen sind in Abbildung 4.46 dargestellt. Die Aufnahmen nach einwöchiger Inkubation sind im Anhang in Abbildung 7.19 zu finden.



**Abbildung 4.46: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Stabilitäts-Untersuchungen sprühbeschichteter CMK-3-Chitosan-Filme auf Platin.** Die Inkubation der Filme erfolgte in den jeweiligen Lösungen vier Monate unter Rühren bei Raumtemperatur. Die Schichtdicken wurden jeweils an fünf Positionen der Aufnahme ermittelt und daraus der Mittelwert sowie Fehler bestimmt. Aufsicht- bzw. Querschnittsaufnahmen sind jeweils in derselben Vergrößerung dargestellt.

Anhand der Aufnahmen wird deutlich, dass selbst nach der Behandlung der sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme mit den drei unterschiedlichen wässrigen Lösungen über den langen Zeitraum von vier Monaten keine erkennbaren Veränderungen der Schichten auftreten. Dies zeigen sowohl die Aufsicht- als auch die Querschnittsaufnahmen. Es ist keinerlei Auflösung der Filme und ebenso wenig sind Löcher in der Beschichtung zu beobachten. Für die Probe aus der Natriumchlorid-Lösung sind in der Aufsicht im Vergleich zu den anderen Aufnahmen mehr Ablagerungen auf der Oberfläche der Schicht erkennbar. Dies ist vermutlich auf einen unzureichenden Waschprozess nach der Inkubation und vor der Probenvorbereitung für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zurückzuführen. Auch die Schichtdicke verändert sich nach der Behandlung augenscheinlich nicht. Sie liegt sowohl davor als auch danach im Bereich von 1–2 µm. Die Filme sind also unter den hier getesteten Bedingungen stabil gegenüber Wasser und wässrigen Salz-Lösungen. Dabei muss beachtet werden, dass dies trotz der aufrechten Lagerung der Probe in den Lösungen und der durchgehenden Konvektion durch das Rühren der Fall ist.

Ebenso wurden die sprühbeschichteten CMK-3–Chitosan-Filme sowie die rakelbeschichteten CMK-3–Chitosan- und CMK-3–PVDF-Filme nach den Zellkultur-Untersuchungen mit Fibroblasten auf ihre Stabilität bzw. auf Veränderungen in den Beschichtungen untersucht. Dazu sind in Abbildung 4.47 die rasterelektronenmikroskopischen Querschnittsaufnahmen dieser Proben dargestellt.



**Abbildung 4.47:** Rasterelektronenmikroskopische Querschnittsaufnahmen nach der Beschichtung (*oben*) und nach den Zellkultur-Untersuchungen (*unten*) der CMK-3-Filme auf Platin mit verschiedenen Binder-Polymeren und über verschiedene Beschichtungsmethoden hergestellt. Die Schichtdicken wurden jeweils an fünf Positionen der Aufnahme ermittelt und daraus Mittelwert sowie Fehler bestimmt.

Nach den Zellkulturexperimenten mit den NIH3T3-Fibroblasten lassen sich keine signifikanten Veränderungen in Morphologie und Schichtdicke bei den drei verschiedenen CMK-3-Beschichtungen im Vergleich zu ihrem Zustand direkt nach der Beschichtung beobachten. Dementsprechend lässt sich auch bei diesen Untersuchungen eine generelle Stabilität der Filme sowohl gegenüber Wasser als auch gegenüber Flüssigkeiten mit komplexer Zusammensetzung, wie dem Zellkulturmedium, feststellen. Sogar das Ablösen der Fibroblasten mit Trypsin–EDTA-Lösung hatte keinen erkennbaren Einfluss auf die Beschichtungen.

### 4.2.3 Biokompatibilitäts-Untersuchungen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff

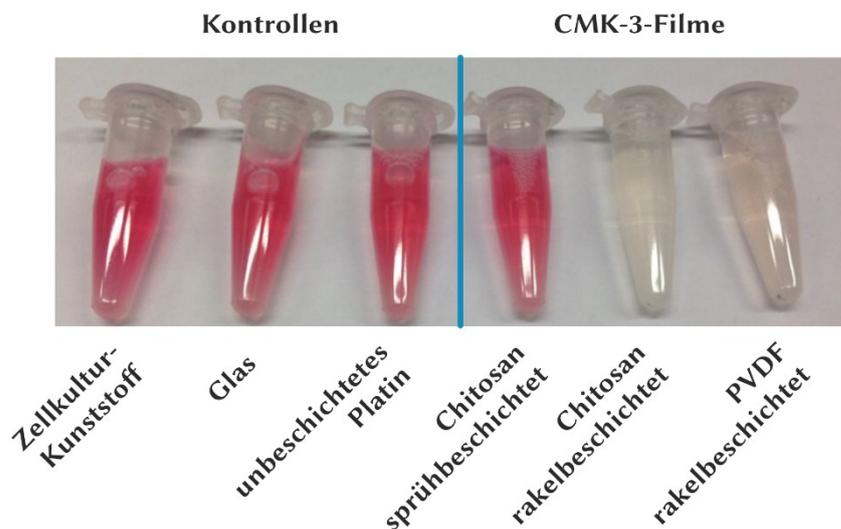
Analog zu den Erkenntnissen aus den Arbeiten mit Kohlenstoff-Nanoröhren ist die Untersuchung der Bio- bzw. Zytokompatibilität der nanoporösen Kohlenstoffe von entscheidender Bedeutung für eine mögliche biomedizinische Anwendung dieser Materialien. Nach aktuellem Stand existieren verhältnismäßig wenige ausführliche Studien zur Zytokompatibilität von nanoporösen Kohlenstoffen und insbesondere nicht zu Filmen dieser Materialien. Bisher wurde vor allem die Interaktion von Zellen mit Kohlenstoff-Nanopartikeln<sup>15,198</sup> oder mit Nanopartikeln poröser Kohlenstoffe<sup>133</sup> näher untersucht. Rückschlüsse und Analogien können durch die Betrachtung anderer Kohlenstoff-Nanomaterialien, wie Graphenoxid, Fullerenen, Nanodiamanten und eben Kohlenstoff-Nanoröhren, und ihrer Interaktion mit biologischen System gezogen werden.<sup>199,200</sup> Hinzu kommt jedoch die Fülle verschiedener poröser Kohlenstoffe und unterschiedlicher Synthesemethoden und -bedingungen.

Umso wichtiger ist es grundlegende Untersuchungen zur Zytokompatibilität der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff und ihrer Interaktion mit biologischen Systemen durchzuführen. Anhand des in dieser Arbeit verwendeten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 kann im Folgenden gezeigt werden, wie unterschiedliche Schichtdicken sowie Zusammensetzungen der Filme ein und desselben Kohlenstoffs Auswirkungen auf das Zellwachstum und die Proliferation der Zellen haben. Dazu wurden mit der L929- und NIH3T3-Zelllinie unter anderem zwei unterschiedliche Fibroblasten getestet. Des Weiteren wurde der Einfluss des nanoporösen Systems und seiner großen Oberfläche auf das Zellmedium und seine Bestandteile betrachtet. Der Fokus wurde dabei auf die Serum-Proteine gelegt, da von diesen bereits bekannt ist, dass sie das Zellwachstum und die Proliferation im Zusammenspiel mit kohlenstoff-basierten Materialien beeinflussen können.<sup>15,201–203</sup>

Wie in 3.1.4 beschrieben, wurden diese Zellkulturuntersuchungen von *Dr. Antonina Lavrentieva* vom *Institut für Technische Chemie* der *Leibniz Universität Hannover* und *Jennifer Schulze* aus der *Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde* der *Medizinischen Hochschule Hannover* (MHH) durchgeführt. Das Pierce Protein Assay sowie die Messungen der Glucose- und Lactat-Konzentration wurden außerdem von *Marline Kirsch*, ebenfalls vom *Institut für Technische Chemie*, durchgeführt.

*Einfluss der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff auf das Zellmedium*

Bereits in ersten Voruntersuchungen zu Zellkultur-Experimenten konnte beobachtet werden, dass die bloße Lagerung der Filme aus dem nanoporösen Kohlenstoff CMK-3 in dem zur Kultivierung der Zellen verwendeten Medium einen Einfluss auf dieses nimmt. Abbildung 4.48 zeigt die Entfärbung des Zellkulturmediums nach 24-stündiger Inkubation der rakelbeschichteten CMK-3-Filme darin. Für die Kontrollen und den sprühbeschichteten Film lässt sich keine optische Veränderung des rotviolett-gefärbten Mediums erkennen.

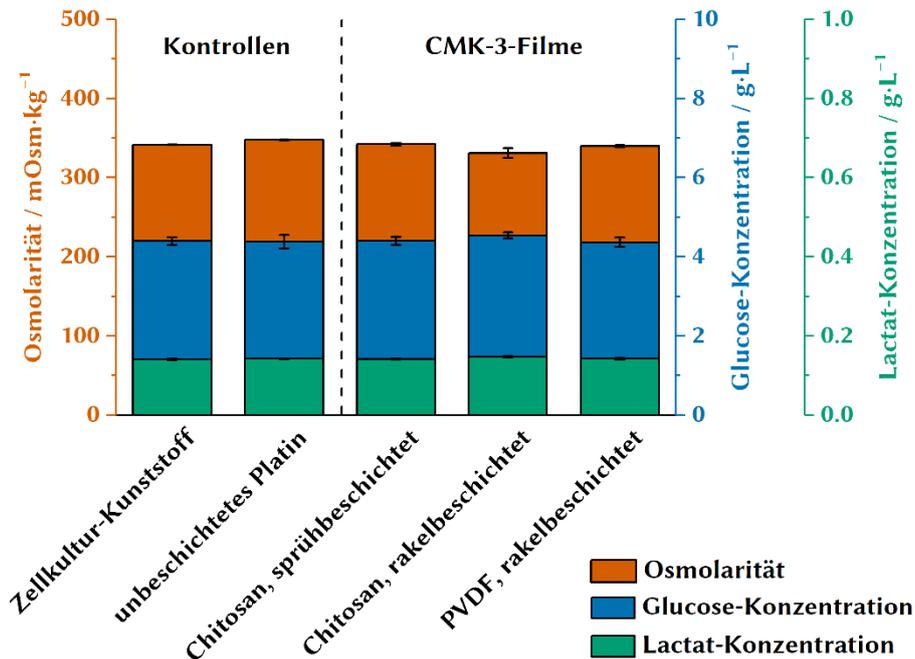


**Abbildung 4.48: Zellkulturmedium nach fünftägiger Inkubation verschiedener Filme aus nanoporösem Kohlenstoff sowie Kontrollen.** Die rotviolette Färbung des Zellkulturmediums wird durch die Verwendung des *pH*-Indikators Phenolrot hervorgerufen. Nach der Inkubation der beiden rakelbeschichteten Filme aus nanoporösem Kohlenstoff ist diese vollständig verschwunden. Im Falle der Kontrollen und des sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes bleibt diese erhalten.

Die rotviolette Färbung des Mediums wird durch den *pH*-Indikator Phenolrot hervorgerufen. Die Entfärbung des Mediums spricht für eine Adsorption des Indikators an den Filmen. Eine *pH*-Wert-Änderung hingegen würde zu einer Änderung der Färbung führen (*pH* < 7.0: gelb; *pH* > 7.0 rotviolett). Dass diese Beobachtung nur bei den rakelbeschichteten CMK-3-Filmen auftritt, lässt sich durch die deutlich größeren Ober-

flächen infolge der höheren Schichtdicken im Vergleich zu den sprühbeschichteten Filmen erklären, wie in 4.2.2 im Unterkapitel *Oberflächeneigenschaften der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff* gezeigt wurde. In der Literatur wurden gar zytotoxische Effekte von Phenolrot innerhalb von Zellen beschrieben, indem die Phenolrotmoleküle über die Adsorption auf Kohlenstoff-Partikeln, die als Carrier fungierten, in die Zellen transportiert wurden.<sup>198</sup> Aufgrund der nachgewiesenen Stabilität der Filme ist dieser postulierte Effekt in den in dieser Arbeit durchgeführten Zellkulturen jedoch wahrscheinlich zu vernachlässigen. Kritischer ist stattdessen zu sehen, dass so wie das Phenolrot möglicherweise auch andere Bestandteile des Zellkulturmediums diesem entzogen werden und den Zellen somit für Wachstums- und Stoffwechsel-Prozesse nicht mehr zur Verfügung stehen könnten. Die in dieser Arbeit als Vergleichs- und Referenz-Material für den synthetisierten nanoporösen Kohlenstoff herangezogene Aktivkohle wird aufgrund ihrer großen Oberfläche für ebensolche Anwendungen genutzt. Sie dient als Adsorptionsmittel bei der Reinigung und Speicherung von Gasen und Flüssigkeiten<sup>204</sup>, aber auch zur Entfernung von Giftstoffen aus dem Organismus in der Medizin.<sup>205</sup>

Um dem nachzugehen, wurden weitere Untersuchungen in diese Richtung durchgeführt. Nach 24-stündiger Inkubation der CMK-3-Filme sowie Kontrollen im Zellmedium wurden die Osmolarität sowie die Glucose- und Lactat-Konzentration der jeweiligen Probe des Mediums ermittelt. In Abbildung 4.49 sind die Ergebnisse dieser Messungen in einem gemeinsamen Säulendiagramm dargestellt.

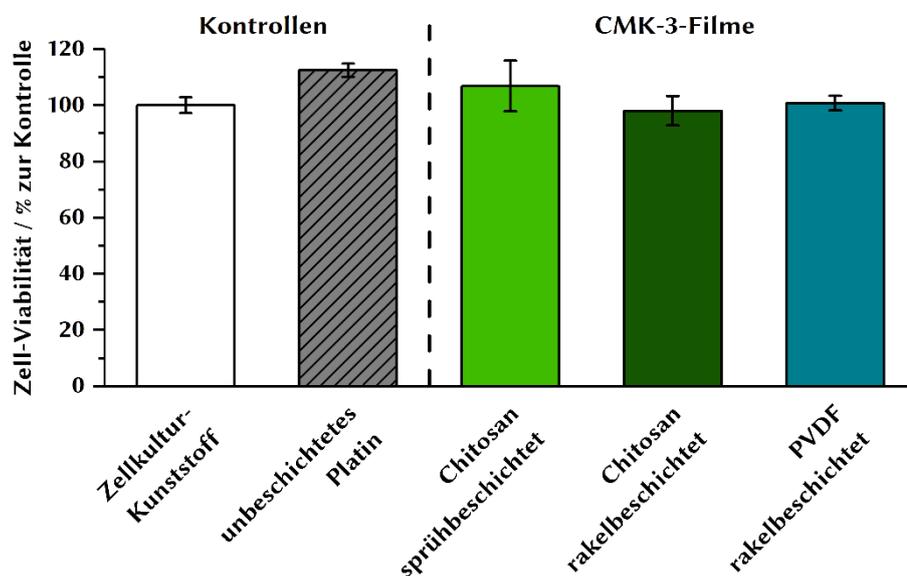


**Abbildung 4.49: Gemessene Osmolaritäten sowie Glucose- und Lactat-Konzentrationen des Zellmediums nach 24-stündiger Inkubation verschiedener CMK-3-Beschichtungen und Kontrollen.** Neben den untersuchten Proben (sprüh- und rakelbeschichtete CMK-3-Chitosan- sowie rakelbeschichtete CMK-3-PVDF-Filme) wurden unbeschichtete Platin-Substrate und Zellkultur-Kunststoff als Kontrollen verwendet.

Sowohl die Osmolarität und damit die Stoffmengenkonzentration aller gelösten Ionen und Moleküle als auch die einzelnen Konzentrationen von Glucose und Lactat im Zellkultur-Medium scheinen durch die Inkubation der CMK-3-Filme nicht beeinflusst zu werden. Beim Vergleich der jeweiligen Werte für die CMK-3-Beschichtungen mit den Kontrollen, Zellkultur-Kunststoff und unbeschichtete Platin-Substrate, zeigen sich keine deutlichen Unterschiede, ebenso wenig wie beim Vergleich der CMK-3-Beschichtungen untereinander. Somit scheint es zu keiner signifikanten Adsorption von Glucose und Lactat auf den Beschichtungen zu kommen. Die unveränderte Osmolarität zeigt zusätzlich, dass es zu keiner signifikanten Adsorption anderer Stoffe des Zellkultur-Mediums gekommen ist. Außerdem wurde die Osmolarität nicht durch eine Auflösung der Beschichtungen oder Abgabe von Substanzen aus der Beschichtung erhöht. Anhand dieser Untersuchungen ist somit kein weiterer Einfluss der Beschichtungen auf das Zellkultur-Medium auszumachen als die optisch beobachtete Adsorption des Phenolrots.

### Zellkultur-Untersuchungen mit Fibroblasten und Überständen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff

Um zu untersuchen inwieweit lösliche Bestandteile der Beschichtungen oder durch die Proben adsorbierte und damit aus dem Zellmedium entfernte Stoffe das Wachstum und Überleben von Zellen beeinflussen, wurden 24-stündige Extraktionstests der verschiedenen CMK-3-Beschichtungen und eine sich anschließende 24-stündige Kultivierung von Fibroblasten in den Extrakten durchgeführt. In Abbildung 4.50 sind die Ergebnisse der Zell-Viabilitäten für diese Tests dargestellt.



**Abbildung 4.50: Zell-Viabilität der in den Überständen von verschiedenen CMK-3-Filmen kultivierten L929-Fibroblasten in Prozent im Vergleich zur Kontrolle.** Nach 24-stündiger Inkubation der Proben wurde das Zellmedium entfernt und zur 24-stündigen Kultivierung der L929-Fibroblasten verwendet. Zur anschließenden Bestimmung der Viabilität wurde das CTB-Assay verwendet. Als Kontrollen dienten der Zellkultur-Kunststoff sowie unbeschichtetes Platin. Der Mittelwert der Ergebnisse des Zellkultur-Kunststoffes wurde als 100% gesetzt.

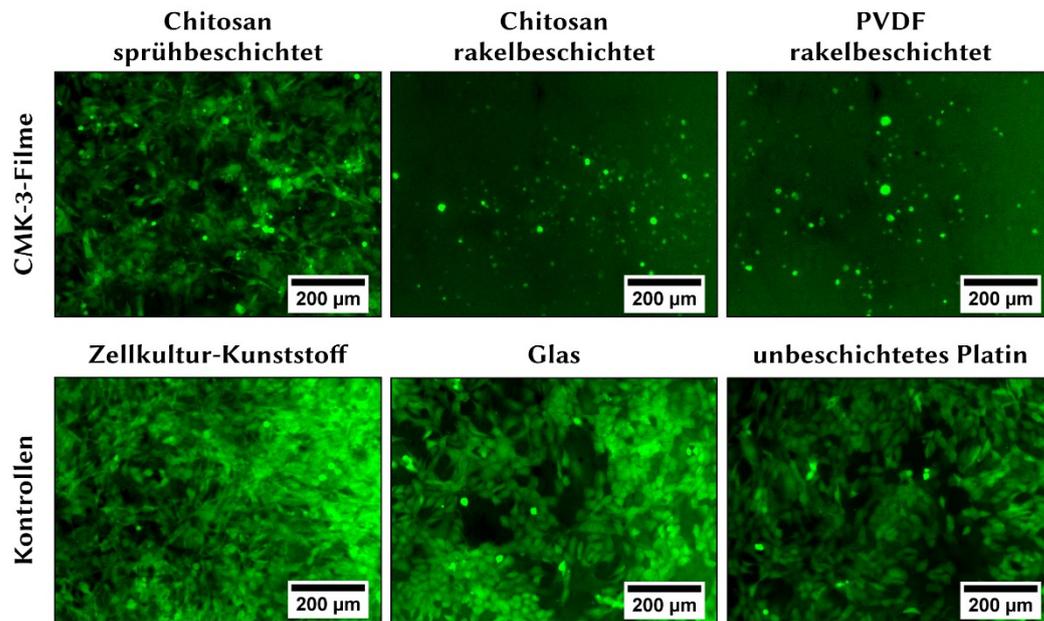
In diesem Experiment dienten der Zellkultur-Kunststoff und unbeschichtete Platin-Substrate als Kontrollen. Alle Ergebnisse wurden in Bezug zum Mittelwert der Ergebnisse des Zellkultur-Kunststoffes gesetzt, der somit 100% darstellt. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Extrakte der CMK-3-Beschichtungen keinen Einfluss auf die Viabilität der getesteten L929-Fibroblasten haben. Die Viabilitäten liegen jeweils um

100% und somit im Bereich der beiden Kontrollen. Somit kann davon ausgegangen werden, dass im untersuchten Zeitraum der Extraktion von 24 Stunden keine schädlichen oder toxischen Stoffe aus den Beschichtungen in das Medium gelangt sind. Ebenso kann ausgeschlossen werden, dass die Adsorption und damit Entfernung von Stoffen aus dem Zellmedium zu erkennbaren Beeinträchtigungen der Viabilität der Zellen führt.

### *Zellkultur-Untersuchungen mit Fibroblasten auf den Filmen aus nanoporösem Kohlenstoff*

Zur Beurteilung der Biokompatibilität der Beschichtungen des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 wurden Zellen direkt auf den Filmen kultiviert. Für diese Untersuchungen wurden unter anderem zwei unterschiedliche Zelllinien von Fibroblasten verwendet: L929 und NIH3T3. Des Weiteren wurde der Einfluss der in den Zellkulturen verwendeten Serum-Proteine auf die Zytotoxizität der CMK-3-Filme untersucht. Laut einer Studie von *Zhu et al.* aus dem Jahr 2009 konnte sowohl die Zytotoxizität von Kohlenstoff-Nanopartikeln als auch die intrazelluläre Aufnahme durch Zugabe und daraus folgende Adsorption der Serum-Proteine auf der Oberfläche der Nanopartikel verringert werden.<sup>15</sup> Um dies für die CMK-3 Filme zu überprüfen wurden die Filme unter anderem vor der Kultivierung der Zellen in serum-haltigem Zellkultur-Medium bzw. reiner Serum-Lösung inkubiert. Die Beobachtung des Wachstums und der Proliferation der Zellen erfolgte mittels fluoreszenzmikroskopischer Aufnahmen und der Kultivierung anschließender Auszählung der Zellen. Außerdem wurden unter anderem die Veränderung der Glucose- und der Lactat-Konzentration nach der Kultivierung sowie die Änderung der Konzentration der Serum-Lösung nach der Inkubation der Proben bestimmt.

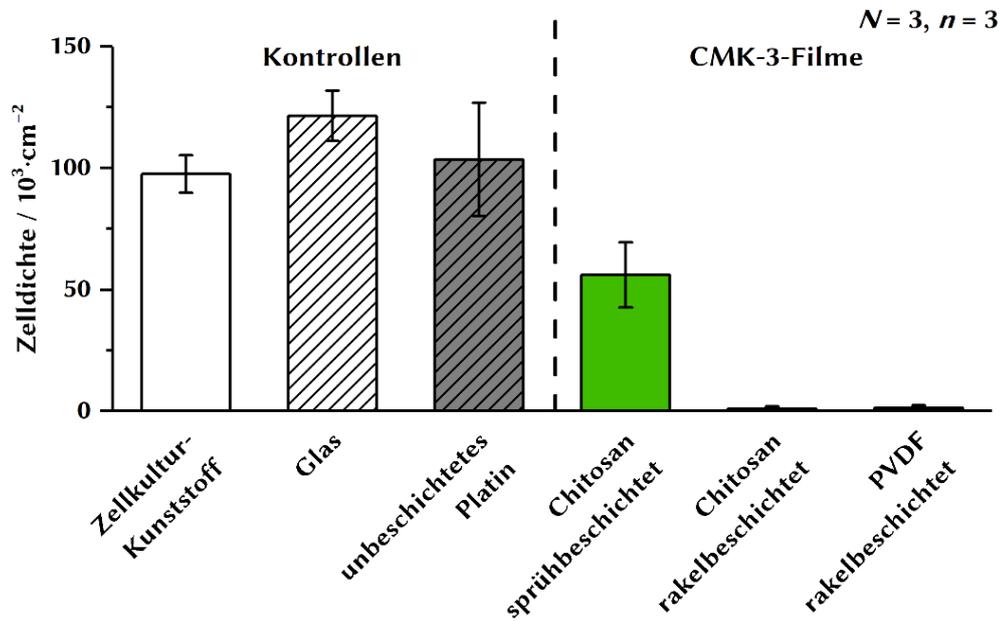
Analog zu den Biokompatibilitäts-Untersuchungen der CNT-Filme wurden GFP-exprimierende NIH3T3-Fibroblasten auf den verschiedenen CMK-3-Filmen kultiviert. Nach viertägiger Kultivierungszeit wurden fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Diese sind in Abbildung 4.51 dargestellt.



**Abbildung 4.51:** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der GFP-exprimierenden NIH3T3-Fibroblasten ( $N = 3$ ,  $n = 3$ ) nach vier Tagen Kultivierungszeit auf den CMK-3-beschichteten Platin-Substraten und den Kontroll-Proben. Als Kontrollen dienten Zellkultur-Kunststoff, Glas und unbeschichtete Platin-Substrate.

Schon anhand dieser Aufnahmen wird deutlich, dass auf den rakelbeschichteten CMK-3-Filmen nahezu keine Zellen gewachsen sind. Sowohl bei den Beschichtungen mit Chitosan als Binder-Polymer als auch bei den PVDF-basierten Filmen sind nur vereinzelte Zellen auf den Aufnahmen zu erkennen. Zusätzlich dazu weisen diese Zellen eine deutlich runde bzw. kugelförmige Morphologie auf. Dies spricht dafür, dass diese beiden Beschichtungen den Fibroblasten keine guten Bedingungen zum Aufwachsen und zur Adhäsion bieten. Im Gegensatz dazu sind auf den Aufnahmen der sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Beschichtungen eine große Anzahl an Zellen mit gesunder Morphologie zu erkennen. Dies trifft ebenso für die drei verwendeten Kontrollen zu.

Diese Beobachtungen werden durch die in Abbildung 4.52 dargestellten und per Auszählung ermittelten Zelldichten für die einzelnen Beschichtungen und Kontrollen bestätigt.

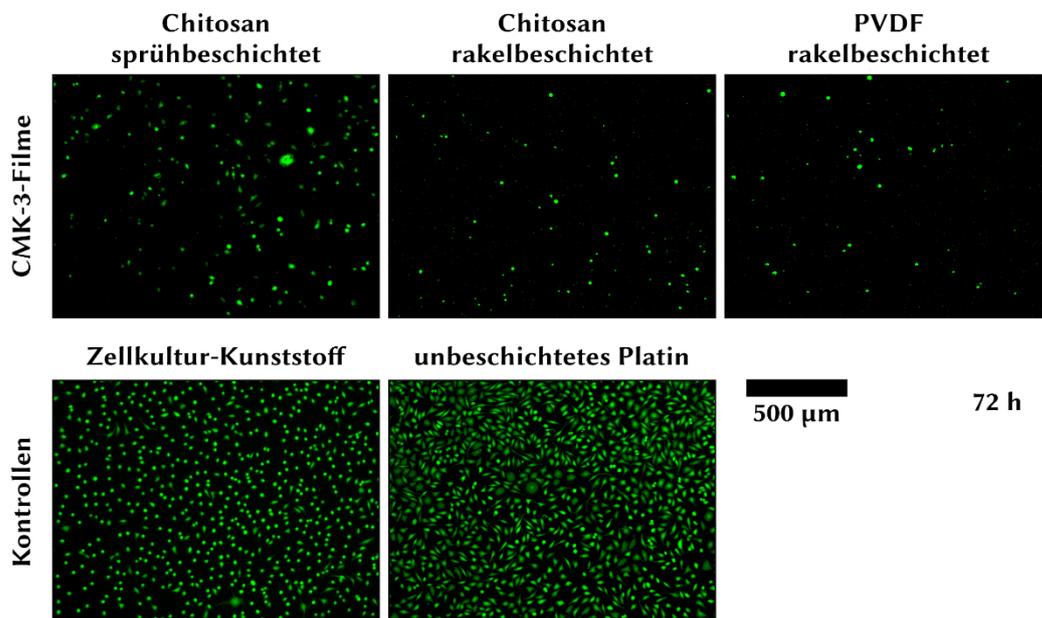


**Abbildung 4.52:** Vergleich der ermittelten Zelldichten der NIH3T3-Fibroblasten ( $N = 3$ ,  $n = 3$ ), die auf den CMK-3-Beschichtungen und Kontrollen vier Tage kultiviert wurden. Als Kontrollen dienten unbeschichtete Platin-Substrate sowie Zellkultur-Kunststoff. Die hier dargestellten Werte für die Zelldichten wurden über die Auszählung per *Neubauer*-Zählkammer bestimmt. Sie stellen die Mittelwerte  $\pm$  den Standardfehler des Mittelwertes dar.

Die drei Kontrollen weisen allesamt Zelldichten im Bereich von  $100 \cdot 10^3$  Zellen pro  $\text{cm}^2$  oder höher auf. Dahingegen zeigen die rakelbeschichteten CMK-3-Filme Zelldichten von gerade einmal 1 bzw.  $1.3 \cdot 10^3$  Zellen pro  $\text{cm}^2$ . Die Zelldichten für die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme liegen mit  $56 \cdot 10^3$  Zellen pro  $\text{cm}^2$  deutlich unter den Werten der Kontrollen. Sie liegen damit aber, wie bereits nach Betrachtung der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen erwartet, klar über denen der rakelbeschichteten Filme. Für die rakelbeschichteten und damit erheblich dickeren ( $20\text{--}70 \mu\text{m}$ ) Beschichtungen lassen sich somit zytotoxische Effekte oder eine mangelnde Eignung als Zellsubstrat vermuten. Die sprühbeschichteten und damit dünneren ( $1\text{--}5 \mu\text{m}$ ) CMK-3-Chitosan-Filme weisen trotz der im Vergleich zu den Kontrollen geringeren Zelldichten eine generelle Zytokompatibilität gegenüber der NIH3T3-Fibroblasten-Zelllinie auf. Da in den Voruntersuchungen zu den Zellkultur-Experimenten bereits gezeigt werden konnte, dass weder lösliche oder herausgelöste Bestandteile der Beschichtungen für toxische Effekte bei den Zellen verantwortlich sind noch von den Beschichtungen adsorbierte Nährstoffmoleküle wie Glucose bzw. Lactat oder eine generelle Änderung der Osmolarität

des Zellkultur-Mediums als Ursache für ein eingeschränktes Wachstum der Fibroblasten-Zellen in Frage kommen, wurden weiterführende Experimente und Untersuchungen durchgeführt.

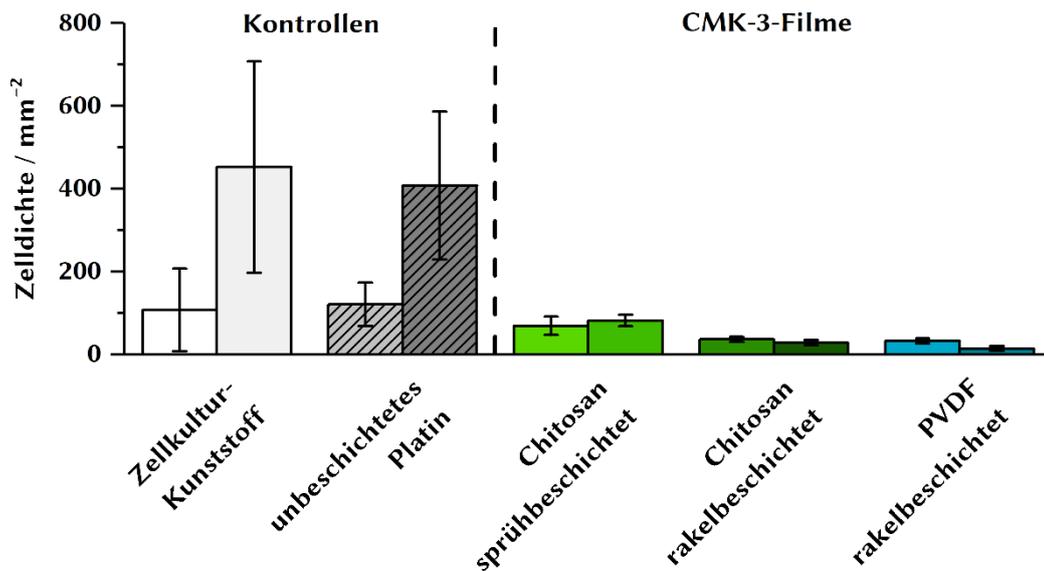
Unter anderem wurden zur Überprüfung dieser Ergebnisse die Untersuchungen mit einer weiteren Fibroblasten-Zelllinie wiederholt. Bei den Experimenten mit den ebenfalls murinen L929-Fibroblasten wurden im Gegensatz zu den Experimenten der NIH3T3-Fibroblasten nach 24 und 72 Stunden Kultivierungszeit fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Außerdem war eine Anfärbung der Zellen mit Calcein-AM zur Visualisierung durch das Fluoreszenzmikroskop notwendig, da diese Zellen kein GFP exprimieren. Die Auszählung der Zellen erfolgte nicht im Anschluss der Kultivierung, sondern anhand der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen und somit sowohl nach 24 als auch nach 72-stündiger Kultivierungszeit. Somit war es bei diesen Experimenten möglich den Verlauf des Wachstums der Zellen besser zu beobachten. Die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen nach 72-stündiger Kultivierung der mit Calcein-AM angefärbten L929-Fibroblasten sind in Abbildung 4.53 dargestellt. Die Aufnahmen nach 24 Stunden sind im Anhang in Abbildung 7.20 zu finden.



**Abbildung 4.53:** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der mit Calcein angefärbten L929-Fibroblasten nach 72 Stunden Kultivierungszeit auf den CMK-3-beschichteten Platin-Substraten und den Kontroll-Proben. Als Kontrollen dienen Zellkultur-Kunststoff, Glas und unbeschichtete Platin-Substrate.

Sowohl nach 24 als auch nach 72-stündiger Kultivierungszeit zeigen die Zellen auf den Kontrollen, unbeschichtete Platin-Substrate und Zellkultur-Kunststoff, eine gesunde Morphologie und eine hohe Zelldichte, wobei die im Vergleich runde Morphologie der Zellen auf dem Zellkultur-Kunststoff für weniger attraktive Wechselwirkungen zwischen den Zellen und dem Substrat sprechen als bei den Platin-Oberflächen. Im Vergleich zur Kontrolle ist für die drei verschiedenen CMK-3-Beschichtungen jeweils nur eine geringe Anzahl von Zellen zu erkennen. Im Gegensatz zu den Experimenten mit den NIH3T3-Fibroblasten weisen in diesem Fall auch die Proben der sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Beschichtungen eine verhältnismäßig geringe Zelldichte auf.

Diese anhand optischer Beurteilung der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen beschriebenen Beobachtungen konnten durch die Bestimmung der Zellanzahl auf den Aufnahmen bestätigt werden. In Abbildung 4.54 sind die durch automatisierte Auszählung mit Hilfe der Software *ImageJ* ermittelten Zelldichten für die Aufnahmen nach 24- und 72-stündiger Kultivierungszeit dargestellt.



**Abbildung 4.54: Vergleich der ermittelten Zelldichten der L929-Fibroblasten nach 24 (linker Balken) und 72 Stunden (rechter Balken), die auf den CMK-3-Beschichtungen und Kontrollen kultiviert wurden.** Als Kontrollen dienten unbeschichtete Platin-Substrate sowie Zellkultur-Kunststoff. Die hier dargestellten Werte für die Zelldichten wurden über eine automatische Auszählung fünf repräsentativer Aufnahmen mit Hilfe der Software *ImageJ* bestimmt. Sie stellen die Mittelwerte  $\pm$  den Standardfehler des Mittelwertes dar.

Bei dieser Methode wurden die Zellen für jede Probe beider Kultivierungszeiten mit jeweils fünf repräsentativen Aufnahmen nach einem automatisierten Prozess (siehe: Unterkapitel *Auszählmethoden* in Abschnitt 3.1.4) ausgezählt und in Bezug zur Fläche der betrachteten Bereiche der Proben gesetzt.

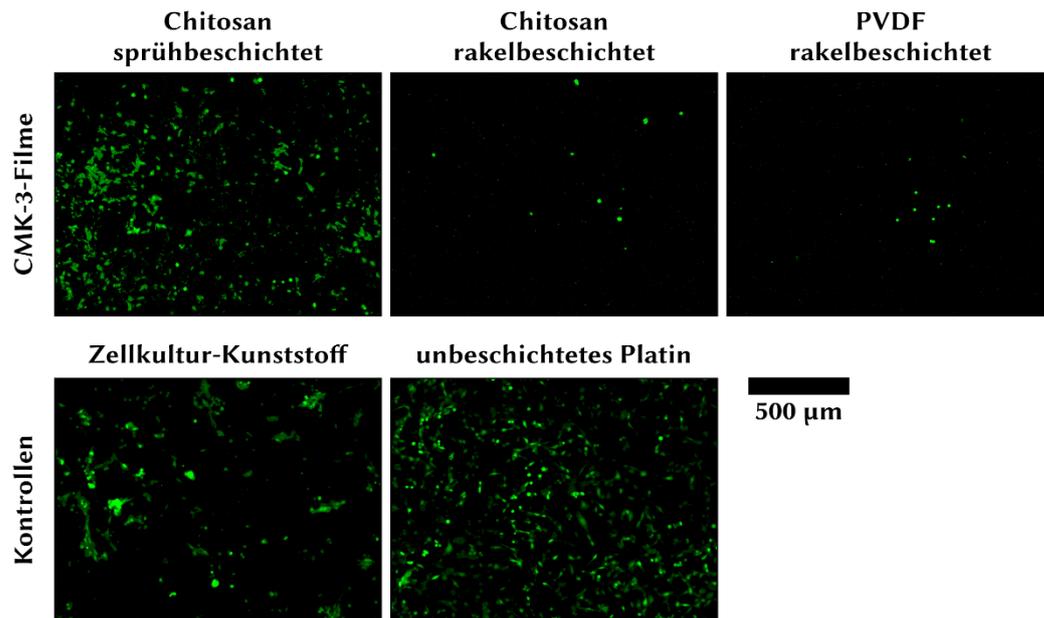
Die Zelldichte der L929-Fibroblasten auf den CMK-3-Filmen unterscheidet sich nach 24-stündiger Kultivierungszeit nur gering von denen auf den beiden Kontrollen, unbeschichtete Platin-Substrate und Zellkultur-Kunststoff. Nach 72-stündiger Kultivierungszeit hingegen fällt dieser Unterschied deutlich größer aus. Für die Kontrollen steigen die Zelldichten über diesen betrachteten Zeitraum deutlich an, wohingegen die CMK-3-Filme nahezu gleichbleibende bzw. sogar leicht abnehmende Zelldichten aufweisen. Diese Ergebnisse sprechen für ein stark gehemmtes Wachstum und eine eingeschränkte Proliferation der Zellen auf den Kohlenstoff-Filmen. Die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme zeigen dabei noch das im Vergleich beste Ergebnis. Jedoch ist für diese Beschichtung der Unterschied zu den Kontrollen deutlicher als noch für das Experiment mit den NIH3T3-Fibroblasten. Durch die Ergebnisse dieser Experimente lassen sich somit noch keine direkten Rückschlüsse auf direkte zytotoxische Effekte der Kohlenstoff-Filme auf die untersuchten Fibroblasten-Zellen ziehen. Eine *Lebend-Tot-Färbung*, bei der zusätzlich zu den lebenden mit Calcein-AM angefärbten Zellen die abgestorbenen Zellen mit Propidiumiodid angefärbt wurden und somit beides unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden konnte, ergab nur eine extrem geringe, nicht relevante Anzahl von abgestorbenen Zellen. Aus diesem Grund wurde auf eine Darstellung dieser Aufnahmen an dieser Stelle verzichtet. Außerdem waren bei dieser geringen Anzahl an toten Zellen keine Unterschiede unter den einzelnen Proben und ebenso zwischen Proben und Kontrollen erkennbar. Somit lässt sich jedoch eindeutig konstatieren, dass unter den hier untersuchten Bedingungen alle drei verschiedenen CMK-3-Beschichtungen kein geeignetes Substrat für Fibroblasten darstellen.

#### *Einfluss von Serum-Proteinen auf die Zytokompatibilität der Beschichtungen aus nanoporösem Kohlenstoff*

Für die Interaktion von Nanopartikeln oder ebenso Nanomaterialien mit Zellen bzw. in einer späteren Anwendung im menschlichen Körper spielt die Adsorption von Proteinen auf der Oberfläche dieser Partikel bzw. Materialien und die daraus folgende Bildung einer sogenannten Protein-Korona eine entscheidende Rolle. Im Speziellen die biologische Interaktion von kohlenstoff-basierten Nanomaterialien wurde bereits intensiv untersucht und beschrieben.<sup>15,199–203</sup> Dabei bestimmt die Protein-Korona die Bioverteilung und beeinflusst unter anderem die Zell-Erkennung und den biologischen Abbau

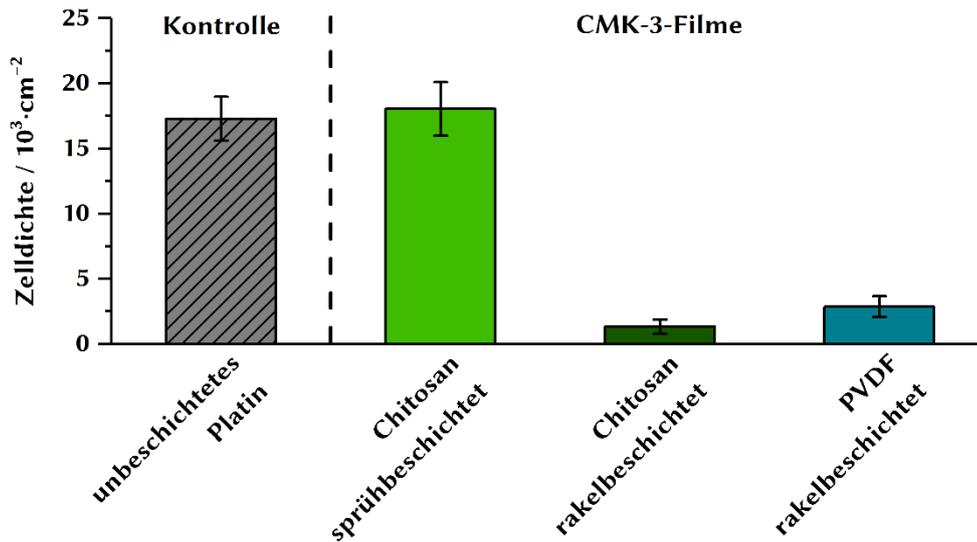
der Kohlenstoff-Nanomaterialien. Diese Prozesse stellen relevante Punkte für die Sicherheit und Biokompatibilität dieser Materialien für biomedizinische Anwendungen dar.<sup>200</sup> Die Bildung dieser Protein-Korona auf der Oberfläche verschiedener kohlenstoff-basierter Nanomaterialien (Carbon Black, Kohlenstoff-Nanoröhren und Graphenoxid) wurde von *Sopotnik et al.* für die zwei unterschiedlichen Serum-Proteine Rinderalbumin und Human-Serum untersucht.<sup>202</sup> Für Kohlenstoff-Nanoröhren konnten *Ge et al.* beobachten, dass durch eine vorherige Beschichtung der Kohlenstoff-Nanoröhren mit Serum-Proteinen die Zytokompatibilität deutlich erhöht wird.<sup>203</sup> Ebenso konnten *Zhu et al.* zeigen, dass es durch adsorbierte Serum-Proteine zu einer erhöhten zellulären Aufnahme dieser Nanopartikel kommt.<sup>15</sup> Gemein haben all diese Studien, dass kohlenstoff-basierte Nanopartikel bzw. -materialien in dispergierter Form auf ihre biologischen Interaktionen unter der Berücksichtigung des Einflusses von Serum-Proteinen hin untersucht wurden. Detaillierte Studien weitestgehend immobilisierter Kohlenstoff-Nanomaterialien in Bezug auf solche Effekte in biologischen Systemen sind bisher eine Seltenheit. Die in dieser Arbeit verwendeten nanoporösen Kohlenstoffe und die daraus hergestellten Beschichtungen gehören aufgrund ihres nanoskaligen Porensystems ebenfalls zu den Kohlenstoff-Nanomaterialien. In Form von Beschichtungen liegen sie jedoch nicht frei in einer Dispersion vor. Ob es zur Ausbildung einer Protein-Korona bzw. einer Bedeckung der Oberfläche der Beschichtung mit Proteinen kommt, ist somit an dieser Stelle unklar. Jedoch ist ein zu den dispergierten Kohlenstoff-Nanomaterialien analoger Einfluss von Serum-Proteinen auf die Zytokompatibilität des Materials wahrscheinlich.

Um zu überprüfen, inwieweit Serum-Proteine einen Einfluss auf die Zytokompatibilität der in dieser Arbeit hergestellten Beschichtungen aus nanoporösen Kohlenstoffen haben, wurden die Zellkultur-Experimente mit Fibroblasten wiederholt. Zuvor wurde jedoch eine 24-stündige Inkubation der Proben in Serum-haltigen Lösungen durchgeführt um eine Gleichgewichtseinstellung zwischen den Beschichtungen und den Serum-Proteinen zu ermöglichen. Im ersten Teil dieser Untersuchungen erfolgte diese Inkubation in Serum-haltigem Zellkultur-Medium und anschließend eine 72-stündige Kultivierung von NIH3T3-Fibroblasten auf diesen Proben nanoporöser Kohlenstoff-Filme und entsprechenden Kontrollen. In Abbildung 4.55 sind die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen dieser Experimente dargestellt.



**Abbildung 4.55: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der GFP-exprimierenden NIH3T3-Fibroblasten nach 72 Stunden Kultivierungszeit auf den CMK-3-beschichteten Platin-Substraten und den Kontroll-Proben.** Vor der Kultivierung wurden die Proben 24 Stunden in Serum-haltigem Zellmedium inkubiert. Als Kontrollen dienen Zellkultur-Kunststoff und unbeschichtete Platin-Substrate.

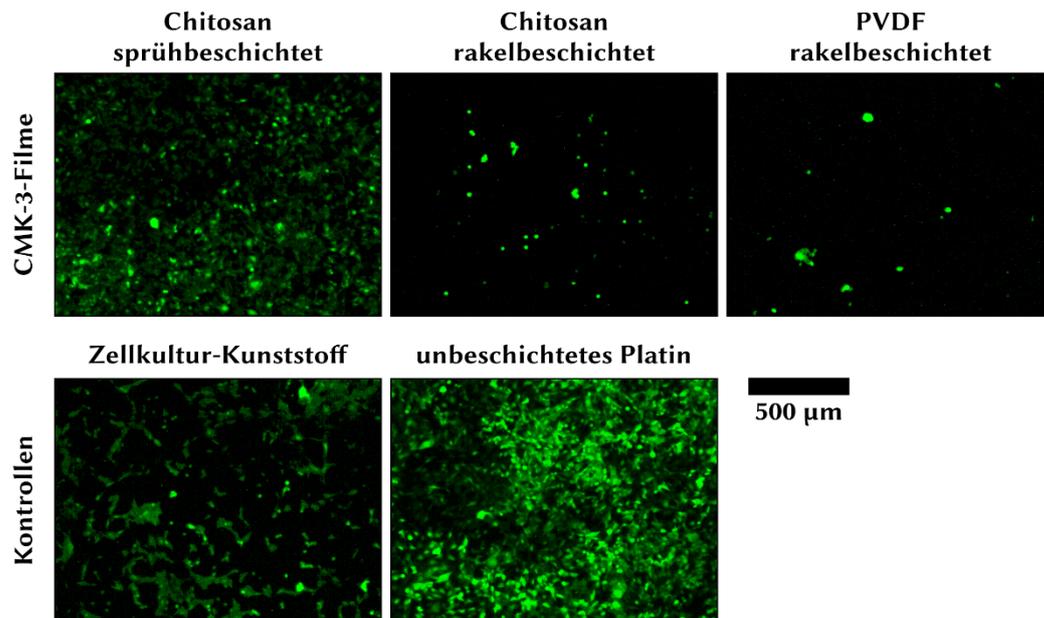
Diese Aufnahmen zeigen zu den ersten Experimenten dieser Beschichtungen mit NIH3T3-Fibroblasten vergleichbare Ergebnisse. Für beide rakelbeschichteten CMK-3-Filme zeigen die Aufnahmen nur eine sehr geringe Zelldichte. Die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme weisen im Vergleich zu den rakelbeschichteten Filmen höhere Zelldichten auf. Rein optisch betrachtet sind diese mit denen der Kontrollen vergleichbar. Um dies genauer zu überprüfen, wurden die Zellen nach der dreitägigen Kultivierung über eine *Neubauer*-Zählkammer ausgezählt und die so ermittelte Anzahl der Zellen in Bezug zur Fläche der Proben gesetzt. Der Vergleich dieser Zelldichten für die CMK-3-Filme mit der Kontrolle der unbeschichteten Platin-Substrate ist in Abbildung 4.56 dargestellt.



**Abbildung 4.56: Vergleich der ermittelten Zelldichten der NIH3T3-Fibroblasten, die auf den CMK-3-Beschichtungen und Kontrollen 72 Stunden kultiviert wurden.** Vor der Kultivierung der Zellen wurden die Proben 24 Stunden in Zellmedium inkubiert. Als Kontrolle dienen unbeschichtete Platin-Substrate. Die hier dargestellten Werte für die Zelldichten wurden über die Auszählung per *Neubauer*-Zählkammer bestimmt. Sie stellen die Mittelwerte  $\pm$  den Standardfehler des Mittelwertes dar.

Die so ermittelten Zelldichten bestätigen die Beobachtungen aus den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen. Durch die vorangegangene Inkubation der Proben im Serum-haltigen Zellmedium konnte die Zelldichte der sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme auf das Niveau der unbeschichteten Platin-Substrate erhöht werden. Durch die zu erwartende Adsorption der Serum-Proteine auf der Oberfläche der Proben besteht somit kein Unterschied mehr in der Zytokompatibilität für Fibroblasten. Für deutlich dickere Beschichtungen der rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan- und CMK-3-PVDF-Filme lässt sich dieser Effekt jedoch nicht beobachten. Diese Proben weisen, wie bereits anhand der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen ersichtlich, weiterhin trotz der Inkubation im Zellmedium sehr geringe Zelldichten auf. Über eine Adsorption von Serum-Proteinen konnte in diesen beiden Fällen also keine Erhöhung der Zytokompatibilität erreicht werden. Dies ist möglicherweise auf die deutlich höheren Oberflächen der rakelbeschichteten CMK-3-Filme zurückzuführen. Es ist nicht auszuschließen, dass die Konzentration des Humanserums im Zellmedium – es werden jeweils 10 % Humanserum-Lösung zum Zellkultur-Medium hinzugefügt – nicht ausreicht um für eine vollständige Bedeckung der Oberfläche bei diesen Beschichtungen zu sorgen.

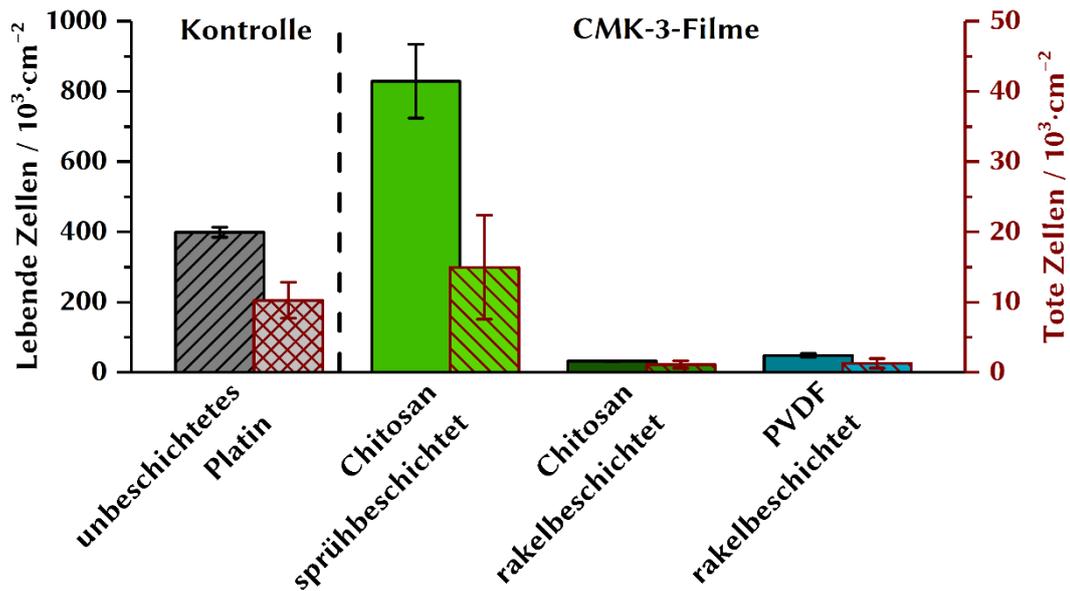
Zur Überprüfung dieser Annahme wurden die Experimente analog wiederholt. Die Inkubation vor der Kultivierung der Zellen erfolgte jedoch direkt in der Humanserum-Lösung. Hierfür sind die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen in Abbildung 4.57 dargestellt.



**Abbildung 4.57: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der GFP-exprimierenden NIH3T3-Fibroblasten nach 72 Stunden Kultivierungszeit auf den CMK-3-beschichteten Platin-Substraten und den Kontroll-Proben.** Vor der Kultivierung der Zellen wurden die Proben 24 Stunden in Humanserum-Lösung inkubiert. Als Kontrollen dienten Zellkultur-Kunststoff und unbeschichtete Platin-Substrate.

Entgegen der Erwartung liefern auch diese Experimente sehr geringe Zelldichten für die rakelbeschichteten CMK-3-Filme. Die Zelldichte für die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme ist, wie in den vorangegangenen Experimenten mit NIH3T3-Fibroblasten, mit denen der beiden Kontrollen vergleichbar.

Neben der Zelldichte für die lebenden Zellen wurden für diese Experimente auch die Zelldichten für die toten Zellen nach dreitägiger Kultivierung über die Auszählung per *Neubauer*-Zählkammer bestimmt. In Abbildung 4.58 sind beide Zelldichten für die jeweiligen Proben im Vergleich mit der Kontrolle der unbeschichteten Platin-Substrate in einem gemeinsamen Diagramm dargestellt.

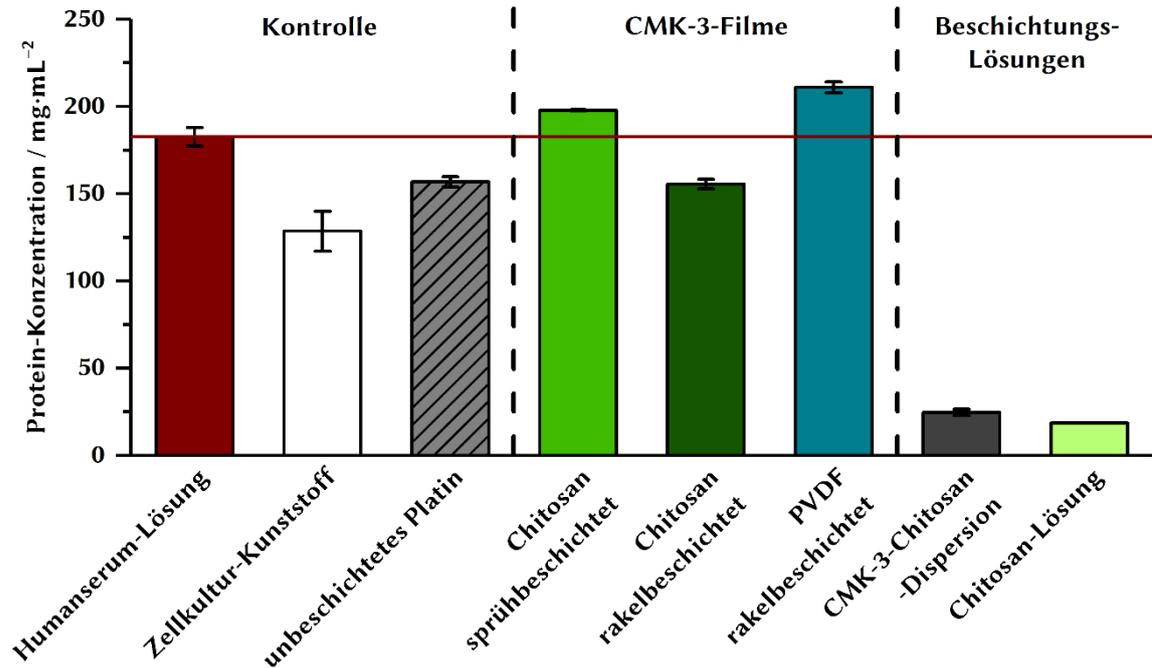


**Abbildung 4.58:** Vergleich der ermittelten Zelldichten der lebenden (schwarz, linke Balken) und toten (dunkelrot, rechte Balken) Zellen für NIH3T3-Fibroblasten, die auf den CMK-3-Beschichtungen und Kontrollen 72 Stunden kultiviert wurden. Vor der Kultivierung der Zellen wurden die Proben 24 Stunden in Humanserum-Lösung inkubiert. Als Kontrolle dienten unbeschichtete Platin-Substrate. Die hier dargestellten Werte für die Zelldichten wurden über die Auszählung per Neubauer-Zählkammer bestimmt. Sie stellen die Mittelwerte  $\pm$  den Standardfehler des Mittelwertes dar.

Auch hier bestätigen die ermittelten Zelldichten eindeutig die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen. Die rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan- und CMK-3-PVDF-Filme zeigen sehr geringe Zelldichten für die lebenden Zellen. Jedoch weisen diese Proben ebenfalls sehr geringe Zelldichten für die während der Kultivierung abgestorbenen Zellen auf. Die Zell-Viabilität – das heißt der Anteil lebender Zellen an der Gesamt-Zellzahl – ist auch für rakelbeschichtete CMK-3-Filme vergleichsweise gut. Dies spricht für die anhand der vorherigen Experimente gemachte Annahme, dass weder lösliche oder sich ablösende Bestandteile der Beschichtungen zu einem Absterben der Zellen führen. Eine Zytotoxizität der rakelbeschichteten CMK-3-Filme liegt also vermutlich nicht vor. Vielmehr scheint der direkte Kontakt der Zellen mit den als Substrat dienenden Beschichtungen zu einem eingeschränkten Wachstum bzw. einer gehemmten Zellteilung und damit einer sehr geringen Proliferation der Zellen zu führen. Dies konnte auch durch die vorgeschaltete Inkubation der Proben in der Humanserum-Lösung und einer vermutlich daraus folgenden Bedeckung der Oberfläche der Beschichtung mit Proteinen nicht positiv beeinflusst werden.

Im Gegensatz zu allen vorherigen Zellkultur-Experimenten weisen die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme nicht nur im Vergleich der CMK-3-Filme untereinander die höchste Zelldichte auf, sondern auch im Vergleich zu den unbeschichteten Platin-Substraten. Mit über  $800 \cdot 10^3$  Zellen pro  $\text{cm}^2$  ist sie mehr als doppelt so hoch. Zwar weisen sowohl die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme als auch die unbeschichteten Platin-Substrate ebenso deutlich höhere Zelldichten für die abgestorbenen Zellen auf, jedoch fällt dies im Vergleich zu den Zelldichten der lebenden Zellen kaum ins Gewicht und die NIH3T3-Fibroblasten zeigen auf diesen Proben sehr gute Zell-Viabilitäten. Das Absterben eines gewissen Anteils von Zellen in der Zellkultur ist ein normaler und zu erwartender Prozess und wird durch die gute Proliferation der Zellen ausgeglichen. Die Zytokompatibilität der sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme konnte somit durch die Bedeckung der Oberfläche mit Serum-Proteinen über die der Zell-Kultivierung vorangegangene Inkubation in der Humanserum-Lösung deutlich erhöht werden. Schon für das Serum-haltige Zellkultur-Medium ließ sich ein positiver Effekt auf die Proliferation der Zellen beobachten. Dieser konnte durch die reine Humanserum-Lösung nochmals gesteigert werden. Außerdem sprechen diese Ergebnisse dafür, dass auch bei der Inkubation im Zellkultur-Medium tatsächlich der zehn-prozentige Anteil an Humanserum-Lösung für den positiven Effekt verantwortlich ist. Diese Ergebnisse entsprechen den in der Literatur vor allem für Nanopartikel verschiedener Kohlenstoff-Nanomaterialien beschriebenen Beobachtungen zur Bildung einer Protein-Korona um Nanopartikel und den daraus folgenden positiven Effekten auf die Zytokompatibilität der Materialien (*siehe oben*).<sup>15,200,202,203</sup>

Um eine Erklärung für die weiterhin geringen Zelldichten der rakelbeschichteten CMK-3-Filme zu erhalten, wurde die Protein-Konzentration der zur Inkubation verwendeten Humanserum-Lösung vor und nach der Inkubation der jeweiligen Proben mit Hilfe eines *Pierce*-BCA-Protein-Assays bestimmt. Der Vergleich dieser Protein-Konzentrationen ist in Abbildung 4.59 dargestellt.

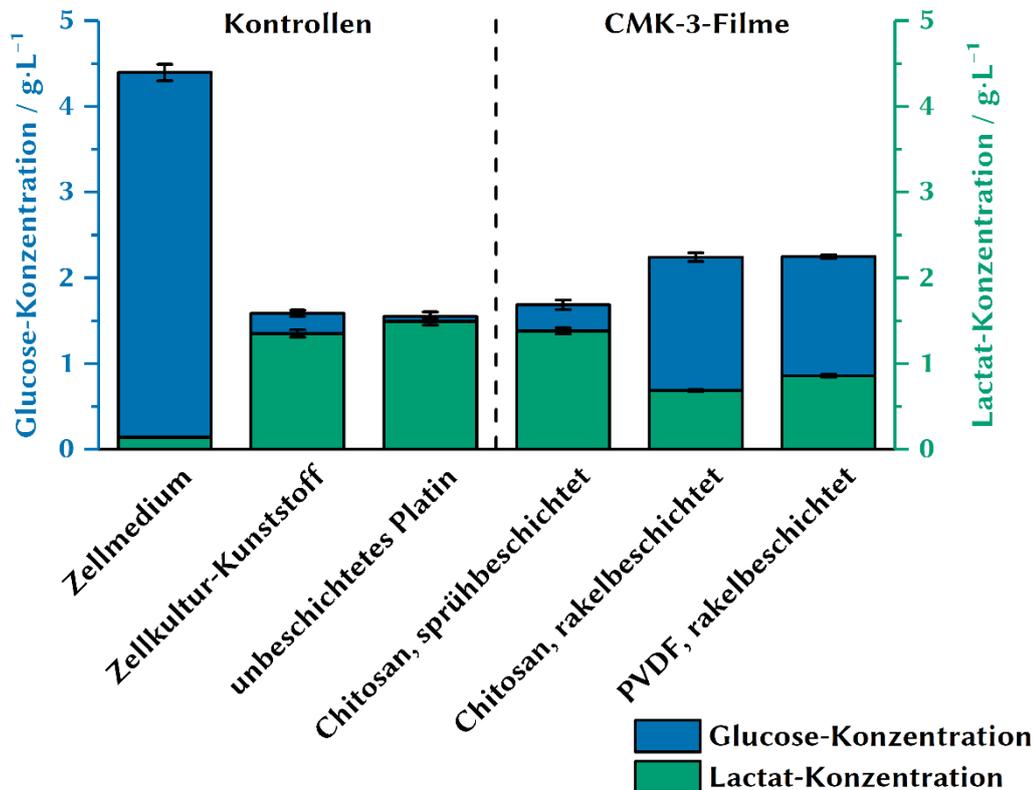


**Abbildung 4.59:** Über das *Pierce-BCA-Protein-Assay* bestimmte Protein-Konzentration in den Humanserum-Lösungen vor und nach der 24-stündigen Inkubation der jeweiligen Proben und Kontrollen. Neben den untersuchten Proben (sprüh- und rakelbeschichtete CMK-3-Chitosan- sowie rakelbeschichtete CMK-3-PVDF-Filme) wurden unbeschichtete Platin-Substrate, Zellkultur-Kunststoff und die Ausgangs-Lösung des Humanserums als Kontrollen verwendet. Zusätzlich dazu wurden die Ausgangs-Lösungen (CMK-3-Chitosan-Dispersion und Chitosan-Lösung), die zur Beschichtung der Proben verwendet wurden, auf ihren Protein-Gehalt hin untersucht. Die rote Linie stellt die Konzentration der reinen Humanserum-Lösung dar.

Der Vergleich der Protein-Konzentration der Humanserum-Lösungen vor und nach der 24-stündigen Inkubation der Kontrollen und Proben zeigt, dass sich die Annahme als falsch erweist, die CMK-3-Filme und insbesondere die rakelbeschichteten Filme würden aufgrund ihrer erhöhten Oberflächen im Vergleich zu den unbeschichteten Platin-Substraten mehr Protein adsorbieren. Die Protein-Konzentration der Humanserum-Lösung ist nach der Inkubation für die Kontrollen (unbeschichtete Platin-Substrate und Zellkultur-Kunststoff) geringer als die Konzentration für die Proben der CMK-3 Filme. Die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme und die rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filme weisen sogar eine leicht erhöhte Protein-Konzentration im Vergleich zur Ausgangslösung des Humanserums auf. Dies lässt sich für die Chitosan-

basierten Beschichtungen, da es sich um ein aus natürlichen Quellen gewonnenes Biopolymer handelt, möglicherweise auf das Vorhandensein anderer Proteine in den Ausgangslösungen, die für die Beschichtungen verwendet wurden, zurückführen. Der Protein-Gehalt ist sowohl für die reine Chitosan-Lösung als auch für die CMK-3-Chitosan-Dispersion zwar sehr gering, kann jedoch möglicherweise zu dem Vorhandensein geringer Mengen an Proteinen innerhalb der Beschichtungen führen, welche während der Inkubation an die Humanserum-Lösung abgegeben werden können. Mit Hilfe des *Pierce-BCA*-Protein-Assays lässt sich nicht zwischen verschiedenen Proteinen in der Lösung unterscheiden, es wird ausschließlich der Gesamt-Protein-Gehalt bestimmt. Ein zu geringer Protein-Gehalt in der Humanserum-Lösung für die Inkubation kann also als Ursache für die geringen Zelldichten der rakelbeschichteten CMK-3-Filme ausgeschlossen werden.

Um weiterhin auszuschließen, dass die erhöhte Adsorption von Glucose aus dem Zellkultur-Medium zu einem verminderten Wachstum der Zellen auf den rakelbeschichteten CMK-3-Filmen führt, wurde sowohl die Glucose-Konzentration als auch die Konzentration des Stoffwechselprodukts der Zellen Lactat vor und nach der Kultivierung ermittelt. Der Vergleich der Konzentrationen dieser beiden Stoffe für die Kontrollen und jeweiligen Proben ist in Abbildung 4.60 dargestellt.



**Abbildung 4.60:** Glucose- und Lactat-Konzentrationen des reinen Zellmediums und der verwendeten Zellmedien nach der 72-stündigen Kultivierung der NIH3T3-Fibroblasten auf verschiedenen CMK-3-Beschichtungen und Kontrollen. Neben den untersuchten Proben (sprüh- und rakelbeschichtete CMK-3-Chitosan- sowie rakelbeschichtete CMK-3-PVDF-Filme) wurden unbeschichtete Platin-Substrate, Zellkultur-Kunststoff sowie das Ausgangs-Zellkultur-Medium als Kontrollen verwendet.

Wie erwartet, ist die Lactat-Konzentration nach der Kultivierung der Zellen höher als im Ausgangs-Zellmedium. Sie steigt von  $0.15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  auf  $0.7$  bis zu  $1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Umgekehrt sinkt die Glucose-Konzentration im Zuge der Kultivierung der Zellen von  $4.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  auf  $1.5$  bis  $2.3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Die Glucose dient den Zellen als Energie- und Kohlenstoff-Lieferant. Im Zuge der sogenannten *Milchsäuregärung* wird die Glucose über den Stoffwechsel der Zellen über das Zwischenprodukt Pyruvat letztlich zu Lactat umgewandelt. Über diesen Prozess beziehen die Zellen die für Zellwachstum und -teilung notwendige Energie. Dementsprechend weisen die ermittelten Glucose- und Lactat-Konzentrationen keine Besonderheiten auf. Die Proben, welche nach der Kultivierung höhere Zelldichten

aufwiesen, zeigen eine größere Abnahme der Glucose-Konzentration und dementsprechend höhere Lactat-Konzentrationen. Für die rakelbeschichteten CMK-3-Filme ist beides weniger ausgeprägt, da auf diesen Beschichtungen eine deutlich geringere Proliferation der Zellen zu beobachten war. Wie bereits nach den Voruntersuchungen zu den Zellkultur-Experimenten mit den CMK-3-Filmen angenommen, wird durch diese weitere Untersuchung bestätigt, dass nicht etwa die Adsorption großer Mengen an Glucose zu einem verminderten Wachstum der Zellen auf diesen Beschichtungen führt.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Serum-Proteine einen positiven Einfluss auf die Zytokompatibilität der Beschichtungen aus nanoporösem Kohlenstoff haben können. Diese Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen kohlenstoff-basierter Nanomaterialien bzw. Nanopartikel aus der Literatur. Die positiven Effekte der Serum-Proteine ließen sich jedoch nur für die dünneren, sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme beobachten. Für die beiden dickeren, rakelbeschichteten Beschichtungen (CMK-3-Chitosan und -PVDF) konnte die Zytokompatibilität gegenüber den getesteten NIH3T3-Fibroblasten mit Hilfe der Serum-Proteine nicht verbessert werden.

#### **4.2.4 Fazit zu den Ergebnissen der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff**

In den vorangegangenen Abschnitten wurden neben der erfolgreichen Synthese und Charakterisierung des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auch die Herstellung von Elektrodenpasten und wässrigen Dispersionen mit Hilfe von Binder-Polymeren beschrieben. Dadurch wurde es möglich, über die Methoden der Sprüh- bzw. Rakelbeschichtung Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auf Platin-Substraten herzustellen. Diese Filme wurden ausführlich hinsichtlich ihrer Morphologie und Zusammensetzung charakterisiert. Des Weiteren wurden die Oberfläche, Benetzungseigenschaften sowie die elektrischen Eigenschaften und die Stabilität der Filme untersucht. Grundlegende Studien hinsichtlich der Zytokompatibilität der Filme aus nanoporösem Kohlenstoff wurden über Zellkulturexperimente mit Fibroblasten durchgeführt.

Die Synthese des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 über das Templat-Verfahren ausgehend vom nanoporösen Silica SBA-15 war erfolgreich und wie erwartet, konnten sowohl Partikelmorphologie als auch Porosität auf den Kohlenstoff übertragen werden. Mit Hilfe der Binder-Polymere Chitosan und PVDF und den dazugehörigen Lösungsmitteln Wasser bzw. NMP konnten Elektrodenpasten mit geeigneter Viskosität für die Methode der Rakelbeschichtung hergestellt werden. Im Falle des Chitosans konnten außerdem stabile niederviskose wässrige Dispersionen des nanoporösen Kohlenstoffs erhalten

werden. Dies ermöglichte, wie bereits für die Filme der Kohlenstoff-Nanoröhren beschrieben (*siehe*: Unterkapitel *Wässrige Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren* in 4.1.1), die Verwendung der automatisierten Sprühbeschichtungsmethode und damit die Herstellung großer Anzahlen an Proben. Über die Methode der Rakelbeschichtung wurden Schichten im Bereich von 30 bis 100  $\mu\text{m}$  erhalten, über die Methode der Sprühbeschichtung deutlich dünnere Schichten im Bereich von 1 bis 5  $\mu\text{m}$ . Über beide Methoden wurden einheitliche, homogene und gut reproduzierbare Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auf Platin-Substraten erhalten. Diese Beschichtungen führten zu einer deutlichen Vergrößerung der Oberfläche der Elektroden. Über Argon-Physisorptionsmessungen konnte dazu noch gezeigt werden, dass auch in den Beschichtungen und unter Einfluss des Binder-Polymers das Porensystem des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 intakt bei unveränderten Porendurchmessern vorlag. Hinsichtlich der Benetzungseigenschaften durch Wasser ließen sich die stark hydrophilen Chitosan-basierten Filme deutlich von den hydrophoben PVDF-basierten unterscheiden. Die Beschichtungen aus nanoporösem Kohlenstoff führten zudem zu einer deutlichen Verbesserung der elektrischen Eigenschaften der Elektroden. Außerdem erwiesen sie sich über lange Zeiträume als äußerst stabil in wässrigen Medien.

Die Zellkulturexperimente der Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 mit zwei unterschiedlichen Fibroblasten-Zelllinien machten deutlich, wie schwierig es ist, eine generelle Aussage über die Zytokompatibilität eines bisher in diese Richtung nicht detailliert untersuchten und in diesem Fall hochporösen Materials zu treffen. Die komplexen Einflüsse der Durchführung auf das Ergebnis der Experimente konnten klar aufgezeigt werden. Die Adsorption von Serum-Proteinen an der Oberfläche der Filme beeinflusst die in den Experimenten erzielte Zelldichte für die Filme des nanoporösen Kohlenstoffs maßgeblich. Dies bestätigt die bereits in der Literatur beschriebenen Beobachtungen für Partikel anderer Kohlenstoff-Materialien.<sup>15,200–203</sup> Somit konnte gezeigt werden, dass nicht nur für Partikel die Bildung einer Protein-Korona Einfluss auf die Zytokompatibilität des Materials nimmt, sondern auch die Adsorption von Proteinen auf der Oberfläche von Filmen. Für die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme konnten durch einen vorherigen Schritt zur Adsorption der Serum-Proteine höhere Zelldichten als für das unbeschichtete Platin erreicht werden. Für die rakelbeschichteten CMK-3-Filme mit höheren Schichtdicken zeigte dies sowohl für Chitosan als auch für PVDF keinen positiven Effekt. So zeigten diese Filme ausnahmslos niedrige Zelldichten. Durch Extraktionsexperimente der Filme konnte außerdem gezeigt werden, dass toxische Effekte eventuell löslicher Bestandteile der Beschichtungen ausgeschlossen werden kön-

nen. Auch ein negativer Einfluss auf die Zellen durch die Adsorption anderer Bestandteile des Zellkulturmediums liegt nicht vor. Die Ergebnisse für die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme sind somit vielversprechend, jedoch nicht eindeutig bzw. zweifelsfrei positiv.



## 5 Zusammenfassung und Ausblick

Mit den enormen Anstrengungen und der herausragenden Arbeit des Exzellenzclusters *Hearing4all* seit seiner Entstehung im Jahr 2012 wird die *Zukunft des Hörens* aktiv gestaltet, um der Vision *Hören für alle* näherzukommen.<sup>2</sup> Als Teil eines Projektes innerhalb dieses Forschungsverbundes war es unter anderem Ziel dieser Forschungsarbeit einen Beitrag dazu zu leisten.

Vor diesem Hintergrund wurde im Rahmen dieser Arbeit die Verwendung der kohlenstoff-basierten Nano-Materialien – Kohlenstoff-Nanoröhren und nanoporöser Kohlenstoff– zur Beschichtung von Edelmetall-Elektroden im Hinblick auf einen Einsatz in neuronalen Implantaten untersucht. Mit dem Fokus auf einer Anwendung dieser Materialien für die Elektroden des Cochlea-Implantats bestand die direkte Verknüpfung zu den Bestrebungen von *Hearing4all*. Die Erforschung des Einsatzes verbesserter und neuer Materialien stellt einen grundlegenden Bestandteil der fortlaufenden Bestrebungen zur Optimierung der Funktionsweise und Stabilität des Cochlea-Implantats dar. Im konkreten Fall der Materialien für das Elektroden-Array des Cochlea-Implantats stehen vor allem die Optimierung ihrer Biokompatibilität sowie ihrer elektrochemischen Eigenschaften im Fokus.<sup>5</sup> Sowohl Kohlenstoff-Nanoröhren als auch nanoporöser Kohlenstoff sind aufgrund ihrer Eigenschaften vielversprechende Kandidaten für diese Bestrebungen. Die Wahl dieser Materialien und die potentielle Anwendung ergaben folgende drei Schwerpunkte bzw. -Fragestellungen für diese Arbeit: Synthese bzw. Modifizierung und Analyse der Kohlenstoff-Materialien, Herstellung und Charakterisierung der Beschichtungen sowie Untersuchungen zur Biokompatibilität der Materialien und ihrer Beschichtungen.

Für die Untersuchungen mit Kohlenstoff-Nanoröhren wurden über eine chemische Aufreinigung und Oberflächenmodifizierung verschiedener unbehandelter Kohlenstoff-Nanoröhren langzeit-stabile wässrige CNT-Dispersionen erhalten (*siehe*: Kapitel 4.1.1). Über die Aufreinigungsprozedur mit konzentrierter Salpetersäure wurden für drei unterschiedliche Typen an CNTs die in den unbehandelten Kohlenstoff-Nanoröhren enthaltenen Katalysator-Partikel erfolgreich entfernt. Über visualisierende Methoden, wie Rasterelektronenmikroskopie, und mittels der Thermogravimetrie wurde eine deutliche Verringerung der anorganischen Bestandteile der vormals unbehandelten CNTs nachgewiesen. Mit Hilfe *Raman*-spektroskopischer Untersuchungen wurde eine Erhöhung der Anzahl der Defekte in der Struktur der CNTs festgestellt und es ergaben sich

Hinweise für eine erfolgreiche Modifizierung mit Carboxyl-Gruppen. Nach dieser Modifizierung war es möglich, von den vormalig undispergierbaren Kohlenstoff-Nanoröhren ohne Einsatz weiterer Dispergierhilfsmittel langzeitstabile wässrige Dispersionen zu erhalten. Die mittels ICP-OES-Analyse ermittelte elementare Zusammensetzung der Dispersionen ergab unterschiedliche Metallgehalte für die drei verschiedenen Typen an CNTs. Die *multi-wall nanotubes* des Herstellers *Bayer* zeigten dabei den geringsten Metallgehalt und die *single-wall nanotubes* des Herstellers *Fraunhofer* den höchsten.

Mit Hilfe dieser Dispersionen war es möglich, über den kosteneffizienten Prozess der automatisierten Sprühbeschichtung Platin-Substrate zu beschichten. Dabei konnte eine große Anzahl an Proben mit guter Reproduzierbarkeit hergestellt werden. Die Filme wiesen eine einheitliche und homogene Bedeckung der Substrat-Oberfläche auf. Es wurden dabei für alle drei Typen an CNTs Schichtdicken um 100 nm bei einer, im Verhältnis zur Schichtdicke betrachtet, hohen Rauheit der Oberfläche von etwa 40 nm erhalten. Die über XPS ermittelte elementare Zusammensetzung der Oberfläche zeigte durch den Sauerstoff-Gehalt ebenfalls Hinweise auf die erfolgreiche Modifizierung der CNTs, während keine weiteren mit dieser Methode detektierbaren Verunreinigungen der ansonsten nur aus Kohlenstoff bestehenden CNTs gefunden werden konnten. Die Beschichtung der Substrate mit den modifizierten Kohlenstoff-Nanoröhren führte zu einer Verbesserung der elektrischen Eigenschaften dieser Filme im Vergleich zu unbeschichteten Platin-Substraten, was, wie oben bereits beschrieben, zum einen die Motivation zur Verwendung der CNTs als auch eines der Ziele im Hinblick auf eine Anwendung für neuronale Elektroden generell bzw. für das Elektroden-Array des Cochlea-Implantats darstellte. Über die Methode der Impedanzspektroskopie konnten für niedrige Frequenzen des Messstroms deutlich verringerte Impedanzen gezeigt werden, was mit aus den Spektren berechneten, um eine Größenordnung höheren normierten Kapazitätswerten für die CNT-Filme einhergeht ( $300\text{--}600\ \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$  im Vergleich zu  $20\text{--}30\ \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$  der unbeschichteten Platin-Elektroden). Zur Untersuchung der generellen Stabilität der Filme wurden Experimente durchgeführt, die eine Stabilität gegenüber Wasser, wässrigen Salzlösungen und Zellkultur-Medien zeigen konnten (vgl.: Seite 126ff in 4.1.2). Hinsichtlich der Stabilität gegenüber mechanischen Belastungen lässt sich konstatieren, dass die CNT-Filme einer normalen Handhabung im Rahmen der Experimente ohne sichtbare Beeinträchtigungen widerstanden. Eine Widerstandsfähigkeit gegenüber stärkeren Belastungen, wie beispielsweise größeren Scherkräften, die bei der Implantation der Cochlea-Elektroden auftreten könnten, muss jedoch angezweifelt werden und bedürfte weiterer Untersuchungen.

Für die Untersuchungen zur Biokompatibilität der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren ergab sich ein differenziertes Bild beim Vergleich der Ergebnisse für die unterschiedlichen Typen an verwendeten CNTs (*siehe*: Kapitel 4.1.3). Eine generell vorteilhafte Zytokompatibilität der CNT-Beschichtungen ergab sich bei den grundlegenden, initialen Zellkulturuntersuchungen mit NIH3T3-Fibroblasten, die auf den CNT-Filmen kultiviert wurden. Hierbei zeigten sowohl die verwendeten *multi wall nanotubes* (MWNTs) als auch die beiden unterschiedlichen Typen von *single wall nanotubes* (SWNTs) eine leicht erhöhte Viabilität und Proliferation der Zellen gegenüber unbeschichtetem Platin, wobei die Werte ebenfalls vergleichbar mit denen des als Referenz verwendeten Zellkultur-Kunststoffes waren (*vgl.* Seite 130ff in 4.1.3). Im Gegensatz dazu zeigten die Zellkulturuntersuchungen, bei denen Spiral-Ganglion-Nervenzellen direkt auf den CNT-Filmen kultiviert wurden, unterschiedliche Ergebnisse für MWNTs und SWNTs. Proben der CNT-Beschichtungen aus SWNTs wiesen signifikant verringerte Anzahlen an SGNs auf verglichen mit denen der MWNT-Beschichtungen und mit unbeschichtetem Platin (*vgl.* Seite 132ff in 4.1.3). Dabei muss vor allem hervorgehoben werden, dass ein positiver Effekt auf die Spiral-Ganglion-Zellen – wie er in der Literatur für andere Typen von CNTs mit anderen Typen von Nervenzellen beobachtet werden konnte – nicht ermittelt werden konnte.<sup>175–177</sup> In diesem Zusammenhang muss berücksichtigt werden, dass es sich bei Spiral-Ganglion-Nervenzellen um extrem sensitive Zellen handelt. Für eine höhere Überlebensrate wären möglicherweise weitere Anreize nötig, wie beispielsweise eine Beschichtung mit *Laminin* oder die Anwesenheit neuroprotektiver Faktoren. Darauf gaben auch weitere Zellkulturexperimente Hinweise, in deren Rahmen CNT-Filme und Referenzproben in Zellkultur-Medium inkubiert wurden, welches später ebenfalls zur Kultivierung von Spiral-Ganglion-Zellen verwendet wurde. Die neuronalen Überlebensraten, die in diesen Experimenten mit den Kulturen der gesammelten Überstände erhalten wurden, lagen deutlich höher als nach der direkten Kultivierung der Neuronen auf den Beschichtungen (*vgl.* Seite 138ff in 4.1.3). Daher kann angenommen werden, dass die behinderte Adhäsion und Differenzierung auf den Substraten – und nicht direkte toxische Effekte – der Hauptgrund für die reduzierte Anzahl von Zellen auf den CNT-beschichteten Proben sind. Dennoch scheint es im Hinblick auf eine generelle Unsicherheit bezüglich medizinischer Anwendungen von CNTs zweifelhaft, ob Anwendungen von CNT-Beschichtungen auf neuronalen Elektroden erfolgreich sein werden, im Speziellen, da nicht vollständig ausgeschlossen werden kann, dass einzelne Kohlenstoff-Nanoröhren sich aus Beschichtungen herauslösen könnten und frei beweglich im Körper vorliegen könnten.<sup>8</sup> In den in dieser Arbeit durchgeführten Unter-

suchungen konnte des Weiteren gezeigt werden, dass Vorsicht bei der Verwendung bewährter biologischer Assays wie der DAPI-Färbung geboten ist, wenn Materialien mit großen und hoch-reaktiven Oberflächen wie *single wall carbon nanotubes* verwendet werden. Aufgrund der großen spezifischen Oberfläche und deren Reaktivität ist es möglich, dass Chemikalien gebunden werden können und somit effektiv aus dem Testsystem entfernt werden.<sup>16,174</sup>

Bei den Arbeiten zu nanoporösen Kohlenstoffen konnte die Synthese des CMK-3 als exemplarisch ausgewählter Vertreter dieser Materialklasse nachvollzogen werden, was eine ausführliche Charakterisierung der Struktur und Eigenschaften des erhaltenen Feststoffes nach sich führte (*siehe*: Seite 143ff in 4.2.1). Über rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen und die Methode der Röntgen-Pulverdiffraktometrie konnte die erfolgreiche Anwendung des Templat-Verfahrens und der damit einhergehenden Erhalt der Partikelmorphologie sowie des Porensystems nachgewiesen werden. Die vollständige Entfernung des Templats und die elementare Zusammensetzung des erhaltenen nanoporösen Kohlenstoffs wurden über die Methoden der Thermogravimetrie und der energiedispersiven Röntgen-Spektrometrie nachgewiesen. Mit Hilfe von Stickstoff-Sorptionsmessungen wurde für den CMK-3 eine spezifische BET-Oberfläche von über  $1200 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , bei einem Porenvolumen von  $1.4 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  und einheitlicher Porenweite von 4.7 und 1.9 nm ermittelt. Zusätzlich dazu erfolgte ein Vergleich des CMK-3 mit einer kommerziell erhältlichen Aktivkohle, die als Vergleichsmaterial bei der Herstellung von Beschichtungen auf der Basis poröser Kohlenstoffe dienen sollte (*siehe*: Seite 150ff in 4.2.1). Der nanoporöse Kohlenstoff CMK-3 wurde erfolgreich dazu verwendet, mit Hilfe der Binder-Polymere Chitosan und PVDF und den dazugehörigen Lösungsmitteln Wasser bzw. NMP Elektrodenpasten mit geeigneter Viskosität für die Methode der Rakelbeschichtung herzustellen. Im Falle des Chitosans gelang es außerdem, stabile, niederviskose, wässrige Dispersionen des nanoporösen Kohlenstoffs zu erhalten. Dies ermöglichte, wie bereits für die Filme der Kohlenstoff-Nanoröhren beschrieben, die Verwendung der automatisierten Sprühbeschichtungsmethode und damit die Herstellung großer Anzahlen an Proben.

Über die Methode der Rakelbeschichtung wurden Schichtdicken im Bereich von 30 bis  $100 \mu\text{m}$  erhalten, über die Methode der Sprühbeschichtung deutlich dünnere Schichten im Bereich von 1 bis  $5 \mu\text{m}$ . Mit beiden Methoden wurden einheitliche, homogene und gut reproduzierbare Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 auf Platin-Substraten erzielt. Die über EDX ermittelte elementare Zusammensetzung der Filme mit porösem Kohlenstoff zeigte neben den für den porösen Kohlenstoff typischen Element-

signalen vor allem die des Binderpolymers und des verwendeten Substrates. Diese Beschichtungen führten zu einer deutlichen Vergrößerung der Oberfläche der Elektroden. Über Argon-Physisorptions-Messungen konnte dazu noch gezeigt werden, dass auch in den Beschichtungen und unter Einfluss des Binder-Polymers das Porensystem des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 bei unveränderten Porendurchmessern intakt vorlag. Hinsichtlich der Benetzungseigenschaften durch Wasser ließen sich die stark hydrophilen Chitosan-basierten Filme deutlich von den hydrophoben PVDF-basierten unterscheiden. Die Beschichtungen aus nanoporösem Kohlenstoff führten zu einer deutlichen Verbesserung der elektrischen Eigenschaften der Elektroden. Wie schon für die CNTs gezeigt wurde, führte die Beschichtung der Platin-Oberfläche in den impedanzspektroskopischen Untersuchungen zu einer Verringerung der Impedanz im niederfrequenten Bereich. Die normierten Kapazitätswerte der Filme mit nanoporösem Kohlenstoff verdeutlichen, wie sich die Vergrößerung der Oberfläche durch die Beschichtungen auf die elektrischen Eigenschaften der Filme auswirkt. Von  $3\,000\ \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$  für die Chitosan-CMK-3-Filme bis zu  $300\,000\ \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$  für rakelbeschichtete Filme mit höheren Schichtdicken wurden um mehrere Größenordnungen höhere Werte im Vergleich zu unbeschichteten Platin-Elektroden erreicht ( $27\ \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ ). Dazu erwiesen sich die Filme über lange Zeiträume als äußerst stabil in wässrigen Medien und ebenso waren nach den Zellkultur-Untersuchungen keine Beeinträchtigungen der Filme sichtbar.

Die Zellkulturexperimente der Filme des nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3 mit zwei unterschiedlichen Fibroblasten-Zelllinien (L929- und NIH3T3-Fibroblasten) zeigte die Komplexität der Aufgabenstellung und wie schwierig es ist, generelle Aussagen über die Zytokompatibilität eines bisher in diese Richtung nicht detailliert untersuchten und in diesem Fall hochporösen Materials zu treffen. Die komplexen Einflüsse der Durchführung auf das Ergebnis der Experimente konnten klar aufgezeigt werden. Die Adsorption von Serum-Proteinen an der Oberfläche der Filme beeinflusst die in den Experimenten erzielte Zelldichte für die Filme des nanoporösen Kohlenstoffs maßgeblich. Dies bestätigt die bereits in der Literatur beschriebenen Beobachtungen für Partikel anderer Kohlenstoff-Materialien.<sup>15,200–203</sup> Somit konnte gezeigt werden, dass nicht nur für Partikel die Bildung einer Protein-Korona Einfluss auf die Zytokompatibilität des Materials nimmt, sondern auch die Adsorption von Proteinen auf der Oberfläche von Filmen. Für die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme konnten durch einen vorherigen Schritt zur Adsorption der Serum-Proteine höhere Zelldichten als für das unbeschichtete Platin erreicht werden. Für die rakelbeschichteten CMK-3-Filme mit höheren Schichtdicken zeigte dies sowohl für Chitosan als auch bei PVDF keinen positiven Effekt. So zeigten diese Filme ausnahmslos niedrige Zelldichten. Durch Extraktionsexperimente der Filme

konnte außerdem gezeigt werden, dass toxische Effekte eventuell löslicher Bestandteile der Beschichtungen ausgeschlossen werden können. Auch ein negativer Einfluss auf die Zellen durch die Adsorption anderer Bestandteile des Zellkulturmediums liegt nicht vor. Die Ergebnisse für die sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme sind somit vielversprechend, jedoch nicht eindeutig bzw. zweifelsfrei positiv.

Wie in dieser Zusammenfassung beschrieben wurde, konnte, im Kontext der potentiellen Anwendung der beiden auf verschiedenen Kohlenstoff-Nanomaterialien basierten Beschichtungen innerhalb des Cochlea-Implantats bzw. in neuronalen Elektroden betrachtet, eine Mehrzahl der Aufgaben- bzw. Fragestellungen positiv beantwortet werden. Neben der erfolgreichen Synthese bzw. Modifizierung der Kohlenstoff-Materialien, die nachfolgende Verwendung zur Beschichtung von Edelmetall-Elektroden ermöglichten, wurden daraus Filme hergestellt, die sich als homogen, reproduzierbar und stabil erwiesen. Diese Beschichtungen führten zu verbesserten elektrischen Eigenschaften der Filme im Vergleich zu denen unbeschichteter Platin-Substrate. In Bezug auf die Biokompatibilität der Materialien bzw. der Filme konnte die Komplexität dieser Fragestellung über verschiedenste Untersuchungen aufgezeigt werden, die sich ebenso in den gegensätzlichen Aussagen der Literatur widerspiegelt. Es wurden weder eindeutig positive noch klar negative Ergebnisse für die CNT-Filme sowie die Filme der nanoporösen Kohlenstoffe erzielt.

Es bedürfte demnach weitergehender intensiver Untersuchungen diesbezüglich auf Basis der in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse. Bei weiteren klar positiven Folgeergebnissen hinsichtlich der Biokompatibilität der Beschichtungen müssten sich demnach Studien anschließen, welche die offen gebliebenen Fragestellungen im Hinblick auf die potentielle Anwendung innerhalb des Cochlea-Implantats gezielt beleuchten. Mit Blick auf die generelle Eignung muss gezeigt werden, ob Mikroelektroden, wie die Elektrodenkontakte des Cochlea-Implantats, über die entwickelte Vorgehensweise ebenso erfolgreich mit den Beschichtungen der beiden Kohlenstoff-Nanomaterialien modifiziert werden können. Außerdem muss gewährleistet sein, dass diese Beschichtungen den Belastungen standhalten, denen die Cochlea-Elektrode bei der Implantation ausgesetzt ist. Dies ist eine entscheidende Frage, die erst beantwortet werden muss, um im Folgenden den Übergang zu *in vivo* durchgeführten Untersuchungen zu ermöglichen. Tierexperimente könnten weiterhin dazu dienen dies zu verifizieren und mit ihnen ließe sich anschließend untersuchen, inwieweit die Optimierung der Materialeigenschaften zu einer wirklichen Verbesserung der Funktion der Elektroden führen könnte. Führen die durch die Beschichtungen verbesserten elektrochemischen Eigenschaften zu vorteilhaften Ergebnissen bei der Stimulation von Nervenzellen? Wirken sich die Beschichtungen der

Elektrodenkontakte positiv auf das Einwachsverhalten des Implantats, eventuelle Reaktionen des Körpers oder bakteriell hervorgerufene Folge-Entzündungen aus?

Des Weiteren ist es vielversprechend für die Beschichtungen des nanoporösen Kohlenstoffs zu untersuchen, inwieweit sich auf Basis der gezeigten hohen Oberflächen der Filme und des über die Synthese des nanoporösen Kohlenstoff einstellbaren Porensystems Freisetzungssysteme für spezifische Wirkstoffe entwickeln lassen. Dies würde es ermöglichen die Funktion der Cochlea-Elektrode, um eine implantat-assoziierte, lokale Wirkstofffreisetzung zu erweitern. Es zeigt sich also weiterhin das Potential, mit Hilfe der in dieser Arbeit entwickelten Beschichtungen aus Kohlenstoff-Nanoröhren und nanoporösem Kohlenstoff die Funktion neuronaler Elektroden, wie der Cochlea-Elektrode, zu verbessern oder sogar ihr Funktionsspektrum zu erweitern.



## 6 Literaturverzeichnis

- (1) Hearing4all - Website: <https://hearing4all.eu/DE/> (Zugriff am Jul 19, 2020).
- (2) Hearing4all - Ergebnisbroschüre: <https://hearing4all.eu/Download/Broschueren/Broschre2017-WEB.pdf> (Zugriff am Jul 19, 2020).
- (3) Lenarz, T.; Boenninghaus, H.-G. *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde*, 14.; Springer-Lehrbuch; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2012.
- (4) Lenarz, T. *Cochlea-Implantat*, 1. Auflage.; Lenarz, T., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 1998.
- (5) Stöver, T.; Lenarz, T. *GMS Curr. Top. Otorhinolaryngol. - Head Neck Surg.* 2009, 8, 1–22.
- (6) Iijima, S. *Nature* 1991, 354 (6348), 56–58.
- (7) Balasubramanian, K.; Burghard, M. *Chemie unserer Zeit* 2005, 39 (1), 16–25.
- (8) Marchesan, S.; Kostarelos, K.; Bianco, A.; Prato, M. *Mater. Today* 2014, 18 (1), 12–19.
- (9) Baranauskas, G.; Maggiolini, E.; Castagnola, E.; Ansaldo, A.; Mazzoni, A.; Angotzi, G. N.; Vato, A.; Ricci, D.; Panzeri, S.; Fadiga, L. *J. Neural Eng.* 2011, 8 (6), 1–12.
- (10) Castagnola, E.; Ansaldo, A.; Fadiga, L.; Ricci, D. *Phys. Status Solidi* 2010, 247 (11–12), 2703–2707.
- (11) Keefer, E. W.; Botterman, B. R.; Romero, M. I.; Rossi, A. F.; Gross, G. W. *Nat. Nanotechnol.* 2008, 3 (7), 434–439.
- (12) Francis, A. P.; Devasena, T. *Toxicol. Ind. Health* 2018, 34 (3), 200–210.
- (13) Liu, Y.; Zhao, Y.; Sun, B.; Chen, C. *Acc. Chem. Res.* 2013, 46 (3), 702–713.
- (14) Smart, S. K.; Cassady, A. I.; Lu, G. Q.; Martin, D. J. *Carbon N. Y.* 2006, 44 (6), 1034–1047.
- (15) Zhu, Y.; Li, W.; Li, Q.; Li, Y.; Li, Y.; Zhang, X.; Huang, Q. *Carbon N. Y.* 2009, 47 (5), 1351–1358.
- (16) Wörle-Knirsch, J. M.; Pulskamp, K.; Krug, H. F. *Nano Lett.* 2006, 6 (6), 1261–1268.
- (17) Qiao, Z.-A.; Huo, Q.-S. In *Modern Inorganic Synthetic Chemistry*; Elsevier, 2017; 389–428.
- (18) Huo, Q. In *Modern Inorganic Synthetic Chemistry*; Elsevier, 2011; 339–373.
- (19) Jeong, Y.; Cui, M.; Choi, J.; Lee, Y.; Kim, J.; Son, Y.; Khim, J. *Chemosphere* 2020, 238.
- (20) Ding, Y.; Li, X.; Pan, H.; Wu, P. *Catal. Letters* 2014, 144 (2), 268–277.
- (21) Safavi, M.; Mahmoud, S.; Kiani, M. A. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 2018, 37 (2), 103–109.
- (22) Yu, K.; Li, J.; Qi, H.; Liang, C. *Diam. Relat. Mater.* 2018, 86, 139–145.
- (23) Karavasili, C.; Amanatiadou, E. P.; Sygellou, L.; Giasafaki, D. K.; Steriotis, T. A.; Charalambopoulou, G. C.; Vizirianakis, I. S.; Fatouros, D. G. *J. Mater. Chem. B* 2013, 1 (25), 3167.
- (24) Bao, S.; Guo, C.; Li, C. *RSC Adv.* 2012, No. 2, 1014–1020.

- (25) Kotov, N. A.; Winter, J. O.; Clements, I. P.; Jan, E.; Timko, B. P.; Campidelli, S.; Pathak, S.; Mazzatenta, A.; Lieber, C. M.; Prato, M.; Bellamkonda, R. V.; Silva, G. A.; Kam, N. W. S.; Patolsky, F.; Ballerini, L. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (40), 3970–4004.
- (26) Fiedeler, U. "Stand der Technik neuronaler Implantate", Wissenschaftlicher Bericht, Forschungszentrum Karlsruhe in der Helmholtz-Gemeinschaft, **2008**.
- (27) Jorfi, M.; Skousen, J. L.; Weder, C.; Capadona, J. R. *J. Neural Eng.* **2015**, *12* (1), 011001.
- (28) Kim, S. J.; Manyam, S. C.; Warren, D. J.; Normann, R. A. *Ann. Biomed. Eng.* **2006**, *34* (2), 300–309.
- (29) Perlmutter, J. S.; Mink, J. W. *Annu. Rev. Neurosci.* **2006**, *29* (1), 229–257.
- (30) Schläpfer, T.; Volkmann, J.; Deuschl, G. *Nervenarzt* **2014**, *85* (2), 135–136.
- (31) Wolpaw, J. R.; Birbaumer, N.; Heetderks, W. J.; McFarland, D. J.; Peckham, P. H.; Schalk, G.; Donchin, E.; Quatrano, L. A.; Robinson, C. J.; Vaughan, T. M. *IEEE Trans. Rehabil. Eng.* **2000**, *8* (2), 164–173.
- (32) Schalk, G.; McFarland, D. J.; Hinterberger, T.; Birbaumer, N.; Wolpaw, J. R. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **2004**, *51* (6), 1034–1043.
- (33) Meyerson, B. A.; Linderoth, B. *J. Pain Symptom Manage.* **2006**, *31* (4 Suppl), 6–12.
- (34) Gesundheit.com: <https://www.gesundheit.com/gesundheit/allgemeine-informationen/1/fremd-im-eigenen-koerper-wenn-die-nerven-verrueckt-spielen> (Zugriff am Feb 27, **2020**).
- (35) Alteheld, N.; Roessler, G.; Walter, P. in *Operative Neuromodulation*; Springer Vienna: Vienna, **2007**; Vol. 97, 487–493.
- (36) Mills, J. O.; Jalil, A.; Stanga, P. E. *Eye* **2017**, *31* (10), 1383–1398.
- (37) Schaarschmidt, M. *Dtsch. Arztebl.* **2013**, *110* (14), 36–39.
- (38) Lim, H. H.; Lenarz, M.; Lenarz, T. *Trends Amplif.* **2009**, *13* (3), 149–180.
- (39) MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH - Indications for MED-EL Cochlear Implants, Middle Ear Implants and Bone Conduction Implants: <http://www.medel.com/indications/> (Zugriff am Nov 23, **2017**).
- (40) MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH - Auditory Brainstem Implant (ABI): <http://www.medel.com/maestro-components-abi/> (Zugriff am Nov 22, **2017**).
- (41) Universitätsspital Zürich - Infos zur CI-Versorgung: <http://www.orl.usz.ch/fachwissen/cochlea-implantat-zentrum/seiten/infos-ci-versorgung.aspx> (Zugriff am Nov 10, **2017**).
- (42) Headley - Family Medicine - Hearing Loss: <http://jesupdoctor.com/services-at-our-jesup-medical-office/hearing-loss/> (Zugriff am Feb 14, **2017**).
- (43) Clarion UK - Cochlear™ Graeme Clark Scholarship Award: <http://www.clarion-uk.com/cochlear-graeme-clark-scholarship-award/> (Zugriff am Nov 10, **2017**).
- (44) Cochlear Deutschland GmbH & Co. KG - Cochlea-Implantat: <http://www.hoerwunder.de/cochlea-implantat/> (Zugriff am Nov 10, **2017**).
- (45) Hör24 - Cochlea Implantat: <https://www.hoer24.de/cochlea-implantat/> (Zugriff am Nov 10, **2017**).
- (46) Dhanasingh, A.; Jolly, C. *Hear. Res.* **2017**, *356*, 93–103.

- (47) MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH - Ensuring a Hearing Future: <http://www.medel.com/de/electrodes/> (Zugriff am Nov 10, 2017).
- (48) Swissmedtech - Cochlear Implantat: <http://www.implantate-schweiz.ch/index.php?id=2039> (Zugriff am Nov 14, 2017).
- (49) Journey into the World of Hearing - Acoustic Trauma: <http://www.cochlea.eu/en/pathology/surdites-neuro-sensorielles/traumatisme-acoustique> (Zugriff am Nov 10, 2017).
- (50) Shibata, S. B.; Budenz, C. L.; Bowling, S. a.; Pfingst, B. E.; Raphael, Y. *Hear. Res.* **2011**, *281* (1–2), 56–64.
- (51) Schmidt, N.; Schulze, J.; Warwas, D. P.; Ehlert, N.; Lenarz, T.; Warnecke, A.; Behrens, P. *PLoS One* **2018**, *13* (3), 1–23.
- (52) Richardson, R. T.; Wise, A. K.; Thompson, B. C.; Flynn, B. O.; Atkinson, P. J.; Fretwell, N. J.; Fallon, J. B.; Wallace, G. G.; Shepherd, R. K.; Clark, G. M.; O’Leary, S. J. *Biomaterials* **2009**, *30* (13), 2614–2624.
- (53) Kranz, K.; Warnecke, A.; Lenarz, T.; Durisin, M.; Kranz, V. S. K.; Scheper, V. *PLoS One* **2014**, *9* (3).
- (54) Lehnhardt, E. in *Teil I: Referate*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1992; 223–233.
- (55) Schlie-Wolter, S.; Deiwick, A.; Fadeeva, E.; Paasche, G.; Lenarz, T.; Chichkov, B. N. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (3), 1070–1077.
- (56) Schulze, J.; Kaiser, O.; Paasche, G.; Lamm, H.; Pich, A.; Hoffmann, A.; Lenarz, T.; Warnecke, A. *PLoS One* **2017**, *12* (5), 1–23.
- (57) Heemeier, T. "Bioimplantate für den Hörbereich", Dissertation, Leibniz Universität Hannover, **2016**.
- (58) Schmidt, N. "Entwicklung von auf nanoporösen Silica-Nanopartikeln basierenden Implantat-assoziierten Freisetzungssystemen für Wachstumsfaktoren", Dissertation, Leibniz Universität Hannover, **2019**.
- (59) Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O’Brien, S. C.; Curl, R. F.; Smalley, R. E. *Nature* **1985**, *318* (6042), 162–163.
- (60) Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S. V.; Jiang, D.; Zhang, Y.; Dubonos, S. V.; Grigorieva, I. V.; Firsov, A. A. *Science* (80-. ). **2004**, *306* (5696), 666–669.
- (61) Geim, A. K.; Novoselov, K. S. *Nat. Mater.* **2007**, *6* (3), 183–191.
- (62) Krueger, A. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1785–1786.
- (63) Iijima, S.; Ichihashi, T. *Nature* **1993**, *363*, 603–605.
- (64) Voge, C. M.; Stegemann, J. P. *J. Neural Eng.* **2011**, *8* (1), 1–10.
- (65) Zhang, R.; Zhang, Y.; Zhang, Q.; Xie, H.; Qian, W.; Wei, F. *ACS Nano* **2013**, *7* (7), 6156–6161.
- (66) Zhu, H. W.; Xu, C. L.; Wu, D. H.; Wei, B. Q.; Vajtai, R.; Ajayan, P. M. *Science* **2002**, *296* (5569), 884–886.
- (67) Thostenson, E. T.; Ren, Z.; Chou, T.-W. *Compos. Sci. Technol.* **2001**, *61* (13), 1899–1912.
- (68) Wu, Y.; Zhang, X.; Leung, A. Y. T.; Zhong, W. *Thin-Walled Struct.* **2006**, *44* (6), 667–676.

- (69) Nessim, G. D. *Nanoscale* **2010**, 2 (8), 1306–1323.
- (70) Li, H. J.; Lu, W. G.; Li, J. J.; Bai, X. D.; Gu, C. Z. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, 95 (8), 1–4.
- (71) Yu, M.-F.; Files, B. S.; Arepalli, S.; Ruoff, R. S. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, 84 (24), 5552–5555.
- (72) Pop, E.; Mann, D.; Wang, Q.; Goodson, K.; Dai, H. *Nano Lett.* **2006**, 6 (1), 96–100.
- (73) Kim, P.; Shi, L.; Majumdar, A.; McEuen, P. L. *Phys. Rev. Lett.* **2001**, 87 (21), 215502-1–215502-4.
- (74) Bronikowski, M. J.; Willis, P. A.; Colbert, D. T.; Smith, K. A.; Smalley, R. E. *J. Vac. Sci. Technol. A Vacuum, Surfaces, Film.* **2001**, 19 (4), 1800–1805.
- (75) Li, Y.; Kim, W.; Zhang, Y.; Rolandi, M.; Wang, D.; Dai, H. *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105 (46), 11424–11431.
- (76) Raty, J. Y.; Gygi, F.; Galli, G. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, 95 (9), 1–4.
- (77) Abild-Pedersen, F.; Nørskov, J. K.; Rostrup-Nielsen, J. R.; Sehested, J.; Helveg, S. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **2006**, 73 (11).
- (78) Ando, Y.; Zhao, X.; Sugai, T.; Kumar, M. *Mater. Today* **2004**, 7 (9), 22–29.
- (79) Tessonnier, J.-P.; Su, D. S. *ChemSusChem* **2011**, 4 (7), 824–847.
- (80) Kukovitsky, E. F.; L'vov, S. G.; Sainov, N. A. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, 317 (1–2), 65–70.
- (81) Wagner, R. S.; Ellis, W. C. *Appl. Phys. Lett.* **1964**, 4 (5), 89–90.
- (82) Rummeli, M. H.; Bachmatiuk, A.; Börrnert, F.; Schäffel, F.; Ibrahim, I.; Cendrowski, K.; Simha-Martynkova, G.; Plachá, D.; Borowiak-Palen, E.; Cuniberti, G.; Büchner, B. *Nanoscale Res. Lett.* **2011**, 6 (1), 303.
- (83) Perea, D. E.; Hemesath, E. R.; Schwalbach, E. J.; Lensch-Falk, J. L.; Voorhees, P. W.; Lauhon, L. J. *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4 (5), 315–319.
- (84) Cheyssac, P.; Sacilotti, M.; Patriarche, G. *J. Appl. Phys.* **2006**, 100 (4).
- (85) Persson, A. I.; Larsson, M. W.; Stenström, S.; Ohlsson, B. J.; Samuelson, L.; Wallenberg, L. R. *Nat. Mater.* **2004**, 3 (10), 677–681.
- (86) Page, A. J.; Chandrakumar, K. R. S.; Irlle, S.; Morokuma, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (3), 621–628.
- (87) Lu, J.; Miao, J. *Nanoscale Res. Lett.* **2012**, 7 (1), 356.
- (88) Tasis, D.; Tagmatarchis, N.; Bianco, A.; Prato, M. *Chem. Rev.* **2006**, 106 (3), 1105–1136.
- (89) Tans, S. J.; Verschueren, A. R. M.; Dekker, C. *Nature* **1998**, 393 (6680), 49–52.
- (90) Noyce, S. G.; Doherty, J. L.; Cheng, Z.; Han, H.; Bowen, S.; Franklin, A. D. *Nano Lett.* **2019**, 19 (3), 1460–1466.
- (91) Javey, A.; Guo, J.; Wang, Q.; Lundstrom, M.; Dai, H. *Nature* **2003**, 424 (6949), 654–657.
- (92) Kong, J.; Franklin, N. R.; Zhou, C.; Chapline, M. G.; Peng, S.; Cho, K.; Dai, H. *Science (80- )*. **2000**, 287 (5453), 622–625.
- (93) Besteman, K.; Lee, J. O.; Wiertz, F. G. M.; Heering, H. A.; Dekker, C. *Nano Lett.* **2003**, 3 (6), 727–730.

- (94) Baleizão, C.; Gigante, B.; Garcia, H.; Corma, A. *J. Catal.* **2004**, *221* (1), 77–84.
- (95) Yao, Z.; Braid, N.; Botton, G. A.; Adronov, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (51), 16015–16024.
- (96) Wong, S. S.; Joselevich, E.; Woolley, A. T.; Cheung, C. L.; Lieber, C. M. *Nature* **1998**, *394* (6688), 52–55.
- (97) Moaiyeri, M. H.; Rahi, A.; Sharifi, F.; Navi, K. *J. Appl. Res. Technol.* **2017**, *15* (3), 233–241.
- (98) Zhang, Q.; Huang, J.-Q.; Qian, W.-Z.; Zhang, Y.-Y.; Wei, F. *Small* **2013**, *9* (8), 1237–1265.
- (99) Baughman, R. H.; Zakhidov, A. a.; de Heer, W. a. *Science* **2002**, *297* (5582), 787–792.
- (100) Liu, Z.; Tabakman, S.; Welsher, K.; Dai, H. *Nano Res.* **2009**, *2* (2), 85–120.
- (101) Heister, E.; Brunner, E. W.; Dieckmann, G. R.; Jurewicz, I.; Dalton, A. B. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (6), 1870–1891.
- (102) He, H.; Pham-Huy, L. A.; Dramou, P.; Xiao, D.; Zuo, P.; Pham-Huy, C. *Biomed Res. Int.* **2013**, *2013*.
- (103) Madani, S. Y.; Naderi, N.; Dissanayake, O.; Tan, A.; Seifalian, A. M. *Int. J. Nanomedicine* **2011**, *6*, 2963–2979.
- (104) Aldinucci, A.; Turco, A.; Biagioli, T.; Toma, F. M.; Bani, D.; Guasti, D.; Manuelli, C.; Rizzetto, L.; Cavalieri, D.; Massacesi, L.; Mello, T.; Scaini, D.; Bianco, A.; Ballerini, L.; Prato, M.; Ballerini, C. *Nano Lett.* **2013**, *13* (12), 6098–6105.
- (105) Fabbro, A.; Sucapane, A.; Toma, F. M.; Calura, E.; Rizzetto, L.; Carrieri, C.; Roncaglia, P.; Martinelli, V.; Scaini, D.; Masten, L.; Turco, A.; Gustincich, S.; Prato, M.; Ballerini, L. *PLoS One* **2013**, *8* (8), e73621.
- (106) Kim, Y. G.; Kim, J. W.; Pyeon, H. J.; Hyun, J. K.; Hwang, J.-Y.; Choi, S.-J.; Lee, J.-Y.; Deák, F.; Kim, H.-W.; Lee, Y. Il. *J. Biomater. Appl.* **2014**, *28* (5), 790–797.
- (107) Jin, H.; Heller, D. A.; Strano, M. S. *Nano Lett.* **2008**, *8* (6), 1577–1585.
- (108) Ku, S. H.; Lee, M.; Park, C. B. *Adv. Healthc. Mater.* **2013**, *2* (2), 244–260.
- (109) Park, S. Y.; Choi, D. S.; Jin, H. J.; Park, J.; Byun, K.; Lee, K.; Hong, S. *ACS Nano* **2011**, *5* (6), 4704–4711.
- (110) Xie, J.; Chen, L.; Aatre, K. R.; Srivatsan, M.; Varadan, V. K. *Smart Mater. Struct.* **2006**, *15* (4), N85–N88.
- (111) Magrez, A.; Kasas, S.; Salicio, V.; Pasquier, N.; Seo, J. W.; Celio, M.; Catsicas, S.; Schwaller, B.; Forró, L. *Nano Lett.* **2006**, *6* (6), 1121–1125.
- (112) Rouquerol, J.; Avnir, D.; Fairbridge, C. W.; Everett, D. H.; Haynes, J. M.; Pernicone, N.; Ramsay, J. D. F.; Sing, K. S. W.; Unger, K. K. *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66* (8), 1739–1758.
- (113) Jun, S.; Joo, S. H.; Ryoo, R.; Kruk, M.; Jaroniec, M.; Liu, Z.; Ohsuna, T.; Terasaki, O. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (43), 10712–10713.
- (114) Nettelroth, D. "Herstellung, Charakterisierung und Evaluation von Elektroden auf Basis geordnet-mesoporöser Kohlenstoffmaterialien für die Anwendung in Zink-Luft-Batterien", Dissertation, Leibniz Universität Hannover, **2018**.
- (115) Heinroth, F. "Mesoporöse Materialien: Nano-Casting und dreidimensionale Strukturierung", Dissertation, Leibniz Universität Hannover, **2008**.

- (116) Schüth, F. *Angew. Chemie* **2003**, *115* (31), 3730–3750.
- (117) Ryoo, R.; Hoon Joo, S. in *Studies in Surface Science and Catalysis*; Elsevier, **2004**; Vol. 148, 241–260.
- (118) Kwon, M.-S.; Choi, A.; Park, Y.; Cheon, J. Y.; Kang, H.; Jo, Y. N.; Kim, Y.-J.; Hong, S. Y.; Joo, S. H.; Yang, C.; Lee, K. T. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 7404.
- (119) Kresge, C. T.; Leonowicz, M. E.; Roth, W. J.; Vartuli, J. C.; Beck, J. S. *Nature* **1992**, *359* (6397), 710–712.
- (120) Kruk, M.; Jaroniec, M.; Ko, C. H.; Ryoo, R. *Chem. Mater.* **2000**, *12* (7), 1961–1968.
- (121) Zhao, D.; Sun, J.; Li, Q.; Stucky, G. D. *Chem. Mater.* **2000**, *12* (2), 275–279.
- (122) Tan, I. A. W.; Ahmad, A. L.; Hameed, B. H. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *154* (1–3), 337–346.
- (123) Vinu, A.; Hossain, K. Z.; Satish Kumar, G.; Ariga, K. *Carbon N. Y.* **2006**, *44* (3), 530–536.
- (124) Kuppam, B.; Selvam, P. *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.* **2012**, *22* (6), 616–623.
- (125) Hu, L.; Dang, S.; Yang, X.; Dai, J. *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *147* (1), 188–193.
- (126) Lo, A. Y.; Jheng, Y.; Huang, T. C.; Tseng, C. M. *Appl. Energy* **2015**, *153*, 15–21.
- (127) Yan, K.; Sun, X.; Ying, S.; Cheng, W.; Deng, Y.; Ma, Z.; Zhao, Y.; Wang, X.; Pan, L.; Shi, Y. *Sci. Rep.* **2020**, *10* (1), 6227.
- (128) Decaux, C.; Matei Ghimbeu, C.; Dahbi, M.; Anouti, M.; Lemordant, D.; Béguin, F.; Vix-Guterl, C.; Raymundo-Piñero, E. *J. Power Sources* **2014**, *263*, 130–140.
- (129) Saikia, D.; Wang, T. H.; Chou, C. J.; Fang, J.; Tsai, L. D.; Kao, H. M. *RSC Adv.* **2015**, *5* (53), 42922–42930.
- (130) Zhang, L.; Chai, L.; Qu, Q.; Zhang, L.; Shen, M.; Zheng, H. *Electrochim. Acta* **2013**, *105*, 378–383.
- (131) Rassaei, L.; Bonne, M. J.; Sillanpää, M.; Marken, F. **2008**, 1253–1258.
- (132) Qu, Y.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Ren, G.; Wang, X.; Lai, Y.; Liu, Y.; Li, J. *Electrochim. Acta* **2014**, *137*, 439–446.
- (133) Kim, T. W.; Chung, P. W.; Slowing, I. I.; Tsunoda, M.; Yeung, E. S.; Lin, V. S. Y. *Nano Lett.* **2008**, *8* (11), 3724–3727.
- (134) Kochana, J.; Wapiennik, K.; Knihnicki, P.; Pollap, A.; Janus, P.; Oszejca, M.; Kuśtrowski, P. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408* (19), 5199–5210.
- (135) Hou, P.-X.; Liu, C.; Cheng, H.-M. *Carbon N. Y.* **2008**, *46* (15), 2003–2025.
- (136) Hu, H.; Zhao, B.; Itkis, M. E.; Haddon, R. C. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107* (50), 13838–13842.
- (137) Anto, B. T.; Schwarz, H.-C.; Eiden, S.; Schneider, A. M.; Behrens, P. *Phys. Status Solidi A* **2016**, *9*, 1–9.
- (138) Zhao, D. *Science* **1998**, *279* (5350), 548–552.
- (139) Guo, J.; Wang, C. *Chem. Commun. (Camb)*. **2010**, *46* (9), 1428–1430.
- (140) Marks, T.; Trussler, S.; Smith, A. J.; Xiong, D.; Dahn, J. R. *J. Electrochem. Soc.* **2011**, *158* (1), A51.

- (141) Warnecke, A.; Wissel, K.; Hoffmann, A.; Hofmann, N.; Berkingali, N.; Groß, G.; Lenarz, T.; Stöver, T. *Neuroreport* **2007**, *18* (16), 16–19.
- (142) Wefstaedt, P.; Scheper, V.; Lenarz, T.; Stöver, T. *Neuroreport* **2005**, *16* (18), 19–22.
- (143) Gillespie, L. N.; Clark, G. M.; Bartlett, P. F.; Marzella, P. L. *Neuroreport* **2001**, *12* (2), 275–279.
- (144) Bortz, J.; Döring, N. *Forschungsmethoden und Evaluation*; Springer-Lehrbuch; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2002**.
- (145) Sabnis, R. W. *Handbook of Biological Dyes and Stains*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, **2010**.
- (146) Pimenta, M. A.; Dresselhaus, G.; Dresselhaus, M. S.; Cançado, L. G.; Jorio, A.; Saito, R. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9* (11), 1276–1291.
- (147) Dresselhaus, M. S.; Dresselhaus, G.; Saito, R.; Jorio, A. *Phys. Rep.* **2005**, *409* (2), 47–99.
- (148) Ferrari, A. C.; Basko, D. M. *Nat. Nanotechnol.* **2013**, *8* (4), 235–246.
- (149) Cançado, L. G.; Takai, K.; Enoki, T.; Endo, M.; Kim, Y. A.; Mizusaki, H.; Jorio, A.; Coelho, L. N.; Magalhães-Paniago, R.; Pimenta, M. a. *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *88* (2006), 1–4.
- (150) Endo, M.; Kim, Y. A.; Fukai, Y.; Hayashi, T.; Terrones, M.; Terrones, H.; Dresselhaus, M. S. *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *79* (10), 1531–1533.
- (151) Hussain, S. *J. Mod. Phys.* **2011**, *02* (06), 538–543.
- (152) Yang, K. X.; Kitto, M. E.; Orsini, J. P.; Swami, K.; Beach, S. E. *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25* (8), 1290–1297.
- (153) Speiser, B. *Chemie unserer Zeit* **1981**, *15* (1), 21–26.
- (154) Speiser, B. *Chemie unserer Zeit* **1981**, *15* (2), 62–67.
- (155) Ende, D.; Mangold, K. *Chemie unserer Zeit* **1993**, *27* (3), 134–140.
- (156) Vetter, K. J. *Elektrochemische Kinetik*; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, **1961**.
- (157) Koch, D. L. *J. Electrochem. Soc.* **1991**, *138* (2), 475.
- (158) Bates, J. B. *Solid State Ionics* **1988**, *28–30*, 1388–1395.
- (159) Macdonald, J. *Ann. Biomed. Eng.* **1992**, *20*, 289–305.
- (160) Heinze, J. *Angew. Chemie* **1984**, *96* (11), 823–840.
- (161) Hamann, C. H.; Vielstich, W. *Elektrochemie*, 4.; Wiley-VCH: Weinheim, **2005**.
- (162) Brüggemann, D. "Nanostrukturierte Metallelektroden zur funktionalen Kopplung an neuronale Zellen", Dissertation, Forschungszentrum Jülich, **2010**.
- (163) Ferrari, A. C. *Solid State Commun.* **2007**, *143* (1–2), 47–57.
- (164) Vaisman, L.; Wagner, H. D.; Marom, G. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2006**, *128–130* (2006), 37–46.
- (165) Nanocyl SA. - Research grades NC1101: <http://www.nanocyl.com/wp-content/uploads/2016/07/Technical-Data-Sheet-NC1101-V01.pdf> (Zugriff am Aug 3, **2017**).
- (166) Yoon, I.; Hamaguchi, K.; Borzenets, I. V.; Finkelstein, G.; Mooney, R.; Donald, B. R. *PLoS One* **2013**, *8* (6), e65715.

- (167) Schröper, F.; Brüggemann, D.; Mourzina, Y.; Wolfrum, B.; Offenhäusser, A.; Mayer, D. *Electrochim. Acta* **2008**, *53* (21), 6265–6272.
- (168) Sluyters-Rehbach, M. *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66* (9), 1831–1891.
- (169) Chen, C.-H.; Su, H.-C.; Chuang, S.-C.; Yen, S.-J.; Chen, Y.-C.; Lee, Y.-T.; Chen, H.; Yew, T.-R.; Chang, Y.-C.; Yeh, S.-R.; Yao, D.-J. *Nanotechnology* **2010**, *21* (48), 485501.
- (170) Brüggemann, D.; Wolfrum, B.; Maybeck, V.; Mourzina, Y.; Jansen, M.; Offenhäusser, A. *Nanotechnology* **2011**, *22* (26), 265104.
- (171) Burbliès, N. "Leitfähige biokompatible Beschichtungen auf der Basis von Kohlenstoff-Nanoröhren", Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, **2013**.
- (172) Boström, M.; Anderson, M.; Lindholm, D.; Park, K.-H.; Schrott-Fischer, A.; Pfaller, K.; Glueckert, R.; Rask-Andersen, H. *Otol. Neurotol.* **2007**, *28* (8), 1109–1119.
- (173) Liu, W.; Glueckert, R.; Linthicum, F. H.; Rieger, G.; Blumer, M.; Bitsche, M.; Pechriggl, E.; Rask-Andersen, H.; Schrott-Fischer, A. *Cell Tissue Res.* **2014**, *355* (2), 267–278.
- (174) Krug, H. F. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53*, 12304–12319.
- (175) Mattson, M. P.; Haddon, R. C.; Rao, A. M. *J. Mol. Neurosci.* **2000**, *14*, 175–182.
- (176) Bareket-Keren, L.; Hanein, Y. *Front. Neural Circuits* **2012**, *6* (122), 1–16.
- (177) Belyanskaya, L.; Weigel, S.; Hirsch, C.; Tobler, U.; Krug, H. F.; Wick, P. *Neurotoxicology* **2009**, *30*, 702–711.
- (178) Nettelroth, D.; Schwarz, H.-C.; Burbliès, N.; Guschanski, N.; Behrens, P. *Phys. Status Solidi A* **2015**, *8* (6), 1395–1402.
- (179) Nakajima, T. *J. Fluor. Chem.* **1999**, *100* (1–2), 57–61.
- (180) Thommes, M.; Kaneko, K.; Neimark, A. V.; Olivier, J. P.; Rodriguez-Reinoso, F.; Rouquerol, J.; Sing, K. S. W. *Pure Appl. Chem.* **2015**, *87* (9–10), 1051–1069.
- (181) Thommes, M.; Cychosz, K. A. *Adsorption* **2014**, 233–250.
- (182) Gor, G. Y.; Thommes, M.; Cychosz, K. A.; Neimark, A. V. *Carbon N. Y.* **2012**, *50* (4), 1583–1590.
- (183) Chen, Z.; Christensen, L.; Dahn, J. R. *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150* (8), A1073.
- (184) Gao, Y. *Nanoscale Res. Lett.* **2017**, *12* (1), 387.
- (185) Vix-Guterl, C.; Frackowiak, E.; Jurewicz, K.; Friebe, M.; Parmentier, J.; Béguin, F. *Carbon N. Y.* **2005**, *43* (6), 1293–1302.
- (186) Lux, S. F.; Schappacher, F.; Balducci, A.; Passerini, S.; Winter, M. *J. Electrochem. Soc.* **2010**, *157* (3), A320.
- (187) Rieck genannt Best, F. "Beschichtung von Platinelektroden mit nanoporösen Kohlenstoffen", Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, **2015**.
- (188) Youssef, A. M.; Bishay, A. F.; Hammad, F. H. *Surf. Technol.* **1979**, *9* (5), 365–370.
- (189) Neimark, A. V.; Lin, Y.; Ravikovitch, P. I.; Thommes, M. *Carbon N. Y.* **2009**, *47* (7), 1617–1628.
- (190) Thommes, M.; Cychosz, K. A.; Neimark, A. V. in *Novel Carbon Adsorbents*; Elsevier, **2012**; 107–145.

- 
- (191) Thommes, M.; Köhn, R.; Fröba, M. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104* (33), 7932–7943.
- (192) Cruz, J.; Kawasaki, M.; Gorski, W. *Anal. Chem.* **2000**, *72* (4), 680–686.
- (193) Fontananova, E.; Bahattab, M. A.; Aljlil, S. A.; Alowairdy, M.; Rinaldi, G.; Vuono, D.; Nagy, J. B.; Drioli, E.; Di Profio, G. *RSC Adv.* **2015**, *5* (69), 56219–56231.
- (194) Wang, F.; Xu, Y. H.; Luo, Z. K.; Pang, Y.; Wu, Q. X.; Liang, C. S.; Chen, J.; Liu, D.; Zhang, X. H. *J. Power Sources* **2014**, *272*, 1061–1071.
- (195) Wang, K.; Fishman, H. A.; Dai, H.; Harris, J. S. *Nano Lett.* **2006**, *6* (9), 2043–2048.
- (196) Du, X.; Wu, L.; Cheng, J.; Huang, S.; Cai, Q.; Jin, Q.; Zhao, J. *J. Biol. Phys.* **2015**, *41* (4), 339–347.
- (197) Kostarelos, K.; Vincent, M.; Hebert, C.; Garrido, J. A. *Adv. Mater.* **2017**, *29* (42), 1–7.
- (198) Zhu, Y.; Zhang, X.; Zhu, J.; Zhao, Q.; Li, Y.; Li, W.; Fan, C.; Huang, Q. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13* (10), 12336–12348.
- (199) Zhang, B.; Wei, P.; Zhou, Z.; Wei, T. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *105*, 145–162.
- (200) Bhattacharya, K.; Mukherjee, S. P.; Gallud, A.; Burkert, S. C.; Bistarelli, S.; Bellucci, S.; Bottini, M.; Star, A.; Fadeel, B. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2016**, *12* (2), 333–351.
- (201) Kreyling, W. G.; Fertsch-Gapp, S.; Schäffler, M.; Johnston, B. D.; Haberl, N.; Pfeiffer, C.; Diendorf, J.; Schleh, C.; Hirn, S.; Semmler-Behnke, M.; Epple, M.; Parak, W. J. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2014**, *5* (1), 1699–1711.
- (202) Sopotnik, M.; Leonardi, A.; Križaj, I.; Dušak, P.; Makovec, D.; Mesarič, T.; Ulrih, N. P.; Junkar, I.; Sepčić, K.; Drobne, D. *Carbon N. Y.* **2015**, *95*, 560–572.
- (203) Ge, C.; Du, J.; Zhao, L.; Wang, L.; Liu, Y.; Li, D.; Yang, Y.; Zhou, R.; Zhao, Y.; Chai, Z.; Chen, C. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108* (41), 16968–16973.
- (204) Morris, R. E.; Wheatley, P. S. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2008**, *47* (27), 4966–4981.
- (205) Bandosz, T. J. *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation*, 1st Edition; Elsevier Ltd.: New York, **2006**.

## 7 Anhang

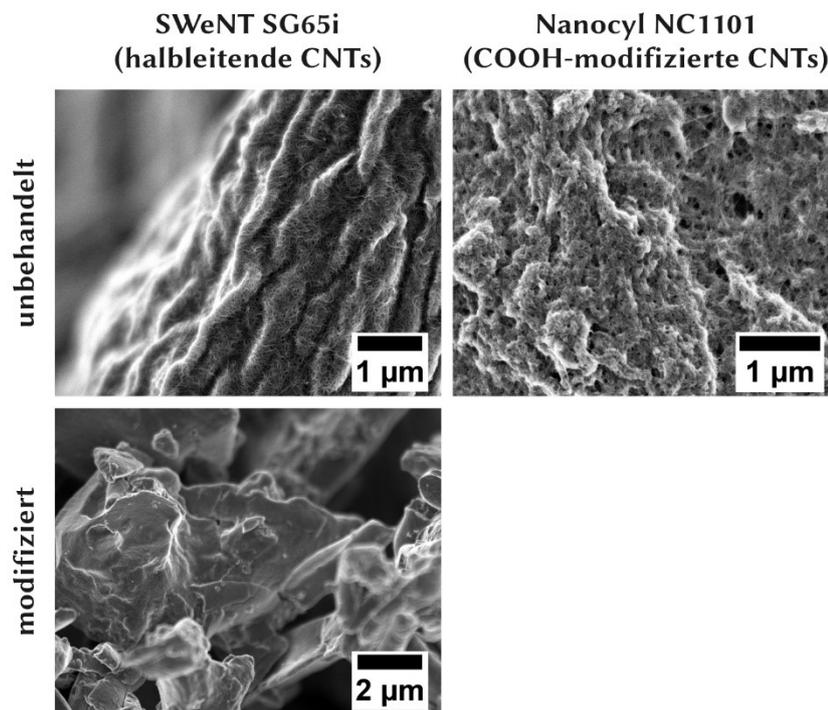
### 7.1 Ergänzende Abbildungen

Die ergänzenden Abbildungen sind chronologisch nach ihrer Erwähnung in der Arbeit sortiert.

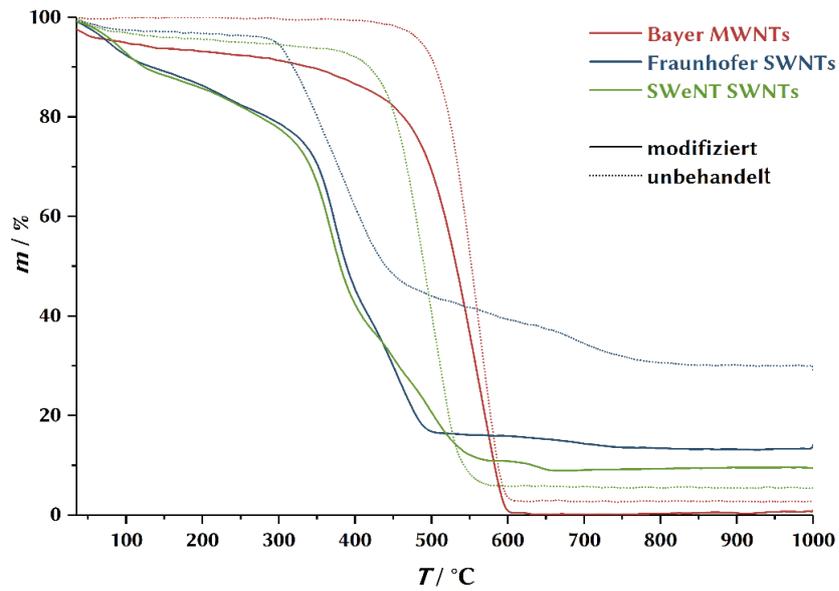
Program for TT  
[Fig. 8]

No	E	N	Cnd	Cmnd	Operand 1	Operand 2	Pat	Comment
1								
2				ACC	0,3			main program
3				VEL	150			Beschleunigung
4				MVLI	350			Geschwindigkeit
5								Hochfahren
6				LET	1	0		Var Wiederholungen
7				DWNE	1	125		Zahl Wiederholungen
8				EXGR	1			Spray Horizontal
9				EXGR	2			Spray Vertikal
10				ADD	1	1		Schleifenzähler
11				EDDO				
12								
13				PATH	350	351		Back to start
14				EXIT				
15								
16								subprogram 1
17				BGSR	1			Spray Horizontal
18				PATH	351	352		Start Horizontal
19				LET	2	0		Var Zeilen
20								
21				DWNE	2	3		Zahl Zeilen
22				BTON	316			
23				MVLI	353			Länge Zeile +
24				BTOP	316			
25				MVLI	354			Länge Zeile -
26				MVLI	355			Nächste Zeile
27				ADD	2	1		
28				EDDO				
29								
30				PATH	351	352		back to start hori
31				MVLI	353			Seitenwechsel
32				DWNE	2	0		
33				BTON	316			
34				MVLI	354			Länge Zeile -
35				BTOP	316			
36				MVLI	353			Länge Zeile +
37				MVLI	355			Nächste Zeile
38				SUB	2	1		Schleifenzähler
39				EDDO				
40								
41								
42				EDGR				end subprogram 1
43								
44								subprogram 2
45				BGSR	2			Spray Vertikal
46				MVLI	356			Start Vertikal
47				MVLI	352			Spray Höhe
48				LET	3	0		Var Spalten
49								
50				DWNE	3	5		Zahl Spalten
51				BTON	316			
52				MVLI	357			Länge Spalte +
53				BTOP	316			
54				MVLI	358			Länge Spalte -
55				MVLI	359			Nächste Spalte
56				ADD	3	1		Schleifenzähler
57				EDDO				
58								
59				MVLI	356			back to start vert
60				MVLI	352			Spray Höhe
61				MVLI	357			Seitenwechsel
62				DWNE	3	0		
63				BTON	316			
64				MVLI	358			Länge Spalte -
65				BTOP	316			
66				MVLI	357			Länge Spalte +
67				MVLI	359			Nächste Spalte
68				SUB	3	1		Schleifenzähler
69				EDDO				
70								
71				EDGR				end subprogram 2

Abbildung 7.1: Programm-Code des Prozesses zur Beschichtung von 15 quadratischen Substraten mit dem Sprüh-Roboter.



**Abbildung 7.2:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der unbehandelten (*links oben*) und modifizierten (*links unten*) Kohlenstoff-Nanoröhren des Typs SG65i vom Hersteller SWeNT sowie der vom Hersteller Nanocyl bereits COOH-modifizierten CNTs NC1101 (*rechts oben*). Laut Herstellerangaben handelt es sich bei den Kohlenstoff-Nanoröhren des Typs SG65i um halbleitende CNTs. Nach dem Aufreinigungs- bzw. Modifizierungsprozess sind keine einzelnen Nanoröhren mehr zu erkennen. Die Säurebehandlung scheint die CNTs zerstört zu haben.



**Abbildung 7.3:** Thermogravimetrische Messungen der CNT-Feststoffe vor (*gepunktete Linien*) und nach (*durchgezogene Linien*) der Säure-Behandlung zur Modifizierung und Aufreinigung. Diese Messungen wurden verwendet um die Masse des Rückstandes nach der thermischen Behandlung bis 1000 °C im Luftstrom zu bestimmen.

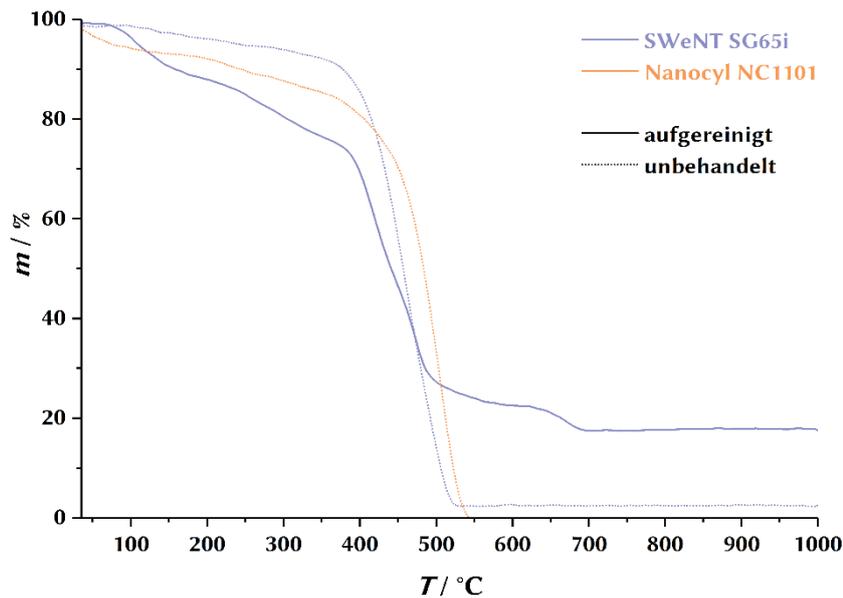


Abbildung 7.4: Thermogravimetrische Messungen des CNT-Feststoffes SWeNT SG65i (halbleitende SWNTs) vor (*gepunktete Linien*) und nach (*durchgezogene Linien*) der Säure-Behandlung zur Modifizierung und Aufreinigung sowie den bereits vom Hersteller COOH-modifizierten SWNTs Nanocyl NC1101. Diese Messungen wurden verwendet um die Masse des Rückstandes nach der thermischen Behandlung bis 1000 °C im Luftstrom zu bestimmen.

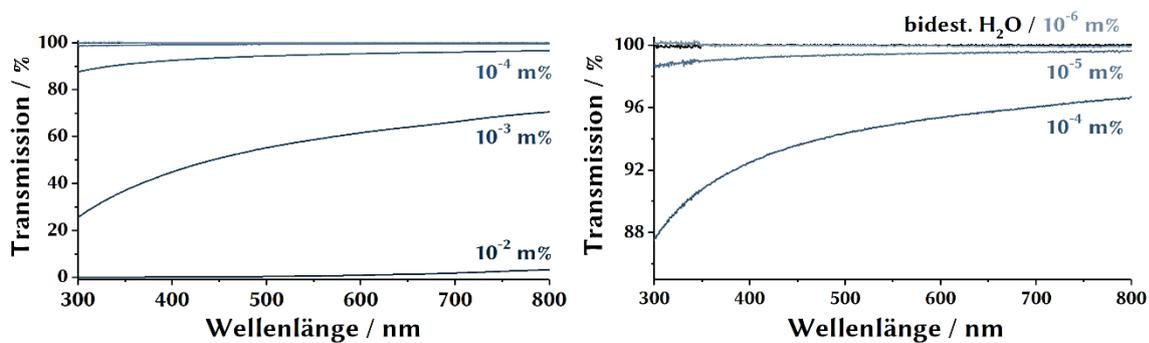
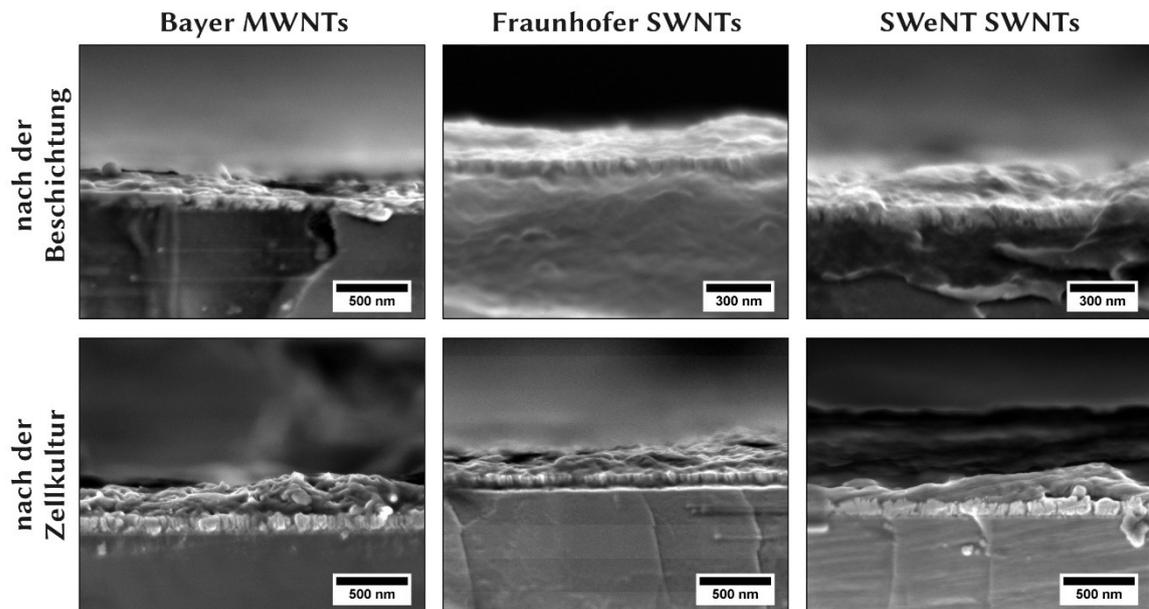
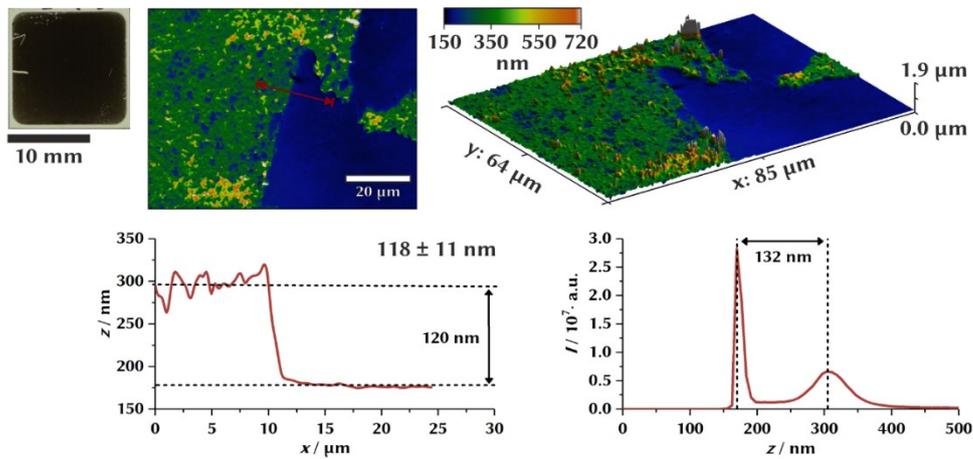


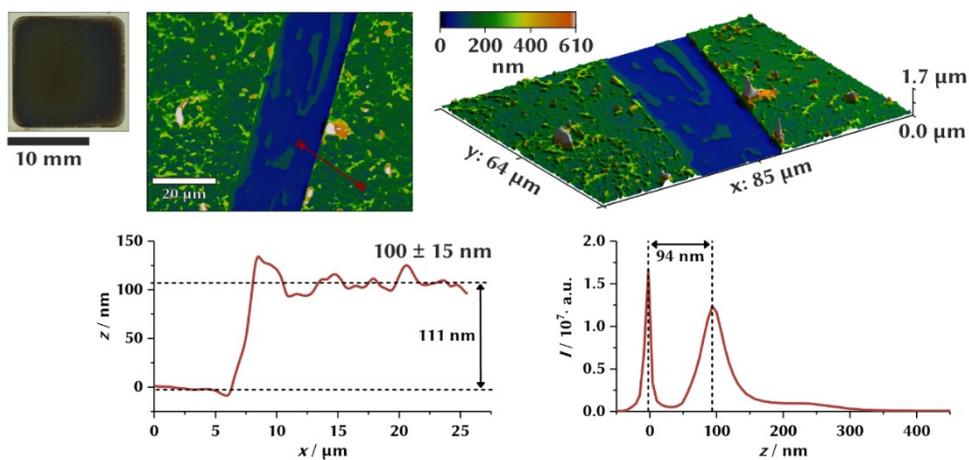
Abbildung 7.5: UV-Vis-Spektren wässriger Dispersionen aus Kohlenstoff-Nanoröhren unterschiedlicher CNT-Massenanteile. Die Transmission des Lichtes wird nahezu über den gesamten betrachteten Wellenlängenbereich des Lichtes abgeschwächt. Maxima bzw. Minima sind nicht vorhanden. Der Grad der Abschwächung nimmt mit sinkender Konzentration ab. Bei einer Massenkonzentration der CNTs von  $10^{-6}$  m% ist das Spektrum nicht mehr von dem des Reinstwasser unterscheidbar.



**Abbildung 7.6:** Rasterelektronenmikroskopische Querschnittsaufnahmen der Filme aus Kohlenstoff-Nanoröhren auf den Platin-Substraten zur Bestimmung der Schichtdicke nach der Beschichtung (*oben*) und nach den Zellkultur-Untersuchungen (*unten*): Bayer MWNTs, Fraunhofer SWNTs, SWeNT SWNTs (*von links nach rechts*). Die Vergleiche zwischen vor und nach den Zellkultur-Experimenten lassen keine Unterschiede in den Schichtdicken erkennen.



**Abbildung 7.7:** Darstellung der konfokalmikroskopischen Aufnahme eines CNT-beschichteten Platin-Substrates (Bayer MWNTs) zur Bestimmung der Schichtdicke. Es sind sowohl eine lichtmikroskopische Aufnahme der gesamten Probe (*oben links*) als auch die Darstellungen der konfokalmikroskopischen Aufnahme in zwei-dimensionaler Aufsicht (*oben mittig*) sowie als drei-dimensionale Projektion (*oben rechts*) abgebildet. Außerdem sind ein beispielhaftes Höhenprofil (*unten links*) an einer erzeugten Kante und ein Histogramm der Höheninformationen der gemessenen Datenpunkte (*unten rechts*) dargestellt.



**Abbildung 7.8:** Darstellung der konfokalmikroskopischen Aufnahme eines CNT-beschichteten Platin-Substrates (Fraunhofer SWNTs) zur Bestimmung der Schichtdicke. Es sind sowohl eine lichtmikroskopische Aufnahme der gesamten Probe (*oben links*) als auch die Darstellungen der konfokalmikroskopischen Aufnahme in zwei-dimensionaler Aufsicht (*oben mittig*) sowie als drei-dimensionale Projektion (*oben rechts*) abgebildet. Außerdem sind ein beispielhaftes Höhenprofil (*unten links*) an einer erzeugten Kante und ein Histogramm der Höheninformationen der gemessenen Datenpunkte (*unten rechts*) dargestellt.

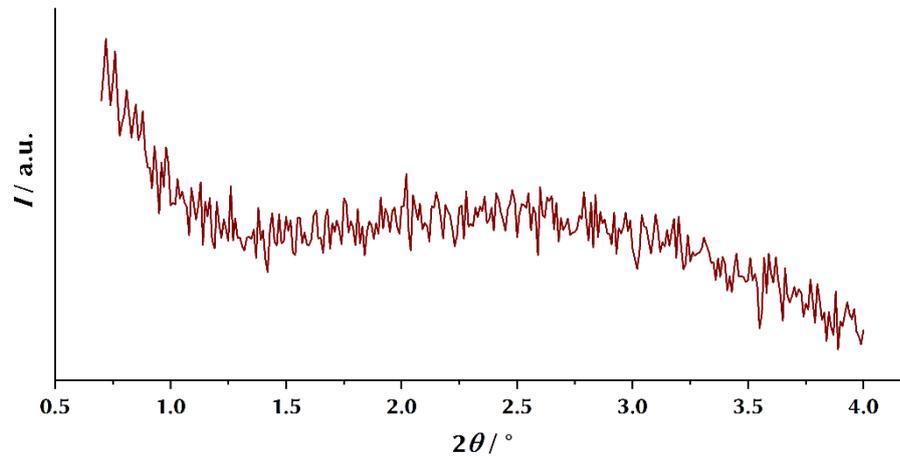


Abbildung 7.9: Röntgen-Pulverdiffraktogramme im Bereich kleiner  $2\theta$ -Winkel der kommerziellen Aktivkohle (rot). Es konnten keine Reflexe identifiziert werden.

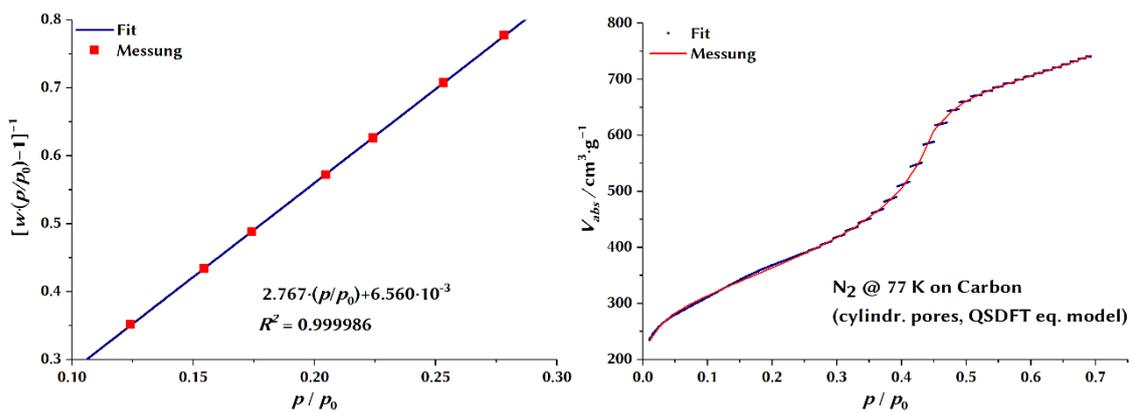


Abbildung 7.10: Multi-Point-BET-Plot (links) sowie DFT-Fit (rechts) für die Isotherme des synthetisierten nanoporösen Kohlenstoffs CMK-3. Es sind jeweils die Werte der Messung (rot) und die gefitteten Werte (blau) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.

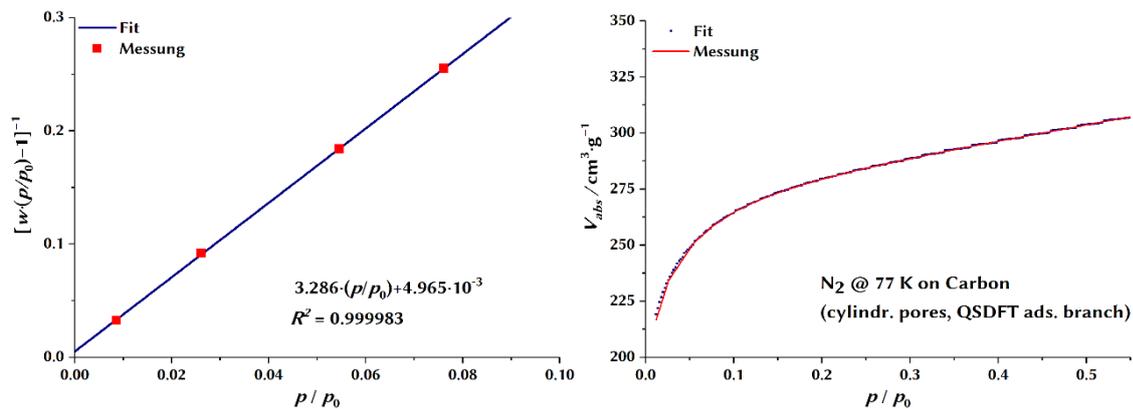


Abbildung 7.11: *Multi-Point-BET-Plot (links) sowie DFT-Fit (rechts) für die Isotherme der verwendeten Aktivkohle.* Es sind jeweils die Werte der Messung (*rot*) und die gefitteten Werte (*blau*) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.

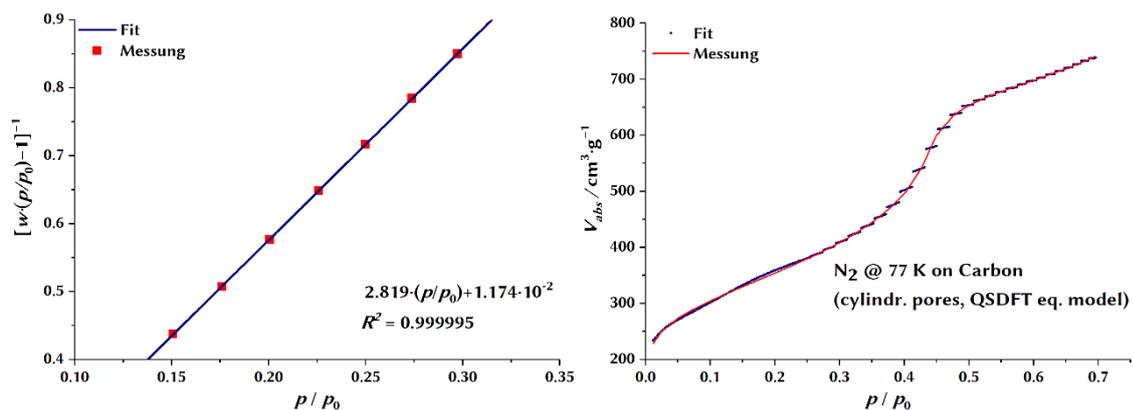
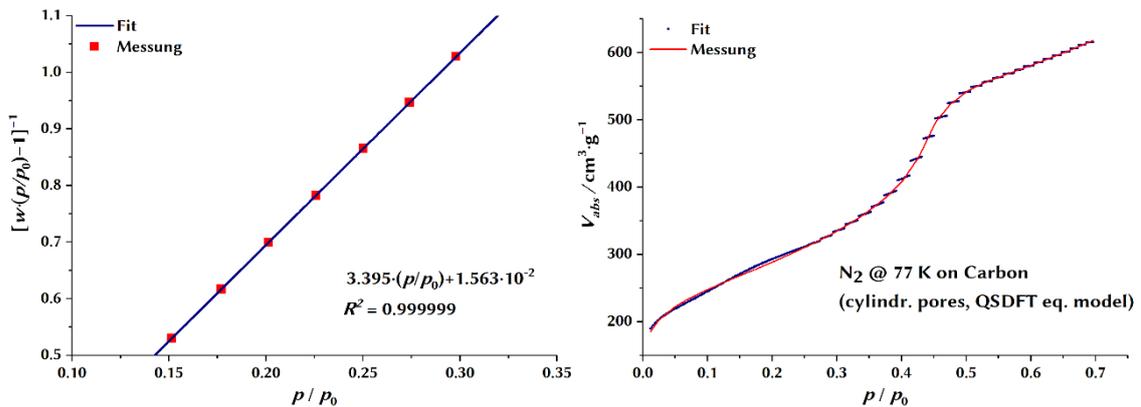
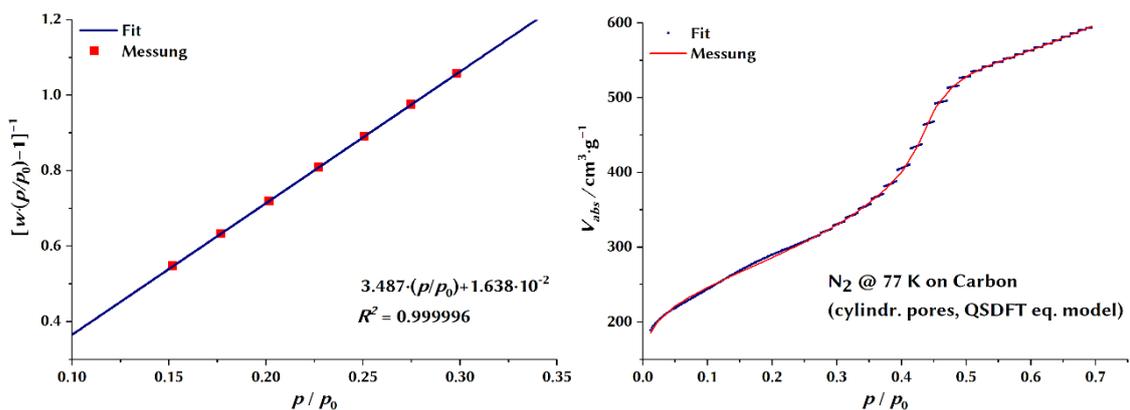


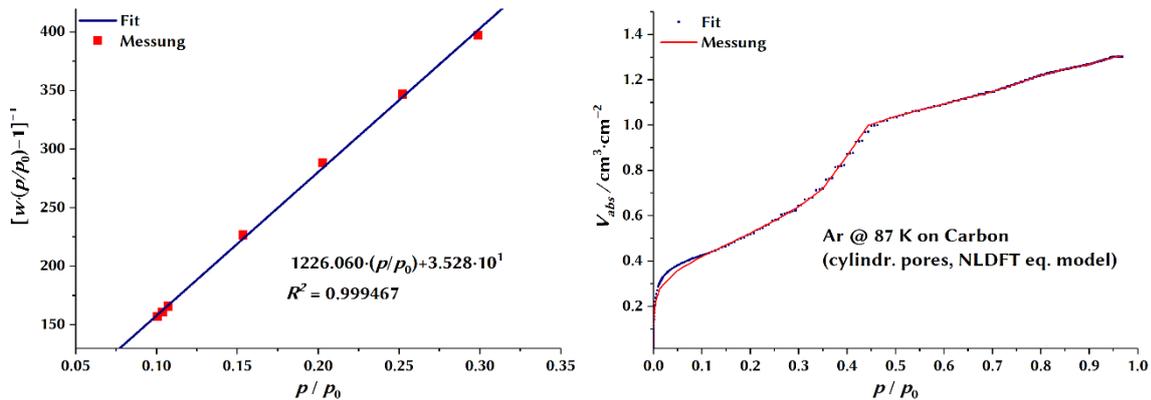
Abbildung 7.12: *Multi-Point-BET-Plot (links) sowie DFT-Fit (rechts) für die Isotherme der getrockneten Chitosan-CMK-3-Elektrodenpaste mit einem Chitosan-Anteil von 12.8 m%.* Es sind jeweils die Werte der Messung (*rot*) und die gefitteten Werte (*blau*) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.



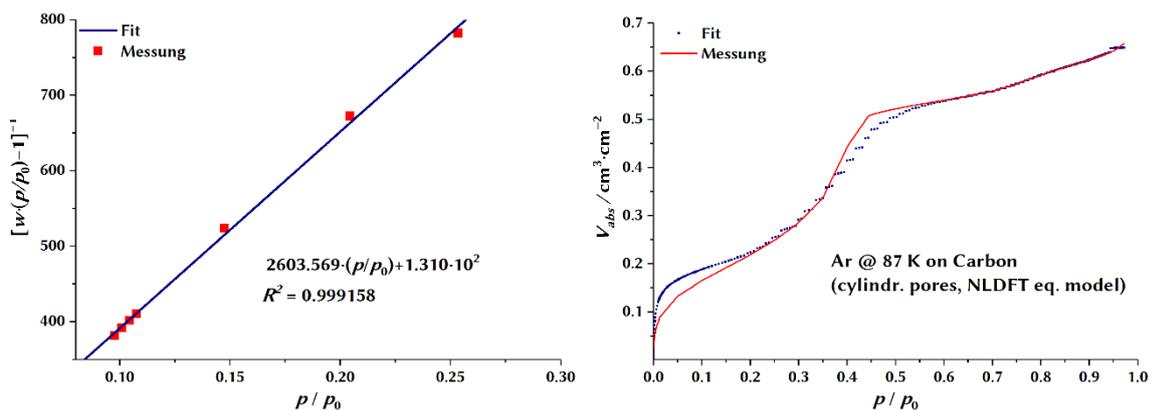
**Abbildung 7.13:** Multi-Point-BET-Plot (*links*) sowie DFT-Fit (*rechts*) für die Isotherme der getrockneten Chitosan–CMK-3-Elektrodenpaste mit einem Chitosan-Anteil von 14.1 m%. Es sind jeweils die Werte der Messung (*rot*) und die gefitteten Werte (*blau*) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.



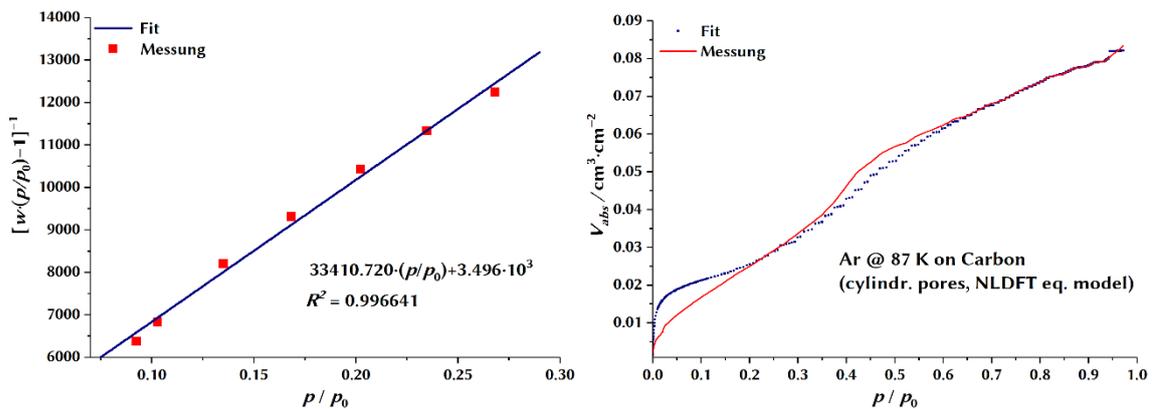
**Abbildung 7.14:** Multi-Point-BET-Plot (*links*) sowie DFT-Fit (*rechts*) für die Isotherme der getrockneten Chitosan–CMK-3-Elektrodenpaste mit einem Chitosan-Anteil von 17.3 m%. Es sind jeweils die Werte der Messung (*rot*) und die gefitteten Werte (*blau*) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.



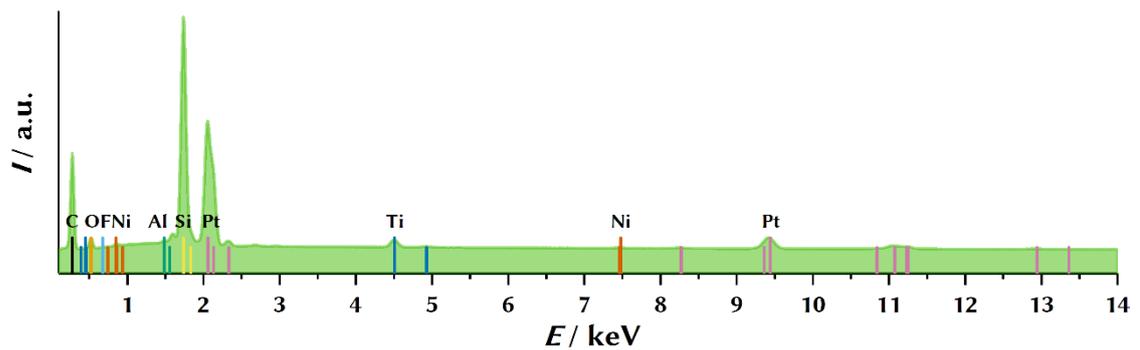
**Abbildung 7.15: Multi-Point-BET-Plot (links) sowie DFT-Fit (rechts) für die Isotherme der rakelbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme auf Platin-Substraten.** Es sind jeweils die Werte der Messung (rot) und die gefitteten Werte (blau) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.



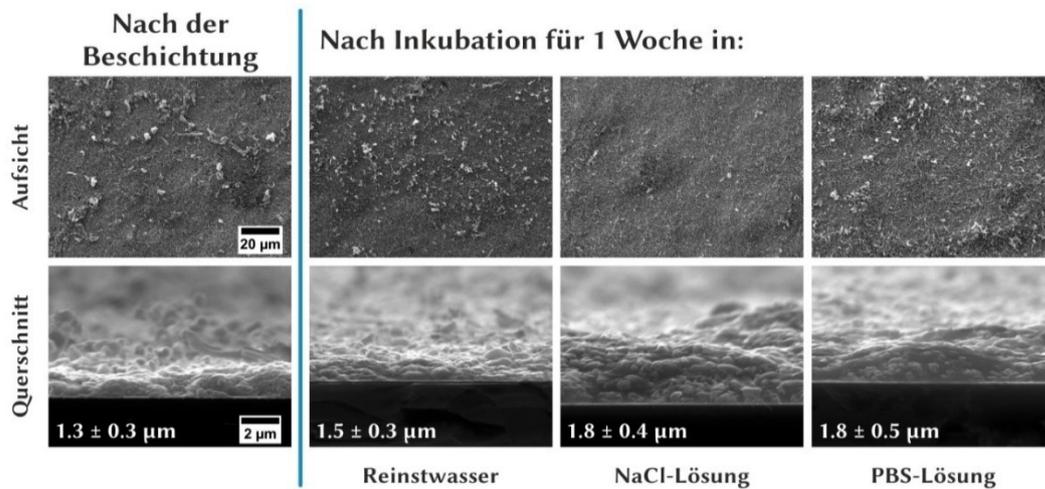
**Abbildung 7.16: Multi-Point-BET-Plot (links) sowie DFT-Fit (rechts) für die Isotherme der rakelbeschichteten CMK-3-PVDF-Filme auf Platin-Substraten.** Es sind jeweils die Werte der Messung (rot) und die gefitteten Werte (blau) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.



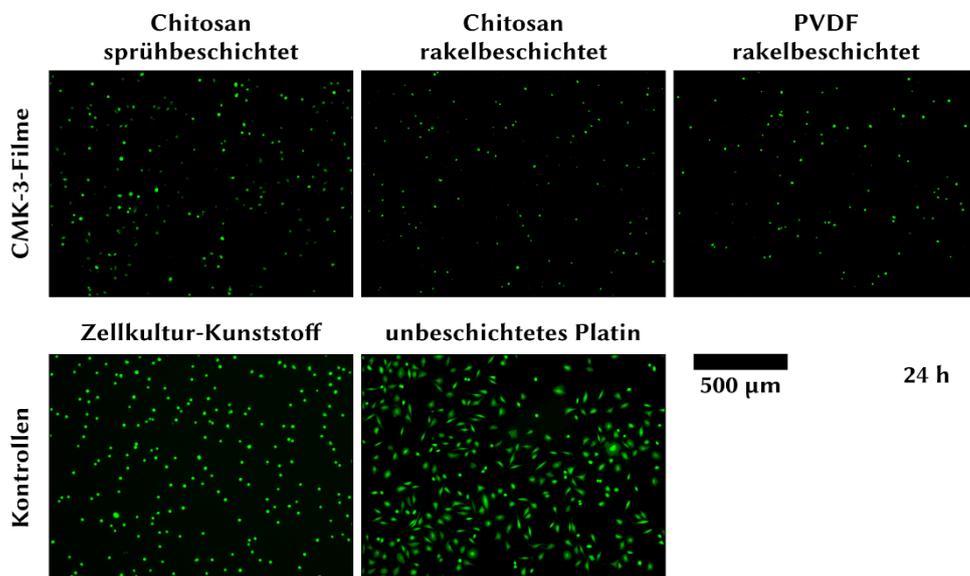
**Abbildung 7.17: Multi-Point-BET-Plot (links) sowie DFT-Fit (rechts) für die Isotherme der sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filme auf Platin-Substraten.** Es sind jeweils die Werte der Messung (rot) und die gefitteten Werte (blau) dargestellt. Für den BET-Plot ist die Geradengleichung des Fits sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  dargestellt, für den DFT-Fit das verwendete Kernel zur Berechnung.



**Abbildung 7.18: Energiedispersives Röntgen-Spektrum eines sprühbeschichteten CMK-3-Chitosan-Filmes auf einem Platin-Substrat.** Neben dem Kohlenstoff (schwarz) der Beschichtung konnten die Elemente Platin (rosa), Titan (dunkelblau) und Silicium (gelb) für das Substrat qualitativ nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden noch die Elemente Sauerstoff (orange), Fluor (hellblau), Nickel (rot) und Aluminium (grün) qualitativ nachgewiesen. Die charakteristischen Röntgen-Linien der Elemente sind in der jeweiligen Farbe markiert, die wichtigsten Linien sind besonders hervorgehoben.



**Abbildung 7.19: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Stabilitäts-Untersuchungen sprühbeschichteter CMK-3-Chitosan-Filme auf Platin.** Die Inkubation der Filme erfolgte in den jeweiligen Lösungen eine Woche unter Rühren bei Raumtemperatur. Die Schichtdicke jeweils an fünf Positionen der Aufnahme ermittelt und daraus Mittelwert sowie Fehler bestimmt. Die Aufsicht- bzw. Querschnitts-Aufnahmen sind jeweils in der selben Vergrößerung dargestellt.



**Abbildung 7.20: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der mit Calcein angefarbten L929-Fibroblasten nach 24 Stunden Kultivierungszeit auf den CMK-3-beschichteten Platin-Substraten und den Kontroll-Proben.** Als Kontrollen dienen Zellkultur-Kunststoff, Glas und unbeschichtete Platin-Substrate.

## 7.2 Lebenslauf

	<b>Niklas Burblies</b>
<b>Geburtsdatum</b>	04.05.1988
<b>Geburtsort</b>	Burgwedel
<b>Familienstand</b>	verheiratet
<b>Nationalität</b>	deutsch
<b>seit 11.2018</b>	<b>Chemiker</b> in der Material- und Prozessindustrialisierung bei der Continental Reifen Deutschland GmbH in Hannover.
<b>seit 11.2013</b>	<b>Promotion</b> zum Dr. rer. Nat im Fach Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Peter Behrens am Institut für Anorganische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover.
<b>10.2011 – 11.2013</b>	<b>Masterstudium</b> im Fach Material- und Nanochemie an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover. Titel der Masterarbeit: <i>Leitfähige biokompatible Beschichtungen auf der Basis von Kohlenstoff-Nanoröhren.</i>
<b>10.2008 – 11.2013</b>	<b>Bachelorstudium</b> im Fach Chemie an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover. Titel der Bachelorarbeit: <i>Morphologiekontrolle bei der Abscheidung von Zinkoxid aus wässriger Lösung: Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zugabe von Chondroitin-6-sulfat.</i>
<b>06.2007</b>	<b>Abitur</b> am Gymnasium Mellendorf, Wedemark.

### 7.3 Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge

#### Artikel

*Coatings of Different Carbon Nanotubes on Platinum Electrodes for Neuronal Devices: Preparation, Cytocompatibility and Interaction with Spiral Ganglion Cells;*  
Burbliès, N.; Schulze, J.; Schwarz, H.-C.; Kranz, K.; Motz, D.; Vogt, C.; Lenarz, T.;  
Warnecke, A.; Behrens, P.;  
PLOS ONE 11 (7); **2016**; e0158571.

*Catalytic graphitization of ordered mesoporous carbon CMK-3 with iron oxide catalysts – Evaluation of different synthesis pathways;*  
Nettelroth, D.; Schwarz, H.-C.; Burbliès, N.; Guschanski, N.; Behrens, P.;  
Phys. Status Solidi A 8 (6); **2015**; 1395-1402.

*3D silicone rubber interfaces for individually tailored implants*  
Stieghorst, J.; Bondarenkova, A.; Burbliès, N.; Behrens, P.; Doll, T.;  
Biomedical Microdevices 17 (3); **2015**; 1-10.

#### Vorträge als Referent

*Functional Carbon-based Coatings for Neural Interface Electrodes: Carbon Nanotube and Porous Carbon Coatings on Platinum;*  
Burbliès, N.; Schulze, J.; Warnecke, A.; Behrens, P.;  
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien (DGBM) in  
Aachen; **2016**.

*Functional Nanoporous Carbon Coatings for Neural Interface Electrodes;*  
Burbliès, N.; Schulze, J.; Nettelroth, D.; Warnecke, A.; Behrens, P.;  
9<sup>th</sup> Meeting Engineering of Functional Interfaces (EnFI) in Wildau; **2016**.

*Carbon Nanotube Coatings for Neural Interface Electrodes;*  
Burbliès, N.; Schulze, J.; Kreisköther, K.; Wissel, K.; Kranz, K.; Schwarz, H.-C.;  
Warnecke, A.; Behrens, P.;  
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (BMT) in  
Lübeck; **2015**.

*Carbon Nanotube Coatings for Neural Interface Electrodes: Cytocompatibility of Fibroblasts and Spiral Ganglion Neurons;*

Burbli, N.; Schulze, J.; Kreisköther, K.; Ehlert, N.; Schwarz, H.-C.;

Warnecke, A.; Behrens, P.;

8<sup>th</sup> Meeting Engineering of Functional Interfaces (EnFI) in Hannover; **2015**.

*Carbon Nanotubes as Coating-Material for Cochlea Electrodes;*

Burbli, N.; Schulze, J.; Kreisköther, K.; Werner, D.; Kranz, K.; Schwarz, H.-C.;

Warnecke, A.; Behrens, P.;

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (BMT) in Hannover; **2014**.

### **Ausgewählte Posterbeiträge als Hauptautor**

*Improvement of Cochlear Electrodes with New Functional Porous Carbon Coatings;*

Burbli, N.; Schulze, J.; Nettelroth, D.; Schneider, A.; Warnecke, A.; Behrens, P.;

28. Deutsche Zeolith-Tagung (DZT) in Gießen; **2016**.

*Functional Carbon-based Coatings for Neural Interface Electrodes;*

Burbli, N.; Schulze, J.; Nettelroth, D.; Schneider, A.; Warnecke, A.; Behrens, P.;

25. Diskussionstagung Anorganisch-Technische Chemie (ATC) in Frankfurt; **2016**.

*Carbon Nanotube Coatings on Electrodes for Neural Interface Applications;*

Burbli, N.; Schulze, J.; Kreisköther, K.; Schwarz, H.-C.; Kranz, K.; Wissel, K.,

Warnecke, A.; Behrens, P.;

3<sup>rd</sup> European Symposium on Biomaterial and Related Areas (Euro BioMAT) in Weimar; **2015**.

*Biocompatible Conductive Coatings based on Carbon Nanomaterials;*

Burbli, N.; Schwarz, H.-C.; Schulze, J.; Werner, D.; Kranz, K.; Warnecke, A.;

Behrens, P.;

26th Annual Conference European Society of Biomaterials (ESB) in Liverpool, England; **2014**.