

# Diffusion und Mikroviskosität während der Polymerisation des Methylmethacrylats

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
eines Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von  
Jan Martin Nölle

aus Hamburg

an der Universität Konstanz  
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Sektion  
Fachbereich Chemie

Tag der mündlichen Prüfung: 24.06.2016  
1. Referent: Prof. Dr. Dominik Wöll  
2. Referent: Prof. Dr. Helmut Cölfen







---

## **Licht**

Reinste Form der Energie  
Strahlend schwingend leuchtet sie

Ob Welle oder Teilchenstrom  
Wird transportiert Information

Und bleibt was hängen am Atom  
Es strahlt dann bald nach außen schon

Nur dauert es ganz unterschiedlich  
Will heißen materialspezifisch  
Bis Anregungen wieder scheiden  
Die Stoffe den Verlust erleiden

## **Kurz zu lang**

Im Raume steht ein Monomer  
Das wollt' es wär ein Polymer  
Drum liebt es Radikale sehr

Es bindet sich recht schnell daran  
Und bildet eine Kette dann  
bis es bald die Lust verliert  
Und kurzerhand rekombiniert

Am Ende stoppt die Reaktion  
Und mit ihr auch die Diffusion

## **Film und Fokus**

Um Bewegung aufzuspüren  
Und im Flachen vorzuführen  
Nutzen wir das Licht der Stoffe

Auch im Fokus, Licht zu zählen  
Rein und raus, wie lange bleibt es?

Rotation gehemmt im Zähen  
Und die Lebenszeit beschreibt es

Philipp Scharpf & Jan Martin Nölle



---

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Dominik Wöll für die Betreuung meiner Arbeit. Dabei insbesondere für die Ausarbeitung der sehr interessanten und herausfordernden Projekte, was mich überzeugt hat, in Konstanz zu promovieren. Weiterhin danke ich für die intensive inhaltliche Unterstützung, die vielen fachlichen Diskussionen, die Programmierung der Matlab-Software sowie die Korrektur meiner Dissertation. Ich durfte meine Ergebnisse nicht nur in Konstanz, sondern auch im In- und Ausland präsentieren, was mir einen Einblick in die internationale akademische Gemeinschaft ermöglichte.

Prof. Dr. Helmut Cölfen danke ich sehr für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Für die Übernahme des Prüfungsausschussvorsitzes bin ich Prof. Dr. Karin Hauser sehr dankbar. Weiterhin danke ich ihr sehr für die sehr gute Zusammenarbeit bei der Betreuung meiner Übungsgruppen zu ihren Vorlesungen.

Prof. Dr. Andreas Zumbusch danke ich sehr herzlich für die Nutzung der Labore, die anregenden Diskussionen in den Seminaren, die Finanzierung zu Beginn meiner Promotion sowie die gute Zusammenarbeit mit der AG Zumbusch.

Bei Dr. Maren Dill möchte ich mich sehr herzlich für die Einführung in die konfokale Mikroskopie bedanken, ebenso Dr. Beate Stempfle für die Einführung in die Weitfeldmikroskopie. Beiden danke ich auch sehr für die vielen interessanten fachlichen Diskussionen.

Für die die Synthese des molekularen Rotors gilt mein herzlicher Dank Dr. Christian Jüngst. Die niedermolekularen Farbstoffsonden wurden von Prof. Dr. Müllen zur Verfügung gestellt, wofür ich ebenfalls sehr dankbar bin. Für die Synthese der makromolekularen Farbstoffsonden danke ich Dr. Sebastian Primpke.

Martin Horn danke ich für die Unterstützung bei der Entwicklung der KNIME-Auswertung.

---

Dem Bachelorstudenten Christian Häge sowie den Mitarbeiterpraktikanten Annika Krüger, Matthias Schuster und Malte Sinn danke ich für die Mitarbeit in ihren Projekten.

Für ein Stipendium danke ich dem Zukunftskolleg der Universität Konstanz.

Meinen Freunden innerhalb und außerhalb der Universität und in den Sport- und Tanzgruppen bin ich sehr dankbar für die vielen schönen Momente in Konstanz, am Bodensee und bei den Ausflügen.

Abschließend möchte ich ganz besonders herzlich meiner Familie danken, die mich immer unterstützt und mir eine schöne Zeit bereitet hat. Dabei insbesondere meiner Mutter Karin, die immer für mich da ist, insbesondere für ihre Erfahrungen aus ihrer eigenen Promotion. Ich bin sehr dankbar für den tollen Zusammenhalt in der Familie und freue mich auf viele weitere schöne Zeiten, ganz besonders bei den gemeinsamen Urläuben im Tessin.

Vielen herzlichen Dank!





# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung, Motivation</b>	<b>1</b>
<b>2. Grundlagen und Methoden</b>	<b>3</b>
2.1. Die radikalische Polymerisation . . . . .	3
2.1.1. Reaktionsverlauf . . . . .	3
2.1.2. Kinetische Effekte während der freien radikalischen Substanzpolymerisation . . . . .	6
2.2. Fluoreszenz . . . . .	10
2.2.1. Franck-Condon-Prinzip . . . . .	11
2.2.2. Fluoreszenzlebensdauer . . . . .	12
2.2.3. Fluoreszenzlebenszeitmessung mittels zeitkorrelierter Einzelphotonenzählung . . . . .	14
2.3. Weitfeldfluoreszenzmikroskopie . . . . .	15
2.3.1. optischer Aufbau . . . . .	16
2.3.2. Detektion mittels EMCCD-Kamera . . . . .	18
2.3.3. Faltung des Signals mit der optischen Transferfunktion . . . . .	21
2.3.4. Lokalisierung der Fluorophore . . . . .	22
2.3.5. Zusammenfügen der Positionsdaten zu Trajektorien . . . . .	24
2.3.6. Mathematische Ermittlung des Diffusionskoeffizienten . . . . .	25
2.4. Die konfokale Fluoreszenzmikroskopie und ihre Möglichkeiten . . . . .	26
2.4.1. optischer Aufbau der konfokalen Mikroskopie . . . . .	26
2.4.2. Auflösungsvermögen und numerische Apertur (NA) . . . . .	27
2.4.3. Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie . . . . .	31
2.4.4. zeitliche Korrelation der detektierten Photonen . . . . .	33
2.5. Bestimmung des Polymerisationsumsatzes . . . . .	34
2.5.1. Ramanspektroskopische Umsatzbestimmung nach Chu . . . . .	35

2.5.2.	Kalibration . . . . .	37
2.5.3.	Experimentalteil Raman . . . . .	39
2.6.	Probenvorbereitung . . . . .	40
2.6.1.	Aufbau der Probenträger . . . . .	40
2.6.2.	Reinigung der Probenträger . . . . .	41
2.7.	Viskosität . . . . .	42
2.7.1.	Makroskopische Viskosität vs. mikroskopische Viskosität . . . . .	43
2.8.	Diffusion . . . . .	43
2.8.1.	Diffusion in Polymerlösungen . . . . .	45
2.9.	Verwendete Farbstoffsonden . . . . .	47
2.9.1.	Perylendiimidfarbstoffe . . . . .	48
2.9.2.	Makromolekulare Farbstoffe mit PDI-Chromophor . . . . .	49
2.9.3.	Bordipyrrinfarbstoffe mit intramolekularer Rotationsdynamik . . . . .	50
2.10.	Das untersuchte Polymersystem PMMA . . . . .	54
<b>3.</b>	<b>Diffusionsverhalten von Farbstoffsonden während der Substanzpolymerisation von Methylmethacrylat</b>	<b>57</b>
3.1.	Konfokalmikroskopische Untersuchungen . . . . .	57
3.1.1.	Beobachtungen . . . . .	58
3.1.2.	Interpretation und Diskussion der Ergebnisse am Konfokalmikroskop . . . . .	62
3.2.	Weitfeldmikroskopische Untersuchungen . . . . .	64
3.2.1.	Beobachtungen am Weitfeldmikroskop . . . . .	64
3.2.2.	Interpretation und Diskussion der Ergebnisse am Weitfeldmikroskop . . . . .	72
<b>4.</b>	<b>Viskositätsänderungen bei der MMA-Polymerisation auf molekularer Ebene</b>	<b>77</b>
4.1.	Beobachtung . . . . .	78
4.2.	Interpretation . . . . .	81
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>85</b>
<b>6.</b>	<b>Experimentalteil</b>	<b>89</b>
6.1.	Herstellung und Reinigung der Probenträger . . . . .	89
6.2.	Polymerisation . . . . .	89

6.3. Herkunft der in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien . . . . .	90
6.4. Messbedingungen der Weitfeldmikroskopischen Untersuchungen . . .	90
6.5. Messbedingungen der Fluoreszenzkorrelationsuntersuchungen . . . . .	91
6.6. Messbedingungen der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung . . . . .	92
6.7. Messbedingungen der Absorptionsspektren . . . . .	92
6.8. Messbedingungen der Fluoreszenzspektren . . . . .	93
<b>A. Anhang Spektren</b>	<b>95</b>
<b>B. Abkürzungen, Einheiten und physikalische Größen</b>	<b>97</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>109</b>



# 1. Einleitung, Motivation

Polymere finden im Allgemeinen als Werkstoffe Anwendung und zeichnen sich durch die Vielfalt ihrer möglichen physikalischen Eigenschaften aus. Auf unterster Ebene lassen sie sich in die Kategorien der Thermoplaste, Elastomere und Duromere einteilen. Je nach Anwendungsgebiet sind in erster Linie mechanische, aber auch thermische, optische und z.B. elektrische Eigenschaften von Bedeutung. Sämtliche genannten Kategorien und Eigenschaften werden von den Monomerspezies sowie der Art ihrer Verknüpfung zum Polymeren bestimmt. Durch molekulare Additive, z.B. Weichmacher sowie Fremdpolymere können die Eigenschaften variiert und sogar in großem Maß verändert werden. Die Grundlage bildet jedoch stets das Ensemble der vorliegenden Polymerketten. Dass immer das Ensemble betrachtet werden muss, resultiert daraus, dass das Polymer in der Realität stets eine Polydispersität größer eins besitzt. Somit unterscheiden sich, im Kontrast zu molekularen Substanzen, die Makromoleküle voneinander im Hinblick auf Kettenlänge und Molekulargewicht.

Die Polymerisation in Masse, also ohne Zugabe von Lösungsmittel, wird in großem Stil angewandt und stellt damit einen der wichtigsten Polymerisationsprozesse dar. Sie wird insbesondere im Hinblick auf ihre Kinetik in Kap. 2.1 beschrieben. Dass das Monomer in diesem Fall als Lösungsmittel dient hat allerdings weitreichende Auswirkungen sowohl auf den Prozess als auch auf das resultierende Polymer: Bei steigendem Umsatz wird zunehmend mehr Monomer konsumiert und in Polymer umgewandelt, sodass die Konzentrationsverhältnisse sich drastisch ändern. Daraus folgt, dass das gebildete Polymer eine entscheidende Rolle, wenn auch nur passiv, beim weiteren Fortschreiten der Reaktion spielt und es somit einen Einfluss auf die stattfindenden Prozesse ausübt. Die an der Reaktion beteiligten Spezies wie Monomer, Polymer, Radikalstarter etc. sind mannigfaltig sowohl in ihrer Art als auch in ihrer Größe und werden daher verschieden stark beeinflusst.

In dieser Arbeit wurden die Diffusionseigenschaften verschiedener an der Polymerisation beteiligter Spezies im Verlauf der Reaktion untersucht. Dabei wurden Farbstoffson-

den eingesetzt und beobachtet, aus deren Verhalten sich Hinweise auf die Mobilität der Monomer- und Polymerspezies ziehen lassen. Die Größe der verwendeten Sonden wurde variiert, um sowohl Rückschlüsse auf die Diffusion der Monomere als auch der Polymere schließen zu können. Dabei wurden, um die Polymere bei der Reaktion bestmöglich zu repräsentieren, mit Farbstoff markierte Polymere bestehend aus dem zu polymerisierenden Monomer als Tracer verwendet, deren Kettenlänge in den einzelnen Experimenten variiert wurde. Auf die unterschiedlichen Sonden sowie ihre Eigenschaften wird in Kap. 2.9 eingegangen. Die Messung der Diffusionseigenschaften wurde durch die Beobachtung der Farbstoffsonden im Polymerisationsverlauf mittels optischen Mikroskopiesystemen wie Weitfeldfluoreszenzmikroskopie (WFM) und Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (engl.: Fluorescence Correlation Spectroscopy) (FCS) durchgeführt, welche sonst primär an biologischen Systemen Anwendung finden.

Neben der Aufklärung der Diffusion selbst konnte auch die lokale Mikroviskosität in makromolekularen Systemen untersucht werden. Diese unterscheidet sich grundlegend von der klassischen, makroskopischen Viskosität und erlaubt Rückschlüsse auf molekulare Freiräume<sup>[1]</sup>. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dafür eine Farbstoffsonde genutzt, die ihre durch die Umgebung beeinflusste intramolekulare Rotationsbewegung durch die Veränderung ihrer photophysikalischen Eigenschaften ausdrückt (Kap. 2.9.3). Diese Untersuchungen wurden wie im Fall von FCS am Konfokalmikroskop (Kap. 2.4) durchgeführt, jedoch wurde mit der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung eine andere Aufnahmetechnik angewandt, die es erlaubt die Fluoreszenzlebensdauer zu bestimmen.

## 2. Grundlagen und Methoden

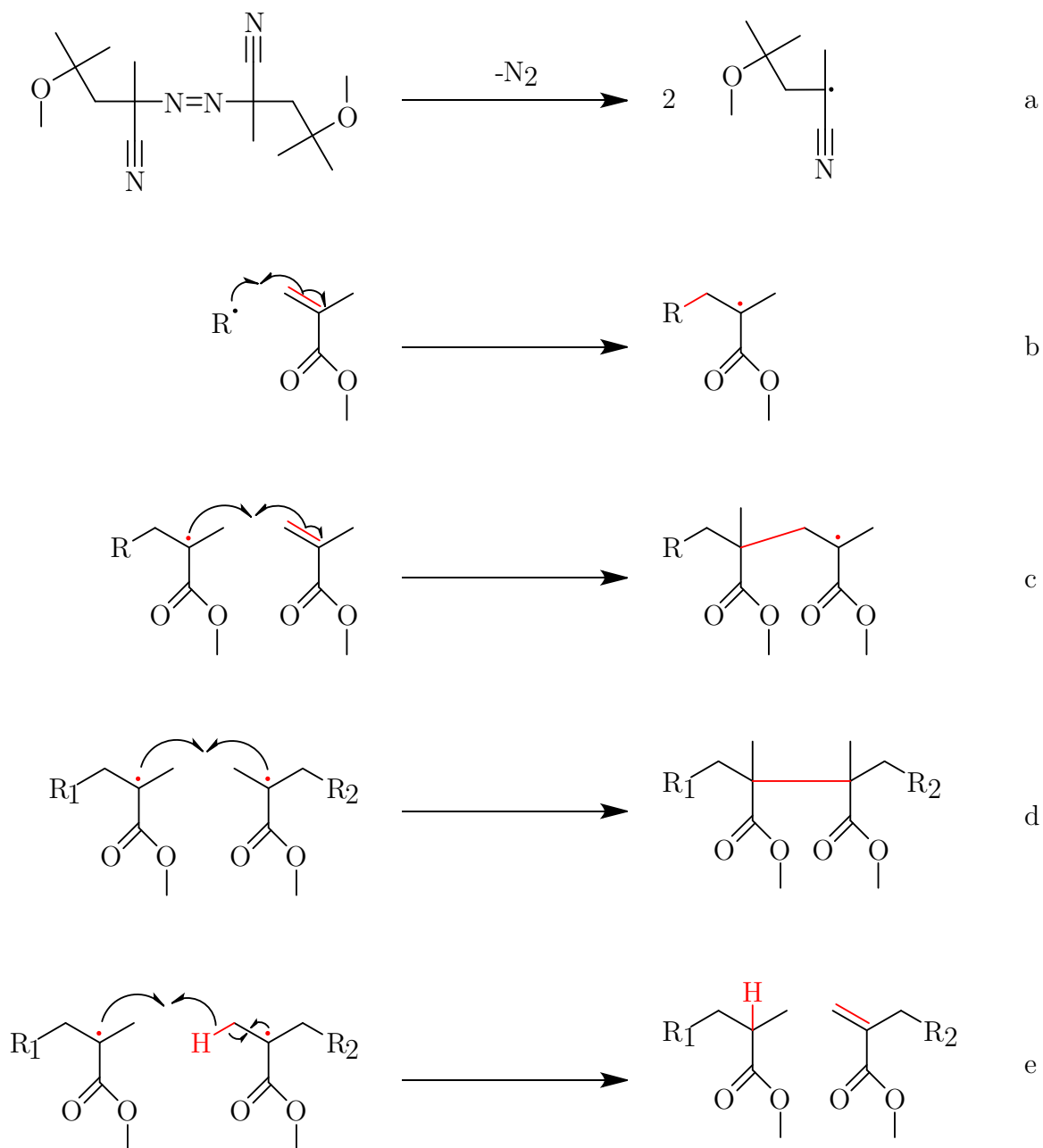
### 2.1. Die radikalische Polymerisation

#### 2.1.1. Reaktionsverlauf

Die chemisch einfachste Methode der Polymerisation ist die radikalische Substanzpolymerisation. Grundsätzlich besteht diese aus drei verschiedenen Schritten: Zunächst die Initiierung, die durch den thermischen Zerfall eines Initiatormoleküls eine reaktive Spezies erzeugt (Abb. 2.1a), welche durch eine Additionsreaktion an ein Monomer die Polymerisation als Kettenwachstumsreaktion startet (Abb. 2.1b). Im anschließenden Schritt, dem Kettenwachstum, schreitet die Reaktion selbständig voran, indem ein Monomer sich an ein aktives Kettenende anlagert und dadurch wiederum ein aktives Kettenende entsteht (Abb. 2.1c). Neben einem Radikal, das als aktives Kettenende dient, sind auch Anionen und Kationen möglich, auf die in dieser Arbeit aber nicht weiter eingegangen werden soll. Im dritten Schritt werden die aktiven Spezies aus der Reaktionsmischung reaktiv entfernt. Dies kann durch Rekombination, also der Kombination zweier Radikale (Abb. 2.1d), oder durch eine Disproportionierungsreaktion unter Bildung einer gesättigten und einer ungesättigten Spezies erfolgen (Abb. 2.1e). Das Verhältnis aus der Zahl der umgesetzten Monomere zu einer Kette und der Zahl der in der Initiierungsreaktion gebildeten Radikale definiert die kinetische Kettenlänge. Davon abzugrenzen ist die durchschnittliche Zahl Monomereinheiten pro Polymerkette, auch Polymerisationsgrad genannt. Obwohl die kinetische Kettenlänge mit dem Polymerisationsgrad eng verwandt ist, besteht ein kleiner aber wichtiger Unterschied: Solange der Kettenabbruch ausschließlich durch die Disproportionierungsreaktion erfolgt, sind die beiden Größen identisch. Ist jedoch eine Rekombinationsreaktion für den Kettenabbruch verantwortlich, so verdoppelt sich im Schnitt das Molekulargewicht und der Polymerisationsgrad, während die kinetische Kettenlänge unverändert bleibt. In der Praxis erfolgt der Kettenabbruch durch eine Mischung der beiden Mechanismen,

deren Verhältnis unter anderem von den verwendeten Monomeren aber auch von der Temperatur abhängt.

Durch den langsamen, kontinuierlichen Zerfall des Initiators in zwei Radikale und die darauffolgende, schnelle Polymerisation einer Kette bis zur Kettenabbruchreaktion entsteht eine Steady-State-Kinetik, die bei geringen Umsätzen die Reaktion kontrolliert. Dabei bleibt die Anzahl der wachsenden Kettenenden näherungsweise konstant.<sup>[2]</sup>



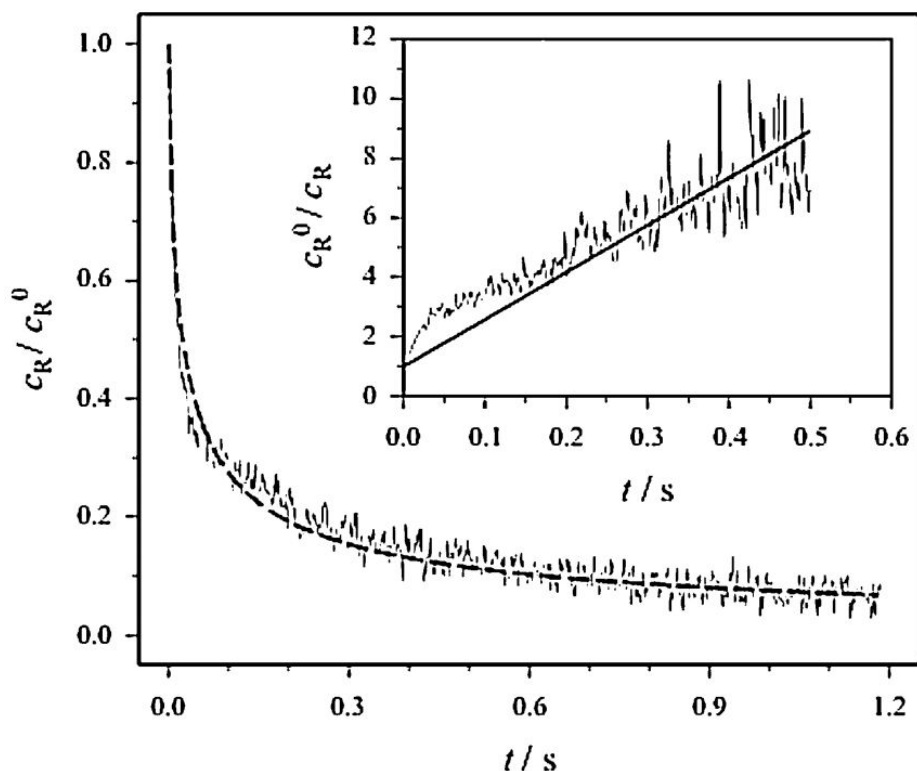
**Abbildung 2.1:** Reaktionsmechanismen der radikalischen Polymerisation am Beispiel des verwendeten MMA/V70-Systems. Mit  $R$ ,  $R_1$  und  $R_2$  werden Polymerketten unterschiedlicher Länge definiert. (a) Thermischer Zerfall des Initiators in zwei Radikale. (b) Kettenstart durch Addition eines Monomers an das Initiatorradikal. (c) Kettenwachstumsreaktion, gezeigt ist die sowohl sterisch als auch elektronisch wahrscheinlichere Bildung des tertiären Radikals. (d) Kettenabbruch durch Rekombination. (e) Kettenabbruch durch Disproportionierung.

### 2.1.2. Kinetische Effekte während der freien radikalischen Substanzpolymerisation

Die Kinetik von radikalischen, lösungsmittelfreien Polymerisationen wird in erster Linie dominiert von der Diffusion von Monomer und Polymer in der Reaktionsmischung. Viele Vorgänge sind also diffusionskontrolliert. Beim Erreichen eines bestimmten Umsatzes steigt die Polymerisationsgeschwindigkeit sprunghaft an, um kurz darauf ebenso drastisch wieder abzufallen und die Polymerisation zum Erliegen zu bringen, ohne dass ein vollständiger Umsatz erreicht wird. Der Anstieg der Polymerisationsgeschwindigkeit beruht auf einer Selbstbeschleunigung<sup>[3]</sup> und wird als Gel-Effekt bezeichnet, während das Erliegen der Reaktion durch den Glaseffekt hervorgerufen wird.

Um diese Prozesse zu verstehen ist die Kenntnis der Geschwindigkeitskonstanten der drei Schritte Initiierung, Kettenwachstum und Kettenabbruch wichtig. Einige literaturbekannte Untersuchungen sollen an dieser Stelle vorgestellt werden: Während es für die Geschwindigkeitskonstante des Kettenwachstums (propagation) ( $k_p$ ) eine standardmäßig gebräuchliche Methode zur Analytik gibt, die pulsed laser polymerization-size-exclusion chromatography (PLP-SEC)<sup>[4-8]</sup>, ist für Geschwindigkeitskonstante der Terminierung ( $k_t$ ) keine Standardanalytikmethode verfügbar. Vielmehr ist eine Vielzahl an Methoden in Verwendung, wodurch die Vergleichbarkeit leidet. Barner-Kowollik et al. vergleichen allein 17 davon und kategorisieren sie in „kinetische Methoden“ und „molekulargewichtsbasierte Methoden“.<sup>[9]</sup> Sie urteilen, dass eine Analytik durch kinetische Messungen am sinnvollsten sei und idealerweise durch eine molekulargewichtsbasierte Methode bestätigt werden könne. Eine sehr leistungsstarke Methode von diesen ist die single-pulse pulsed-laser Polymerisation: sie erlaubt, nahezu instantan eine große Zahl von Radikalen zu erzeugen und somit den Startzeitpunkt der polymerisierenden Ketten zu synchronisieren. Die Zahl der vorhandenen Radikale kann währenddessen mittels zeitaufgelöster Elektronenspinresonanz (ESR)-Spektroskopie verfolgt werden.<sup>[10]</sup>

Die Abnahme der Radikalkonzentration verhält sich bei diesem Experiment nicht wie von einer typischen, bimolekularen Reaktion zu erwarten wäre. Die Ketten rekombinieren kurz nach dem Polymerisationsstart, also wenn die Ketten noch aus wenigen Monomereinheiten bestehen, wesentlich schneller als zu späteren Zeitpunkten (ab ca. 100 Monomereinheiten am Beispiel von DMA<sup>[10]</sup>). In Abb. 2.2 ist dies dadurch zu erkennen, dass die Abnahme der gemessenen Radikalkonzentration bis  $t = 0.1\text{s}$  schneller



**Abbildung 2.2:** Abklingkurve der Radikalkonzentration in einer Photopolymerisation von DMA nach Einstrahlen eines Laserpulses bei  $t = 0$ . Gestrichelte Linie: Fit für den Fall einer idealen, bimolekularen Kettenabbruchreaktion. Kasten oben rechts: Kehrwert der Daten mit linearem Fit, der die Ordinatenachse bei 1 schneidet. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduced with permission from <sup>[10]</sup>

erfolgt als im darauffolgenden Zeitbereich. Wenn es keine Kettenlängenabhängigkeit der Terminierungsreaktion gäbe würde der Verlauf der Radikalkonzentration dem gezeigten Fit entsprechen. In den Mechanismus der Terminierung geben Nakamura *et al.*<sup>[11]</sup> einen Einblick. Sie haben die konkurrierenden Reaktionen Kombination und Disproportionierung anhand von genau definierten Polymerradikalen anhand von MALDI-TOF untersucht. Durch Bestrahlung der deaktivierten, lebenden Polymerketten ohne Anwesenheit von Monomer werden lediglich die Polymerradikale erzeugt, welche im folgenden mit einem weiteren Polymerradikal entweder rekombinieren oder disproportionieren. Dabei wird deutlich, dass für Methylmethacrylat (MMA) das Verhältnis aus Disproportionierung und Rekombination (D/C) bei Raumtemperatur in Lösung 73:27 beträgt und damit eine wesentlich höhere Bedeutung der

Disproportionierungsreaktion aufweist als Styrol (15:85). Weiterhin zeigen sie eine Temperaturabhängigkeit des untersuchten Verhältnisses anhand eines Eyring-Plots, anhand dessen sie die Differenz der Gibbsenergien errechnen:

$$\Delta\Delta G_{d/c}^\ddagger = -6.9 + T \times 14.4 \times 10^{-3} \text{ kJ/mol} \quad (2.1)$$

Daraus wird deutlich, dass die Disproportionierungsreaktion, die neben einem H-terminierten Polymer auch eine polymerisierbare Doppelbindung erzeugt, bei Raumtemperatur wahrscheinlicher ist, als z.B. bei 100 °C (Verhältnis 63:37). Für die vorliegende Arbeit bedeuten die Arbeiten von Nakamura, dass die Präsenz von Makromolekülen mit terminalen Doppelbindungen, also möglichen chemischen Vernetzungsstellen, berücksichtigt werden muss.

### Der Geleffekt

Der als Geleffekt oder auch Trommsdorff- bzw. Trommsdorff-Norrish-Effekt bekannte Vorgang bei der radikalischen Substanzpolymerisation von z.B. MMA, durch den pseudo-autokatalytisch die Polymerisationsgeschwindigkeit ansteigt beruht auf Änderungen im Diffusionsverhalten in der Reaktionsmischung. Die ersten Arbeiten hierzu wurden Ende der 1940er Jahre veröffentlicht.<sup>[3,12]</sup> Bereits 30 Jahre zuvor hatte man erkannt, dass es sich bei der beobachteten, exothermen Reaktion nicht etwa wie zunächst angenommen um die Bildung eines Cyclobutanderivates durch Dimerisierung sondern um eine Polymerisation durch Kettenwachstum handelt.<sup>[13]</sup> In der ersten Phase der Reaktion, also bei geringem Umsatz, ist der Polymeranteil in der Reaktionsmischung noch sehr gering. Im Folgenden steigt dieser Anteil an, was zu einer erhöhten Viskosität führt und die unterschiedlichen Reaktanden in ihrer Diffusion in Abhängigkeit ihres räumlichen Anspruchs unterschiedlich beeinflusst. Mit steigender Viskosität nimmt die Häufigkeit der Terminierung durch Rekombination oder Disproportionierung ab. Diese ist zu dem Zeitpunkt diffusionskontrolliert<sup>[14]</sup> und kann durch die steigende Viskosität der Reaktionsmischung kaum mehr stattfinden. Es kommt zu einer Zunahme der Polymerisationsgeschwindigkeit einhergehend mit einem Temperaturanstieg, solange die entstehende Wärme nicht abgeführt wird<sup>[15]</sup>. Bei welchem Umsatz der Geleffekt eintritt ist nicht konstant. Er ist in erster Linie von der Kettenlänge des erzeugten Polymers abhängig. Tulig<sup>[16]</sup> fasst zusammen, dass die unterschiedlichen Abhängigkeiten der Dynamik im System von der Konzentration und vom Molekulargewicht auf das

Einsetzen der Verknäulung („entanglement“) des Polymers zurückzuführen ist.<sup>[17,18]</sup> Letzteres kann durch die kritische Konzentration  $c_{krit}$ , das kritische Molekulargewicht  $\overline{M}_{krit}$  sowie zwei Konstanten  $K$  und  $a$  beschrieben werden (Gl. 2.2):

$$c_{krit} = \frac{K}{\overline{M}_{krit}^a} \quad (2.2)$$

Das Einsetzen des Geleffektes beginnt bei Werten von  $a$  zwischen 0.5 und 1. Bei 0.5 beginnt die molekulare Überlappung, bei 1 das Einsetzen der Verknäulung. Turner *et al.* haben diese Relation durch Messungen am Beispiel der PMMA-Polymerisation bestätigt<sup>[19,20]</sup> und sowohl den Einfluss von hinzugefügtem Lösungsmittel<sup>[21]</sup> als auch von vorher gelöstem Polymer<sup>[22]</sup> untersucht.

### Der Glaseffekt

Steigt z.B. infolge des Geleffektes die Viskosität der Polymerisationsmischung weiter an, werden nicht nur die langkettigen Polymere in ihrer Diffusion gehindert, sondern auch zunehmend die Monomere und Initiatoren. Daraufhin sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit aus zwei Gründen drastisch ab: (1) Monomere können nur noch vermindert auf aktive Kettenenden treffen und (2) die Initiatoreffizienz sinkt<sup>[23,24]</sup>. Dieser Prozess wird Glaseffekt genannt und tritt, wie auch der Geleffekt, ausschließlich in der Bulk-Polymerisation auf. Sie endet im sogenannten Glaszustand, in dem schließlich keinerlei Diffusion mehr möglich ist und die Reaktion trotz noch vorhandenem Monomer zum Erliegen kommt, was für industrielle Prozesse einen entscheidenden Nachteil darstellt, wenn ein rückstandsfreies Polymer gewünscht wird.

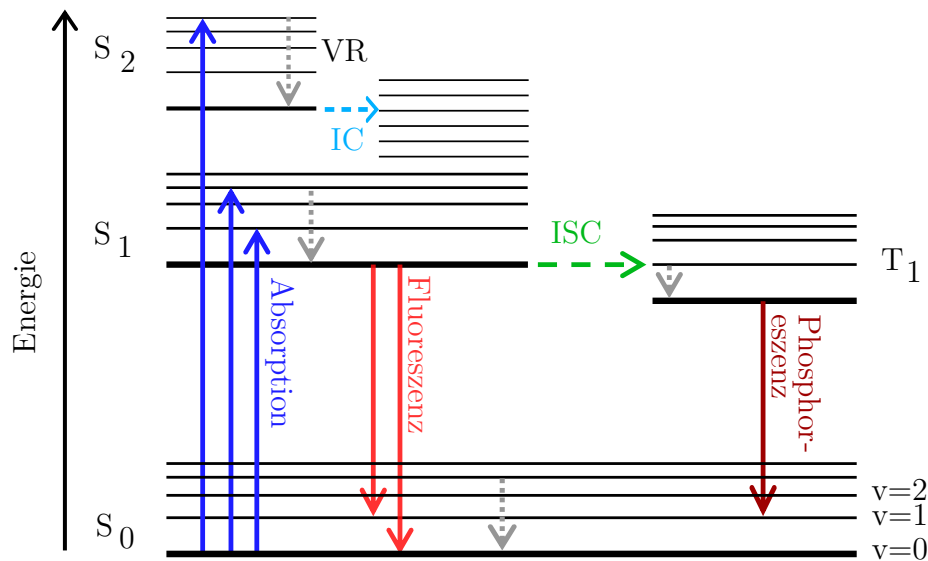
Der Glaseffekt tritt bei Polymeren auf, die sich unterhalb einer spezifischen Temperatur, der Glas temperatur, befinden. Dabei ist auch die thermische Vorgeschichte sowie die Abkühlgeschwindigkeit entscheidend<sup>[25]</sup>, da bei langsamer Abkühlung die konkurrierende Kristallisation stärker zum Tragen kommt als bei schlagartiger Abkühlung, die fast ausschließlich in den amorphen Glaszustand führt. Anders als z.B. die Kristallisation oder das Verdampfen von Flüssigkeiten tritt der Glaseffekt nicht abrupt auf, sondern über einen Temperaturbereich. Die Glas temperatur lässt sich daher nur durch Extrapolation von Messgrößen ermitteln, deren erste Ableitungen sich ändern. Die in dieser Arbeit verwendeten Polymere und Reaktionsmischungen befinden sich ausschließlich unterhalb der Glas temperatur der verwendeten Polymere.

Die Auswirkung der Struktur auf die Polymerdynamik, insbesondere auch im Glasübergangsbereich kann anhand vielerlei Methoden wie z.B. Kernresonanzspektroskopie (engl.: nuclear magnetic resonance spectroscopy) (NMR), ESR oder dielektrischer Spektroskopie analysiert werden<sup>[26]</sup>. Trotz der vergleichsweise einfachen Erklärung sind viele Details über den Glaszustand noch unbekannt und daher ein bedeutendes Thema aktueller Forschung.

### 2.2. Fluoreszenz

Moleküle, oder auch Atome, können durch Aufnahme eines Lichtquants in einen elektronisch angeregten Zustand gebracht werden, von dem aus sie durch verschiedene Prozesse wieder zum Grundzustand zurückkehren. Diese Prozesse und die dazugehörigen Energieniveaus sind im JABLONSKI-Diagramm veranschaulicht. Bei Raumtemperatur befinden sich die Moleküle im elektronischen Grundzustand  $S_0$  und besetzen nach der BOLTZMANN-Verteilung die untersten vibronischen Energieniveaus. Weiterhin vorhandene Rotationsenergieniveaus sind zur besseren Anschaulichkeit nicht eingezeichnet. Durch Aufnahme eines Photons wird das Molekül in ein  $S_1$ -Niveau überführt, selten ist auch die Anregung in das  $S_2$ -Niveau möglich. Das angeregte Molekül zeigt einen strahlungslosen Energieverlust bis es den  $S_1$ -Vibrationsgrundzustand erreicht. Dieser Vorgang wird Interne Konversion (IC) genannt und findet im Pikosekundenbereich statt. Das Molekül im  $S_1$ -Niveau kann nun in den elektronischen Grundzustand relaxieren, indem es ein Fluoreszenzphoton aussendet. In welchen vibronischen Zustand das Molekül relaxiert, ist durch die FRANCK-CONDON-Faktoren definiert (siehe unten); wenn es in einen anderen als den Grundzustand relaxiert, kehrt es durch IC zu diesem zurück. Durch die beiden IC-Vorgänge hat das Molekül jedoch einen Teil seiner Energie abgegeben, die nicht mehr zur Fluoreszenz zur Verfügung steht. Daher ist die Fluoreszenz stets bathochrom verschoben gegenüber der Absorption, sie besitzt also einen geringeren Energiebetrag bzw. eine höhere Wellenlänge. Da die Emission stets vom Vibrationsgrundzustand des  $S_1$ -Niveaus erfolgt (KASHA-Regel), ist das Emissionsspektrum in der Regel unabhängig von der Anregungswellenlänge. Das Aussehen der Absorptions- und Emissionsspektren wird in Kap. 2.2.1 diskutiert.

Alternativ kann die Rückkehr zum Grundzustand auch durch Fluoreszenzlöschung (engl.: quenching) erfolgen, wobei z.B. durch Übertragung der Energie auf andere Mole-



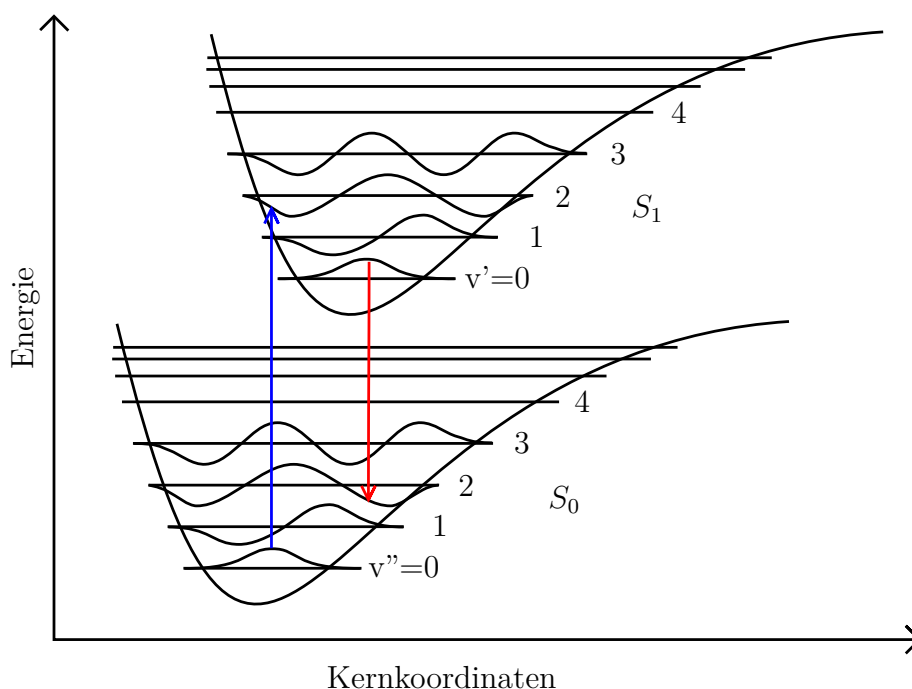
**Abbildung 2.3:** Jablonskidiagramm mit den Energieniveaus  $S_0$  bis  $S_2$  sowie dem Triplettzustand  $T_1$ , jeweils mit den unteren Vibrationsniveaus  $v$ . Es ist eine beispielhafte Auswahl möglicher radiativer Übergänge (Pfeile mit durchgezogenen Linien) sowie nichtradiativer Übergänge (Pfeile mit gestrichelten Linien) dargestellt.

kühle, Komplexbildung oder IC der  $S_0$ -Zustand wieder erreicht wird. Findet die Energieübertragung auf andere Moleküle strahlungslos über Dipol-Dipol-Wechselwirkung<sup>[27]</sup> statt, wird dieser Prozess als Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) bezeichnet. Da er stark abhängig vom Abstand der Chromophore ist, ist seine Anwendung als optisches Lineal im Bereich bis zu 10 nm stark verbreitet.

### 2.2.1. Franck-Condon-Prinzip

Nimmt ein Fluorophor, der sich in einem bestimmten Ausgangszustand befindet, ein Photon auf oder sendet es eines aus, sind die Wahrscheinlichkeiten der verschiedenen, theoretisch möglichen Übergänge nicht identisch. Bei dem Prozess kann das Molekül auf drei Arten angeregt werden: Durch elektronische Anregung, also Wechsel eines Elektrons auf ein anderes Energieniveau, durch Anregung des Vibrationszustandes der Atomkerne und durch Änderung des Rotationszustands des Moleküls. Letztere ist aufgrund der Spinerhaltung in den meisten Fällen zwingend notwendig, spielt jedoch für den Prozess keine entscheidende Rolle und soll deshalb hier nicht weiter behandelt werden.

Wie im Franck-Condon-Prinzip<sup>[28-30]</sup> beschrieben, findet der Übergang der leichten und schnellen Elektronen in ein neues Niveau im Femtosekundenbereich statt und damit um zwei Größenordnungen schneller als die Periodendauer einer Molekülschwingung. Der Kernabstand ändert sich also während des Übergangs praktisch nicht. Das beruht darauf, dass nach der BORN-OPPENHEIMER-Näherung<sup>[31]</sup> die Wellenfunktionen für die Elektronen und für die Kerne aufgrund der unterschiedlichen Zeitskalen näherungsweise unabhängig voneinander sind und daher separiert werden können.



**Abbildung 2.4:** Franck-Condon-Energiediagramm: Die Potentialkurven des Kern-Kern-Abstands für den elektronischen Grundzustand  $S_0$  und den ersten angeregten Zustand  $S_1$ . Die elektronischen Übergänge (Pfeile) sind sehr schnell und wirkt sich auf die Kern-Kern-Koordinaten nicht aus. Diejenigen Übergänge sind favorisiert, deren Kern-Kern-Abstandsfunktionen sich am ähnlichsten sind, ihre Wellenfunktionen weisen das größte Überlappungsintegral auf. In diesem Beispiel ist die Anregung (blauer Pfeil) und die Fluoreszenz (roter Pfeil) vom Vibrationsgrundzustand in den jeweils zweiten angeregten Zustand begünstigt und am wahrscheinlichsten.

### 2.2.2. Fluoreszenzlebensdauer

Der energetische Kreisprozess, der zur Fluoreszenz führt, läuft für die verwendeten Fluorophore im Bereich von wenigen Nanosekunden ab. Die Zeitskalen, auf denen

die angesprochenen Teilprozesse statt finden, unterscheiden sich jedoch stark: Während die Anregung im Bereich von  $10^{-15}$  und die interne Konversion im Bereich von  $10^{-12}$  Sekunden statt findet, verweilen typische Fluorophore einige Nanosekunden im  $S_1$ -Zustand<sup>[32]</sup>. Da die Verweildauer im  $S_1$ -Vibrationsgrundzustand um 3 Größenordnungen länger ist als die Dauer der weiteren Prozesse kann die zum Durchlaufen des Kreisprozesses benötigte Zeit mit der Verweildauer im  $S_1$ -Vibrationsgrundzustand näherungsweise gleichgesetzt und entsprechend gemessen werden. Sie wird Fluoreszenzlebensdauer  $\tau$  genannt.

Mathematisch berechnet sich  $\tau$  aus den Geschwindigkeitskonstanten für radiative ( $k_r$ ) und nichtradiative ( $k_{nr}$ ) Prozesse (Gleichung 2.3)<sup>[32]</sup>: je größer die Geschwindigkeit der einen oder anderen Art, desto geringer ist die Lebensdauer des angeregten Zustands. Das hat zur Folge, dass ein guter Fluorophor auch eine geringe Geschwindigkeitskonstante für nichtradiative Prozesse besitzen muss.

$$\frac{1}{\tau} = k_r + k_{nr} \quad (2.3)$$

Die radiative Geschwindigkeitskonstante kann, wenn man von Emission ausschließlich aus dem ersten angeregten Singulettzustand ausgeht, anhand der Strickler-Berg-Beziehung<sup>[33]</sup> abgeschätzt werden. Werden die Fluorophore in einer Probe in einem infinitesimalen Zeitbereich angeregt, so kann der Zerfall der Fluorophore im angeregten Zustand  $[F^*]$  als Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung formuliert werden:

$$\frac{d[F^*]}{dt} = -(k_r + k_{nr})[F^*] \quad (2.4)$$

In Kombination mit Gleichung 2.3 ergibt sich:

$$[F^*(t)] = [F^*]_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (2.5)$$

Da sich die Fluoreszenzintensität proportional zur Konzentration der angeregten Fluorophore verhält, lässt sich diese analog anhand eines exponentiellen Zerfalls formulieren:

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (2.6)$$

Wird also die Fluoreszenzintensität auf der logarithmischen Skala gegen die Zeit aufgetragen, kann  $\tau$  anhand der Steigung ermittelt werden, zur genauen technischen

Umsetzung siehe Kap. 2.2.3.

Die Geschwindigkeitskonstante der radiativen Vorgänge ist weitestgehend konstant, während jene der nichtradiativen Vorgänge von der Umgebung beeinflusst werden kann, z.B. durch Quenching, FRET-Vorgänge oder sterische Einwirkungen: In der vorliegenden Arbeit wurde unter anderen das Bodipyrot-Fluorophor verwendet, dessen Fluoreszenzlebenszeit eine starke Abhängigkeit von der Umgebung, genauer der Mikroviskosität, aufweist. Wie in Kap. 2.9.3 beschrieben, kann sich die Phenylgruppe des Bodipyrot drehen, solange sie nicht sterisch daran gehindert wird. Durch die Viskosität der unmittelbaren Umgebung kann diese Drehung verlangsamt werden, was einen Anstieg der Fluoreszenzlebenszeit zur Folge hat.

### **2.2.3. Fluoreszenzlebenszeitmessung mittels zeitkorrelierter Einzelphotonenzählung**

Neben der FCS ist die zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung (engl. time correlated single photon counting, TCSPC) eine weit verbreitete Methode der Fluoreszenzspektroskopie, die am Konfokalmikroskop durchgeführt werden kann. Die Observable ist die verstrichene Zeitspanne zwischen der Anregung und der Detektion eines Photons. Bei genügend hoher Statistik kann aus den erhaltenen Werten auf die Fluoreszenzlebenszeit der beobachteten Fluorophore geschlossen werden. Durch Scannen des Lasers oder der Probe kann die Methode erweitert und so als zwei- oder dreidimensionale Technik eingesetzt werden. Diese Weiterentwicklung ist unter dem Namen Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie oder engl. fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) bekannt und wird insbesondere an biologischen Systemen eingesetzt<sup>[34,35]</sup>. Technisch realisiert wird die Messung in dieser Arbeit durch die Verwendung eines im Bereich von 10 MHz gepulsten Diodenlasers, der die in der Probe befindlichen Farbstoffsonden anregt. Diese können nun wie in Kap. 2.2 beschrieben verschiedene physikalische Vorgänge durchlaufen, bis ein Photon ausgesandt und detektiert wird oder sie auf strahlungslosem Weg den Grundzustand wieder erreichen. Um die Zeitspanne zwischen Anregung und Emission des Photons aufzuzeichnen, ist der Laser über einen Konstantanteildiskriminator (engl.: constant fraction discriminator) (CFD) an die Elektronik gekoppelt. Dieser startet einen Zeit-zu-Amplitude-Konverter (engl.: time to amplitude converter) (TAC), der eine zeitlich linear ansteigende Spannung aufbaut. Sobald ein Photon detektiert wird, wird der TAC gestoppt und anhand der

aufgebauten Spannung kann die Zeit errechnet werden, die zwischen der Anregung und der Emission verstrichen ist. Nach der Detektion eines Photons benötigt z.B. der in dieser Arbeit verwendete Detektor eine sogenannte Totzeit von 50 Nanosekunden,<sup>[36]</sup> bis das nächste Ereignis detektiert werden kann. Da auf diese Weise stets das erste Photon eines Zyklus den Stopp-Impuls gibt, würden später ankommende Photonen aufgrund der Totzeit verworfen werden und nicht in die Auswertung mit eingehen. Um dies zu verhindern muss sichergestellt werden, dass die Wahrscheinlichkeit für das Eintreffen mehrerer Photonen innerhalb eines Zyklus ausreichend gering ist. Daher wird die Intensität so eingestellt, dass nur in ca. einem von 100 Zyklen ein Photon detektiert wird. Durch die Synchronisation der Elektronik für die Start- und Stoppzeit können nun die Zeitdifferenzen zwischen Anregung und Emission digital in einem Histogrammarray abgespeichert werden.<sup>[37]</sup> Sind genügend Ereignisse gemessen worden, kann das Histogramm ausgelesen und z.B. zur Fluoreszenzlebenszeitkalkulation ausgewertet werden. Durch die hohe Laserrepetitionrate müssten theoretisch  $10^7$  Messzyklen pro Sekunde gestartet werden. Dies übersteigt die Kapazität selbst der modernsten Elektronik. Viele Systeme greifen daher auf ein inverses System zurück, bei dem das Photon den Start- und der nächstfolgende Laserpuls den Stoppimpuls erzeugt. Dies kann allerdings zu technischen Problemen führen, insbesondere beim Wechsel zwischen mehreren Anregungslasern. Daher arbeitet das in dieser Arbeit verwendete Instrument (HydraHarp 400, PicoQuant GmbH) mit einer Elektronik, die die Frequenz des vom Laser kommenden Startsignals herabsetzt. Wird nun ein Photon detektiert, so wird aufgrund der gemessenen Laserrepetitionrate das fehlende Start-Signal wieder errechnet.<sup>[37]</sup>

## 2.3. Weitfeldfluoreszenzmikroskopie

Um ein zweidimensionales Bild einer fluoreszierenden Probe in kürzester Zeit zu erfassen, wird vorzugsweise die WFM verwendet. Sie zeichnet sich dadurch aus, dass die gesamte Probe gleichzeitig beleuchtet und in der Regel von einer CCD-Kamera detektiert wird. In dieser Arbeit wurde eine von *Andor Technologies* entwickelte Elektronenvervielfachungs-CCD (engl.: electron multiplying charge-coupled device) (EMCCD) verwendet, die durch ihren Aufbau mit Elektron-Multiplikationsregistern das Signal verstärken können. Sie werden daher primär in der Astronomie und in der

Fluoreszenzmikroskopie verwendet. Durch den Epi-Aufbau des Mikroskops und die Verwendung fluoreszierender Proben sowie der Abtrennung von Hintergrundsignalen durch optische Filter ergibt sich ein außerordentlich hoher Kontrast, der es ermöglicht, einzelne Fluorophore sichtbar zu machen und beugungslimitiert zu lokalisieren. Die gleichmäßige Beleuchtung der Probe hat gegenüber scannenden Systemen den Vorteil, dass das Fluoreszenzlicht simultan von der gesamten Probe im Sichtfeld emittiert und aufgezeichnet wird. Dies macht eine schnelle und simultane Detektion möglich, was insbesondere bei sich bewegenden Objekten eine enorme Überlegenheit bedeutet. Diese Art der Beleuchtung birgt jedoch auch einen Nachteil: es werden ebenfalls Fluorophore ausserhalb der Fokalebene angeregt, was zu einem nicht zu vernachlässigenden Hintergrundsignal<sup>a</sup> führt. Dieses kann nicht wie in der konfokalen Mikroskopie durch eine Lochblende eliminiert werden. Jedoch ist es möglich, durch eine hohe numerische Apertur (NA) des Objektivs das unerwünschte Signal ausreichend defokussiert darzustellen, dass es vom Signal aus der Fokalebene gut differenziert werden kann. Ein weiterer Nachteil der WFM ist vermehrtes Photobleichen aufgrund der intensiveren Beleuchtung der gesamten Probe. Es ist daher wichtig, die Beleuchtungsintensität ausreichend für die Anregung, allerdings nicht zu hoch zu wählen um den Bleicheffekt so gering wie möglich zu halten. Dies ist ein weiterer Grund für den Einsatz der hochempfindlichen EMCCD-Detektion. Die bereits angesprochene hohe NA ermöglicht aufgrund des großen Öffnungswinkels die Detektion der Fluoreszenz auf einer größeren Fläche einer fiktiven Kugelschale um das zu detektierende Chromophor, wodurch die Empfindlichkeit der Methode weiter gesteigert wird.

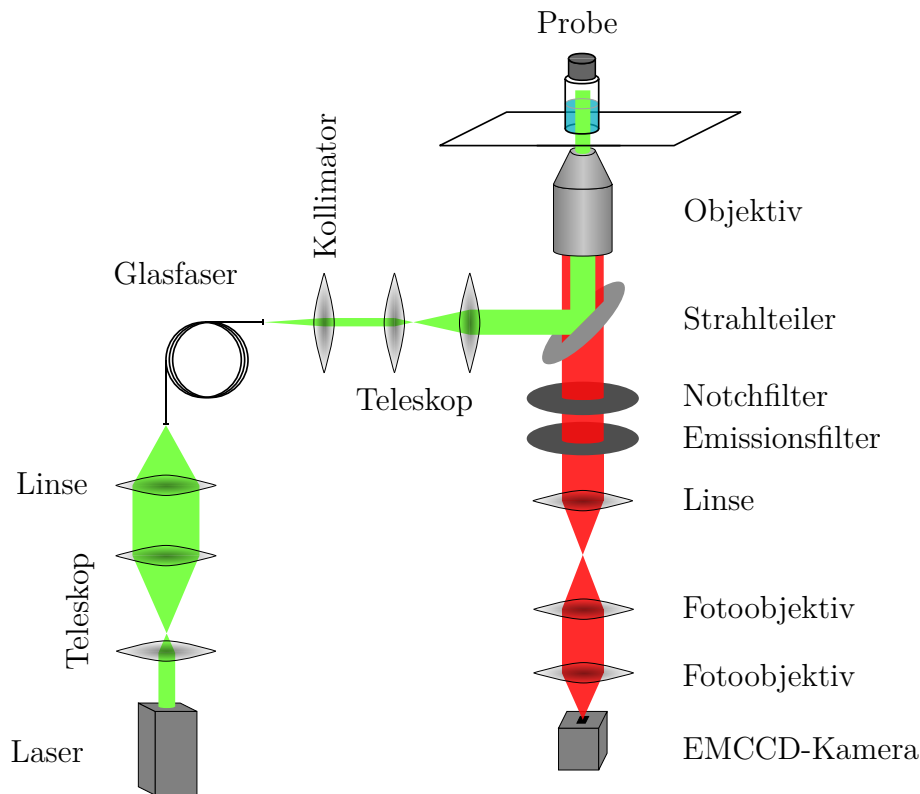
### 2.3.1. optischer Aufbau

Der optische Strahlengang lässt sich in einen Anregungs- und einen Fluoreszenzstrahlengang aufteilen (Abb. 2.5). Der Anregungsstrahlengang projiziert das Ende einer Glasfaser in die Probe, in der sich eine mit dem Glasfaserende konjugierte Bildebene befindet. Im Fluoreszenzstrahlengang wird diese Ebene auf eine EMCCD-Kamera projiziert und zweidimensional detektiert:

Technisch realisiert wurde dies, indem zunächst ein Dauerstrich-Diodenlaser der Wellenlänge 561 nm (Cobolt Jive) und einer Leistung von 100 mW auf das Glasfaserende

---

<sup>a</sup>Dieses Signal wird bewusst nicht als „Rauschen“ bezeichnet, da es von erwünschten Fluorophoren stammt, die potentiell in die Fokalebene hineindiffundieren können; zudem ist es insbesondere bei Fluorophoren in der Nähe der Fokalebene nicht statistisch sondern lokal begrenzt.



**Abbildung 2.5:** Schematische Abbildung des weitfeldmikroskopischen Setups: der Laserstrahl wird aufgeweitet und in eine Glasfaser eingekoppelt. Das Austrittsende der Glasfaser wird über ein Linsensystem in das Mikroskop eingekoppelt, sodass sich in der Probe eine Bildebene des Glasfaserendes befindet. Fluoreszenzlicht aus dieser Ebene wird durch ein Filtersystem vom Laserlicht und Streulicht bereinigt. Über ein Linsen- und Fotoobjektivsystem wird die Bildebene zur Detektion auf eine EMCCD-Kamera projiziert. Details siehe Text.

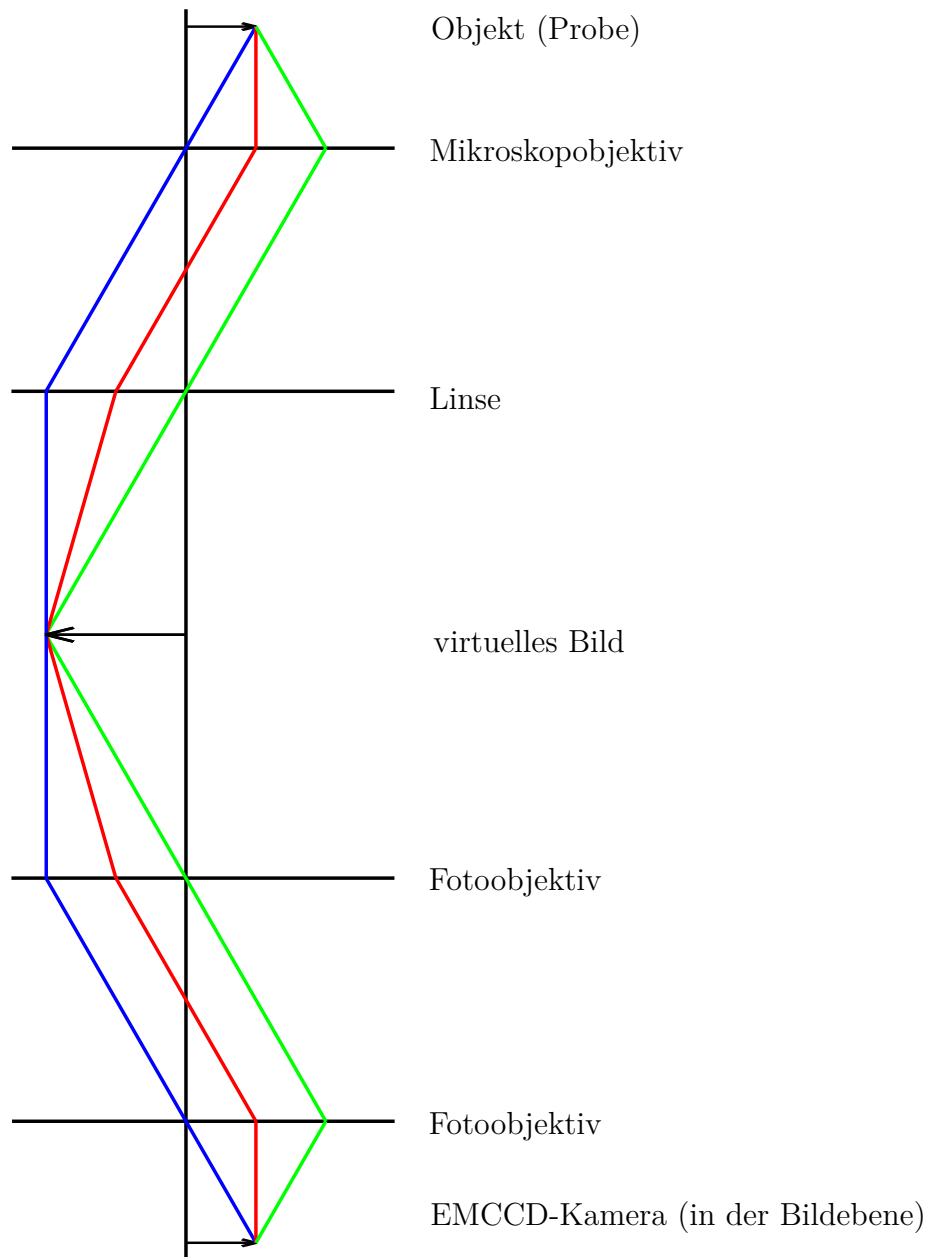
fokussiert wurde. Die Vorfokussierung erfolgte durch ein Teleskop bestehend aus zwei Plankonvexen Linsen, deren Abstand einen höheren Wert besaß als die Summe ihrer Brennweiten (30 bzw. 60 mm). Durch eine asphärische Linse (Thorlabs F220 FC-A,  $f=11$  mm) unmittelbar am Ende der Glasfaser wurde der Laser in diese eingekoppelt. Die Glasfaser war an einem Vortex-Schüttler befestigt, der sie mit 2500 Schwingungen pro Minute bewegte um Intensitätsschwankungen hervorgerufen durch Interferenzen zeitlich herauszumitteln und somit eine homogene Beleuchtung der Probe zu gewährleisten. Zur Einkopplung in das Mikroskop wurden drei Linsen mit den Brennweiten 11, 40 sowie 100 mm verwendet. Die erste koppelt das Licht aus dem Faserende und sammelt es. Die beiden folgenden bilden ein Teleskop und weiten den Strahl auf, sodass

das Objektiv des Mikroskops optimal ausgeleuchtet wird. Zwischen diesen befindet sich eine Zwischenbildebene. Das Mikroskopobjektiv (Leica HCX PL APO 100x/1.40) ist auf unendlich fokussiert. Das bedeutet, es fokussiert jeweils Parallelstrahlen, die aus einer Richtung stammen auf einen Punkt in die Probe. Da verschiedene Punkte des Faserendes aus verschiedenen Richtungen auf die rückseitige Objektivöffnung fallen wird auf diese Weise das Faserende in die Probe abgebildet. Dabei wird das Faserende mit einem Durchmesser von 0.5 mm auf eine Fläche mit ca. 26  $\mu\text{m}$  Durchmesser verkleinert, was der Detektionsfläche entspricht. Es handelt sich also um eine Art von kritischer Beleuchtung<sup>[38]</sup>, bei der jedoch nicht klassisch eine beleuchtete Mattscheibe in die Probe abgebildet wird. Die hier verwendete Technik hat den Vorteil, dass der aus der Glasfaser austretende Laserstrahl annähernd verlustfrei ins Mikroskop eingekoppelt werden kann.

Der Emissionsstrahlengang ist schematisch in Abb. 2.6 gezeigt: Das erzeugte Fluoreszenzlicht wird vom Objektiv aufgenommen und durch einen dichroitischen Spiegel (Chromo Technology z561/660rcp) vom Anregungslicht getrennt. In Kombination mit dem Objektiv erzeugt die Tubuslinse am Mikroskopausgang ein Zwischenbild, welches die am Objektiv angegebene Vergrößerung aufwies. Dieses Zwischenbild wurde mittels zwei Fotoobjektiven (Nikkor 28 mm, 1:2.8 sowie Nikkor 85 mm, 1:2.0) um den Quotienten ihrer Brennweiten  $\frac{85 \text{ mm}}{28 \text{ mm}} = 3.04$  nachvergrößert. Die Probe wurde also theoretisch mit einer gesamten Vergrößerung des Faktors 304 auf den Kamerachip abgebildet. Die Verwendung von Fotoobjektiven hat den Vorteil, dass diese achromatisch und sehr gut entspiegelt sind, ausserdem sind sie durch Massenfertigung günstig in der Anschaffung.

### 2.3.2. Detektion mittels EMCCD-Kamera

Die Aufnahme der Bildsequenzen erfolgte durch eine EMCCD-Kamera (Andor Technologies, iXon EMCCD, DV887DCS-BV) mit einem quadratischen Detektionsarray bestehend aus 512x512 Pixeln. Die reale Größe jedes Pixel (px) betrug 16x16  $\mu\text{m}$ , was bei der oben berechneten theoretischen Vergrößerung um den Faktor 304 einer Kantenlänge in der Probe von 52.6 nm entspricht. Dieser Wert konnte anhand einer Probe bekannter Größe praktisch verifiziert werden: Das US-Airforce Target besitzt eine große Zahl an Liniengruppen, die jeweils einen genau definierten Abstand aufweisen. In Abb. 2.7 ist die ausgewählte Größenskala Nr. 4 der Gruppe 7 gezeigt. Sie



**Abbildung 2.6:** Schematische Abbildung des Fluoreszenzstrahlengangs der Weitfeldmikroskopie. Das Objekt wird vom Mikroskopobjektiv und der mikroskopeitigen Linse als virtuelles Zwischenbild abgebildet. Dieses wird mittels zwei Fotoobjektiven erneut vergrößert und auf die EMCCD-Kamera projiziert. Schema nicht maßstabsgetreu.

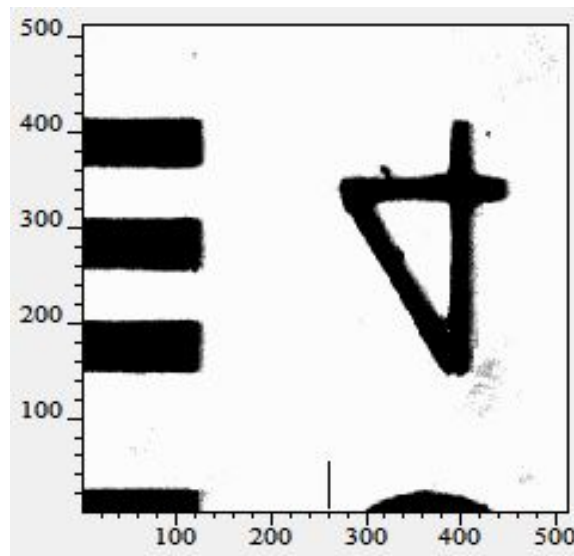
weist 181.0 Linienpaare pro mm auf. Dabei ist ein Linienpaar als eine schwarze und eine weiße Linie definiert. Es konnten, wie in der Abbildung zu sehen, drei schwarze sowie zwei weiße Linien aufgenommen werden, was 2.5 Linienpaaren entspricht. Die Gesamtbreite wurde zu 264 Pixeln gemessen, also 105.6 px pro Linienpaar. Die Länge, die auf einen Pixel abgebildet wird konnte anhand von Gleichung 2.7 in sehr guter Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert von 52.6 nm/px bestimmt werden:

$$\frac{1}{105.6 \text{ px/lp} \times 181 \text{ lp/mm}} = 52.3 \text{ nm/px} \quad (2.7)$$

Wie bereits erwähnt, ist das erhaltene Bild beugungslimitiert. Die Position des detektierten Fluorophors kann, solange sein Abbild sich nicht mit anderen überlagert, dennoch genauer definiert werden: Es ist möglich, eine zweidimensionale Gaussfunktion an die Intensitätsverteilung anzupassen oder, wie in dieser Arbeit, den Schwerpunkt der das Abbild repräsentierenden Pixel zu bilden. Für weitere Informationen darüber siehe Kap. 2.3.4.

Gegenüber herkömmlichen CCD-Kameras verfügt das verwendete Andor-Modell neben dem Aufnahmeveld über einen maskierten Zwischenspeicher sowie ein Verstärkungs-(gain-) Register zur Elektronenvervielfachung. Der Vorteil des maskierten Zwischenspeichers liegt darin, dass das Aufnahmeveld bereits wieder belichtet werden kann während der Zwischenspeicher ausgelesen wird. So muss lediglich das Aufnahmeveld in den Zwischenspeicher geschoben werden (512 Schritte), bevor das Aufnahmeveld wieder einsatzbereit ist. Die Architektur herkömmlicher CCD-Chips erfordert hingegen das zeilenweise Auslesen des gesamten Chips, also über 262000 Schritte, bevor mit der Belichtung des folgenden Bildes begonnen werden kann.

Ähnlich dem Schieberegister zur Auslesung funktioniert auch das Register zur Elektronenvervielfachung. Der Unterschied liegt darin, dass von je drei Elektronenfallen eine mit einer wesentlich höheren Spannungsamplitude von 40 bis 50 Volt (V) angesteuert wird sowie eine vorgeschaltete Elektronenfalle mit konstantem Potential besitzt. Die erhöhte Spannungsamplitude zwischen diesen beiden Elektronenfallen ist ausreichend, um Stoßionisationsprozesse auszulösen und die Zahl der Elektronen zu erhöhen. Auf diese Weise liegt die Wahrscheinlichkeit dass ein Elektron ein weiteres erzeugt zwar nur bei  $\sim 1\%$ , jedoch führt eine hohe Zahl von Transfers zu einer signifikanten Signalverstärkung. Wenn ein kleines Signal nun über den Wert des Ausleserausens verstärkt wird, wird das effektive Ausleserausens so weit gemindert, dass es vernachlässigt



**Abbildung 2.7:** Am Weitfeldmikroskop aufgenommenes Bild des US-Airforce Targets. Zu sehen ist die Größenskala Nr. 4 der Gruppe 7 mit ihren drei schwarzen und den beiden dazwischen liegenden weißen Linien (mitte links). Skalierung in Pixel.

werden kann.

Die einzige verbleibende durch die Detektion verursachte Quelle von Rauschsignal ist nun noch der Dunkelstrom. Er entsteht im Detektionsfeld während der Messung selbst und ist unter anderem abhängig von der Belichtungszeit. Da das Signal wie oben beschrieben verstärkt wird, ist anzustreben das Dunkelstromrauschen möglichst komplett zu unterdrücken. Dies ist in der CCD-Technik möglich durch Kühlung des Chips durch ein Thermoelement. In dieser Arbeit wurde der CCD-Chip stets bei einer Temperatur von 193 K betrieben. Eine noch geringere Temperatur führt praktisch nicht zur weiteren Verbesserung des Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses.

Für die Analyse der aufgenommenen Bilder und Lokalisierung der Fluorophore siehe Kap. 2.3.4.

### 2.3.3. Faltung des Signals mit der optischen Transferfunktion

Ein punktförmiges Objekt wird durch den verwendeten optischen Aufbau keineswegs ebenfalls als Punkt detektiert sondern erhält aufgrund von Beugungseffekten eine von null verschiedene Ausdehnung. Diese nennt sich optische Transferfunktion oder auch

Punktspreizfunktion und begrenzt die maximal mögliche Auflösung. Bei einem Objekt mit einer intrinsischen Ausdehnung erscheint das Abbild wie die Summe der das Objekt repräsentierenden Punkte jeweils multipliziert mit der optischen Transferfunktion. Man spricht dabei von einer Faltung oder Konvolution. Dabei kann das „Objekt“ auch ein virtuelles Objekt sein, wie zum Beispiel das in der FCS definierte konfokale Volumen. Auch in der Weitfeldmikroskopie spielt die Konvolution eine Rolle: Die in dieser Arbeit verwendeten Fluorophore weisen eine Ausdehnung im niedrigen einstelligen Nanometerbereich auf. Da jedoch die Abbildungsgröße eines Pixels 52 nm beträgt (Gleichung 2.7) wäre im klassischen Fall zu erwarten, dass das Fluorophor lediglich auf einen einzigen Pixel abgebildet wird. Unter Berücksichtigung der Beugungseffekte wird aber ein quasi-punktförmiges Objekt als optische Transferfunktion abgebildet und somit werden mehrere Pixel ausgeleuchtet.

### 2.3.4. Lokalisierung der Fluorophore

Das aus den Messungen erhaltene Bild der CCD-Kamera ist objektiv eine Fläche von Pixeln mit unterschiedlich hohen Helligkeitswerten. Aus diesen Werten muss nun mittels eines Algorithmus die Position der Fluorophore ermittelt werden. Dies erfolgt stets partikular für das einzelne Bild, also ohne Daten aus vorhergegangenen oder nachfolgenden Bildern mit einzubeziehen. Da einzelne Farbstoffmoleküle detektiert werden sollen, ist das Signal trotz der erwähnten Verwendung von hochempfindlichen EM-CCD-Kameras sehr schwach: das Signal-zu-Rauschen Verhältnis bewegt sich im Bereich von ca. 2 bis 3. Dies reicht dennoch oft aus, um die Position des Fluorophors zuverlässig zu bestimmen.

Die Bestimmung des Ortes einzelner Fluorophore in der Weitfeldfluoreszenzmikroskopie wurde mittels eines Algorithmus von Dominik Wöll<sup>[39]</sup> durchgeführt, welcher automatisiert in einer Matlab-Prozedur jedes Bild einer Serie analysiert. Beispielhaft ist die Prozedur in Abb. 2.8 bis 2.15 gezeigt. Bild 2.8 und 2.9 zeigen das Signal eines Fluorophors und ein aus Zufallszahlen bestehendes Rauschen. Zunächst wurden zwei verschiedene Mittelwertfilter auf das Signal mit Rauschen (Bild 2.10) angewandt, die jedem Pixel den Mittelwert der  $m \times m$  bzw.  $n \times n$  umgebenden Pixel zuordnet (Bilder 2.11 und 2.12). Nachdem Bild 2.12 von Bild 2.11 abgezogen wurde (Bild 2.13) erfolgte erneut die Bildung eines  $3 \times 3$ -Mittelwerts. Das resultierende Bild 2.14 zeigt

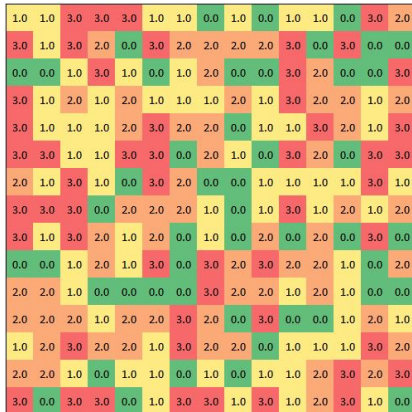


Abbildung 2.8: Zufallswerte zwischen 0 und 3

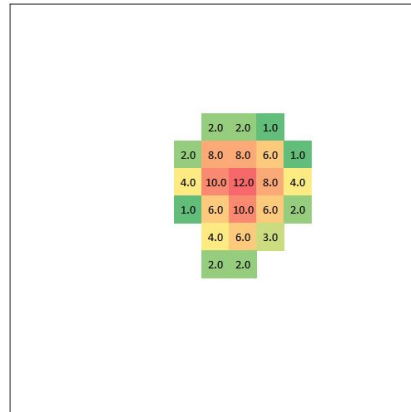


Abbildung 2.9: Simuliertes Signal, Maximalwert = 12

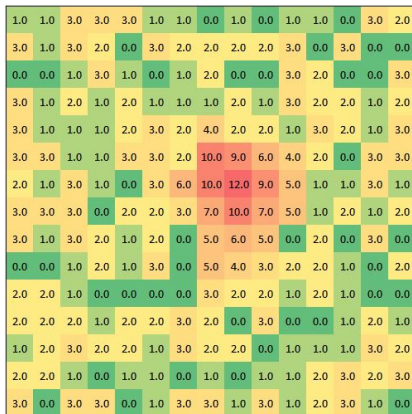


Abbildung 2.10: Summe aus Abb. 2.8 und Abb. 2.9

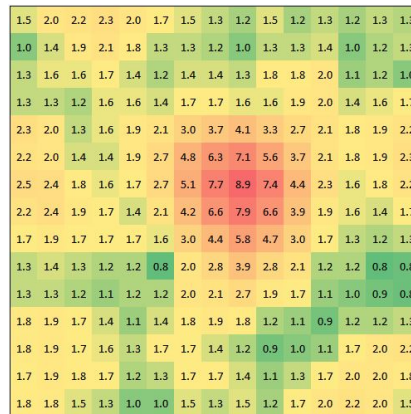


Abbildung 2.11: 3×3-Filter angewendet auf Abb. 2.10

das Signal verdeutlicht als Maximum mit einem umgebenden Minimum. Dies führt zu einer klaren Begrenzung des Signals. Für die weitere Auswertung wurde Bild 2.14 basierend auf einem frei gewählten Schwellenwert binärisiert (Bild 2.15). Für die weitere Auswertung werden nur Positionen mit einer definierten Mindestzahl aneinander angrenzender Pixel verwendet. Als Position des Fluorophors wird nun der Schwerpunkt dieser Pixel angenommen, welche eine höhere Genauigkeit als die Größe eines Pixels aufweisen kann. Eine Bestimmung über eine zweidimensionale Gauß'sche Glockenkurve ist ebenfalls denkbar<sup>[40]</sup>, sie brachte jedoch bei deutlich erhöhtem Rechenaufwand keine substantielle Verbesserung der Lokalisierungsgenauigkeit.



Statistik zu erreichen. Der Algorithmus muss also in der Lage sein zu entscheiden, zu welcher Trajektorie ein Punkt am wahrscheinlichsten gehört. (3) Da Einzelmoleküle beobachtet werden, ist ein Blinken<sup>[42]</sup> der Moleküle möglich, sodass ein vorhandenes Fluorophor bei einigen aufeinanderfolgenden Aufnahmen nicht erscheint. (4) Aufgrund der geringen Signalintensität ist das Hintergrundsignal verhältnismäßig groß. Dadurch entstehen falsch negative sowie falsch positive Positionen. Auch das Auftreten dieser Fälle muss in der Auswertung entsprechend berücksichtigt werden können. Eine falsch negative Position entspricht dem Fall des Blinkens und ist bereits dort berücksichtigt, und auch eine falsch positive Position darf nicht zwingend einer Trajektorie zugeordnet werden.

Der Algorithmus erstellt schließlich mögliche Trajektorien und bewertet sie, indem sowohl dem Abstand in x und y-Richtung sowie der Zeit t ein Kostenfaktor zugeordnet wird. Die Gewichtung der einzelnen Kosten kann individuell eingestellt werden. Weiterhin werden Zusatzkosten berechnet für eine Position, die keinen Vorgänger oder Nachfolger hat, also für das Ende einer Trajektorie. Für eine Bilderserie werden am Ende diejenigen Trajektorien ausgewählt, die insgesamt den kleinsten Kostenfaktor aufweisen.

### 2.3.6. Mathematische Ermittlung des Diffusionskoeffizienten

Die Ermittlung des Diffusionskoeffizienten erfolgte anhand der Methode der maximalen Wahrscheinlichkeitsverteilung. Sie beruht auf den Grundgedanken des mittleren Verschiebungsquadrats (für Details siehe Kap. 2.8), und berücksichtigt auch mögliche zeitliche Änderungen des Diffusionskoeffizienten, indem sie die Trajektorie in Segmente aufteilt und somit verschiedene Werte für den Diffusionskoeffizienten ermöglicht. Es hat sich anhand von Simulationen gezeigt, dass diese Methode der des mittleren Verschiebungsquadrat bei der Identifizierung zeitlicher Änderungen deutlich überlegen ist<sup>[43]</sup>. Sie liefert auch bei Fotoblinken und verrauschtem Signal sehr gute Ergebnisse<sup>[44]</sup>.

## 2.4. Die konfokale Fluoreszenzmikroskopie und ihre Möglichkeiten

Die räumliche Auflösung ist oft ein limitierender Faktor in der Fluoreszenzspektroskopie. Viele Methoden (wie z.B. die Weitfeldmikroskopie, siehe Kap. 2.3) illuminieren ein großes Volumen der Probe und bestimmen eine fokale Ebene, innerhalb derer die Fluoreszenz detektiert wird. Dies hat den Nachteil, dass durch die unselektive Anregung viel Fluoreszenzlicht aus Ebenen außerhalb des Fokus als Hintergrund detektiert wird. Dieser Hintergrund wird in der konfokalen Mikroskopie unterdrückt: die Beleuchtungsintensität in der Probe ist in einem fokalen Volumen maximiert, indem der Anregungslaser in die Probe fokussiert wird. Auch die Detektion des Fluoreszenzlichts wird auf ein fokales Volumen beschränkt, das in der klassischen Konfokalmikroskopie identisch mit dem Anregungsvolumen ist. Aus diesem Grund wird dieser Aufbau konfokal genannt. In der Praxis wird das fokale Detektionsvolumen definiert, indem eine Lochblende im Detektionsstrahlengang positioniert wird. Diese blockiert sämtliches Licht im Detektionsstrahl, das aus Ebenen außerhalb sowie Punkten seitlich dieses Volumens stammt (Abb. 2.17). Auf den Detektor, meist eine Avalanche-Fotodiode (engl. avalanche photodiode, APD), kann also nur Fluoreszenzlicht aus dem konfokalen Volumen treffen.

### 2.4.1. optischer Aufbau der konfokalen Mikroskopie

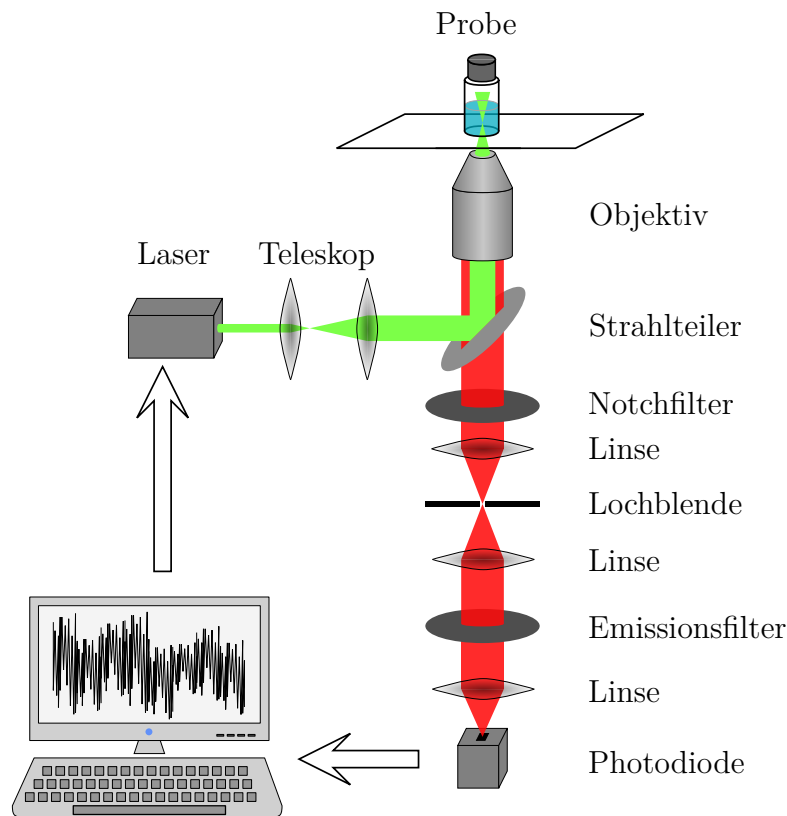
Der konfokalmikroskopische Aufbau (Abb. 2.16) ermöglicht eine Vielzahl von Messmethoden. In dieser Arbeit wurden FCS und zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen (engl.: time correlated single photon counting) (TCSPC) angewandt, weiterhin können z.B. FRET, Fluoreszenzerholung nach Photobleichen (engl.: fluorescence recovery after photobleaching) (FRAP) und Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie (engl.: fluorescence lifetime imaging microscopy) (FLIM)-Experimente durchgeführt werden. Auch die stimulierte Emissionslöschung (engl.: stimulated emission depletion) (STED)-Mikroskopie, für die Stefan Hell 2014 den Chemie-Nobelpreis erhielt, ist eine Weiterentwicklung des klassischen Konfokalmikroskops.

Das Setup besteht aus zwei optischen Strahlengängen, einem Anregungsstrahlengang und einem Fluoreszenzstrahlengang. Im Fall eines epi-Mikroskops durchlaufen diese

Strahlengänge im Mikroskop selbst und in die Probe hinein die gleichen optischen Elemente. Zur Anregung wird ein Laserstrahl, der ein Gauss'sches Strahlprofil besitzt, also in der  $TEM_{00}$ -Mode arbeitet, durch ein Teleskop aufgeweitet und kollimiert. Er wird in ein Mikroskop eingekoppelt, welches ihn über einen dichroitischen Spiegel (Strahlteiler) entlang der optischen Achse auf das Objektiv lenkt. Das Objektiv fokussiert den Strahl auf einen Punkt in der Probe, sodass ein beugungslimitiertes Anregungsvolumen in der Größe von ca. 1 fl entsteht. Das Mikroskop arbeitet in Epi-Mode. Ein Teil des im konfokalen Volumen entstehenden Fluoreszenzlichts wird also vom gleichen Objektiv aufgenommen und durch den Strahlteiler von Streulicht der Anregungswellenlänge abgetrennt. Anschließend wird es auf eine Lochblende ( $50\ \mu\text{m}$ ) projiziert, welche sich in der Bildebene des Konfokalvolumens befindet. Optische Filter wie der Bandstoppfilter sowie der Emissionsfilter eliminieren restliches Laserlicht sowie Streulicht. Durch ein Linsensystem wird diese Bildebene in der Lochblende auf eine Lawinen-Photodiode (engl.: avalanche photodiode) (APD) abgebildet, welche das Fluoreszenzsignal zeitlich hochaufgelöst detektiert und über ihren Controller (nicht abgebildet) an den Computer zur Datenauswertung weiterleitet.

### 2.4.2. Auflösungsvermögen und numerische Apertur (NA)

Für das Auflösungsvermögen eines Mikroskops ist die NA des Objektivs ein wichtiger Faktor. Im Fall der FCS wird durch die NA in Verbindung mit einer Lochblende ein konfokales Volumen realisiert<sup>[45]</sup>. Die Funktion der Lochblende ist dabei, das fokale Volumen des Emissionsstrahlengangs zu bestimmen und Licht, das aus anderen Regionen stammt herauszufiltern. Wie in Abb. 2.17 gezeigt, trifft fast ausschließlich Licht aus diesem Volumen auf den Detektor. Dabei ist die Begrenzung in der xy-Ebene, also der Fokalebene, wesentlich schärfer als jene senkrecht dazu in z-Richtung, da Punkte auf der optischen Achse lediglich sehr unscharf auf die Lochblende abgebildet, jedoch nicht komplett geblockt werden. Je größer also die numerische Apertur des Objektivs und je kleiner die Lochblende, desto kleiner ist das fokale Emissionsvolumen und desto größer das Auflösungsvermögen. Dies gilt natürlich nur solange das System nicht in den beugungslimitierten Bereich kommt. Dadurch ist eine Grenze gesetzt, bei der das konfokale Volumen ca. 0,1 Femtoliter beträgt. Durch Variation des konfokalen Volumens können Spezialfälle wie Flussgeschwindigkeiten<sup>[46]</sup> und anormale



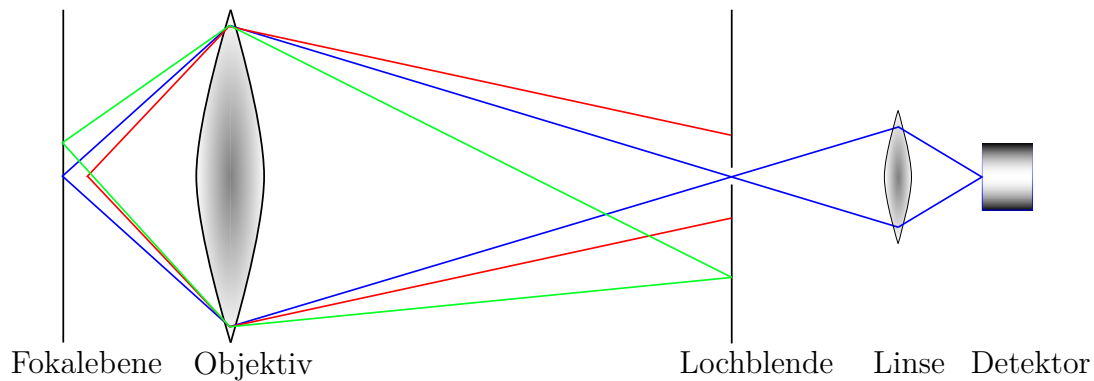
**Abbildung 2.16:** Schematische Abbildung des konfokalmikroskopischen Setups: Der Anregungslaser (grün) wird aufgeweitet und durch ein Objektiv in die Probe projiziert. Das Fluoreszenzlicht (rot) wird vom gleichen Objektiv gesammelt. Durch optische Filter sowie einem Linsen/Lochblende-System (Abb. 2.17) wird das Fluoreszenzlicht von Streu- und Hintergrundlicht separiert und anschließend zur Detektion auf die Photodiode fokussiert. Details siehe Text.

Diffusion<sup>[47]</sup> beobachtet werden.

Die NA ist eine von ERNST ABBE eingeführte Kenngröße für das Auflösungsvermögen eines Objektivs, sie ist das Produkt aus dem Sinus des halben Öffnungswinkels  $\alpha$  auf Objektseite und des Brechungsindex  $n$  des Mediums zwischen Objektiv und Objekt:

$$NA = n \cdot \sin \alpha \quad (2.8)$$

Die Auflösung einer nichtselbstleuchtenden Probe kann gut anhand der Abbildung der Spalte eines Gitters veranschaulicht werden<sup>[48]</sup>: Nach dem HUYGENSSCHEN PRINZIP



**Abbildung 2.17:** Emissionsstrahlengänge im Konfokalmikroskop (vereinfachte Darstellung): Ein Objekt im konfokalen Volumen wird durch das Objektiv auf eine Lochblende projiziert und trifft anschließend auf den Detektor (blauer Strahlengang). Ein Objekt, welches sich seitlich versetzt in der Fokalebene befindet, wird auf einen anderen Punkt der Lochblende abgebildet und von dieser geblockt (grüner Strahlengang). Ein Objekt, das sich auf der optischen Achse, jedoch nicht in der Fokalebene befindet, wird diffus auf eine Fläche der Lochblende abgebildet und größtenteils von dieser geblockt.

sind die Spalte Ausgangspunkte kohärenter Wellen. Diese überlagern sich und interferieren in Abhängigkeit von der Ausbreitungsrichtung, sodass ein Interferenzmuster entsteht. Dabei ist bei zentraler Beleuchtung der Abstand  $d$ , den die Linien im Gitter überschreiten müssen, um getrennt vom Mikroskop dargestellt zu werden wie folgt definiert:

$$d = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha} \quad (2.9)$$

Oder, unter Berücksichtigung von Gleichung 2.8:

$$d = \frac{\lambda}{NA} \quad (2.10)$$

Bei selbstleuchtenden Objekten, wie sie auch in dieser Arbeit in Form von Einzelmolekül-Fluoreszenzfarbstoffen verwendet wurden, wird die mögliche Auflösung durch das Rayleigh-Kriterium beschrieben. Dieses sagt aus, dass zwei Punkte voneinander unterscheidbar sind, wenn das Maximum der durch die optische Transferfunktion<sup>[49]</sup> entstehenden Beugungsscheibchen eines Punktes mit dem ersten Minimum des Beugungsscheibchens vom zweiten Punkt zusammenfällt oder weiter entfernt ist (<sup>[50]</sup> S. 8-15). Dabei ist das Beugungsscheibchen definiert als die Intensitätsverteilung in

der Schärfeebene. Ist das Rayleigh-Kriterium erfüllt, dann beträgt das Minimum der beobachteten Intensität zweier gleich stark leuchtender Punkte 73.5% der Maximalintensität. Dieses Kriterium ist eine weit verbreitete Konvention. Dennoch ist es nicht ausgeschlossen, dass eine Unterschreitung dieser Grenze in bestimmten Fällen möglich ist.

Im Fall des konfokalen Fluoreszenzmikroskops muss jedoch neben der Beugung des Fluoreszenzlichts auch die optische Transferfunktion des Anregungsstrahls berücksichtigt werden. Mathematisch muss die optische Transferfunktion des Anregungslichts mit jener der Detektion multipliziert werden, um die Auflösung des Gesamtsystems zu erhalten:<sup>[51]</sup>

$$OTF_{Konfokal} = OTF_{Anregung} \cdot OTF_{Detektion} \quad (2.11)$$

Im einfachsten Fall sind die optischen Transferfunktionen identisch oder sie unterscheiden sich aufgrund der Wellenlängenabhängigkeit nur geringfügig, da der Stokes-Shift beachtet werden muss. Es kann also definiert werden:<sup>[52]</sup>

$$OTF_{Konfokal} \approx (OTF_{Anregung})^2 \quad (2.12)$$

In diesem Fall ändert sich zwar nicht die Lage der Maxima und Minima, da die Funktion lediglich quadriert wird. Jedoch nimmt die Halbwertsbreite der Maxima ab. Während also die Auflösung nach dem klassischen Rayleigh-Kriterium unverändert bleibt, steigert sich die Auflösung nach dem sogenannten verallgemeinerten Rayleigh-Kriterium, das einen Intensitätsunterschied von 73.5% des Minimums zwischen zwei leuchtenden Objekten und deren Maxima als Grundlage nimmt, um den Faktor  $\sqrt{2}$ <sup>[50]</sup>. Dieser Faktor kann einfach hergeleitet werden, wenn für die Form der optischen Transferfunktion ein Gaußprofil angenommen wird, sie ist aber auch für reale optische Transferfunktionen in sehr guter Näherung anwendbar.

### **Konfokales Volumen**

Ähnlich wie bei der physikalischen Definition des Auflösungsvermögens sind für die Definition des konfokalen Volumens die optischen Transferfunktionen für die Anregung sowie für die Emission entscheidend. Auch wenn, wie in dieser Arbeit, kein mehrdimensionales Bild einer Probe durch Laserabtastung oder Probentischabtastung erhalten werden soll, ist die räumliche Auflösung von großer Bedeutung: Wie bereits

beschrieben, ist die Illuminationsverteilung durch die dreidimensionale optische Transferfunktion der Anregung definiert. Je geringer der Wert dieser Funktion an einem Ort, desto geringer ist auch die Wahrscheinlichkeit, dass ein Fluorophor an diesem Ort angeregt wird. Da es sich um einen konfokalen Aufbau handelt verhält sich die Detektionswahrscheinlichkeit eines angeregten Fluorophors ebenso. Die ortsabhängige Wahrscheinlichkeit  $p(x, y, z)$ , dass ein Fluorophor angeregt und anschließend detektiert wird, verhält sich also analog nach Gleichung 2.12<sup>[53]</sup>:

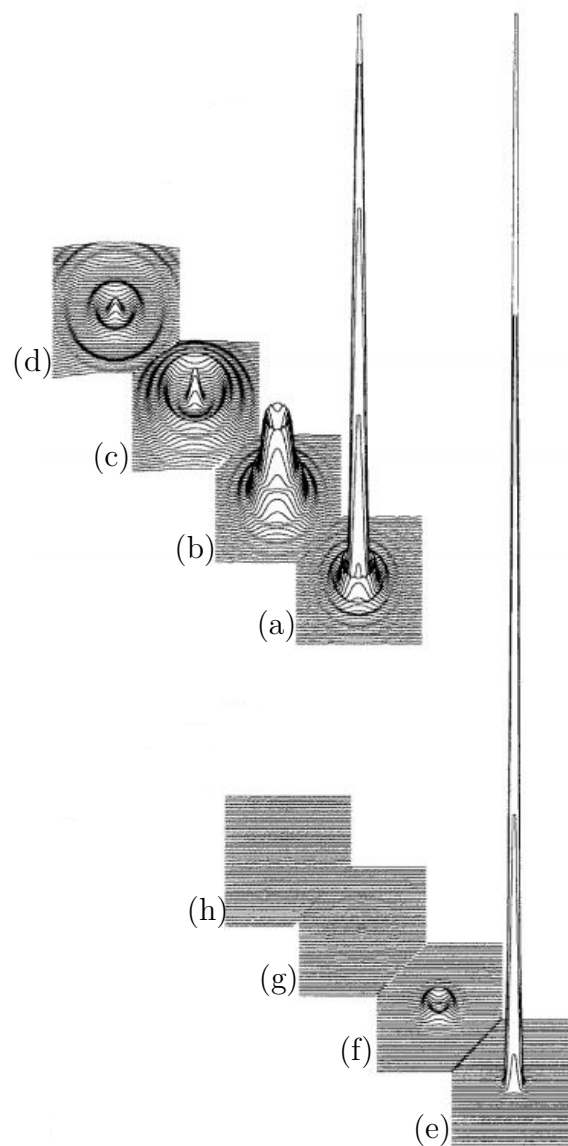
$$p_{Konfokal}(x, y, z) = p_{Anregung}(x, y, z) \cdot p_{Detektion}(x, y, z) \approx (p_{Anregung}(x, y, z))^2 \quad (2.13)$$

Da das Hauptmaximum der einzelnen Wahrscheinlichkeitsfunktionen um ein Vielfaches größer ist als die Nebenmaxima wird es durch die Quadrierung so stark verstärkt, dass die Nebenmaxima annähernd verschwinden (Abb. 2.18). So kann das konfokale Volumen, aus dem die Fluoreszenz detektiert wird, in sehr guter Näherung als das Hauptmaximum der dreidimensionalen Wahrscheinlichkeitsfunktion  $p_{Konfokal}(x, y, z)$  angesehen werden.

### 2.4.3. Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie

Die meisten fluoreszenzmikroskopischen Methoden basieren auf Ensemblemessungen der eingesetzten Fluorophore. Sie bilden ein mathematisches Mittel eines Messwerts über sämtliche gemessenen Farbstoffsonden und geben diesen aus. Heterogenitäten, die lokal oder temporal in der Probe auftreten können bleiben unberücksichtigt. Einen Schritt weiter geht die moderne Form der FCS: Während das Grundprinzip der FCS bereits 1972 von Magde *et al.*<sup>[54]</sup> formuliert wurde, konnte sie sich erst durch die Kombination mit der konfokalen Mikroskopie durch Rigler *et al.*<sup>[55]</sup> im Jahr 1999 als eine der Standardmethoden in der Fluoreszenzspektroskopie entwickeln. Zu den Einsatzgebieten zählen insbesondere biologische Anwendungen wie Zellsysteme<sup>[56–58]</sup>, Proteine<sup>[59,60]</sup> und DNA<sup>[61–63]</sup>. Eine Übersicht über die Anwendungsmöglichkeiten geben Hess *et al.*<sup>[64]</sup>. Auch in den Materialwissenschaften ist die FCS weit verbreitet, insbesondere der Polymerforschung.<sup>[65–67]</sup> Einen aktuellen Überblick über die Anwendung der FCS in polymeren Systemen gibt ein Übersichtsartikel von Dominik Wöll.<sup>[68]</sup>

Bei der FCS-Messung, die wie bereits erwähnt standardmäßig an einem Konfokalmi-



**Abbildung 2.18:** (a-d) Optische Transferfunktion der Anregung bzw. der Detektion  $p(x, y, z)$ . (e-h) Deren Produkt  $p_{Konfokal}(x, y, z)$ . Gezeigt ist jeweils die Funktion in der fokalen Ebene  $z = 0$  (a, e) sowie in Ebenen parallel dazu (b-d, f-h) © IOP Publishing. Reproduced with permission. All rights reserved ([53])

kroskop durchgeführt wird, ist die Messgröße die Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit der Zeit. Es werden also temporale Intensitätsfluktuationen im konfokalen Volumen gemessen. Dabei ist es anzustreben, dass sich im konfokalen Volumen im zeitlichen Mittel ein Fluorophor befindet: Befindet sich eine Vielzahl Fluorophore darin, so ist

der Kontrast beim Ein- und Austreten eines einzelnen Fluorophors in das konfokale Volumen sehr gering: Die Intensität ändert sich kaum, wenn anstelle von 100 Farbstoffsonden nur noch 99 im konfokalen Volumen präsent sind. Der Intensitätsunterschied ist hingegen wesentlich größer, wenn eine einzige vorhandene Farbstoffsonde aus dem konfokalen Volumen hinausdiffundiert.

Quantenphysikalisch betrachtet ist die Energie von Licht definiert durch die Anzahl der detektierten Photonen in einem bestimmten Zeitbereich, sowie ihrer Wellenlänge. Da jeder Zeitbereich jedoch aus unendlich vielen Zeitpunkten besteht, wird zu jedem Zeitpunkt maximal nur ein Photon gemessen. Bei der Messung muss also für jedes detektierte Photon der genaue Zeitpunkt der Detektion abgespeichert werden, wobei die Ankunftszeit nach aktuellem Stand der Technik im Pikosekundenbereich aufgelöst werden kann. Um Intensitäten zu erhalten werden die Ankunftszeiten der Photonen in endliche Zeitbereiche (engl.: „bin“) eingeordnet, wobei die Zahl der Photonen eine Intensität repräsentieren, die im folgenden korreliert werden kann.

#### 2.4.4. zeitliche Korrelation der detektierten Photonen

Um aus dem erhaltenen Signal der durch das konfokale Volumen diffundierenden Fluorophore anschauliche Daten zu erhalten, wird die Korrelation des Signals mit einer zeitlich verschobenen Funktion des selben Signals errechnet, also die Autokorrelationsfunktion  $G$  gebildet (Gleichung 2.14). Diese ist abhängig von der zeitlichen Verschiebung  $\tau$  und wird in Abhängigkeit von dieser aufgetragen.

$$G(\tau) = \langle \delta I(t) \cdot \delta I(t + \tau) \rangle \quad (2.14)$$

Hierbei wird die Intensitätsdifferenz relativ zur mittleren Intensität verwendet:

$$\delta I(t) = I(t) - \langle I(t) \rangle \quad (2.15)$$

Dabei ist  $I(t)$  die Fluoreszenzintensität zum Zeitpunkt  $t$ ; der erhaltene Wert ist ein Mittelwert über alle  $t$ . Zur besseren Vergleichbarkeit wird diese Funktion anschließend anhand des Intensitätsmittelwerts normiert. Da eine Auftragung mit den absoluten Intensitätswerten  $I(t)$  gegenüber den verwendeten Intensitätsdifferenzen  $\delta I(t)$

anschaulicher ist, muss der Korrekturterm  $-1$  eingeführt werden.

$$G(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} - 1 \quad (2.16)$$

Im einfachsten Fall, wenn die Intensitätsfluktuation allein durch Translationsdiffusion zustande kommt, lässt sich die Korrelationsfunktion wie folgt beschreiben: Da die Abtastrate, also die Pulsfrequenz des Lasers auf einer wesentlich kürzeren Zeitskala statt findet als die Diffusion innerhalb der Probe, ist die Wahrscheinlichkeit, unmittelbar nach der Detektion eines Photons ein weiteres zu detektieren am Höchsten<sup>b</sup>. Je größer  $\tau$  gewählt wird, desto kleiner ist die Detektionswahrscheinlichkeit, da es immer wahrscheinlicher wird, dass sich das Fluorophor mittlerweile an den Rand des konfokalen Volumens bewegt hat oder aus diesem hinausdiffundiert ist. Analog dazu sinkt in dem Fall auch die Korrelation und verschwindet schließlich ganz. Dabei ist der zeitliche Abfall der Funktion  $G(\tau)$  abhängig vom Diffusionskoeffizienten  $D$  des beobachteten Fluorophors.

Auf ähnliche Weise lassen sich entsprechend der Diffusion per FCS alle Vorgänge innerhalb der Probe ermitteln, die eine Fluktuation der Fluoreszenzintensität während des Vorgangs verursachen. Beispiele hierfür sind einerseits Bewegungen der Moleküle wie Translation<sup>[65,69–71]</sup> und Rotation<sup>[65,72]</sup>, andererseits photophysikalische Vorgänge wie der Übergang in den Triplett-Zustand<sup>[73,74]</sup> und die cis-trans-Isomerisierung von Doppelbindungen<sup>[75]</sup>.

## 2.5. Bestimmung des Polymerisationsumsatzes

Eine Vielzahl an Methoden ist bekannt, um den Umsatz einer Polymerisation zu bestimmen. Thermische Methoden wie Thermogravimetrische Analyse (TGA) und dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry) (DSC) werden oft verwendet. Die TGA kann jedoch nicht *in situ* durchgeführt werden. Während die DSC zwar den Polymerisationsverlauf zeitlich sehr genau auflösen kann, muss die Probe jedoch im Gerät verbleiben und steht somit nicht für weitere Messungen zur Verfügung. Auch der durch Ausfällen des Polymers in einem Nichtlösungsmittel

---

<sup>b</sup>Da jedoch nach Aussenden eines Photons der Fluorophor zunächst wieder angeregt werden muss, bevor es ein weiteres Photon aussenden kann, sinkt die Korrelation bei  $\lim_{\tau \rightarrow 0} G = 0$ . Dieser Effekt wird Photon antibunching genannt.

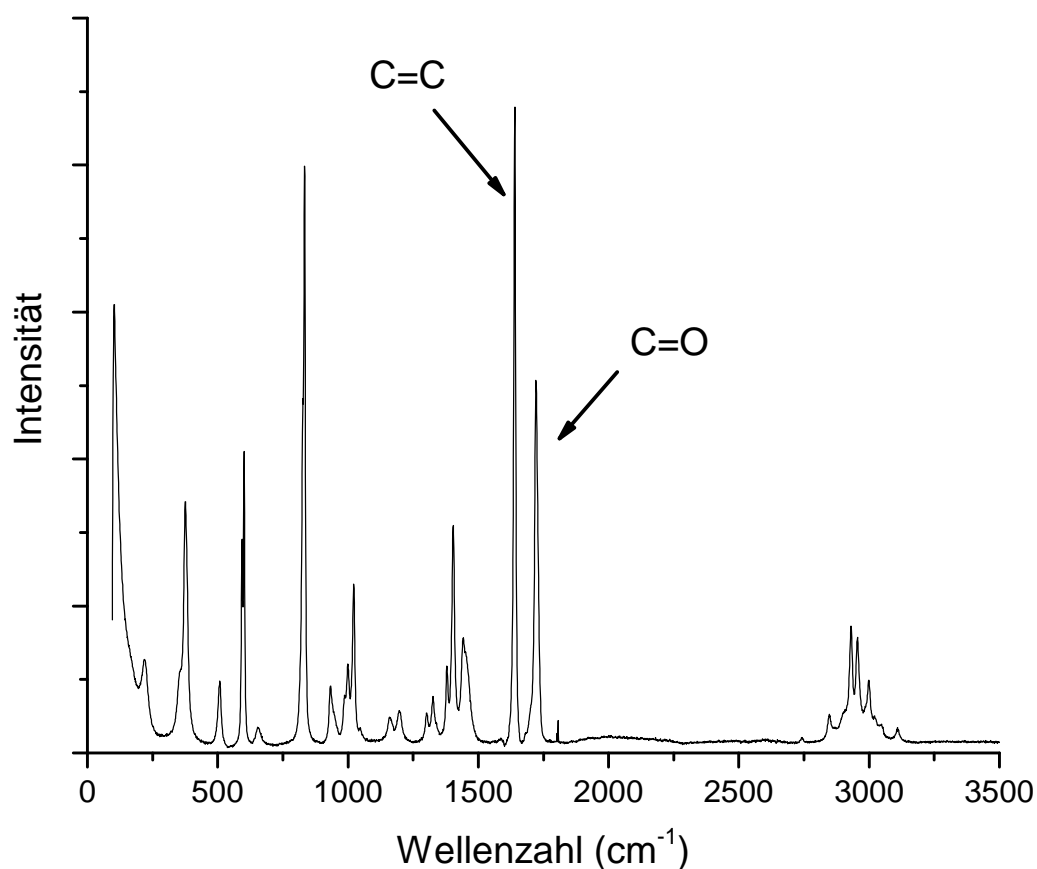
erhaltene Polymeranteil kann gravimetrisch bestimmt werden, dies ist jedoch aufwändig und unpräzise. Daher ist eine spektroskopische Methode den vorgenannten vorzuziehen. Diese sind nicht nur nicht-invasiv und daher *in situ* durchzuführen, sondern auch schnell und oft einfach handzuhaben. Als Beispiele seien die NMR-, die Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FTIR)<sup>[76]</sup>, sowie die Ramanstreuung genannt. In dieser Arbeit wurde letztere angewandt. Sie setzt keine deuterierten Lösungsmittel voraus und kann innerhalb von wenigen Sekunden durchgeführt werden. Ein Ramanspektrum von MMA ist beispielhaft in Abb. 2.19 zu sehen. Es wird deutlich, dass die Signale der C=C-Doppelbindung der Acrylgruppe bei  $1640\text{ cm}^{-1}$  sowie der Carbonyl-Streckschwingung (C=O) bei  $1732\text{ cm}^{-1}$  sich nicht mit Signalen weiterer Gruppen überlagern. Theoretisch wäre die Bestimmung des Umsatzes allein mit der Abnahme der Acrylgruppe zu quantifizieren. Die Signalintensität ist jedoch nicht nur von der Monomerkonzentration, sondern auch von vielen weiteren Faktoren wie z.B. der Laserintensität und vom Brechungsindex abhängig. Diese Faktoren konstant zu halten ist schwierig bis unmöglich. Daher bietet sich die Carbonylbande als interner Standard an. Sie ist spezifisch und frei von Überlagerungen.

### 2.5.1. Ramanspektroskopische Umsatzbestimmung nach Chu

Klassisch wäre zu erwarten, dass sich die Bandenintensitäten proportional zum Vorkommen der zugehörigen funktionellen Gruppe (s.o.) in der Reaktionsmischung verhalten (Gleichung 2.17).

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} = \frac{x_m}{x_m + x_p} \quad (2.17)$$

Dabei ist  $I$  die Intensität bei der entsprechenden Wellenzahl,  $x_m$  und  $x_p$  sind die Anteile des Monomers bzw. Polymers in der Reaktionsmischung. Chu *et al.* zeigten jedoch am Beispiel von Styrol, dass diese Erwartung in die Irre führen kann: Die Bandenintensität ist ebenfalls davon abhängig, ob sich die Gruppe in einem Monomer oder einem Polymer befindet<sup>[77]</sup>. Sie führten daher Korrekturfaktoren ein (hier  $a_1$ ,  $a_2$  und  $b$ ), anhand deren der Verlauf einer nichtlinearen Kalibrationskurve *a priori* beschrieben und begründet werden kann. Übertragen auf MMA verhalten sich die Intensitäten wie folgt:



**Abbildung 2.19:** Ramanspektrum von MMA. Mit Pfeilen markiert sind die zur Umsatzbestimmung verwendeten Banden der Doppelbindungsstretschwingungen. Die Intensität ist in willkürlichen Einheiten aufgetragen.

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} = \frac{a_2 \cdot x_m}{a_1 \cdot x_m + b \cdot x_p} \quad (2.18)$$

Diese Gleichung besitzt drei Konstanten. Durch Umformen und Ersetzen gelangt man auf ein Gleichungssystem mit lediglich zwei Konstanten:

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} = \frac{a_2 \cdot x_m}{a_1 \cdot x_m + b \cdot (1 - x_m)} \quad (2.19)$$

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} = \frac{a_2}{a_1} x_m \frac{1}{x_m + \frac{b}{a_1} - \frac{b \cdot x_m}{a_1}} \quad (2.20)$$

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} = p x_m \frac{1}{x_m + q(1 - x_m)} \quad (2.21)$$

Mit  $p = \frac{a_2}{a_1}$  und  $q = \frac{b}{a_1}$ .

Um den Monomeranteil zu erhalten, wird entsprechend aufgelöst:

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} (x_m + q(1 - x_m)) = p x_m \quad (2.22)$$

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} \cdot q + \frac{I_{1640}}{I_{1732}} (1 - q) \cdot x_m = p x_m \quad (2.23)$$

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} \cdot q = p x_m + \frac{I_{1640}}{I_{1732}} (q - 1) \cdot x_m \quad (2.24)$$

$$\frac{I_{1640}}{I_{1732}} \cdot q = x_m \left( p + \frac{I_{1640}}{I_{1732}} (q - 1) \right) \quad (2.25)$$

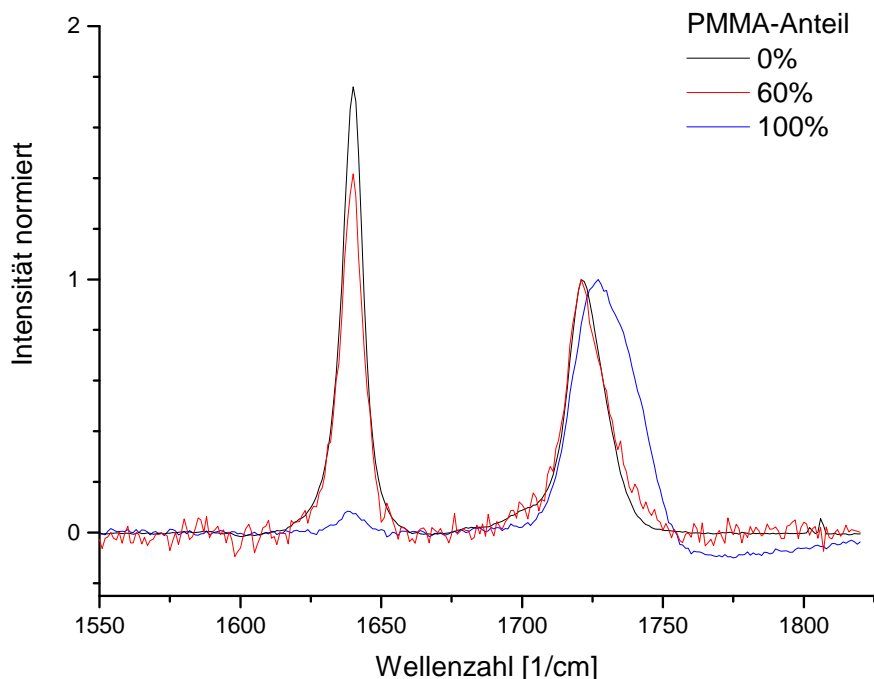
$$x_m = \frac{\frac{I_{1640}}{I_{1732}} \cdot q}{p + \frac{I_{1640}}{I_{1732}} (q - 1)} \quad (2.26)$$

$$x_p = 1 - \frac{\frac{I_{1640}}{I_{1732}} \cdot q}{p + \frac{I_{1640}}{I_{1732}} (q - 1)} \quad (2.27)$$

Sind die Konstanten p und q anhand von Kalibrationsmessungen bekannt, kann nun vom Verhältnis der Bandenintensitäten der Monomer- und damit auch der Polymeranteil errechnet werden.

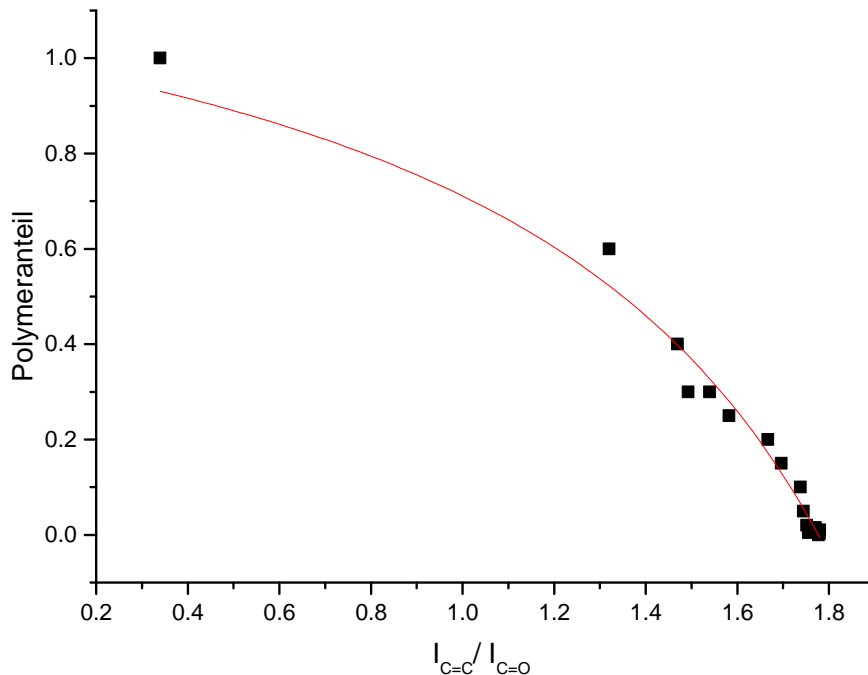
### 2.5.2. Kalibration

Um ein Ramanspektrum zur Bestimmung des Polymeranteils zu verwenden, ist zunächst die Bestimmung der Parameter p und q nötig. Hierzu wurden Lösungen verschiedener Konzentrationen von PMMA in MMA angesetzt. Anschließend wurden von den Proben sowie von reinem PMMA Ramanspektren gemessen sowie eine Basislinie abgezogen. Beispielhaft sind die Spektren des Monomers, einer 60%igen Lösung und der kommerziellen Polymerprobe in Abb. 2.20 gezeigt. Die kommerzielle PMMA-Polymerprobe ist die einzige, die eine leichte Verschiebung des C=O-



**Abbildung 2.20:** Drei der zur Kalibration verwendeten Kurven mit Polymeranteilen von 0, 60 und 100%. Die Kurven sind basislinienkorrigiert sowie auf das Signal der C=C-Streckschwingung (Maximum bei ca.  $1720\text{ cm}^{-1}$ ) normiert.

Streckschwingungssignals aufweist. Bereits an den Spektren ist deutlich zu erkennen, dass sich die Intensität der C=C-Streckschwingung keinesfalls linear zur Konzentration der Spezies verhält. Dieser Sachverhalt wird in Kap. 2.5.1 diskutiert. Es wurde jeweils das Verhältnis der Intensität der C=C- zu jener der C=O-Streckschwingung gebildet. Dieses Verhältnis ist in Abhängigkeit des Polymeranteils in Abb. 2.21 gezeigt. Die Genauigkeit der Kalibration zeigt eine Abhängigkeit vom Polymeranteil: Je kleiner der Polymeranteil desto größer ist der Betrag der Steigung an der entsprechenden Stelle. Insbesondere bei sehr kleinen Polymeranteilen wirkt sich also eine Intensitäts-Messungenauigkeit aus während sie bei hohem Polymeranteil nur eine geringe Rolle spielt. Anhand der erhaltenen Datensätze ist es nun möglich, eine Fitfunktion zu erstellen, welche im Folgenden als Kalibration genutzt werden kann.



**Abbildung 2.21:** Kalibrationskurve zur Ermittlung des Umsatzes anhand einer Ramanmessung. Das Verhältnis der Ramanintensitäten der C=C Streckschwingung zur C=O Streckschwingung (Abszisse) in PMMA-MMA-Lösungen in Abhängigkeit vom Polymeranteil (schwarze Quadrate). Rote Linie: Fit anhand von Gleichung 2.27. Die Parameter ergeben sich zu  $p = 1.776$  sowie  $q = 0.316$ .

### 2.5.3. Experimentaltteil Raman

Die Ramanmessungen sowie die zugehörige Kalibration wurden an einer PerkinElmer RamanStation 400 gemessen. Sie wurden mit einem 785 nm Laser betrieben, der 100  $\mu$ W Leistung in die Probe einstrahlt. Der Fokus des Lasers befand sich in einem Abstand von 15 mm von der Austrittslinse und besaß eine Größe von 100  $\mu$ m. Die Detektion erfolgte mittels eines CCD-Detektors mit einer Breite von 1024 Pixeln, wobei eine Auflösung von einer Wellenzahl pro Pixel erreicht wird. Es wurde eine Basislinie von den erhaltenen Spektren abgezogen, wobei stets das Maximum der Peaks zur Auswertung verwendet wurde. Die Verwendung einer Gausskurve zur Ermittlung des Maximums zeigte keine Verbesserung in der Genauigkeit und wurde daher nicht angewandt.

Jede Messung bestand aus 5 Einzelmessungen von jeweils 5 Sekunden Dauer, welche anschließend kumuliert wurden. Der CCD-Chip wurde bei einer Temperatur von 223 K betrieben. Das Abziehen der Basislinie sowie die Berechnung der Intensitätsquotienten und des Umsatzes erfolgte automatisiert durch einen selbst programmierten Algorithmus mit der KNIME ANALYTICS PLATFORM.

Die Kalibration erfolgte durch Ansetzen von Lösungen von PMMA in MMA im Bereich bis 60% Polymeranteil. Es wurde dabei stabilisiertes MMA spektroskopischer Qualität verwendet, ein Entgasen fand nicht statt. Die Lösungen wurden erst gemessen, nachdem sich das Polymer komplett gelöst hatte. Dies war trotz zeitweiligem Schütteln (Vortex) bei hohen Polymerkonzentrationen erst nach mehreren Tagen der Fall. Weiterhin wurde ein kommerzielles PMMA im Bulk (Polymeranteil = 1) gemessen und in die Kalibration mit aufgenommen. Die Auswertung bis hin zur Ermittlung des Intensitätsquotienten erfolgte analog der Polymerisationsmessungen. Die anschließende Kurvenanpassung („fit“) wurde mittels einer Chi-Quadrat-Minimierung durchgeführt, anhand derer die Parameter  $p$  und  $q$  zu 1.776 respektive 0.316 bestimmt wurden.

## 2.6. Probenvorbereitung

### 2.6.1. Aufbau der Probenträger

Für eine störungsfreie, kontrastreiche und scharfe Detektion ist für sämtliche angewandten Methoden die Beschaffenheit des Probenträgers von großer Bedeutung. Er sollte chemisch inert sein und ein in sich geschlossenes System darstellen. Er darf also einen Gasaustausch nicht zulassen. Zudem müssen seine optischen Eigenschaften die Transmission der erforderlichen Wellenlängen sowohl in der Anregung als auch bei der Emission ermöglichen. Neben der optimalen Transmission sind auch die optischen Brechungseigenschaften entscheidend, die transmittierenden Flächen müssen also planparallel beschaffen sein. Außerdem muss die Dicke für die Meßmethoden geeignet sein.

Um die genannten Eigenschaften zu vereinen wurden für diesen Zweck entwickelte und gestaltete Probenkammern (Abb. 2.22) angefertigt: Sie bestehen auf der Unterseite aus einem Deckglas, welches für die Mikroskopie bestimmt ist. Auf diesem ist mit Was-

serglas ein Schraubdeckelglas (Durchmesser 14.7 mm) verklebt. Dieses kann durch eine Schraubkappe verschlossen werden, deren mit Teflon (Polytetrafluorethylen) (PTFE) beschichtete Dichtung das Schraubgewinde abschließt und Gasaustausch verhindert.



**Abbildung 2.22:** Verwendete Probenkammer ohne Inhalt.

Auf diese Weise kann sichergestellt werden, dass der Probenträger sich optisch und chemisch eignet: die Mikroskopobjektive sind auf die Nutzung von Probenträgern mit entsprechender Dicke (0.16 mm) korrigiert. Das Glas ist inert, auch das Wasserglas wird von den verwendeten organischen Lösungen nicht angegriffen. Das Volumen ist ausreichend groß, um Oberflächenphänomene<sup>[78]</sup> auszuschließen und um durch eine Inertgasschicht die Entstehung eines zu großen Unterdrucks während der Polymerisation aufgrund der steigenden Dichte der Reaktionsmischung ausgleichen zu können.

### 2.6.2. Reinigung der Probenträger

Die Reinigung der Probenkammer wurde mit einer basischen Reinigungslösung für optische Laborgeräte (Hellmanex III, Hellma GmbH & Co. KG) sowie unter Sauerstoffplasma durchgeführt. Die Hellmanex III-Lösung vereint Tensid-Lösungseigenschaften mit den Vorteilen basischer Lösungen, in diesem Fall Trikaliumorthophosphat. Auf diese Weise werden organische Verbindungen wie z.B. Ester und Amide gespalten und in polare, wasserlösliche Verbindungen überführt. Der Großteil der an der Oberfläche haftenden Verunreinigungen wird dabei entfernt. Anschließend werden in der

Sauerstoffplasma-Atmosphäre verbleibende Rückstände oxidiert und in die Gasphase überführt. Die Reinigung ausschließlich im Plasmaofen durchzuführen ist nicht möglich, da das Plasma nur an der Oberfläche reagiert und daher bereits bei etwas dickeren Ablagerungen an Effizienz verliert. Details genauen Herstellung sowie zur Reinigungsprozedur siehe Kapitel 6.1.

### 2.7. Viskosität

Die Viskosität ist eine physikalische Größe, die die Fließeigenschaften einer Flüssigkeit beschreibt. Während leicht fließende Substanzen wie organische Lösungsmittel oder Wasser eine niedrige Viskosität (ca. 1 cP) aufweisen, sind „dickflüssige“ Substanzen wie Honig hochviskos. Eine Obergrenze für die Viskosität gibt es nicht, der Übergang zum Feststoff ist stetig. Da eine Messung nicht mehr möglich ist, kann bei extrem hochviskosen Substanzen keine genaue Viskosität angegeben werden: Asphalt wird ein Viskositätsbereich von ca.  $10^{11}$  bis  $10^{16}$  cP zugesprochen.<sup>c</sup> Gemessen wird die Viskosität klassischerweise mit einem Viskosimeter oder Rheometer, von denen mehrere Bauweisen existieren. Das Meßprinzip der Rotationsviskosimeter ist folgendes: Es gibt zwei Flächen, eine fixierte und eine rotierende. Die rotierende Fläche dreht sich um ihre eigene Achse meist parallel zur fixierten. Das Drehmoment, das aufgebracht werden muss um die Drehung aufrecht zu erhalten wird unter Berücksichtigung der Geometrie und Schichtdicke in der Anordnung dazu verwendet die Viskosität zu berechnen.

Eine weit verbreitete Methode ist die Kapillarviskosimetrie. Sie beruht darauf, dass die zu untersuchende Probe von der Schwerkraft angetrieben durch eine Kapillare mit definierter Länge und Radius fließt.<sup>[81]</sup> Die Meßgröße ist dabei die Durchflusszeit, aus der mittels der Kapillardaten die kinematische Viskosität errechnet werden kann. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass neben der Konzentration auch die Temperatur der Lösung problemlos eingestellt werden kann.

Die so erhaltene Viskosität ist allerdings eine makroskopische Eigenschaft der im Bulk gemessenen Substanz. Sie liefert keinerlei Aussage über die molekularen Vorgänge und

---

<sup>c</sup>Trivia: erkaltetes Pech fließt so langsam, dass es sich scheinbar wie ein Feststoff verhält. In dem sogenannten Pechtropfenexperiment befindet sich Pech in einem unten geöffneten Trichter und fließt heraus. Das Experiment wurde 1930 gestartet und bis dato sind 9 Tropfen gefallen (Stand: 14.09.2015). Dieses Experiment wurde mehrfach satirisch als das „langweiligste Experiment der Welt“ betitelt<sup>[79,80]</sup> sowie mit dem Ig-Nobelpreis 2005 ausgezeichnet. Es demonstriert jedoch sehr anschaulich, dass Fließeigenschaften auch auf sehr langen Zeitskalen auftreten können.

freie Volumina, die zur intramolekularen Reibung und damit zur Viskosität führen. Da jedoch genau diese in der vorliegenden Arbeit untersucht werden sollen, spielt die Makroviskosität in dieser Arbeit eine untergeordnete Rolle.

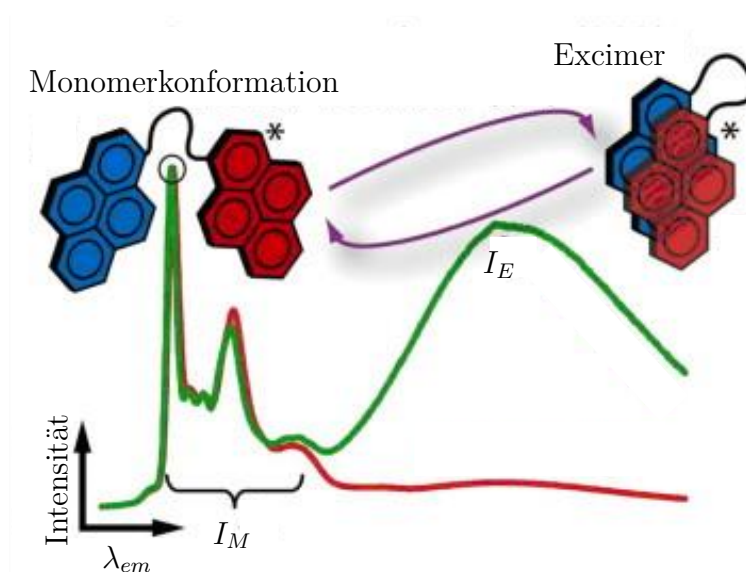
### 2.7.1. Makroskopische Viskosität vs. mikroskopische Viskosität

Die Viskosität auf makroskopischer Skala wird wie bereits erwähnt mittels makroskopischer Messaufbauten bestimmt. Um Viskosität und freie Volumina auf molekularer Ebene zu determinieren sind entsprechende Messsonden nötig, die bestimmte Eigenschaften in Abhängigkeit der Messgröße ändern. Dabei sind verschiedene Ansätze in der Literatur bekannt: einerseits beruhend auf intramolekularen Wechselwirkungen, die zu einer Änderung des Spektrums führen<sup>[82,83]</sup>, andererseits intramolekulare Dynamiken, die die Fluoreszenzlebenszeit verändern. Zu ersteren gehört z.B. das 1,3-bis-(1-pyrenyl)propane (BPP) mit seinen zwei Chromophoren. Wenn es sterisch möglich ist, bildet es durch  $\pi$ -stacking ein intramolekulares Excimer, dessen Fluoreszenzspektrum im Vergleich zum „Monomer“ im längerwelligen Bereich liegt.<sup>[83]</sup> Durch die Überlagerung der Chromophore im Excimer sinkt der angeregte Zustand im JABLONSKI-Diagramm ab, so dass die Fluoreszenz aufgrund geringerer Energie bathochrom verschoben wird. Die Fluoreszenzspektren sowohl des „Monomers“ als auch des Exciplexes sind in Abb. 2.23 gezeigt.

Der zweite Ansatz, anhand von eingebrachten molekularen Sonden Rückschlüsse auf die lokale Mikroviskosität zu erhalten, ist die Verwendung molekularer Rotoren.<sup>[84–86]</sup> In einer bestimmten Konformation findet Fluoreszenzlöschung statt, was zu einer verkürzten Fluoreszenzlebenszeit führt solange die Drehbarkeit sterisch möglich ist. Auf die molekularen Rotoren wird in Kap. 2.9.3 genauer eingegangen.

## 2.8. Diffusion

Unter Diffusion versteht man die statistische Bewegung von Teilchen, seien es Atome, Moleküle oder Kolloide in Flüssigkeiten, Gasen oder ähnlichen Systemen. Die Triebkraft für die Bewegung ist dabei die thermische Energie der Teilchen, die keinen äußeren Kräften ausgesetzt sind. In dem Fall, dass am Anfang verschiedene Stoffe getrennt vorliegen, folgt aus der Diffusion eine statistische Durchmischung der Teilchen, die ohne äußere Einwirkung nicht rückgängig gemacht werden kann. Durch die Diffusion



**Abbildung 2.23:** Illustration der Konformationsänderung des BPP in niedrigviskoser Umgebung (rechts) zu hochviskoser Umgebung (links). Rote Linie: Fluoreszenzspektrum des Monomeren. Grüne Linie: Fluoreszenzspektrum aus der Monomer- als auch der Excimer-Konformation wie es bei hoher Viskosität auftritt. Die breite Bande im höheren Wellenlängenbereich ist dem Excimer zuzuordnen. Schema angepasst übernommen von Bhanot<sup>[83]</sup> in Bezug auf Birks<sup>[82]</sup> Reprinted from J. Chem. Thermodynamics, 45, C. Bhanot, S. Trivedi, A. Gupta, S. Pandey, S. Pandey, Dynamic viscosity versus probe-reported microviscosity of aqueous mixtures of poly(ethylene glycol), 137-144, 2012 with permission from Elsevier.

steigt also die Entropie dieses Systems. Die ersten quantitativen Arbeiten zur Diffusion hat Adolf Fick 1855 in den sogenannten Fick'schen Gesetzen niedergeschrieben.<sup>[87]</sup> Eine thermodynamische Betrachtung wurde von Albert Einstein 50 Jahre später formuliert,<sup>[88]</sup> die unter dem Namen Einstein-Smoluchowski-Beziehung bekannt wurde. Sie definiert den Diffusionskoeffizienten  $D$  über die Beweglichkeit der Teilchen  $\mu$  in Abhängigkeit von der Temperatur, unter Einbezug der Boltzmann-Konstante ( $k_b$ ):

$$D = \mu \cdot k_B \cdot T \quad (2.28)$$

Die Stokessche Gleichung definiert die Beweglichkeit kugelförmiger Teilchen mit dem Radius  $r$  über die Viskosität des Lösungsmittels:

$$1/\mu = 6\pi \cdot \eta \cdot r \quad (2.29)$$

Durch Kombination der Gleichungen 2.28 und 2.29 ergibt sich die Stokes-Einstein-Gleichung, die den Diffusionskoeffizienten kugelförmiger Teilchen anhand des Radius und der Lösungsmittelviskosität definiert:

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot r} \quad (2.30)$$

Um aus Trajektorien, also verbundenen Positionsdaten mit Zeitinformation, einen Diffusionskoeffizienten zu ermitteln, ist die Berechnung der mittleren quadratischen Verschiebung (mean squared displacement, MSD) eine weit verbreitete Methode. Sie findet Anwendung, wenn die Bewegung von Teilchen anhand von zeitlich definierten Positionen analysiert werden soll. Der einfachste Fall ist die Bewegung um einen festgelegten Wert ausgehend vom Ursprung in einer Dimension. Ob die Bewegung in die positive oder negative Richtung erfolgt, ist nicht definiert aber gleich wahrscheinlich. Wird eine Vielzahl an Teilchen nach einer bestimmten Zahl von Schritten  $\tau$  betrachtet, so bleibt der Mittelwert ihrer Positionen am Ursprung. Die Schrittzahl  $\tau$  kann somit auch als zeitliche Variable angesehen werden. Lediglich Abstand  $r$  der Positionen um den Ursprung nimmt mit  $\tau$  zu. Die mittlere quadratische Verschiebung berechnet sich daraus wie folgt:<sup>[89,90]</sup>

$$\langle r^2(\tau) \rangle = 2dD\tau \quad (2.31)$$

Wobei  $d$  die Anzahl der räumlichen Dimensionen ist. Anhand dieser Gleichung kann also aus der Bewegung der Diffusionskoeffizient ermittelt werden.

### 2.8.1. Diffusion in Polymerlösungen

Die Bewegung von Monomeren und Polymeren in der Reaktionsmischung, ist von fundamentaler Bedeutung für den Verlauf der Reaktion, wie bereits in Kapitel 2.1.2 erläutert. Trotz dieser Bedeutung finden sich in der Literatur in großer Überzahl Untersuchungen eines Polymers in einem Lösungsmittel, das nicht das korrespondierende Monomer ist. Im Kontrast dazu beschäftigt sich die vorliegende Arbeit ausschließlich mit dieser Kombination.

Lange Zeit war die allgemein anerkannte Annahme, dass sich die Diffusion von Poly-

merketten in konzentrierter Lösung analog den Vorgängen in der Schmelze anhand von Reptation beschreiben lässt<sup>[91]</sup>. Die Reptation beschreibt die schlängelnde Fortbewegung der Kette in einer als starr angesehenen Polymermatrix. Als konzentriert werden dabei Lösungen angesehen, bei denen der mittlere Zentrenabstand einer Kette zur nächsten geringer ist als der Radius des Polymerknäuls. Das bedeutet, dass die Ketten mit den Nachbarketten verknäult sind. Die Annahme der Reptation in Verbindung mit einer Skalierung über ein Potenzgesetz (Gleichung 2.32) ist im deGennes-Edwards-Doi-Modell vereint und auch als Reptations-Skalierungs-Modell<sup>[92]</sup> (engl.: reptation-scaling-model) bekannt. Die Skalierung des Selbstdiffusionskoeffizienten  $D_s$  erfolgt dabei anhand des Molekulargewichts sowie der Konzentration (engl.: concentration) ( $c$ ) und einem Skalierungsfaktor  $x$ .

$$D_s \sim M^{-2}c^x \quad (2.32)$$

Dieses Modell wurde 1986 von Phillis durch eine universelle Skalierungsgleichung<sup>[93]</sup> für Polymerlösungen ersetzt, die auf einer gestreckten Exponentialfunktion beruht.

$$D_s = D_0 \cdot e^{-\alpha c^\nu} \quad (2.33)$$

Wenig später wurde die Gleichung vom Diffusionskoeffizienten entkoppelt und in verallgemeinerter Form auch auf andere Messgrößen wie Rotationsdiffusion, Sedimentation und Viskosität angewandt, wobei  $A$  der entsprechende Transportkoeffizient ist<sup>[94]</sup>:

$$A = A_0 \cdot e^{-\alpha c^\nu} \quad (2.34)$$

Phillis zeigte weiterhin, dass die Gleichung auf sämtliche in der Literatur verfügbaren Datensätze von Polymerlösungen anwendbar ist und bis auf wenige Ausnahmen auch bis in Bereiche hoher Konzentration Gültigkeit besitzt.<sup>[94]</sup> Darüber hinaus wurde deutlich, dass sich vorhandene Literaturdaten, denen zunächst ein Kurvenverlauf nach dem Potenzgesetz zugesprochen wurde nicht nur durch gestreckte Exponentialfunktion beschreiben lassen, sondern sogar über einen weitaus größeren Konzentrationsbereich mit einer gestreckten Exponentialfunktion übereinstimmen als mit dem ihnen zugesprochenen Potenzgesetz.

Unabhängig von der Art des Lösungsmittels (Monomer oder Fremdlösungsmittel) können Polymerlösungen je nach Konzentration in verschiedene Kategorien einge-

teilt werden, die im Fall der Polymerisation nacheinander durchlaufen werden. In verdünnten Lösungen befinden sich die Polymerketten jeweils als einzelnes Knäuel im Lösungsmittel und können als diffundierende Kugeln angesehen werden, die nicht miteinander interagieren. Sie besitzen einen hydrodynamischen Radius, der ausschlaggebend für den Diffusionskoeffizienten ist. In höher konzentrierten Lösungen kann davon ausgegangen werden, dass eine Interaktion zwischen den Ketten auftritt. In diesem Fall ist die Überlappungskonzentration  $c^*$  erreicht bzw. überschritten. Sie kann als invers proportional zum effektiven Volumen angesehen werden, das die Polymerketten in Lösung einnehmen<sup>[95]</sup>. In diesem Zustand interpenetrieren sich die Ketten und teilen sich somit bestimmte Volumina mit ihren unmittelbaren Nachbarn.

Bemerkenswert ist der Übergang der Viskosität vom lösungsartigen zum schmelzartigen Kurvenverlauf<sup>d</sup>.<sup>[96]</sup> Da die Viskosität der Lösung in Abhängigkeit des Molekulargewichts mit der gestreckten Exponentialfunktion ansteigt und diejenige der Schmelze mit einer Potenzfunktion (Gl. 2.32) müsste rein mathematisch bei hohem Molekulargewicht die Lösung eine höhere Viskosität aufweisen als die Schmelze. Dadurch wird bereits in der Theorie ein Übergang von der gestreckten Exponentialfunktion zur Potenzfunktion erforderlich. Tatsächlich konnte dieser Übergang beim Wechsel von kleinen  $c$  und  $M$  (lösungsartiges Verhalten) zu großen  $c$  und  $M$  (schmelzartiges Verhalten) für die Viskosität<sup>[97,98]</sup> als auch für  $D_s$  (siehe<sup>[92]</sup> in Bezug auf<sup>[99,100]</sup>) im Experiment nachgewiesen werden.

## 2.9. Verwendete Farbstoffsonden

Sämtliche verwendete Farbstoffsonden sind in ihren optischen und physikalischen Eigenschaften auf das System angepasst. Sie absorbieren und emittieren in Wellenlängenbereichen, die nicht durch Monomere oder Polymere beeinflusst werden. Außerdem sind sie lipophil und damit bestens löslich in den verwendeten Monomer/Polymersystemen. Im Folgenden sollen die verwendeten Sonden im Einzelnen vorgestellt werden, wobei insbesondere auf den sterischen Anspruch eingegangen werden soll.

---

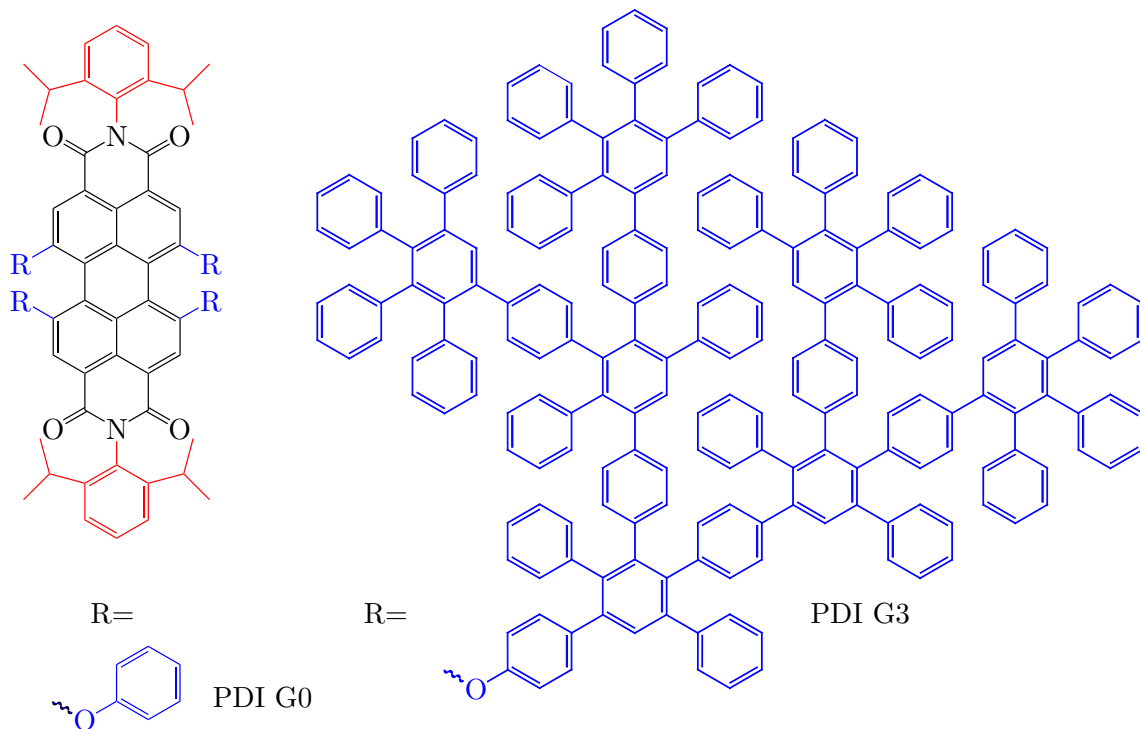
<sup>d</sup>Das bedeutet, der Kurvenverlauf verhält sich wie derjeniger einer Lösung bzw. Schmelze. Diese Nomenklatur bedeutet nicht, dass das System weitere Eigenschaften einer Lösung oder Schmelze aufweisen muss

### 2.9.1. Perylendiimidfarbstoffe

Die Gruppe der Rylenfarbstoffe ist weit verbreitet und findet als Fluorophor auch in dieser Arbeit Anwendung. Eine Übersicht über diese Farbstoffgruppe gibt Weil *et al.*<sup>[101]</sup>. Die Entwicklung der Rylenfarbstoffe wird in erster Linie von Klaus Müllen<sup>[102–104]</sup> vorangetrieben, der auch die beiden in dieser Arbeit verwendeten Perylendiimidfarbstoffe freundlicherweise zur Verfügung gestellt hat. Sie zeichnet sich aus durch exzellente optische Eigenschaften, insbesondere hohe Quantenausbeuten und eine ausgesprochen hohe Photostabilität<sup>[101,105]</sup>. Durch Variation der Chromophorlänge kann in der Absorption ein Spektralbereich von 500 bis 1000 nm abgedeckt werden, der nahezu dem gesamten sichtbaren Spektrum entspricht. Hierbei befinden sich die Perylen-3,4-dicarboximide (kurz: Perylendiimide, PDI) im unteren Wellenlängenbereich. Chromophore mit bis zu sechs Rylengruppen (Hexarylendiimid) sind bekannt.<sup>[106]</sup> Durch die Vergrößerung des Chromophors erfahren sie eine bathochrome Verschiebung, im Fall des Hexarylendiimids bis in den nahen Infrarotbereich<sup>[107]</sup>. Für die Untersuchung von Polymersystemen ist insbesondere die vielfältige Funktionalisierbarkeit sowohl am aromatischen System der Rylengruppen als auch entlang der Molekülachse am Imid-Ende von großer Bedeutung. In dieser Arbeit wurde der Perylendiimidchromophor mit verschiedenen Substituenten verwendet (blau dargestellt in Abb. 2.24, für ihre Absorptions- und Fluoreszenzspektren siehe Abb. A.1):

Fluorophor G0 verhält sich sterisch recht anspruchslos, da er praktisch ausschließlich aus dem Chromophor besteht. Es handelt sich also um einen „molekularen“ Emitter, der klein aber nicht verformbar ist. Diese Eigenschaften sind mit denen der Monomere vergleichbar, welche ebensowenig verformbar jedoch noch etwas kleiner sind. Die an den Imidgruppen verwendeten 2,6-Diisopropylphenylsubstituenten (in Abb. 2.24 rot dargestellt) unterstützen die gute Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, darunter auch das in dieser Arbeit verwendete Monomer MMA.

Der zweite verwendete PDI-Farbstoff G3 unterscheidet sich in der Beschaffenheit der Substituenten am Aromaten. G0 besitzt an den vier mit „R“ bezeichneten Positionen jeweils einen sterisch anspruchslosen Phenoxyrest, welcher bei G3 durch dendritisch aufgebaute, voluminöse Polyphenylenoxygruppen ersetzt sind. Die Bezeichnungen G0 sowie G3 entsprechen dabei der Anzahl der Dendrimergenerationen. Durch die Anzahl dieser Generationen kann eine bestimmte Größe bzw. ein bestimmtes Molekulargewicht



**Abbildung 2.24:** Im Rahmen dieser Arbeit verwendete Fluoreszenzsonden mit PDI-Chromophor. G0: Sonde mit sterisch anspruchslosen Seitengruppen, G3: Sonde mit sterisch anspruchsvollen, dendritischen Seitengruppen

gewählt werden. Die Wahl fiel auf G0 als kleinste Spezies sowie auf G3, weil diese mit einem Molekulargewicht von 11.7 kg/mol dem mittleren Molekulargewicht einer der verfügbaren makromolekularen Farbstoffsonden ( $M_n = 13$  kg/mol) ähnelt und somit als molekularer, nicht-polymerer Vergleich genutzt werden kann.

### 2.9.2. Makromolekulare Farbstoffe mit PDI-Chromophor

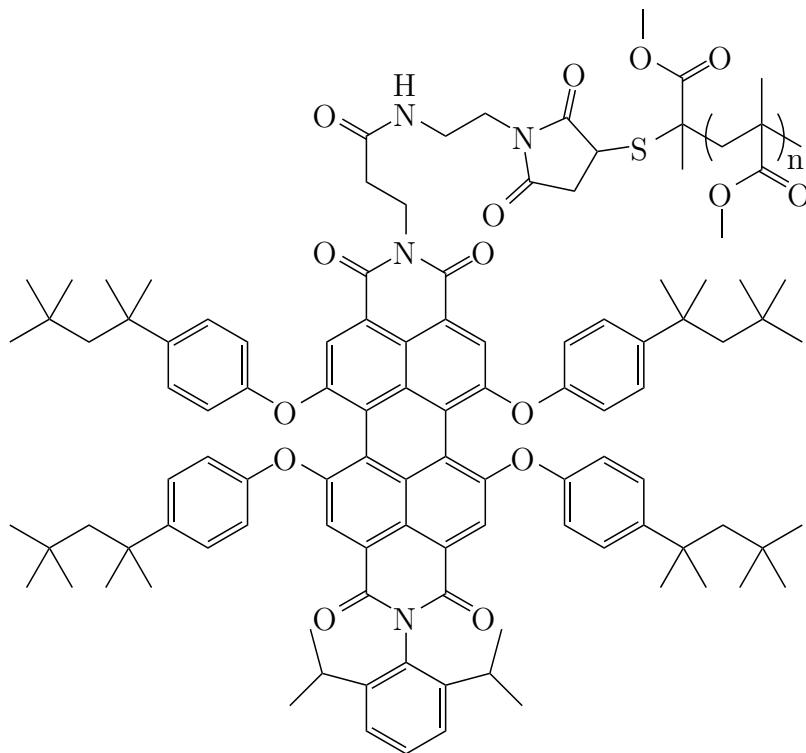
Zur Untersuchung der Polymerdiffusion in Lösung bietet es sich an, einen mit einem Polymer kovalent verknüpften Chromophor zu verwenden. Dies hat den Vorteil, dass das Verhalten der Farbstoffsonde annähernd identisch ist mit jenem der unmodifizierten Polymerkette gleichen Molekulargewichts. In dieser Arbeit wurden PDI-PMMA Addukte mit einem Molekulargewicht im Bereich von 13 bis 150 kg/mol verwendet. Ihre Strukturformel ist in Abb. 2.25 gezeigt: das mit einem Thiolende versehene Polymer ist über eine Postfunktionalisierung mittels Thiol-ene-Klickreaktion an eine Maleimidgruppe des Chromophors gebunden. Das so erhaltene Addukt vereint die

Eigenschaften beider Komponenten: während die PMMA-Kette keinerlei Auswirkung auf den Chromophor und deren Fluoreszenzeigenschaften hat, sorgt das Polymer für die gewünschten Diffusionseigenschaften. Diese können allerdings nicht als vollständig unbeeinflusst vom Chromophor angesehen werden. Der Chromophor braucht geringfügig größere Poren als eine Polymerkette, um ungehindert hindurchdiffundieren zu können. Ausserdem besitzt der Chromophor ein Gewicht von  $\sim 1600$  g/mol. Da der Chromophor jedoch kompakter ist als eine Polymerkette gleichen Molekulargewichts fällt das per Gelpermeationschromatographie (GPC) gemessene Molekulargewicht etwas geringer aus als das reale Molekulargewicht. Dies ist aber vorteilhaft für den Vergleich mit diffundierenden Polymeren, da die GPC-Daten auf realen Diffusionseigenschaften beruht und daher die Vergleichbarkeit aufrecht erhält. Auf diese Weise erhalten Spezies mit den gleichen Diffusionseigenschaften auch das gleiche Molekulargewicht zugeordnet. Die Nomenklatur für diese Farbstoffe ist „PDI-PMMA“ mit darauffolgendem Molekulargewicht in g/mol, also z.B. „PDI-PMMA 13k“. Dass die sich die verknüpften Polymerketten nicht auf die photophysikalischen Eigenschaften der Chromophore auswirken zeigt sich an den Absorptions- und Fluoreszenzspektren (Siehe Anhang, Abb. A.2).

### 2.9.3. Bordipyrrinfarbstoffe mit intramolekularer Rotationsdynamik

Zur Messung der Bulkviskosität von Polymerlösungen eignet sich eine Vielzahl makroskopischer Techniken. Klassische Methoden analysieren z.B. die Scherviskosität oder die Kapillarviskosität einer Probe, indem sie die Probe einer Kraft aussetzen und die physikalische Reaktion dieser Probe als Messgröße verwenden. Dieses Vorgehen ist jedoch höchst invasiv: durch die induzierte Bewegung innerhalb des Systems werden auch die Eigenschaften des Systems verändert. Während der Effekt bei niedermolekularen Substanzen oft vernachlässigbar ist, variieren bei Polymeren die makroskopischen und mikroskopischen Eigenschaften beträchtlich.<sup>[83,108]</sup>

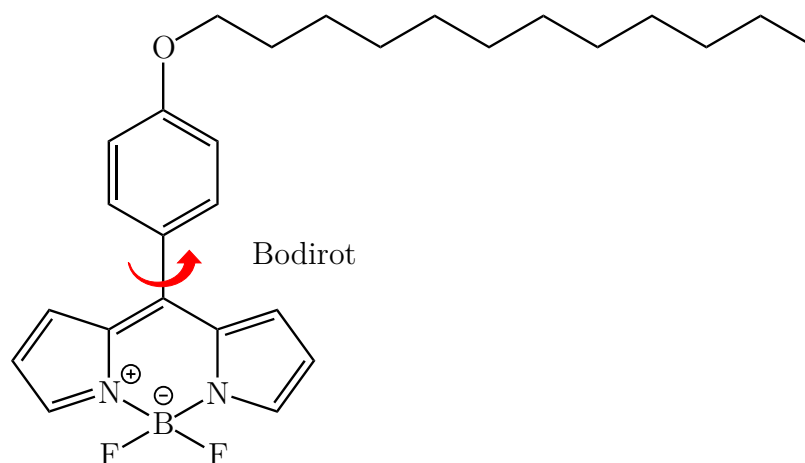
Der Einsatz molekularer Rotoren als Viskositätssonden ist ein Ansatz, Viskositäten und räumliche Gegebenheiten auf molekularer Ebene zu untersuchen: Die Drehbarkeit der Phenylgruppe ermöglicht Rückschlüsse auf die direkte, räumliche Nachbarschaft. Dank geringer Farbstoffkonzentrationen wird durch die Messung das System praktisch



**Abbildung 2.25:** Strukturformel der verwendeten makromolekularen Fluoreszenzsonde. Eine der beiden Imidgruppen ist über einen Linker an die PMMA-Kette gebunden. In dieser Arbeit wurden verschiedene dieser Sonden verwendet, sie sich im Molekulargewicht unterscheiden und anhand dessen bezeichnet sind. Die PDI-PMMA-Sonden wurden freundlicherweise von Dr. Sebastian Primpke zur Verfügung gestellt (s. Kap. 6.3)

nicht verändert: so werden Untersuchungen ermöglicht, die Aussagen über die unmittelbare Umgebung des Farbstoffs erlauben. Dass das System dabei unbewegt bleibt und lediglich die intrinsische Bewegung und deren Viskosität gemessen wird, ist ein bedeutender Vorteil gegenüber alternativen Methoden. So konnte selbst in lebenden Zellen die Mikroviskosität durch einen molekularen Rotor bestimmt werden, der an einen DNA-Strang gebunden war.<sup>[109]</sup>

Die Photophysik der eingesetzten Viskositätssonde Bodirot (Abb. 2.26) wird stark von der Stellung der Phenylgruppe beeinflusst. Umgekehrt hat die Stellung der Phenylgruppe ebenfalls einen wesentlichen Einfluß auf die Photophysik des Chromophors.<sup>[110]</sup> In der Praxis kann die Fluoreszenzlebensdauer als Messgröße verwendet werden, da sie sich zwischen  $\sim 500$  ps bei ungehinderter Rotation und  $\sim 6$  ns bei gehinderter Rotation

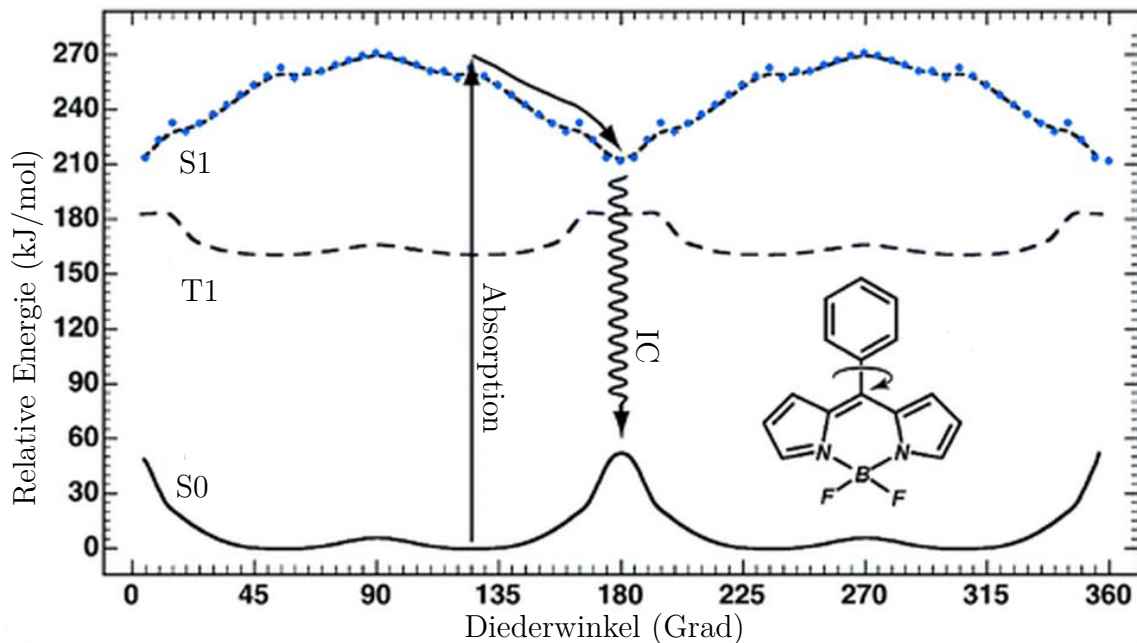


**Abbildung 2.26:** Strukturformel der als molekularer Rotor eingesetzten Viskositätssonde Bodirod. Roter Pfeil: Intramolekulare Rotation, die zur Fluoreszenzlöschung führt. Die Bodirod-Sonde wurde freundlicherweise von Dr. Christian Jüngst zur Verfügung gestellt (s. Kap. 6.3)

erstreckt.

Theoretische Untersuchungen von Kee *et al.*<sup>[110]</sup> am in Abb. 2.27 gezeigten Bodirod-Derivat haben ergeben, dass die Wasserstoffsubstituenten des Dipyringerüsts mit den aromatischen Wasserstoffen der Phenylgruppe gegenseitig eine leichte sterische Abstoßung erfahren. Dies hat zur Folge, dass (im elektronischen Grundzustand) bei der Rotation des Rings eine Barriere von  $\sim 50$  kJ/mol überwunden werden muss sowie dass der Phenylring leicht aus der Ebene des Chromophors abknickt. Ein Rotationswinkel von  $\sim 40^\circ$  bis  $\sim 140^\circ$  ist energetisch am günstigsten. Das im elektronischen Grundzustand  $S_0$  höchstbesetzte Orbital (engl.: highest occupied molecular orbital) (HOMO) erstreckt sich lediglich über das Dipyringerüst und setzt sich nicht in den Phenylring fort. Dies ist für alle Rotationswinkel der Fall, die umgebungsabhängige Rotationsmöglichkeit des Phenylrings ändert an diesem Zustand also nichts. Die räumliche Verteilung des im Grundzustand untersten nichtbesetzten Orbitals (engl.: lowest unoccupied molecular orbital) (LUMO) zeigt ein abweichendes Verhalten. Da es bei elektronischer Anregung (also im  $S_1$ -Zustand) besetzt wird, spielt es für die energetischen Zustände des Chromophors eine entscheidende Rolle. In orthogonaler Stellung der beiden aromatischen Systeme erstreckt sich das LUMO zwar nur unwesentlich in den Bereich der Phenylgruppe. Stehen die Aromaten jedoch in einer Ebene, so vergrößert sich das LUMO sodass es sich über beide aromatischen Systeme erstreckt

und sie vereint. Durch diese Vergrößerung wird das Orbital energetisch abgesenkt was zu einer Begünstigung der planparallelen Konformation führt, welche einen wesentlich größeren Einfluss hat als die Repulsion der Wasserstoffe. Es konnte also festgestellt werden, dass das System im Grundzustand der parallelen Konformation fern bleibt, diese jedoch im angeregten Zustand die bevorzugte Konformation ist.



**Abbildung 2.27:** Strukturformel und Energieniveaus eines mit Bodipy-ähnlichen Chromophors. Die Energieniveaus sind in Abhängigkeit des Diederwinkels zwischen Phenylring und Bodipy-Ringgerüst aufgetragen. Dabei definiert  $0^\circ$  die (annähernd) planare Form. Reprinted (adapted) with permission from <sup>[110]</sup>. Copyright (2005) American Chemical Society.

Neben der bevorzugten planaren Ausrichtung im ersten angeregten Singulett-Zustand  $S_1$  ist auf die photophysikalischen Vorgänge zur Relaxation aus diesem Zustand ein besonderes Augenmerk zu legen. In der planaren Konformation kann der Chromophor durch IC sehr effizient in den  $S_0$  übergehen (geschlängelter Pfeil in Abb. 2.27)<sup>[110]</sup>. Da diese Relaxation mit der Fluoreszenz konkurriert, verringert sich sowohl die Quantenausbeute als auch die Fluoreszenzlebenszeit (Gleichung 2.3). Die Fluoreszenzlebenszeit kann nun mittels TCSPC ermittelt werden: In niedrigviskoser Umgebung ist die Rotation des Phenylrests in die planare Konformation ungehindert und die Fluoreszenzlebenszeit gering. Wenn jedoch aufgrund sterischer Hinderung die

Rotation nur vermindert möglich ist, verringert sich die nichtradiative Relaxation und es wird vermehrt Fluoreszenz beobachtet, die Fluoreszenzlebensdauer steigt.

Der Übergang in den Triplett-Zustand ist zu vernachlässigen: bei freier Rotation des Phenylrests ist die Relaxation über nichtradiative Wege derart effizient, dass ein Übergang in den Triplett-Zustand nicht in Frage kommt. Auch bei ähnlichen Spezies, die nicht rotieren können spielt die Relaxation über den Triplettzustand keine Rolle wie Kee et al. für die mit Mesityl- statt mit Phenylrest substituierte Spezies ermittelt haben: Die Repopulation des Grundzustands erfolgt mit einer Zeitkonstante von  $\sim 6$  ns. Im gleichen System wurde in guter Übereinstimmung die Fluoreszenzlebenszeit von  $6.6$  ns<sup>[110]</sup> gemessen, was eine nennenswerte Phosphoreszenz ausschließt.

### 2.10. Das untersuchte Polymersystem PMMA

Die Geschichte des Polymethylmethacrylats beginnt mit der Entdeckung durch Otto Röhm im Jahr 1932. Auf der Suche nach einem flexiblen Kunststoff stieß er auf dieses Polymer, das er „organisches Glas“ nannte. Aufgrund der hervorragenden physikalischen Eigenschaften, unter anderem Steifigkeit, Festigkeit und Witterungsstabilität sowie der hervorragenden thermoplastischen Verarbeitbarkeit verbreitete sich der Werkstoff schnell in der Industrie. Die Herstellung von PMMA erfolgt in der Regel auf radikalischem Weg in Emulsion, Lösung oder in Masse. Dazu zählen auch kontrolliert radikalische Polymerisationen wie RAFT und ATRP. Auch mittels anionischer Polymerisation ist die Darstellung möglich.

Obwohl es mit einer Produktion von 1.6 Mio. Tonnen im Jahr 2010 eines der bedeutendsten Polymere war, sind viele Detailvorgänge der Polymerisation bis dato unbekannt. Die vorliegende Arbeit soll einen Einblick in die Diffusion sowohl der Monomere als auch der Polymere in Abhängigkeit des Polymerisationsverlaufs bieten. Die zur Polymerisation von PMMA gehörenden chemischen Teilreaktionen sind in Kap. 2.1 skizziert, für die grundlegenden Reaktionsmechanismen sei auf einschlägige Lehrbücher<sup>[111–114]</sup> verwiesen.

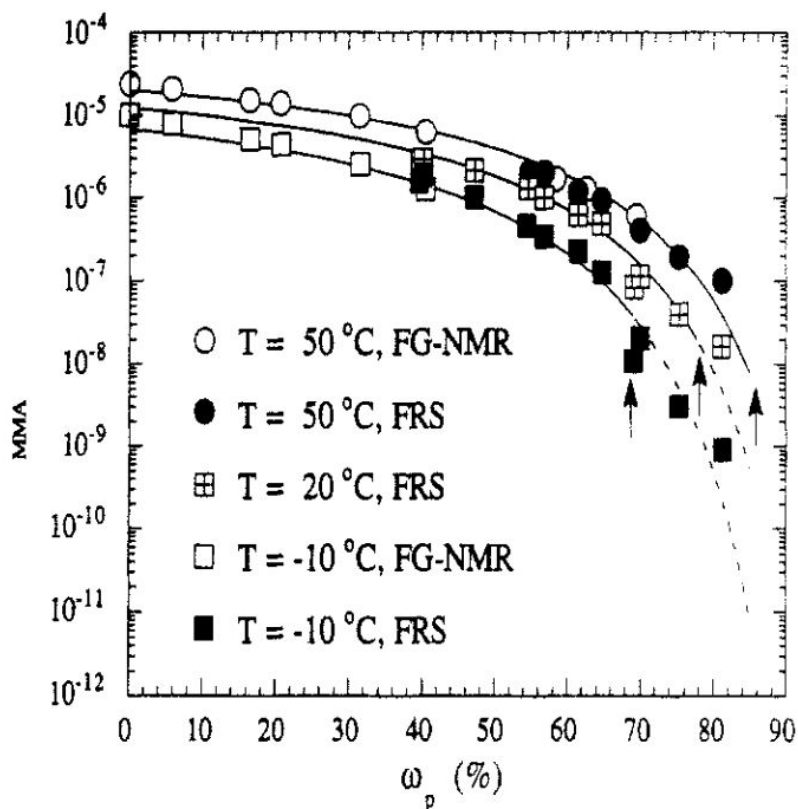
Detaillierte Untersuchungen zu den Geschwindigkeitsgesetzen der radikalischen MMA-Polymerisation wurden insbesondere in den 1990er Jahren durchgeführt. Es wurde die Hypothese aufgestellt und auch experimentell bestätigt, dass die Wahrscheinlichkeit einer Kettenabbruchreaktion in einem System stark abhängig von der Kettenlänge des

wachsenden Radikals ist. Russell stellte einen Satz von Geschwindigkeitsgesetzen der Kettenabbruchreaktion in Abhängigkeit der Kettenlänge und des Umsatzes auf.<sup>[115]</sup> Dabei wird bei mittleren Polymerkonzentrationen der Kettenabbruch in erster Linie durch die Kombination einer kurzen Kette (z.B. aus Neuintiierung oder Transferreaktion) mit einer langen Kette hervorgerufen. Bei hohen Polymerkonzentrationen wurde das Kettenwachstum als diffusionskontrolliert angesehen<sup>e</sup> und die Abbruchreaktion mit der Wachstumsdiffusion des Kettenendes begründet. Bei weiterführenden Arbeiten wurden diese Aussagen präzisiert und hinzugefügt, dass bei Polymerkonzentrationen unter 10% insbesondere auch Initiatorradikale an den Kettenabbruchreaktionen beteiligt sind. Durch diese Erkenntnisse erscheint auch der Geleffekt in einem anderen Licht: die für den verminderten Kettenabbruch und die daraus resultierende Reaktionsgeschwindigkeitszunahme verantwortliche Spezies sind demnach die *kurzen* Ketten, die in ihrer Beweglichkeit gehemmt werden (während die langen Ketten bereits verlangsamt sind). Die Verlangsamung allein der langen Ketten würde demnach nicht ihre Rekombination mit kurzen Ketten unterbinden.<sup>[116]</sup> Während des Glaseffekts tritt eine starke Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit auf. Die Initiatoreffizienz ist in diesem Stadium durch die hohe Viskosität extrem zurückgegangen, da entstandene Initiatorradikale zunehmend irreversibel rekombinieren. Weil auch kurze Ketten kaum mehr diffundieren können, stellt die Rekombination zweier langer Ketten durch Wachstumsdiffusion die vorherrschende Möglichkeit zum Kettenabbruch dar. Wachstumsdiffusion ist das Phänomen, dass sich allein durch Anlagerung von Monomeren die Position des radikalischen Kettenendes verändert. So konnte am Beispiel von MMA nachgewiesen werden, wie sich Ursache und Wirkung gegenseitig beeinflussen: Die Kinetiken der Kettenabbruchreaktionen beeinflussen die Eigenschaften des Polymers wie z.B. Molekulargewicht und Polydispersität. Andererseits haben diese Polymereigenschaften wiederum Einfluss auf die Kinetik während der Reaktion.<sup>[117]</sup>

Die Entwicklung der Monomerdiffusion in Abhängigkeit der Polymerkonzentration untersuchten Faldi *et al.* vertiefend<sup>[24]</sup>: Sie ermittelten bei verschiedenen Temperaturen den Diffusionskoeffizienten bei Polymeranteilen von 0 bis 80% (Abb. 2.28). Dabei zeigten sie, dass das Kettenwachstum nicht diffusionskontrolliert sein kann, da sich die Diffusionsgeschwindigkeiten von MMA auch bei Eintritt in die Glaseffektregion noch

---

<sup>e</sup>Dies hat sich später als falsch herausgestellt, s.u.<sup>[24]</sup>



**Abbildung 2.28:** Diffusionskoeffizienten von MMA in PMMA in Abhängigkeit der Polymerkonzentration. Messungen bei verschiedenen Temperaturen. Grafik von Faldi *et al.*<sup>[24]</sup>

im Bereich über  $10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  befinden (Abb. 2.28). Eine zu geringe Diffusionsgeschwindigkeit des Monomers kann also kein Grund für die sinkende Reaktionsgeschwindigkeit sein. Es konnte jedoch eine eindeutige Korrelation zwischen der Initiatoreffizienz und  $D_{MMA}$  nachgewiesen werden. Hierbei handelt es sich jedoch nicht um einen Einfluss des Monomers sondern um den Umstand, dass die Diffusionsgeschwindigkeit der entstehenden Initiatorradikale mit jener des Monomers vergleichbar ist. Die Wahrscheinlichkeit der Rekombination zweier Initiatorradikale steigt mit sinkender Diffusionsgeschwindigkeit. Dadurch ergibt sich ebenfalls, dass die Initiatoreffizienz zwar nicht von der Initiatorkonzentration abhängt sondern vielmehr von der Polymerkonzentration, also dem Umsatz. Da, wie bereits erläutert, die Verlangsamung des Monomers nicht die Ursache für das Erliegen der Polymerisation sein kann kommt laut Faldi lediglich die bei hoher Konversion gegen Null strebende Initiatoreffizienz als Ursache für das Ende der Polymerisation in Frage.

# 3. Diffusionsverhalten von Farbstoffsonden während der Substanzpolymerisation von Methylmethacrylat

## 3.1. Konfokalmikroskopische Untersuchungen

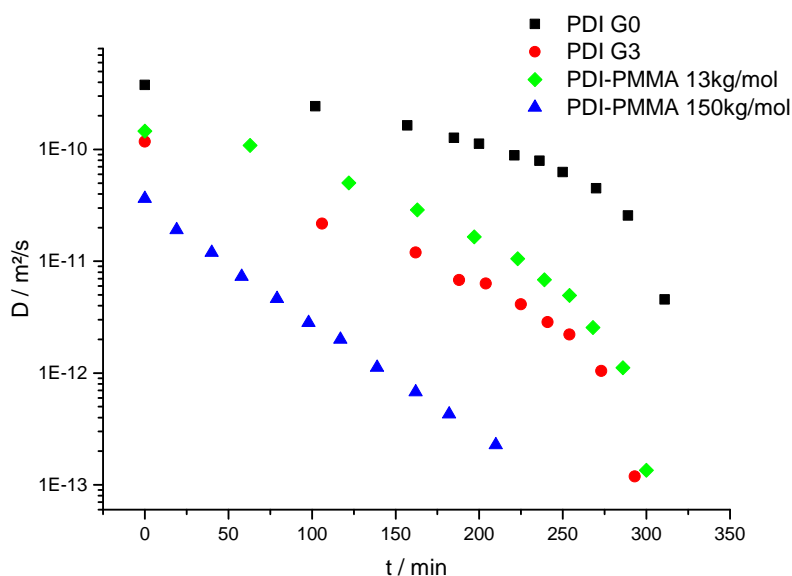
Im Folgenden werden die beobachteten Farbstoffdiffusionseigenschaften beschrieben und anhand des sich verändernden Polymersystems analysiert. Für die Untersuchung der Diffusion wurden Referenzfarbstoffe verwendet, die gute chemische Stabilität und spektroskopische Eigenschaften besitzen. Für die Polymerisation mindestens ebenso wichtig wie die Diffusion molekularer Spezies ist die Dynamik der Polymere. Da polymerisierende Ketten jedoch nicht selektiv in situ lokalisierbar sind und auch zu bestimmten Zeitpunkten ihre Länge nicht genau bestimmt werden kann, wurde für diese Arbeit ein Referenzfarbstoff auf Polymerbasis ausgewählt. Dieser besteht aus einer Polymerkette variabler, aber vordefinierter Länge sowie einem daran gebundenen Chromophor mit Perylendiimidstruktur (Abb. 2.25). Für weitere Informationen über die verwendeten Farbstoffe siehe Kap. 2.9.

Die Polymerisation wurde als freie radikalische Substanzpolymerisation bei Raumtemperatur und unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Als Radikalstarter wurde 1% (w/w) V70 (Abb. 2.1 links oben) verwendet. Dabei geben die während der Polymerisation mittels FCS ermittelten Diffusionskoeffizienten ( $D$ ) ausführliche Einblicke in das Diffusionsverhalten der Farbstoffsonden verschiedener Form in Abhängigkeit vom Umsatz (Abb. 3.2), die im Folgenden differenziert und diskutiert werden.

### 3.1.1. Beobachtungen

#### Zeitliche Entwicklung der Diffusionskoeffizienten und Bestimmung der hydrodynamischen Radien

Die Mobilität der Farbstoffsonden wurde mittels FCS zeitlich verfolgt, von Beginn der Reaktion bis ein Diffusionskoeffizient von  $D = 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$  erreicht wird und damit das Signal per FCS nicht mehr effizient messbar ist, weil die Zahl der ins konfokale Volumen ein- und austretenden Sonden zu gering ist.



**Abbildung 3.1:** Zeitliche Entwicklung der mittels FCS ermittelten Diffusionskoeffizienten molekularer und makromolekularer Farbstoffsonden während der Substanzpolymerisation von MMA. Der Wert bei  $t = 0$  wurde in reinem Monomer ohne Initiatorzugabe gemessen. Die während dieser Polymerisationen ermittelten Diffusionskoeffizienten sind in Abb. 3.2 aufgetragen.

Gelöst in reinem Monomer, also  $c_{polymer} = 0$ , zeigen die Diffusionskoeffizienten  $D$  der Farbstoffsonden im System in erster Linie eine Abhängigkeit vom Molekulargewicht des Farbstoffs. Unter der Annahme, dass es sich um quasisphärische Farbstoffsonden handelt, kann in guter Näherung die Stokes-Einstein Gleichung 2.30 angewandt werden. Anhand der ermittelten Diffusionskoeffizienten wurden auf diese Weise die in Tab. 3.1 gezeigten hydrodynamischen Radien ( $r_h$ ) der Farbstoffe ermittelt, welche gut

**Tabelle 3.1:** Aus den mittels FCS erhaltenen Diffusionskoeffizienten (siehe Abb. 3.2) ermittelte hydrodynamische Radien der in MMA gelösten molekularen und makromolekularen Farbstoffsonden.

	PDI G0	PDI G3	PDI-PMMA 13k	PDI-PMMA 150k
$D_0 / \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$	$3.76 \times 10^{-10}$	$1.17 \times 10^{-10}$	$1.48 \times 10^{-10}$	$0.36 \times 10^{-10}$
$r_h / \text{nm}$	0.98	3.17	2.56	10.3

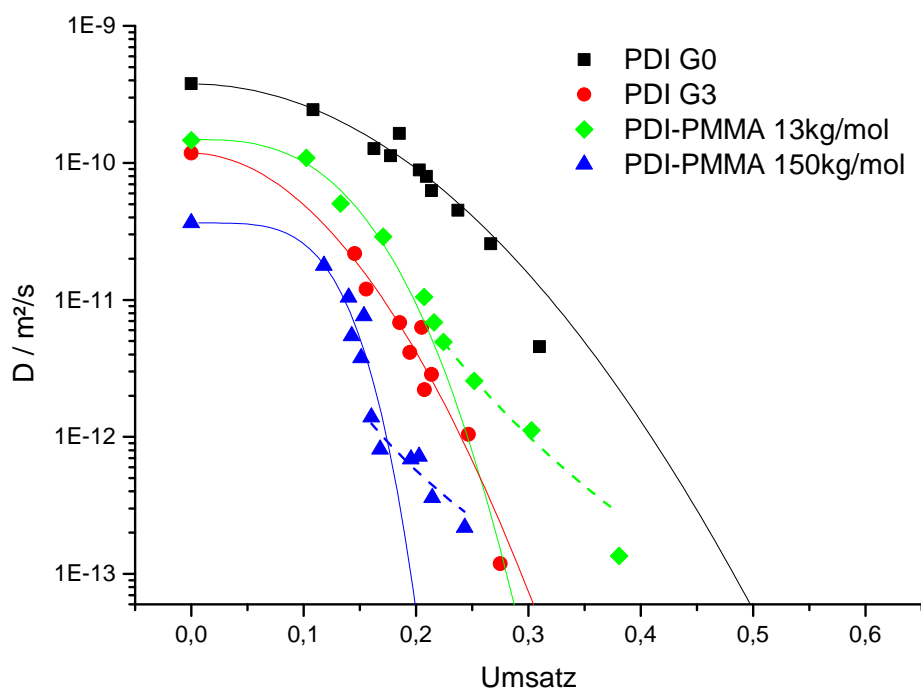
mit den Werten von Stempfle *et al.* (1.0 nm für PDI G0 sowie 3.2 nm für PDI G3)<sup>[15]</sup> übereinstimmen. Für die Berechnungen wurde für die Viskosität des MMA bei Raumtemperatur ein Wert von 0.584 mPa · s verwendet.<sup>[118]</sup> Der aus den FCS-Messungen ermittelte hydrodynamische Radius von Farbstoff PDI G0 stimmt in guter Näherung mit der berechneten Größe des Farbstoffs überein: seine Länge (längste Ausdehnung) beträgt 1.98 nm, die Breite (längste Ausdehnung orthogonal zur Länge) beträgt ca. 1.50 nm<sup>a</sup>, je nach Ausrichtung der Phenoxygruppen. Die Ausdehnung des Farbstoffs PDI G3 in Lösung kann aufgrund der Beweglichkeit der dendritischen Seitenarme nicht genau definiert werden, auch eine Kristallstruktur würde keine Aussage über das Verhalten in Lösung ermöglichen. Es ist jedoch eindeutig, dass der ermittelte hydrodynamische Radius wesentlich kleiner ist als die räumliche Ausdehnung im gestreckten Zustand. Die hydrodynamischen Radien der polymeren Farbstoffsonden können mit den von ter Meer *et al.* in Aceton ermittelten Werten von 2.46 bzw. 8.58 nm für PMMA mit  $M_w = 16$  bzw. 175 kg/mol in guter Übereinstimmung verglichen werden.<sup>[119]</sup>

### Diffusionseigenschaften molekularer und makromolekularer Tracer in Abhängigkeit vom Umsatz

Die angesprochenen Unterschiede in Abhängigkeit der Form der Farbstoffe können durch Vergleichen des makromolekularen Farbstoffs mit  $M_n = 13$  kg/mol mit PDI G3 beurteilt werden, da beide ein ähnliches Molekulargewicht besitzen und auch ihre Diffusionskoeffizienten zu Reaktionsbeginn ähnlich sind.

Die Verlangsamung der Diffusion der Farbstoffsonden ist vergleichbar mit den Ergeb-

<sup>a</sup>Berechnung mit Cambridgesoft Chem3D Pro V12.0



**Abbildung 3.2:** Mittels FCS ermittelte Diffusionskoeffizienten der molekularen und makromolekularen Farbstoffsonden während der Substanzpolymerisation von MMA. Die durchgezogenen Linien zeigen den Fit nach Phillies (Gleichung 2.33, für die ermittelten Parameter siehe Tab. 3.2). Im Fall der makromolekularen Farbstoffsonden wurden ausschließlich jene Datenpunkte mit  $D \geq 2 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  für den Fit verwendet. Gestrichelte Linien: Fit nach Potenzfunktion, siehe Text.

**Tabelle 3.2:** Aus den mittels FCS erhaltenen Diffusionskoeffizienten (siehe Abb. 3.2) ermittelte Phillies-Parameter der molekularen und makromolekularen Farbstoffsonden während der Substanzpolymerisation von MMA.

	PDI G0	PDI G3	PDI-PMMA 13k	PDI-PMMA 150k
$D_0 / \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$	$3.76 \times 10^{-10}$	$1.17 \times 10^{-10}$	$1.48 \times 10^{-10}$	$0.36 \times 10^{-10}$
$\alpha$	35	77	298	6898
$\nu$	2.00	1.94	2.86	4.23

nissen, die Faldi *et al.* anhand von field-gradient NMR (FG-NMR) und erzwungene Rayleigh-Streuung (engl.: forced rayleigh scattering) (FRS) für MMA erhalten haben<sup>[24]</sup>. Allerdings zeigen sich neben der zu erwartenden zeitlichen Abnahme der

Diffusionskoeffizienten deutliche Unterschiede in Abhängigkeit von der verwendeten Farbstoffsonde. Die zeitliche Abnahme kann mit der von Phillies aufgestellten gestreckten Exponentialfunktion<sup>[120]</sup> angenähert werden (Gleichung 2.33). Im Fall der molekularen Farbstoffsonden kann diese Funktion gut an die Datenpunkte der jeweiligen Polymerisation angenähert werden (schwarze und rote Linie in Abb. 3.2), im Fall der makromolekularen Farbstoffsonden zeigt sich ein ähnliches Verhalten. Jedoch ab dem Bereich des Geleffekts, genauer bei  $D \leq 2 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ , wurde ein von dieser Funktion abweichendes Verhalten beobachtet: ihr Diffusionskoeffizient verringert sich mit steigendem Umsatz weniger als nach Gleichung 2.33 zu erwarten. Daher wurden für den Fit nur jene Datenwerte oberhalb von  $D = 2 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  mit einbezogen. Im Bereich unterhalb dieses Grenzwerts nähert sich  $D$  des PDI-PMMA Farbstoffs mit  $M_n = 150 \text{ kg/mol}$  bei 25% Umsatz mit  $2 \times 10^{13}$  einem Wert, der vielmehr dem extrapolierten Phillies-Verhalten des Farbstoffs mit  $M_n = 13 \text{ kg/mol}$  entsprechen würde. Die makromolekularen Farbstoffe zeigen also eine wesentlich höhere Mobilität als durch ihr Molekulargewicht zu erwarten wäre. Im Vergleich der Sonden PDI-PMMA 13k und PDI G3 kann die Beobachtung ebenfalls anschaulich gezeigt werden: Im gesamten Meßbereich weist die makromolekulare Sonde einen höheren Diffusionskoeffizienten auf, als PDI G3. Würde sich die Entwicklung nach Phillies fortsetzen, so müssten sich die Verläufe knapp vor dem Erreichen von 30% Umsatz kreuzen (rote und grüne Linie in Abb. 3.2) mit der Folge, dass PDI G3 schneller diffundieren würde als PDI-PMMA 13k. Dies ist jedoch nicht der Fall, da die makromolekulären Sonden ihren Phillies-Verlauf zugunsten einer Potenzfunktion verlassen. Die verwendete Potenzfunktion lautet:

$$D = A \cdot x_p^{-B} \quad (3.1)$$

wobei der Diffusionskoeffizient  $D$  durch eine Potenz des Polymeranteils  $x_p$ , also des Umsatzes, ausgedrückt wird. Die Parameter  $A$  und  $B$  sind in Tabelle 3.3 aufgeführt:

**Tabelle 3.3:** Präexponentieller Faktor  $A$  und Exponent  $B$  der Potenzfits in Abb. 3.2

	PDI-PMMA 13k	PDI-PMMA 150k
A	$1.43 \cdot 10^{-15}$	$1.88 \cdot 10^{-15}$
B	5.45	3.55

### 3.1.2. Interpretation und Diskussion der Ergebnisse am Konfokalmikroskop

Für das Diffusionsverhalten während der Polymerisation von MMA konnten zwei wesentliche Beobachtungen gemacht werden: (1) die Diffusionskoeffizienten sowohl niedermolekularer als auch makromolekularer Farbstoffsonden entwickeln sich bei steigendem Umsatz nach einer gestreckten Exponentialfunktion. Die Entwicklung der Diffusionskoeffizienten nach einer gestreckten Exponentialfunktion ist literaturbekannt<sup>[121]</sup> und universell für den Großteil von Polymerlösungen gültig.<sup>[94,122]</sup> Bei molekularen Sonden besteht auch keine Abhängigkeit des Kurvenverlaufs von der Konzentration der Lösung (in dieser Arbeit durch den Polymerisationsumsatz bestimmt), sodass Gleichung 2.33 auch bei hohen Polymerkonzentrationen gültig ist. Dies ist der Fall für die Diffusion in Polymerlösungen, die das Verhalten einer Lösung zeigen; der Verlauf von Diffusionskoeffizienten in Polymerlösungen, die ein Verhalten ähnlich einer Schmelze zeigen, können anhand dieser Gleichung jedoch nicht beschrieben werden. Sie können vielmehr anhand einer Potenzfunktion beschrieben werden: (2) Im Fall der makromolekularen Farbstoffsonden geht der Verlauf der Diffusionskoeffizienten mit steigendem Umsatz in ein Potenzverhalten über, wie in Abb. 3.2 gezeigt<sup>b</sup>.

Der Übergang von einer gestreckten Exponentialfunktion zu einer Potenzfunktion ist in der Polymerphysik bereits für verschiedene Eigenschaften nachgewiesen worden: Ikai *et al.* untersuchten mittels dynamischer Lichtstreuung wässrige Polyvinylalkohol-Kongorot-Lösungen ( $n/n = 68 : 1$ ). Im Gelzustand, also unterhalb der Gelierungstemperatur, zeigt die Intensitätskorrelationsfunktion ein Potenzverhalten, während bei höheren Temperaturen ein Verhalten nach einer gestreckten Exponentialfunktion nachgewiesen werden konnte.<sup>[121]</sup>

Am Beispiel von Hydroxypropylzellulose konnte auch für die Viskosität ( $\eta$ ) ein Übergang der gestreckten Exponentialfunktion zu einer Potenzfunktion beobachtet werden.<sup>[96]</sup> Diese Messungen repräsentieren die makroskopische Viskosität, gemessen mittels Kapillarviskosimetrie. Der beobachtete Übergang befindet sich bei einer ausgesprochen niedrigen Viskosität von  $\eta/\eta_0 \approx 10^2$  und im Bereich von  $c \approx 10$  g/l. Bemerkenswert ist, dass der Kurvenverlauf überall sowohl stetig als auch differenzierbar ist, auch beim Übergang zwischen den Funktionen.

---

<sup>b</sup>In einer doppelt logarithmischen Auftragung wäre eine Gerade zu erwarten, dies ist nicht der Fall da es sich lediglich um eine semilogarithmische Auftragung handelt

Der Verlauf der Diffusionskoeffizienten der makromolekularen Farbstoffsonden bei der Polymerisation von MMA in der vorliegenden Arbeit verhält sich im Gegensatz dazu beim Übergang zwischen den Funktionen zwar stetig, jedoch nicht differenzierbar. Dies zeigt sich dadurch, dass die Steigungen der Funktionen beim Übergang zwischen den beiden Regimes nicht identisch ist und somit ein deutlicher Knick im Kurvenverlauf zu beobachten ist (Abb. 3.2).

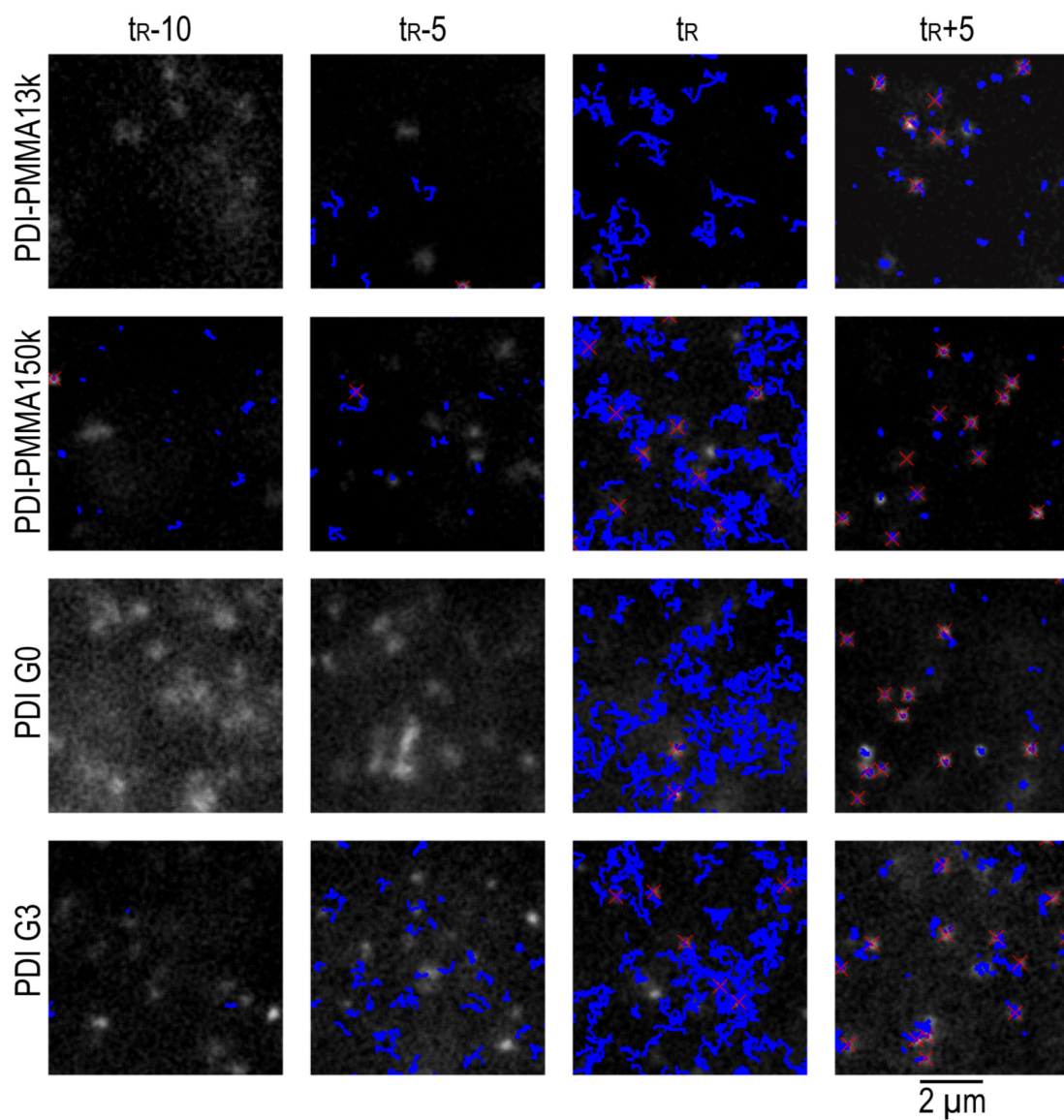
Ein ähnlicher, nicht-stetiger Kurvenverlauf ist sehr selten und wurde lediglich von Phillis<sup>[92]</sup> anhand der Daten von Nemoto *et al.*<sup>[99,100]</sup> für den Selbstdiffusionskoeffizienten  $D_s$  von Polystyrol in Dibutylphtalat in Abhängigkeit des Molekulargewichts bei konstanter Polymerkonzentration gefunden: oberhalb von  $M_w = 10^6$  verhält sich  $D_s$  nach einer Potenzfunktion, unterhalb nach einer gestreckten Exponentialfunktion. In diesem Fall ist der Kurvenverlauf im Übergangsbereich ebenfalls nicht stetig, die Steigungen weichen deutlich voneinander ab.

Auffällig ist, dass die Abgrenzung dieser zwei Regimes (Verhalten wie eine Polymerlösung vs. Verhalten wie eine Polymerschmelze) anhand einer Vielzahl von Variablen beobachtet werden kann, jedoch immer nur bei einer begrenzten Zahl an Beispielen. Der Übergang zwischen gestreckter Exponentialfunktion und Potenzfunktion im Verlauf des Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit der Polymerkonzentration bzw. des Polymerisationsumsatzes konnte jedoch in der Literatur bislang nicht gefunden werden. Anhand verschiedener Systeme konnte entweder ein Regimeübergang des Diffusionskoeffizienten (z.B. in Abhängigkeit des Molekulargewichts) nachgewiesen werden oder ein Regimeübergang einer anderen Variable in Abhängigkeit der Polymerkonzentration.<sup>[92]</sup> Die Existenz einer Kombination beider Fälle, wie sie auch jetzt in dieser Arbeit nachgewiesen wurde, war daher sehr wahrscheinlich und ist gleichzeitig richtungsweisend.

## 3.2. Weitfeldmikroskopische Untersuchungen

### 3.2.1. Beobachtungen am Weitfeldmikroskop

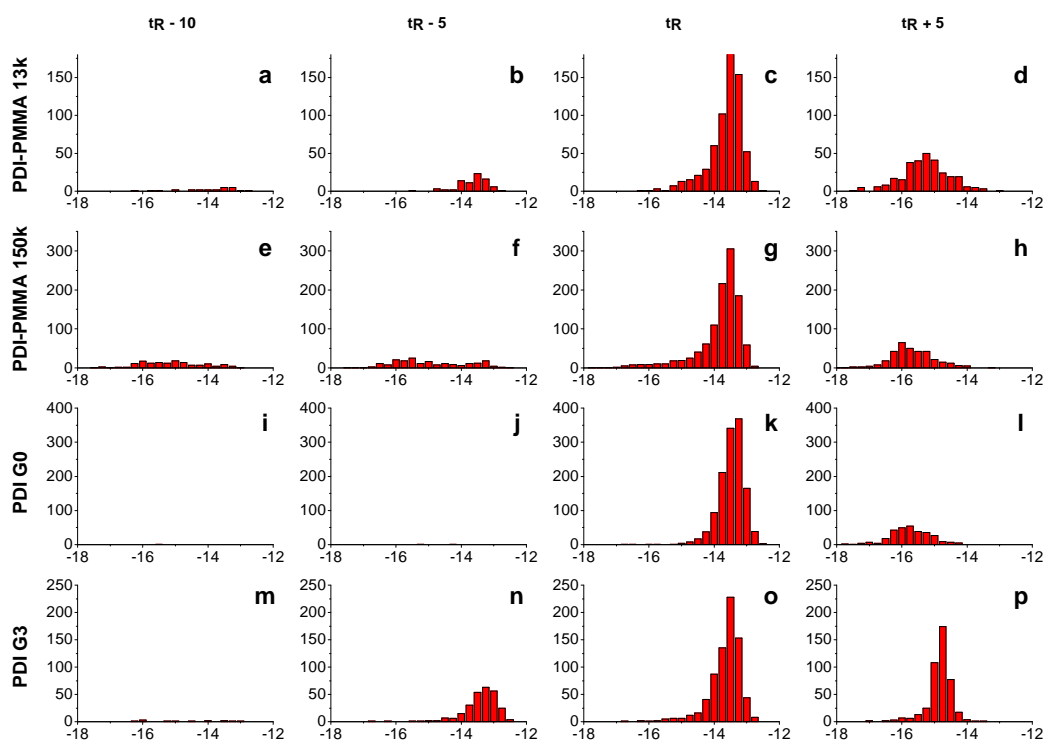
Die Untersuchung der Polymerisation von MMA in Gegenwart makromolekularer (PDI-PMMA) sowie niedermolekularer Farbstoffsonden (PDI G0 und PDI G3, siehe Abb. 2.24) wurde am Weitfeldmikroskop durchgeführt. Es wurde in geringstmöglichen Zeitabständen von wenigen Minuten gemessen, sobald einzelne Moleküle in ihrer Bewegung verfolgbar waren. Abbildung 3.3 gibt eine Übersicht über das Diffusionsverhalten der verschiedenen Sonden. Gezeigt sind Einzelbilder der verwendeten Farbstoffe sowie die dadurch detektierten Molekülbewegungen. Bereits auf den ersten Blick können die Farbstoffsonden anhand ihres Diffusionsverhaltens differenziert werden: jene, die langsam diffundieren sind auf den Bildern als klar begrenzte Punkte zu erkennen (sämtliche bei  $t_R+5$  in Abb. 3.3); jene mit hohem Diffusionskoeffizienten zeigen eine deutliche Bewegungsunschärfe (z.B. Farbstoff PDI G0 bei  $t_R-10$  und  $t_R-5$ ). Aus diesem Grund ist eine Auswertung und Berechnung eines Diffusionskoeffizienten für diese Sonden anhand der Weitfeldmikroskopie nicht möglich. Die zeitliche Entwicklung der Diffusionskoeffizienten der langsamen Sonden werden im Folgenden anhand der Abb. 3.4, 3.6 und 3.7 diskutiert.



**Abbildung 3.3:** Weitfeldfluoreszenzmikroskopische Bilder der diffundierenden Farbstoffe im Laufe der MMA-Polymerisation zu den Zeitpunkten  $t_R-10$ ,  $t_R-5$ ,  $t_R$  und  $t_R+10$  für die Farbstoffe PDI-PMMA 13k, PDI-PMMA 150k, PDI G0 und PDI G3. Die blauen Linien zeigen die gemessenen Molekülbewegungen der vorhergegangenen 300 Bilder, dies entspricht einer Zeitspanne von ca. 100 Sekunden.

### 3. Diffusionsverhalten von Farbstoffsonden

Bei sämtlichen Proben wurde erwartungsgemäß während des Geleffekts eine steigende Anzahl an Farbstoffmolekülen beobachtet, da die Diffusionskoeffizienten einen Wert unterhalb von  $10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$  erreichen und somit zuverlässig analysiert werden können (Abb. 3.4). Diese Farbstoffsonden werden im Folgenden als „langsame“ Sonden bezeichnet. Im Anschluss daran findet eine weitere Geschwindigkeitsabnahme der Sonden statt und die Zahl der gemessenen Trajektorien nimmt zahlenmäßig wieder ab. Letzteres ist darauf zurückzuführen, dass aufgrund geringerer Diffusion in z-Richtung weniger Farbstoffsonden im scheibenförmigen Detektionsvolumen erscheinen.



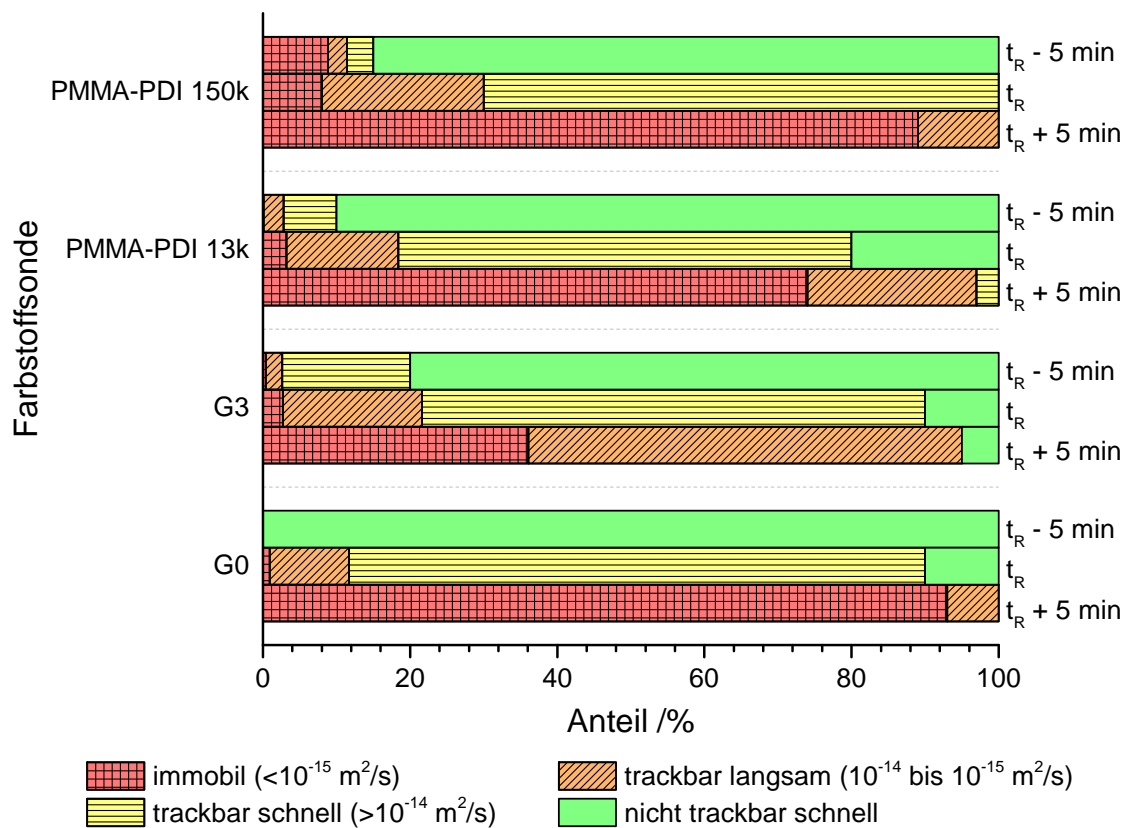
**Abbildung 3.4:** Übersicht über die Entwicklung der Diffusionskoeffizienten verschiedener Farbstoffe im Laufe der MMA-Polymerisation: Häufigkeitsverteilung der  $\log(D)$  (x-Achse) zu den Zeitpunkten  $t_R-10$ ,  $t_R-5$ ,  $t_R$  und  $t_R+5$  für die Farbstoffe PDI-PMMA 13k (a-d), PDI-PMMA 150k (e-h), PDI G0 (i-l) und PDI G3 (m-p). Sonden mit einem Diffusionskoeffizienten von  $10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$  und schneller sind anhand der Weitfeldfluoreszenzmikroskopie nicht verfolgbar und daher in dieser Grafik nicht vertreten.

Für eine anschauliche Vergleichbarkeit des Diffusionsverhaltens der verschiedenen Farbstoffsonden wurde für jede Reaktion ein Zeitpunkt als Referenzzeitpunkt ( $t_R$ ) definiert. Dieser Zeitpunkt ist erreicht, wenn erstmals der Großteil der Farbstoffsonden langsam ist. Zeitangaben in Minuten beziehen sich jeweils auf diesen Referenzzeitpunkt. Dabei muss beachtet werden, dass der Referenzzeitpunkt das Einsetzen des Geleffektes anhand des Diffusionsverhaltens zeigt und daher nicht zwingend bei allen verwendeten Farbstoffen den gleichen Polymerisationsumsatz repräsentiert. Dies lässt sich am einfachsten am Vergleich zwischen PDI G0 und PDI G3 veranschaulichen: letzterer erreicht bereits bei Umsätzen von 30% Diffusionsgeschwindigkeiten innerhalb des Meßbereichs als ersterer, bei dem dies erst bei 55% der Fall ist. Die Referenz steht also bei PDI G3 für einen geringfügig niedrigeren Umsatz als bei PDI G0. Die Polymerisation weist aber während des Geleffekts eine hohe Reaktionsgeschwindigkeit auf und durchläuft daher innerhalb eines kurzen Zeitraumes für alle Farbstoffe den Referenzzeitpunkt. Daher ist es sinnvoll, die entsprechende Messung als zeitliche Referenz zu definieren. Der Umsatz zum Referenzzeitpunkt kann anhand der FCS-Messungen (Abb. 3.2) für die verschiedenen Farbstoffe abgeschätzt werden, da die Diffusionskoeffizienten am Referenzzeitpunkt ca.  $10^{-14}$  m<sup>2</sup>/s betragen. Es ergeben sich folgende Werte:

**Tabelle 3.4:** Anhand der FCS-Daten (Abb. 3.2) abgeschätzter Umsatz bei  $t_R$  in Abhängigkeit der Farbstoffsonde:

	PDI G0	PDI G3	PDI-PMMA 13k	PDI-PMMA 150k
Umsatz	55%	35%	45%	35%

Die Weitfeldfluoreszenzmikroskopie erlaubt die Beobachtung von Fluoreszenzfarbstoffen sobald sie einen Diffusionskoeffizienten von  $10^{-12.5}$  m<sup>2</sup>/s oder langsamer erreicht haben. Um auch den nicht erfassbaren Teil zu berücksichtigen wurde die Anzahl der Farbstoffsonden am Anfang der Messung mit der Anzahl der Sonden im späteren, immobilien Zustand verglichen. Auf diese Weise wurde abgeschätzt, wie hoch der Anteil nicht verfolgbare Sonden sein muss. Aus den Fluoreszenzdaten wurde anschließend der immobile sowie der messbare, mobile Anteil ermittelt und unter Berücksichtigung der nicht erfassten Spezies in Abb. 3.5 für jeweils drei Zeitpunkte in der Geleffektregion aufgetragen.

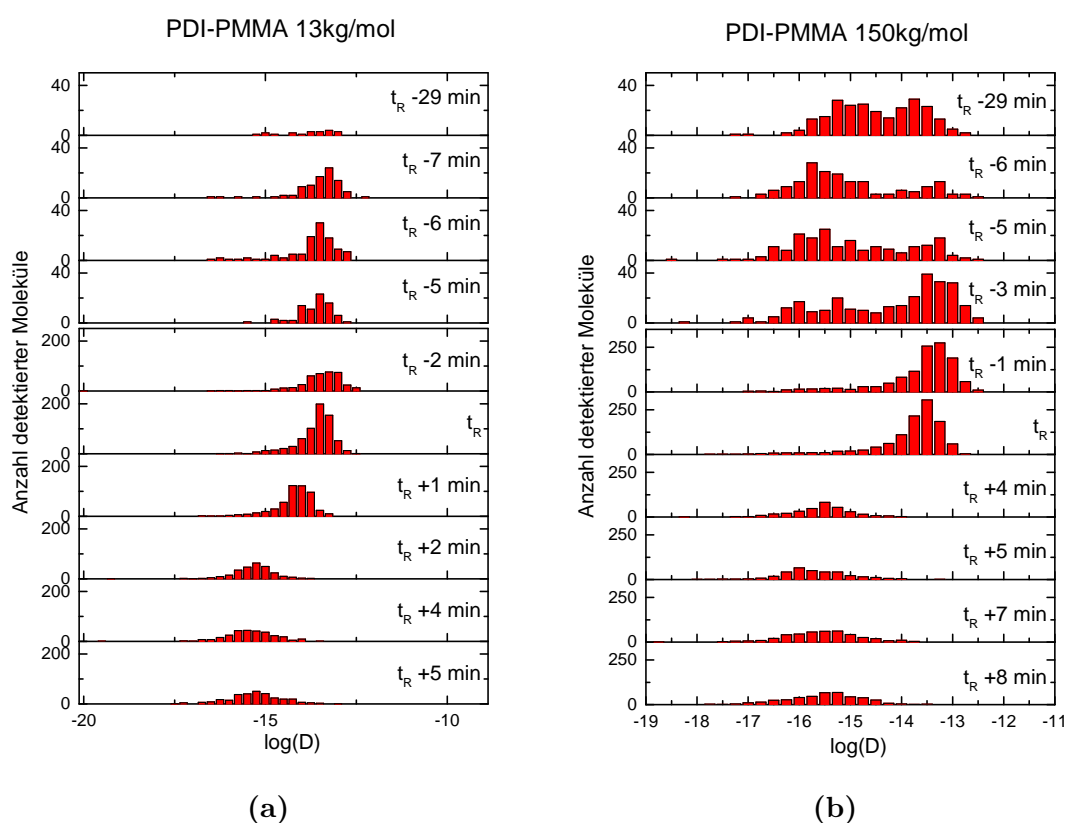


**Abbildung 3.5:** Kategorisierung der Diffusionskoeffizienten im Bereich des Geleffekts. Gezeigt ist für vier Farbstoffsonden jeweils eine Messung 5 Minuten vor, am und 5 Minuten nach dem Referenzzeitpunkt. Der Anteil der nicht trackbar schnellen Fraktion wurde geschätzt (siehe Text).

Für sämtliche Farbstoffsonden konnte eine gemeinsame Beobachtung festgestellt werden: Bereits wenige Minuten vor Erreichen des Referenzzeitpunktes wird ein Anteil der Farbstoffsonden langsam bzw. immobil, während der Großteil einen für die Verfolgung zu hohen Diffusionskoeffizienten aufweist. Die Größe dieses Anteils sowie der Zeitpunkt des erstmaligen Auftretens ist dabei abhängig von der sterischen Beschaffenheit der Sonde (s.u.). Bei Erreichen des Referenzzeitpunktes steigt die Zahl der Sonden mit Diffusionskoeffizienten im Bereich von  $10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$  bis  $10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$  am schnellsten an, während der Bereich unterhalb von  $10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$  im gleichen Zeitraum keine nennenswerte Veränderung aufweist. Anschließend verlangsamt sich die erstgenannte Gruppe innerhalb weniger Minuten bis ein Bereich von  $10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$  bis  $10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$  erreicht

wird. Gleichzeitig nimmt die Zahl der erhaltenen Trajektorien in dieser Fraktion ab, da durch die verlangsamte Diffusion auch die Diffusion in die Fokalebene hinein und aus ihr heraus weniger statt findet.

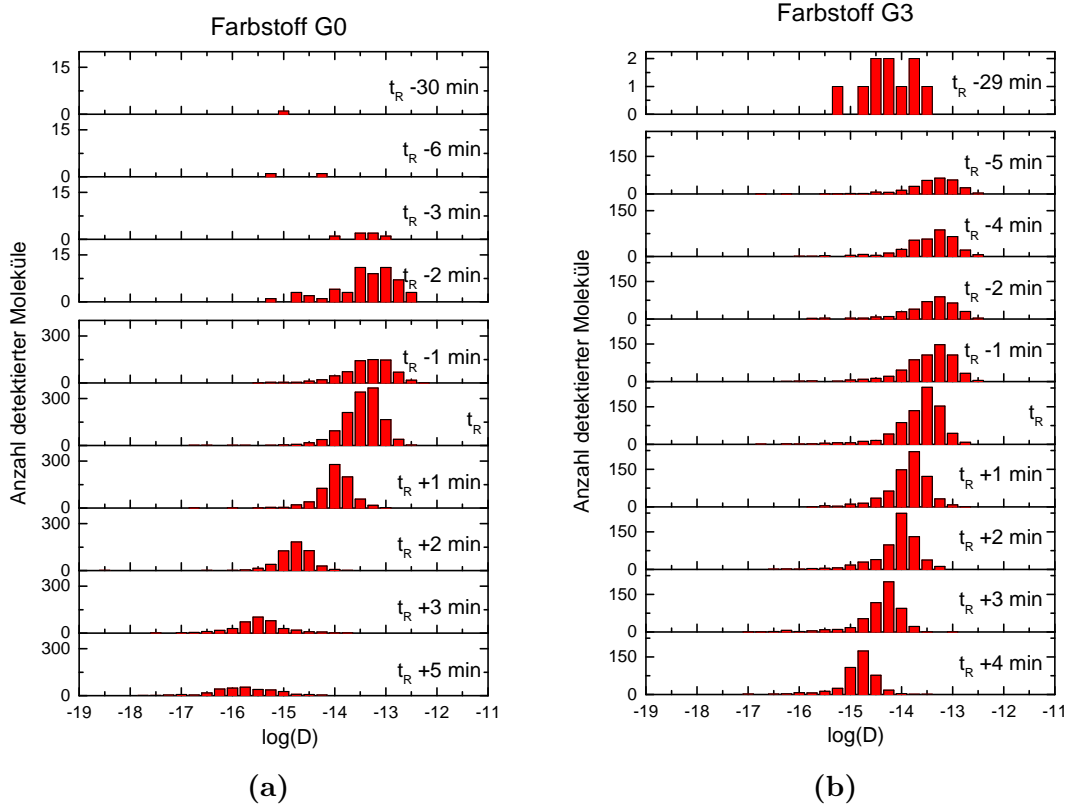
Es konnten aber auch signifikante Unterschiede zwischen dem Diffusionsverhalten der eingesetzten Farbstoffsonden beobachtet werden. Diese sollen im Folgenden anhand ihrer Diffusionskoeffizienten verglichen werden. Insbesondere auf den Zeitpunkt des Auftretens langsamer Sonden, die Streuung um den Mittelwert sowie die relative Anzahl der gemessenen Trajektorien soll eingegangen werden.



**Abbildung 3.6:** Häufigkeitsverteilung der logarithmierten Diffusionskoeffizienten während der MMA-Polymerisation. Gezeigt ist jeweils die Verteilung am Referenzzeitpunkt sowie einige Minuten davor und danach. Zu beachten ist die Änderung der Skalierung ab  $t_R - 1$  min bzw.  $t_R - 2$  min aufgrund des rasanten zahlenmäßigen Anstiegs messbarer Farbstoffsonden.

Die **makromolekularen Farbstoffsonden** können in zwei Gruppen aufgeteilt werden: (a) jene mit einer Kettenlänge unterhalb des kritischen Molekulargewichts für die Verknäulung und (b) jene, die diese überschreiten. Dieser Wert beträgt für PMMA  $M_{n,krit} = 18 \text{ kg/mol}$ <sup>[123]</sup>. Die Diffusionskoeffizienten jener makromolekularen Sonden oberhalb von  $M_{n,krit}$  zeigen eine relativ breite Verteilung zwischen ca.  $10^{-12.5}$  und  $10^{-17.5} \text{ m}^2/\text{s}$  während makromolekulare Sonden mit geringerem Molekulargewicht Diffusionskoeffizienten zwischen ca.  $10^{-12.5}$  und  $10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$  aufweisen (Abb. 3.4 b bzw. f). Bis ca. zwei Minuten vor dem Referenzzeitpunkt zeigt sich kein oder nur ein geringer Anstieg in der Anzahl der Tracks, dieser tritt erst in den zwei Minuten vor dem Referenzpunkt schlagartig auf. Anhand der breiten Verteilung kann geschlussfolgert werden, dass die verknäulten Polymere durch lokale Heterogenitäten wesentlich stärker beeinflusst werden als jene mit Molekulargewichten unterhalb des kritischen Molekulargewichts. Am Referenzzeitpunkt unterschreitet die Hauptfraktion der Farbstoffsonden  $D = 10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$  und zeigt Diffusionskoeffizienten mit einer relativ engen Verteilung zwischen ca.  $10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$  und  $10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$  während die zum Teil bereits vorher vorhandenen langsameren Sonden keine Veränderung zeigen. Im weiteren Verlauf verlangsamt sich diese Hauptfraktion mit einer weiterhin engen Verteilung, bis die Reaktion abgeschlossen ist.

Die **dendritische Farbstoffsonde PDI G3** ( $M = 11.7 \text{ kg/mol}$ ) zeigt ebenfalls bereits eine halbe Stunde vor dem Referenzzeitpunkt eine sehr kleine Fraktion von Farbstoffsonden mit  $D \leq 10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$ . (Abb. 3.4 n). Die Verteilung der Diffusionskoeffizienten ist im Vergleich mit der makromolekularen Sonde ähnlichen Molekulargewichts ( $M_n = 13 \text{ kg/mol}$ ) ähnlich schmal und steigt zahlenmäßig über mehr als 5 Minuten kontinuierlich an, bis der Referenzzeitpunkt erreicht wird. Sie befindet sich im Bereich von ca.  $10^{-12.5}$  bis  $10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ , also knapp unterhalb der Messgrenze. 5 Minuten vor dem Referenzzeitpunkt beträgt der Anteil der langsamen Sonden 23%. Nach dem Erreichen des Referenzzeitpunkts verschiebt sich die nach wie vor sehr enge Verteilung innerhalb von 6 Minuten langsam und gleichmäßig in den Bereich unter  $10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ . In diesem Zeitbereich zeigen sich essentielle Unterschiede zur makromolekularen Vergleichssonde: letztere zeigt eine wesentlich breitere Verteilung, dessen arithmetischer Mittelwert sich bereits bei  $t = t_R + 2 \text{ min}$  im Bereich unter  $10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$  befindet.



**Abbildung 3.7:** Häufigkeitsverteilung der logarithmierten Diffusionskoeffizienten während der MMA-Polymerisation. Gezeigt ist jeweils die Verteilung am Referenzzeitpunkt sowie einige Minuten davor und danach. (a) Farbstoff PDI G0. Zu beachten ist die Änderung der Skalierung ab  $t_R - 1 \text{ min}$  aufgrund des rasanten zahlenmäßigen Anstiegs messbarer Farbstoffsonden. (b) Farbstoff PDI G3.

Für alle Farbstoffe ist bereits ab 30 Minuten vor dem Referenzzeitpunkt eine Fraktion langsamer Moleküle zu beobachten (Abb. 3.4 a,b,e,f und 3.6). Lediglich bei Farbstoff PDI G0 ist diese Fraktion verschwindend gering und damit ohne Relevanz. Die **niedermolekulare Farbstoffsonde PDI G0** ( $M = 1.1 \text{ kg/mol}$ ) unterscheidet sich somit deutlich von den vorgenannten Farbstoffen: Bis zwei Minuten vor ihrem Referenzzeitpunkt sind praktisch keine Farbstoffsonden mit  $D \leq 10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$  zu beobachten. Innerhalb dieser zwei Minuten steigt die Anzahl der gemessenen Trajektorien bis zu einem Maximum an, während die Verteilung der Diffusionskoeffizienten ähnlich schmal wie bei PDI G3 ist. Im Vergleich zu PDI G3 ist die Zeitspanne zwischen dem Referenzzeitpunkt und dem Erreichen der Immobilität bei PDI G0 mit ca. 4 Minuten

wesentlich schneller.

#### 3.2.2. Interpretation und Diskussion der Ergebnisse am Weitfeldmikroskop

In Rahmen dieser Arbeit wurden unterschiedliche Farbstoffsonden im Verlauf der Polymerisation, also bei verschiedenen Polymerkonzentrationen, beobachtet. Im Folgenden soll die zeitliche Entwicklung der Diffusionseigenschaften anhand ihrer Größe und Form verglichen werden. Weiterhin sollen aus den beobachteten Unterschieden Rückschlüsse auf das polymerisierende System gezogen und erörtert werden, warum es sich unterschiedlich auf die Sonden ausübt. Anhand der am Konfokalmikroskop erhaltenen Daten wurde der jeweilige Umsatz am Referenzzeitpunkt abgeschätzt (Tab. 3.4), auf den in der Diskussion wiederholt Bezug genommen wird.

Das Diffusionsverhalten der kleinsten untersuchten Farbstoffsonde **PDI G0** zeichnet sich durch eine besonders enge Verteilung der Diffusionskoeffizienten aus. Kurz nach dem erstmaligen Auftreten von langsamen Sonden ist bereits der Referenzzeitpunkt erreicht. Ab Einsetzen des Geleffekts, also kurz bevor der Referenzzeitpunkt erreicht wird, steigt die Polymerkonzentration am schnellsten an. Erst ab diesem Zeitpunkt zeigen sich langsame Sonden mit einer schmalen Verteilung der Diffusionskoeffizienten um  $10^{-13.5} \text{ m}^2/\text{s}$ . Der Umsatz zu diesem Zeitpunkt kann auf ca. 50% geschätzt werden. Dieser Wert steht in Übereinstimmung mit der nach Stempfle *et al.*<sup>[15]</sup> berechneten Porengröße, die bei diesem Umsatz die Größe des PDI G0 erreicht. Die zunächst langsamen Sonden werden bereits nach weiteren fünf Minuten immobil. Insbesondere die enge Verteilung der Diffusionskoeffizienten und das stark vermehrte Auftreten der langsamen Farbstoffe zeigt, dass eventuell vorhandene, strukturelle Heterogenitäten nicht in der Lage sind, einen Teil der Sonden einzuschließen und zu immobilisieren solange der Referenzzeitpunkt noch nicht erreicht ist. Anders ausgedrückt findet die hier beobachtete Verlangsamung in einem Bereich statt, in dem die Porengröße für alle beobachteten Farbstoffsonden unter 2 nm sinkt. Zwar ist PDI G0 der kleinste verwendete Farbstoff und eine Verringerung der Größe auf die Größe des Monomers kaum möglich. Dennoch ist zu vermuten, dass die Immobilisierung der Monomere ebenfalls sehr homogen erfolgt, da Maschen, welche PDI G0 nicht einschließen können auch nicht in der Lage sein werden, Monomere einzuschließen.

Der dendritische Farbstoff **PDI G3** zeigt eine ähnlich enge Verteilung der Diffusionskoeffizienten wie PDI G0. Folglich werden alle Farbstoffsonden gleichartig von (nicht unbedingt gleich großen) Strukturen in ihrer Umgebung beeinflusst. Es gibt jedoch zwei wesentliche Unterschiede: (1) ein geringer, aber messbarer Anteil PDI G3 ist bereits eine halbe Stunde vor Erreichen des Referenzzeitpunkts langsam und (2) ein signifikanter Anteil von PDI G3 befindet sich schon mehrere Minuten vor Erreichen des Referenzzeitpunkts den langsamen Bereich. Punkt (1) beweist, dass diese langsamen Farbstoffsonden bereits vor Eintritt des Geleffekts vorhanden sind. Punkt (2) weist auf eine langsamere Polymerisationsgeschwindigkeit bei Erreichen des  $t_R$  für PDI G3 als für PDI G0 hin. Das bedeutet, der Referenzzeitpunkt liegt bei PDI G3 wesentlich eher als bei PDI G0. Diese Annahme bestätigt sich im Vergleich mit den FCS-Daten (Abb. 3.4), die auf einen Umsatz von ca. 35% schließen lassen (für PDI G0 50%, s.o.) und ist auch mit Literaturdaten<sup>[15]</sup> konsistent, die erste PDI G3-Sonden im Bereich unter  $10^{-14}$  m<sup>2</sup>/s ab 39% Umsatz aufzeigen. Die Autoren weisen darauf hin, dass die Porengröße nach Viovy und Duke,<sup>[124]</sup> die dem Durchmesser der Farbstoffsonde entspricht,<sup>[15]</sup> sogar schon bei einem Umsatz von knapp 15% unterschritten wird. Dies unterstützt die Beobachtung, dass bereits über eine halbe Stunde vor  $t_R$  vereinzelte langsame Farbstoffsonden gemessen werden können.

Im direkten Vergleich mit dem gleich schweren makromolekularen Farbstoff **PDI-PMMA 13k** zeigt PDI G3 eine ähnliche Anzahl langsamer Moleküle im Bereich vor dem Referenzzeitpunkt. Dieser befindet sich jedoch bei PDI G3 bei einem wesentlich geringeren Umsatz (ca. 35% im Gegensatz zu ca. 45% bei PDI-PMMA 13k, siehe Tab. 3.4). In diesem Bereich wird der dendritische Farbstoff bereits durch das entstehende physikalische Netzwerk aus Polymerketten<sup>[65]</sup> stark beeinflusst. Auch hier wird, analog zu den Ergebnissen der FCS, eine Eigenschaft der polymeren Sonde deutlich: sie kann sich besser an die Umgebung anpassen und bleibt daher bis zu höheren Umsätzen beweglich, zumal sie ein Molekulargewicht unter  $M_{n,krit}$  aufweist. Der Dendrit hingegen zeigt aufgrund seines verzweigten Aufbaus nur eine sehr eingeschränkte Verformbarkeit und ist daher nur bedingt in der Lage, auf sterische Hinderung zu reagieren.

Die makromolekulare Farbstoffsonde **PDI-PMMA 150k**, deren  $M_n$  oberhalb von  $M_{n,krit}$  mit  $M_n \geq 59$  kg/mol liegt, zeigt ab ca.  $t = t_R - 30$  min einen immobilen

sowie einen sehr langsamen Anteil beobachtbarer Spezies. Dies ist im Vergleich zu den anderen verwendeten Sonden außerordentlich früh, zumal ihr Referenzpunkt einem ca. 10% geringeren Umsatz entspricht und daher eher erreicht wird. Zeitgleich kann ihr zahlenmäßig größter Teil ( $\sim 80\%^c$ ) noch relativ frei diffundieren. Identische Sonden werden also zum gleichen Zeitpunkt unterschiedlich durch die Umgebung beeinflusst. Dies weist auf Heterogenitäten der weitmaschigen Strukturen hin, in denen ein Teil der geknäulten makromolekularen Sonden eingeschlossen und dadurch weitestgehend immobilisiert wird. Ebenfalls möglich ist die Verknäulung der makromolekularen Sonde selbst mit weiteren Makromolekülen zu temporären und lockeren Zusammenschlüssen, sogenannten Brückennetzwerken<sup>[125]</sup>. In beiden Fällen ist eine verminderte Beweglichkeit zu erwarten, jedoch keine komplette Immobilität, was sich mit der Beobachtung deckt. Bei diesem Polymerisationsfortschritt können niedermolekulare Sonden sowie makromolekulare Sonden mit einem Molekulargewicht unterhalb von  $M_{n,krit}$  noch größtenteils frei diffundieren. Diese erreichen erst wenige Minuten vor ihrem Referenzzeitpunkt Diffusionsgeschwindigkeiten unter  $10^{-12.5} \text{ m}^2/\text{s}$ . Auf diese Weise kann veranschaulicht werden, welche Rolle die Unterschiede des Diffusionsverhaltens makromolekularer und niedermolekularer Substanzen in der Geleffektregion haben: Während zu einem bestimmten Zeitpunkt bereits vereinzelte immobile Makromoleküle beobachtet werden und somit die Rekombination zweier langkettiger makromolekularer Radikale nur noch vermindert stattfindet,<sup>[126]</sup> können kleinere Moleküle noch weitestgehend frei diffundieren. Dazu zählen neben den Monomeren auch Oligomere und kurz-kettige Polymere unterhalb von  $M_{n,krit}$ . Diese können weiterhin mit anderen Radikalen beliebiger Länge rekombinieren, wodurch sich die Polydispersität erhöht. Bemerkenswert ist ebenfalls, dass dieser Zustand länger als zehn Minuten dauert bis der Referenzzeitpunkt erreicht wird und der Geleffekt sein Maximum erreicht. In dieser Zeit ändert sich die Anzahl der beobachteten Farbstoffsonden zunächst nicht signifikant, sie nimmt erst kurz vor Erreichen des Referenzzeitpunktes deutlich zu. Erst bei  $t \approx t_R + 5 \text{ min}$  wird die Diffusion der niedermolekularen Substanzen zunehmend gehindert, was das Einsetzen des Glaseffekts zur Folge hat.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass insbesondere der makromolekulare Farbstoff PDI-PMMA 150k von Heterogenitäten beeinflusst wird und besonders früh einen Anteil langsamer Sonden aufweist. Es kann davon ausgegangen werden, dass

---

<sup>c</sup>in Bezug auf die Zahl zum Referenzzeitpunkt

die verminderte Mobilität der langen Polymerketten einen Einfluss auf die Kinetik der Polymerisation hat, da unter anderem die Rekombination zweier langkettiger makromolekularer Radikale vermindert ist. Unter dem Aspekt, dass der Trommsdorff-Effekt durch die Abnahme der Terminierungsreaktion hervorgerufen wird ist diese Beobachtung von hoher Bedeutung für das bessere Verständnis der komplexen Polymerisationskinetik.



## 4. Viskositätsänderungen bei der MMA-Polymerisation auf molekularer Ebene

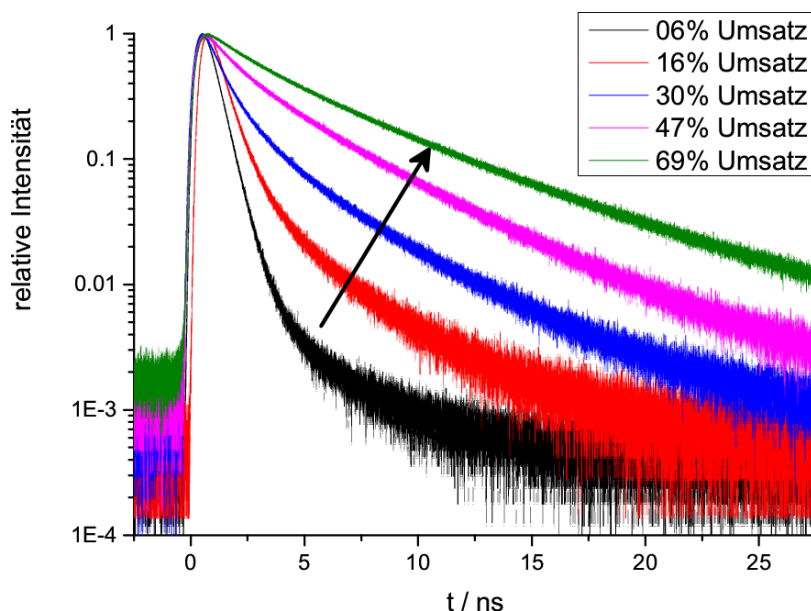
Die Fluoreszenzlebenszeit des Bodirot-Farbstoffs (Abb. 2.26) wurde während der freien radikalischen Substanzpolymerisation von MMA verfolgt. Die während der Polymerisation steigende Viskosität resultiert erwartungsgemäß in einer Zunahme der Fluoreszenzlebenszeit des Farbstoffes. Repräsentative Fluoreszenzabklingkurven sind in Abb. 4.1 gezeigt. Sie wurden anhand von zeitkorrelierter Einzelphotonenzählung ermittelt und bei einem Umsatz von unter 10% mit einer monoexponentiellen Funktion (Gleichung 4.1,  $n = 1$ ) angenähert, sonst mit einer mit einer biexponentiellen Funktion ( $n = 2$ ). Der Vorfaktor  $A_i$  definiert die Amplitude und  $\tau_i$  die Fluoreszenzlebenszeit der jeweiligen Komponente  $i$ . Die Amplitude verhält sich dabei proportional zum Anteil der mit der entsprechenden Fluoreszenzlebenszeit auftretenden Spezies. Die unter Berücksichtigung dieses Anteils gewichtete mittlere Fluoreszenzlebenszeit wird als  $\bar{\tau}$  definiert (Gleichung 4.2).

$$I(t) = \int_{t'=0}^t F_{IRF}(t') \sum_{i=1}^n A_i \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_i}\right) dt' \quad (4.1)$$

$$\bar{\tau} = \frac{\sum_{i=1}^n A_i \cdot \tau_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \quad (4.2)$$

Die Fluoreszenzlebenszeit und der Polymerisationsumsatz wurden während der Polymerisation abwechselnd gemessen, letzterer wurde anhand einer Methode nach Chu et. al.<sup>[77]</sup> bestimmt. Insbesondere im Bereich des Geleffekts wurden die Messungen so schnell wie möglich hintereinander durchgeführt. Erwartungsgemäß wurde mit steigendem Polymerisationsumsatz, also steigender Viskosität, aufgrund der gehinderten

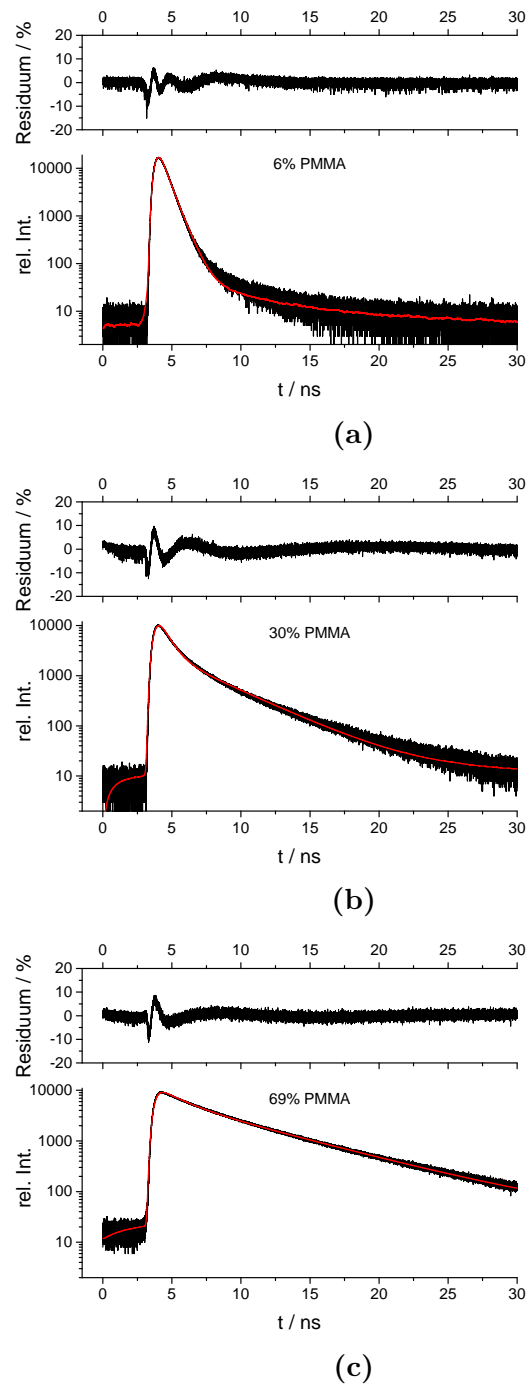
internen Rotation der Farbstoffsonde eine Steigerung der Quantenausbeute und damit ein Anstieg in der Fluoreszenzlebenszeit beobachtet (Abb. 4.1).



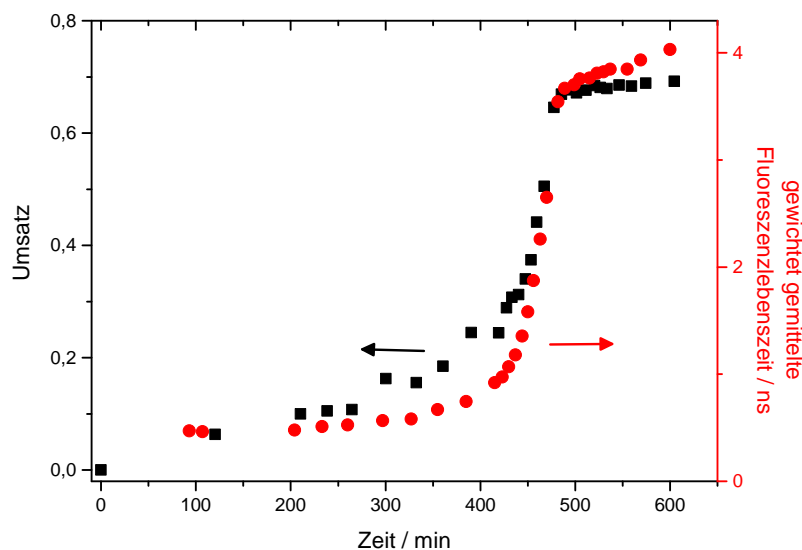
**Abbildung 4.1:** Repräsentative Fluoreszenzabklingkurven gemessen mittels TCSPC bei verschiedenen Umsätzen der Substanzpolymerisation von MMA mit 0.5% Radikalstarter (V70). Der Pfeil veranschaulicht die Veränderung mit steigendem Umsatz. Reproduced from Ref. ([127]) with permission from the Royal Society of Chemistry.

### 4.1. Beobachtung

Es konnte gezeigt werden, dass die Zunahme von  $\bar{\tau}$  sich annähernd identisch dem Anstieg des Polymerisationsumsatzes verhält, interessanterweise trifft dies auch im Bereich des Geleffekts zu (Abb. 4.3). Auf diese Weise konnte der Polymerisationsverlauf auch anhand der spektroskopischen Messungen in drei Bereiche differenziert werden: Der Bereich geringen Umsatzes und geringer Reaktionsgeschwindigkeit, der Geleffektbereich, sowie der Glaseffektbereich. Im Bereich des geringen Umsatzes, also bis ca. 20%, nimmt die Fluoreszenzlebenszeit nur sehr langsam zu, daraus lässt sich auf eine ebenso geringe Zunahme der Mikroviskosität in diesem Bereich schließen. Bei fortschreitender Polymerisation, also im Bereich von ca. 20 bis knapp unter 70% Umsatz, zeigt sich die Selbstzunahme der Reaktionsgeschwindigkeit, hervorgerufen



**Abbildung 4.2:** Unten: Fluoreszenzabklingkurve des molekularen Rotors Bodipyrot bei der Substanzpolymerisation von MMA (schwarze Kurve) sowie angenäherte Kurvengleichung mit zwei Fluoreszenzlebenszeiten (rote Kurve). Oben: Abweichung der Meßdaten vom Fit. Bei Umsätzen von 6% (4.2a), 30% (4.2b), 69% (4.2c),

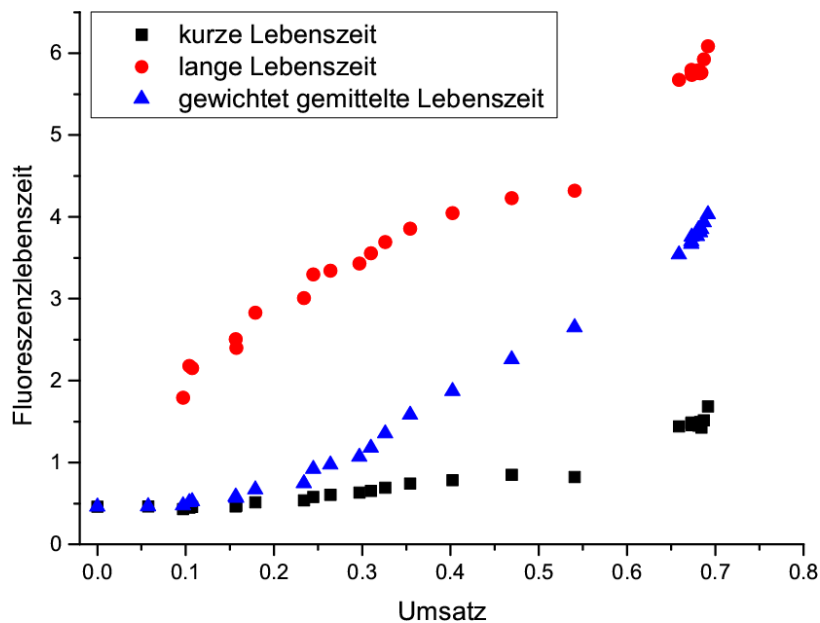


**Abbildung 4.3:** Zeitliche Entwicklung des Umsatzes (schwarze Quadrate, linke y-Achse) im Vergleich mit der gewichtet mittleren Fluoreszenzlebenszeit des Bodipy Farbstoffs Bodirod (rote Kreise, rechte y-Achse) während der Substanzpolymerisation von MMA mit 0.5% Radikalstarter V70. Reproduced from Ref. <sup>[127]</sup> with permission from the Royal Society of Chemistry.

durch den Trommsdorff Effekt (Vgl. Abschnitt 2.1.2). In dieser Zeit steigt die gewichtet gemittelte Fluoreszenzlebenszeit von 1 ns auf 3.5 ns an.

Dass diese Geschwindigkeitszunahme nicht auf Temperatureffekte zurückzuführen ist, konnte in unserer Arbeitsgruppe anhand von dynamischer Differenzkalorimetrie (engl. differential scanning calorimetry, DSC) gezeigt werden<sup>[15]</sup>. Mit Eintritt in den Glaseffektbereich bei ca. 70% Umsatz verringert sich die Reaktionsgeschwindigkeit ebenso wie der Anstieg der mittleren Fluoreszenzlebenszeit. Nach dem vollständigen Aushärten des Polymers kommt die Reaktion zum Erliegen und auch die mittlere Fluoreszenzlebenszeit erreicht einen maximalen, konstanten Wert.

Bei genauerer Betrachtung der Fluoreszenzlebenszeitkomponenten wird deutlich, dass der Anstieg der mittleren Fluoreszenzlebenszeit in der Geleffektregion nicht in erster Linie auf den Anstieg der beiden Lebenszeiten selbst, sondern vielmehr auf die Änderung ihrer jeweiligen Amplitude zurückzuführen ist. Die kurze Lebenszeit, die anfangs einen Wert von 0,43 ns aufweist steigt bis zum Erreichen von 60% Umsatz moderat auf 0.85 ns an (Abb. 4.4). Die lange Lebenszeit, die ab einem Umsatz von 10% mit einem Wert von 1.80 ns zu beobachten ist, steigt bis 60% Umsatz auf 4.32 ns an. In diesem Bereich steigt jedoch auch ihr Amplitudenanteil an der Gesamtamplitude an,

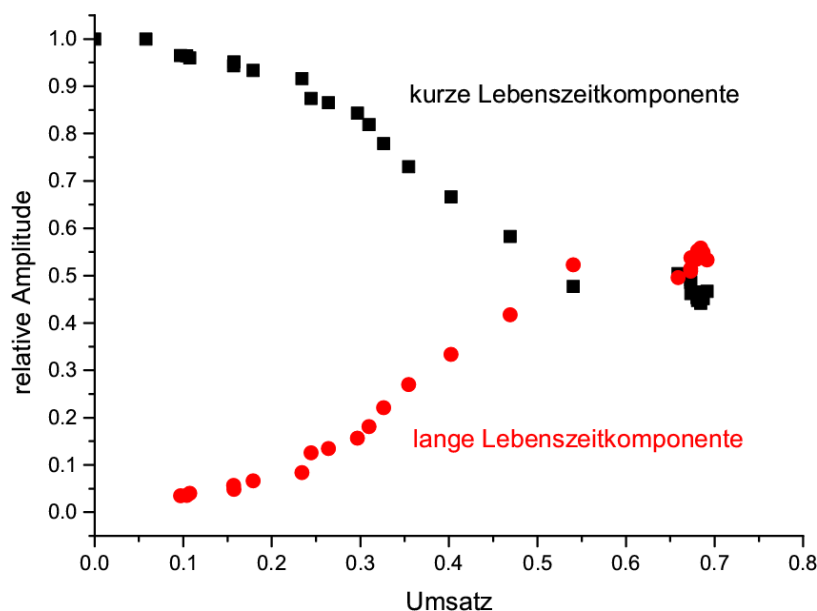


**Abbildung 4.4:** Fluoreszenzlebenszeiten des Bodipy Farbstoffs Bodirot in Abhängigkeit vom Umsatz während der Substanzpolymerisation von MMA mit 0.5% Radikalstarter (V70). Ab einem Umsatz von 10% wurden zwei unterschiedliche Fluoreszenzlebenszeiten (schwarze Quadrate, rote Kreise) gemessen. Von diesen Werten und ihren jeweiligen Amplituden wurde die gewichtet mittlere Lebenszeit (blaue Dreiecke) errechnet. Reproduced from Ref. <sup>[127]</sup> with permission from the Royal Society of Chemistry.

bis sich die Anteile angeglichen haben (Abb. 4.5). Anschließend steigen jedoch die Lebenszeiten selbst noch um 0.5 ns an, was zu einem weiteren Anstieg der gemittelten Lebenszeit führt, während das Amplitudenverhältnis annähernd konstant bleibt, auch nach mehreren Tagen.

## 4.2. Interpretation

Die Beobachtung der verschiedenen Fluoreszenzlebenszeiten ist ein klares Zeichen dafür, dass es im System Heterogenitäten, also verschiedene lokale Umgebungen gibt, in denen sich die Farbstoffsonden unterschiedlich verhalten: ein Anteil weist bis zu einem Umsatz von 60% eine Fluoreszenzlebenszeit unterhalb von 1 ns auf und wird von der Polymerisation kaum beeinflusst. Im Vergleich mit nicht-polymeren Systemen würde dieser Wert einer niedrigviskosen Lösung und der damit verbundenen internen



**Abbildung 4.5:** Anteil der Amplitude der in Abb. 4.4 gezeigten kurzen (schwarze Quadrate) und der langen (rote Kreise) Fluoreszenzlebenszeit an der Gesamtamplitude. Reproduced from Ref. ([127]) with permission from the Royal Society of Chemistry.

Rotation des Farbstoffs entsprechen. Im Gegensatz dazu steigt die größere Fluoreszenzlebenszeit in ihrem Wert im Umsatzbereich von 10 bis 60% signifikant an. Dies zeigt, dass die interne Rotation durch die vorherrschende Dichte der Polymerketten bereits stark gehindert ist und diese Hinderung im Laufe der Polymerisation stark zunimmt. Die Bereiche mit der entsprechend hohen Polymerdichte vergrößern sich während der Polymerisation stetig, folglich nimmt auch der Amplitudenanteil der damit korrespondierenden Fluoreszenzlebenszeit entsprechend zu.

Auffällig ist, dass beide im polymerisierenden System gemessene Fluoreszenzlebenszeiten wesentlich geringer sind als anhand der Makroviskosität zu vermuten. Gegen Ende der Polymerisation ist vom System nach der Definition des Glasübergangs eine Viskosität von mindestens  $10^{12}$  Pa s zu erwarten<sup>[128]</sup>. Sogar gegen Ende der Polymerisation ist die Rotation der einen Hälfte der Farbstoffsonden ( $\tau \approx 1,5$  ns) noch soweit möglich, wie es für ein niedermolekulares System mit ca. 200 cP zu erwarten wäre, während die andere Hälfte ( $\tau \approx 6$  ns) einen korrespondierenden Wert von 1000 cP überschreitet. Diese Werte stammen aus einem nicht-polymeren Referenzsystem, dessen Viskosität durch Mischung von Glycerin und Wasser eingestellt werden kann und von Levitt *et al.*<sup>[129]</sup> aufgestellt wurde.

Dass diese ermittelten Werte für die Viskosität der Probe überraschend gering ausfallen verdeutlicht, dass nicht die Bulk-Viskosität für die interne Rotation der molekularen Sonden ausschlaggebend ist. In diesem Fall wäre die konzertierte Bewegung der Polymerketten entscheidend. Im vorliegenden Fall ist jedoch die Mikroviskosität, basierend auf der direkten Nachbarschaft des molekularen Rotors, entscheidend: sie bestimmt die Drehbarkeit der Phenylgruppe der Farbstoffsonde und damit ihre Fluoreszenzlebenszeit. Die Mikroviskosität hängt in Analogie mit der Kettensegmentbeweglichkeit des Polymers<sup>[130]</sup> in erster Linie vom freien Volumen im Polymer ab, welches auch im Glaszustand noch vorhanden ist und umverteilt werden kann.<sup>[86]</sup> Diese Umverteilung wird auch anhand der Fluoreszenzlebenszeitmessungen sichtbar: während der Umsatz im Bereich von 65 bis 70% aufgrund des Glaszustands nahezu konstant bleibt, steigen beide Fluoreszenzlebenszeiten noch deutlich an, was auch in einem Anstieg der gemittelten Fluoreszenzlebenszeit resultiert (Abb. 4.3 und 4.4).



## 5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden die molekularen Bewegungen während der Substanzpolymerisation von MMA anhand verschiedener Methoden untersucht, wobei einerseits die Diffusion der beteiligten Moleküle und Makromoleküle, und andererseits das freie Volumen zwischen den Polymerketten erfolgreich betrachtet wurde.

Die Diffusionsuntersuchungen wurden mit Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (engl.: Fluorescence Correlation Spectroscopy) (FCS) und auf Einzelmolekülbasis anhand von der Weitfeldfluoreszenzmikroskopie (WFM) durchgeführt. Dabei konnte im Monomer die erwartete Abhängigkeit vom hydrodynamischen Radius nach Stokes-Einstein (Gl. 2.30) bestätigt werden. Wesentlich komplexere Abhängigkeiten zeigten sich im Laufe der Polymerisation: Das anfängliche Verhalten ist anhand des von Phillies aufgestellten Skalierungsgesetzes für alle Farbstoffsonden erklärbar, da sich ihre Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit vom Umsatz nach einer gestreckten Exponentialfunktion verhalten. Bei steigendem Umsatz weisen jedoch die polymeren Farbstoffsonden eine wesentlich höhere Mobilität auf, als nach Phillies anhand ihres Molekulargewichts zu erwarten wäre. Der Diffusionskoeffizient folgt an dieser Stelle einer Potenzfunktion über und ist in Kap. 3.1.2 genauer beschrieben. Er kann als Zeichen für die Verformbarkeit und die Reptationsmöglichkeit der makromolekularen Sonden angesehen werden.

Zum direkten Vergleich zwischen makromolekularer und niedermolekularer Farbstoffsonde wurden die Sonden PDI G3 sowie PDI-PMMA 13k verwendet, die mit 12 bzw. 13 kg/mol ein ähnliches Molekulargewicht bei verschiedenen räumlichen Strukturen aufweisen. Während der gesamten Polymerisation konnte anhand von FCS für PDI G3 ein niedrigerer Diffusionskoeffizient als bei der Vergleichssonde festgestellt werden. Dies weist darauf hin, dass letztere Sonde sich verformen kann sowie auch eine Fortbewegung durch Reptation möglich sein muss.

Die Weitfeldmikroskopie erlaubte die Untersuchung des Diffusionsverhaltens von Sonden mit Diffusionskoeffizienten unterhalb von  $10^{-12,5}$  m<sup>2</sup>/s. Für eine Vergleichbarkeit der Messungen untereinander wurde ein Referenzzeitpunkt festgelegt. Dieser ist erreicht, wenn das Auftreten der Sonden im Bereich von  $10^{-12,5}$  m<sup>2</sup>/s bis  $10^{-14}$  m<sup>2</sup>/s am schnellsten ansteigt.

Sämtliche Sonden außer PDI G0 zeigen bereits einige Minuten vor Erreichen des Referenzzeitpunkts einen Anteil langsamer oder immobiler Spezies. Die Größe dieses Anteils und der Zeitpunkt ihres Auftretens ist jedoch stark von der Beschaffenheit und Größe der Sonde abhängig. Bei den makromolekularen Sonden kann weiterhin zwischen jenen ober- und unterhalb des kritischen Molekulargewichts für die Verknäulung unterschieden werden. Insbesondere Farbstoffsonden mit einem Molekulargewicht oberhalb des kritischen Molekulargewichts zeigten eine starke Beeinflussung durch Heterogenitäten bei der Polymerisation, die durch eine breite Verteilung der Diffusionskoeffizienten offenbart wird. Diffusionskoeffizienten der Sonden unterhalb des kritischen Molekulargewichts weisen hingegen eine schmalere Verteilung auf und werden somit deutlich weniger von Heterogenitäten beeinflusst. Dennoch haben alle makromolekularen Sonden gemeinsam, dass der bedeutende Großteil der vorhandenen Sonden erst zum Referenzzeitpunkt messbar wird und bereits vier Minuten später bis unter  $10^{-15}$  m<sup>2</sup>/s verlangsamt wurde.

Die niedermolekularen Sonden zeigen ebenfalls ein stark von ihrer Größe abhängiges Diffusionsverhalten. Ein kleiner aber nicht unwesentlicher Anteil des Dendrits PDI G3 ist bereits 30 Minuten vor dem Referenzzeitpunkt verlangsamt (jedoch nicht komplett immobilisiert), was auf Maschen hinweist mit einer Porengröße teilweise kleiner als der Durchmesser des Farbstoffs. Diese Beobachtung wird im Fall von PDI G0 erst zwei Minuten vor dem Referenzzeitpunkt gemacht, was ein Indiz dafür ist, dass die Diffusion bis dahin frei an den Ketten vorbei erfolgen kann. Signifikant nimmt die Zahl der detektierten Sonden PDI G0 sowie PDI G3 erst in den Minuten vor dem Referenzzeitpunkt zu. In diesem Zeitbereich werden die Maschen zunehmend enger, sodass die Sonden im Polymer eingeschlossen werden, jedoch noch sehr langsam diffundieren können. Anschließend erfolgt die Immobilisierung durch die weitere Verengung des Netzwerks; währenddessen zeigen die Diffusionskoeffizienten eine engere Verteilung.

---

Es kann also geschlussfolgert werden, dass insbesondere das Polymer oberhalb von  $M_{n,krit}$  von Heterogenitäten beeinflusst wird und daher zum Teil sehr unterschiedliche Diffusionskoeffizienten vor Erreichen des Referenzzeitpunkts aufweist. Alle anderen Sonden werden unterschiedlich verlangsamt, abhängig von ihrer Beschaffenheit, aber sie zeigen keine so stark heterogene Beeinflussung durch die Polymermatrix. Aus dem Grund sollte bei weiterführenden Untersuchungen des Systems der Fokus auf polymeren Farbstoffsonden oberhalb von  $M_{n,krit}$  liegen.

Bei der Bulk-MMA-Polymerisation spielt im Vergleich zu anderen Monomeren und Polymerisationsarten die Kettenübertragung eine nicht unbedeutende Rolle. Wie bereits in Kap. 2.1.2 beschrieben folgt aus ihr die Bildung einer Vernetzungsstelle auch ohne Zugabe von vernetzenden Additiven. Daher wäre für zukünftige Untersuchungen interessant, eine Korrelation zwischen den hier beobachteten Heterogenitäten und der Vernetzungsdichte aufstellen zu können. Insbesondere die Frage, ob für das Auftreten der Heterogenitäten eine Vernetzung zwingend notwendig ist, oder ob sie auch in nicht-vernetzten Systemen gleichermaßen auftreten wäre interessant zu beantworten.

Mittels TCSPC konnte gezeigt werden, dass der Verlauf der Viskosität der freien radikalischen Polymerisation von MMA anhand der Fluoreszenzlebenszeit von molekularen Rotoren in der Polymermatrix verfolgt werden kann. Es wird jedoch nicht die auch auf anderem Wege messbare Makroviskosität ermittelt, sondern die lokale Viskosität, die durch das freie Volumen in der direkten Umgebung der Farbstoffsonde bestimmt wird und die Beweglichkeit von Molekülteilen in ihrer Matrix repräsentiert. Mit dieser Methode konnten beginnend ab 10% Umsatz Heterogenitäten nachgewiesen werden. Das Vorhandensein dieser Heterogenitäten wurde anhand des Auftretens von verschiedenen Fluoreszenzlebenszeiten im Verlauf der Reaktion gezeigt (Abb. 4.1). Während ein Teil der Sonden bis zu einem Umsatz von 60% frei war, also kaum von der Umgebung beeinflusst wurde, wurde der andere Teil mehr und mehr in seiner Rotation gehindert. Dies lässt auf ein freies Volumen schließen, das im Laufe der Polymerisation kleiner wird. Sehr anschaulich konnte weiterhin beobachtet werden, wie der Anteil der wenig beeinflussten Sonden im Verhältnis zu den sterisch gehinderten Sonden bis zum besagten Umsatz von 60% abnimmt. Bemerkenswert ist der Befund, dass auch bis nach Eintreten des Glaseffekts der Anteil der annähernd frei rotierenden Sonden

## 5. Zusammenfassung

---

noch bei knapp unter 50% lag, ihre Lebenszeit stieg lediglich während des Geleffekts bis ca. 1.5 ns an, was in klassischen, nicht-polymeren Systemen einer niedrigviskosen Lösung entspricht. Selbst im Glaszustand ist also noch ausreichend freies Volumen für die intramolekulare Rotationsbewegung vorhanden.

## 6. Experimentaltteil

### 6.1. Herstellung und Reinigung der Probenträger

Sämtliche zur Herstellung benötigten Glasteile wurden zunächst für mind. 4 Stunden bei Raumtemperatur in einer Reinigungslösung aus Hellmanex III Konzentrat (Hellma GmbH & Co. KG), 2%ig in deionisiertem Wasser gelagert und anschließend unter deionisiertem Wasser gründlich abgespült. Nach dem Trocknen wurden sie während 10 Minuten in einer Sauerstoffplasmaatmosphäre oberflächengereinigt (diener electronic Plasmaofen femto). Die Teile wurden einseitig mit einer geringen Menge Wasserglas benetzt und aneinandergesetzt. Während der Trocknungsphase von 12 Stunden wurden die Fügeteile mit einer Kraft von 3N aneinandergepresst. Die Probenträger wurden innerhalb von 3 Tagen verbraucht um eine Ermüdung der Klebefuge durch Reaktion mit  $CO_2$  zu vermeiden.

### 6.2. Polymerisation

1-3 Tropfen einer Lösung eines Perylendiimid-Derivates in spektroskopisch reinem Toluol wurden im Reaktionsgefäß vorgelegt und das Toluol im Vakuum verdampft. 3 ml MMA sowie 1% (Diffusionsmessungen) bzw. 0.5% (Einzelphotonenzählung) (w/w) V70 Radikalstarter wurden hinzugefügt, sodass die Farbstoffkonzentration im nanomolaren Bereich lag. Die Reaktionsmischung wurde homogenisiert und durch drei Gefrier-Pump-Tau-Zyklen entgast. Unter Stickstoffatmosphäre wurde ca. 1 ml der Reaktionsmischung in einen Probenträger gegeben und bei Raumtemperatur polymerisiert.

### **6.3. Herkunft der in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien**

Die eingesetzten Perylendiimidderivate wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Müllen (MPI Mainz) entwickelt und zur Verfügung gestellt. Die Verknüpfung der Farbstoffe mit den Polymerketten erfolgte von Dr. Sebastian Primpke in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Vana an der Universität Göttingen. Der Bodirot-Farbstoff wurde von Dr. Christian Jüngst in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Zumbusch an der Universität Konstanz synthetisiert und zur Verfügung gestellt. Das Methylmethacrylat wurde von Sigma-Aldrich bezogen und vor der Verwendung unter vermindertem Druck destilliert. Der Azo-Radikalstarter V70 wurde von Wako Chemicals bezogen. Soweit nicht anders angegeben wurden die Chemikalien eingesetzt wie erhalten.

### **6.4. Messbedingungen der Weitfeldmikroskopischen Untersuchungen**

Ein Cobolt Jive Laser (75 mW) der Wellenlänge 561 nm wurde über eine Multimodenglasfaser (NA=0.22 ±0.02) in ein DMI6000 B Mikroskop (Leica Microsystems GmbH) in Epi-mode eingekoppelt. Die Glasfaser wurde geschüttelt (Vortex, 2000 UPM), um Interferenzeffekte zeitlich auszugleichen. Das Faserende wurde mit einem HCX PL APO 100 1,40 - 0,70 Ölimmersionsobjektiv (Leica) in die Probe projiziert. Das Fluoreszenzlicht wurde durch einen dichroitischen Filter z561/660rpc (Chroma Technology Corp.) vom Laserlicht abgetrennt und hinter einem Langpassfilter (RazorEdge LP568 RU) mittels zwei Photoobjektiven (Nikkor 28mm f2.8, Fokus= ∞; Nikkor 85mm f2.0, Fokus= ∞) auf eine Andor Ixon DV887DCS-BV EMCCD Kamera abgebildet, deren Chip auf -80 °C gekühlt war. Die spektroskopische Verfolgung der Polymerisation wurde gestartet, sobald die Reaktionsmischung die für die Messung notwendige Viskosität erreicht hatte. Der Abstand des Messbereichs vom Deckglas des Probenträgers betrug jeweils 8 μm. Für jede Messung wurde eine neue Position ausgewählt um Bleicheffekte zu minimieren.

Die Messungen wurden mit folgenden Parametern durchgeführt:

Aquisition Mode: Kinetics

Number in Kinetics Series: 300

Exposure time: 100 ms

EM DAC Level: 255

Pre-Amplifier Gain: 5

Readout Mode: Full Resolution Image

## 6.5. Messbedingungen der Fluoreszenzkorrelationsuntersuchungen

Ein Dauerstrichlaser (Cobolt Samba 532 nm) mit gaußförmigem Strahlprofil wurde durch ein Teleskop aufgeweitet und durch Neutraldichtefilter auf eine Intensität von  $100 \mu\text{W}$  abgeschwächt. Er wurde durch die rückseitige Öffnung in ein Mikroskop (Zeiss Axiovert 200) eingekoppelt. Der Laser wurde durch ein Objektiv (Zeiss Plan-FLUAR 100x/1,45 Oil) von unten in die Probe focussiert, wobei der Abstand des Focus zum Glasboden ca.  $10 \mu\text{m}$  betrug. Im konfokalen Volumen entstandenes Fluoreszenzlicht wurde durch das selbe Objektiv gesammelt und durch einen Strahlteiler (Chroma z532RDC) vom Anregungsstreulicht getrennt. Durch eine Lochblende wurde Fluoreszenzlicht, das nicht aus dem konfokalen Volumen stammte, abgeblockt. Das Fluoreszenzlicht aus dem konfokalen Volumen wurde durch einen Notchfilter (Semrock NF01-532U-25) und einen Langpassfilter (Semrock LP568) von verbleibendem Streulicht bereinigt. Es wurde mit einem 50:50 Strahlteiler (Melles Griot 03BSC007) getrennt mittels je einer Linse auf zwei APDs (Perkin Elmer SPCM-AQR-14 SPAD) focussiert. Um in den APDs entstehende Nachpulse zu eliminieren wurde ein Kurzpassfilter (Chroma 680SP-2P8) vor eine Photodiode positioniert. Das Signal wurde in einer HydraHarp 400 verarbeitet und an den Computer weitergeleitet. Es wurde jeweils für 120 s gemessen, wobei die Zählrate der Detektoren  $\sim 5000$  Ereignisse pro Sekunde betrug.

## **6.6. Messbedingungen der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung**

Für die Zeitkorrelierten Einzelphotonenzählungen (engl.: time correlated single photon counting) (TCSPC) wurde ein gepulster Diodenlaser (Picoquant LDH-D-C-470 , 467 nm, 10 MHz) mit gaußförmigem Strahlprofil durch ein Teleskop aufgeweitet und durch Neutraldichtefilter auf eine Intensität von 20  $\mu\text{W}$  abgeschwächt. Er wurde durch die rückseitige Öffnung in ein Mikroskop (Zeiss Axiovert 200) eingekoppelt. Der Laser wurde durch ein Objektiv (Zeiss Plan-FLUAR 100x/1,45 Oil) von unten in die Probe focussiert, wobei der Abstand des Focus zum Glasboden ca. 10  $\mu\text{m}$  betrug. Das Fluoreszenzlicht wurde durch das selbe Objektiv gesammelt und durch einen Strahlteiler (Chroma z473RDC) vom Anregungsstreulicht getrennt. Durch eine Lochblende wurde Fluoreszenzlicht, das nicht aus dem konfokalen Volumen stammte, abgeblockt. Das Fluoreszenzlicht aus dem konfokalen Volumen wurde durch einen Langpassfilter (BrightLine HC488/LP) sowie einen Kurzpassfilter (Chroma 680SP-2P8) von verbleibendem Streulicht bereinigt. Mittels einer Linse wurde es auf eine APD (Perkin Elmer SPCM-AQR-14 SPAD) focussiert. Das Signal wurde in einer HydraHarp 400 verarbeitet und an den Computer weitergeleitet. Die Messungen wurden zwei Minuten lang als 2D-Flächenscan (80x80  $\mu\text{m}^2$ ) durchgeführt, um bei hochviskosen Proben eine durch Photobleichen sinkende Signalintensität zu vermeiden. Als Apparatfunktion (engl. Instrument response function)(IRF) wurde ein Deckglasreflex verwendet.

## **6.7. Messbedingungen der Absorptionsspektren**

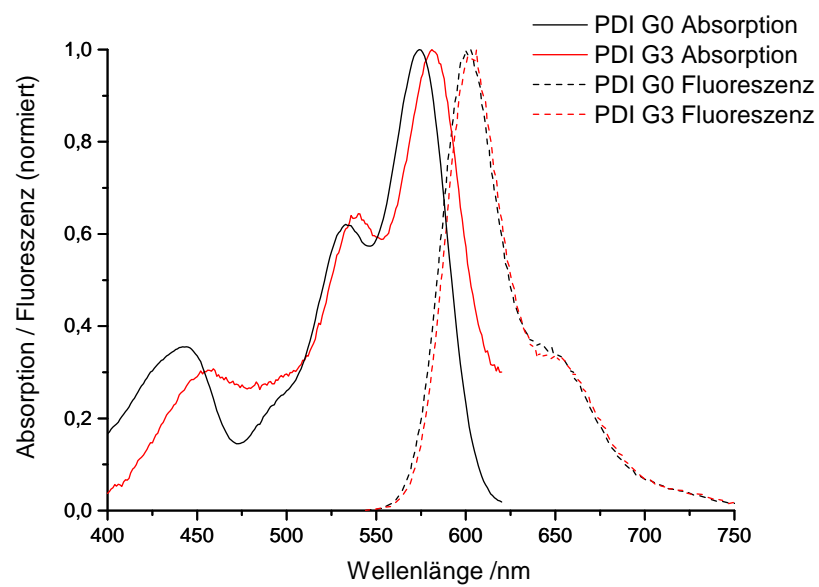
Lösungen der Farbstoffe wurden in Toluol am UV-Vis Spektrometer (Agilent Technologies Cary 50) gemessen. Die Basislinie des Lösungsmittels wurde ebenfalls aufgenommen und von den Spektren abgezogen. Es wurde in 1 nm-Schritten bei einer Abtastrate von 2 nm/s gemessen.

## 6.8. Messbedingungen der Fluoreszenzspektren

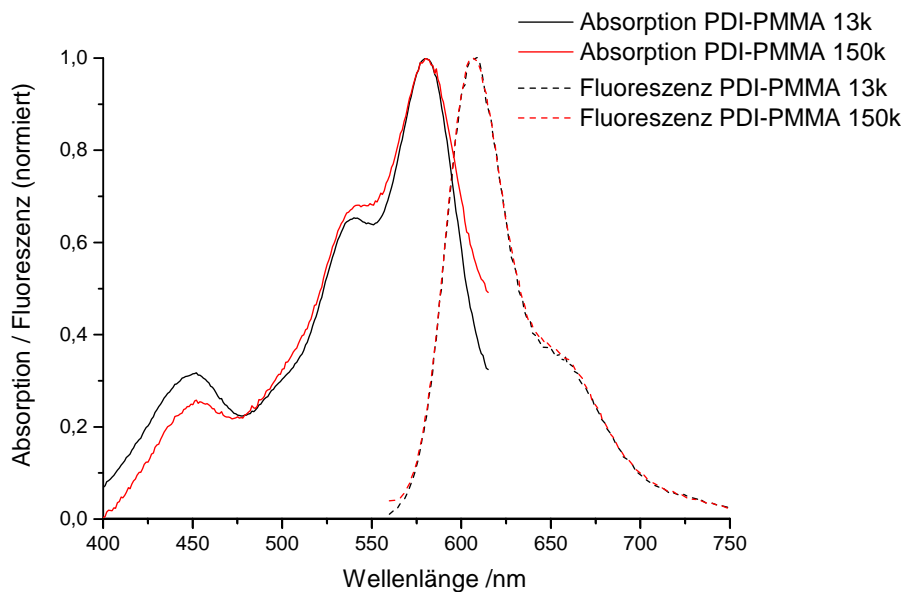
Fluoreszenzspektren der Farbstoffe wurden an Lösungen in Toluol an einem FluoTime 300 Spektrometer (PicoQuant) gemessen. Die Anregung erfolgte mittels einer Xenonlampe, deren Spektrum durch ein Gitter auf einen Bereich von 10.8 nm um 532 nm (im Fall der PDIs) bzw. um 467 nm (im Fall des molekularen Rotors) begrenzt wurde. Die Abtastrate betrug bei sämtlichen Messungen 1 nm/s. Die Detektion erfolgte durch einen Photomultiplier.



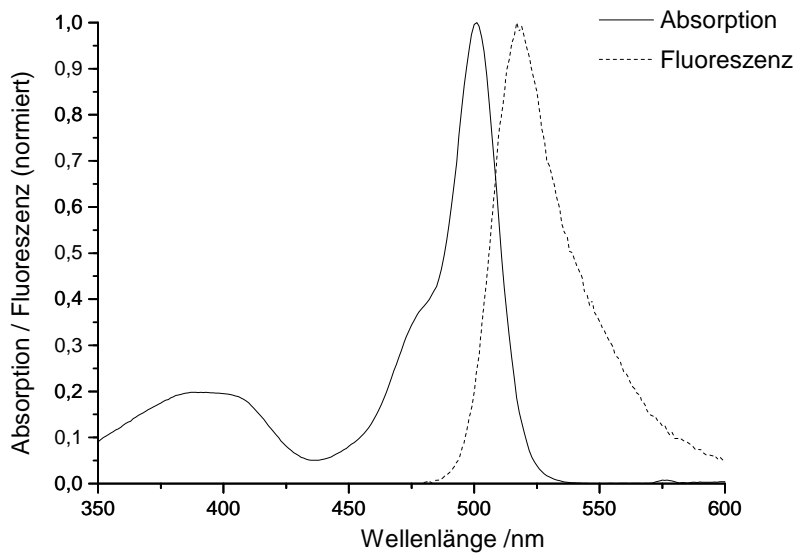
## A. Anhang Spektren



**Abbildung A.1:** Absorptions- und Fluoreszenzspektren der verwendeten Farbstoffe PDI G0 sowie PDI G3



**Abbildung A.2:** Absorptions- und Fluoreszenzspektren der verwendeten makromolekularen Farbstoffe PDI-PMMA 13k sowie PDI-PMMA 150k



**Abbildung A.3:** Absorptions- und Fluoreszenzspektrum des Bodirot-Farbstoffs

## B. Abkürzungen, Einheiten und physikalische Größen

<b>APD</b>	Lawinen-Photodiode (engl.: avalanche photodiode)
<b>ATRP</b>	Atom-transfer radical polymerization
<b>BPP</b>	1,3-bis-(1-pyrenyl)propane
<b>c</b>	Konzentration (engl.: concentration)
<b>CFD</b>	Konstantanteildiskriminator (engl.: constant fraction discriminator)
<b>DMA</b>	Dodecylmethacrylat
<b>DSC</b>	dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry)
<b>EMCCD</b>	Elektronenvervielfachungs-CCD (engl.: electron multiplying charge-coupled device)
<b>ESR</b>	Elektronenspinresonanz
<b>FCS</b>	Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (engl.: Fluorescence Correlation Spectroscopy)
<b>FG-NMR</b>	field-gradient NMR
<b>FLIM</b>	Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie (engl.: fluorescence lifetime imaging microscopy)
<b>FRAP</b>	Fluoreszenzerholung nach Photobleichen (engl.: fluorescence recovery after photobleaching)
<b>FRET</b>	Förster-Resonanzenergietransfer

<b>FRS</b>	erzwungene Rayleigh-Streuung (engl.: forced rayleigh scattering)
<b>FTIR</b>	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie
<b>GPC</b>	Gelpermeationschromatographie
<b>HOMO</b>	(engl.: highest occupied molecular orbital)
<b>IC</b>	Interne Konversion
$k_b$	Boltzmann-Konstante
$k_p$	Geschwindigkeitskonstante des Kettenwachstums (propagation)
$k_t$	Geschwindigkeitskonstante der Terminierung
<b>LUMO</b>	(engl.: lowest unoccupied molecular orbital)
$M_{n,krit}$	für die Knäulung von Makromolekülen kritisches Molekulargewicht
<b>M</b>	Molekulargewicht
<b>MMA</b>	Methylmethacrylat
<b>N</b>	Newton
<b>NA</b>	numerische Apertur
<b>NMR</b>	Kernresonanzspektroskopie (engl.: nuclear magnetic resonance spectroscopy)
<b>PLP-SEC</b>	pulsed laser polymerization-size-exclusion chromatography
<b>PMMA</b>	Polymethylmethacrylat
<b>PTFE</b>	Teflon (Polytetrafluorethylen)
<b>px</b>	Pixel
<b>RAFT</b>	Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer
<b>STED</b>	stimulierte Emissionslöschung (engl.: stimulated emission depletion)
$t_R$	Referenzzeitpunkt

---

<b>TAC</b>	Zeit-zu-Amplitude-Konverter (engl.: time to amplitude converter)
<b>TCSPC</b>	zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen (engl.: time correlated single photon counting)
<b>TGA</b>	Thermogravimetrische Analyse
<b>V</b>	Volt
<b>WFM</b>	Weitfeldfluoreszenzmikroskopie



# Literaturverzeichnis

- [1] R. Holyst, A. Bielejewska, J. Szymanski, A. Wilk, A. Patkowski, J. Gapinski, A. Zywocinski, T. Kalwarczyk, E. Kalwarczyk, M. Tabaka, N. Ziebach, S. A. Wieczorek, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2009**, *11*(40), 9025–9032.
- [2] A. North, *The kinetics of free radical polymerization*, Pergamon Press, **1966**.
- [3] V. E. Trommsdorff, H. Köhle, P. Lagally, *Die Makromolekulare Chemie* **1948**, *1*(3), 169–198.
- [4] O. F. Olaj, I. Bitai, F. Hinkelmann, *Die Makromolekulare Chemie* **1987**, *188*(7), 1689–1702.
- [5] M. Buback, R. G. Gilbert, R. A. Hutchinson, B. Klumperman, F.-D. Kuchta, B. G. Manders, K. F. O’Driscoll, G. T. Russell, J. Schweer, *Macromolecular Chemistry and Physics* **1995**, *196*(10), 3267–3280.
- [6] S. Beuermann, M. Buback, T. P. Davis, R. G. Gilbert, R. A. Hutchinson, O. F. Olaj, G. T. Russell, J. Schweer, A. M. van Herk, *Macromolecular Chemistry and Physics* **1997**, *198*(5), 1545–1560.
- [7] S. Beuermann, M. Buback, T. P. Davis, R. G. Gilbert, R. A. Hutchinson, A. Kajiwara, B. Klumperman, G. T. Russell, *Macromolecular Chemistry and Physics* **2000**, *201*(12), 1355–1364.
- [8] S. Beuermann, M. Buback, T. P. Davis, N. García, R. G. Gilbert, R. A. Hutchinson, A. Kajiwara, M. Kamachi, I. Lacík, G. T. Russell, *Macromolecular Chemistry and Physics* **2003**, *204*(10), 1338–1350.
- [9] C. Barner-Kowollik, M. Buback, M. Egorov, T. Fukuda, A. Goto, O. F. Olaj, G. T. Russell, P. Vana, B. Yamada, P. B. Zetterlund, *Progress in Polymer Science* **2005**, *30*(6), 605–643.

- [10] M. Buback, M. Egorov, T. Junkers, E. Panchenko, *Macromolecular Rapid Communications* **2004**, *25*(10), 1004–1009.
- [11] Y. Nakamura, S. Yamago, *Macromolecules* **2015**, *48*(18), 6450–6456.
- [12] V. G. V. Schulz, G. Harborth, *Die Makromolekulare Chemie* **1947**, *1*(1), 106–139.
- [13] H. Staudinger, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1920**, *53*(6), 1073–1085.
- [14] W. Y. Chiu, G. M. Carratt, D. S. Soong, *Macromolecules* **1983**, *16*(3), 348–57.
- [15] B. Stempfle, M. Dill, M. J. Winterhalder, K. Müllen, D. Wöll, *Polymer Chemistry* **2012**, *3*(9), 2456–2463.
- [16] T. J. Tulig, M. Tirrell, *Macromolecules* **1981**, *14*(5), 1501–11.
- [17] J. D. Ferry, *Viscoelastic properties of polymers*, 2. Aufl., Wiley, New York [u.a.], **1970**.
- [18] W. W. Graessley, *The entanglement concept in polymer rheology*, Advances in polymer science, Springer, Berlin [u.a.], **1974**.
- [19] D. T. Turner, *Macromolecules* **1977**, *10*(2), 221–226.
- [20] H. B. Lee, D. T. Turner, *Macromolecules* **1977**, *10*(2), 226–231.
- [21] H. B. Lee, D. T. Turner, *Macromolecules* **1977**, *10*(2), 231–235.
- [22] K. A. High, H. B. Lee, D. T. Turner, *Macromolecules* **1979**, *12*(2), 332–337.
- [23] D. L. Kurdikar, N. A. Peppas, *Macromolecules* **1994**, *27*(3), 733–738.
- [24] A. Faldi, M. Tirrell, T. P. Lodge, E. von Meerwall, *Macromolecules* **1994**, *27*(15), 4184–4192.
- [25] G. Kanig, H. Bauer, H. G. Kilian, H. G. Zachmann, R. Hosemann, *Colloid and Polymer Science* **1982**, *260*(4), 356–377.
- [26] H. W. Spiess, *Macromolecules* **2010**, *43*(13), 5479–5491.

- [27] V. Helms, *Principles of Computational Cell Biology*, Wiley, **2008**.
- [28] J. Franck, E. G. Dymond, *Transactions of the Faraday Society* **1926**, *21*, 536–542.
- [29] E. Condon, *Physical Review* **1926**, *28*(6), 1182–1201.
- [30] E. Condon, *Physical Review* **1928**, *32*(6), 858–872.
- [31] M. Born, R. Oppenheimer, *Annalen der Physik* **1927**, *389*(20), 457–484.
- [32] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3. Aufl., Springer, New York, **2006**.
- [33] S. J. Strickler, R. A. Berg, *The Journal of Chemical Physics* **1962**, *37*(4), 814–822.
- [34] J. R. Lakowicz, H. Szmazinski, K. Nowaczyk, K. W. Berndt, M. Johnson, *Analytical Biochemistry* **1992**, *202*(2), 316–330.
- [35] P. I. H. Bastiaens, A. Squire, *Trends in Cell Biology* **1999**, *9*(2), 48–52.
- [36] PerkinElmer Optoelectronics GmbH, Berlin, *Single Photon Counting Module SPCM-AQR Series Datasheet*.
- [37] PicoQuant GmbH, Berlin, *HydraHarp 400 User's Manual and Technical Data V1.1*.
- [38] B. Romeis, *Mikroskopische Technik*, Bd. 18, Springer, **2010**.
- [39] D. Wöll, C. Kölbl, B. Stempfle, A. Karrenbauer, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15*(17), 6196–6205.
- [40] C. Papadakis, P. Košovan, W. Richtering, D. Wöll, *Colloid and Polymer Science* **2014**, *292*(10), 2399–2411.
- [41] A. Karrenbauer, D. Wöll, *Blinking Molecule Tracking*, Springer Berlin Heidelberg, Bd. 7933 von *Lecture Notes in Computer Science*, Kap. 28, **2013**, 308–319.
- [42] W. E. Moerner, *Science* **1997**, *277*(5329), 1059–1060.

- [43] D. Montiel, H. Cang, H. Yang, *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*(40), 19763–19770.
- [44] B. Shuang, C. P. Byers, L. Kisley, L.-Y. Wang, J. Zhao, H. Morimura, S. Link, C. F. Landes, *Langmuir* **2013**, *29*(1), 228–234.
- [45] E. Abbe, O. Lummer, *Die Lehre von der Bildentstehung im Mikroskop*, Vieweg, Braunschweig, **1910**.
- [46] T. J. Arbour, J. Enderlein, *Lab on a Chip* **2010**, *10*(10), 1286–1292.
- [47] A. Masuda, K. Ushida, T. Okamoto, *Physical Review E* **2005**, *72*(6), 060101.
- [48] C. Cremer, *Physik in unserer Zeit* **2011**, *42*(1), 21–29.
- [49] M. J. Nasse, J. C. Woehl, *Journal of the Optical Society of America A* **2010**, *27*(2), 295–302.
- [50] G. C. Cox, *Optical imaging techniques in cell biology*, 2. rev. Aufl., CRC Press, Boca Raton u.a., **2012**.
- [51] G. Cox, C. J. Sheppard, *Microsc Res Tech* **2004**, *63*(1), 18–22.
- [52] M. Müller, *Introduction to confocal fluorescence microscopy*, 2. Aufl., Spie press, Bellingham, Wash., **2006**.
- [53] R. H. Webb, *Reports on Progress in Physics* **1996**, *59*(3), 427.
- [54] D. Magde, E. Elson, W. W. Webb, *Physical Review Letters* **1972**, *29*(11), 705–708.
- [55] R. Rigler, E. Elson, *Fluorescence correlation spectroscopy : theory and applications*, Springer series in chemical physics, Springer, Berlin, **2001**.
- [56] P. Schwille, *Cell Biochem Biophys* **2001**, *34*(3), 383–408.
- [57] S. A. Kim, K. G. Heinze, P. Schwille, *Nat Methods* **2007**, *4*(11), 963–73.
- [58] P. Dittrich, F. Malvezzi-Campeggi, M. Jahnz, P. Schwille, *Biol Chem* **2001**, *382*(3), 491–4.

- 
- [59] N. Baudendistel, G. Müller, W. Waldeck, P. Angel, J. Langowski, *Chem Phys Chem* **2005**, *6*(5), 984–990.
- [60] J. Borejdo, *Biopolymers* **1979**, *18*(11), 2807–2820.
- [61] P. Schwille, F. J. Meyer-Almes, R. Rigler, *Biophys J* **1997**, *72*(4), 1878–86.
- [62] D. Lumma, S. Keller, T. Vilgis, J. O. Rädler, *Physical Review Letters* **2003**, *90*(21), 218301.
- [63] M. L. Barcellona, S. Gammon, T. Hazlett, M. A. Digman, E. Gratton, *Microscopy Research and Technique* **2004**, *65*(4-5), 205–217.
- [64] S. T. Hess, S. Huang, A. A. Heikal, W. W. Webb, *Biochemistry* **2002**, *41*(3), 697–705.
- [65] M. Dorfschmid, K. Müllen, A. Zumbusch, D. Wöll, *Macromolecules* **2010**, *43*(14), 6174–6179.
- [66] A. Best, T. Pakula, G. Fytas, *Macromolecules* **2005**, *38*(10), 4539–4541.
- [67] A. Michelman-Ribeiro, H. Boukari, R. Nossal, F. Horkay, *Macromolecules* **2004**, *37*(26), 10212–10214.
- [68] D. Wöll, *RSC Advances* **2014**, *4*(5), 2447–2465.
- [69] T. Cherdhirankorn, V. Harmandaris, A. Juhari, P. Voudouris, G. Fytas, K. Kremer, K. Koynov, *Macromolecules* **2009**, *42*(13), 4858–4866.
- [70] G. Modesti, B. Zimmermann, M. Börsch, A. Herrmann, K. Saalwächter, *Macromolecules* **2009**, *42*(13), 4681–4689.
- [71] H. Zettl, W. Häfner, A. Böker, H. Schmalz, M. Lanzendörfer, A. H. E. Müller, G. Krausch, *Macromolecules* **2004**, *37*(5), 1917–1920.
- [72] M. Ehrenberg, R. Rigler, *Q Rev Biophys* **1976**, *9*(1), 69–81.
- [73] J. Widengren, U. Mets, R. Rigler, *The Journal of Physical Chemistry* **1995**, *99*(36), 13368–13379.
- [74] J. Widengren, R. Rigler, U. Mets, *J Fluoresc* **1994**, *4*(3), 255–8.

- [75] J. Widengren, P. Schwille, *The Journal of Physical Chemistry A* **2000**, *104*(27), 6416–6428.
- [76] J. W. Stansbury, S. H. Dickens, *Dental Materials* **2001**, *17*(1), 71–79.
- [77] B. Chu, G. Fytas, G. Zalczer, *Macromolecules* **1981**, *14*(2), 395–397.
- [78] B. M. I. Flier, M. Baier, J. Huber, K. Müllen, S. Mecking, A. Zumbusch, D. Wöll, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*(5), 1770–1775.
- [79] H. Lesch, „Das Langweiligste Experiment der Welt“ aus der Reihe: Frag den Lesch, ZDFneo,  
<http://www.zdf.de/ZDFmediathek/#/beitrag/video/1470324/Das-langweiligste-Experiment-der-Welt>, **2011**, abgerufen am 14.09.2014.
- [80] R. U. Schneider, *Das Langweiligste Experiment der Welt*, NZZ Folio, 8, **2008**.
- [81] W.-M. Kulicke, C. Clasen, *Viscosimetry of polymers and polyelectrolytes with 20 tables*, Springer laboratory, Springer, Berlin, **2004**.
- [82] J. B. Birks, *Photophysics of aromatic molecules*, Wiley monographs in chemical physics, Wiley, London, **1970**.
- [83] C. Bhanot, S. Trivedi, A. Gupta, S. Pandey, S. Pandey, *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2012**, *45*(1), 137–144.
- [84] M. A. H. Alamiry, A. C. Benniston, G. Copley, K. J. Elliott, A. Harriman, *Chem. Mater.* **2008**, *20*(12), 4024–4032.
- [85] G. Hungerford, A. Allison, D. McLoskey, M. K. Kuimova, G. Yahioglu, K. Suhling, *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113*(35), 12067–12074.
- [86] R. A. L. Vallée, M. Baruah, J. Hofkens, F. C. De Schryver, N. Boens, M. Van der Auweraer, D. Beljonne, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*(18), 184902.
- [87] A. Fick, *Annalen der Physik* **1855**, *170*(1), 59–86.
- [88] A. Einstein, *Annalen der Physik* **1905**, *322*(8), 549–560.

- 
- [89] V. Tejedor, O. Bénichou, R. Voituriez, R. Jungmann, F. Simmel, C. Selhuber-Unkel, L. B. Oddershede, R. Metzler, *Biophysical Journal* **2010**, *98*(7), 1364–1372.
- [90] C. Anderson, G. Georgiou, I. Morrison, G. Stevenson, R. Cherry, *Journal of Cell Science* **1992**, *101*(2), 415–425.
- [91] P. G. De Gennes, *Macromolecules* **1976**, *9*(4), 594–598.
- [92] G. D. J. Phillies, *The Journal of Physical Chemistry* **1992**, *96*(24), 10061–10066.
- [93] G. D. J. Phillies, *Macromolecules* **1986**, *19*(9), 2367–2376.
- [94] G. D. J. Phillies, P. Peczak, *Macromolecules* **1988**, *21*(1), 214–220.
- [95] Q. Ying, B. Chu, *Macromolecules* **1987**, *20*(2), 362–366.
- [96] G. D. J. Phillies, C. A. Quinlan, *Macromolecules* **1995**, *28*(1), 160–4.
- [97] R. H. Colby, L. J. Fetters, W. G. Funk, W. W. Graessley, *Macromolecules* **1991**, *24*(13), 3873–3882.
- [98] T.-H. Lin, G. D. J. Phillies, *Journal of Colloid and Interface Science* **1984**, *100*(1), 82–95.
- [99] N. Nemoto, T. Kojima, T. Inoue, M. Kishine, T. Hirayama, M. Kurata, *Macromolecules* **1989**, *22*(9), 3793–3798.
- [100] N. Nemoto, M. Kishine, T. Inoue, K. Osaki, *Macromolecules* **1991**, *24*(7), 1648–1654.
- [101] T. Weil, T. Vosch, J. Hofkens, K. Peneva, K. Müllen, *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*(48), 9068–9093.
- [102] M. Wehmeier, M. Wagner, K. Müllen, *Chemistry* **2001**, *7*(10), 2197–2205.
- [103] K. Peneva, G. Mihov, F. Nolde, S. Rocha, J.-I. Hotta, K. Braeckmans, J. Hofkens, H. Uji-i, A. Herrmann, K. Müllen, *Angewandte Chemie* **2008**, *120*(18), 3420–3423.

- [104] C. Jung, B. K. Müller, D. C. Lamb, F. Nolde, K. Müllen, C. Bräuchle, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*(15), 5283–5291.
- [105] E. Fron, G. Schweitzer, P. Osswald, F. Wurthner, P. Marsal, D. Beljonne, K. Müllen, F. C. De Schryver, M. Van der Auweraer, *Photochemical & Photobiological Sciences* **2008**, *7*(12), 1509–1521.
- [106] Y. Avlasevich, C. Li, K. Müllen, *Journal of Materials Chemistry* **2010**, *20*(19), 3814–3826.
- [107] N. G. Pschirer, C. Kohl, F. Nolde, J. Qu, K. Müllen, *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*(9), 1401–1404.
- [108] G. Zhao, S. B. Chen, *Journal of Colloid and Interface Science* **2008**, *322*(2), 678–680.
- [109] D. Dziuba, P. Jurkiewicz, M. Cebecauer, M. Hof, M. Hocek, *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55*(1), 147–178.
- [110] H. L. Kee, C. Kirmaier, L. Yu, P. Thamyongkit, W. J. Youngblood, M. E. Calder, L. Ramos, B. C. Noll, D. F. Bocian, W. R. Scheidt, R. R. Birge, J. S. Lindsey, D. Holten, *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109*(43), 20433–20443.
- [111] B. Tieke, *Makromolekulare Chemie eine Einführung*, 2., vollst. überarb. und erw. Aufl., Aufl., WILEY-VCH, Weinheim, **2005**.
- [112] M. D. Lechner, K. Gehrke, E. Nordmeier, B. J. Schmitt, *Makromolekulare Chemie ein Lehrbuch für Chemiker, Physiker, Materialwissenschaftler und Verfahrenstechniker*, 5. Aufl., Aufl., Lehrbuch, Springer Spektrum, Berlin [u.a.], **2014**.
- [113] H.-G. Elias, *An introduction to polymer science*, 1. Aufl., VCH, Weinheim [u.a.], **1997**.
- [114] M. P. Stevens, *Polymer chemistry an introduction*, 3. Aufl., Oxford Univ. Pr., Oxford, **1998**.
- [115] G. T. Russell, R. G. Gilbert, D. H. Napper, *Macromolecules* **1992**, *25*(9), 2459–2469.

- 
- [116] G. T. Russell, R. G. Gilbert, D. H. Napper, *Macromolecules* **1993**, *26*(14), 3538–3552.
- [117] A. Faldi, M. Tirrell, T. P. Lodge, *Macromolecules* **1994**, *27*(15), 4176–4183.
- [118] N. V. Sastry, S. R. Patel, *International Journal of Thermophysics* **2000**, *21*(5), 1153–1174.
- [119] H. U. ter Meer, W. Burchard, W. Wunderlich, *Colloid and Polymer Science* **1980**, *258*(6), 675–684.
- [120] G. D. J. Phillies, *Journal of Physical Chemistry* **1989**, *93*(13), 5029–5039.
- [121] F. Ikkai, M. Shibayama, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*(24), 4946–4949.
- [122] G. D. J. Phillies, *Los Alamos Natl. Lab., Prepr. Arch., Condens. Matter* **2004**, 1–53.
- [123] R. P. Wool, *Macromolecules* **1993**, *26*(7), 1564–1569.
- [124] J.-L. Viovy, T. Duke, *Electrophoresis* **1993**, *14*(1), 322–329.
- [125] R. Wool, *Polymer Interfaces: Structure and Strength*, Hanser Publishers, **1995**.
- [126] S. Zhu, Y. Tian, A. E. Hamielec, D. R. Eaton, *Macromolecules* **1990**, *23*(4), 1144–1150.
- [127] J. M. Nölle, C. Jüngst, A. Zumbusch, D. Wöll, *Polymer Chemistry* **2014**, *5*(8), 2700–2703.
- [128] C. A. Angell, *Science* **1995**, *267*(5206), 1924–1935.
- [129] J. A. Levitt, M. K. Kuimova, G. Yahioğlu, P.-H. Chung, K. Suhling, D. Phillips, *The Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113*(27), 11634–11642.
- [130] E.-J. Donth, *The glass transition: relaxation dynamics in liquids and disordered materials*, Bd. 48, Springer Science & Business Media, **2001**.