

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades am Fachbereich

Chemie der Universität Hamburg

Synthese und Charakterisierung sowie Biofunktionalisierung von III-V-Halbleiter-Nanopartikeln

vorgelegt von

Andjana Panicker

Hamburg, Oktober 2011

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Physikalische Chemie der Universität Hamburg in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Horst Weller angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Weller

2. Gutachter: Prof. Dr. J.A.C. Broekaert

Disputation: 25.11.2011

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|--|
| Abb. | Abbildung |
| AF4 | Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung |
| AO | Atomorbital |
| a. u. | arbitrary unit (willkürliche Einheit) |
| bidest. | bidestilliert |
| BSA | Rinderserumalbumin (<i>bovine serum albumin</i>) |
| bzw. | beziehungsweise |
| CDI | Carbodiimidazol |
| DHLA | Dihydroliponsäure |
| DLS | Dynamische Lichtstreuung |
| DMEM | Dulbecco's Modified Eagle's Medium |
| D-PBS | Dulbecco's Phosphate Buffered Saline |
| EDC | 1-Ethyl(dimethylaminopropyl)carbodiimid |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| EDX | Energiedispersive Röntgenspektroskopie (<i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i>) |
| E_g | Energiebandlücke |
| FCS | Fetales Kälberserum (<i>foetal calf serum</i>) |
| FWHM | <i>full width at half maximum</i> (Halbwertsbreite) |
| h | Stunden |
| HDA | Hexadecylamin |
| HEPES | 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)ethansulfonsäure |
| HOMO | <i>highest occupied molecule orbital</i> (höchstes, besetztes Molekülorbital) |
| HPLC | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie |
| LB | Leitungsband |
| LCAO | Linearkombination von Atomorbitalen (<i>linear combination of atomic orbitals</i>) |
| LCST | Untere kritische Lösungstemperatur (<i>lowest critical solution temperature</i>) |
| LDH | Lactatdehydrogenase |

| | |
|---------|--|
| LUMO | <i>lowest unoccupied molecule orbital</i> (niedrigstes unbesetztes Molekülorbital) |
| MEA·HCl | 2-Mercaptoethylaminhydrochlorid |
| MES | 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure |
| min. | Minuten |
| MO | Molekülorbital |
| MOPS | 3-N-(Morpholino)propansulfonsäure |
| MPA | 3-Mercaptopropionsäure |
| MUA | 11-Mercaptoundecansäure |
| PBS | Phosphatgepufferte Salzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>) |
| PEG | Polyethylenglycol |
| PEO | Polyethylenoxid |
| PEI | Polyethylenimin |
| PI | Polyisopren |
| PL | Photolumineszenz |
| PMAO | Poly(maleinsäureanhydrid-alt-1-octadecen) |
| PSMA | Poly(styren-co-maleinsäureanhydrid) |
| QD | <i>Quantum Dot</i> |
| QY (QA) | <i>Quantum Yield</i> (Quantenausbeute) |
| Tab. | Tabelle |
| SDS | Natriumdodecylsulfat (<i>sodium dodecyl sulfate</i>) |
| TDPA | n-Tetradecylphosphonsäure |
| TEM | Transmissionselektronenmikroskop |
| TOP | Tri-n-Octylphosphin |
| TOPO | Tri-n-Octylphosphinoxid |
| TRIS | Tris(hydroxymethyl)aminomethan |
| UV | ultraviolett |
| VB | Valenzband |
| XRD | Röntgendiffraktometrie |
| z. B. | zum Beispiel |

Inhalt

| | | |
|--------|--|----|
| 1 | Einleitung | 6 |
| 2 | Zielsetzung | 9 |
| 3 | Theoretische Grundlagen | 11 |
| 3.1 | Halbleiter-Nanopartikel | 11 |
| 3.2 | Verhältnis von Oberflächenatomen zu Atomen im Inneren der Nanokristalle..... | 11 |
| 3.3 | Einfluss der relativen Lage von Valenz- zu Leitungsband | 12 |
| 3.4 | Linearkombination von Atomorbitalen (LCAO)..... | 13 |
| 3.5 | Direkte und indirekte Halbleiter | 15 |
| 3.6 | Das Teilchen im Kasten | 16 |
| 3.7 | Optische Eigenschaften von Halbleiter-Nanokristallen | 19 |
| 3.7.1 | Oberflächenfehlstellen | 22 |
| 3.7.2 | Bestimmung von Quantenausbeuten..... | 23 |
| 3.7.3 | Fluoreszenzlebensdauer | 24 |
| 3.8 | Wachstum der sich bildenden Nanokristalle | 25 |
| 3.9 | Kinetischer Einfluss auf die Größenverteilung | 28 |
| 3.10 | Ostwald-Reifung | 29 |
| 3.11 | Einfluss von Stabilisatoren auf die Nanokristalle | 30 |
| 3.11.1 | Größenselektive Fällung | 32 |
| 3.12 | Typ-I- und -II-Kern-Schale-Systeme | 32 |
| 3.12.1 | Einfluss der relativen Lage der Bandlücken | 33 |
| 3.12.2 | Kristallographische Faktoren | 35 |
| 3.13 | Ligandenaustausch und Biofunktionalisierung..... | 37 |
| 3.13.1 | Wechselwirkung mit Biomolekülen | 38 |
| 3.13.2 | Anforderung an nanopartikuläre Kontrastmittel | 39 |
| 3.14 | Toxizität von Nanokristallen..... | 40 |
| 3.15 | Hintergrund der Synthese von III-V-Halbleiter-Nanopartikeln | 41 |
| 4 | Ergebnisse und Diskussion | 46 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 4.1 | Synthese und Charakterisierung von InP/ZnS-Nanopartikeln | 46 |
| 4.2 | Synthese und Charakterisierung PEO _n (SH) ₃ OH-Liganden..... | 54 |
| 4.2.1 | Modifizierung der terminalen funktionellen Gruppe von PEO _n (SH) ₃ X | 56 |
| 4.3 | Ligandenaustausch mit PEO _n (SH) ₃ X | 58 |
| 4.3.1 | Ligandenaustausch und Transfer der Partikel ins wässrige Medium..... | 60 |
| 4.3.2 | Verhältnis von InP/ZnS-Quantenpunkten zu Ligand | 61 |
| 4.3.3 | Charakterisierung der InP/ZnS(PEO _n (SH) ₃ X)-Quantenpunkte | 63 |
| 4.3.4 | Stabilitätstests in unterschiedlichen Pufferlösungen..... | 67 |
| 4.3.5 | pH-Wert-abhängige Stabilität von InP/ZnS(PEO _n (SH) ₃ X)..... | 72 |
| 4.3.6 | Verdünnungsreihen von InP/ZnS(PEO _n (SH) ₃ X) in Wasser..... | 75 |
| 4.3.7 | Untersuchung der Photostabilität von InP/ZnS(PEO _n (SH) ₃ X) | 78 |
| 4.3.8 | Analytische und präparative Trennmethode | 80 |
| 4.3.9 | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)..... | 80 |
| 4.3.10 | Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4) | 82 |
| 4.3.11 | Wechselwirkung von InP/ZnS(PEO _n (SH) ₃ X) mit lebenden Zellen..... | 85 |
| 4.4 | Verkapselung von InP/ZnS durch Saat-Emulsionspolymerisation..... | 94 |
| 4.5 | Verkapselung von InP/ZnS durch Self-Assembly mit Triblock-Copolymeren..... | 97 |
| 4.6 | Mizelluläre Verkapselung von In/ZnS-Partikeln mit Diblock-Copolymeren..... | 101 |
| 5 | Charakterisierung | 104 |
| 5.1 | Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) | 104 |
| 5.2 | Energiedisperse Röntgenanalytik (EDX/Energy-Disperse X-ray)..... | 106 |
| 5.2.1 | Röntgendiffraktometrie (XRD)..... | 106 |
| 5.3 | Absorptionsspektroskopie | 108 |
| 5.4 | Emissionsspektroskopie | 109 |
| 5.5 | Dynamische Lichtstreuung..... | 109 |
| 5.6 | Thermogravimetrie | 110 |
| 5.7 | Kernresonanz-Spektroskopie (NMR)..... | 111 |
| 6 | Experimenteller Teil..... | 112 |
| 6.1 | Chemikalien..... | 112 |
| 6.2 | Darstellung von InP | 112 |
| 6.3 | Herstellung von InP/ZnS | 113 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 6.4 | Synthese thiolethylfunktionalisierter Polyethylenoxide mittels Michael-Typ-Reaktion | 113 |
| 6.4.1 | Synthese thiolethylfunktionalisierter Liganden mit kurzen Polyethylenoxiden | 113 |
| 6.4.2 | Darstellung längerer dreizähliger thiolethylfunktionalisierter Polyethylenoxidliganden . | 114 |
| 6.4.3 | Aktivierung der Liganden | 115 |
| 6.4.4 | Veresterung der endständigen Hydroxylgruppe mit Bernsteinsäureanhydrid..... | 115 |
| 6.5 | Ligandenaustausch | 117 |
| 6.5.1 | Puffertests..... | 117 |
| 6.5.2 | Durchführung der pH-Wert-abhängigen Stabilität von InP/ZnS(PEO _n (SH) ₃ X) | 119 |
| 6.5.3 | Durchführung der Verdünnungsreihen | 119 |
| 6.5.4 | Probenvorbereitung für die Untersuchung der Photostabilität..... | 120 |
| 6.5.5 | Toxizitätstest mit Hilfe des WST-8 Assay..... | 120 |
| 6.5.6 | Durchführung des Toxizitätstests mit dem Lactatdehydrogenase (LDH) Assay | 121 |
| 6.5.7 | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)..... | 121 |
| 6.5.8 | Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4) | 121 |
| 6.5.9 | Verkapselung mit dem Triblockligand DPA 3..... | 121 |
| 7 | Zusammenfassung..... | 123 |
| 8 | Summary | 126 |
| 9 | Anhang | 128 |
| 9.1 | Verwendete Chemikalien..... | 128 |
| 9.2 | Auflistung der KMR-Substanzen (KAT. I und KAT II) | 130 |
| 9.2.1 | Gefahrensymbole | 130 |
| 9.2.2 | Liste der Risikosätze (R-Sätze)..... | 130 |
| 9.2.3 | Kombinierte Risikosätze | 133 |
| 9.2.4 | Liste der Sicherheitsratschläge (S-Sätze)..... | 136 |
| 9.2.5 | Kombinierte S-Sätze | 138 |
| 10 | Danksagungen..... | 141 |
| 11 | Literaturverzeichnis | 143 |

1 Einleitung

Einige der vielversprechendsten Anwendungen von kolloidalen und löslichen Halbleiter-Nanokristallen wird in der Nutzbarkeit als Emitter für biomedizinische Markierung, LEDs oder in Lasern gesehen. Auf diesem Gebiet fanden in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Entwicklungen statt. Bislang diente für die Erforschung grundlegender Prinzipien von Halbleiter-Nanokristallen als Testsystem CdSe ein sogenanntes *workhorse*. Es wird erwartet, dass innerhalb der III-V-Halbleiter InP die einzige Verbindung darstellt, die das Emissionsfarbspektrum von CdSe abzudecken vermag, mit dem entscheidenden Unterschied, dass diese Verbindung keine intrinsische Toxizität in sich birgt. Es enthält weder Elemente der Klasse A (Cd oder Hg) noch Elemente der Klasse B (As oder Se). Eine weitere Schwierigkeit tritt im Falle der CdSe-haltigen Partikel auf, da bei diesen Partikeln immer Cd^{2+} - und Se^{2-} -Ionen von der Oberfläche desorbieren und in das umgebende Lösungsmittel hinein diffundieren. Für *in vivo*-Untersuchungen kann dies bedeuten, dass diese Ionen das Zellgewebe penetrieren können. Dieser Prozess lässt sich durch verschiedene Modifikationen der Partikeloberfläche vermindern, jedoch nicht vollständig inhibieren. Bereits Spuren dieser Verbindungen können bei *in vivo*-Untersuchungen toxisch wirken^[1-3].

Einige Elemente der III-V-Halbleiter, wie z. B. InAs, bieten einen weiteren Vorteil, da sie Zugang zu Partikeln liefern, die innerhalb des optischen Fensters (750 - 900 nm) emittieren^[4-15]. Synthetische Einschränkungen haben bisher die Darstellung von Halbleiter-Nanokristallen mit den Elementen der III-V-Gruppen erschwert. Bislang lässt sich der Partikeldurchmesser bei den Synthesen nur sehr schwer steuern, die Stabilität ist geringer als bei analogen II-VI-Halbleiter-Verbindungen, und die Fluoreszenzquantenausbeuten fallen deutlich geringer aus^[11]. Dennoch wird der Synthese von III-V-Systemen, wie z. B. InP, seit mehr als zwei Jahrzehnten, große Aufmerksamkeit gewidmet, da von diesen Systemen aufgrund der hohen kovalenten Bindungsanteile ein anderes chemisches und physikalisches Verhalten erwartet wird, als von den eher ionischen Verbindungen. So ergeben sich, um ein Beispiel herauszugreifen, Unterschiede in der Größe des Exzitondurchmessers, welcher beispielsweise beim InP bei 150 Å liegt und beim

CdSe im Vergleich dazu nur 70 Å beträgt ^[16]. Des Weiteren verfügt InP über eine relativ kleine Bandlücke, diese beträgt 1.35 eV, und einen hohen Exzitonenradius von 11 nm. Dieser ist dafür verantwortlich, dass sich der Emissionsbereich der Partikel im Prinzip vom IR-Bereich bis in den blauen Wellenlängenbereich hinein variieren lässt ^[17]. Ein reges Interesse besteht an diesem Verbindungstyp auch aufgrund der Tatsache, dass es sich bei allen III-V-Halbleitern, im Gegensatz zu den siliziumhaltigen Verbindungen, um direkte Halbleiter handelt, weshalb diese Materialien vorzugsweise für optoelektronische Anwendungen genutzt werden ^[10, 16, 18]. Eine weitere interessante Eigenschaft besteht darin, dass sich in Abhängigkeit von der Temperatur die Größe der Bandlücke stark ändert, d. h. somit verändert sich auch die Farbe des emittierenden Lichtes. Bei Temperaturen zwischen 300 K und 500 K variiert die Bandlücke für einen InP/ZnS-Quantenpunkt mit einem Durchmesser von 2.3 nm beispielsweise zwischen 2.2 eV und 2.1 eV. Die Temperaturabhängigkeit der Bandlücke der InP/ZnS-Partikel bietet weitere erstklassige Anwendungsmöglichkeiten. Um ein Beispiel zu nennen, ließen sich die Quantenpunkte als Farbindikatoren einsetzen, indem sie durch den Farbwechsel die Temperatur von Oberflächen geeigneter Materialien anzeigen ^[19].

Einer der interessantesten Bereiche innerhalb der Nanotechnologie stellt die Verwendung von Nanokristallen für medizinische bzw. biologische *in vivo*- und *in vitro*-Anwendung dar. Bei Halbleiter-Nanokristallen handelt es sich in der Regel um Fluorophore, die gegenüber etablierten organischen Laserfarbstoffen einige Vorteile mit sich bringen. So verfügen diese beispielsweise über bemerkenswert hohe Photostabilitäten, einen breiten Absorptionsquerschnitt in Kombination mit variierbaren Emissionsbanden. Vielversprechende Anwendungsmöglichkeiten werden daher speziell bei optischen diagnostischen Verfahren gesehen ^[20].

Sollen Nanokristalle für biomedizinische Markierungen eingesetzt werden, stellt die Wasserlöslichkeit ein entscheidendes Grundkriterium dar. Diese Bedingung ist direkt nach der Synthese der Quantenpunkte nicht gegeben, da diese im organischen Medium durchgeführt wird und unter Zusatz hydrophober Stabilisatormoleküle erfolgt. Diese Gegebenheit ist Anlass dafür, dass Methoden entwickelt werden müssen, die dazu führen, dass die Quantenpunkte über hydrophile Eigenschaften verfügen ^[20-23].

Im Fall von CdSe/CdS/ZnS hat sich beispielsweise gezeigt, dass zu diesem Zweck der Ligandenaustausch mit funktionalisierten Polyethylenoxid-Liganden erfolgreich ist, da diese zu stabilen wasserlöslichen Partikeln mit hohen Quantenausbeuten führen. Zudem erfüllen die PEO-Liganden die notwendige Grundvoraussetzung, über eine hohe Biokompatibilität zu verfügen. Die Liganden werden als nicht toxisch eingestuft, haben hohe Blutzirkulationszeiten und wirken nicht als Antigene. Erst kürzlich konnte nachgewiesen werden, dass $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden über eine herausragend hohe Stabilität verfügen, die besonders bei unterschiedlichen pH-Werten augenscheinlich wird. Diese ist insbesondere auf die dreifache Koordinationsmöglichkeit des Liganden über die Thiolgruppen an die Oberfläche der Nanokristalle zurückzuführen ^[24-29].

Ein alternatives Verfahren, welches zu wasserlöslichen Nanopartikeln führt, basiert auf der Verwendung amphiphiler Moleküle, wie Tween-, Diblock- oder Triblock-Copolymere. Dabei verbleiben die organischen Liganden an der Oberfläche der Nanokristalle, und es erfolgen hydrophobe anziehende Wechselwirkungen zwischen diesen Stabilisatormolekülen und zwischen dem hydrophoben Teil der amphiphilen Moleküle. Die Dispersion dieser Einheit wird durch den hydrophilen Teil der Polymere vermittelt. Die äußere Sphäre ist in der Regel derart mit funktionellen Gruppen versehen, dass weitere Derivatisierungen ermöglicht werden. Bei dieser Methode ist es möglich, in Abhängigkeit von der Menge der zugesetzten Stabilisatoren eine gezielte Kontrolle darauf auszuüben, ob einzelne oder mehrere Nanokristalle innerhalb einer Einheit eingeschlossen werden. Die Art der Verkapselung birgt das Potential, Nanokristalle mit unterschiedlichen Eigenschaften innerhalb einer Mizelle einzuschließen, sodass eine Einheit beispielsweise über fluoreszierende, als auch über magnetische Eigenschaften verfügen können. Dies kann beispielsweise erhebliche Vorteile in der Diagnostik bieten, da sich auf diese Weise verschiedene Charakterisierungsmöglichkeiten kombinieren lassen ^[20, 27, 30].

2 Zielsetzung

Der Fokus dieser Arbeit wurde darauf gelegt, für die III-V-Halbleiter-Nanokristalle, und hier im Speziellen für InP/ZnS, einen Grundstein für biologische Anwendungen zu legen. Konkret ist hierunter die Löslichkeit der Quantenpunkte in Wasser zu verstehen, da diese die Grundvoraussetzung für derartige Applikationen bildet. Ziel dieser Arbeit war es, zu ermitteln, durch welche Strategien sich die Wasserlöslichkeit im Fall von hydrophoben InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen realisieren lässt. Der Problemstellung sollte sich auf zwei prinzipiell verschiedenen Herangehensweisen genähert werden. Diese waren bereits bei anderen Nanopartikeln zielführend. Beide Arten bringen unterschiedliche Vor- und Nachteile in Hinblick auf potentielle Anwendungen mit sich.

Bevor die Wasserlöslichkeit anhand von InP/ZnS-Quantenpunkten durch entsprechende Modifikationen untersucht werden kann, müssen Synthesen gefunden werden, die zu Partikeln führen, die für die angedachte Anwendung geeignet sind.

Zum einen sollte die Wasserlöslichkeit durch den Ligandenaustausch mit $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden getestet werden, da, wie in der Einleitung beschrieben, bereits im Fall von CdSe-haltigen Nanokristallen Ergebnisse vorliegen, die auf ein hohes Potential des Liganden hindeuten, auch bei InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen anwendbar zu sein. Die zweite Methode basiert auf der Verwendung amphiphiler Moleküle. Diese Variante unterscheidet sich von der ersten im Wesentlichen dadurch, dass kein Austausch zwischen den hydrophoben und hydrophilen Stabilisatoren erfolgt, sondern anziehende Wechselwirkungen dafür sorgen, dass sich die amphiphilen Liganden an die hydrophoben Nanopartikel koordinieren. Als amphiphile Moleküle sollten im Rahmen dieser Arbeit Polysorbate-80, Diblock- und Triblock-Copolymere ihren Einsatz finden.

Im Anschluss an diese Experimente sollten weiterführende Untersuchungen angeknüpft werden, die sich mit den hohen Anforderungen an die Stabilität, die biologische Anwendungen mit sich bringen,

auseinandersetzen. Zu diesem Zweck sollte das hydrophobe System herangezogen werden, welches über die vorteilhafteren Eigenschaften verfügt.

Zu diesem Zweck sollten Stabilitätstests in den gängigsten Medien, die für Zellkultur oder *in vivo*-Untersuchungen von Bedeutung sind, durchgeführt werden. Da sich in physiologischer Umgebung Bereiche mit variierenden pH-Werten vorfinden, sollte die pH-Wert-abhängige Stabilität der Partikel untersucht werden. Einer der zahlreichen Vorteile, die für die Verwendung von Nanopartikeln für optische und diagnostische Zwecke spricht, wird in der hohen Langzeit-Photostabilität der Quantenpunkte gesehen. Um herauszufinden, ob diese Bedingungen auch von InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen erfüllt werden, sollten Versuche, die Auskunft über die kinetische Photostabilität der Partikel erteilen, durchgeführt werden. Da biologische Markierungen Arbeitsschritte mit sich bringen, die zu erheblicher Verdünnung führen können, und außerdem bekannt ist, dass die Bindung von Thiolen an ZnS reversiblen Prozessen unterworfen ist ^[20], ist es erforderlich, herauszufinden, inwiefern sich die eventuell auftretenden Verdünnungen auf die Stabilität der Partikel auswirken. Dies lässt sich am einfachsten über Verdünnungsreihen ermitteln, weshalb auch Versuche hierzu durchgeführt werden sollten. Eine weitere Voraussetzung für die Verwendung chemischer Materialien bei *in vivo*-Anwendung stellt die Abtrennung von Nebenprodukten dar. Daher sollten analytische bzw. präparative Trennmethode, wie die Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4) und die HPLC, im Hinblick auf den Trennerfolg getestet werden. Ein weiteres entscheidendes Kriterium stellt die toxische Wirkung der hydrophoben Kern-Schale-Teilchen auf Zellen dar. Bisher haben sich Methoden wie WST-8- und LDH-Assay bewährt. Daher sollte die konzentrationsabhängige Wirkung von InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X), InP(PEO_n(SH)₃X) und PEO_n(SH)₃X auf die Viabilität und Toxizität von lebenden Zellen über diese beiden Methoden ermittelt werden.

3 Theoretische Grundlagen

3.1 Halbleiter-Nanopartikel

Die Anwendungsmöglichkeiten von Halbleitermaterialien für elektronische und optische Zwecke weiten sich auf zunehmend größere Bereiche aus. Eine herausragende Besonderheit der Nanokristalle besteht darin, dass das Zusammenspiel von chemischen und größenabhängigen Eigenschaften zu einer großen Bandbreite an möglichen Verwendungszwecken führt. Interessant ist dabei, dass auch ohne Änderung der chemischen Bestandteile allein durch Variation der Größe der Nanokristalle die jeweiligen Spezifikationen den technischen Bedürfnissen angepasst werden können.

3.2 Verhältnis von Oberflächenatomen zu Atomen im Inneren der Nanokristalle

Nanokristalle unterscheiden sich im Wesentlichen durch größenabhängige Faktoren von ihren makroskopischen Analoga. Einer dieser Faktoren ist das Verhältnis von Oberflächenatomen zu Atomen im Kristallinneren. Dieses wird umso größer, je kleiner die Partikel sind. Der Einfluss, der von diesem Effekt ausgeht, spiegelt sich beispielsweise in der Veränderung der Schmelztemperatur wider. Dabei verringert sich, wie aus der Abbildung 1 hervorgeht, die Schmelztemperatur mit abnehmendem Radius. Erklären lässt sich dieses Phänomen dadurch, dass bei sphärischen Partikeln die Valenzen der Oberflächenatome nicht vollständig mit Liganden oder mit benachbarten Atomen abgesättigt sind, wodurch die Oberflächenatome eine höhere Mobilität aufweisen. Bedingt wird dies durch die im Vergleich zu makroskopischen Materialien vorliegende größere Krümmung. Daraus resultiert ein höherer Gleichgewichtsdampfdruck, der letztendlich den niedrigeren und größenabhängigen Schmelzpunkt der Nanokristalle bewirkt ^[31-33].

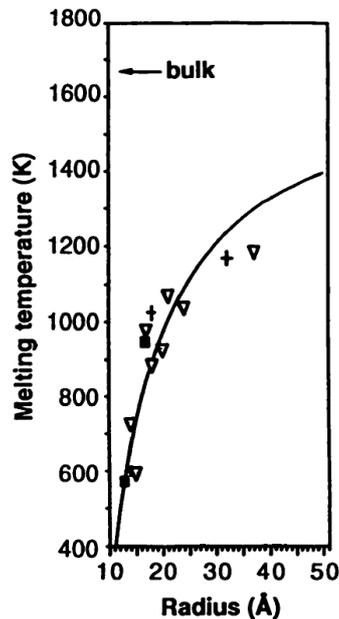


Abbildung 1: größenabhängige Schmelztemperatur von CdS-Nanopartikeln ^[32].

3.3 Einfluss der relativen Lage von Valenz- zu Leitungsband

Die relative Lage von Valenz- zu Leitungsband ist für die charakteristischen Eigenschaften makroskopischer Festkörper verantwortlich.

Leitende Festkörper unterscheiden sich im Wesentlichen von halbleitenden und isolierenden Feststoffen durch die relative Lage von Valenz- zu Leitungsband. Im Festkörper können sich nach der Theorie des Elektronengases die Elektronen frei hindurchbewegen, da sich Valenz- und Leitungsband überlappen. Bei Halbleiter- und isolierenden Materialien befindet sich zwischen Valenz- und Leitungsband eine verbotene Zone, die auch als Bandlücke bezeichnet wird. Die Bandlücke (E_g) beträgt bei Isolatoren $E_g > 3$ eV. Die Elektronen sind dabei an das Valenzband gebunden. Für Halbleiter gilt, dass sich die Wahrscheinlichkeit der Exzitonbildung mit zunehmender Temperatur erhöht. Als Exziton werden Elektron- und Loch-Paar bezeichnet.

Bei 0 K ist das Valenzband eines Halbleiters vollständig von Elektronen besetzt, wohingegen das Leitungsband unbesetzt bleibt. Die elektrische Leitfähigkeit ist in diesem Fall gleich null. Als Fermi-Level wird das Niveau bezeichnet, welches genau zwischen beiden Bändern liegt.

In einem Halbleiter ist die Bandlücke so klein, dass die Elektronen durch Zufuhr thermischer

Energie vom Leitungsband ins Valenzband übergehen können. Das Fehlen eines Elektrons im Valenzband (Loch) wird als positives Teilchen verstanden, welches das Elektron anzieht. Das Elektron und das zugehörige Loch werden gemeinsam auch als Exziton bezeichnet. Elektron und Loch sind Coulomb-Kräften unterworfen. Quantenmechanisch kann das Exziton in diesem Zustand wie das Wasserstoffatom beschrieben werden. Dabei ist die Bindungsenergie hier wesentlich kleiner und die räumliche Ausdehnung viel größer als im Wasserstoffatom, da die Coulomb-Wechselwirkung zwischen beiden Ladungsträgern abgeschirmt wird. In der molekularen Terminologie würde das Exziton einem ersten angeregten Zustand entsprechen, wobei der Abstand zwischen Loch und Elektron als Exziton-Bohr-Radius bezeichnet wird. *Quantum dots* sind nanoskopische Materialstrukturen, die meist aus einem Halbleitermaterial bestehen. Diese zeichnen sich dadurch aus, dass die Ausdehnung des Partikeldurchmessers kleiner als der Exziton-Bohr-Radius ist, wodurch die Beweglichkeit der Ladungsträger in alle drei Raumrichtungen eingeschränkt ist ^[24]. Diese Eigenschaft ist für das größenabhängige Verhalten der Halbleiter Nanokristalle verantwortlich, da die Energie des Exzitons diskrete Werte annehmen kann, die abhängig von dem Partikeldurchmesser sind ^[16]. Diese Größenabhängigkeit von E_g der Nanokristalle lässt sich anhand von zwei Modellen erklären, zum einen mit Hilfe des LCAO-Modells und zum anderen kann das Teilchen im Kasten-Modell herangezogen werden.

3.4 Linearkombination von Atomorbitalen (LCAO)

Ein Atom verfügt über diskrete Energieniveaus. Laut der LCAO-Methode kommt eine Bindung zustande, indem Orbitale mit ähnlicher Energie und Symmetrie miteinander in Wechselwirkung treten, und folglich neue Sätze von Molekülorbitalen (MO) durch Linearkombination der Atomorbitale (AO) konstruiert werden. Dabei korreliert die Anzahl der neu entstehenden MO immer mit der Anzahl der beteiligten AO. Diese entsprechen Zuständen unterschiedlicher Energie. Das energetisch niedrigere Molekülorbital resultiert aus der konstruktiven Überlagerung der Wellenfunktionen beider beteiligter AO und bewirkt im Bereich zwischen den Kernen eine Zunahme der Amplitude, wodurch die Wahrscheinlichkeit, die Elektronen in diesem Bereich anzutreffen, steigt. Dieses MO hat einen bindenden Charakter. Das zweite MO liegt energetisch

höher. Es verfügt über eine Knotenebene im Bereich zwischen den Kernen und wird wegen der zugrunde liegenden destruktiven Interferenz als antibindend bezeichnet. Die Besetzung dieser Orbitale mit Elektronen führt zu einer Schwächung der Bindung. Treten z. B. vier Atome in Wechselwirkung, entstehen ebenfalls vier MOs, von denen zwei einen bindenden und zwei einen antibindenden Charakter haben. Umso größer die Anzahl der Atome in einem Kristall, desto größer ist auch die Anzahl der entstandenen Energieniveaus und desto geringer werden auch die Energiedifferenzen zwischen den Niveaus. Minimieren sich die Energiedifferenzen so, dass die Niveaus quasi kontinuierlich benachbart sind, wird auch von einem Band gesprochen. Jeder Festkörper verfügt demnach immer über ein Molekülorbital, welches überall bindende Eigenschaften hat; dieses wird als untere Bandkante bezeichnet. Die obere Bandkante dagegen ist überall antibindend ^[34].

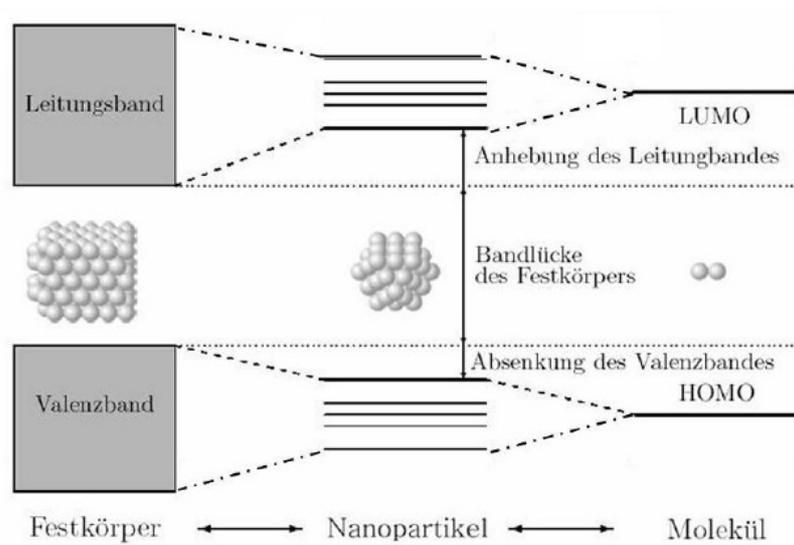


Abbildung 2: Energieniveaudiagramme: a) im Molekül, b) im Nanokristall, c) im Festkörper ^[35].

Mit Hilfe des LCAO-Ansatzes (*Linear Combination of Atom Orbitals*) lässt sich der Unterschied zwischen Molekülen, makroskopischen Festkörpern und nanokristallinen Feststoffen am übersichtlichsten demonstrieren. An der Bildung eines Nanokristalles ist der Anteil an beteiligten Atomen geringer als in einem Festkörper, sodass insgesamt keine quasikontinuierliche Energieverteilung vorherrscht, sondern diskrete Energieniveaus vorliegen, deren Dichte jedoch höher ist als in einem Molekül. Daraus folgt: Umso kleiner die Teilchengröße ist, d. h. umso weniger Atome am Aufbau des Nanokristalls beteiligt sind, desto stärker nähern sich die

quasikontinuierlichen Energiebänder den diskreten quantisierten Energieniveaus eines Moleküls an. Andererseits gilt: Je mehr Atome am Aufbau eines Kristalls beteiligt sind, desto stärker nähern sich die Energieniveaus denen eines Kontinuums an. Dieser Zusammenhang wird in Abbildung 2 wiedergegeben ^[16].

3.5 Direkte und indirekte Halbleiter

Die Schwelle für die optische Absorption bei einer gewählten Frequenz ω_g wird durch die Bandlücke bestimmt. Damit eine Absorption erfolgen kann, muss $E_g \geq \hbar\omega_g$ erfüllt sein. Sobald diese Bedingung erfüllt wird, kann aus diesem Zusammenhang die Breite der Bandlücke berechnet werden. Dies gilt allerdings nur bei direkten Übergängen, hier befinden sich der tiefste Punkt des Leitungsbandes und der höchste Punkt des Valenzbandes bei gleichem Wellenzahlenvektor k (k gibt die Ausbreitungsrichtung einer Welle an und ist proportional zum Impuls p). Da das absorbierte Photon über einen sehr kleinen Wellenzahlenvektor verfügt, ändert sich k nur sehr geringfügig, sodass der Übergang des Elektrons lediglich durch die Bandbreite bestimmt wird.

Bei indirekten Absorptionsprozessen liegen die Bandkanten von Valenz- und Leitungsband im k -Raum weit voneinander getrennt, sodass bei einem Übergang nicht nur die Energie eines Photons aufgebracht werden muss, sondern auch eine Phononenenergie, d. h. die Schwellenenergie ist bei diesem Prozess größer als die tatsächliche Bandlückenenergie, da zusätzlich zur Energieänderung auch eine Impulsänderung stattfinden muss. Tatsächlich ist die Phononenenergie $\hbar\Omega$ in der Regel sehr viel kleiner als E_g . Sie nimmt Werte an, die typischerweise zwischen 0.01 und 0.03 eV liegen. Für den indirekten Übergang gilt:

$$\hbar\omega_g = E_g + \hbar\Omega$$

Gleichung 1

\hbar = Planck'sches Wirkungsquantum

E_g = Bandlückenenergie

Ω = Frequenz eines emittierenden Phonons mit einem Wellenzahlenvektor $K = -k_c$

ω_g = Strahlungsfrequenz

Wenn ein Phonon gemeinsam mit einem Photon absorbiert wird, dann gilt:

$$\hbar\omega_g = E_g - \hbar\Omega$$

Gleichung 2

Diese Bedingungen sind bei höheren Temperaturen erfüllt, da dann bereits Phononen im Gitter vorhanden sind und auf das Elektron übertragen werden, sodass die Absorption auch bei einem indirekten Halbleiter eintreten kann. Prinzipiell können Übergänge aber an jedem Punkt erfolgen, sofern Energie und Wellenzahlenvektor insgesamt erhalten bleiben. Die Unterschiede zwischen indirekten und direkten Halbleitern gehen aus Abbildung 3 hervor. Häufig finden bei Element-Halbleitern wie Si und Ge, aber auch bei Verbindungshalbleitern der IV-Hauptgruppe indirekte Absorptionsprozesse statt und bei Verbindungshalbleitern der III-V-Systeme direkte ^[36-39].

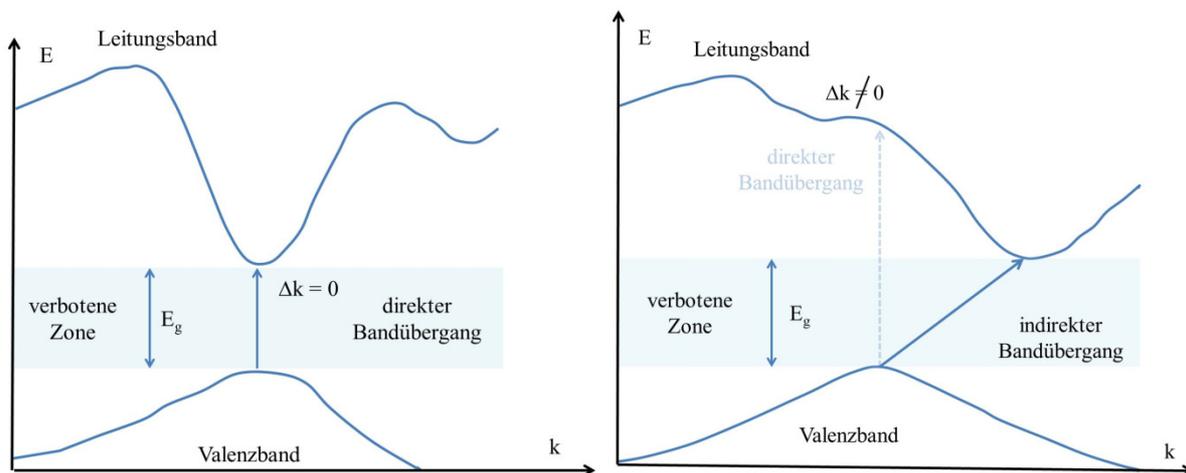


Abbildung 3: direkte (a) und indirekte (b) Übergänge von Elektronen in Halbleitern.

3.6 Das Teilchen im Kasten

Die Unterschiede zwischen Nanokristallen und makroskopischen Festkörpern können auch anhand des Teilchens im Kasten-Modell demonstriert werden. Schematisch wird dies in Abbildung 4 verdeutlicht.

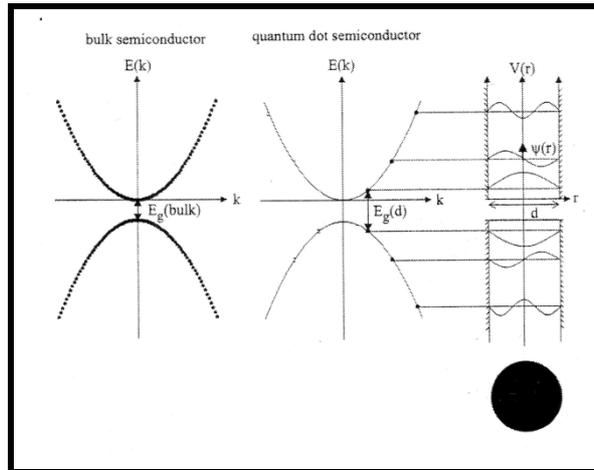


Abbildung 4: makroskopische (li.) und nanokristalline Festkörper (re.) im Teilchen im Kasten-Modell ^[16].

In diesem Modell wird die „Effektive-Masse-Näherung“ zugrunde gelegt, d. h. es wird nicht mit den Ruhmassen der Ladungsträger, sondern mit deren effektiven Massen gerechnet. Diese werden vereinfacht als ein Maß für die Beweglichkeit der Ladungsträger im Kristallgitter angesehen. Die Ausdehnungen eines Nanokristalls sind kleiner als der Exziton-Bohr-Radius. Die Ladungsträger sind innerhalb des Teilchens frei beweglich, außerhalb wird das Potential meist als unendlich hoch angesehen. Dies hat zur Folge, dass die Ladungsträger nur diskrete Energiezustände besetzen können. Eine Verschiebung zu höheren Werten erfolgt, wenn der Abstand der Potentialwände, also in diesem Fall der Durchmesser des Teilchens, sinkt. Die Energieeigenwerte eines Teilchens im Kasten werden durch folgende Gleichung beschrieben:

$$E_n = (n^2 \cdot h^2) / (8m \cdot L^2)$$

Gleichung 3

Mit :

n = Quantenzahl (ganze Zahl)

h = $6.626 \cdot 10^{-34}$ Js (Planck'sches Wirkungsquantum)

m = Masse des Teilchens

L = Länge des Kastens

Die Erzeugung eines Elektronen-Loch-Paares in einem Quantenpunkt kann durch einen photoinduzierten Prozess oder durch Anlegen einer Spannung erfolgen. Die minimale Energie in einem Quantenpunkt, die erforderlich ist, um ein Exziton zu erzeugen, setzt sich aus verschiedenen Beiträgen zusammen. Zum einen muss Energie aufgebracht werden, damit das Elektron die

Bandlücke überqueren kann. Dieser Beitrag ist im mikroskopischen Kristall genau so groß, wie im analogen makroskopischen Festkörper. Zusätzlich muss noch die sogenannte Confinement-Energie, sowohl für das Elektron als auch für das Loch, aufgebracht werden. Dieses stellt ein Resultat der Größenquantisierung dar. Ihr Wert ist umso größer, je kleiner der Nanokristall ist. Für große Kristalle geht er gegen null. Ein weiterer Faktor, der einen Einfluss auf die zur Erzeugung eines Exzitons erforderliche Energie ausübt, ist die Coulomb-Energie, welche die anziehende Wechselwirkung zwischen Elektron und Loch berücksichtigt. Der Coulomb-Energieterm kann zur Gesamtenergie einen beachtlichen Beitrag leisten, da der Quantenpunkt sehr klein ist. Daraus folgt, dass die gegenseitige Wechselwirkung von Elektron und Loch vor allem in sehr kleinen Kristallen sehr hoch sein kann. Die Energie, die zur Erzeugung eines Exzitons erforderlich ist, berechnet sich dann wie folgt:

$$E_g(\text{dot}) = E_g(\text{bulk}) + E_{10}^h + E_{10}^e + E_{\text{Coul.}} \quad \text{Gleichung 4}$$

$E_g(\text{dot})$ = Gesamtenergie zur Erzeugung eines Exzitons
 $E_g(\text{bulk})$ = Bandlückenenergie in einem makroskopischen Kristall
 E_{10}^h = Confinement-Energie vom Loch
 E_{10}^e = Confinement-Energie vom Elektron
 E_{Coul} = Coulomb-Energiebeitrag

$$E_g(\text{dot}) = E_g(\text{bulk}) + \frac{h^2}{2d^2} \left(\frac{1}{m_h^*} + \frac{1}{m_e^*} \right) - 1.8 \frac{e^2}{2\pi\epsilon\epsilon_0 d} \quad \text{Gleichung 5}$$

h = Planck-Konstante $6.62608 \cdot 10^{-34}$ [Js]
 m_h^* = reduzierte Masse des Lochs
 m_e^* = reduzierte Masse des Elektrons
 ϵ = Hochfrequenz Dielektrizitätskonstante
 ϵ_0 = Dielektrizitätskonstante des Vakuums
 d = Durchmesser des Quantenpunktes

Die beiden hinteren Terme der Brus-Gleichung (Gleichung 5) sind größenabhängig. Dabei verhält sich die Confinement-Energie umgekehrt proportional zum Quadrat des Nanokristalldurchmessers. Der Coulomb-Term ist umgekehrt proportional zum Durchmesser des Partikels.

Die Confinement-Energie hat in der Gleichung ein positives Vorzeichen. Sie führt zur Zunahme von $E_g(\text{dot})$ im Gegensatz zum Coulomb-Term, welcher ein negatives Vorzeichen aufweist und zur Energie-Absenkung von $E_g(\text{dot})$ führt. Wegen der $1/d^2$ -Abhängigkeit wirkt sich die Confinement-

Energie stärker auf $E_g(\text{dot})$ aus als der Coulomb-Term, welcher nur mit einer $1/d$ -Abhängigkeit in die Gleichung einfließt. Insgesamt ergibt sich jedoch eine Vergrößerung der Energie von $E_g(\text{dot})$ mit kleiner werdender Teilchengröße ^[16, 40-42].

Die oben aufgeführte Gleichung kann als eine Annäherung an den Wert der tatsächlichen Bandlückenenergie betrachtet werden. Um genauere Berechnungen zu betreiben, müssten Effekte, wie Kristall-Anisotropien und Spin-Kopplungen, berücksichtigt werden.

Weitere Möglichkeiten für eine Berechnung der Auswirkungen des Größenquantisierungseffektes auf die Breite der Bandlücke zu berechnen, stellen semi-empirische und *ab initio*-Verfahren dar. Dabei erfordert das *ab initio* einen relativ hohen Rechenaufwand.

Die *tightbinding*-Rechnung stellt ein semi-empirisches Verfahren dar. Hierbei wird die elektronische Struktur dadurch ermittelt, dass Linearkombinationen mit Atom-Orbitalen geeigneter Symmetrie und Energie durchgeführt werden ^[43].

3.7 Optische Eigenschaften von Halbleiter-Nanokristallen

Wird ein Photon, welches über die Energiedifferenz der Bandlücke E_g (Gleichung 5) verfügt, von einem Nanokristall absorbiert, kommt es zum Übergang eines Elektrons aus dem Valenzband ins Leitungsband, wobei ein Loch im Valenzband zurückbleibt. Die Absorptionsmaxima korrelieren mit der Größe der Partikel. Je größer die Partikel, desto weiter sind die Signale zu höherer Wellenlänge verschoben. Grund hierfür ist, dass die Bandlücke bei großen Partikeln kleiner ist. Bei besonders monodispersen Halbleiter-Nanokristallen können deutliche Absorptionsmaxima bei verschiedenen Wellenlängen in Abhängigkeit von der Größe detektiert werden. Dabei resultiert das Maximum der höchsten Wellenlänge aus dem Übergang vom HOMO (höchstes besetztes Molekülorbital, *highest occupied molecular orbital*) des Valenzbandes in das LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*) des Leitungsbandes. Photonen, die über eine noch geringere Energie verfügen, sind zur Erzeugung eines Elektron-Loch-Paares nicht befähigt.

Werden Absorptions- und Emissionsspektren der gleichen Probe übereinander gelegt, fällt auf, dass das Emissionsspektrum zu höherer Wellenlänge verschoben ist, sich dabei jedoch in einer engen Nachbarschaft zum ersten Absorptionsmaximum befindet. Die Verschiebung lässt sich auf den sogenannten Stokes-Shift zurückführen ^[44-46].

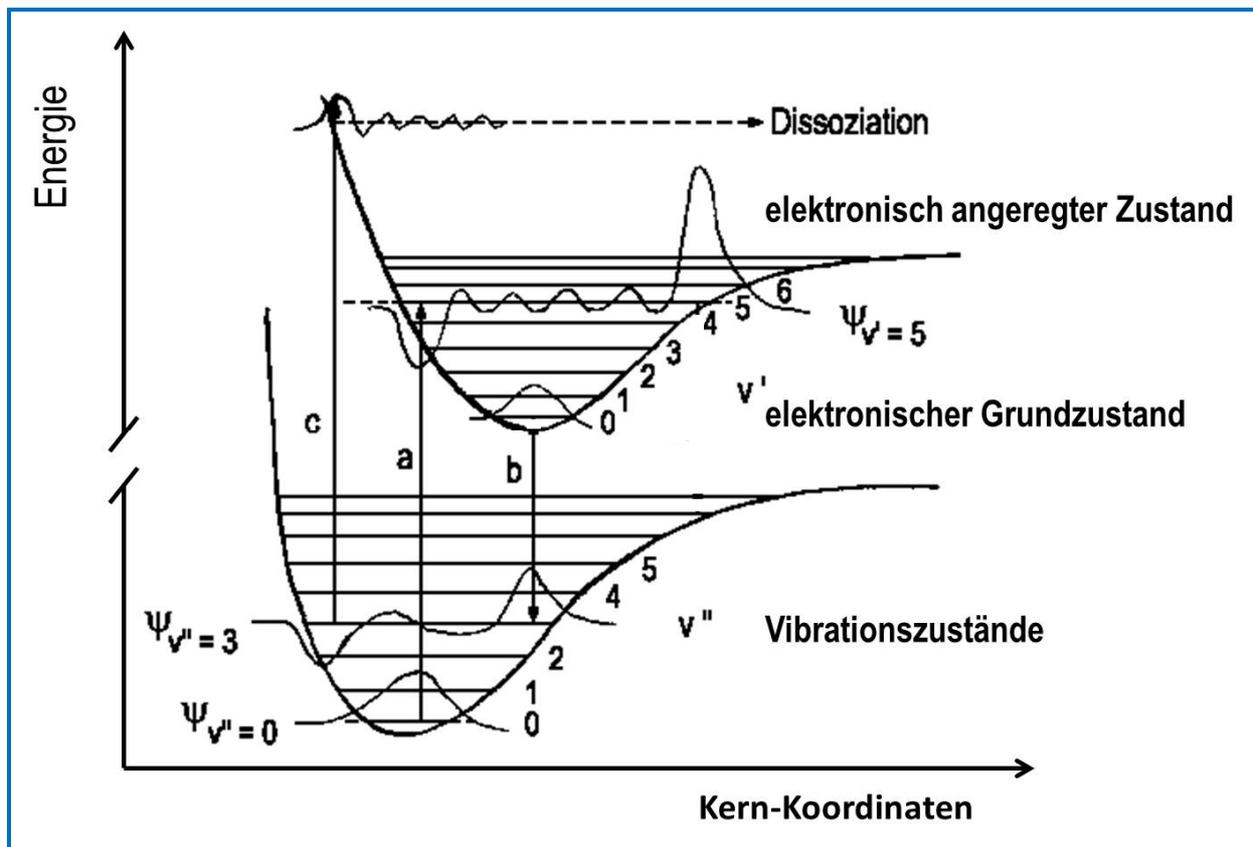


Abbildung 5: quantenmechanische Version des Franck-Condon-Prinzips ^[47].

Mit Hilfe des Frank-Condon-Prinzips (Abbildung 5) lassen sich die Intensitäten der Übergänge zwischen verschiedenen Schwingungszuständen unterschiedlicher elektronischer Zustände berechnen. Zunächst erfolgt ein Übergang aus dem Grundzustand in einen angeregten Zustand. Im Vergleich zu der Kernbewegung erfolgt ein elektronischer Übergang deutlich schneller. Dies hat zur Folge, dass bevorzugt vertikale Übergänge stattfinden, da auf diese Weise eine schnelle Anpassung der Kernbewegung an das neue Potential ermöglicht wird. Entscheidend für die erlaubten Übergänge ist außerdem das Überlappungsintegral, welches ein Maß für die Schwingungszustände im oberen und unteren elektronischen Zustand darstellt. Daher sind Übergänge wahrscheinlich, welche die Vibrationswellenfunktion am wenigsten verändern. Die Intensität des Übergangs ist

proportional zum Betragsquadrat des Übergangsdipolmoments. Wie Abbildung 5 zeigt, erfolgt der Übergang vom Grundzustand $v'' = 0$ des niedrigeren elektronischen Zustandes bevorzugt zu $v' = 5$ des elektronisch angeregten Zustandes, da die entsprechenden Wellenfunktionen überlappen. Von diesem Zustand aus erfolgt eine Relaxation zu $v' = 0$ durch strahlungslose Energieabgabe an die Umgebung. Erst von diesem Energieniveau aus erfolgt eine Rekombination der Ladungsträger unter Abgabe eines Photons. Die im Spektrum beobachtete Verschiebung wird durch die Energiedifferenz zwischen dem Anregungs- und Rekombinationsprozess bewirkt ^[48-50].

In einigen Solvensmolekülen liegen die Schwingungsniveaus aber so weit auseinander, dass auch dieser Energiebeitrag vom Lösungsmittel aufgenommen werden kann, sodass auch hier eine strahlungslose Dissipation stattfindet und keine Emission beobachtet wird. Dieser Fall wird teilweise in wässrigen Lösungen beobachtet ^[51].

Die Absorption von elektromagnetischer Strahlung in kolloiden, nicht streuenden Nanopartikellösungen unterliegt, wie auch andere organische fluoreszierende Farbstoffe dem Lambert-Beerschen Gesetz (Gleichung 6).

$$E_{\lambda} = -(\lg I/I_0) = \epsilon_{\lambda} * c * d \quad \text{Gleichung 6}$$

ϵ_{λ} = Extinktion des Probe für Licht der Wellenlänge λ

I = Intensität des transmittierten Lichts

I_0 = Intensität des eingestrahnten Lichts

c = Konzentration der absorbierenden Substanz in der Probe

ϵ_{λ} = molarer Extinktionskoeffizient der absorbierenden Substanz

d = Schichtdicke der Probe

Die Extinktion beschreibt das Verhältnis von der Intensität der Strahlung die die Probe passiert, zur einfallenden Gesamtintensität und hängt proportional vom molaren Extinktionskoeffizienten der absorbierenden Substanz, von der Wellenlänge und der Schichtdicke der Probe ab ^[34].

3.7.1 Oberflächenfehlstellen

Ein erheblicher Anteil der durch Absorption von Licht gebildeten Exzitonen rekombiniert sich wie oben beschrieben strahlungslos, d. h. die Energie wird in Schwingungsenergie umgewandelt und führt zu einer Verminderung der Quantenausbeute. Dieser Effekt wird auch bei anderen fluoreszierenden Farbstoffen beobachtet.

Ausschlaggebend für eine Verringerung der Quantenausbeute ist allerdings bei Nanokristallen das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen. Oberflächenatome sind nicht von Bindungspartnern abgesättigt, sodass freie Valenzen, sogenannte Fehlstellen, entstehen, bei denen es sich entweder um Energieniveaus unterhalb der Leitungsbandkante für Elektronen oder oberhalb der Valenzbandkante für Löcher handelt. Abbildung 6 zeigt schematisch die Energiezustände und Relaxationsmoden von Halbleiter-Nanopartikeln. Im Fall von InP wurden diesbezüglich von Fu und Zunger Rechnungen durchgeführt. Diese führen zu dem Ergebnis, dass sich durch ungesättigte Valenzen am Phosphor Zwischenzustände oberhalb des Valenzbandes befinden. Diese können bei den Löchern als Fehlstellen wirken. Ungesättigte Valenzen am Indium führen zu Fehlstellen kurz unterhalb des Leitungsbandes (wenn der Partikeldurchmesser ca. 4 nm beträgt). Mit zunehmendem Partikeldurchmesser nähert sich dieser Tranzustand dem Leitungsband, bis dieser ab einem Durchmesser von 6 nm in das Leitungsband übergeht. Die durch Anregungslicht generierten Ladungsträger können an den ungesättigten Valenzen gebunden werden und stehen einer strahlenden Rekombination nicht mehr zur Verfügung ^[52-56].

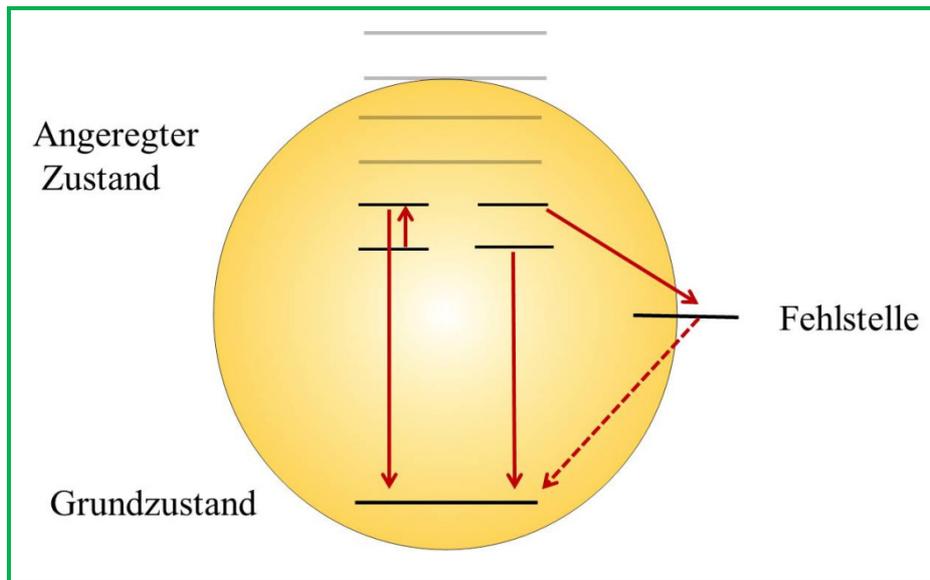


Abbildung 6: Energiezustände und Relaxationsmoden von Halbleiter-Nanopartikeln.

3.7.2 Bestimmung von Quantenausbeuten

Ein Vergleich des Emissionsverhaltens zwischen unterschiedlichen fluoreszierenden Materialien ist durch Bestimmung der Quantenausbeute möglich. Diese gibt das Verhältnis der Anzahl der emittierten Photonen zur Anzahl der absorbierten Photonen wieder, siehe Gleichung 7 ^[57].

$$\Phi_f = \frac{\text{Zahl der emittierten Photonen}}{\text{Zahl der absorbierten Photonen}} \quad \text{Gleichung 7}$$

Der Wert von Φ_f kann maximal den Wert 1 annehmen. Das würde einer Quantenausbeute von 100 % entsprechen. Physikalisch bedeutet dies, dass jedes vom Material absorbierte Photon auch als Fluoreszenzphoton wieder emittiert werden müsste. Da in der Regel nicht alle Rekombinationen strahlend verlaufen, treten bei der Quantenausbeute Verluste auf.

Zur Bestimmung der Quantenausbeute stehen eine Vielzahl von Verfahren zur Verfügung. Am einfachsten sind Relativ-Methoden handhabbar, bei denen die Fluoreszenz der zu untersuchenden Probe mit der Leuchtintensität eines bekannten Standardfarbstoffes verglichen wird.

Die absolute Photolumineszenz-Quantenausbeute von kolloidalen nanokristallinen Proben kann bestimmt werden, indem die Absorption sowohl für den Laserfarbstoff als auch für die zu untersuchende Probe gemessen wird. Die am Schnittpunkt beider Spektren vorliegende Wellenlänge wird als Anregungswellenlänge für das Emissionsspektrum der nanokristallinen Probe herangezogen. Auf diese Weise kann die Wellenlänge ermittelt werden, bei der die optischen Dichten von Referenz und Probe gleich groß sind. Zur genauen Berechnung der Quantenausbeute wird die Photolumineszenz-Intensität von beiden Proben getrennt über die gesamte Fläche integriert, beide Werte werden dann in Relation zueinander gesetzt. Zusätzlich müssen, wenn die Substanzen in unterschiedlichen Lösungsmitteln dispergiert sind, die entsprechenden Brechungsindizes mitberücksichtigt werden, da sich der Ausbreitungswinkel des Lichtes beim Durchgang durch die Küvette ändert. Diese Korrektur wird in Gleichung 8 mitberücksichtigt.

$$\Phi_{f,x} = \Phi_{f,st} \cdot \frac{F_x}{F_{st}} \cdot \frac{f_{st}(\lambda_{ex})}{f_x(\lambda_{ex})} \cdot \frac{n_x^2}{n_{st}^2} \quad \text{Gleichung 7}$$

x = untersuchte Probe

st = Referenz

F = Integrierte Fläche unter der Kurve des Emissionsspektrums

Φ_f = Quantenausbeute des Fluorophores

λ_{ex} = Anregungs- und

n_i = Brechungsindex

$f(\lambda_x)$ = Absorptionsfaktor; Anteil des Anregungslicht, der vom Chromophor absorbiert wird.

In dieser Arbeit wurde Rhodamin 6 G in Ethanol als Laserfarbstoff verwendet, die Photolumineszenz-Intensität dieser Substanz nimmt bei Raumtemperatur einen Wert von 0.95 an [57-59].

3.7.3 Fluoreszenzlebensdauer

Es wird davon ausgegangen, dass bei einem einzelnen Quantenpunkt im angeregten Zustand zwei Zerfallswege auftreten. Zum einen ist eine strahlende Rekombination (k_r) möglich, zum anderen

treten nicht strahlende Rekombinationen (k_{nr}) auf. Aus der Summe beider Werte ergibt sich die messbare Zeitkonstante k_f . Die reziproken Werte der Zerfallskonstanten werden als Lebensdauer τ bezeichnet.

$$k_f = k_r + k_{nr} \quad \text{Gleichung 8}$$

Die Quantenausbeute hängt mit den Zeitkonstanten wie folgt zusammen:

$$\Phi_f = k_r / (k_r + k_{nr}) \quad \text{Gleichung 9}$$

Angenommen wird, dass nicht strahlende Rekombinationen (k_{nr}) überwiegen. Würde der umgekehrte Fall vorliegen, müsste sich die Quantenausbeute und die Lebensdauer erhöhen. Bei fluoreszierenden Nanokristallen können daher zusätzlich Lebensdauermessungen herangezogen werden, um Informationen über die Qualität der anorganischen Schalen sowie den Einfluss der Ligandenhülle auf die Fluoreszenzeigenschaften der Kerne zu erhalten ^[60-64].

3.8 Wachstum der sich bildenden Nanokristalle

Prinzipiell wird bei der präparativen Herstellung von Nanopartikeln zwischen zwei Darstellungsweisen unterschieden. Bei *top down*-Methoden werden makroskopische Festkörper vorgelegt und mechanisch (durch Mahlen) oder chemisch (durch Ätzprozesse) zerkleinert.

Alternativ können Nanopartikel aber auch aus ihren atomaren oder molekularen Bausteinen aufgebaut werden, in diesem Fall wird von einer *bottom up*-Synthese gesprochen ^[65]. Die in dieser Arbeit verwendeten Nanokristalle wurden ausschließlich über dieses Verfahren erhalten.

Als besonders erfolgreich hat sich hierfür bislang das *hot-injection*-Verfahren erwiesen. Diese Methode basiert darauf, dass, wie in Abbildung 7 dargestellt, eine Precursor-Lösung sowie die für die Nanokristalle erforderlichen Stabilisatoren gemeinsam hochgeheizt werden. Dieser Reaktionsmischung wird dann die zweite bei Raumtemperatur vorliegende Vorläufer-Lösung zugesetzt ^[66].

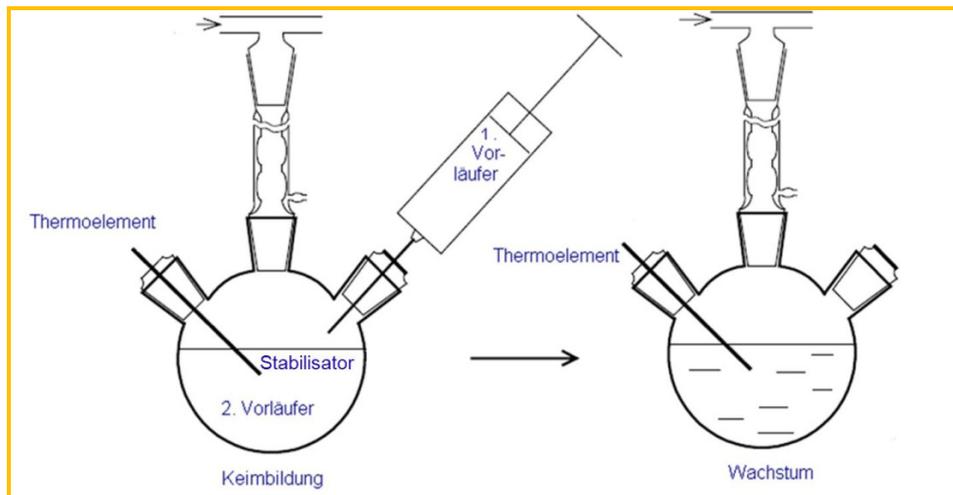


Abbildung 7: *hot-injection*-Verfahren zur Synthese von Nanokristallen.

Nach LaMer lässt sich der Reaktionsablauf dabei in drei Phasen gliedern, die im Folgenden diskutiert werden sollen ^[67]. In Abbildung 8 wird der Zusammenhang zwischen der Konzentration und dem Reaktionsfortschritt schematisch gezeigt.

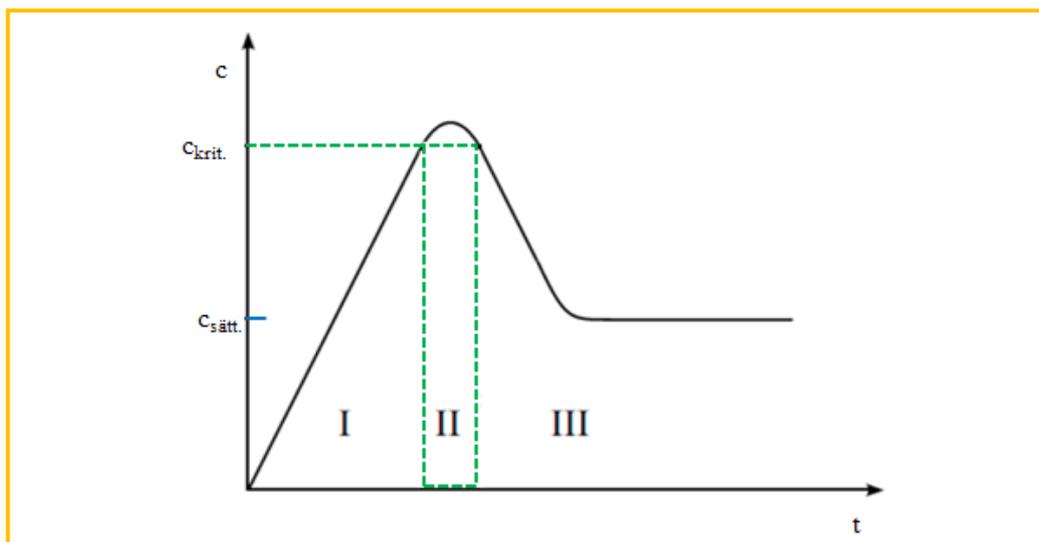


Abbildung 8: LaMer-Diagramm: Verlauf der Konzentration mit zunehmendem Reaktionsfortschritt.

Die hohe Reaktionstemperatur führt nach der Zugabe zur Zersetzung der Precursor-Verbindungen, sobald diese mit der heißen Reaktionslösung in Kontakt treten, und es erfolgt ein Anstieg der Konzentration aktiver Atom- oder Moleküleinheiten (Phase I) bis eine kritische Konzentration überschritten wird. An dem Punkt setzt die Bildung von Kristallisationskeimen ein. In der Regel ist für diesen Prozess eine höhere Aktivierungsenergie erforderlich als für den darauffolgenden

Wachstumsschritt (Phase III), weshalb sich die hohe Temperatur besonders günstig auf die Bildung der Nukleationskeime auswirkt. Durch die Zugabe der bei Raumtemperatur vorliegenden Precursor-Lösung kühlt sich die Reaktionslösung augenblicklich ab und bei etwas geringeren Temperaturen erfolgt dann die Wachstumsphase (Phase III). Diese erfolgt unterhalb der Keimbildungskonzentration. Das Einhalten der Wachstumsphasen begünstigt die Bildung einer engen Größenverteilung. Den in der Reaktionsmischung noch vorhandenen Edukten verbleibt lediglich die Möglichkeit, sich an den Keimen abzuschneiden, wodurch das Wachstum der Partikel stattfindet. Das Augenmerk muss bei dieser Synthese also darauf gelegt werden, dass der Nukleationsschritt möglichst kurz ist, während der Wachstumsschritt einen längeren Zeitraum umfassen sollte. Allein die Variation von kinetischen Parametern, wie Konzentration, Reaktionsdauer und Temperatur, kann also Einfluss auf die Größe und Polydispersität der Partikel nehmen ^[16, 66-68].

3.9 Kinetischer Einfluss auf die Größenverteilung

Abbildung 9 verdeutlicht die Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Kristallgröße.

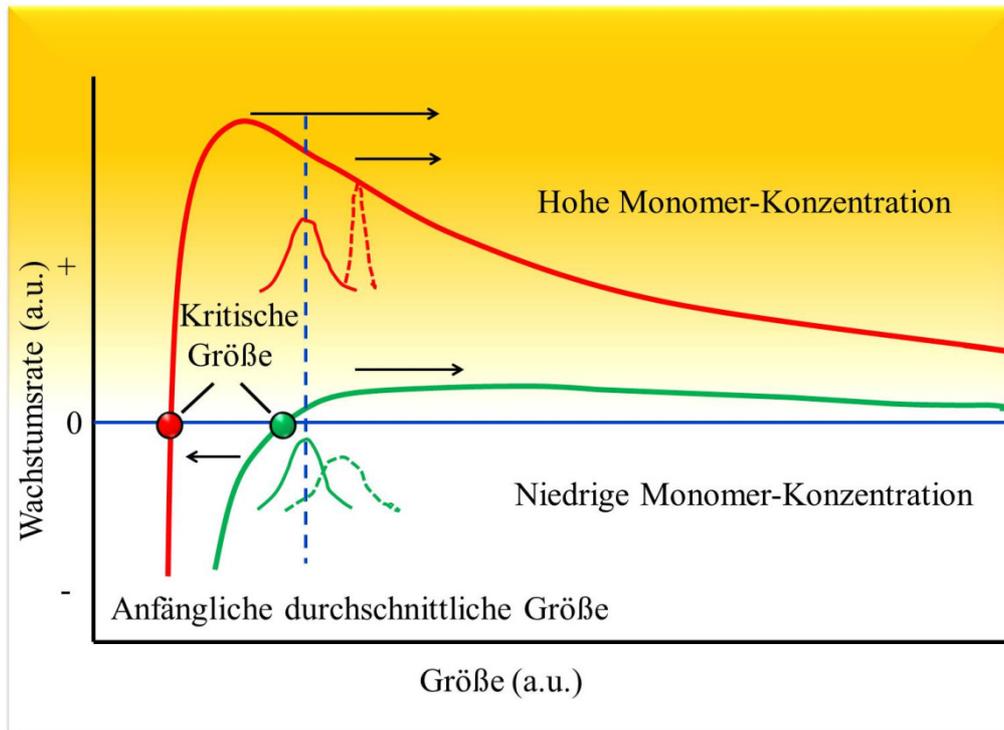


Abbildung 9: Zusammenhang zwischen der Wachstumsrate und Größe der Nanokristalle.

Ob eine enge oder breite Größenverteilung (siehe gestrichelte Linien) am Ende einer Reaktion resultiert, wird wesentlich von der gegenwärtigen Monomer-Konzentration beeinflusst. Bei jeder Konzentration gibt es eine sogenannte kritische Größe, unterhalb derer eine negative Wachstumsrate beobachtet wird. Sehr kleine Kristalle verfügen über einen großen Anteil an aktiven Oberflächenatomen, woraus die Auflösung der Partikel resultiert. Bei hoher Monomer-Konzentration befindet sich diese Position bei kleinerem Partikeldurchmesser als bei geringerer Konzentration. Geometrische Faktoren sind für die unterschiedliche Fokussierung bei verschiedenen Konzentrationen verantwortlich, denn die Anlagerung von Monomeren an einem größeren Kern erfordert eine größere Menge an Monomeren zur Vergrößerung des Durchmessers als ein vergleichsweise kleiner Kern.

Eine enge Größenverteilung lässt sich also, wie aus Abbildung 9 hervorgeht, bei einer hohen Monomer-Konzentration erhalten, wenn sich der Reaktionsverlauf in dem Größenfokussierenden Bereich befindet ^[66].

3.10 Ostwald-Reifung

Die Größe der Partikel wird aber auch von anderen Faktoren beeinflusst wie z. B. durch ein als Ostwald-Reifung bekanntes Phänomen. Dieser Prozess ist ebenfalls maßgeblich für die breite Verteilung, die bei geringer Monomer-Konzentration resultiert, verantwortlich ^[66, 68].

Dabei wurde beobachtet, dass die Bildung von mehreren kleineren Partikeln hinsichtlich der Oberflächenenergie weniger günstig ist als die Bildung größerer Partikel. In einem geschlossenen System kommt die Ostwald-Reifung durch einen Konzentrationsausgleich zustande, dabei findet der Konzentrationsfluss von kleineren zu größeren Kolloiden statt. Wenn der Radius der kleineren Partikel unterhalb des kritischen Wertes liegt, kommt es aufgrund der energetischen Instabilität zur vollständigen Auflösung der Partikel. Durch Veränderung der Oberflächenspannung bei diesem Prozess wird eine Minimierung der Energie des Systems bewirkt ^[68, 69].

Die theoretischen und numerischen Simulationen der Ostwald-Reifung beschreiben hinreichend die Löslichkeit von Nanokristallen, die sich in einem Größenbereich oberhalb von ca. 20 nm befinden (Gibbs-Thompson-Gleichung 11).

$$C(r) = C_{\text{flat}}^0 \exp [2\gamma V_m / rRT] \sim C_{\text{flat}}^0 (1 + 2\gamma V_m / rRT) \quad \text{Gleichung 10}$$

$C(r)$ = Löslichkeit eines Partikels mit dem Radius r

C_{flat}^0 = Löslichkeit des Makroskopischenmaterials

γ = Oberflächenspannung

V_m = Molare Volumen eines Feststoffes

$2\gamma\mu/RT$ = Kapillarlänge (bei Partikeln mit einem Durchmesser größer als 20 nm befindet sich dieser Wert in einer Größenordnung von 1 nm) ^[68, 70].

3.11 Einfluss von Stabilisatoren auf die Nanokristalle

Der Partikeldurchmesser in kolloidalen Lösungen wird erheblich durch organische Liganden beeinflusst. Exemplarisch wird dies in Abbildung 10 demonstriert. Das Partikel-Wachstum wird durch Anlagerung der Stabilisatormoleküle gehemmt, sodass die Bildung von makroskopischen Kristallen vermieden wird. Dabei liegt ein dynamisches Gleichgewicht zwischen den an der Oberfläche gebundenen Liganden und denen in der Lösung vor, wodurch die Anlagerung weiterer Monomer-Einheiten an der Oberfläche möglich ist. Beispiele für dynamisch koordinierende Liganden sind Alkylphosphinoxide, Alkylphosphonsäuren, Alkylphosphine, Fettsäuren, Thiole und Amine. Die genannten Verbindungen verfügen alle über ein metallkoordinierendes Zentrum und einen solvophilen Rest. Dieser Teil ist dem Lösungsmittel ausgesetzt und ist meist hydrophob, sodass die Partikel im Organischen löslich sind. In der Regel fungiert das metallaffine Zentrum des Liganden als Elektronen-Donor (Phosphinoxiden, Phosphinen, Aminen oder Thiolen) ^[16, 71-74], sodass eine Bindung an den elektronenarmen Metallkern möglich wird. Bislang lassen sich die Adhäsionsenergien der Liganden mathematisch nicht genau vorherbestimmen. Daher ist die Wahl des zugrunde liegenden Liganden bislang an empirischen Daten angelehnt ^[75]. Verallgemeinernd lässt sich sagen, dass sich mit abnehmender Temperatur die Wahrscheinlichkeit der Dissoziation der Liganden von der Oberfläche verringert. Prinzipiell ist es aber möglich, durch Konkurrenzreaktionen mit anderen Molekülen die Ablösung der Liganden von der Oberfläche zu erzwingen und auf diese Weise die nachträgliche Umfunktionalisierung der Nanokristalle zu bewirken.

Die Liganden koordinieren nicht nur an der Nanopartikeloberfläche, sondern bilden zudem Komplexe mit der Monomer-Einheit. Die Diffusionsrate, wie auch die Stabilität dieser Komplexe, sowie die Bindungsstärke zwischen den Partikeln und den Liganden beeinflussen das Kristallwachstum. All diese Einflüsse sind temperaturabhängig, wodurch sich das Wachstum durch Einstellen der richtigen Temperatur gezielt steuern lässt.

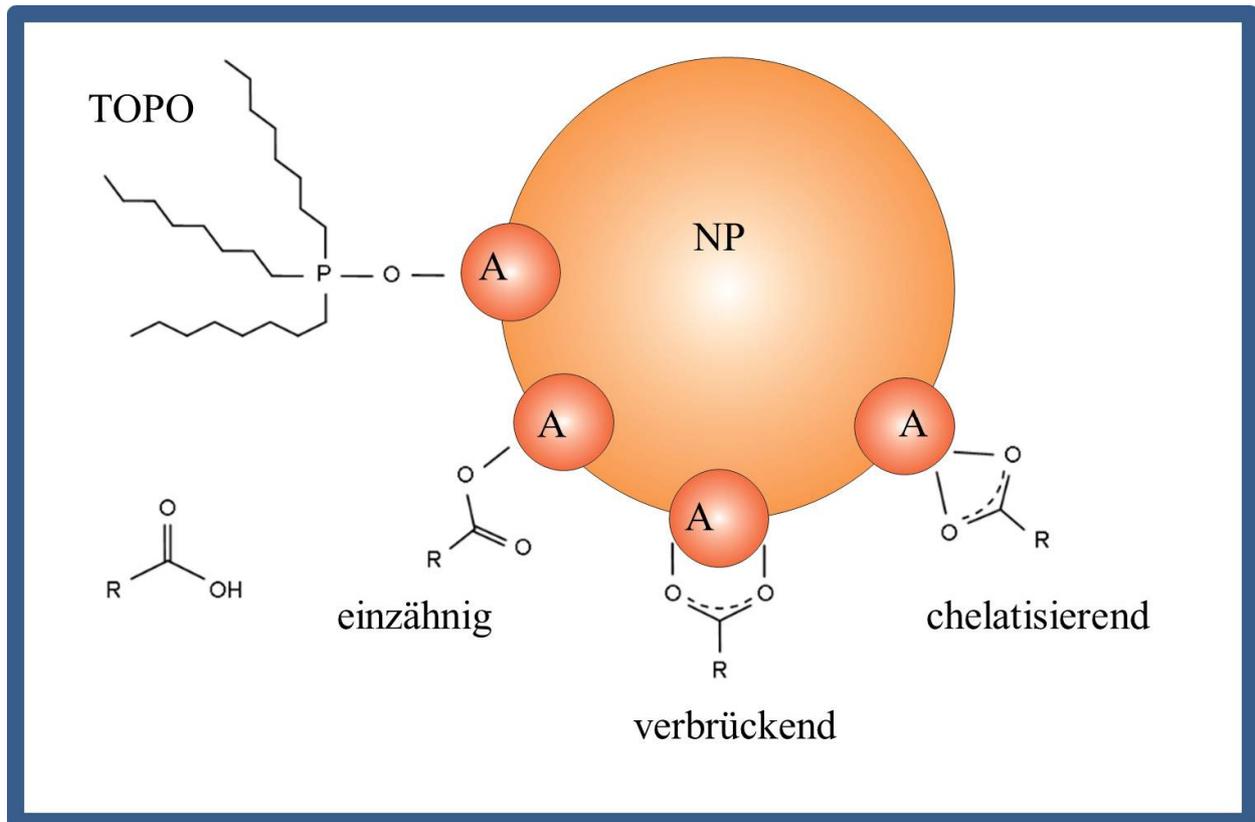


Abbildung 10: Exemplarisch sind hier TOPO und Carboxylate, die an der Oberfläche der Nanokristalle koordinieren, dargestellt.

Die Art der Stabilisatoren kann auf unterschiedlichste Weise die Form der Nanokristalle beeinflussen. Dabei sind sterische Einflüsse sowie die Stärke der Bindungsaffinitäten entscheidende Faktoren. Bei vielen Synthesen wird auf ein gemischtes Ligandensystem zurückgegriffen, da erst ein Zusammenspiel der genannten Effekte eine gröbenselektive Synthese ermöglicht. Wird bei der Synthese eine Carbonsäure, welche sich durch eine hohe Bindungsaffinität auszeichnet, verwendet, wird das Partikelwachstum tendenziell gehemmt. Der umgekehrte Fall tritt auf, wenn zur Synthese ein Alkylphosphan herangezogen wird. Charakteristisch für diese Art von Liganden ist, dass sie aufgrund von sterischen Hinderungen über geringe koordinative Fähigkeiten verfügen. Daher wird das Kristallwachstum begünstigt. Deutlich wird also, dass besonders die Variation der Stabilisatoren in einem gemischten Ligandensystem eine gröbenselektive Synthese ermöglicht ^[16, 76, 77].

Im Fall von InP-Clustern wurde mit Hilfe theoretischer Rechnungen ermittelt, dass die meisten Liganden sogar die Größe der Bandlücke zu beeinflussen vermögen. Wie stark sich die Liganden

auf die Breite der Bandlücke auswirken, ist dabei von ihrer Art, Anzahl und Ausrichtung der Liganden abhängig ^[78].

3.11.1 Größenselektive Fällung

Die größenselektive Fällung wird vorzugsweise bei einem Ensemble von Partikeln herangezogen, bei dem es nicht möglich ist, direkt nach der Synthese eine monodisperse Probe zu erhalten. Die Auftrennung einer polydispersen Nanokristallprobe gelingt, indem die Partikel in einem Lösungsmittel geringer Polarität gelöst werden, anschließend erfolgt schrittweise die Zugabe eines Lösungsmittels mit höheren polaren Anteilen, so lange, bis die zuvor klare Lösung eine leichte Trübung aufweist. Nach jeder Zugabe wird die Probe zentrifugiert und der Überstand abdekantiert. Der zurückgebliebene Niederschlag kann erneut in dem unpolaren Lösungsmittel gelöst werden. Die Fraktionierung der Partikel basiert darauf, dass die Van-der-Waals-Kräfte bei größeren Kristallen stärker sind, wodurch die Partikel stärker agglomerieren und sich dadurch leichter abtrennen lassen ^[68]. Allerdings ist die Auftrennung in verschiedene Fraktionen hauptsächlich bei sphärischen Partikeln erfolgsversprechend, da bei Nanokristallen mit anisotroper Morphologie weitere Parameter berücksichtigt werden müssen ^[66].

3.12 Typ-I- und -II-Kern-Schale-Systeme

Der Nachteil einer lediglich mit organischen Liganden passivierten Oberfläche besteht darin, dass es sich als relativ schwierig erwiesen hat, rein anionische und kationische Oberflächenplätze simultan mit organischen Liganden zu passivieren. Bei dieser Art der Beschichtung würden auch nach der Passivierung an der Oberfläche noch ungesättigte Valenzen verbleiben ^[79]. Bei sterisch gehinderten organischen Liganden wie z. B. TOPO konnte nachgewiesen werden, dass bei kleineren Partikeln nach 60%iger Belegung der Oberflächenplätze eine Sättigung erreicht wird. Bei größeren Partikeln tritt diese bereits nach 30%igem Bedeckungsgrad ein. Die Berechnungen beziehen sich auf

CdSe, wobei TOPO hier an die Cd-Ionen koordiniert ist. Der nichtpassivierte Teil der Oberfläche verfügt dann weiterhin über Oberflächendefekte und kann zur Verringerung der Photolumineszenz-Quantenausbeute beitragen. Die Passivierung mit organischen Molekülen kann die Oxidation der Oberfläche auch aus dem Grund nicht vollständig unterbinden, dass häufig eine relativ labile Bindung zwischen Ligand und Nanokristall vorliegt und dadurch an der Oberfläche Austauschprozesse ablaufen, d. h. hier muss die Dynamik der Oberflächenprozesse berücksichtigt werden ^[16].

Die am häufigsten angewendete Strategie, um die Photolumineszenz-Quantenausbeute zu erhöhen und um mögliche Photooxidationen oder Photodegradation zu vermeiden, beruht darauf, eine Schale an der Oberfläche der Nanokristalle aufwachsen zu lassen. Dabei wird das nanokristalline Kernmaterial an der Oberfläche von einem anderen Material überschichtet. Dieses kann über metallische, isolierende oder auch halbleitende Eigenschaften verfügen. Selbiges gilt auch für die Eigenschaften des Kernmaterials ^[71, 80]. In Abhängigkeit der relativen Lage der Bänder von Kern zu Schale wird zwischen Typ I und Typ II unterschieden ^[4, 81, 82].

Um einen nanokristallinen Kern möglichst epitaktisch von einer Schale umhüllen zu können, müssen sowohl elektronische Faktoren als auch kristallographische Gesichtspunkte berücksichtigt werden. Im folgenden Abschnitt soll der Einfluss, der von beiden Faktoren ausgeht, erläutert werden ^[79].

3.12.1 Einfluss der relativen Lage der Bandlücken

Bei Kern-Schale-Teilchen wird zwischen Typ-I- und Typ-II-Strukturen unterschieden. Dabei erfolgt die Zuordnung anhand der relativen Position der Bandkanten von Kern und Schale. Wenn die Ladungsträger aufgrund der relativen Lage von Valenz und Leitungsband so angeordnet sind, dass sich die maximale Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Exzitons auf den Kern beschränkt, wird von einer Typ-I-Struktur (Abbildung 11) gesprochen. Die elektronische Struktur entspricht also im Wesentlichen den intrinsischen Eigenschaften des Kerns. Die Schale bewirkt hauptsächlich eine

Abschirmung des Kerns von der Umgebung, woraus letztendlich die Zunahme der Quantenausbeute resultiert, da die Wahrscheinlichkeit einer nichtstrahlenden Relaxation erheblich vermindert wird. Beispiele für solche Systeme stellen (CdSe)ZnS und (CdSe)CdS dar.

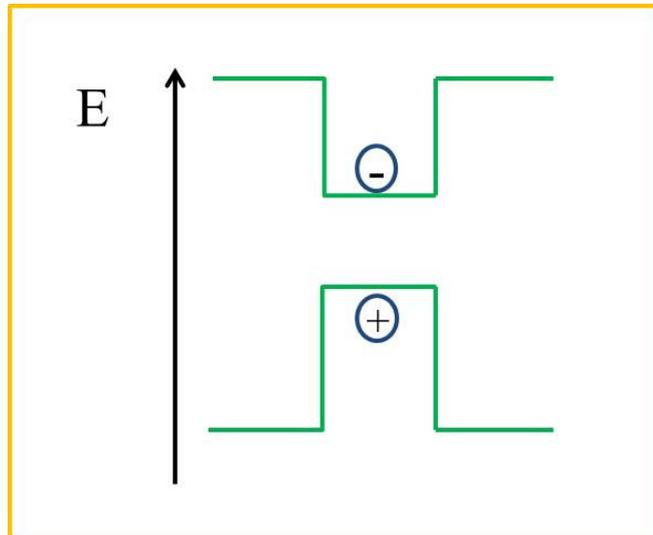


Abbildung 11: Relative Lage der Energiebänder einer Typ-I-Struktur.

Für bestimmte Anwendungen ist nicht die Quantenausbeute das entscheidende Kriterium, sondern eine lange Lebensdauer des angeregten Zustandes. Dies lässt sich durch die sogenannte Typ-II-Struktur verwirklichen. Hier lassen sich die Bereiche hoher Aufenthaltswahrscheinlichkeiten von Elektron und Loch des Exzitons räumlich trennen, indem ein geeignetes Schalenmaterial gewählt wird. Dabei müssen die Bandlücken relativ zueinander so angeordnet sein, dass der niedrigste angeregte Zustand für den Ladungstransfer zwischen Kern und Schale verantwortlich ist. Dies ist in dargestellt.

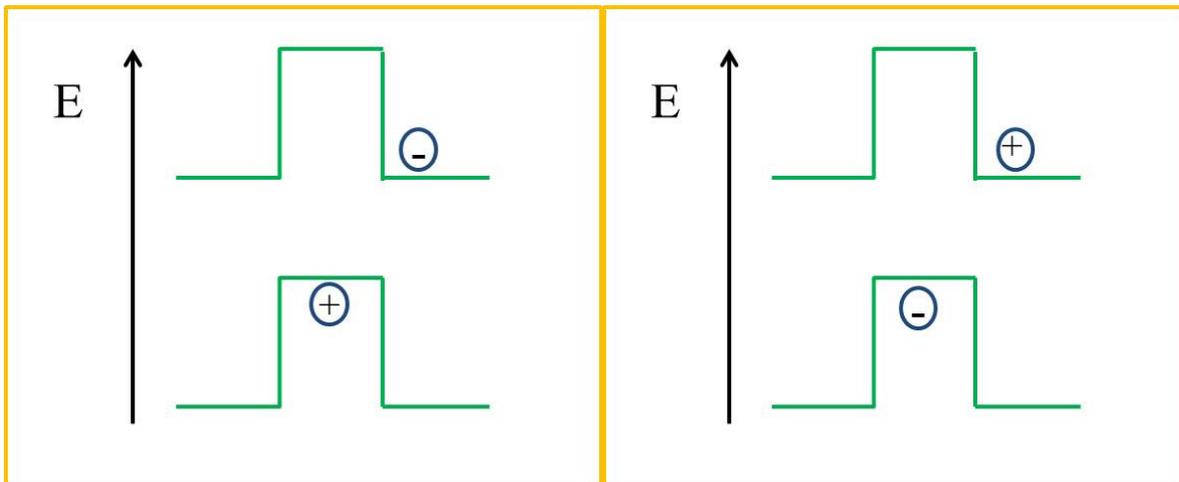


Abbildung 12: Relative Lage der Energiebänder einer Typ-II-Struktur (li. Elektron in der Schale lokalisiert, re. Elektron im Kern lokalisiert).

Im Fall von CdTe/CdSe relaxiert das Photon des angeregten Exzitons so, dass sich die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Lochs hauptsächlich auf den Kern beschränkt und das Elektron sich bevorzugt im Schale aufhält (li. Abbildung 12). Die strahlende Rekombination erfolgt also in diesem Fall über die Grenzfläche von Kern und Schale. Durch ein geringes Überlappungsintegral der Wellenfunktionen ist die Wahrscheinlichkeit der Rekombination der Ladungsträger gering. Daraus resultiert auch die Verlängerung der Lebensdauer. Es gibt aber auch Typ-II-Systeme (re. Abbildung 12), in denen umgekehrte elektronische Bedingungen vorherrschen, wo sich das Loch bevorzugt in der Schale aufhält und das Elektron im Kern delokalisiert ist, wie beispielsweise im Fall von CdSe/ZnTe ^[81, 83, 84].

Die relative Lage der Bandlücke lässt sich durch Variation der Schalendicke und des Kerndurchmessers durch Größenquantisierungseffekte so verändern, dass ein Übergang von einer Typ-I-Struktur in eine Typ-II-Struktur möglich ist. Dies konnte anhand von (ZnSe)CdSe und (CdS)ZnSe gezeigt werden ^[83].

3.12.2 Kristallographische Faktoren

Die Wahl des Schalenmaterials richtet sich nicht nur nach dem Verhältnis von Größe und Lage der Bandlücke des Kernmaterials zur Bandlücke des Schalenmaterials, sondern wird auch maßgeblich

vom Zusammenspiel der Gitterparameter von Kern und Schalenmaterial beeinflusst.

Weichen die Gitterparameter zu stark voneinander ab, können an der Grenzfläche beider Materialien Spannungen auftreten. Diese werden umso größer, je stärker die Abweichungen sind. Dabei akkumulieren sich die auftretenden Spannungen mit zunehmendem Wachstum, d. h. je mehr Monolagen auf den Kern aufgewachsen werden, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass Gitterdefekte auftreten, um die entstehenden Spannungen zu kompensieren. Die Gitterfehlstellen können als „Fallen“ für die durch Photonen erzeugten Ladungsträger dienen und auf diese Weise die optischen Eigenschaften verändern. Bei größeren Abweichungen der Gitterparameter tritt daher häufig der Fall ein, dass bei Koordination weniger Monolagen um den Kern zunächst eine Zunahme der Quantenausbeute beobachtet wird, aber mit zunehmender Anzahl an Monolagen sich diese wieder verringert. Es wird davon ausgegangen, dass bei einem geringen Bedeckungsgrad die Schale ein epitaktisches und kohärentes Wachstum aufweist, aber bei einer großen Anzahl von überlagernden Monolagen zwar ein epitaktisches Wachstum vorliegt, die Schale sich aber nicht kohärent über den Kern erstreckt. Dies kann dazu führen, dass mit zunehmendem Schalenwachstum unregelmäßige Schalenstrukturen entstehen ^[85].

Um eine möglichst hohe Photolumineszenz-Quantenausbeute zu erzielen, müssen also sowohl elektronische als auch kristallographische Faktoren miteinander korrelierbar sein. Wenn dieser Fall wie z. B. bei CdSe und ZnS, nicht vorliegt, da hier lediglich die elektronischen Verhältnisse günstig sind, aber die Gitterparameter zu stark voneinander abweichen, kann eine Vermittlerschicht zwischen beide Schalen eingebettet werden. Bei dieser liegen die Gitterkonstanten zwischen denen der beiden angrenzenden Schichten, sodass hier ein sphärisches Schalenwachstum möglich wird. Für das oben aufgeführte Beispiel hat sich die Verwendung von CdS als geeignet erwiesen. Wie in der Abbildung 13 gezeigt, weichen die Gitterparameter (a) von CdS und CdSe nur um 3.9 % voneinander ab, wohingegen die Gitterparameter von CdSe und ZnS um 12 % voneinander abweichen. Um ein sphärisches Wachstum gewährleisten zu können, werden daher CdS/ CdSe/ZnS-Partikel hergestellt.

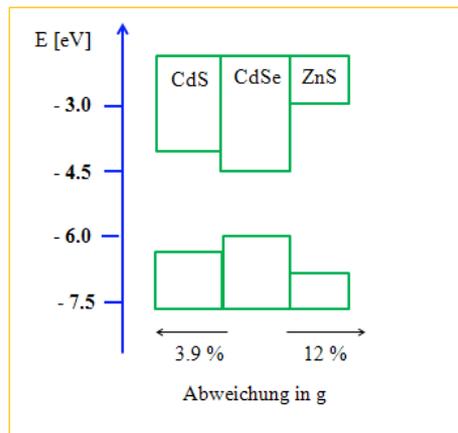


Abbildung 13: Lage der Bänder beim CdS, CdSe und ZnS.

3.13 Ligandenaustausch und Biofunktionalisierung

Nanokristalle finden immer häufiger Einsatz in der diagnostischen Bildgebung, als Biomarker oder für gezielten Wirkstofftransport. Halbleiter-Nanopartikel zeichnen sich gegenüber konventionellen organischen Farbstoffen durch einige vorteilhafte Eigenschaften aus, die im Folgenden exemplarisch aufgeführt werden.

Beispielsweise verfügen Nanokristalle über breite Absorptionsspektren, welche mit schmalen Emissionsbanden kombiniert sind. Dies kann in der Fluoreszenzmikroskopie genutzt werden, um mit einer Lichtquelle geeigneter Wellenlänge Nanopartikel mit unterschiedlichen Emissionsmaxima anzuregen und diese nebeneinander zu detektieren. Bislang verfügen die Nanopartikel im Vergleich zu organischen Molekülen über eine geringere Quantenausbeute. Dieser Nachteil wird aber durch ihre besonders hohe Photostabilität und ihren größeren Absorptionsquerschnitt kompensiert. Es konnte nachgewiesen werden, dass in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung, dem Teilchendurchmesser und der Anregungswellenlänge, der molare Extinktionskoeffizient von Nanopartikeln, bis zu zwei Größenordnungen über denen gängiger organischer Fluoreszenzfarbstoffe liegt ^[21, 71]. Diese Eigenschaften verschaffen den entscheidenden Vorteil von *quantum dots* als Biomarker in der hochauflösenden Fluoreszenzmikroskopie ^[2, 71, 86].

Die herausragende Photostabilität der Quantenpunkte macht diese zur Verfolgung intrazellulärer Prozesse auf der Ebene von einzelnen Molekülen, zur Tumormarkierung und in Langzeitstudien *in vivo* attraktiver als die herkömmlich genutzten organischen Marker.

Für den Transfer in wässrige Lösungen haben sich in den letzten Jahren im Wesentlichen zwei Methoden etabliert. Zum einen lassen sich die hydrophoben Partikel durch amphiphile Moleküle in Mizellen einkapseln ^[30, 87-94]. Zum anderen lässt sich die hydrophobe Ligandenhülle durch hydrophile Moleküle mit geeigneten Ankergruppen (Thiole, Disulfide, Phosphine, Amine) austauschen ^[24, 26, 95-97].

3.13.1 Wechselwirkung mit Biomolekülen

Der Nachweis von bestimmten biologischen Reagenzien, Krankheitserregern oder toxischen Verbindungen spielt in der biologischen Diagnostik, in der forensischen Analytik und Analyse von Umweltverschmutzungen eine wichtige Rolle, weshalb die potentielle Anwendung dieser Nanopartikel insbesondere in diesen Bereichen liegt.

Nanopartikel, die in der Bioanwendung ihren Nutzen finden, müssen zwei entscheidende Voraussetzungen erfüllen. Zum einen müssen sie über ein Element verfügen, welches eine spezifische Bindungsmöglichkeit an das Zielmolekül bietet, und zum anderen über charakteristische Eigenschaften, die Detektionsmöglichkeiten bieten ^[97]. Im Fall von III-V-Halbleitern zählen hierzu die Fluoreszenzeigenschaften ^[8, 12, 26, 98-101].

Im Folgenden sollen die verschiedenen Interaktionen von Nanopartikeln mit Biomolekülen beschrieben werden. Mit Hilfe von Nanopartikeln ist es möglich, in zahlreiche zelluläre und extrazelluläre biologische Prozesse zu intervenieren. Dabei erfolgt die Oberflächenerkennung der Makromoleküle dadurch, dass die Nanokristalle als künstliche Rezeptoren wirksam sind. Auf dieser Grundlage sind beispielsweise Interaktionen bei der Regulation der Transkription oder bei der enzymatischen Inhibition oder Protein-Protein-Wechselwirkungen möglich. Die Konjugation der Nanopartikel an Proteine oder andere Biomoleküle ist durch zwei verschiedene

Koordinationsmöglichkeiten zugänglich; entweder über direkte kovalente Bindungen oder durch nicht kovalente Bindungen. Bei letzteren erfolgt die Anbindung durch Van-der-Waals-Wechselwirkungen, elektrostatische Wechselwirkung, Interkalation, oder Bindung in die Furche eines Proteins über funktionelle Gruppen oder mit Hilfe der komplementären Basenpaarung. Dabei kann die Konjugation entweder durch Chemisorption des Biomoleküls an die Partikeloberfläche erfolgen, oder durch Verwendung von heterobifunktionalen Linkern. Die Chemisorption basiert dabei häufig auf der Ankopplung einer Cystein-Einheit, die sich an der Oberfläche der Proteine befindet, so z. B. bei Oligopeptiden oder im Serum Albumin. Eine kovalente Bindung kann dabei beispielsweise durch das Traut-Reagenz 2-Iminothiolan herbeigeführt werden. Mit bifunktionalen Linkern wird die Kopplung durch traditionale Kopplungsstrategien bewirkt, wie z. B. Carbodiimid-vermittelte Amidierung oder Veresterung^[97, 98].

3.13.2 Anforderung an nanopartikuläre Kontrastmittel

Prinzipiell sind Nanokristalle für diagnostische Zwecke in der Biomedizin von großem Interesse, unter der Voraussetzung, dass sie innerhalb eines bestimmten Zeitraumes vom Organismus ausgeschieden werden, um unspezifische Hintergrund-Fluoreszenzen und die Gefahr der Langzeit-Toxizität zu minimieren. Eine vernünftige zeitliche Körperexposition der Nanokristalle ist für die medizinische Anwendung unter anderem auch deshalb erforderlich, um eventuelle Beeinträchtigungen anderer diagnostischer Verfahren ausschließen zu können. Frühere Untersuchungen bezüglich des hydrodynamischen Durchmessers hatten zu der Erkenntnis geführt, dass, eine renale Exkretion möglich und bereits nach einer Dauer von 4 Stunden vollständig abgelaufen ist, wenn der hydrodynamische Durchmesser kleiner als 5 nm ist. Ein hydrodynamischer Durchmesser kann in einer solchen Größenordnung nur dann erhalten werden, wenn unspezifische Bindungen von Serum-Proteinen durch Wechselwirkung mit den Liganden, die an der Oberfläche der Nanokristalle koordiniert sind, unterdrückt werden. Allgemein konnte ermittelt werden, dass die Kettenlänge, die Ladung und die Anzahl der koordinierenden Liganden Einfluss auf den hydrodynamischen Durchmesser nehmen. So führen beispielsweise anionische und kationische Ladungen in der äußeren Sphäre der Liganden bei der Injektion der Nanokristalle ins Serum zur

Erhöhung des hydrodynamischen Durchmessers (> 15 nm). Obwohl neutrale PEG-Liganden keine Serum-Proteine zu binden vermögen, lässt sich der hydrodynamische Durchmesser nicht unter einen Wert von < 10 nm bringen, denn wenn sehr kurze PEG-Liganden verwendet werden, welche prinzipiell zu einer Minimierung des Kristalldurchmessers führen sollten, geht dies zu Lasten der Löslichkeit. Das beste Verhältnis zwischen einer hohen Löslichkeit und geringstem hydrodynamischem Durchmesser wird bei sphärischen Nanokristallen mit zwitterionischen Liganden wie Aminosäuren erhalten ^[99].

Die Größe des hydrodynamischen Durchmessers wirkt sich dabei nicht nur auf die Toxizität aus, sondern stellt einen zusätzlichen Parameter dar, der beispielsweise im Fall von spezifischem Tumor-Targeting genutzt werden kann, um eine differenzierte Steuerung an bestimmte Zielmoleküle zu bewirken ^[102].

3.14 Toxizität von Nanokristallen

Die neuen Eigenschaften, die von Materialien im Nanometer-Bereich gegenüber den makroskopischen Verbindungen gleicher Zusammensetzung ausgehen, führen zu der Notwendigkeit, die Toxizitäten, die von diesen Materialien ausgehen, eingehender zu untersuchen, auch wenn dieses Unterfangen mit erheblichem finanziellem und zeitlichem Aufwand verbunden sein wird ^[103].

Im Forschungsbereich der Nanotoxikologie geht es darum, die eventuell auftretende toxische Wirkung, die von Nanokristallen ausgehen können, zu untersuchen. Die Forschung auf diesem Gebiet ist weit davon entfernt, ein umfassendes Gesamtbild der Toxizität, die von Nanopartikeln ausgehen könnten, auf Grundlage von fundierten Analysen zu liefern. Dies ist im Wesentlichen darauf zurückzuführen, dass es sich insbesondere bei *in vivo*-Versuchen als relativ schwierig erwiesen hat, in physiologischer Umgebung die kausalen Zusammenhänge, die von Nanopartikeln ausgehen, zu ermitteln ^[104, 105].

Die Untersuchung der Toxizität erfordert die Berücksichtigung unterschiedlichster Kriterien. Dabei gibt es sechs grundlegende Fragen, die den Experimenten zugrunde gelegt werden sollten: 1.) Wie kommt es zur Exposition, wie hoch ist die Wahrscheinlichkeit, dass es zur Exposition kommt? 2.) Wer oder was wird den Nanopartikeln ausgesetzt? 3.) Wie hoch ist das Ausmaß der Exposition (Zeit und Konzentration)? Wo und wann erfolgt die Exposition? 4.) Wie verändert sich die Exposition? 5.) Wie groß sind die Unsicherheiten der Schätzungen bezüglich der Exposition? 6.) Wie hoch ist die Wahrscheinlichkeit, dass es zur Exposition kommt bzw. wie verläuft die Expositionsrouten (Inhalation, Transdermal, Ingestion)?

Erst wenn die Risiken, die von Substanzen im Nanometer-Bereich ausgehen, bekannt sind, kann ermittelt werden, ob der Vorteil, den die Verwendung dieser Materialien mit sich bringt, gegenüber den Nachteilen überwiegt, wie dies bereits bei FeO_x-Nanopartikeln der Fall ist. Diese Systeme werden bereits klinisch in der Humanmedizin zur Diagnostizierung verschiedenster Krebsarten herangezogen. Dabei konnten die konventionell genutzten Gd-Verbindungen, die zahlreiche schwerwiegende Nebenwirkungen mit sich bringen, für die entsprechenden Anwendungen durch Nanopartikel ersetzt werden ^[103, 106-109].

3.15 Hintergrund der Synthese von III-V-Halbleiter-Nanopartikeln

Die erschwerte Herstellung der III-V-Halbleiter erklärt sich durch, die zunehmenden kovalenten Bindungsanteile. Die I-VII- sowie die II-VI-Systeme lassen sich direkt aus reinen atomaren oder ionischen Vorläufern gewinnen, wodurch sich das Wachstum der Nanoteilchen leichter kontrollieren lässt. Im Gegensatz dazu sind die entsprechenden ionischen oder atomaren Vorläuferverbindungen der III-V-Metalle so reaktiv, dass es häufig bereits mit dem Lösungsmittel zu einer Reaktion kommt. Auch der Versuch, alkylierte Analoga zum Cd(CH₃)₂, welches für die Herstellung von CdSe herangezogen wird, zu verwenden, scheitert an der hohen Reaktivität dieses Verbindungstyps. Hierbei kommt es schnell auch unter Zugabe entsprechender Liganden, die eigentlich das Wachstum inhibieren sollten, zur Weiterreaktion bis in makroskopische Dimensionen. Prinzipiell sollte sich dieses Problem umgehen lassen, indem Liganden die Zentren der Precursor sowohl von

der V-Komponente als auch von der III-Komponente stabilisieren, wodurch sich Nukleation und Wachstums steuern lassen sollte.

Die derzeit am häufigsten eingesetzte Methode zur Herstellung von InP basiert auf der Dehalosilylierungsreaktion, unter Verwendung von InCl_3 , $\text{P}(\text{Si}(\text{CH}_3)_3)$, TOPO (Trioctylphosphanoxid) als Ligand und TOP (Trioctylphosphan) als Lösungsmittel, wobei die Synthese inzwischen auch in abgewandelter Form Einsatz findet. Beispielsweise werden unterschiedliche In(III)-Komponenten, Lösungsmittel und Liganden eingesetzt. Die Triebkraft der Reaktion stellt die Bildung von CH_3SiCl dar, sowie das hohe Abgangsvermögen der $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -Gruppe aufgrund der schwachen Bindung an das Zentrum des Precursors.



Mit beiden genannten Precursoren lässt sich makroskopisches InP bei höheren Temperaturen herstellen, dabei erfolgt die Synthese über die schrittweise ablaufende Eliminierung von $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$. Die Reaktion läuft dabei zunächst über die Bildung von $[\text{Cl}_2\text{InP}(\text{SiCH}_3)_2]_x$. Dieser Schritt erfolgt bereits bei niedrigeren Temperaturen. Im Falle der Nanokristalle weicht die Struktur des Intermediates anzunehmenderweise aufgrund der Aktivität des Lösungsmittels und durch die höhere Löslichkeit des Nanopartikels etwas ab. Entscheidend hierbei ist allerdings die Ausbildung der In-P Bindung. Es wurde festgestellt, dass für die Eliminierung der letzten $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ -Gruppe bei dieser Synthese von mindestens 240 °C erforderlich sind ^[16].

Zu einem späteren Zeitpunkt wurde eine Synthese entwickelt, die auf der Verwendung von $\text{In}(\text{Ac})_3$, $\text{P}(\text{Si}(\text{CH}_3)_3)$, Myristinsäure, Octylamin und Octadecen als schwach koordinierendes Lösungsmittel, damit dieses bei der Reaktion nicht intervenieren kann. Die Herstellung der InP-Partikel umfasst lediglich eine Dauer von nur einer Stunde und es sind niedrigere Reaktionstemperaturen erforderlich, da es bei höheren Temperaturen aufgrund der hohen Hydrolyse-Aktivität der Carboxylatgruppe zur Bildung von In_2O_3 kommen kann. Die Bildung einer Oxidschicht an der Oberfläche der Partikel hat zur Folge, dass die weitere Zunahme des Partikeldurchmessers gehemmt wird ^[77]. Durch das zugesetzte kurzkettige Amin, welches auch für die Aktivierung des Precursors verantwortlich ist, werden die Reaktionsdauern und Reaktionszeiten ebenfalls verringert. Es wird

angenommen, dass protische Verbindungen wie Amine oder Methanol die Hydrolyse des Phosphor-Precursors begünstigen, wodurch die Reaktion mit der Indium Verbindung beschleunigt wird. Dies ist allerdings nur unter der Voraussetzung möglich, dass die Verbindung zusammen mit dem $\text{P}(\text{Si}(\text{CH}_3)_3)$ zugegeben wird. Zudem ist bereits von anderen Systemen bekannt, dass Amine eine Verbesserung der Quantenausbeute bewirken können. Beide Verbindungen sind kurzkettig, wodurch es ermöglicht wird, dass niedrigere Reaktionstemperaturen verwendet werden können ^[11, 77, 110-114].

Weitere Verbesserungen bezüglich der optischen Eigenschaften konnten durch das Aufwachsen einer Schale erreicht werden ^[11, 112, 115, 116]. Im Fall von InP-Quantenpunkten hat sich die Verwendung einer Schale bestehend aus ZnS etabliert, da die Bandlücke des makroskopischen Zinksulfids mit 3.6 eV größer ist als die des Kernmaterials. Des Weiteren lässt sich mit Hilfe der Referenzkarte für Indiumphosphid (PDF-Nr. 10-0216) und Zinksulfid (PDF-Nr. 77-2100) aus den Gitterkonstanten die Gitterfehlanpassung berechnen. Für InP beträgt der Wert 5.8610 \AA und die Gitterkonstante von ZnS nimmt einen Wert von 5.4145 \AA an. Bezogen auf InP, ergibt sich daraus eine Gitterfehlanpassung von 7.6 %. Die Abweichungen sind hier geringer, im Vergleich zu anderen Materialien, wie CdSe, weshalb bevorzugt auf diese Kombination zurückgegriffen wird. In der folgenden Abbildung 14 sind die absoluten Lagen des Valenz- und Leitungsbandes von InP und ZnS zum Vakuum-Niveau (0 = Vakuum-Niveau) dargestellt. Die an dieser Stelle gezeigten Lagen der Bänder beziehen sich auf die makroskopischen Feststoffe ^[115, 117].

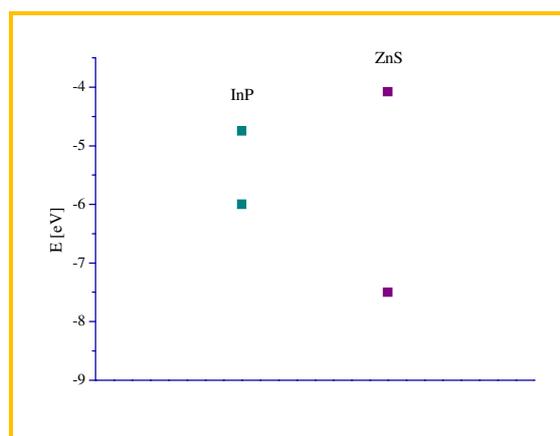


Abbildung 14: absolute Lagen der Bandlücken von InP und ZnS zum Vakuum-Niveau.

Eine andere Möglichkeit, die Fluoreszenzquantenausbeute der InP-Nanopartikel zu verbessern,

stellt das Ätzen der Kernoberfläche mit Fluorwasserstoff dar ^[16]. Durch das Ätzen der Oberfläche mit HF lassen sich ungesättigte Valenzen des Phosphors, die zur Bildung von Fehlstellen führen, entfernen. Dabei kommt es zur Bildung von PF₃, welches über die Gasphase dem Reaktionsgemisch entweicht. Zudem bietet das Ätzen mit HF im Prinzip durch die Zugabe einer genau definierten Menge die Möglichkeit, Einfluss auf die Größe des Partikeldurchmessers zu nehmen, da sich bei diesem Vorgang der Partikeldurchmesser verringert, wodurch es zu einer gezielten Verschiebung in den blauen Wellenlängenbereich kommen kann ^[54, 118].

Für die InP/ZnS-Quantenpunkte wurde mittels XPS und UV-VIS die erstaunliche Beobachtung gemacht, dass sich die interne Zusammensetzung der Verbindung in Abhängigkeit von der Synthesestrategie ändert. Werden die Kern-Schale-Nanopartikel in einem Schritt hergestellt, liegen homogene InZnS-Mischstrukturen mit einer dünnen ZnS-Schale vor, da die Schwefelquelle bereits zu Beginn vorliegt. Hier wird in den UV-VIS Spektren eine Verschiebung zu niedrigeren Wellenlängen beobachtet. Die Herstellung der Nanokristalle kann allerdings auch in zwei Schritten erfolgen, indem in einem separaten Schritt die InP-Kerne und darauffolgend die Schale hergestellt werden. In diesem Fall liegt ein reiner InP-Kern vor, der umgeben ist von einer gemischten Grenzfläche und außen von einer reinen ZnS-Schale umhüllt ist. Diese Grenzschicht bildet sich insbesondere bei höheren Temperaturen aus, da unter diesen Voraussetzungen bevorzugt ein Ionentausch an der Oberfläche erfolgt. Der Grenzbereich besteht dann aus In-P, S_x-In-P_{1-x} und In-S. Sollen Partikel hergestellt werden, die stärker in dem roten Wellenlängenbereich leuchten, stellt dieses Verfahren die Methode der Wahl dar ^[117].

In jüngster Vergangenheit wurde InP mit einer ZnS-Schale über die von Nann et al. ^[112] entwickelte Synthese in einem Mikrofluidreaktor hergestellt. Mikrofluidreaktoren werden als nahezu ideale Systeme für die Herstellung der Nanokristalle betrachtet, da sich die Reaktionsbedingungen, wie die Zusammensetzung der Reagenzien, die Kinetik, mit der sich diese vermischen lassen, sowie die Reaktionstemperatur, auf unübertreffbare Weise kontrollieren lassen. Dieses Prinzip konnte noch weiter perfektioniert werden, indem die Partikel in einem Hochtemperatur-und-Hochdruck-Durchfluss-Mikroreaktor hergestellt wurden. Bei diesem Verfahren wurde P(Si(CH₃)₃), In(Ac)₃, Myristinsäure und Oktan als Lösungsmittel zugrunde gelegt. Dabei lässt sich der Einfluss unterschiedlicher Parameter wie genau definierbare Heizraten oder Massentransport im Vergleich

zu den herkömmlichen Synthesen noch weiter ausschöpfen. Es wurde festgestellt, dass die Größe der InP-Partikel und die Größenverteilung hauptsächlich von der Konzentration der freien Fettsäure und der Wachstumstemperatur abhängig ist. Andere Parameter, wie beispielsweise die Injektionstemperatur der Precursor oder die Konzentration der Partikel oder der Precursor, spielen dabei offensichtlich eine untergeordnete Rolle. Der Partikeldurchmesser lässt sich durch die erneute Precursor-Zugabe zu einem späteren Zeitpunkt in einem weiter am Ausgang liegenden Segment oder durch die zugesetzte Fettsäurekonzentration kontrollierbar vergrößern. Bei diesen Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass sich das Wachstum von InP erheblich von dem der II-VI-Halbleiter, bei denen die Partikelkonzentration oder Precursor-Konzentration einen erheblichen Einfluss auf das Wachstum der Kristalle ausübt, unterscheidet. Der klassische Nukleationsschritt, der in der Regel sehr kurz sein sollte und extrem hohe Temperaturen erfordert, scheint im Fall der InP-Partikel nicht gleichermaßen stattzufinden. Diese Annahme basiert darauf, dass der vorliegende Precursor unabhängig von der Temperatur innerhalb kürzester Zeit verbraucht wird. Vermutlich kommt es bei diesem Schritt zur Bildung kleinerer Cluster. Allerdings stellen für den nachfolgenden Wachstumsschritt höhere Temperaturen die Grundlage dar. Dies hängt damit zusammen, dass sich von den gebildeten Clustern Monomere von der Oberfläche ablösen und als Precursor für die InP-Kerne genutzt werden. Die Ablösung wird umso stärker begünstigt, je höher die Konzentration der Myristinsäure ist. Anzunehmen ist, dass dieser Wachstumsmechanismus dafür verantwortlich ist, dass beispielsweise im Vergleich zu CdSe oder PbSe keine sphärischen Partikel erhalten werden. Es ist davon auszugehen, dass die Abhängigkeit des Wachstums von der Konzentration der Fettsäure dadurch zustande kommt, dass diese die Auflösung von intermediär auftretenden InP-Verbindungen begünstigen, indem diese an die Oberfläche koordinieren und auf diese Weise Monomere oder Cluster ablösen, die dann in aktive Precursor übergehen, und in ein Wachstum übergehen, welches dann dem klassischen Reifungsprozess entspricht. Vermutlich tragen aber auch andere Prozesse wie Koaleszenzen zu dem beobachteten Wachstumsphänomen bei ^[11, 17, 119, 120].

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese und Charakterisierung von InP/ZnS-Nanopartikeln

Die in dieser Arbeit verwendeten InP/ZnS-Partikel wurden in Abhängigkeit des gewünschten Emissionsbereichs über drei alternative Synthesestrategien, auf die nachfolgend eingegangen werden soll, ohne zwischenzeitliche Aufreinigung hergestellt.

1. Methode

Nanokristalle, die zwischen 450 und 600 nm emittierten, wurden über eine Synthese erhalten, bei der als Precursor für die InP-Kerne auf $\text{In}(\text{Ac})_3$ und $\text{P}(\text{TMS})_3$ zurückgegriffen wurde. Dabei dienten MA (Myristinsäure) und Octylamin als Stabilisatoren ^[11]. Im Anschluss an das Kernwachstum erfolgte das Aufwachsen der Zinksulfidschale mit Schwefel und Zinkstearat, gelöst in ODE.

Bei dieser Synthese gibt es unterschiedliche Möglichkeiten, den Durchmesser der Partikel zu variieren. Bevor die Zugabe der Phosphorquelle erfolgt, werden $\text{In}(\text{Ac})_3$ und Myristinsäure unter Sauerstoffausschluss in ODE gelöst. Bei diesem Schritt wird Essigsäure gebildet, diese lässt sich aus dem Reaktionsgemisch im Vakuum entfernen. Unter Berücksichtigung dieses Schrittes werden nach der Zugabe der Phosphorquelle vergleichsweise kleinere Partikel erhalten. Nach dem Aufwachsen der Schale weisen die Quantenpunkte ein Emissionsmaximum auf, welches einen stärkeren Shift zu niedrigeren Wellenlängen aufweist, im Vergleich zu Partikeln, wo dieser Schritt nicht erfolgt. Des Weiteren lässt sich die Größe der Partikel und somit auch die Lage des zugehörigen Emissionsmaximums durch die zugesetzte Menge an Myristinsäure beeinflussen. Dabei vergrößert sich der Durchmesser der Quantenpunkte mit zunehmender Menge an Myristinsäure ^[11].

2. Methode

Die Synthese von InP/ZnS-Nanokristallen, die in einem höheren Wellenlängenbereich (550 nm - 650 nm) emittieren, basierte auf einer von Talapin et al. entwickelten Synthese. Hier wurde für die Herstellung der Kerne InCl_3 und $\text{P}(\text{TMS})_3$ als Precursor verwendet. Als koordinierendes

Lösungsmittel und als Stabilisator dienten dabei TOP und Dodecylamin, welches erst bei den höheren Temperaturen löslich wird. Die Synthese der Kerne erfordert hier deutlich längere Reaktionsdauern als die oben beschriebene Synthese ^[111]. Das Aufwachsen der Schale erfolgte, abweichend von der Literatur, wie im Falle der zuvor beschriebenen Synthese. Als Precursor dienten dabei ebenfalls elementares Schwefel- und Zinkstearat, gelöst in ODE. Auf diese beiden Reagenzien wurde zurückgegriffen, da beide Verbindungen nicht toxisch und dadurch leichter handhabbar sind. Weiterhin sprachen vergleichbare oder teilweise sogar bessere Quantenausbeuten für die Verwendung des zugrunde liegenden Schalenmaterials.

3. Methode

InP-Nanokristalle, die bei Wellenlängen oberhalb von 650 nm emittieren, ließen sich über eine reduktive Synthese ^[121], ausgehend von BuLi, InCl₃, TOP und TOPO, herstellen. Die Fluoreszenz dieser Quantenpunkte ließ sich über photochemisches Ätzen mit HF steigern, das Aufwachsen einer Zinksulfid-Schale hingegen ließ sich nicht durchführen ^[122]. Exemplarisch sind in Abbildung 15 UV-VIS-Spektren von InP-Partikeln, die bei 750 nm emittieren, gezeigt. Allerdings konnten diese InP-Kerne bislang nicht für den Transfer in Wasser genutzt werden. Bei dem Versuch, diese durch den Ligandenaustausch mit PEO_n(SH)₃X zu modifizieren, wurden signifikante Abnahmen der Quantenausbeute registriert. Die Spektren werden an dieser Stelle gezeigt, da die Möglichkeiten, die zu den gewünschten wasserlöslichen fluoreszierenden Quantenpunkten führen könnten, noch nicht vollständig ausgeschöpft wurden, weil das über den Umfang dieser Arbeit hinausgegangen wäre. Es soll an dieser Stelle lediglich auf das Potential dieses Systems hingewiesen werden.

In Abbildung 15 werden einige UV-VIS-Spektren von InP/ZnS-Partikeln und gezeigt. Bei diesen Spektren stellte sich heraus: Umso niedriger die Wellenlängen des Emissionsmaximums der zugrunde liegenden Partikel, desto stärker ausgeprägt sind die zugehörigen Absorptionsmaxima. Die Quantenausbeuten variierten zwischen 10 und 35 %.

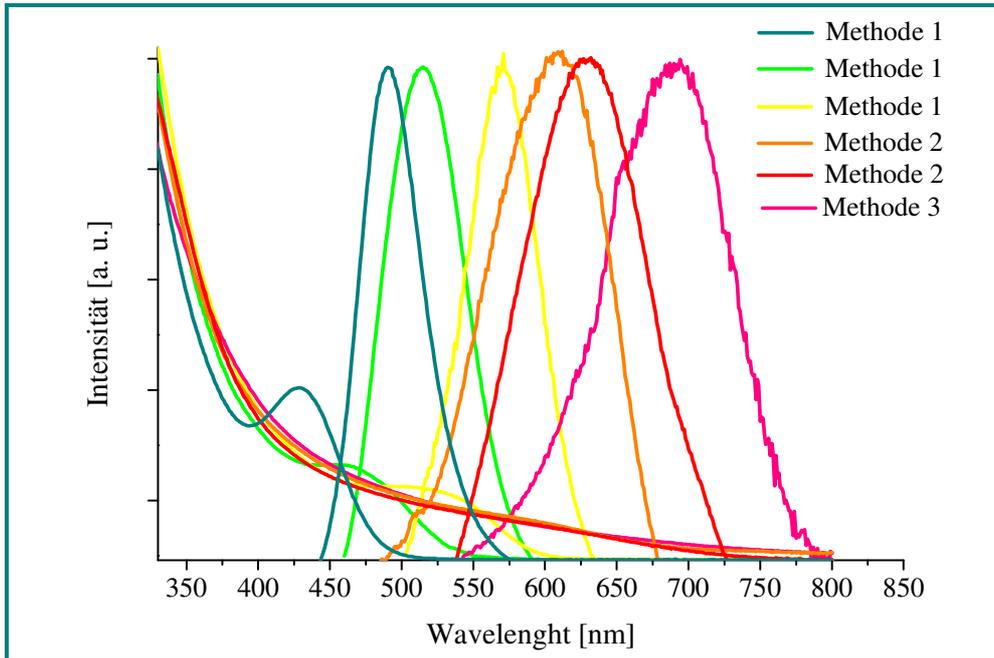


Abbildung 15: UV-VIS-Spektren, resultierend aus InP/ZnS unterschiedlicher Größe.

Die erhaltenen InP/ZnS-Quantenpunkte lassen sich auch durch gröÙenselektive Fällung in Fraktionen unterteilen, in denen die Partikel hinsichtlich ihrer Größe noch einheitlicher sind. Dies ist in Abbildung 16 dargestellt, die hier gezeigten UV-VIS-Spektren resultieren von Partikeln, die nach der Synthese gröÙenselektiv mit Toluol und Methanol gefällt wurden.

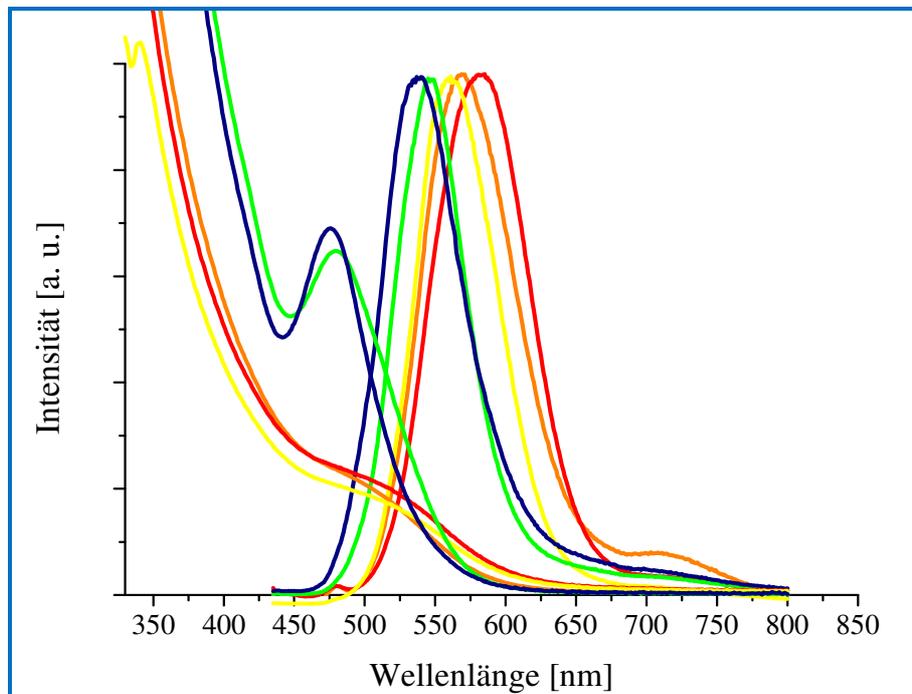


Abbildung 16: UV-VIS-Spektren von InP/ZnS nach gröÙenselektiver Trennung.

Im Folgenden sind unterschiedlich große InP/ZnS-Quantenpunkte in Chloroform gelöst. In der linken Abbildung 17 sind diese Proben in Quarzküvetten bei Tageslicht gezeigt. In der rechten Abbildung sieht man dieselben Partikel unter Ausschluss von Tageslicht und unter UV-Strahlung.

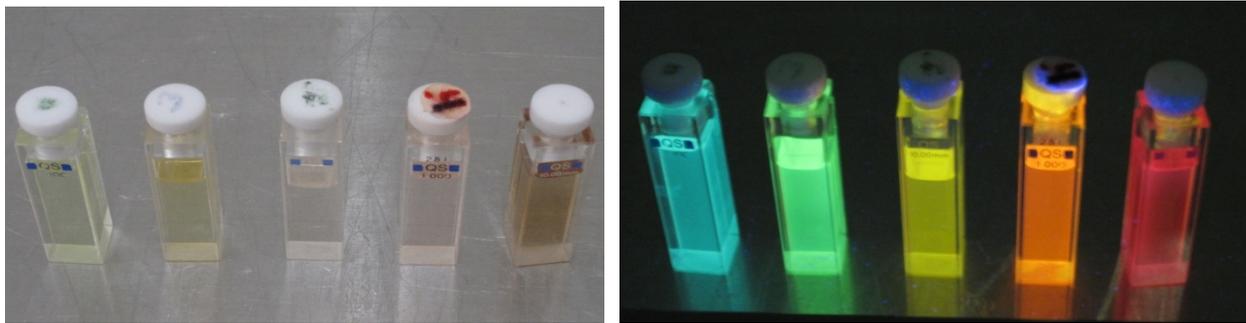


Abbildung 17: InP/ZnS in CHCl_3 bei Tageslicht (li.); unter Einwirkung von UV-Strahlung(re).

Nachfolgend ist exemplarisch ein Röntgendiffraktogramm von InP- und InP/ZnS-Quantenpunkten abgebildet. Sowohl makroskopisches als auch nanokristallines InP kristallisiert in der Zinkblende-Struktur aus und gehört zu der Raumgruppe F-43m, d. h. dass es sich dabei um ein kubisches Kristallsystem handelt. Demzufolge ist jedes P-Atom tetraedrisch von vier In-Atomen umgeben, und umgekehrt sind alle In-Atome ebenfalls von vier P-Atomen tetraedrisch koordiniert. Aus dem in Abbildung 18 dargestellten Röntgendiffraktogramm geht hervor, dass es sich um InP-Partikel handelt, da die Winkel der auftretenden Reflexe mit den charakteristischen Reflexen für h, k, l von makroskopischem Indiumphosphid aus der darunter in blau dargestellten Referenzkarte (PDF-Nr. 73-1983) übereinstimmen. Dieses Röntgendiffraktogramm resultiert aus InP-Partikeln, die mit Dodecylamin stabilisiert sind. Aus der Halbwertsbreite des Reflexes 220 ergibt sich nach der Debye-Scherrer-Gleichung (21) ein gemittelter Partikeldurchmesser von 2.7 nm. Aufgrund des geringen Partikeldurchmessers sind die auftretenden Reflexe einer erheblichen Verbreiterung unterworfen. Dieser Effekt wird im Allgemeinen auch verstärkt, wenn die zugrunde liegenden Quantenpunkte über hohe amorphe Anteile verfügen und nicht durchgehend kristallin sind. Beide Phänomene erschweren die Charakterisierung der InP-Nanokristalle und führen dazu, dass insbesondere die weniger intensiven Reflexe, die bei höheren Winkeln auftreten, vom Untergrund kaum zu unterscheiden sind. Die Bestimmung des durchschnittlichen Partikeldurchmessers der Nanokristalle ist daher mit einigen Fehlern behaftet. Bei dieser Methode werden tendenziell zu

kleine Kristallgrößen bestimmt, da durch dieses Verfahren lediglich die kristallinen Domänen in der Größenbestimmung erfasst werden können.

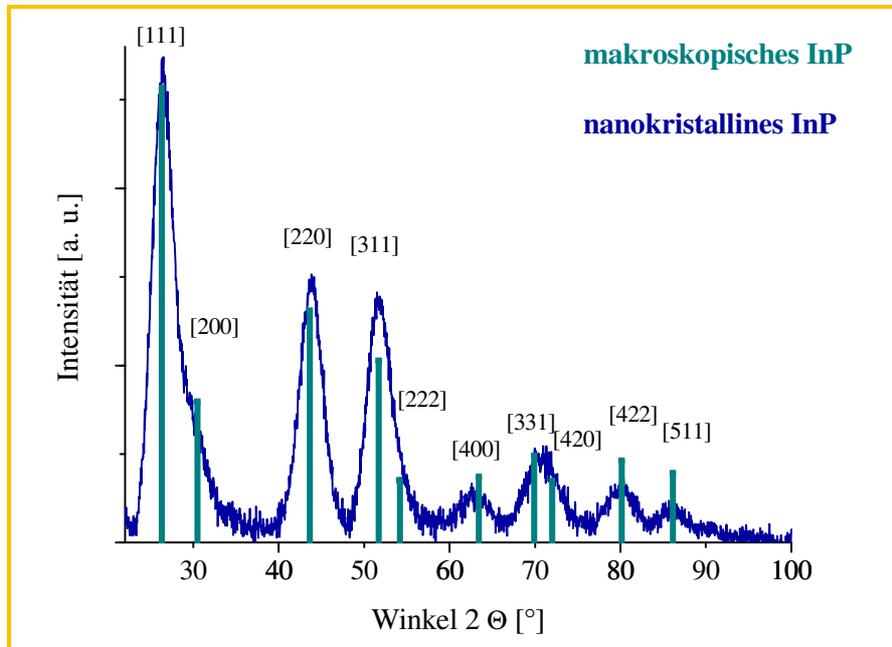


Abbildung 18: Röntgendiffraktogramm von nanokristallinem InP und Reflexe von makroskopischem InP.

Stellvertretend für die in der Arbeit hergestellten verschiedenen InP/ZnS-Quantenpunkte, ist in Abbildung 19 exemplarisch ein Röntgendiffraktogramm dargestellt. Wegen der besseren Übersichtlichkeit wurden lediglich die h, k, l Werte der wichtigsten Reflexe von ZnS eingezeichnet. Die entsprechenden Werte für InP sind bereits in Abbildung 18 angegeben.

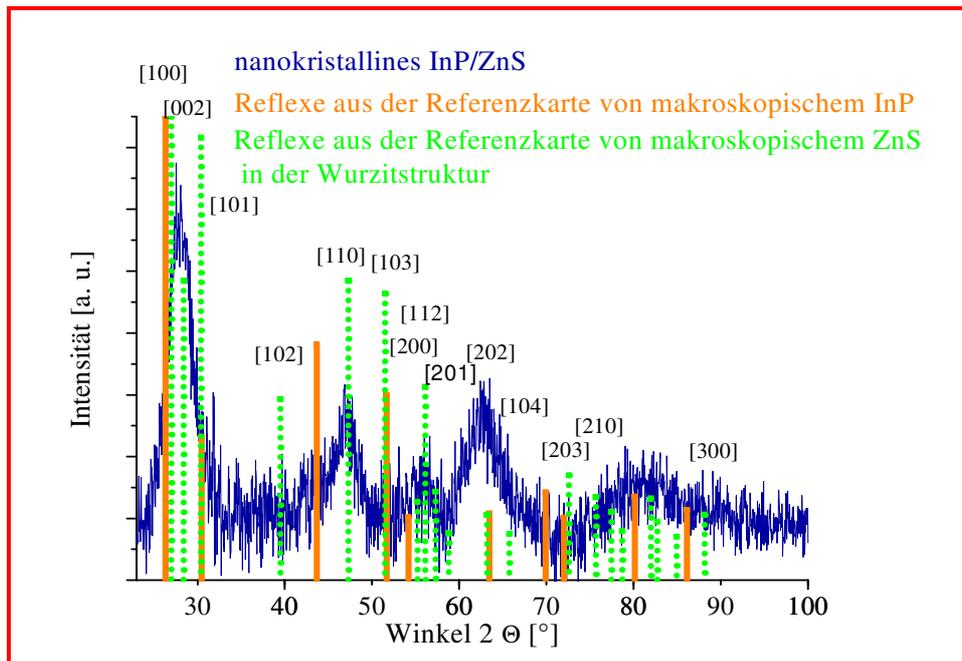


Abbildung 19: Röntgendiffraktogramm von InP/ZnS-Partikeln, mit Reflexen von makroskopischem InP und ZnS in der Wurzitstruktur aus den Referenzkarten.

Bei einem Vergleich zwischen den Reflexen aus der Referenzkarte von InP und ZnS (PDF-Nr. 01-075-1547) in der Wurzitstruktur und den Reflexen des Diffraktogramms der InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen geht hervor, dass die Reflexe recht gut zugeordnet werden können. Wie auch schon für den reinen InP-Nanokristall stimmen die ersten Reflexe mit den Reflexen des entsprechenden Makrokristalls überein. Dass die ZnS-Schale dieser Partikel in einer hexagonalen Struktur auf den Kern aufgewachsen wird, scheint zunächst erstaunlich, da sowohl ZnS-Nanopartikel im wässrigen Milieu als auch makroskopisches Zinksulfid für gewöhnlich in einer kubischen Zinkblende-Struktur auskristallisieren. Allgemein werden aber in Abhängigkeit von den verwendeten Liganden bei höheren Temperaturen stabile hexagonale Strukturen gefunden. Welche der beiden Kristalltypen entsteht, wird also vor allem durch kinetische Faktoren, aber auch von den koordinierenden Eigenschaften des Lösungsmittels und den Liganden beeinflusst. Offenbar wird die Struktur der Zinksulfidschale nicht zwangsläufig von der Kristallstruktur eines in Zinkblende kristallisierten InP-Partikels vorgegeben. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass sich beide Strukturen lediglich durch die Stapelabfolge voneinander unterscheiden und daher ein Übergang zwischen beiden Strukturen relativ leicht möglich ist ^[100]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde getestet, ob sich auch unter den vorherrschenden Bedingungen separates Zinksulfid bildet. Zu diesem Zweck wurden

Reaktionsbedingungen gewählt, die denen der InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen-Synthese entsprechen, mit dem Unterschied, dass die Precursor des Kerns der Reaktionslösung nicht zugesetzt wurden. Offensichtlich werden unter diesen Voraussetzungen keine ZnS-Partikel gebildet, denn weder im TEM noch im XRD können diese nachgewiesen werden.

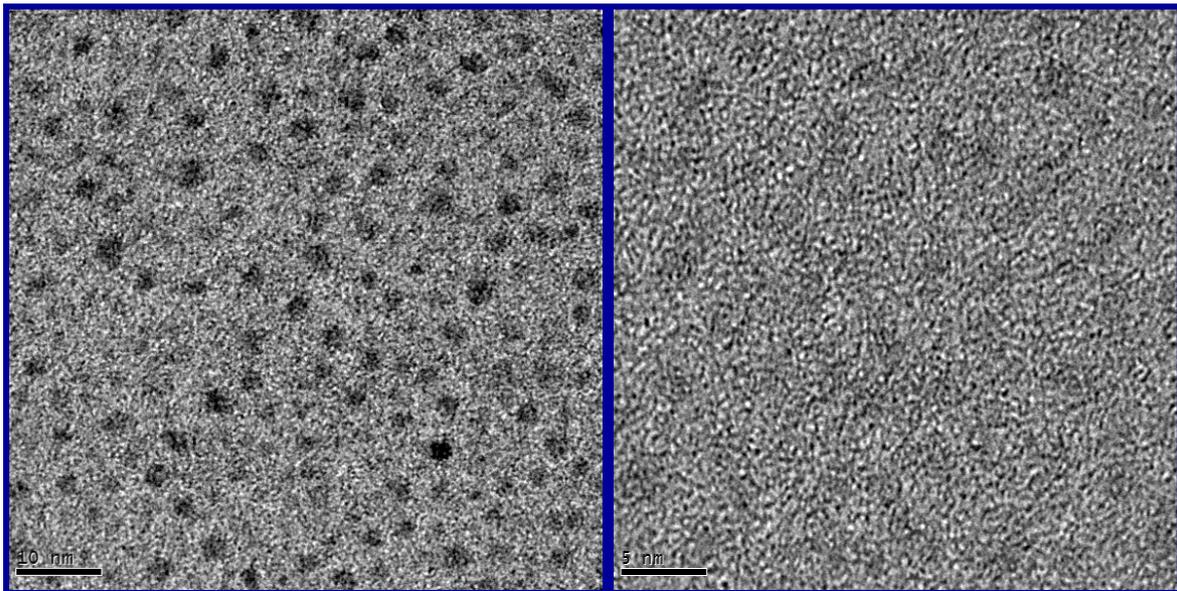


Abbildung 20: TEM-Aufnahmen von InP(Myristinsäure/Octylamin).

Abbildung 20 zeigt exemplarisch TEM-Bilder von InP-Partikeln, welche durch Myristinsäure und Octylamin stabilisiert sind. Die an dieser Stelle vorliegenden Teilchen weisen überwiegend einen Partikeldurchmesser auf, der zwischen zwei und drei Nanometern liegt. Die vorliegende Probe kann nicht als vollständig monodispers beschrieben werden. Die Morphologie, lässt sich als näherungsweise sphärisch beschreiben. Ein Problem, welches häufig bei III-V-Halbleiter-Nanomaterialien beobachtet wird, ist, dass die Quantenpunkte bei dieser Charakterisierungsmethode häufig kontrastarme TEM-Bilder liefern, wie dies auch bei den gezeigten Nanokristallen der Fall ist.

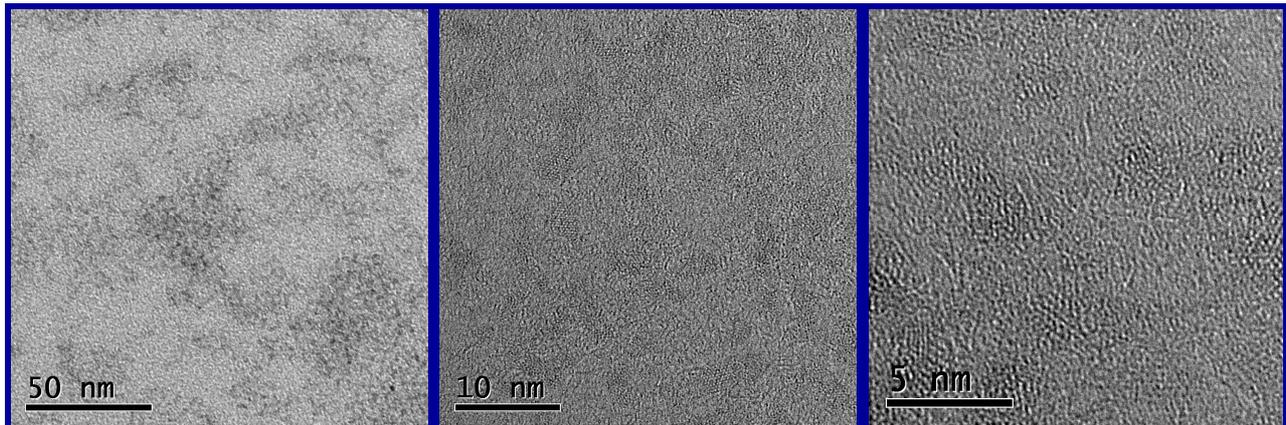


Abbildung 21: TEM-Aufnahmen von InP/ZnS(Myristinsäure/Octylamin) bei unterschiedlicher Vergrößerung.

Bei nanokristallinen-Materialien, die bei TEM-Aufnahmen einen starken Kontrast bewirken, einen möglichst großen Partikeldurchmesser aufweisen und über eine Schale verfügen, die mehrere Monolagen umfasst, stellt die Transmissionselektronenmikroskopie eine geeignete Methode zur Charakterisierung der Schale dar. Dies kann vor allem durch einen Vergleich zwischen den Partikeldurchmessern von Kern und Kern-Schale-Teilchen vor und nach der Beschichtung erfolgen. Dabei lassen sich sowohl isotrop als auch anisotrop gewachsene Schalen identifizieren.

Aus den in Abbildung 21 dargestellten TEM-Aufnahmen, die von InP/ZnS-Partikeln resultieren, die durch Myristinsäure und Octylamin stabilisiert sind, geht hervor, dass sich kristalline Bereiche andeuten, der Durchmesser der Teilchen jedoch mit 2-3 nm sehr klein ist und die Probe im TEM daher kontrastarm erscheint. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Schlussfolgerungen der XRDs, welche bereits auf die kleinen kristallinen Domänen und kleinen Partikeldurchmesser hinweisen. Die genannten Eigenschaften der zugrunde liegenden Partikel führen dazu, dass diese Methode keinen eindeutigen Nachweis für die Bildung einer ZnS-Schale liefern kann. Als eindeutigen Nachweis für die Bildung einer ZnS-Schale können aber die in Abbildung 15 gezeigten Emissionsspektren betrachtet werden, da die reinen InP-Kerne im Gegensatz zu den InP/ZnS-Quantenpunkten nicht fluoreszieren.

Obwohl sich die verwendeten Partikel aufgrund ihrer Größe und der intrinsischen Eigenschaften mit Hilfe von TEM und XRD nur schwer charakterisieren lassen, bieten die hier verwendeten Nanokristalle einige für biologische Anwendungen relevante Vorteile. Die kleineren Quantenpunkte

fürten zu höheren Quantenausbeuten als die vergleichsweise größeren Partikel, die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt wurden, und sind schon aus diesem Grund für diese Applikationen attraktiv. Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus den geringeren Partikeldurchmessern in Hinblick auf die Toxizität. M. G. Bawendi et al. ^[99] berichteten, dass drei Kriterien hinsichtlich der potentiellen *in vivo* Anwendung für therapeutische und diagnostische Zwecke zu berücksichtigen seien, um das Gefährdungspotential von Nanopartikeln für Patienten in einem unbedenklichen Bereich zu halten. An dieser Stelle soll auf nur eines der Kriterien hingewiesen werden: Der hydrodynamische Durchmesser der Partikel sollte möglichst klein sein. Dieser Bedingung kann nur dann Folge geleistet werden, wenn der Durchmesser der hydrophoben Nanopartikel ebenfalls sehr klein ist. Bei sphärischen Nanokristallen ist die Ursache hierfür vor allem bei der Ausscheidung aus dem Organismus zu sehen. Prinzipiell gibt es für Nanopartikel zwei Sekretionswege. Kleinere Partikel lassen sich innerhalb kürzester Zeit über die Harnwege abtransportieren, wohingegen größere Teilchen von Makrophagen aufgenommen und in der Leber gespeichert werden. Zweiteres führt zu einer längeren Körperexposition, wodurch die Toxizität erhöht wird. Diese Argumente sprachen dafür, die kleineren InP/ZnS-Partikel trotz der erschwerten Charakterisierbarkeit auch für die folgenden Untersuchungen einzusetzen.

4.2 Synthese und Charakterisierung PEO_n(SH)₃OH-Liganden

Zunächst wurden mehrzählige Liganden mit unterschiedlichen Kettenlängen synthetisiert, um den Einfluss der Kettenlänge auf die Fluoreszenzeigenschaften und Stabilität der III-V-Halbleiter-Nanopartikel zu untersuchen. Für die Herstellung der Liganden wurde auf Polyethylenoxid-Monoacrylate mit folgenden Molmassen zurückgegriffen: 400, 1000, 2000 und 4000 g/mol (Monomer-Polymer, Trevose, PA). Dabei wurde das PEO-Monoacrylat mit dem als Nucleophil dienenden Pentaerythritol-tetrakis(3-mercaptopropionat) (PET-3M), welches über vier Ankergruppen verfügt, umgesetzt. Die Umsetzung erfolgte in Chloroform mit *N*-Ethyl-diisopropylamin als Katalysator. Die zugrunde liegende Reaktionsgleichung wird in Abbildung 22 dargestellt.

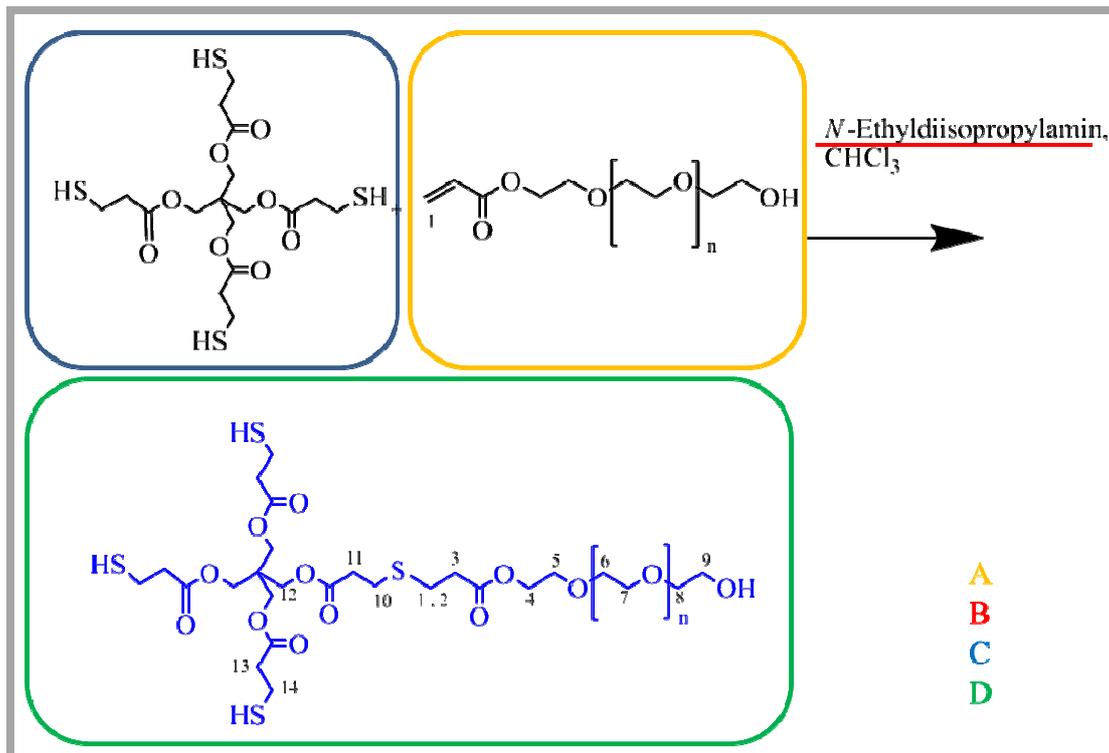
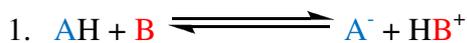


Abbildung 22: Reaktionsgleichung für die Umsetzung von Pentaerythritoltetrakis-(3-mercapto-propionat) mit PEO_n-Monoacrylat mit *N*-Ethyl-diisopropylamin zu PEO_n(SH)₃OH.

Die Reaktivität des PEO-Monoacrylats verringert sich mit abnehmender Molmasse. Dies ist der zugrunde liegenden Kinetik der Reaktion zuzuschreiben. Es handelt sich bei dieser Reaktion um eine Michael-Typ-Synthese, welche sich durch die Reaktionsabfolge Gleichung 13 und 14 beschreiben lässt.



Dabei liegt eine Reaktion zweiter Ordnung mit vorgelagertem Gleichgewicht vor, welches sich durch das nachfolgende Geschwindigkeitsgesetz beschreiben lässt:

$$v = d[\text{D}]/dt = k * [\text{A}^-][\text{C}] \quad \text{Gleichung 14}$$

Ein Merkmal der Polymere ist, dass diese in Lösung nicht linear, sondern geknäult vorliegen,

wodurch die terminalen funktionellen Gruppen nicht vollständig für die Bindung mit den Reaktionspartnern zur Verfügung stehen. Dadurch reduziert sich die tatsächliche Konzentration $[c]$ zu c_{eff} , welche den Anteil der funktionellen Gruppen angibt, der zur Reaktion zur Verfügung steht. Dadurch verringert sich auch die Reaktionsgeschwindigkeit. Unter Berücksichtigung folgender Parameter wird eine vollständige Umsetzung dennoch begünstigt.

1. Indem die Konzentration des Reaktanden $[A]$ erhöht wird, oder zu diesem Zweck eine stärkere Lewis-Base Einsatz findet.
2. Indem k , die Geschwindigkeitskonstante, durch Temperaturerhöhung vergrößert wird.
3. Indem eine längere Reaktionszeit bei der Synthese eingeplant wird.

Diese Parameter müssen umso stärker gewichtet werden, desto größer die molare Masse des Polymers ist ^[123].

4.2.1 Modifizierung der terminalen funktionellen Gruppe von $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$

Wie bereits im Theorieteil erwähnt, können Nanokristalle für biologische Anwendungen genutzt werden, wenn die Liganden in der äußeren Sphäre der Ligandenhülle über reaktive funktionelle Gruppen verfügen, welche zur Kopplung an Biomoleküle, wie z. B. Antikörper, geeignet sind. Die Reaktivität der OH-Gruppen ist so gering, so dass Umfunktionalisierungen durchgeführt werden müssen. Dieser Schritt kann nicht im Anschluss an die Michael-Reaktion erfolgen, da die Thiolgruppen, welche für die Bindung des Liganden an den Nanokristall verantwortlich sind, aufgrund ihrer höheren Reaktivität mit den terminalen Hydroxygruppen in Konkurrenz treten. Dies kann umgangen werden, indem das PEO-Monoacrylat bereits vor der Ligandensynthese modifiziert wird. Die neue terminale funktionelle Gruppe lässt sich dann beispielsweise durch Veresterung mit Bernsteinsäureanhydrid einführen.

4.2.1.1.1 Veresterung mit Bernsteinsäureanhydrid

Die Veresterung mit Bernsteinsäureanhydrid stellt eine relativ milde Methode dar, um die terminale Hydroxy-Gruppe in eine endständige Carboxylgruppe zu überführen. Dabei handelt es sich um eine Ringöffnungsreaktion, da Bernsteinsäureanhydrid das Anhydrid einer Dicarbonsäure darstellt, wobei *N,N*-Dimethylaminopyridin (DMAP) als Katalysator verwendet wird. Die Reaktionsgleichung dieser Umsetzung ist in Abbildung 23 wiedergegeben ^[24].

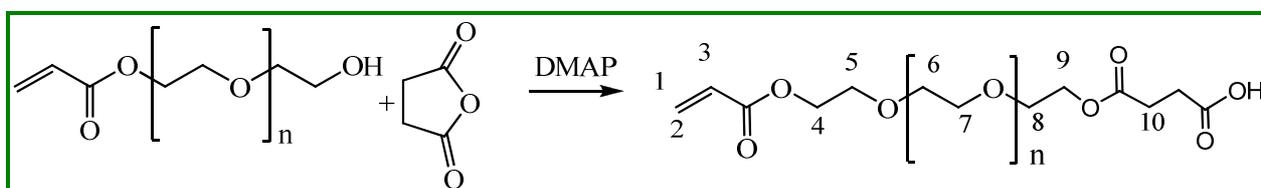


Abbildung 23: Veresterung von PEO-Monoacrylat mittels Bernsteinsäureanhydrid und DMAP.

Die Charakterisierung des Liganden erfolgte mit Hilfe der ¹H-NMR-Spektroskopie. Die Nummerierung der Produkte in Abbildung 23 und 24 soll die Zuordnung der Protonen erleichtern, die im ¹H-NMR-Spektrum zu Signalen führen. Die Umsetzung des PEO₁₀₀₀-Monoacrylats zum PEO₁₀₀₀(SH)₃X-Liganden, lässt sich am einfachsten über die charakteristischen Signale der drei Protonen des Acrylats, die zwischen 5.8 und 6.5 ppm liegen und im Spektrum (Abbildung 24) mit 1, 2 und 3 gekennzeichnet sind, verfolgen. Im oberen Spektrum sind die Signale in diesem Bereich nahezu verschwunden, was dafür spricht, dass die Umsetzung der Reaktionsgleichung, die in Abbildung 22 beschrieben wurde, erfolgreich war. Das untere ¹H-NMR-Spektrum resultiert aus dem PEO₁₀₀₀CO₂H-Monoacrylat. Hier gilt als Nachweis für die erfolgreiche Veresterung des PEO-Monoacrylats mit der Bernsteinsäure das Vorliegen des Multipletts bei 2.7 ppm. Weiterhin sind für das Molekül die Signale 1, 2 und 3 des Monoacrylats charakteristisch.

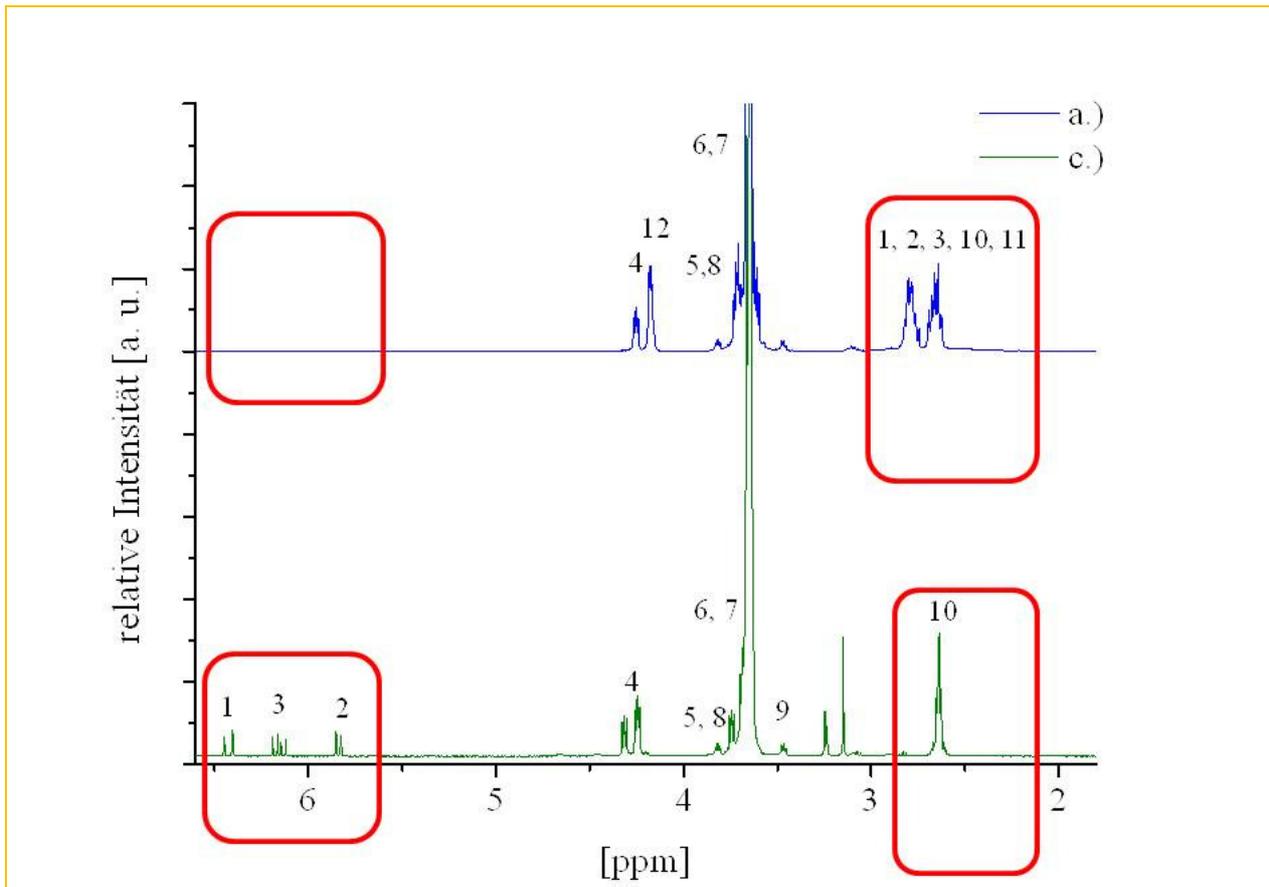


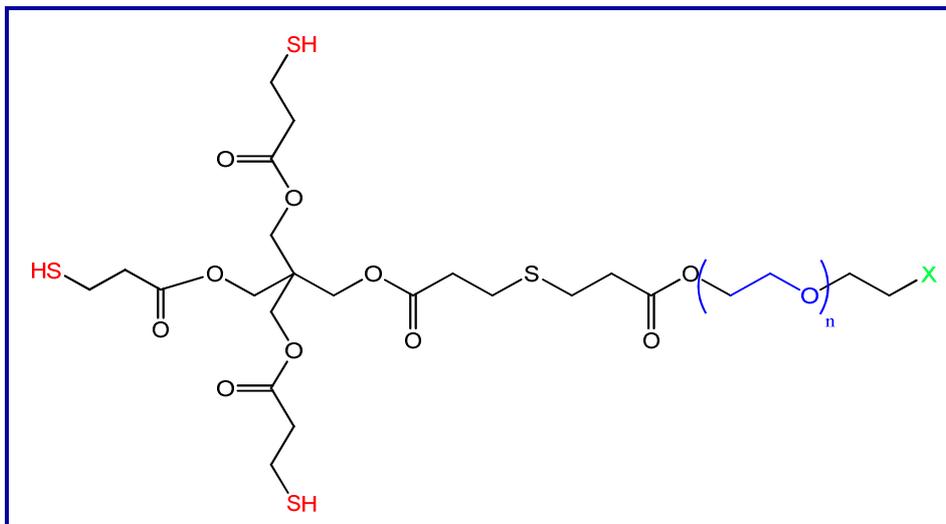
Abbildung 24: ¹H-NMR-Spektren von a.) PEO₁₀₀₀(SH)₃OH; und b.) PEO₁₀₀₀CO₂H-Monoacrylat.

Es konnte mittels NMR gezeigt werden, dass sich sowohl die Umsetzung des PEO_n-Monoacrylats zum PEO_n(SH)₃OH-Liganden erfolgreich durchführen lässt als auch die Veresterung von PEO_n-Monoacrylat mittels Bernsteinsäureanhydrid und DMAP.

4.3 Ligandenaustausch mit PEO_n(SH)₃X

Die Ligandenaustauschreaktionen wurden hauptsächlich mit InP/ZnS-Quantenpunkten durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Liganden hergestellt (siehe Tabelle 1). Bei den dieser Arbeit zugrunde liegenden Liganden handelte es sich um dreizählige Thiol-Liganden, da sich bereits im Fall der CdSe/CdS/ZnS-Nanokristalle nachweisen ließ, dass sie zu einer besseren Stabilisierung führen, als wenn diese mit einzähligen oder zweizähligen Liganden stabilisiert

sind ^[24, 123]. Die Wasserlöslichkeit wird durch den mittleren Teil des Moleküls bewirkt, in diesem Fall also durch die Polyethylenoxid-Einheit. Um herauszufinden, ob durch Verwendung von Liganden mit unterschiedlichen Kettenlängen unter verschiedenen Bedingungen voneinander abweichende Effekte beobachtet werden, wurden Liganden mit unterschiedlichen molaren Massen hergestellt. Als für Kopplungsreaktionen relevante funktionelle Gruppen fanden Hydroxy- und Carboxy-Gruppen ihren Einsatz. Die Strukturformeln dieser Polymere sind in Abbildung 25 dargestellt.



X = Funktionelle Gruppe in der äußeren Sphäre der Ligandenhülle
n = Anzahl der PEO-Einheiten in dem mittleren Teil des Moleküls
SH = Ankergruppen, verantwortlich für die Kopplung an die Nanokristalle

Abbildung 25: Strukturformel der $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden.

In Tabelle 1 sind die in dieser Arbeit verwendeten Liganden dargestellt.

Tabelle 1: Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten PEO_n(SH)₃X-Liganden.

| PEO4000(SH) ₃ OH | PEO4000(SH) ₃ CO ₂ H |
|-----------------------------|--|
| PEO2000(SH) ₃ OH | PEO2000(SH) ₃ CO ₂ H |
| PEO1000(SH) ₃ OH | PEO1000(SH) ₃ CO ₂ H |
| PEO400(SH) ₃ OH | PEO400(SH) ₃ CO ₂ H |

4.3.1 Ligandenaustausch und Transfer der Partikel ins wässrige Medium

Der Ligandenaustausch erfolgte in Chloroform, in dem die entsprechende Menge an Ligand eingewogen und die notwendige Menge an InP/ZnS-Kristallen erheblich verdünnt und in Lösung dazugegeben wurde. Anschließend wurden die Quantenpunkte zur Beseitigung des nicht an die Partikel koordinierten Stabilisators zwei- bis dreimal mit Heptan gefällt und zentrifugiert. Die Abtrennung größerer Aggregate erfolgt dadurch, dass die modifizierten Partikel eine größere Dichte aufweisen als die freien Liganden und daher durch das Zentrifugieren schneller auf den Grund sedimentieren ^[124, 125].

Die InP-Quantenpunkte wurden nach der Synthese nur ein Mal aufgearbeitet, da sich gezeigt hatte, dass man, wenn zu häufige Reinigungsschritte vor dem Ligandenaustausch eingeschoben werden, deutlich geringere Quantenausbeuten erhält.

Die Stabilisatoren wurden in der Regel direkt vor dem Ligandenaustausch hergestellt, da es bei langfristiger Lagerung vermutlich zur Ausbildung von Disulfidbrücken zwischen den Thiolgruppen kommt, wodurch die Liganden sich nicht mehr an die Oberfläche der Nanokristalle koordinieren lassen ^[24, 126].

Der Ligandenaustausch lässt sich also am besten durchführen, wenn der Ligand unmittelbar vor dem Austausch hergestellt oder unter geeigneten Bedingungen gelagert wird. Dabei sollte die entsprechende Menge als Feststoff abgewogen und zeitgleich mit den Partikeln in Chloroform gelöst werden.

4.3.2 Verhältnis von InP/ZnS-Quantenpunkten zu Ligand

Nachdem einige Vorversuche gezeigt hatten, dass sich InP/ZnS-Nanokristalle im Prinzip durch Zugabe aller hergestellten Liganden (Tabelle 1) ins wässrige Medium überführen lassen, ohne dass zu starke Verluste bezüglich der Quantenausbeute zu verzeichnen waren, war es notwendig, empirisch das ideale Verhältnis zwischen InP/ZnS-Quantenpunkten und der zugesetzten Menge an Liganden zu ermitteln. Zu diesem Zweck wurde der Ligand in unterschiedlichen Überschüssen relativ zu der Partikelkonzentration eingesetzt. Wie in Abschnitt 3.10 beschrieben, sollte dabei bedacht werden, dass es sich bei der Koordination der Liganden an die Oberfläche um ein dynamisches Gleichgewicht handelt. Dabei fällt das Gleichgewicht umso stärker zugunsten der Liganden, die an die Oberfläche gebunden sind, aus, desto größer der Überschuss ist. Die Konzentration von InP wurde mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes über die optische Dichte mit Hilfe der Absorptionsspektroskopie berechnet. Der hierfür notwendige molare Extinktionskoeffizient wurde aus Arbeiten von D. V. Talapin entnommen ^[118]. Dabei wurden folgende Verhältnisse getestet; 50000, 15000, 10000, 5000, 1500. Im Falle des 10000- und 1500-fachen Überschusses wurde ein zusätzliches Experiment gemacht. Dabei wurde den Liganden die gleiche Menge an Nanokristallen zugesetzt, mit dem Unterschied, dass diese in einem größeren Volumen an Chloroform gelöst wurden. Hierbei sollte getestet werden, ob die Koordination der Liganden an die Oberfläche der Partikel anders verläuft, wenn den Partikeln ein größerer Raum für den Austausch zur Verfügung gestellt wird. Anschließend erfolgte die Aufreinigung durch zwei- bis dreimaliges Ausfällen mit Chloroform, nach dem Trocknen im N₂-Strom wurden die Partikel in Wasser gelöst. Die Fluoreszenzquantenausbeuten des InP/ZnS wurden einmal vor und nach dem Ligandenaustausch in Chloroform und nach dem Transfer ins wässrige Medium gemessen. In Abbildung 26 sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihe graphisch dargestellt. Aufgetragen werden

hier die relativen Fluoreszenzquantenausbeuten der Partikel in den untersuchten Medien. Diese wurden auf die Werte der Quantenausbeute vor dem Ligandenaustausch normiert. Die unterschiedlichen Überschüsse werden in der Darstellung durch die unterschiedlichen Farben gekennzeichnet. Die Versuche wurden in einer Dreifachbestimmung durchgeführt, dargestellt sind an dieser Stelle in der Abbildung die Mittelwerte.

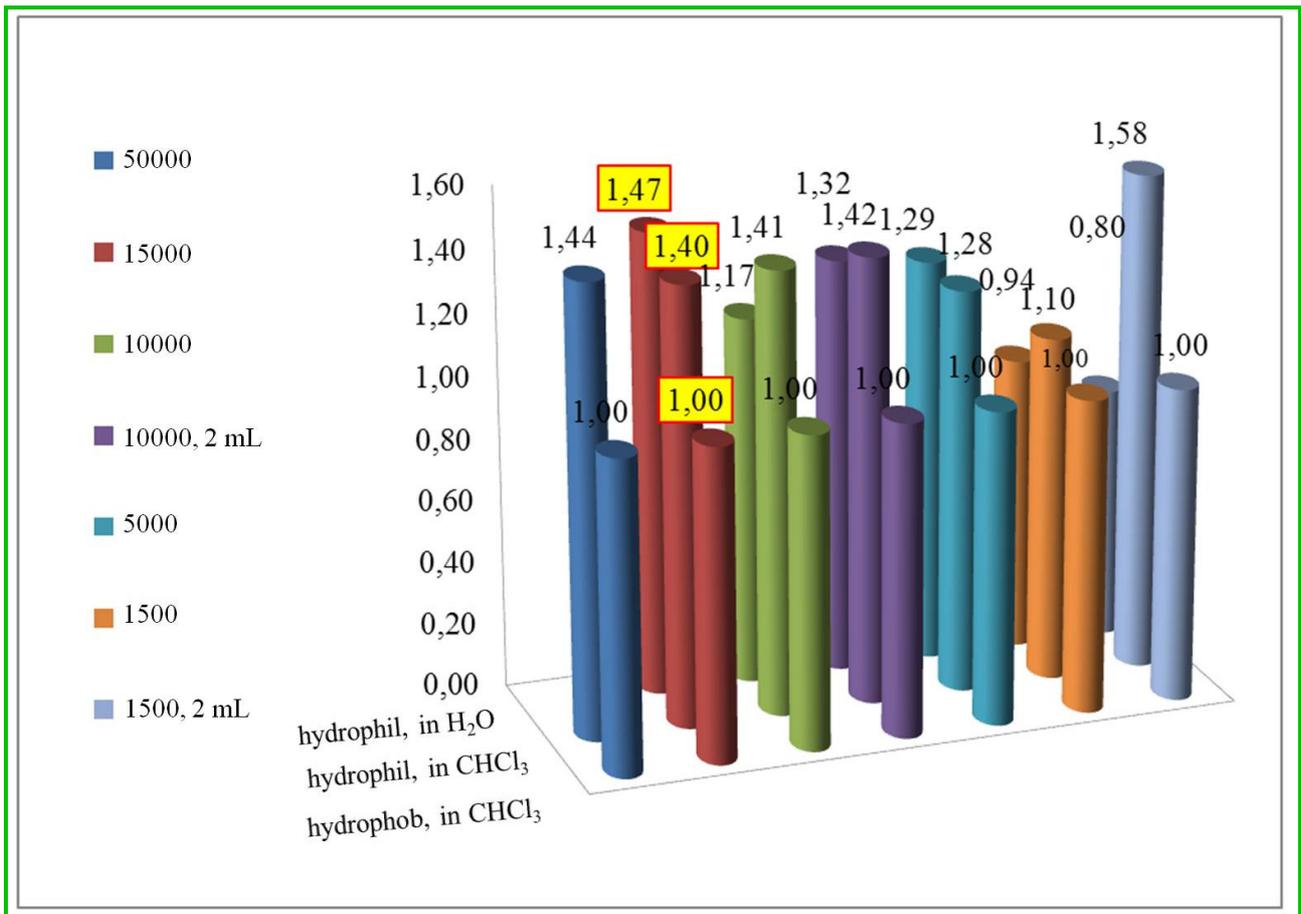


Abbildung 26: Untersuchung der Quantenausbeute bei Zugabe unterschiedlicher Verhältnisse zwischen InP/ZnS Partikeln und PEO_n(SH)₃OH-Liganden in den verschiedenen Medien.

Bei den Experimenten hatte sich herausgestellt, dass die besten Quantenausbeuten erhalten werden, wenn ein Verhältnis von 15000 eingesetzt wird. Unter diesen Bedingungen lässt sich die Emissionsintensität derart steigern, dass sie erstaunlicherweise in Wasser um 50 % höher ist, als vor dem Ligandenaustausch in Chloroform. Wird das Verhältnis noch weiter gesteigert, vergrößert sich die gemessene Fluoreszenzintensität nicht weiter, da unter diesen Voraussetzungen eine milchig trübe Lösung erhalten wird, die eine Bestimmung der optischen Eigenschaften nicht zulässt, da es zu erheblicher Streuung bei Bestrahlung der Probe kommt, weshalb der Wert an dieser Stelle in der

Darstellung nicht angegeben werden konnte. Wird das Verhältnis unter einen Wert von 1500 gebracht, geht dies erheblich zu Lasten der Löslichkeit. Die Partikel lassen sich nach dem Ausfällen mit Heptan, kaum in die organische Phase überführen. Verstärkt gilt dies aber auch bei dem Versuch, sie in Wasser zu lösen.

Der Versuch, den Austausch mit den dreizähligen Stabilisatoren unter Bereitstellung eines größeren Volumens durchzuführen, führte zu dem Ergebnis, dass dieser Parameter im Wesentlichen einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Effizienz des Austausches ausübt. Ein Vergleich der Quantenausbeute in Wasser von Partikeln, bei denen der Austausch in einem größeren Volumen erfolgte, mit denen in kleinerem Volumen zeigt, dass nur geringe Abweichungen vorliegen.

Offensichtlich verringern sich durch den Ligandenaustausch die an der Oberfläche befindlichen Fehlstellen. Die Koordination der Liganden bewirkt also eine effizientere Absättigung ungesättigter Valenzen als die zuvor gebundenen hydrophoben Liganden. Dies scheint bereits nach dem Ligandenaustausch in Chlorform der Fall zu sein, wodurch der Anstieg in diesem Medium bewirkt wird.

4.3.3 Charakterisierung der InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X)-Quantenpunkte

In Abbildung 27 sind die Absorptions- und Emissionsspektren von InP/ZnS-Nanopartikeln vor und nach dem Ligandenaustausch mit PEO₁₀₀₀(SH)₃OH beispielhaft abgebildet ^[24].

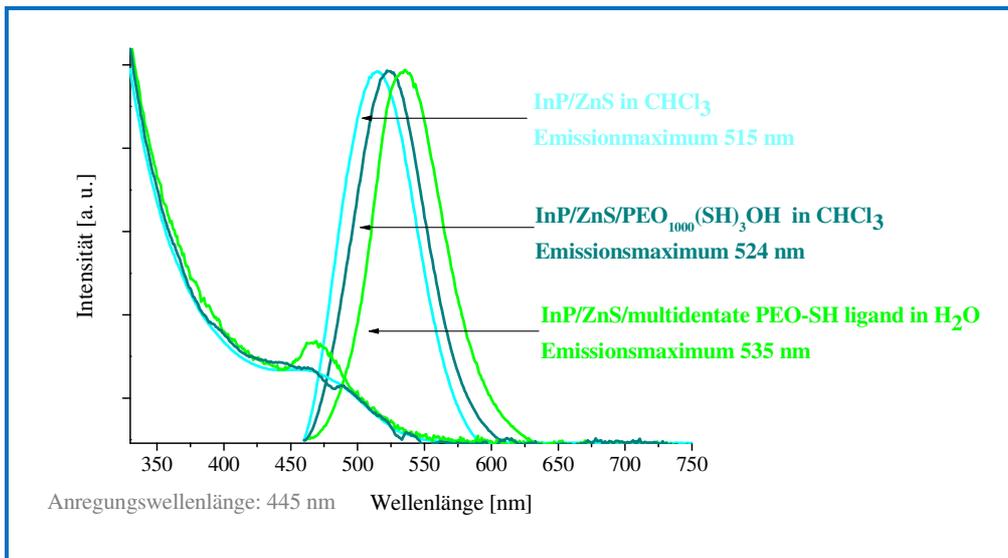


Abbildung 27: Emissions- und Absorptionsspektren von hydrophoben und hydrophilen InP/ZnS-Partikeln ^[24].

Bei Betrachtung der UV-VIS-Spektren wird deutlich, dass der Ligandenaustausch eine etwas größere Auswirkung auf die Form der Absorptionsspektren als auf die Form der Emissionsspektren hat. Ein Vergleich zwischen den Absorptionsspektren in den drei untersuchten Medien zeigt, dass das Absorptionssignal nach dem Ligandenaustausch in Wasser ein etwas stärker ausgeprägtes Absorptionsmaximum aufweist. Für die Interpretation dieses Phänomens besteht noch weiterer Klärungsbedarf. Eine mögliche Erklärung könnte allerdings die bei InP/ZnS-Quantenpunkten stärker als bei CdSe-basierten Partikeln auftretende Wechselwirkung zwischen den Orbitalen der Liganden und den Partikeln sein.

Auffällig ist weiterhin, dass nach jedem Schritt eine leichte Verschiebung des Emissionsmaximums zu größeren Wellenlängen im Spektrum beobachtet werden kann. Diese Verschiebung ist wohl auf die Wirkung verschiedener Effekte zurückzuführen. Bei dem Ligandenaustausch von Myristinsäure und Stearat gegen $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ werden auch die funktionellen Gruppen, mit der die Liganden an die Oberfläche koordinieren, ausgetauscht. Dabei werden Carboxygruppen gegen Thiolgruppen substituiert. Für den Nanokristall resultieren dadurch zwei Änderungen, zum **einen** kann sich der Abstand zwischen den Netzebenen im Kristall verändern, d. h. es kann zu einer Stauchung oder Streckung innerhalb des Kristalls kommen. Dies kann in einem Nanokristall zu einer Veränderung der Aufspaltung der elektronischen Energieniveaus führen. Des Weiteren ändert sich durch den Ligandenaustausch die Polarität des Quantenpunktes, d. h. es ändert sich die Dielektrizitätskonstante der Partikel. Dadurch können sich die elektrischen Dipole des

Lösungsmittels unterschiedlich stark auf das Exzitons auswirken. Beide Effekte könnten die Ursache für die Verschiebung zu höheren Wellenlängen nach dem Ligandenaustausch in Chloroform sein. Bei Betrachtung der Spektren fällt auf, dass es auch nach dem Wechsel des Lösungsmittels zu einer Verschiebung des Emissionsmaximums kommt. Dies könnte darin begründet sein, dass die elektrischen Dipolmomente der beiden Lösungsmittel voneinander abweichen und sich in unterschiedlichem Maße auf das elektrische Feld des gebildeten Exzitons innerhalb des Partikels auswirken können. Dabei wird auch vom solvatochromen Effekt gesprochen [127].

Nachfolgend wird in Abbildung 28 ein Foto der InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH)-Quantenpunkte unterschiedlichen Partikeldurchmessers in Wasser unter UV-Beleuchtung gezeigt. Anhand der Abbildung wird deutlich, dass sich der Ligandenaustausch auch an unterschiedlich großen InP/ZnS-Nanopartikeln durchführen lässt, da die zugrunde liegenden Partikel Chargen entstammen, die Quantenpunkte unterschiedlicher Größen enthielten.

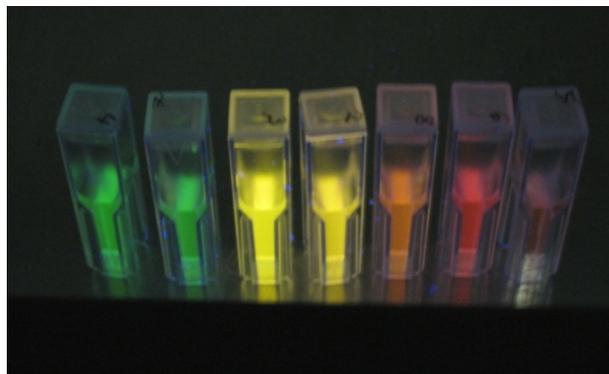


Abbildung 28: Fotos von hydrophilen InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH) unter UV-Bestrahlung.

In Abbildung 29 ist die DLS-Analyse von InP/ZnS(PEO₁₀₀₀(SH)₃OH) nach der Aufreinigung über HPLC gezeigt.

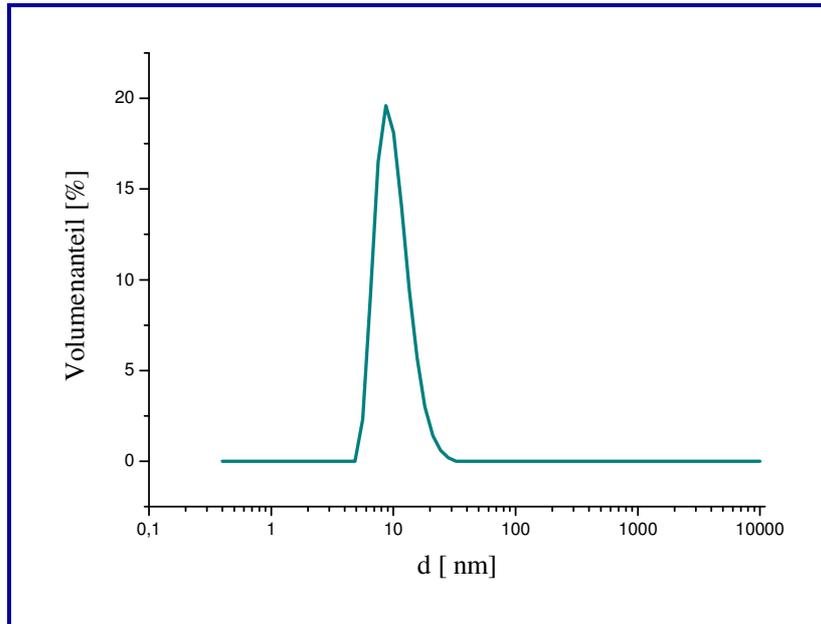


Abbildung 29: DLS-Volumenverteilung von InP/ZnS(PEO₁₀₀₀(SH)₃OH) in Wasser.

Aus der DLS-Verteilung geht hervor, dass sich nach der Aufarbeitung über HPLC InP/ZnS-Quantenpunkte isolieren ließen, deren durchschnittlicher hydrodynamischer Durchmesser sich auf 10 nm belief. Die Säule der HPLC wurde vor der Trennung mit FCS als Standard kalibriert, sodass eine Kalibrierkurve erhalten wurde. Mit Hilfe dieser Kurven lassen sich ebenfalls die Größen der Partikel in den einzelnen Fraktionen bestimmen. Die hierbei berechneten Werte für die InP/ZnS-Quantenpunkte korrelieren mit denen, die über die DLS-Analyse ermittelt wurden.

Der Transfer der Quantenpunkte in Wasser ließ sich auch mit den übrigen PEO-Polymeren (siehe Tabelle 1) erfolgreich durchführen. Es ließen sich InP/ZnS-Quantenpunkte unterschiedlicher Größe über diese Methode in Wasser überführen. Dabei wurden wasserlösliche fluoreszierende Nanopartikel erhalten. Im Fall der PEO_n(SH)₃X-Liganden mit $n = 350$ und 400 mussten allerdings doppelte Mengen an Liganden zugesetzt werden, um diese in Wasser lösen zu können. Die erhaltenen Fluoreszenzquantenausbeuten variierten dabei zwischen 10 und 35 %. Welche Werte letztendlich erhalten wurden, hing dabei maßgeblich von der Quantenausbeute der hydrophoben InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen ab. Es konnte gezeigt werden, dass sich der Ligandenaustausch auch auf die Form der UV-VIS-Spektren auswirkt. Mittels HPLC lassen sich einzelne Quantenpunkte isolieren, die über hydrodynamische Radien von ca. 10 nm verfügen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden, wie im Aufgabenteil erläutert, auch andere Methoden für den Transfer der InP/ZnS-

Quantenpunkte erprobt. Auch die Verwendung dieser amphiphilen Moleküle führte zu wasserlöslichen und fluoreszierenden Quantenpunkten, wobei die Quantenausbeuten in Wasser bei 5 % lagen. Es ist davon auszugehen, dass sich diese durch einige Optimierungen weiter steigern lassen. Die Ergebnisse hierzu finden sich in den Kapiteln 4.4, 4.5 und 4.6. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt werden aber über den Ligandenaustausch mit den $\text{PEO}_n(\text{SH})_3$ -Liganden erheblich bessere Ergebnisse erzielt. Daher wurden die folgenden Untersuchungen bezüglich der Stabilität unter biologisch relevanten Gesichtspunkten lediglich mit diesen hydrophoben InP/ZnS-Quantenausbeuten ausgeführt.

4.3.4 Stabilitätstests in unterschiedlichen Pufferlösungen

Um Nanokristalle für biologische Anwendungen nutzen zu können, sollten diese in biologisch relevanten Medien stabil sein, nicht agglomerieren oder aus der Lösung ausfallen. Des Weiteren sollte sich die Fluoreszenz in den verschiedenen Lösungsmitteln nicht verringern.

Um zu überprüfen, ob diese Anforderungen auch von InP/ZnS-Partikeln erfüllt werden, wurden diese ins wässrige Medium überführt, mittels Ultrazentrifugation gereinigt und nachfolgend den entsprechenden Pufferlösungen zugesetzt. Die Quantenpunkte wurden in den UV-VIS-Küvetten zu 2 mL Pufferlösung gegeben, sodass jeweils eine Konzentration von $0.27 \mu\text{mol/L}$ erhalten wurde. In Tabelle 2 sind die verwendeten Pufferlösungen aufgelistet. Dabei handelt es sich um die für biologische Anwendungen gängigsten Medien, deren detaillierte Zusammensetzungen im Experimentalteil (Abschnitt 6.6.2) aufgeführt sind. Die Experimente wurden in einer Dreifachbestimmung durchgeführt, um die Versuchsergebnisse hinsichtlich eventuell auftretender Schwankungen besser deuten zu können. Die Versuche wurden trotz des größeren zeitlichen Aufwandes nicht in Well-Plates ausgeführt, da es durch Messung in Küvetten besser möglich ist, die tatsächliche Stabilität des kolloidalen löslichen Anteils zu erfassen. Bei InP/ZnS-Nanokristallen können auch größere Agglomerate weiterhin zur Quantenausbeute beitragen, auch wenn diese aus der Lösung auf den Grund des Gefäßes sedimentieren, da sich die Fluoreszenz häufig nicht durch Agglomeration verringert. Diese Fehlerquelle lässt sich ausschließen, sofern die Emission nicht wie

bei den Well-Plates vertikal, sondern horizontal erfasst wird.

In definierten Zeitintervallen wurde die Absorption und die Emission der Proben vermessen und überprüft, ob eine Verringerung der Fluoreszenzintensität zu verzeichnen war. Diese Abnahme korreliert mit der Stabilität der Nanokristalle in dem jeweiligen Reaktionsmedium. Des Weiteren wurde untersucht, ob die Stabilität der InP/ZnS-Partikel mit den PEO-Liganden auch durch die Länge des verwendeten Liganden oder unterschiedliche funktionelle Gruppen in der äußeren Sphäre beeinflusst wird.

Tabelle 2: Auflistung der Puffermedien.

| Probennummer | Abkürzung | Zusammensetzung der Lösung |
|--------------|--------------------------|---|
| 1 | BSA | Bovines Serumalbumin |
| 2 | Bidest. H ₂ O | |
| 3 | HEPES | (2-4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl) -ethansulfonsäure HEPES + DMEM |
| 4 | PBS | Phosphatgepufferte Salzlösung pH 7.5 |
| 5 | FCS | Fetales Kälberserum FCS + DMEM |
| 6 | MES | 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure, 0.1 M |
| 7 | DMEM | Dulbecco`s und Eagle`s Medium |
| 8 | PBS | Phosphatgepufferte Salzlösung pH 7.5 mit HCl pH 3.4 |
| 9 | TRIS | Tris(hydroxymethyl)- aminoethan |

In Abbildung 30 und 32 sind die Ergebnisse des Puffertests dargestellt. Dabei ist die Fluoreszenzintensität gegen die Probennummern der Pufferlösungen aufgetragen, das zugehörige

Puffermedium kann der Tabelle 2 entnommen werden. Die Fluoreszenzintensitäten wurden alle auf den Wert normiert, den die Fluoreszenzintensität von $\text{InP/ZnS}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH})$ sofort nach dem Transfer in Wasser lieferte. Dargestellt sind an dieser Stelle die Ergebnisse von $\text{InP/ZnS}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH})$ mit $n = 1000$ (grün), 2000 (blau) und 4000 (rot). Die Messung der Fluoreszenzintensität erfolgte direkt nachdem die Partikel den Pufferlösungen zugesetzt wurden (Abbildung 30, li.), nach einer Stunde wurden die Proben erneut vermessen (Abbildung 30, re.) und zuletzt nach 24 Stunden (Abbildung 31). Gezeigt sind hier die Mittelwerte, die aus den Dreifachbestimmungen resultieren. Die Pfeile deuten auf die Pufferlösungen hin, bei denen sich die relative Fluoreszenzintensität verringert.

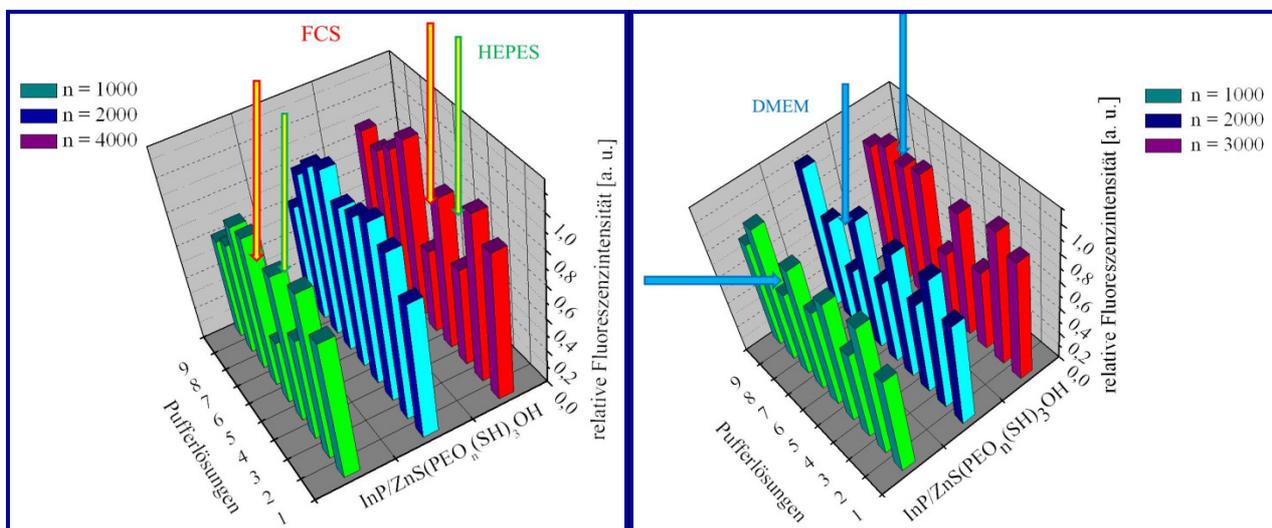


Abbildung 30: Ergebnisse der Puffertests von $\text{InP/ZnS}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH})$ (li.: sofort nach Überführung der Partikel in die entsprechenden Medien; re.: nach einer Expositionsdauer von einer Stunde).

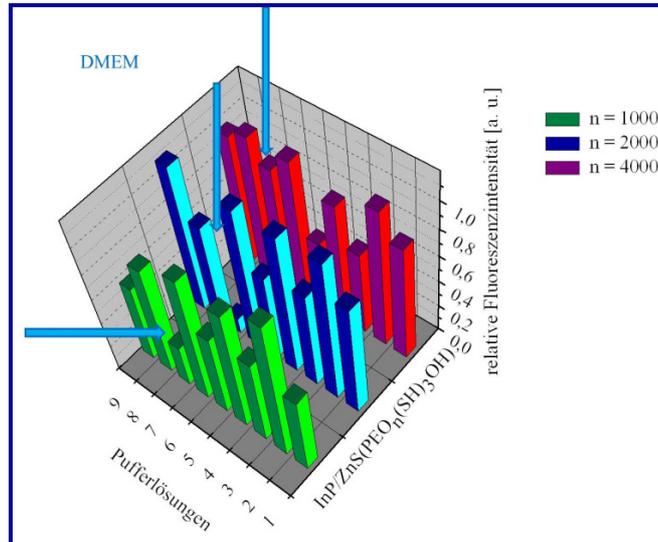


Abbildung 31 Ergebnisse der Puffertests von InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH) nach einer Exposition von 24 Stunden.

Bei Betrachtung der Abbildungen fällt auf, dass die Fluoreszenzquantenausbeute in den meisten Pufferlösungen stabil bleibt, lediglich in den Medien, die HEPES oder FCS enthalten, kommt es zu einer Verringerung der Fluoreszenzintensität bereits direkt nach der Zugabe der Quantenpunkte in die Pufferlösungen. Der Verlust der Fluoreszenzquantenausbeute beläuft sich dabei maximal auf Werte, die oberhalb von 50 % liegen, teilweise sind geringere Verlust zu verzeichnen. Der Mittelwert der Standardabweichung liegt bei 5 %. Tendenziell bleibt der beobachtete Trend auch nach einer weiteren Stunde erhalten. Der Abbildung 31 ist zu entnehmen, dass die Stabilität sich auch nach 24 Stunden in den meisten Medien nur unwesentlich verringert. Hier lässt sich vornehmlich eine weitere Abnahme der Fluoreszenzintensität in DMEM nachweisen. Aber auch hier kommt es in keinem der untersuchten Medien zu einer vollständigen Auslöschung der Fluoreszenz. Diese lässt sich auch nach Ablauf dieser Zeit spektroskopisch und optisch nicht nachweisen. Ein eindeutiger Trend bezüglich der kettenlängenabhängigen Stabilität des Polymers lässt sich an dieser Stelle nicht eindeutig feststellen.

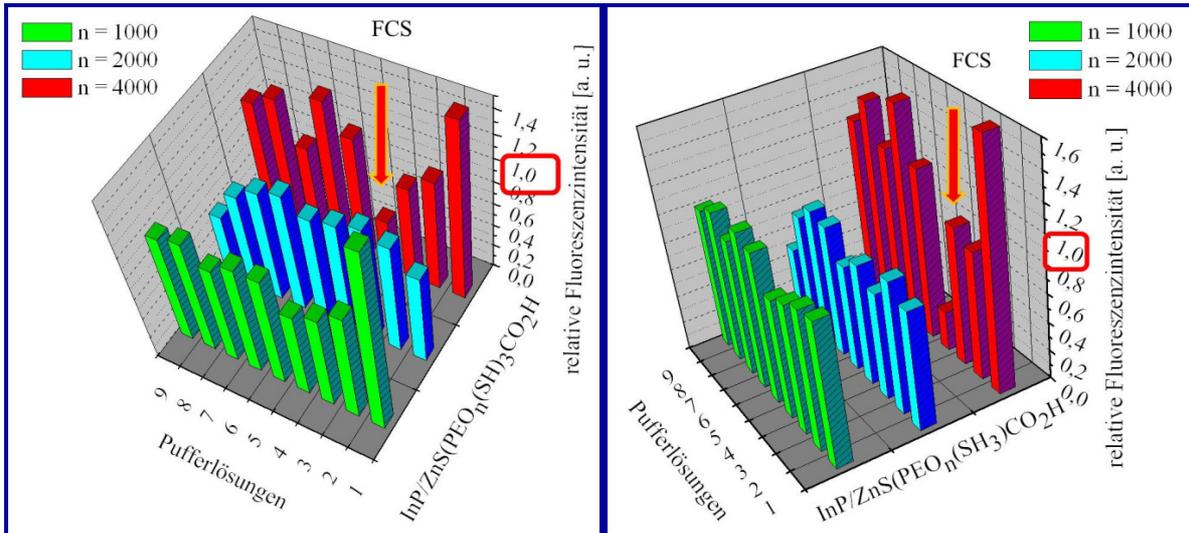


Abbildung 32: Ergebnisse der Puffertests von $\text{InP/ZnS(PEO}_n(\text{SH})_3\text{CO}_2\text{H)}$ (li.: sofort nach Überführung der Partikel in die entsprechenden Medien; re. nach einer Expositionsdauer von einer Stunde).

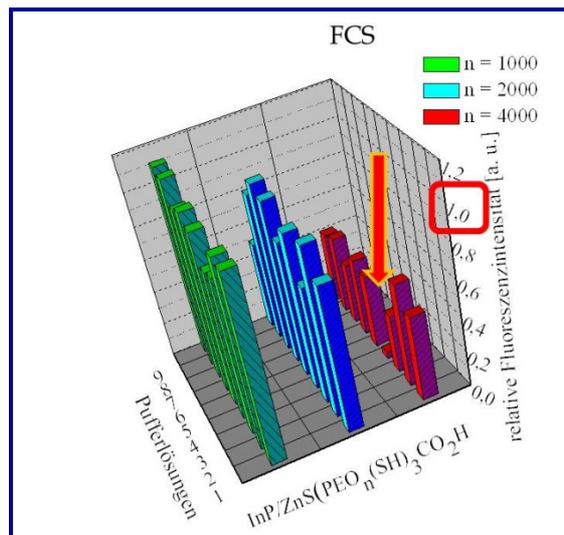


Abbildung 33: Ergebnisse der Puffertests von $\text{InP/ZnS(PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH)}$ nach einer Exposition von 24 Stunden.

In den Abbildung 32 und 34 sind die Ergebnisse der Stabilitätstests von $\text{InP/ZnS(PEO}_n(\text{SH})_3\text{CO}_2\text{H)}$ graphisch zusammengefasst. An dieser Stelle lässt sich festhalten, dass die Quantenpunkte aller carboxylterminierten Liganden eine relativ hohe Stabilität in allen untersuchten Medien aufweisen, lediglich in FCS wird eine mit der Zeit zunehmende Destabilisierung beobachtet. Die Bestimmung der kettenlängenabhängigen Stabilität deutet darauf hin, dass diese umso niedriger ausfällt, desto größer die molare Masse der Polymere ist.

Zusammenfassend lässt sich als Ergebnis dieser Versuchreihe festhalten, dass die

InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X)-Quantenpunkte unter den untersuchten Bedingungen weitestgehend stabil sind und daher hinsichtlich dieses Parameters ein hohes Potential aufweisen, für biologische Anwendungen genutzt werden zu können.

4.3.5 pH-Wert-abhängige Stabilität von InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X)

In physiologischer Umgebung laufen zahlreiche pH-abhängige Prozesse ab. In den Zellen und im extrazellulären Raum wird der pH-Wert durch Puffersysteme auf 7.35 nahezu konstant gehalten, im Cytoplasma hingegen fällt der pH-Wert mit 7 etwas niedriger aus und verringert sich in den Lysosomen auf einen Wert, der zwischen 4 und 4.5 liegt. In einem humanen Organismus kann der pH-Wert noch extremeren Schwankungen unterliegen, so kann er zwischen 2 (im Magen) und 8 (im Dünndarm) erreichen ^[128].

Diese Gegebenheiten führen dazu, dass Nanokristalle in physiologischen Systemen nur unter der Voraussetzung Anwendung finden können, dass diese über den oben beschriebenen pH-Bereich stabil sind, d. h. die Nanokristalle sollten weder agglomerieren, noch sollte eine Veränderung des pH-Wertes die Desorption der Liganden von der Kristalloberfläche begünstigen, wodurch sich die Löslichkeit im Wässrigen oder die Photolumineszenz reduzieren könnte.

Der zu untersuchende pH-Bereich wurde zwischen 3 und 8 variiert. Als Pufferlösungen dienten Acetat- (pH 3 bis 5) und Phosphat-Puffer-Lösungen (pH 6 bis 8). Untersucht wurden InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X)-Partikel mit n = 1000, 2000, 4000 und X = - OH und - CO₂H. Alle Versuche wurden als Zwei- und Dreifach-Bestimmungen durchgeführt sowie in zwei unterschiedlichen Konzentration (0.3 μM und 0.05 μM).

Die Resultate dieser Versuchsreihe werden in Abbildung 34 und 36 graphisch präsentiert. Erstere zeigt die Ergebnisse, die mit InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH) erhalten wurden, und Letztere beinhaltet die Werte der Fluoreszenzintensität, welche mit InP/ZnS(PEO_n(SH)₃CO₂H) erzielt wurden. Aufgetragen ist in dieser Darstellung der pH-Wert gegen die relative Fluoreszenzintensität, wobei

die Fluoreszenz auf die Werte normalisiert wurde, die bei einem pH-Wert von 7 bestimmt wurden, bei einer Konzentration von 0.3 μM .

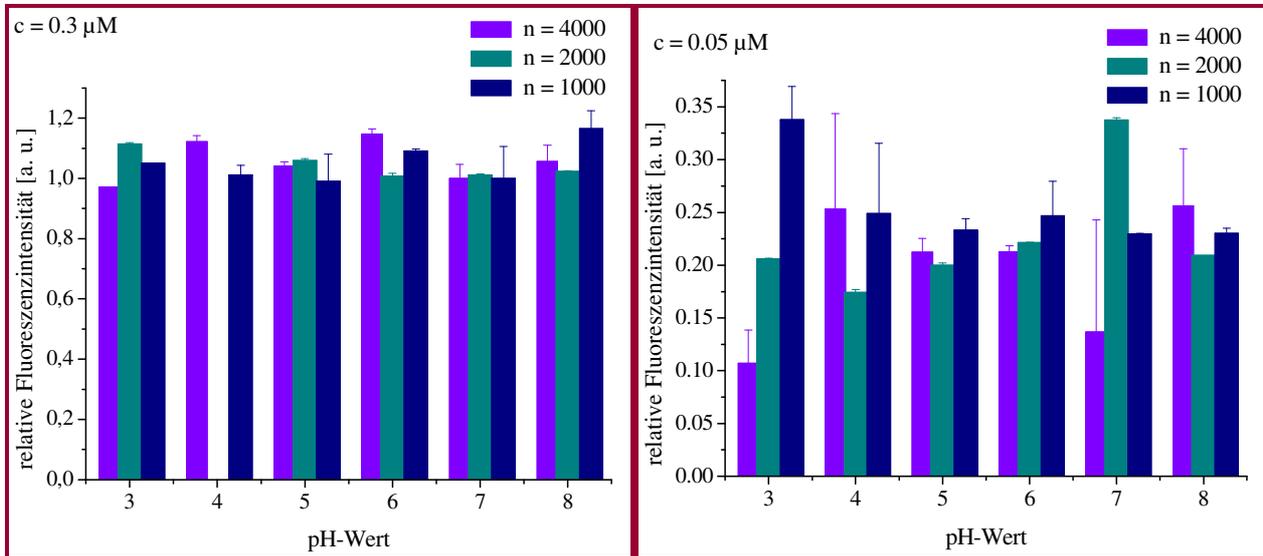


Abbildung 34: pH-Wert-abhängige Fluoreszenzintensität von InP/ZnS(PEOn(SH)₃OH)
(li.: c = 03 μM , re. c = 0.05 μM).

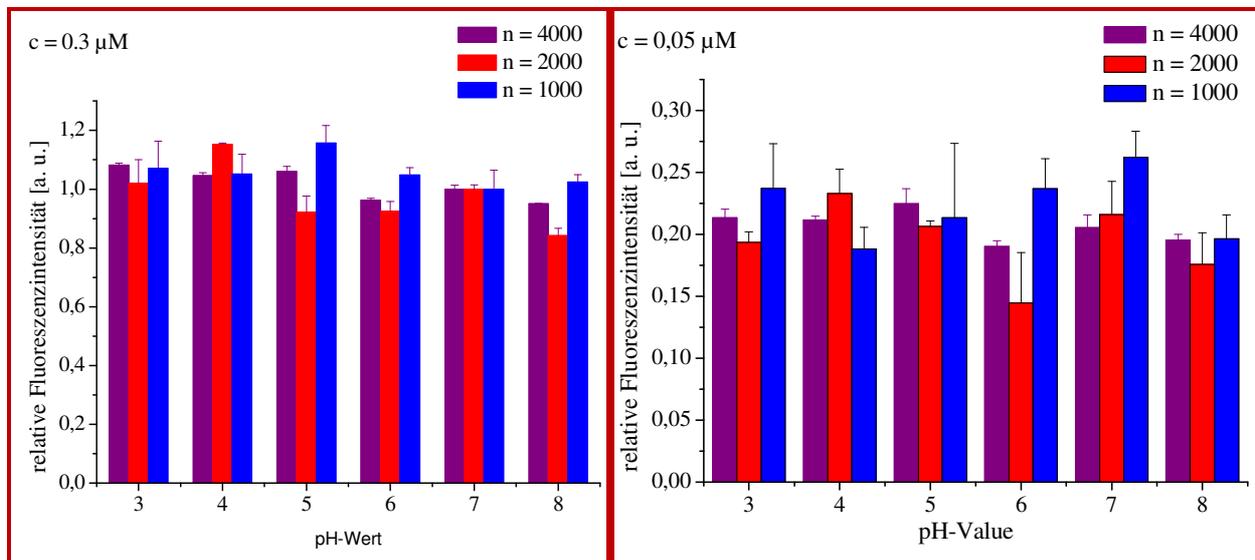


Abbildung 35: pH-Wert-abhängige Fluoreszenzintensität von InP/ZnS(PEO_n(SH)₃CO₂H)
(li.: c = 03 μM , re. c = 0.05 μM).

Augenscheinlich sind die InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH-Partikel unabhängig von dem pH-Wert innerhalb des getesteten Bereiches stabil, da es insbesondere bei den höher konzentrierten Proben zu vernachlässigbaren Verlusten hinsichtlich der relativen Fluoreszenzquantenausbeuten kommt.

Ersichtlich wird hierbei auch, dass sich die getesteten Kettenlängen gleichermaßen auf die Stabilität auswirken. In der Versuchsreihe, bei der geringere Konzentrationen eingesetzt wurden, sind etwas stärkere Unterschiede bezüglich der Fluoreszenzintensität zu registrieren, allerdings kommt es auch in diesem Fall bei keiner der gemessenen Proben zu einer vollständigen Auslöschung der Fluoreszenz. Hierbei sind größere Schwankungen bei den Standardabweichungen festzustellen. Einen eindeutigen Verlauf bezüglich der Kettenlänge gibt es auch in diesem Fall nicht. Lediglich bei pH 3 bei niedriger Konzentration scheint sich eine Tendenz anzudeuten, da die Stabilität von größeren Kettenlängen zu den kleineren zuzunehmen scheint. In dieser Reihenfolge vergrößert sich die relative Fluoreszenzintensität.

Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Anlagerungsdichte der Liganden an der Oberfläche der Partikel sein, die bei größeren Kettenlängen geringer zu sein scheint als bei kürzeren Ketten. Die Ursache für dieses Phänomen könnte darin begründet sein, dass Polymere in Lösung eine zufällige Knäuelform annehmen, die in Abhängigkeit von den intramolekularen Wechselwirkungen teilweise flexibel oder steif sein können. Bei den zugrunde liegenden Polymeren basieren die intramolekularen Wechselwirkungen im Wesentlichen auf Van-der-Waals-Kräften. Anzunehmen ist, dass die Knäule ein größeres Volumen einnehmen, je größer die Kettenlänge des zugrunde liegenden Polymers ist. Für PEO_n-Polymere liegt die sogenannte *critical entanglement mass* bei $M_c = 3600$, d. h. $n = 19$. Diese Größe gibt die kritische molare Masse eines Polymers an, ab der dieses in wässriger Lösung eine Knäuelform annimmt ^[129-131]. Binden Liganden mit einer größeren molaren Masse an die Oberfläche der Partikel, wird die Bindung weiterer Liganden durch sterische Hinderung stärker behindert als bei kürzeren, da diese kleinere Knäule bilden. Im Fall von CdSe/CdS/ZnS-Partikeln wird davon ausgegangen, dass es sich bei der Bindung von einzähnigen Thiol-Liganden an die Oberfläche nicht um eine kovalente Bindung handelt, sondern um eine reversible Bindung, d. h. es herrscht ein Gleichgewicht zwischen den Liganden an der Oberfläche und denen in Lösung. Auch bei den dreizähnigen Liganden liegt dieses Gleichgewicht vor. Obwohl drei Bindungsstellen für die Bindung an die Partikel genutzt werden können, ist anzunehmen, dass die Liganden, wenn auch vermindert, dennoch von der Oberfläche desorbieren ^[24]. Bei niedrigem pH-Wert könnte die Abdissoziation der Polymere begünstigt werden, da im Prinzip vermutlich die Thiolate direkt an die Zinkatome der Schale binden und die hohe Protonenzahl die Bildung von

freier Thiolgruppen begünstigen könnte. Bei geringeren Partikelkonzentrationen und gleichbleibendem Lösungsmittelvolumen verringern sich die an der Oberfläche koordinierten Stabilisatoren. Dies führt dazu, dass eventuell mehr Fehlstellen vorliegen, wodurch die Fluoreszenzintensität vermindert wird. Da bei größeren Polymeren weniger Stabilisatoren durch die Solvathülle zur Oberfläche hin diffundieren können, macht sich dieser Effekt vermutlich dort stärker bemerkbar als bei den kürzeren Liganden.

Auch die $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{CO}_2\text{H}$ -stabilisierten InP/Zn-Partikel weisen unter den entsprechenden Bedingungen eine hohe Beständigkeit bezüglich der Änderung des pH-Wertes auf. Die Kettenlänge des Polymers betreffend ist der Trend bei niedrigen Konzentrationen und niedrigem pH-Wert nicht so eindeutig wie bei den OH-terminierten Liganden.

Aus den durchgeführten pH-Wert-abhängigen Untersuchungen kann geschlussfolgert werden, dass die $\text{InP/ZnS}(\text{PEOn}(\text{SH})_3\text{X})$ -Nanokristalle sowohl bei höheren als auch bei niedrigeren Konzentrationen die für biologische Anwendung erforderliche Anforderung, auch bei Variation des pH-Wertes stabil zu sein, mit sich bringen.

4.3.6 Verdünnungsreihen von $\text{InP/ZnS}(\text{PEOn}(\text{SH})_3\text{X})$ in Wasser

Für biologische Verfahren stellt die Stabilität bei Verdünnung ein wichtiges Kriterium dar. Bei der Vorbereitung von Nanokristallen für biologische Anwendungen sind Arbeitsschritte wie Ultrazentrifugation, Dialyse oder Umpufferungen der Partikel erforderlich. Des Weiteren sollen die Partikel bei *in vivo*-Untersuchungen Zellkulturmedien oder dem Blutkreislauf ausgesetzt werden. All diese Arbeitsschritte können als eine Art unendliche Verdünnung betrachtet werden, welche sich nicht negativ auf die Stabilität der Nanokristalle auswirken sollte. Der Einsatz der InP/ZnS Partikel unterliegt starken Einschränkungen, wenn die Partikel agglomerieren oder wenn die Fluoreszenzeigenschaften bei diesem Schritt verloren gehen. Mit Hilfe von Verdünnungsreihen der Quantenpunkte lässt sich der Einfluss von Verdünnungen auf die Stabilität ermitteln. Über diese Versuchsreihe kann indirekt auch eine Aussage über die Art der Partikel-Ligand-Bindung getroffen

werden. An der Oberfläche der Nanokristalle finden immer auch Austauschprozesse zwischen den Atomen des Kristalls und den Liganden statt. Wird in dieser Versuchsreihe eine Verringerung der Fluoreszenzintensität beobachtet, kann darauf geschlossen werden, dass die Liganden von der Oberfläche abdissoziieren und auf der Oberfläche der Partikel ungesättigte Valenzen zurückbleiben, welche für die Minimierung der Quantenausbeute verantwortlich sind. Kommt es eventuell durch das vorliegende Gleichgewicht zwischen den an der Oberfläche koordinierten Liganden und denen in Lösung zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes zugunsten der in Lösung befindlichen Liganden, könnte dies zur Bildung von Agglomeraten führen ^[24].

Um zu überprüfen, inwiefern die Stabilität der Partikel von $\text{InP/ZnS/PEO}_x(\text{SH})_3\text{X}$ durch diese Austauschprozesse im Zusammenhang mit einer Verdünnung beeinträchtigt wird und sich auf die Kristalle auswirkt, wurden Verdünnungsreihen mit $\text{InP/ZnS(PEO)}_n(\text{SH})_3\text{X}$ angefertigt.

Zu diesem Zweck wurden die Nanokristalle mit den entsprechenden Liganden ins Wasser gebracht und mittels Ultrazentrifugation aufgearbeitet. Anschließend wurde eine wässrige Lösung mit InP/ZnS und dem jeweils zu untersuchenden Liganden mit einer Ausgangskonzentration von $1 \mu\text{M}$ hergestellt, dabei wurden 10 Verdünnungen hergestellt. In UV-VIS-Küvetten wurden 2 mL der Partikellösung gegeben und mittels UV-VIS-Spektroskopie vermessen.

In dieser Versuchsreihe muss berücksichtigt werden, dass aufgrund der höheren Schichtdicken in der Küvette bei höheren Konzentrationen Abweichungen von der linearen Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität von der Konzentration beobachtet werden können. Dies kann mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes erklärt werden. Demnach verhält sich die Menge des absorbierten Lichtes nicht linear zur Konzentration der Partikel in der Probe. Die Fluoreszenzintensität I_{em} ist proportional zum absorbierten Licht I_{abs} , wobei die Quantenausbeute den Proportionalitätsfaktor darstellt. Dadurch besteht bei hohen Konzentrationen zwischen I_{em} und der Konzentration der Probe ein nicht linearer Zusammenhang. Bei geringen Konzentrationen wird bei hoher Stabilität der Partikel eine nahezu lineare Abhängigkeit zwischen der Konzentration und der Fluoreszenzintensität erwartet. Ist die Bindungsaffinität der Liganden an die Partikel dagegen gering, wird ein überproportionaler Abfall der Fluoreszenzintensität erwartet.

$$I_1 = I_0 * e^{-\epsilon cd} \quad \text{Gleichung 15}$$

$$I_{\text{abs}} = I_0(1 - e^{-\epsilon cd}) \quad \text{Gleichung 16}$$

$$I_{\text{em}} = QA * I_{\text{abs}} \quad \text{Gleichung 17}$$

$$I_{\text{em}} = QA * I_0(1 - e^{-\epsilon cd}) \quad \text{Gleichung 18}$$

In Abbildung 36 ist exemplarisch für die durchgeführten Verdünnungsreihen das Ergebnis von InP/ZnS(PEO₂₀₀₀(SH)₃OH) abgebildet. In dieser Abbildung wurde die normierte Quantenausbeute, welche durch Division der gemessenen normalisierten Fluoreszenzintensität (I_F) durch die Menge des absorbierten Lichtes (I_{abs}) erhalten wurde, gegen den Logarithmus der Konzentration aufgetragen. Die Menge des absorbierten Lichtes wurde mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes erhalten. Sollte die Stabilität der Quantenpunkte hoch sein, sollte dieser Wert, der auf eins normalisiert wurde, möglichst konstant bleiben.

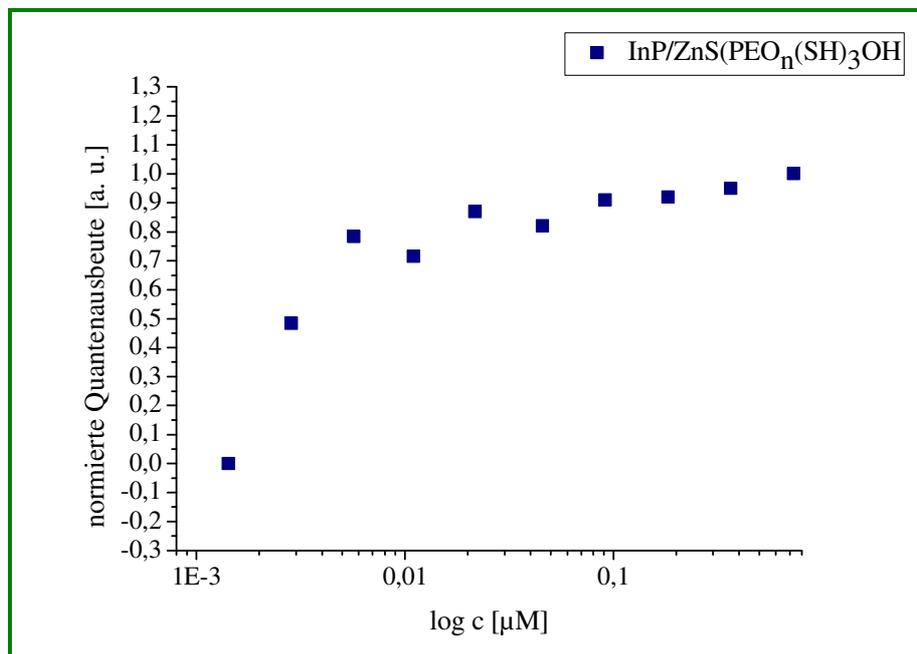


Abbildung 36: Verdünnungsreihe von InP/ZnS(PEO₁₀₀₀(SH)₃OH).

Aus Abbildung 36 geht hervor, dass in Übereinstimmung mit den Erwartungen die erhaltenen Werte innerhalb des untersuchten Intervalls geringen Schwankungen unterlegen sind. Erst ab einer Konzentration von 5 nM deutet sich eine Tendenz an, die auf eine Verringerung der Stabilität

hinweist. Der Vergleich mit der Theorie führt also zu dem Schluss, dass die Quantenpunkte auch bei niedrigen Konzentrationen eine hohe Stabilität aufweisen. Äquivalente Ergebnisse wurden auch bei den Verdünnungsreihen von InP/ZnS-Partikeln erhalten, die mit anderen $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Polymeren versehen waren. Den Versuchen zufolge können die $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -stabilisierten InP/ZnS-Kern-Schale Partikel daher bedenkenlos auch bei erheblichen Verdünnungen eingesetzt werden, da auch bei niedrigen Konzentrationen keine Verminderung der Stabilität zu erwarten ist.

4.3.7 Untersuchung der Photostabilität von InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$)

Ein entscheidender Vorteil der Nanokristalle gegenüber organischen Farbstoffen ist die herausragende Langzeit-Photostabilität. Diese Eigenschaft kann besonders vorteilhaft für die Anwendung der Nanokristalle bei der Untersuchung biologischer Prozesse sein, die sehr langsam verlaufen. Um zu prüfen, ob diese Bedingungen auch von InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$)-Quantenpunkten hinreichend erfüllt werden, wurden zeitabhängige Fluoreszenzintensitätsmessungen ausgeführt. Diese Messungen lassen sich auf zwei unterschiedliche Weisen durchführen. Eine Variante wird als *Auto-Bleaching* bezeichnet, hierbei wird der Verlust der Emissionsintensität registriert, welcher durch eventuell stattfindende destabilisierende Prozesse in der Probe verursacht wird, ohne dass eine zusätzliche Einwirkung von UV-VIS-Strahlung erfolgt. Bei diesem Experiment erfolgt die Anregung der Probe mit der Wellenlänge des Emissionsmaximums, wobei zeitlich längere Intervalle dazwischen liegen, in denen keine Strahlung auf die Probe trifft. Die zweite Methode wird als *Photo-Bleaching* bezeichnet, dabei werden die Partikel während der gesamten Versuchsdauer bestrahlt. Durch einen Vergleich zwischen beiden Messergebnissen ist es möglich, Destabilisierungen, die durch UV-VIS-Strahlung bewirkt werden können, nachzuweisen.

Die InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$)-Nanokristalle wurden in Wasser gelöst. Dabei kamen $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH}$ -Liganden mit $n = 1000, 2000, 4000$ zum Einsatz. Die Konzentration der Partikel in den Küvetten betrug hier $1.08 \mu\text{M}$. Dabei wurde die zeitabhängige Fluoreszenzintensitätsmessung im *Photo-Bleaching*- und im *Auto-Bleaching*-Modus durchgeführt. Dabei erfolgte die Messung in beiden Modi und über eine Dauer von 24 Stunden. In Abbildung 37 und 39 sind die Ergebnisse der

kinetischen Fluoreszenzstabilität-Untersuchung von $\text{InP/ZnS}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH})$ mit $n = 1000, 2000$ und 4000 dargestellt. Um die Unterschiede der Ergebnisse besser hervorzuheben, wurde die relative Fluoreszenzintensität nicht zwischen 0 und 1, sondern zwischen 0.9 und 1 dargestellt. Die Leistung der Lampe belief sich auf 450 W.

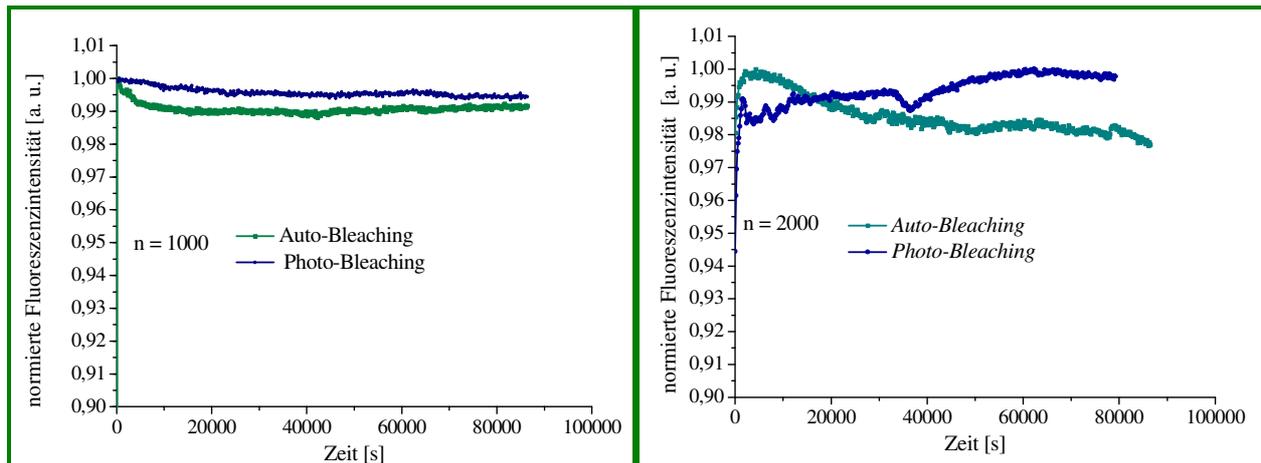


Abbildung 37: zeitabhängige Fluoreszenzintensitätsmessung von $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH}$; im *Photo-Bleaching*- und *Auto-Bleaching*-Modus mit $n = 1000$ und 2000 .

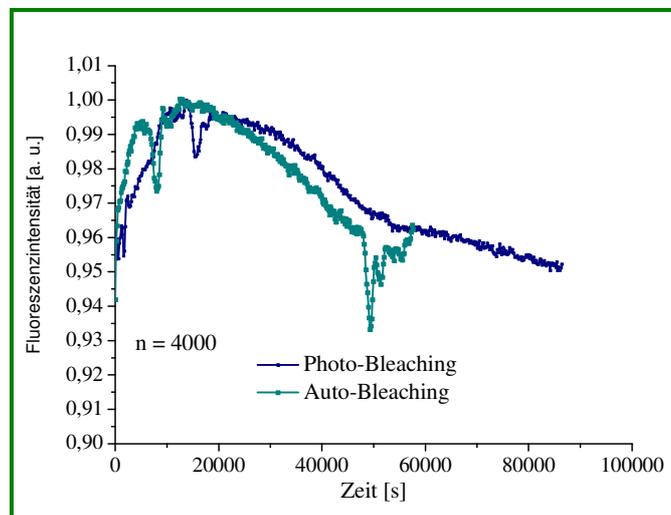


Abbildung 38: zeitabhängige Fluoreszenzintensitätsmessung von $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH}$; im *Photo-Bleaching*- und *Auto-Bleaching*-Modus mit $n = 4000$.

Die Werte der Fluoreszenzintensität wurden auf 1 normiert, und es zeigte sich, dass der maximale Verlust bei 5 % liegt. Daraus kann geschlossen werden, dass alle getesteten $\text{InP/ZnS}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X})$ -Systeme unter den zugrunde gelegten Versuchsbedingungen eine hohe Photostabilität aufweisen. Trotz des geringen Verlustes lässt sich aber ein Trend bezüglich des Einflusses der Kettenlänge auf

die Photostabilität der Partikel beobachten, denn der Vergleich zwischen den Graphen deutet darauf hin, dass die Stabilität etwas geringer zu sein scheint, je länger die Kette des Polymers ist.

Zusammenfassend kann also festgehalten werden, dass sich die InP/ZnS-Partikel aufgrund ihrer Langzeit-Photostabilität als Biomarker für die Untersuchung von langsam ablaufenden biologischen Prozessen eignen.

4.3.8 Analytische und präparative Trennmethode

4.3.9 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Bei dem Ligandenaustausch an InP/ZnS-Quantenpunkten mit $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden, werden die Stabilisatoren in erheblichem Überschuss eingesetzt. Dies führt dazu, dass nicht nur einzelne hydrophile Nanokristalle vorliegen, sondern dass sich auch größere Aggregate bilden können, bei denen mehrere Partikel in einer Einheit eingeschlossen werden. Des Weiteren liegen auch freie unkoordinierte Liganden vor. Um die Partikel von diesen Verunreinigungen abtrennen zu können, ist es notwendig, auf Verfahren zurückzugreifen, die die Abtrennung der Nebenprodukte ermöglichen. In dieser Arbeit hat sich gezeigt, dass sich zu diesem Zweck im Fall von InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$) beispielsweise die HPLC eignet, wenn die Säule mit Superose[®]6 gefüllt ist. Bei dieser Methode handelt es sich um eine Größenausschlusschromatographie, bei der größere Moleküle schneller von der Säule eluieren als kleinere. Die Fraktionierung basiert darauf, dass molekülgrößenabhängige Wechselwirkungen mit einer porösen stationären Phase erfolgen, die bei kleineren Molekülen größer sind, wodurch sich die Retentionszeiten entsprechend verlängern.

Für den Einsatz in Zellkulturen und für *in vivo*-Anwendungen sollten weder unspezifische Wechselwirkungen mit Fremdproteinen erfolgen, noch sollte der Kontakt mit diesen zu Agglomerationen der Partikel führen. Um herauszufinden, wie sich die InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$)-Systeme in Gegenwart von Proteinen verhalten, wurden diese bei 37 °C für 1 Stunde in 50%igem FCS inkubiert und anschließend über HPLC in einzelne Fraktionen aufgetrennt. Dabei wurde zum

einen die Absorption bei 520 nm in den einzelnen Fraktionen vermessen, exemplarisch sind in Abbildung 39 die Ergebnisse von InP/ZnS(PEO₄₀₀₀(SH)₃OH) gezeigt. Die Wahl der Wellenlänge richtet sich dabei nach dem Absorptionsmaximum der zu trennenden Partikel. Der in blau dargestellte Graph resultiert aus InP/ZnS(PEO₄₀₀₀(SH)₃OH)-Quantenpunkten, die direkt über Größenausschlusschromatographie getrennt wurden. Dabei zeigt sich, dass es möglich ist, die einzelnen Partikel von größeren Aggregaten abzutrennen. In den Fraktionen 7 bis 9 sind die größeren Agglomerate enthalten, wohingegen sich die einzelnen Partikel in den Fraktionen 10, 11 und 12 befinden. Bei dem Vergleich beider Graphen wird deutlich, dass die ersten Fraktionen nahezu identisch sind. Allerdings treten bei den nicht inkubierten Nanokristallen bei den höheren Fraktionen zusätzliche Signale auf, die den Proteinen des Serums vom FCS zugeordnet werden können. Unspezifische Wechselwirkungen, die zu Agglomerationen der Partikel oder zu Anlagerungen der Proteine an die Oberfläche der Partikel führen, scheinen nicht stattzufinden, da sich sonst die Retentionszeit, mit der die Quantenpunkte von der Säule eluieren, erhöhen müsste. Dass sich der hydrodynamische Durchmesser nicht ändert, ließ sich auch über DLS-Messungen bestätigen. Diese Ergebnisse lassen die Annahme zu, dass die zugrunde liegenden Quantenpunkte für die angestrebte Anwendung geeignet sind, da keine störenden unspezifischen Interaktionen mit Bioproteinen stattzufinden scheinen.

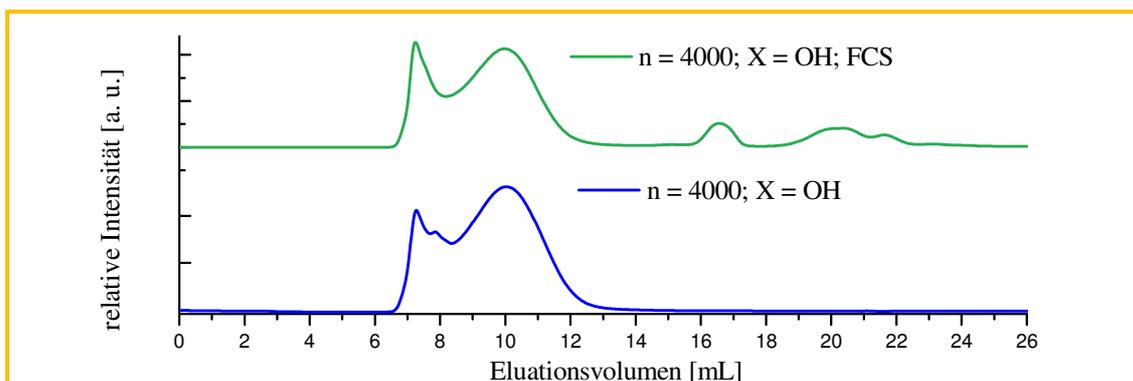


Abbildung 39: HPLC-Elugramm von InP/ZnS(PEO₄₀₀₀(SH)₃OH) von hydrophilen Quantenpunkten in PBS (blau) und von in PBS und FCS inkubierten Partikeln (grün).

Zusätzlich wurde von den einzelnen Fraktionen die Konzentration über Absorptionsspektroskopie bestimmt, die Ergebnisse diesbezüglich sind in Abbildung 41 wiedergegeben. Die hier gezeigten Ergebnisse korrelieren mit denen des Elugramms und führen daher zu einer analogen Aussage.

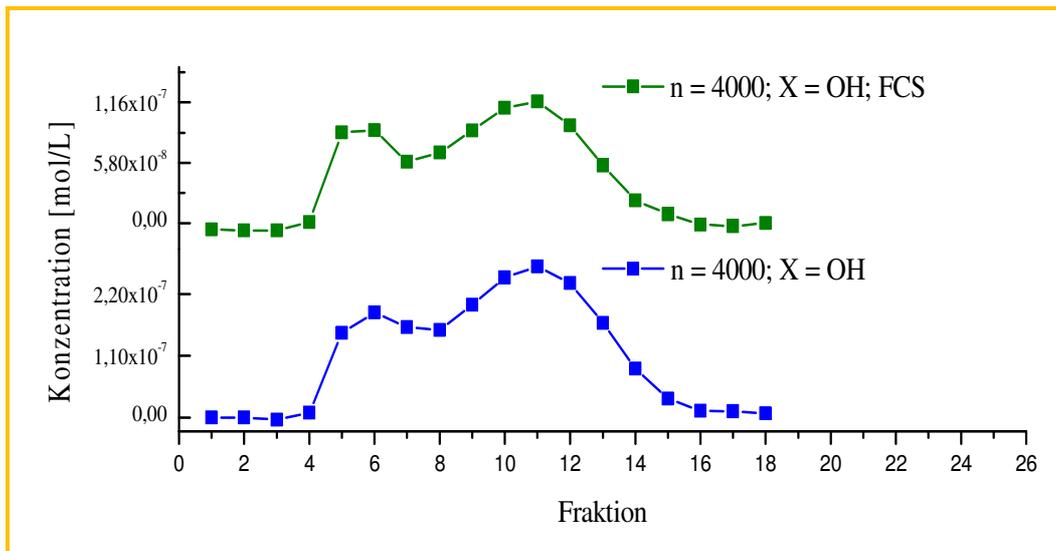


Abbildung 40: Konzentration von InP/ZnS(PEO₄₀₀₀(SH)₃OH) von hydrophilen Quantenpunkte in PBS (blau) und von in PBS und FCS inkubierten (grün) Partikeln nach der HPLC in den einzelnen Fraktionen.

4.3.10 Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4)

Um zu testen, ob sich die InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X) von den weiter oben beschriebenen Nebenprodukten abtrennen lassen, wurde eine Asymmetrische-Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4) durchgeführt. Das Trennprinzip dieser Methode unterscheidet sich von der HPLC erheblich, da bei diesem Verfahren kleinere Moleküle vor den größeren eluieren. Die Trennung erfolgt in einem Kanal, durch den ein parallel verlaufender Flüssigkeitsstrom durchgeleitet wird. Am Boden des Kanals befindet sich eine Membran, die für einen Teil der Flüssigkeit durchlässig ist, wodurch sich eine Querströmung (*Cross-flow*) ausbildet. Parallel zur Flussrichtung kommt es zur Ausbildung laminarer Schichten mit einem parabolisch verlaufenden Strömungsprofil. Die Trennung wird in zwei Phasen durchgeführt. In der ersten Phase ist die Probe diffus verteilt. In der zweiten Phase wird die Probe lediglich dem Querstrom ausgesetzt, die Partikel erfahren eine Reibungskraft in Richtung der Kanal-Unterseite. Dies führt dazu, dass die Konzentration in diesem Bereich erhöht wird, wodurch eine Rückdiffusion erfolgt. Zwischen beiden gegenläufig wirkenden Kräften stellt sich ein größenabhängiges Gleichgewicht ein. Die Reibungskraft nimmt mit der Größe zu, wohingegen sich die Diffusion mit dem Stokes-Radius verringert. Kleinere Partikel nähern sich der Kanalmitte, wohingegen die größeren tendenziell in der Nähe des Bodens bleiben. Erst nach

vollständiger Relaxation des Gleichgewichts wird der parallel verlaufende Flüssigkeitsstrom eingestellt. In dieser Arbeit wurde die Trennung anhand von $\text{InP/ZnS(PEO}_{1000}(\text{SH})_3\text{CO}_2\text{H)}$ präparativ durchgeführt. Nachfolgend werden die hierbei erzielten Ergebnisse diskutiert.

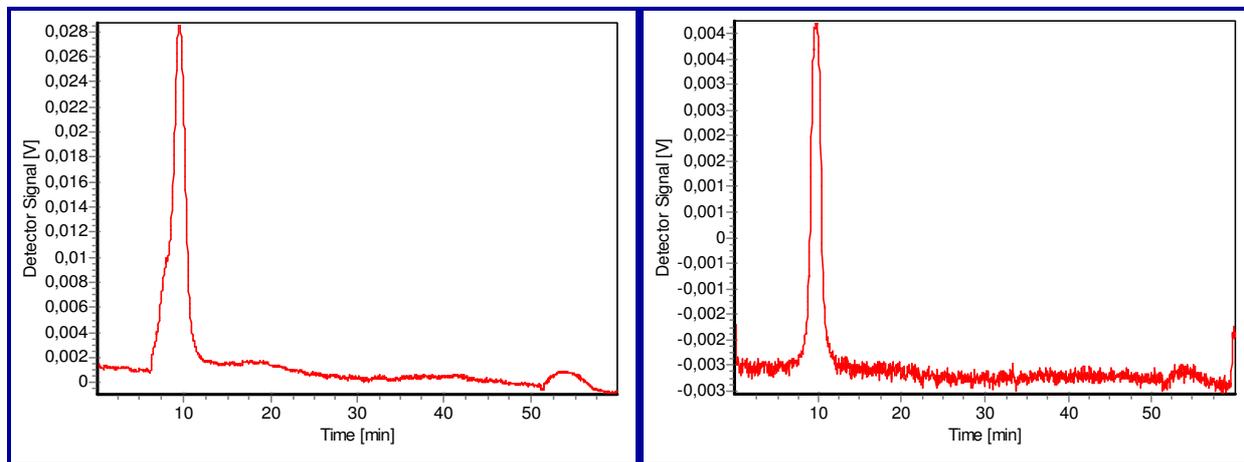


Abbildung 41: Detektion der eluierten Analyten (li. Absorption, re. Emission).

Auf der linken Seite der Abbildung 41 wird das Eluat gegen die Zeit und die relative Absorption aufgetragen und rechts die relative Fluoreszenz gegen die Zeit. Hier wird deutlich, dass lediglich nach einer Retentionszeit von 10 min. eine optisch aktive Substanz detektiert wird, bei der es sich anzunehmenderweise um die Quantenpunkte handelt. Werden diese Ergebnisse mit denen aus Abbildung 42 verglichen, bei der die relative Größe gegen die Retentionszeit aufgetragen wurde, so ist festzustellen, dass die Abtrennung weiterer Nebenprodukte erfolgreich war, da bei unterschiedlichen Retentionszeiten Moleküle unterschiedlicher Größen abgetrennt werden. Die Bestimmung der Größe erfolgt bei der AF4 über die Vielwinkellichtstreuung. Um quantitative Aussagen über die Größe und Konzentration machen zu können, ist bei dieser Methode eine Kalibrierung mit Hilfe eines Standards notwendig. Da ein solcher Standard für die verwendeten Quantenpunkte noch nicht vorliegt, können weder exakte Rückschlüsse auf die Größe noch auf die Konzentration der Partikel gemacht werden. Dass unterschiedliche Größen in den Fraktionen vorhanden sind, kann aber aus den Intensitäten bei unterschiedlichen Retentionszeiten geschlossen werden. Allerdings kann aus der Intensität des Detektorsignals nicht auf die relativen Anteile von großen und kleinen Einheiten geschlossen werden, da größere Partikel stärker streuen als kleinere und somit trotz geringerer Konzentration zu einem intensiveren Signal führen können.

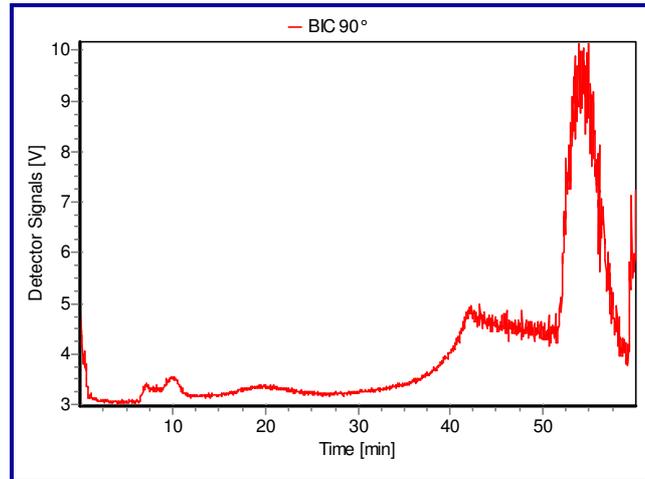


Abbildung 42: Detektion der eluierten Analyten (Größe).

Bei der AF4-Methode handelt es sich, wie dieser Versuch zeigt, also um ein Verfahren, welches sich auf $\text{InP/ZnS(PEO}_n\text{(SH)}_3\text{X)}$ -Nanopartikel erfolgreich anwenden lässt.

4.3.11 Wechselwirkung von InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X) mit lebenden Zellen

Die Verwendung der Nanokristalle für biologische Anwendung setzt voraus, dass von den Partikeln eine möglichst geringe toxische Wirkung ausgeht. Bei Untersuchungen der Toxizität einer Substanz steht die Frage der Giftigkeit einer Substanz auf lebende Organismen im Vordergrund. Entscheidende Kriterien sind bei diesen Untersuchungen die Konzentrationsabhängigkeit und die Expositionszeit. Einige Substanzen können bei Zuführung niedriger Dosen noch einen positiven Einfluss auf den Organismus ausüben und wirken lediglich bei der Zugabe hoher Dosen toxisch. In einigen Fällen kann die toxische Wirkung erst nach längerer Einwirkzeit registriert werden. Wie bereits im Theorieteil erläutert, sind toxikologische Untersuchungen aufgrund der komplexen kausalen Zusammenhänge in lebenden biologischen Systemen schwer durchführbar.

Um einen Beitrag zu diesen Untersuchungen zu leisten, wurde damit begonnen, die Wirkungsweise der InP-Partikel, sowie den Einfluss von InP/ZnS-Nanokristallen auf verschiedene Zellkulturen zu untersuchen. Anders als bei dem zugrunde liegenden System, liegen für die CdSe-haltigen Nanopartikel einige vergleichbare toxikologische Untersuchungen vor^[123, 132].

Bei diesen Experimenten sollte ermittelt werden, ob die Partikel toxisch sind und inwiefern die funktionelle Gruppe in der äußeren Sphäre der Partikel Einfluss auf die Toxizität ausübt. Des Weiteren sollte erforscht werden, ob die Kettenlänge des Polymers Einfluss auf die Toxizität hat. Hier wurde auch getestet, welchen Einfluss die Zinksulfidschale auf die Toxizität ausübt, indem der Einfluss von InP mit dem von InP/ZnS auf die Zellen verglichen wurde.

Die Cytotoxizität wurde an humanen Zelllinien untersucht. Dabei handelte es sich um A549-Lungenkrebszellen. Zu diesem Zweck wurden zwei etablierte Verfahren angewendet, zum einen wurde auf den WST-8 Assay und zum anderen auf den LDH-Release-Test zurückgegriffen.

Der WST-8-Test basiert darauf, dass die Aktivität der lebenden Zellen in Abhängigkeit von der Konzentration des zu untersuchenden Materials gemessen wird. Die Aktivität wird bei diesem Verfahren mit Hilfe eines Farbumschlages, der lediglich durch lebende Zellen bewirkt werden kann, quantifiziert. Dabei wird den Zellen ein Tetrazolium Salz beigelegt, welches von lebenden Zellen

durch enzymatische Aktivität in gelborange gefärbtes Formazan überführt wird und bei einer Wellenlänge von 450 nm emittiert. Die Farbintensität ist proportional zu der Anzahl der lebenden Zellen und lässt sich photometrisch registrieren. Dabei gilt; Wenn eine hohe Zellaktivität vorherrscht, geht von der untersuchten Zielverbindung kein negativer Einfluss auf das Zellwachstum aus.

Der *LDH-Release-Test* basiert auf der Aktivität des Enzyms Lactosedehydrogenase LDH, welches lediglich von abgestorbenen Zellen exprimiert wird. LDH vermag die Umsetzung von Tetrazolium, welches den Zellen in Gegenwart der Testsubstanz zugesetzt wird, zu Pyruvat zu katalysieren, wobei die Konzentration beider Verbindungen proportional zu der Anzahl der lysierten Zellen sind. Diese Umsetzung lässt sich photometrisch durch den korrespondierenden Farbumschlag quantifizieren.

Es empfiehlt sich, die Bestimmung der Cytotoxizität als Relativ-Verfahren durchzuführen. Auf dieser Grundlage lassen sich eventuell auftretende experimentelle Fehler minimieren, d. h. es lässt sich beispielsweise ermitteln, ob die Viabilität der Zellen eventuell bereits vor Versuchsbeginn durch natürliche Schwankungen beeinträchtigt ist. Als negative Referenzverbindung wurde an dieser Stelle CdCl_2 herangezogen, welches sich durch seine toxische Wirkung bereits bei sehr geringen Konzentrationen auszeichnet. Auch eine positive Referenzverbindung fand ihren Einsatz, hierfür wurde CdSe/CdS/ZnS verwendet, da sich hier in vorangegangenen Experimenten gezeigt hatte, dass diese Verbindung eine sehr geringe Toxizität aufweist, und auch, um die Toxizität dieses Verbindungstyps mit dem von InP- und InP/ZnS-Partikeln zu vergleichen. Die Auswertung dieses Versuches wird graphisch in Abbildung 43 präsentiert. Hier wurden InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{OH}$)-Nanopartikel mit $n = 4000, 2000, 1000$ und 400 getestet. In dem Graphen ist die Viabilität, die gleichbedeutend mit der Lebendigkeit der Zellen ist und in Prozent angegeben wird, als Funktion der Konzentration der entsprechenden Verbindung aufgetragen. Die Versuche wurden als Dreifachbestimmungen durchgeführt.

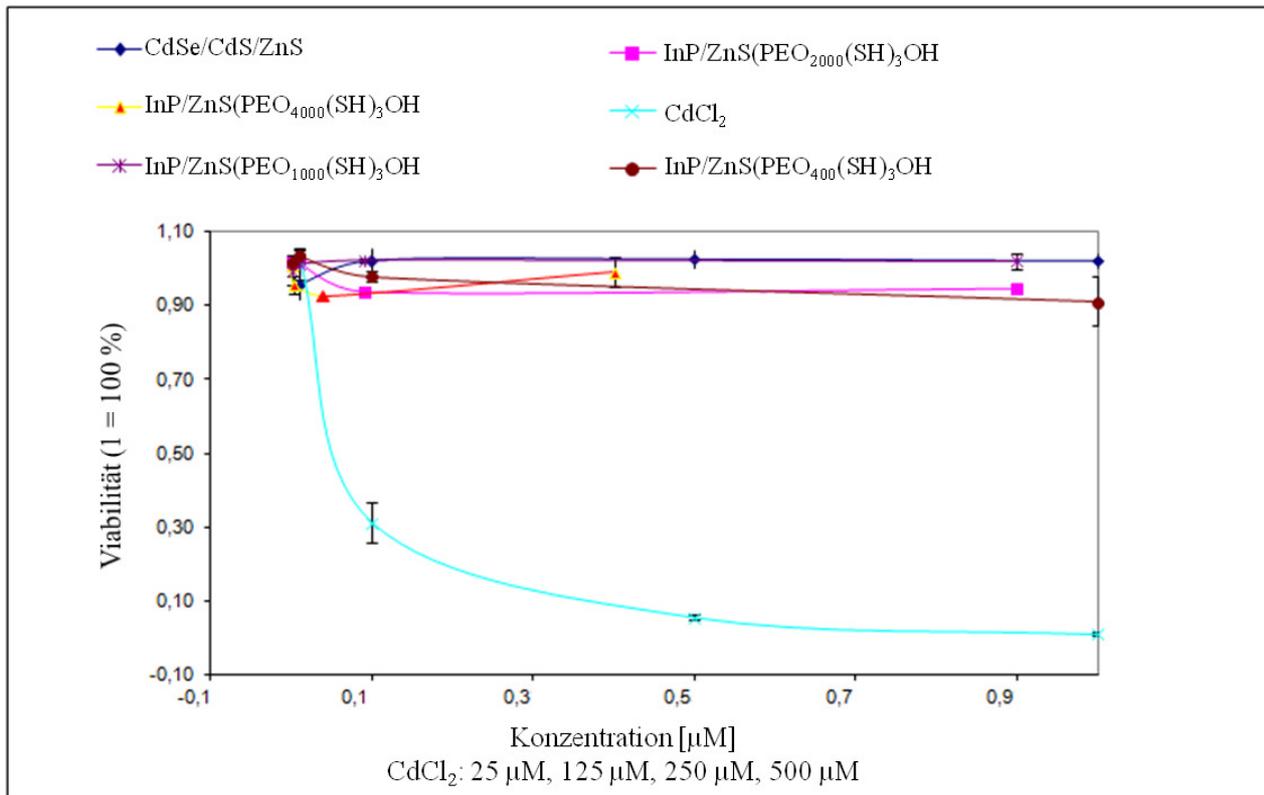


Abbildung 43: Ergebnisse des WST-8 Assay.

Zunächst wird die Aussagekraft des Versuches ermittelt, indem der Einfluss des Referenzmaterials auf die Zellen betrachtet wird. Aus der Abbildung geht hervor, dass die Wirkungsweise von CdCl₂ mit dem zu erwartenden Verhalten dieses Verbindungstyps korreliert. Bereits bei Zugabe einer sehr geringen Konzentration von 25 μM verringert sich die Viabilität auf 30 % und bei 125 μM sinkt die Viabilität auf null. Daraus lässt sich schließen, dass die Versuchsbedingungen den Anforderungen eines Toxizitätstests genügen. Entsprechendes gilt auch für die positive Referenzverbindung CdSe/CdS/ZnS. Die Viabilität verhält sich in dem getesteten Konzentrationsbereich konstant, sie bleibt unabhängig von der Konzentration bei nahezu 100 %. Ein recht ähnliches Verhalten wird bei allen Indiumphosphidpartikeln beobachtet, die mit einer Zinksulfidschale beschichtet sind. Hier scheint es lediglich geringfügige Einbußen der Viabilität der Partikel zu geben. Das beste Ergebnis wird in dieser Versuchsreihe von den InP/ZnS-Partikeln erhalten, die mit dem Liganden PEO₁₀₀₀(SH)₃OH bedeckt sind.

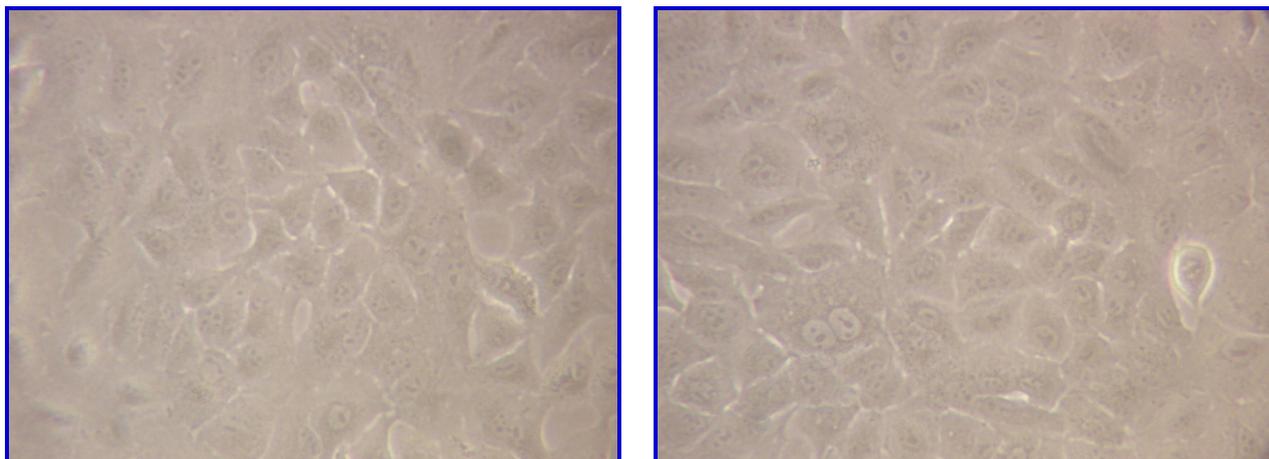


Abbildung 44: InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH): li. n = 4000, re. n = 1000

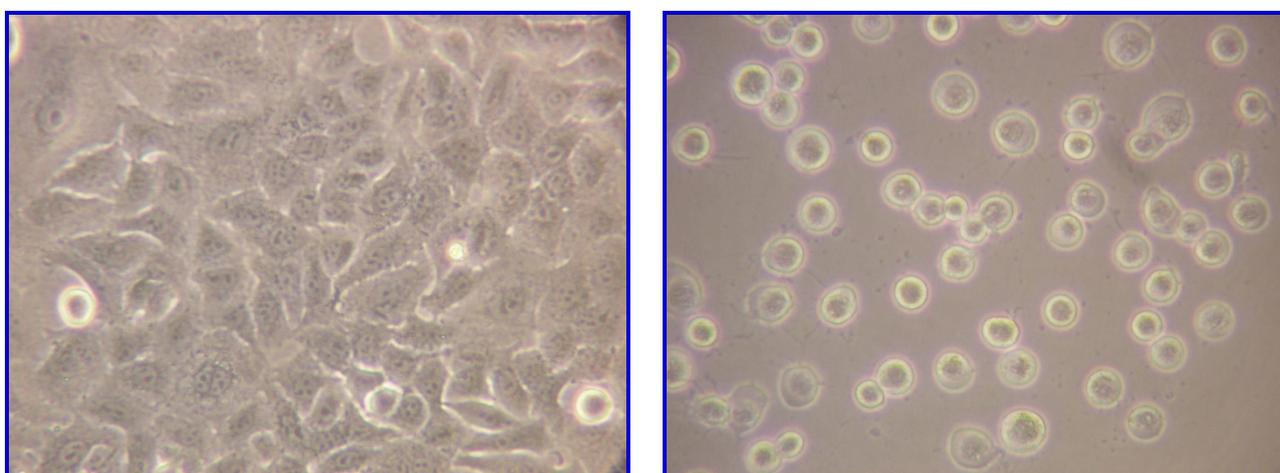


Abbildung 45: li. positive Kontrolle ; re. CdCl₂ μM.

Da sich die Toxizität auch auf die Morphologie der Zellen auswirkt, sind in Abbildung 44 und 46 mikroskopische Aufnahmen der Zellen in Gegenwart unterschiedlicher InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH)-Partikel, einer positiven Kontrolle ohne Zusatz weiterer Chemikalien und als negative Referenz in Anwesenheit von CdCl₂ dargestellt. Der Vergleich zeigt, dass sich die Form der Zellen in den Well-Plates, die InP/ZnS-Partikel enthalten, nicht von den Aufnahmen, in denen keine zusätzlichen chemischen Substanzen zugesetzt sind, unterscheidet. Im Gegensatz dazu verändert sich die Morphologie erheblich in Gegenwart von toxischem CdCl₂, die Zellen agglomerieren hier nahezu vollständig. Dieses Verhalten deutet auf eine geringe Viabilität hin. Die Ergebnisse der mikroskopischen Aufnahmen korrelieren demnach auch mit den Ergebnissen des WST-8 Assay, die auf die geringe toxische Wirkung der InP/ZnS(PEO_n(SH)₃OH)-Partikel hinwiesen.

Nachfolgend (Abbildung 46) sind die Ergebnisse des WST-8 Assay dargestellt. Dabei wurden Liganden, die nicht an Nanokristalle koordiniert sind, im Hinblick auf die schädigende bzw. die beeinträchtigende Wirkung auf das Wachstum der Zellen getestet. Zum Einsatz kamen $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden mit $n = 1000, 2000$ und 4000 , sowie $\text{X} = -\text{OH}$ und $-\text{CO}_2\text{H}$.

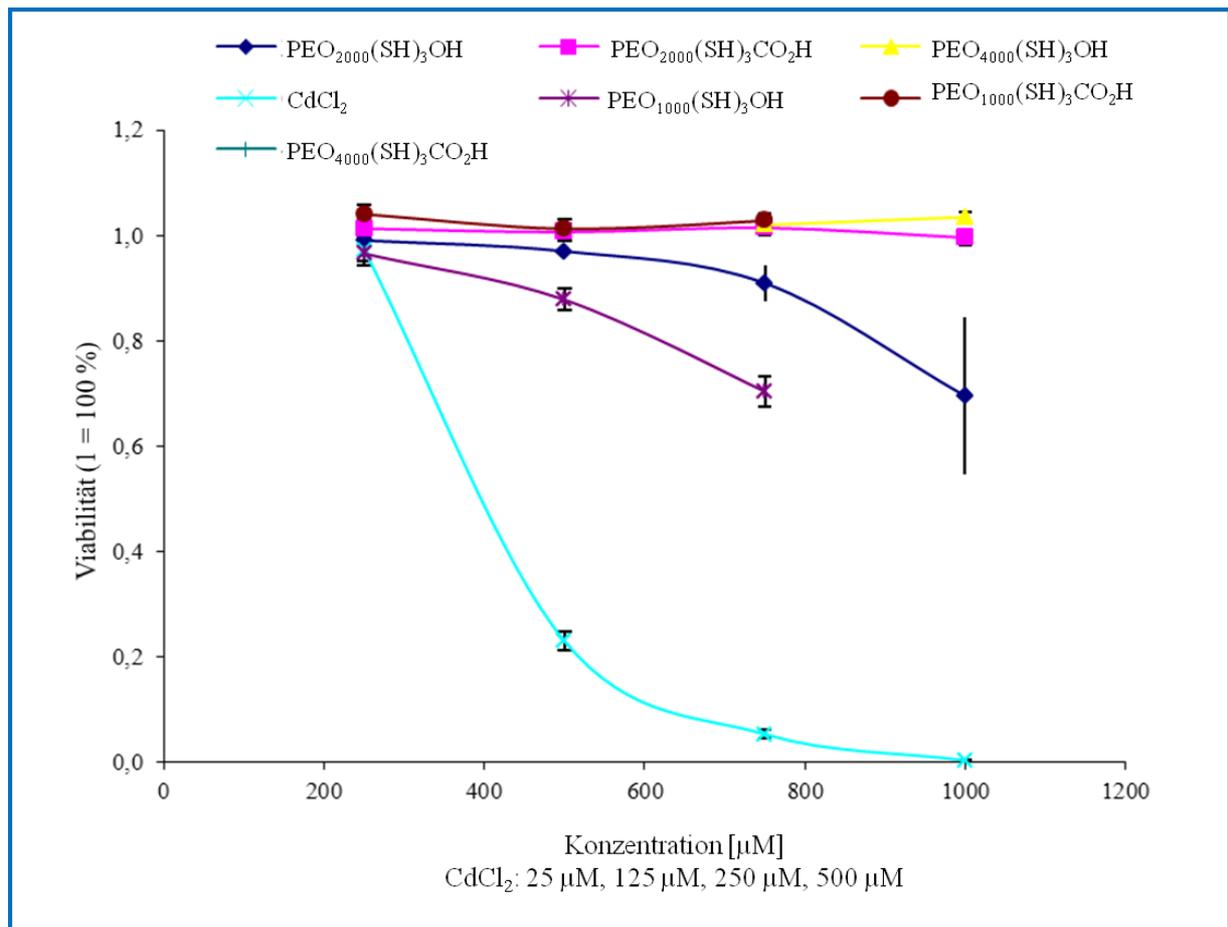


Abbildung 46: WST-8 Assay von $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$, $n = 1000, 2000$ und 4000 , sowie $\text{X} = -\text{CO}_2\text{H}$ oder $-\text{OH}$.

Im Fall von CdSe/CdS konnte nachgewiesen werden, dass es bei sehr hohen Konzentrationen an Liganden zur Bildung von Vesikeln kommt. Unter diesen Voraussetzungen ist eine konzentrationsabhängige Bestimmung der Viabilität bzw. Toxizität stark fehlerbehaftet, da sich die Wirkungsweise freier Liganden auf die Zellen deutlich von der vesikelartiger Konstrukte unterscheidet ^[132]. Im zweiten Fall wird hier tendenziell eine geringere Cytotoxizität registriert. Um eine tatsächliche konzentrationsabhängige Untersuchung durchführen zu können, wurden Konzentrationen gewählt, bei denen die Vesikelbildung vermieden wird. Den Ergebnissen zufolge,

scheinen die Polymere mit den Liganden, die carboxyterminiert sind, in dem getesteten Konzentrationsbereich und in dem untersuchten Zeitraum keinen zellschädigenden Einfluss auszuüben. Anders scheint dies für die Liganden, die über eine OH-Gruppe verfügen, zu sein. Hier zeigt sich folgende Tendenz; Je kürzer die Kettenlänge des Polymers, desto größer der negative Einfluss auf das Wachstum der Zellen, d. h. bei $n = 4000$ scheint das Polymer in dem getesteten Intervall das Zellwachstum nicht zu inhibieren. Da das Zellwachstum einer Kultur gewissen natürlichen Schwankungen unterliegt, wobei die Viabilität einen Wert von 0.8 in der Regel nicht unterschreitet, daher wird dies als Grenzwert für die einsetzende schädigende Wirkung betrachtet. Wird dieser Wert unterschritten, ist dies nicht auf eine natürliche Schwankung zurückzuführen, sondern lässt definitiv auf die wachstumsinhibierende Wirkung der getesteten Substanz schließen. Bei dem Polymer mit der Hydroxygruppe und $n = 2000$ liegt dieser Grenzbereich bei 800 nM und bei dem entsprechenden Liganden mit $n = 1000$ bereits bei 500 nM, d. h. die Liganden dürften, um eine schädigende Wirkung, die vom Ligand ausgeht, zu vermeiden, nur in Konzentrationen eingesetzt werden, die entsprechend niedriger sind.

In Abbildung 47 sind die zugehörigen Resultate des LDH-Assay graphisch dargestellt. Hier ist die Toxizität, die den Anteil der tatsächlich durch die Einwirkung der Testsubstanz bewirkten Zerstörung der Zellen angibt, gegen die Konzentration aufgetragen. Als untere vertretbare kritische Grenze für die einsetzbare Konzentration einer Substanz werden hier 20 % angesehen.

Demzufolge liefert der Toxizitätstest das Ergebnis, dass alle getesteten Liganden in dem untersuchten Konzentrationsbereich nicht toxisch wirken, dass sich allerdings in dem Fall von $\text{PEO}_{2000}(\text{SH})_3\text{OH}$ eine ansteigende Tendenz bezüglich der Toxizität ergibt, sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass bei einem weiteren Anstieg der Konzentration die Liganden toxisch sein können. Die recht großen Schwankungen bei der Standardabweichung relativieren diese Aussage allerdings etwas. An dieser Stelle lässt sich also festhalten, dass lediglich im Fall der hydroxyterminierten Liganden das Zellwachstum in den untersuchten Grenzen teilweise beeinträchtigt wird. Dies lässt sich aus dem WST-8 Assay ableiten.

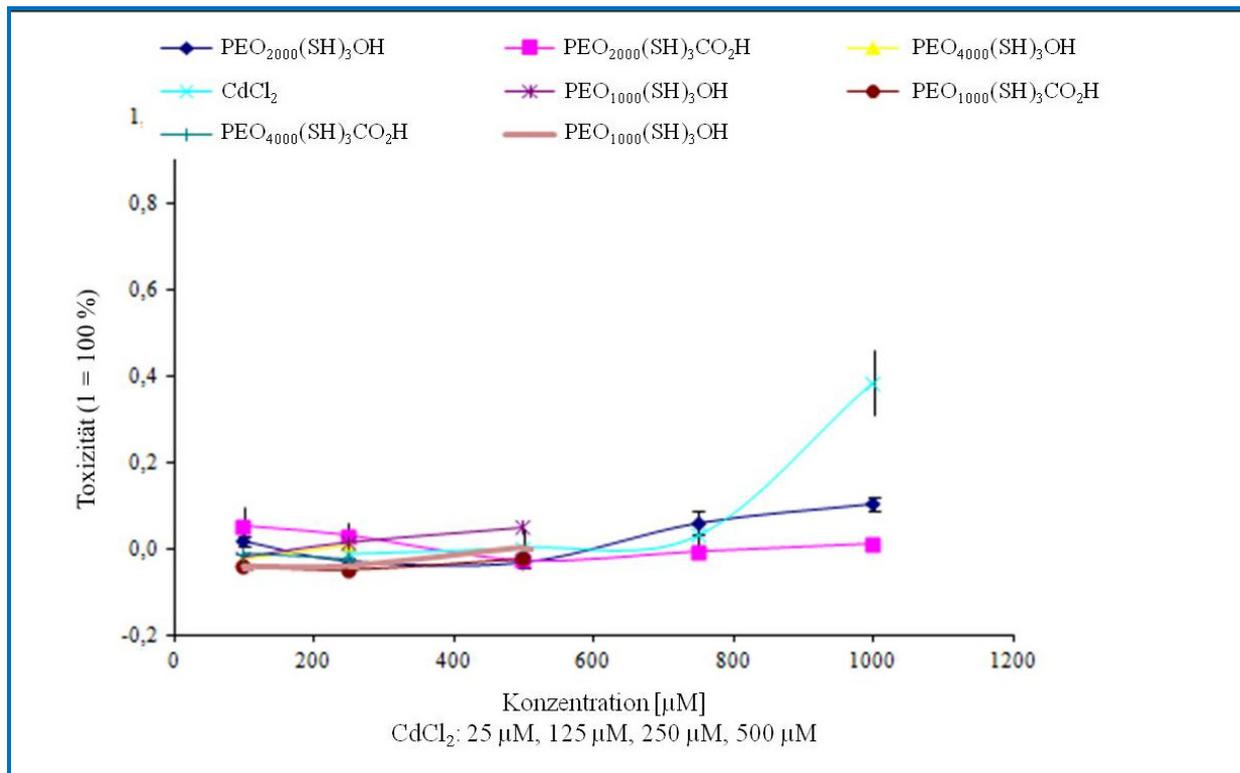


Abbildung 47: LDH-Assay PEO_n(SH)₃X, n = 1000, 2000 und 4000 und X = - CO₂H und - OH.

Laut LDH-Assay wird durch die Liganden kein Zelltod verursacht. Die Liganden mit der Carboxylgruppe scheinen hingegen weder eine toxische Wirkung noch einen zellschädigenden Einfluss auszuüben.

Des Weiteren wurden InP-Nanopartikel unter Verwendung entsprechender Liganden in Wasser überführt und in Hinblick auf ihre toxische Wirkung untersucht. Für die auf Viabilität in Abhängigkeit von der Konzentration untersuchten InP-Nanopartikel (Abbildung 48) ist das Ergebnis sehr eindeutig. Alle getesteten Partikel mit den entsprechenden Liganden beeinträchtigen das Zellwachstum nicht.

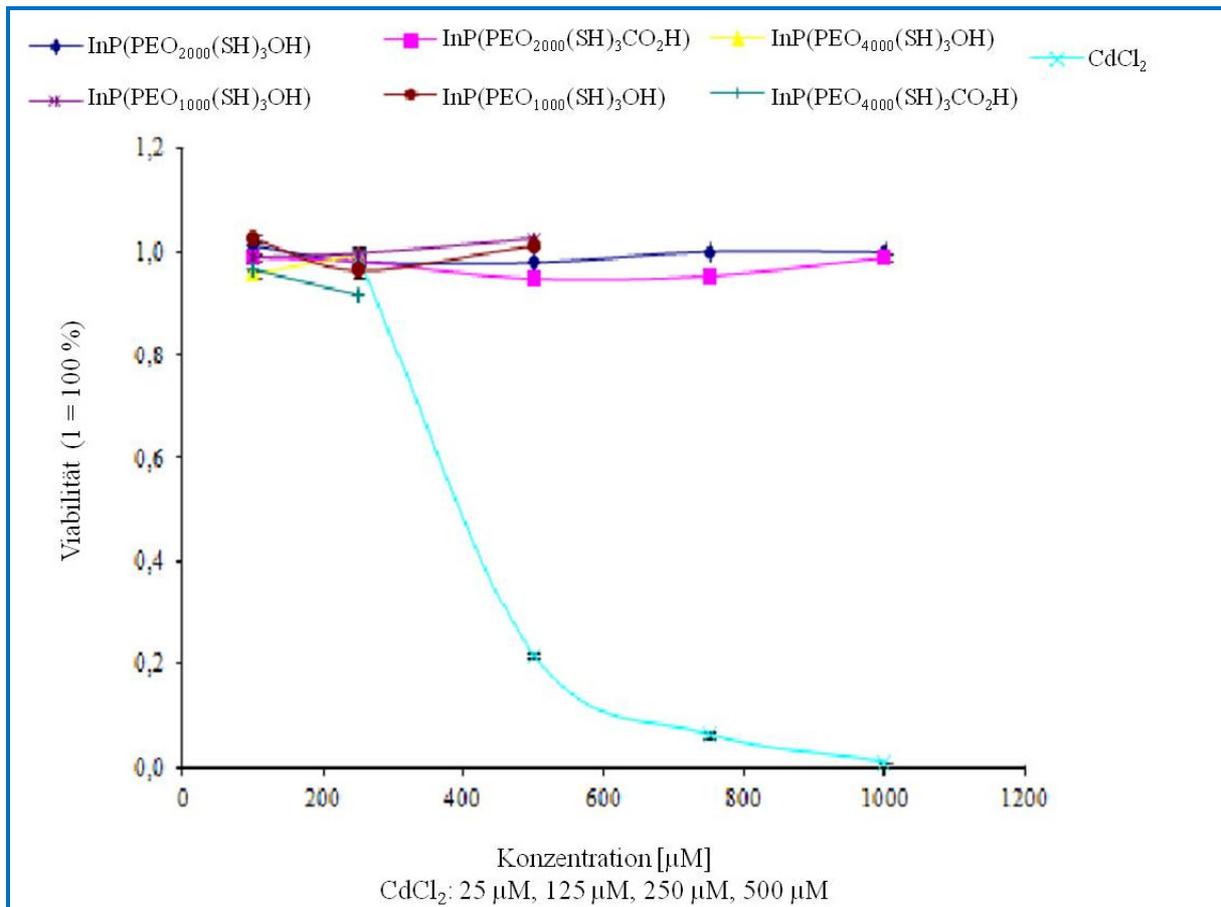


Abbildung 48: WST-8 Assay von InP(PEO_n(SH)₃X) mit n = 1000, 2000 und 4000, sowie X = - OH, - CO₂H.

Entsprechendes gilt auch für die Toxizität (Abbildung 49) in dem kontrollierten Bereich, allerdings ist die Tendenz hinsichtlich der Konzentration leicht steigend, sodass es möglich ist, dass bei weiterer Zunahme der Konzentration eine toxische Wirkung potentiell einsetzen könnte.

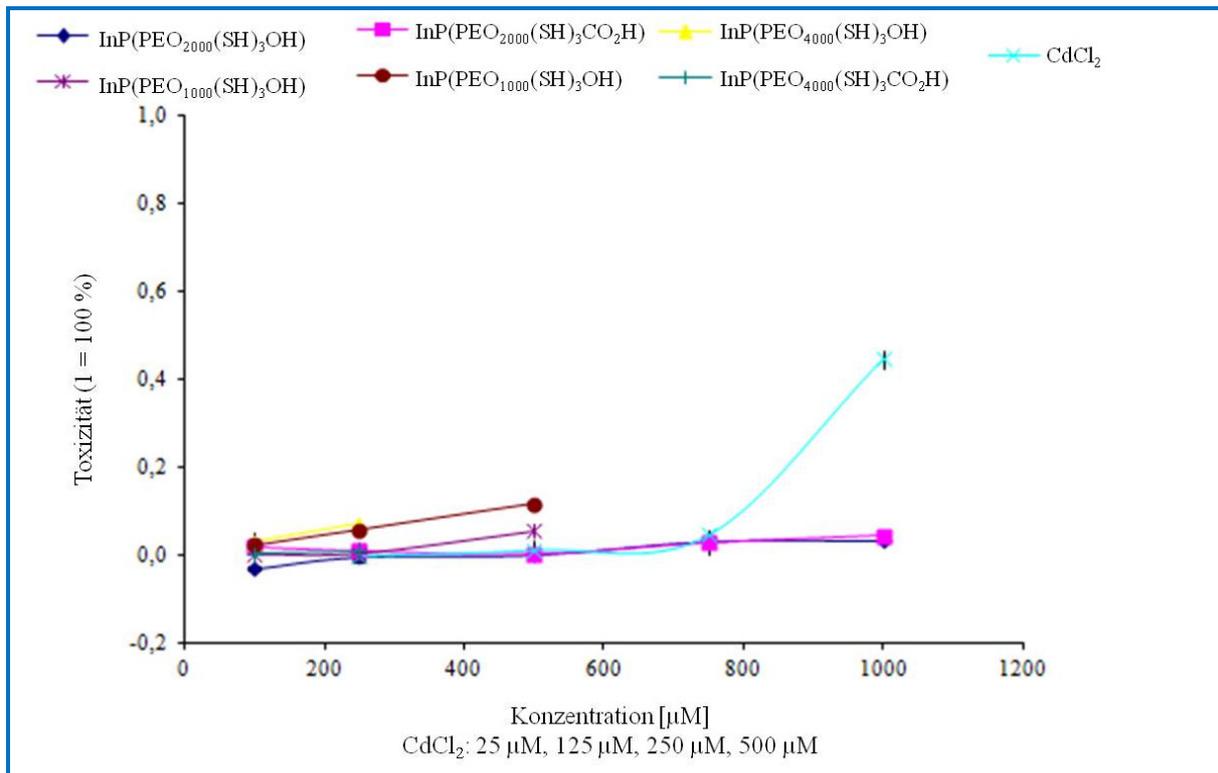


Abbildung 49: LDH-Assay mit InP(PEO_n(SH)₃X), n = 1000, 2000 und 4000, sowie X = -OH und -CO₂H.

Das Ergebnis der Toxizitätstests lässt sich also wie folgt zusammenfassen: weder die freien Polymere die InP-Kerne, noch die InP/ZnS-Kerne sind über den getesteten Konzentrationsbereich oder den Zeitraum toxisch. Daher eignen sich die verwendeten Quantenpunkte für *in vivo* Anwendungen.

4.4 Verkapselung von InP/ZnS durch Saat-Emulsionspolymerisation

Eine weitere Methode, um Nanokristalle in Wasser lösen zu können, stellt die Saat-Emulsionspolymerisation dar. In diesem Versuchsteil wurde getestet, ob sich diese Methode auch auf InP/ZnS-Partikel anwenden lässt. Die bei diesem Kapitel erhaltenen Ergebnisse entstanden in Kooperation mit Hauke Kloust aus unserer Arbeitsgruppe.

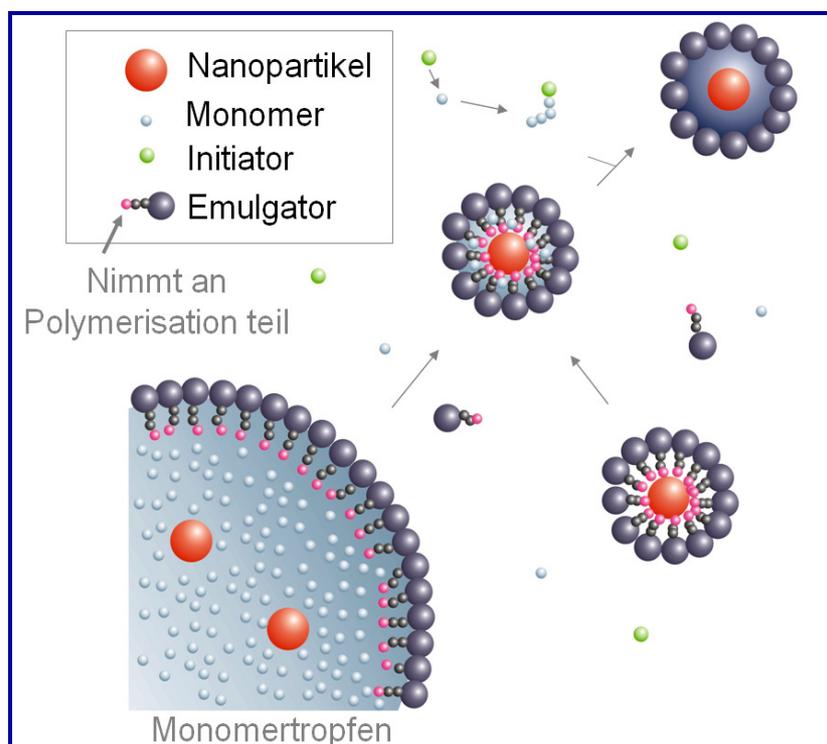


Abbildung 50: Verkapselung von Nanopartikeln durch Saat-Emulsionspolymerisation ^[133].

In Abbildung 50 ist das zugrunde liegende Prinzip der Verkapselung schematisch gezeigt. Sowohl die Nanopartikel als auch das Polysorbat 80 werden in THF dispergiert. Nachfolgend wird dem Gemisch Wasser zugesetzt. In der wässrigen Phase stabilisieren die amphiphilen Polysorbat-80-Moleküle die Quantenpunkte, indem diese die Oberflächenenergie der Nanokristalle dadurch reduzieren, dass sie mit ihrem unpolaren Teil des Moleküls an die Oberfläche koordinieren, wodurch es zur Bildung von Mizellen kommt. Nachfolgend diffundieren Styrol- oder Divinylbenzol-Monomere ins Innere der Mizelle. Diese Einheit wird auch als Seed bezeichnet. Die Polymerisation wird letztendlich dadurch initiiert, dass der Radikalstarter in die Mizelle gelangt und

dort eine radikalische Kettenreaktion auslöst ^[133].

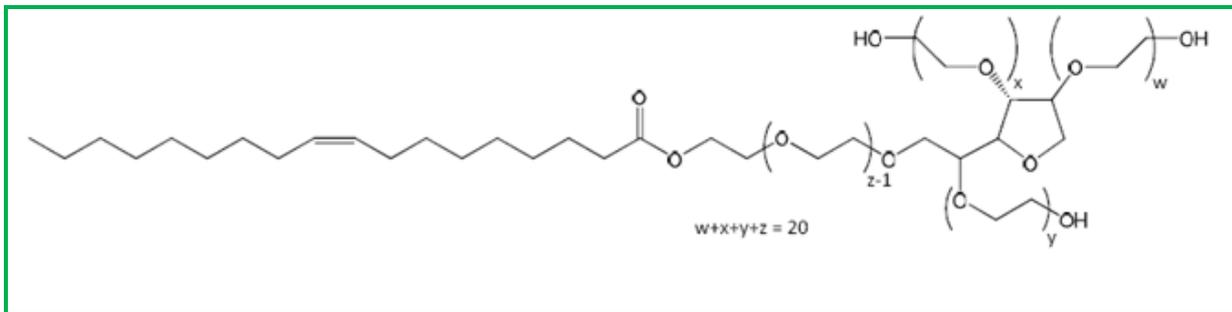


Abbildung 51: Strukturformel von Polysorbat 80 ^[134].

Die Strukturformel von Polysorbat 80 ist in Abbildung 50 dargestellt. Erkennbar ist, dass diese Verbindung zu größeren Anteilen hydrophil als hydrophob ist. Diese Eigenschaft lässt sich gut für die Ausbildung von Öl-in-Wasser-Emulsionen nutzen. Die verzweigte Struktur des Moleküls begünstigt zudem die Ausbildung von Verkapselungen, die auf der Bildung von Mizellen basieren ^[135].

Vergleichend sind in Abbildung 52 UV-VIS-Spektren von hydrophoben InP/ZnS-Quantenpunkten in Chloroform (rot) und verkapselte Partikel in Wasser (orange) präsentiert.

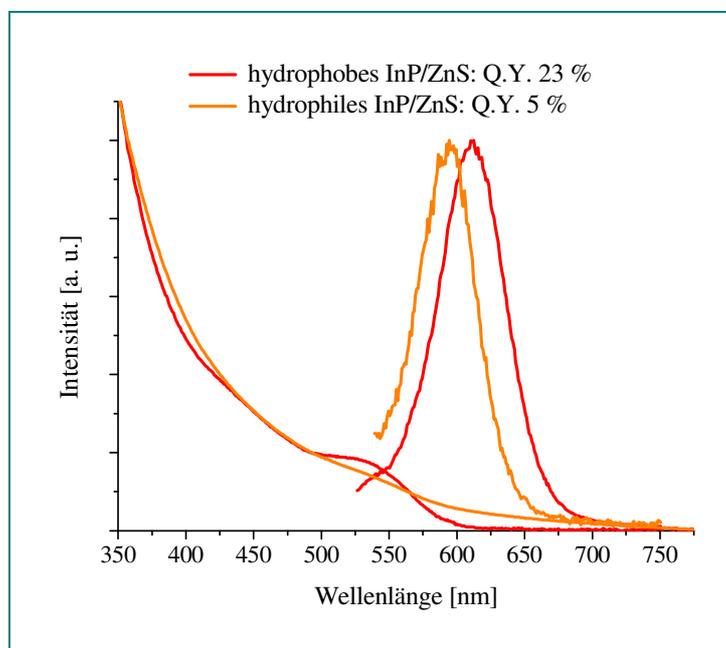


Abbildung 52: UV-VIS-Spektren von InP/ZnS (hydrophob, rot), durch Emulsionspolymerisation verkapseltes InP/ZnS (orange).

Die Spektren können als Nachweis für den gelungenen Transfer in Wasser betrachtet werden, da die Aufnahme der Spektren nur unter der Voraussetzung möglich ist, dass die Nanokristalle in Lösung vorliegen. Dies kann in Wasser nur dann der Fall sein, wenn die Verkapselung erfolgreich ist. Die Abnahme der Fluoreszenz kann in mehreren Ursachen begründet sein. Zum einen wurde die Stabilität der InP/ZnS-Partikel in Gegenwart von THF durch zeitaufgelöste Fluoreszenzintensität getestet. Dabei hatte sich herausgestellt, dass sich die Fluoreszenzintensität innerhalb eines kurzen Zeitintervalls merklich verringert. Noch stärker tritt dieser Verlust auf, wenn die Nanokristalle vor der Verkapselung mehrfachen Aufarbeitungsschritten unterzogen werden. Der starke Einfluss der Umgebung auf die Stabilität der Partikel könnte im engen Zusammenhang mit der vermutlich geringen Schalendicke der ZnS Hülle stehen. Bei der zugrunde liegenden Synthese kann über die genaue Natur des Schalenmaterials keine Aussage getroffen werden, so ist z. B. noch ungeklärt, ob es sich um reines ZnS oder um eine ZnS-haltige Mischstruktur handelt. Konkrete Aussagen bezüglich der Anzahl der Monolagen wurden in der zugrunde liegenden Vorschrift nicht getroffen ^[11]. Vermutlich lässt sich entweder durch eine Änderung der Zusammensetzung der Schale oder durch Verwendung eines anderen Lösungsmittels bei der Verkapselung die Quantenausbeute noch weiter steigern. Für die Verringerung der Quantenausbeute gibt es aber eventuell noch eine weitere Ursache. Wie anhand der TEM-Aufnahmen (Abbildung 53) zu erkennen ist, sind nicht die einzelnen Quantenpunkte verkapselt, sondern es befinden sich immer mehrere Partikel in einer Polymerhülle. Dies kann dazu führen, dass es zum Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) kommt. Dabei erfolgt eine Energieübertragung zwischen einem Donor und einem Akzeptor. Entscheidend ist bei diesem Phänomen, dass der Energietransfer auf Dipol-Dipol-Wechselwirkungen basiert und dabei dem Coulombschen Gesetz folgt, d. h. dass der Energietransfer strahlungsfrei erfolgt und kein Photonenaustausch stattfindet. Der Förster-Transfer unterliegt den quantenmechanischen Eigenschaften des Spins von Donor- und Akzeptorfarbstoff und tritt meist als Singulett-Singulett-Transfer auf.

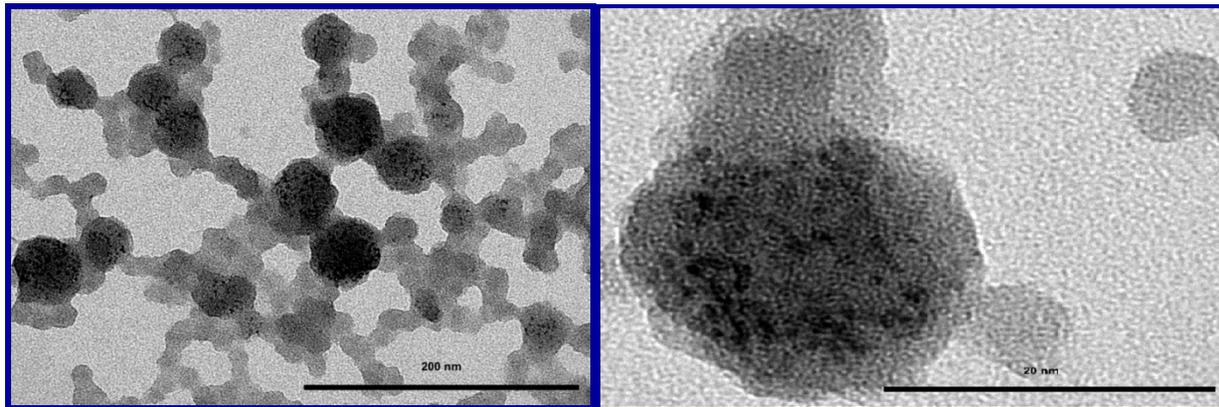


Abbildung 53: TEM-Aufnahmen von verkapseltem InP/ZnS.

An dieser Stelle kann man festhalten, dass sich die Verkapselung von InP/ZnS durch die Saat-Emulsionspolymerisation erfolgreich durchführen lässt. Dabei lassen sich wasserlösliche und fluoreszierende Mizellen erhalten, in denen mehrere Quantenpunkte verkapselt sind.

4.5 Verkapselung von InP/ZnS durch Self-Assembly mit Triblock-Copolymeren

Eine andere Alternative, die zu wasserlöslichen Nanokristallen führt, stellt die auf Self-Assembly basierende Verkapselung von InP/ZnS mit Triblock-Copolymeren dar. Bereits im Fall von CdSe/CdS/ZnS-, FeO_x- und mit NiPt-Nanopartikeln hatte sich diese Methode als erfolgreich erwiesen. In Kooperation mit Elmar Pösel sollte getestet werden, ob dieses Verfahren auch bei InP/ZnS-Quantenpunkten zu dem Ziel, wasserlösliche Partikel zu erhalten, führt. Abbildung 54 stellt die Strukturformel des zugrunde liegenden Triblock-Copolymers Polyethylenimin-Polycaprolacton-Polyethylenoxid (PEI-PCL-PEO) mit einer Aminfunktion dar. Die Aminofunktionen sind bei diesem Liganden für die Kopplung an die Oberfläche der Nanokristalle verantwortlich. Die Polycaprolacton-Einheit erhöht den hydrophoben Anteil in der Nähe der Partikeloberfläche und schirmt die Quantenpunkte verstärkt vor Wassermolekülen ab, woraus die erhöhte Stabilität in diesem Medium resultiert. Der mittlere Teil des Stabilisators verfügt über einen hohen Polyethylenoxid-Anteil, welcher die Wasserlöslichkeit des Moleküls vermittelt. In der äußeren Sphäre der Ligandenhülle ragen die funktionellen Gruppen, welche für die Kopplung an

Biomoleküle nutzbar sind, heraus.

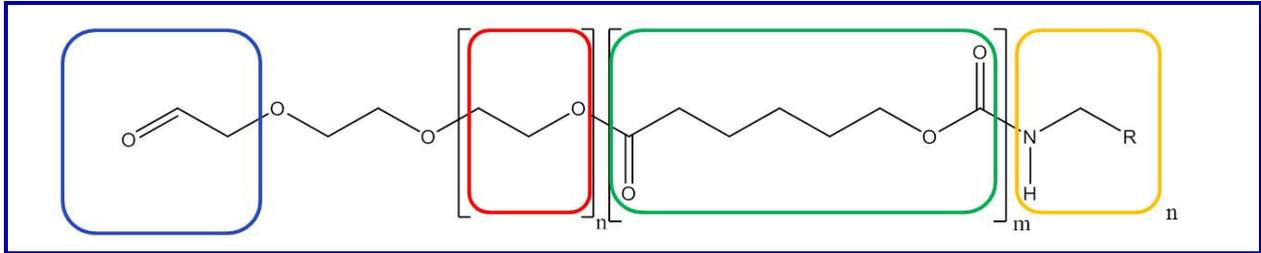


Abbildung 54: Strukturformel von PEI-PCL-PEO-Triblock-Copolymeren.

Die hier verwendeten Triblock-Copolymere zeichnen sich durch eine besondere Eigenschaft aus. Denn lediglich durch Variation der Menge des zugesetzten Liganden lässt sich gezielt steuern, ob einzelne oder mehrere Quantenpunkte in einer Mizelle verkapselt werden. Schematisch ist dies in Abbildung 55 dargestellt ^[30].

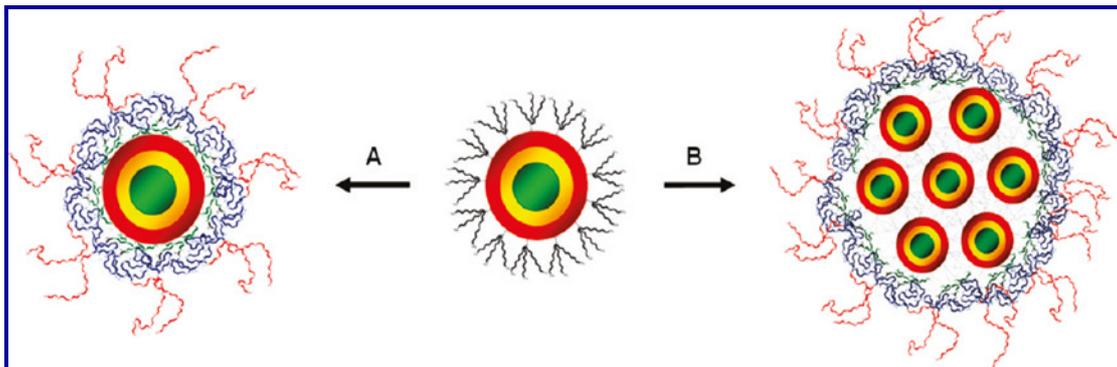


Abbildung 55: Steuerung der Verkapselung einzelner oder mehrere Quantenpunkte in einer Mizelle über die Menge des PEI-PCL-PEO-Triblock-Copolymers [30].

Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Versuche vorgestellt. In Abbildung 56 sind UV-VIS-Spektren der hydrophoben und hydrophilen InP/ZnS-Quantenpunkte gezeigt. Deutlich wird an dieser Stelle, dass es zu einer Verschiebung des Emissionsmaximums nach der Verkapselung kommt. Auch nach dem Transfer in Wasser fluoreszieren die Partikel weiterhin, allerdings verringert sich bei diesem Schritt die Quantenausbeute von 23 % auf 5 %.

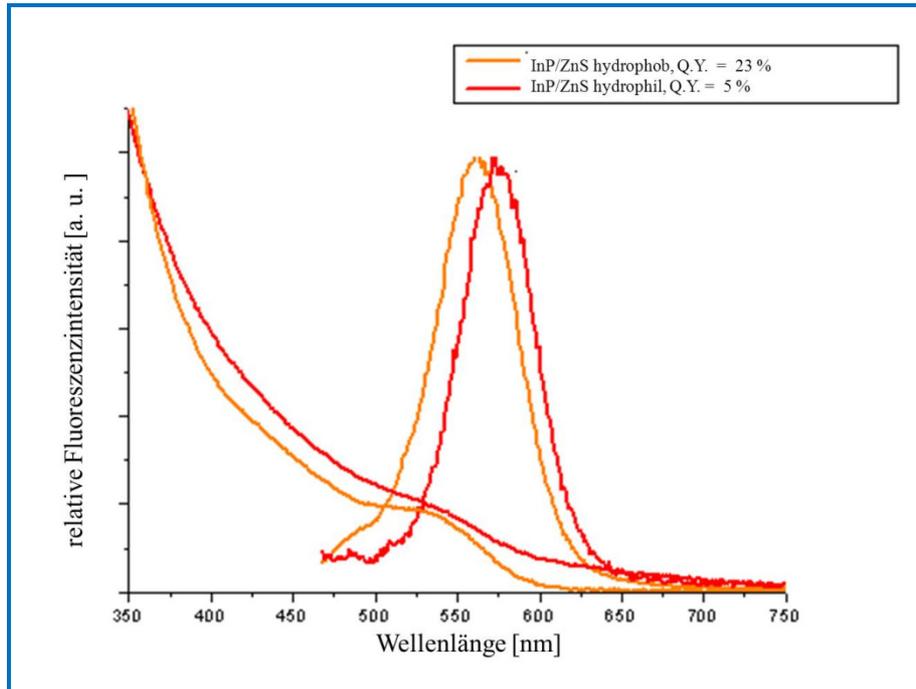


Abbildung 56: UV-VIS-Spektren von InP/ZnS (hydrophob, orange), InP/ZnS (hydrophil, rot).

Abbildung 57 zeigt Fotos von Triblock-Copolymer-stabilisierten InP/ZnS-Quantenpunkten in Wasser. Die hier gezeigten Proben unterscheiden sich im Wesentlichen durch die Menge an zugesetzten Stabilisatoren, dabei erfolgte die Zugabe des Liganden wie folgt: 0.08 mg, 0.1 mg, 0.2 mg, 0.4 mg, 0.6 mg, 0.8 mg, 1.0 mg, 1.5 mg, 2.0 mg. Die linke Abbildung zeigt die Partikel in Wasser bei Tageslicht, und auf der rechten Seite werden die gleichen Proben unter UV-Strahlung und unter Ausschluss von Tageslicht gezeigt.

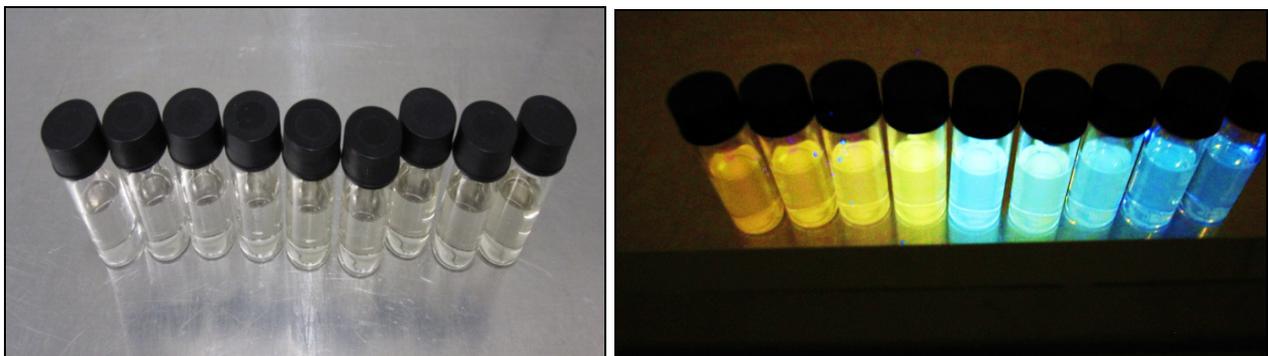


Abbildung 57: Fotos von InP/ZnS(PCL-PEO); li. bei Tageslicht, re. unter UV-Strahlung. Die Menge des Liganden wird von links nach rechts erhöht.

Anhand der Fotos wird ersichtlich, dass die Partikel vollständig in Wasser löslich sind und dass die

Quantenpunkte auch nach dem Ligandenaustausch noch über fluoreszierende Eigenschaften verfügen. Der Vergleichbarkeit halber lagen dem Ligandenaustausch die gleichen Nanokristalle zugrunde, dennoch emittieren die Partikel bei unterschiedlichen Wellenlängen. Offensichtlich kommt es mit zunehmender Menge an Ligand zu einer Verschiebung der Emission zu kürzeren Wellenlängen. Dies ist vermutlich auf eine Degradation der Partikel zurückzuführen. Eine Verschiebung in den blauen Wellenlängenbereich wird immer dann beobachtet, wenn sich der Partikeldurchmesser verringert und entsprechend die Bandlücke vergrößert wird. Vorstellbar ist, dass es zur Bildung von Komplexen zwischen einzelnen Komponenten und der Aminofunktion des Liganden kommt und sich die neugebildete Einheit von der Partikeloberfläche ablöst, wodurch sich der Durchmesser der Quantenpunkte verringert. Dieses Phänomen wurde bereits bei anderen Systemen beobachtet. Dabei findet die Wechselwirkung in der Regel zwischen den Metallzentren der Partikel und den stark koordinierenden funktionellen Gruppen des Liganden statt, wenn die Bindung zwischen den Metall-Ionen und den Nanokristallen nicht stark genug ist.

Die der TEM-Aufnahmen (Abbildung 58) der hydrophilen InP/ZnS-Quantenpunkte verdeutlichen, dass es möglich ist, mit Triblock-Copolymeren Nanokristalle sowohl isoliert zu verkapseln, als auch mehrere Quantenpunkte innerhalb einer Mizelle einzuschließen.

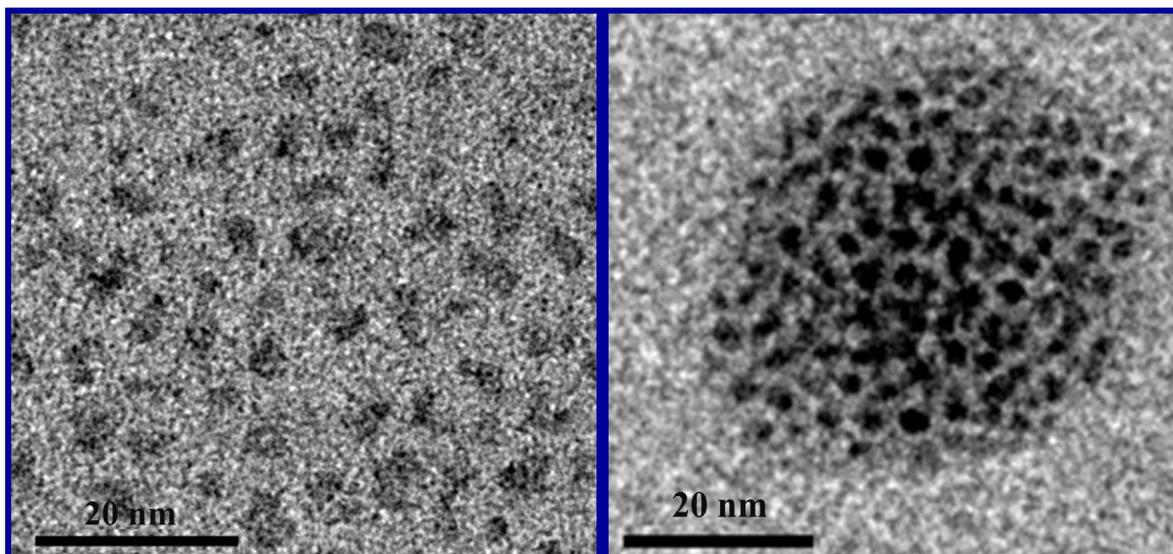


Abbildung 58: TEM-Aufnahmen von hydrophilen verkapselten InP/ZnS-Kern-Schale-Teilchen.

Die Verkapselung von InP/ZnS durch Self-Assembly mit Triblock-Copolymeren lässt sich, wie

anhand der Ergebnisse gezeigt, erfolgreich durchführen. Es lassen sich wasserlösliche InP/ZnS-Quantenpunkte erhalten, die weiterhin über fluoreszierende Eigenschaften verfügen. Dabei können einzelne Nanopartikel oder mehrere in einer Mizelle eingeschlossen werden. Erklärungen für die Ursachen der reduzierten Fluoreszenzintensität können beispielsweise in der nicht ausreichenden Stabilisierung durch das Schalenmaterial gesehen werden, da eine Degradation der Partikel trotz einer schützenden ZnS-Schale auftritt.

4.6 Mizelläre Verkapselung von In/ZnS-Partikeln mit Diblock-Copolymeren

Anhand von CdSe/CdS/ZnS- und FeO_x- Nanokristallen konnte gezeigt werden, dass die Einkapselung mit Diblock-Copolymeren eine vielversprechende alternative Strategie zur Herstellung wasserlöslicher Partikel ist. In einem vorgelagerten Schritt erfolgt in THF der Ligandenaustausch mit dem Prepolymer Poly(isopren)-diethylentriamin (PI-N₃). Nachfolgend wird in Wasser das zweite Diblock-Copolymer Poly(isopren)-b-poly(ethylenoxid) (PI-b-PEO) hinzugefügt. Die Koordination beider Liganden an die Oberfläche der Partikel basieren auf der selbstorganisierten Anlagerung (self-assembly), welche durch das Zusammenspiel von hydrophobischen Effekten und koordinativen Bindungen gesteuert wird. Die herausragende Stabilität dieses Verbindungstyps resultiert im Prinzip vor allem daraus, dass Quervernetzungen zwischen beiden Polymerarten möglich sind. Bewirkt wird dies durch eine radikalische Kettenreaktion zwischen den Isopreneinheiten. Diese wird in dem Moment ausgelöst, in dem der Radikalstarter AIBN (Azobisisobutyronitril) bei höheren Temperaturen zugesetzt wird. Prinzipiell lässt sich auch bei dieser Art der Verkapselung steuern, ob einzelne oder mehrere Partikel in einer Mizelle eingeschlossen werden. Der zugrunde liegende Verkapselungsmechanismus wird graphisch in Abbildung 59 demonstriert ^[136]. Diesbezüglich wurden ebenfalls Versuche im Rahmen dieser Arbeit, in Kooperation mit Christian Schmidke, durchgeführt. Die Ergebnisse hierzu sollen nachfolgend vorgestellt werden.

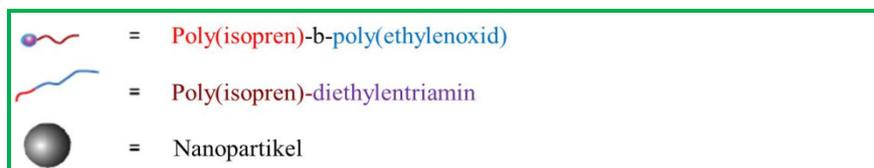
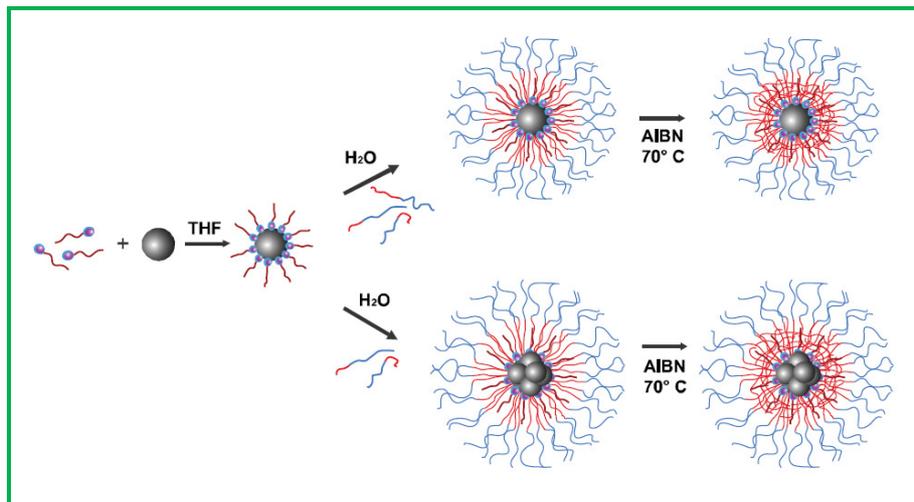


Abbildung 59: Verkapselung von Nanopartikeln mit Diblock-Copolymeren ^[136].

Auch im Fall von InP/ZnS konnten mit Hilfe von quervernetztem PI-N₃-PI-b-PEO wasserlösliche Nanokristalle erhalten werden. Das Endergebnis der quervernetzten PI-N₃-PI-b-PEO-stabilisierten InP/ZnS-Quantenpunkte ist in Abbildung 60 gezeigt. Erkennbar ist auch an dieser Stelle, dass die Partikel wasserlöslich sind und nach wie vor über fluoreszierende Eigenschaften verfügen. Allerdings traten nach dem Transfer der Quantenpunkte in Wasser Verluste der Fluoreszenzquantenausbeute auf. In Chloroform beliefen sich die Quantenausbeuten auf 23 %, wohingegen diese in Wasser nur noch bei 5 % lagen.

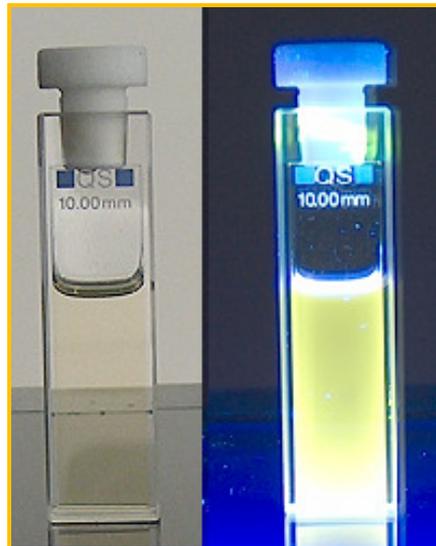


Abbildung 60: InP/ZnS-stabilisiert durch quervernetztes (PI-N₃-PI-b-PEO) in Wasser.

Die TEM-Aufnahmen (Abbildung 61) der quervernetzten InP/ZnS Quantenpunkte deuten darauf hin, dass mehrere Quantenpunkte in einer Mizelle verkapselt sind, da diese in Gruppen auf dem TEM-Grid verteilt vorliegen.

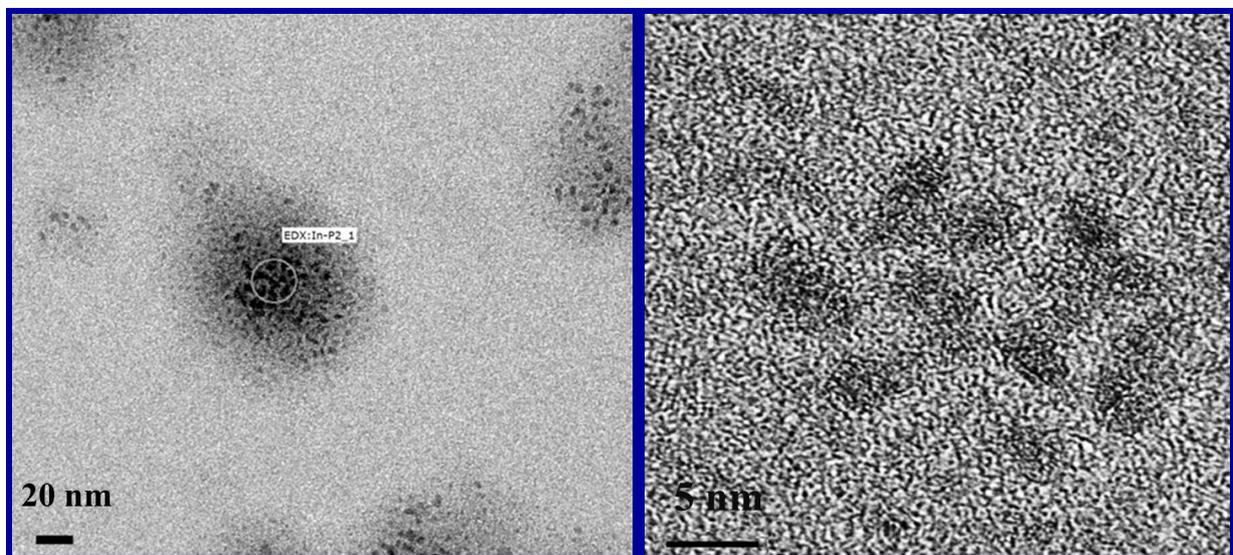


Abbildung 61: TEM-Aufnahmen von (PI-N₃-PI-b-PEO) quervernetzt verkapseltes InP/ZnS.

Zielführend waren auch die durchgeführten Experimente zur mizellulären Verkapselung von In/ZnS-Partikeln mit dem Diblock-Copolymer (PI-N₃-PI-b-PEO). Über diese Methode konnten fluoreszierende und wasserlösliche InP/ZnS-Quantenpunkte erhalten werden. Dabei konnte gezeigt

werden, dass innerhalb einer Mizelle eine Vielzahl von Quantenpunkten eingeschlossen werden können. Eine Erklärung für die reduzierte Fluoreszenzquantenausbeute nach dem Transfer der Partikel in Wasser könnte im Zusammenhang mit einer nicht ausreichenden Stabilisierung der Kerne durch das Schalenmaterial stehen. Eine andere Erklärung könnte das Auftreten des Förster-Resonanzenergietransfers (FRET) sein, da mehrere Quantenpunkte in einer Mizelle eingeschlossen sind, wodurch der Abstand zwischen den Partikeln relativ gering ist.

5 Charakterisierung

5.1 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die in dieser Arbeit dargestellten TEM-Aufnahmen sowie EDX-Messungen wurden an einem Philips CM-300 UT Mikroskop mit einer Beschleunigungsspannung von 300 kV oder an einem Jeol JEM-1011 bei 100 kV aufgenommen. Eine LaB₆-Kathode wurde bei dieser Messung als Elektronenquelle verwendet. Hierbei können anorganische Verbindungen mit einer Auflösung von 0.17 nm aufgenommen werden. Die Elementzusammensetzung der im Nanometerbereich liegenden Kristalle konnte mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX/Energy-Disperse X-ray) am Philips CM-300 UT Mikroskop ermittelt werden. Die in Toluol oder in Wasser gelösten Nanokristalle wurden auf einen mit amorphem Kohlenstoff beschichteten Kupferträger getropft und im Exsikkator getrocknet. Unter Verwendung einer CCD-Kamera (Gatan 694) wurden die gezeigten Bilder aufgenommen.

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wird ein Durchlicht-Elektronenbild einer Probe erzeugt. Bei diesem Charakterisierungsverfahren können Informationen über Anordnung, Form und Größenverteilung der Nanokristalle erhalten werden.

Im Prinzip unterscheidet sich der Aufbau des Elektronenmikroskops kaum von dem eines Lichtmikroskops. Die Auflösung bei einem Transmissionselektronenmikroskop ist ungefähr um drei Größenordnungen gegenüber einem Lichtmikroskop verbessert und ermöglicht eine Auflösung, bis

in den atomaren Bereich. In einem Hochvakuum werden die Elektronen, die von der LaB₆-Kathode freigesetzt werden, mit Hilfe einer angelegten Hochspannung beschleunigt. Zunächst erfolgt die Bündelung des Elektronenstrahls durch einen Kondenser, anschließend wird der Strahl durch magnetische Linsen gelenkt, wobei es sich hierbei häufig um Spulen handelt. Eine der wichtigsten Spulen des Elektronenmikroskops ist die nahe der Probe gelegene Objektivlinse. In der Bildebene dieser Objektivlinse werden die Elektronen, die die Probe durchdrungen haben, fokussiert. Dieses Zwischenbild wird durch zwei hintereinanderliegende Zwischenlinsen vergrößert. Letztendlich wird das Bild resultierend aus der letzten Zwischenlinse durch eine Projektivlinse vergrößert. Dieses Bild lässt sich auf einen Leuchtbildschirm projizieren.

Das Auftreffen des Elektronenstrahls auf die Probe lässt unterschiedliche Interaktionen mit den Atomen in der Probe zu, welche sich auf verschiedene Weise auf das beobachtete elektronenmikroskopische Bild auswirken. Für den Kontrast der TEM-Bilder kann der Phasenkontrast oder der Beugungskontrast verantwortlich sein. Prinzipiell können die auf die Probe einwirkenden Elektronen elastisch und inelastisch gestreut werden. Der Streuabsorptionskontrast kann sowohl bei kristallinen, als auch amorphen Verbindungen auftreten und wird maßgeblich von der Kernladungszahl beeinflusst. Für eine starke Bildgebung sind die an den Atomkernen elastisch gestreuten Elektronen verantwortlich. Der Kontrast und die Auflösung werden durch die unter Energieverlust auftretende an der Elektronenhülle gestreute unelastische Streuung beeinträchtigt. Bei diesem Prozess wird ein diffuser Streuuntergrund gebildet, welcher sich ungünstig auf den Kontrast und die Auflösung auswirkt.

Bei kristallinen Proben wird die Bildgebung zusätzlich durch die an den Netzebenen gebeugten Elektronen beeinflusst. Der Beugungskontrast tritt dabei immer dann auf, wenn bei den kristallinen Proben die Bragg'schen Bedingungen erfüllt sind. In Abhängigkeit von der Abbildungsart (Hellfeld- oder Dunkelfeldabbildung) werden die reflektierten Strahlen durch die Kontrastblende abgeschwächt oder verstärkt. Phasenkontrast tritt dann auf, wenn zusätzlich zu der ungestreuten Welle auch die an der Probe gebeugten Elektronen durch Interferenzen zum Kontrast des Bildes beitragen ^[127-129].

5.2 Energiedisperse Röntgenanalytik (EDX/Energy-Disperse X-ray)

Bei dieser Messmethode wird die zu analysierende Probe von energiereichen Primärelektronen bestrahlt, wodurch die Emission von Röntgenstrahlung ausgelöst wird. Die Röntgenstrahlung wird dabei dadurch erzeugt, dass durch Einwirkung des energiereichen Elektronenstrahls kernnahe Elektronen herausgelöst werden und Elektronen aus darüberliegenden Schalen die Lücke wieder auffüllen. Die bei diesem Prozess frei werdende Energiedifferenz kann anstelle der Augerionisation in Form von Röntgenstrahlung abgegeben werden. Die frei werdende Röntgenstrahlung ist elementspezifisch. Die Analyse der Spektrallinien lässt eine Aussage über die atomare Zusammensetzung zu ^[137].

5.2.1 Röntgendiffraktometrie (XRD)

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Gerät handelt es sich um ein Philipps X`Pert-Diffraktometer mit Bragg-Brentano-Geometrie. Es wurde mit Kupfer-K α -Strahlung ($U = 45 \text{ kV}$, $I = 40 \text{ mA}$) gemessen. Die Probenvorbereitung erfolgte durch Auftropfen der Probenlösung auf einen Silizium-Träger mit anschließendem Verdampfen des Lösungsmittels.

Bei dieser Messmethode wird im Diffraktometer die monochromatische Röntgenstrahlung auf den Mittelpunkt des Probenträgers fokussiert. Da sich die vorliegenden Kristalle wie dreidimensionale Beugungsgitter verhalten, kommt es dabei zu charakteristischen Interferenz-Erscheinungen. Diese werden detektiert.

Wenn das elektromagnetische Wechselfeld der Röntgenstrahlen auf die Atome des Kristalls trifft, werden schwingende Dipole erzeugt, die ebenfalls Strahlung in Form von Kugelwellen abgeben. Diese werden auch als Sekundärwellen bezeichnet. Ob dabei konstruktive oder destruktive Interferenzen zustande kommen, wird maßgeblich von dem Abstand zwischen den Atomen beeinflusst. Alle in einer Ebene befindlichen Atome bilden eine sogenannte Netzebene. Der Netzebenenabstand zwischen benachbarten Netzebenen wird als Gangunterschied bezeichnet. Beträgt dieser ein ganzes Vielfaches der eingestrahnten Wellenlänge, so entstehen konstruktive

Interferenzen. Dieser Zusammenhang wird auch durch die Bragg-Gleichung (Gleichung 20) beschrieben.

In diesem ist die Intensität gegen den Beugungswinkel aufgetragen. Aus dem Beugungswinkel kann die Kristallstruktur bestimmt werden.

$$n * \lambda = 2 * d * \sin \Theta \qquad \text{Gleichung 20}$$

Mit:

n = ganze Zahl

λ = Wellenlänge des Röntgenstrahls

Θ = Beugungswinkel

d = Netzebenenabstand

Mit Hilfe der Pulver-Röntgendiffraktometrie lassen sich Informationen über die Kristallstruktur und die mittleren Größen der kristallinen Domäne der Nanopartikel gewinnen. Bei den Nanokristallen erscheinen die Reflexe im Diffraktogramm gegenüber den Reflexen resultierend aus den makroskopischen Analoga verbreitert. Diese werden durch die endliche kohärente Streulänge der Nanokristalle erzeugt. Mit Hilfe der Debye-Scherrer-Gleichung (21) lässt sich daher aus der Linienbreite die durchschnittliche Größe der Nanokristalle bestimmen.

$$H_B(2\Theta) = (K * \lambda * 57.3) / (D * \cos \Theta) \qquad \text{Gleichung 21}$$

Mit:

H_B = Halbwertsbreite des Reflexes

Θ = Beugungswinkel

λ = Wellenlänge des Röntgenstrahls

D = Teilchendurchmesser [nm], senkrecht zur reflektierten Netzebene

K = Formfaktor, sphärische Teilchen $K = 1$, der Wert ist in der Regel von den (hkl)-Werten der Beugungsreflexe

abhängig

5.3 Absorptionsspektroskopie

Die Absorptionsspektren wurden an einem Cary-50-UV-VIS-Spektrometer der Firma Varian aufgenommen. Die Quarzglasküvetten, die zur Messung herangezogen wurden, verfügten über eine optische Weglänge von 1 cm. Als Referenz wurde jeweils das Lösungsmittel herangezogen, welches als Lösungsmittel für die Nanokristalle diente. Über diese Messmethode kann Information über die Größe und Form der Nanokristalle in einer Probe erhalten werden. Aus diesem Grund ist die UV/VIS-Spektroskopie eine geeignete Analysemethode für die Untersuchung optisch aktiver Nanokristalle. Bei der Absorptionsspektroskopie wird elektromagnetische Strahlung im sichtbaren Wellenlängenbereich auf eine nicht streuende Probe eingestrahlt. Entspricht die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes einem Übergang zwischen zwei Energieniveaus einer Probe, kommt es zur Absorption. Wenn die eingestrahlte Energie größer ist als die der Bandlücke, kann ein Übergang auch in höhere Energieniveaus des Leitungsbandes erfolgen. Die überschüssige Energie kann dann an das Gitter in Form von Phononen abgegeben werden. Am Detektor wird dann lediglich der verbleibende Teil der Strahlung registriert. Der exponentiell verlaufende Strahlungsverlust beim Durchgang durch die Probe kann über das Lambert-Beersche Gesetz (18) quantifiziert werden.

$$I = I_0 \cdot e^{-c \cdot \epsilon \cdot d}$$

Gleichung 22

I = Intensität des transmittierten Lichtes

I_0 = Intensität der eingestrahlten Strahlung

c = Konzentration der absorbierenden Substanz in der Flüssigkeit (typische Einheiten: $[\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}]$ oder $[\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$)

ϵ = dekadischer molarer Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge λ . Dieser ist eine für die absorbierende Substanz spezifische Größe und kann zusätzlich auch z. B. vom pH-Wert oder vom Lösungsmittel abhängen. Er hat die Einheit $[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ oder $[\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$.

d = Schichtdicke, Einheit: [cm]

Zur Aufnahme des Spektrums werden im Messbereich alle Anregungswellenlängen sukzessiv vermessen.

5.4 Emissionsspektroskopie

Die Messungen erfolgten am Cary-Eclipse-UV-VIS-Spektrometer der Firma Varian. Bei der Emissionsspektroskopie wird die Probe mit elektromagnetischer Strahlung im UV/VIS-Bereich bestrahlt, dabei soll lediglich die von den Nanokristallen emittierte Strahlung vermessen werden. Dies erfolgt, indem der Emissionsstrahl senkrecht zum Anregungslicht registriert wird. Die Emission erfolgt, wenn das durch den Anregungsstrahl promovierte Elektron wieder in den Grundzustand zurückkehrt. Anregungsstrahl und Emissionsstrahl sind aufgrund des Stokes-Shift gegeneinander verschoben.

Bei dieser Methode wird die Emission bei konstanter Anregungswellenlänge vermessen, hierfür wird in der Regel die Wellenlänge des ersten Absorptionsmaximums gewählt. Dabei wird die Emissionsintensität als Funktion der Emissionswellenlänge registriert.

5.5 Dynamische Lichtstreuung

Die in dieser Arbeit durchgeführten DLS-Messungen (Dynamische Lichtstreuung) wurden an einem Malvern Zetasizer Nano Zs durchgeführt. Jede Probe wurde drei- bis fünfmal in einer Einwegküvette (Polystyrol) oder einer Quarzküvette gemessen (in Abhängigkeit von dem zugrunde liegenden Lösungsmittel).

Die gereinigten Nanopartikel wurden nach dem Ligandenaustausch mittels 0.2 µm CME Spritzenfilter filtriert. Die hydrodynamischen Durchmesser wurden unter Verwendung der Dispersion Technology Software Ver. 5.02 (Malvern Instruments Ltd.) berechnet.

Die dynamische Lichtstreuung ermöglicht die Bestimmung des Partikeldurchmessers und im Wässrigen des hydrodynamischen Durchmessers. Als Strahlungsquelle dient hierbei ein Laserstrahl, welcher von der Blende auf die gewünschte Strahlengröße fokussiert wird. Trifft der Strahl auf die Probe, wird ein Teil des Strahls gestreut. In Abhängigkeit vom Streuwinkel (Θ) misst der Detektor die Intensität des gestreuten Strahls.

Die dynamische Lichtstreuung von kolloidalen Lösungen führt zu winkelabhängigen Fleckenmustern, d. h. es wird kein gleichmäßiges Streubild erhalten. Diese Fleckenmuster resultieren aus den konstruktiven und destruktiven Interferenzen des gestreuten Lichts.

Wegen der Brown'schen Molekularbewegung ändern die Moleküle ihre Position, wodurch die Flecken über die Zeit fluktuieren. Die Intensität variiert, je nachdem, wie schnell sich das Teilchen bewegt. Aus der Fluktuation der Intensitäten lassen sich Informationen über die Teilchen mit Hilfe einer Zeitkorrelationsfunktion gewinnen. Unter der Annahme, dass die betrachteten Teilchen starre Kugeln sind, kann mit Hilfe der Stokes-Einstein-Gleichung (23) der hydrodynamische Teilchenradius R_H ermittelt werden.^[138]

$$D_0 = \frac{kT}{6\pi\eta R_H} \quad \text{Gleichung 23}$$

5.6 Thermogravimetrie

Die Thermogravimetrie wurde an einem TG 209 F1 der Firma Netzsch durchgeführt. Vor Beginn der Messung wurde die Probe dreimal gewaschen. Anschließend wurden 5-10 mg der Probe in den Al_2O_3 -Tiegel getropft und das Lösungsmittel verdampft.

Bei der Thermogravimetrischen Analyse (TGA) handelt es sich um eine analytische Methode, bei der die Änderung der Masse einer Probe in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit gemessen wird.

Die Probe wird dazu in einem kleinen Tiegel aus temperaturstabilem und inertem Material in einem Ofen auf über 1000 °C Temperaturen erhitzt. Dabei ist der Probenhalter an eine Mikrowaage gekoppelt, welche die Masseänderungen während des Aufheizvorgangs registriert. In unmittelbarer Nähe des Tiegels befindet sich ein Thermoelement, welches die Temperatur des Tiegels misst. Bei dieser Methode lassen sich die Temperatur, die Heizrate, der Gasstrom einstellen. Während der Analyse wird der Probenraum je nach Bedarf mit Stickstoff oder Sauerstoff gespült. Stickstoff wird verwendet, wenn eine Oxidation unterbunden werden soll. Die Gewichtsabnahme bzw. -zunahme und die Temperatur, bei welcher die Gewichtsänderung stattfindet, kann spezifisch für eine untersuchte Probe sein. Daraus können Rückschlüsse auf die Zusammensetzung des Stoffes gezogen werden ^[132].

5.7 Kernresonanz-Spektroskopie (NMR)

Die in dieser Arbeit aufgenommenen ¹H-NMR Spektren wurden mit einem Bruker AMX400 Spektrometer bei einer Frequenz von 400 MHz aufgenommen. Alternativ wurde auf einem Bruker DRX500 Avance Spektrometer bei 500 MHz gemessen. Die Vorbereitung der Proben erfolgte, indem ~10 mg Substanz in 0.7 ml deuteriertem Lösungsmittel (Chloroform-d¹ oder DMSO-d⁶) gelöst wurden. Zur Auswertung der Spektren wurde das Programm MestRe-C (4.7.0.0) verwendet.

6 Experimenteller Teil

6.1 Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel waren von analytischem Grad oder der höchsten verfügbaren Reinheit und wurden ohne weitere Aufreinigung verwendet.

6.2 Darstellung von InP

1. Methode

Die Synthese wurde unter N₂-Atmosphäre durchgeführt. Die Darstellung der Indiumphosphid-Kerne erfolgte, indem 117 mg (0.4 mM) Indiumacetat (AlfaAesar, 99.99 %), 360 mg Myristinsäure (Aldrich, 99 %) und 397 µL (2.4 mM) Octylamin (Alfa Aesar, 99 %) in einen Dreihalskolben in zuvor getrocknetem ODE (Aldrich, 90 %) (5 mL) gelöst wurden. Die Lösung wurde auf 188 °C unter Stickstoffatmosphäre hochgeheizt. In der Glovebox wurde ein Reaktionsgemisch, bestehend aus 58 µL P(TMS)₃ (Acros, 98 %) und 1.5 mL ODE, hergestellt, dem Dreihalskolben zugeführt und für eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt ^[11].

2. Methode

Eine 0.63 M InCl₃ in TOP Lösung wurde hergestellt, indem 700 mg (3.15 mmol) wasserfreies InCl₃ (AlfaAesar, ≥ 99 %) in 5 mL destilliertem TOP (Aldrich, 90 %) für 2.5 h in der Glovebox unter Rückfluss auf 100 °C erhitzt wurden. Anschließend wurde dort auf Raumtemperatur abgekühlt und 0.78 mL P(TMS)₃ zugesetzt. Die Herstellung der Nanokristalle erfolgte unter Stickstoffatmosphäre. Das gelbliche Reaktionsgemisch wurde außerhalb der Glovebox in die 150 °C heiße evakuierte DDA-Lösung (Fluka, ≥ 98 %) gegeben und bei dieser Temperatur 4 h gerührt. Nachfolgend wurde

auf 240 °C hochgeheizt und weitere 48 h bei dieser Temperatur gerührt ^[111].

6.3 Herstellung von InP/ZnS

Die Versuchsdurchführung erfolgte unter Stickstoffatmosphäre. Im Anschluss an die Kernsynthese erfolgte das Wachstum der Schale, ohne zwischenzeitliche Aufarbeitung. Der Reaktionskolben mit den Nanokristallen wurde auf Raumtemperatur abgekühlt. In diese Lösung wurden 353 mg (0.55 mM) Zinkstearat (Aldrich, purum) gefüllt und 400 µL einer Schwefel (Aldrich, 99.998 %) in ODE Lösung (1 M). Nachfolgend wurde es auf 160 °C hochgeheizt und für 18 Stunden gerührt.

Im Anschluss wurden die Nanokristalle aufgearbeitet, indem die Partikel in ca. 10 mL Toluol (Grüssing, 99.8 %) gelöst und mit ca. 30 mL Methanol (Geyer, 99.8 %) ausgefällt wurden. Häufig kommt es bei diesem Schritt zu einer Phasentrennung. In diesem Fall wird der Lösung *N*-Isopropanol (VWR, 99.9 %) zugesetzt bis sich diese erneut mischten und eine trübe Lösung erhalten wurde. Anschließend wurden die Partikel bei 3500 rcf zentrifugiert und der Überstand abdekantiert. Dieser Schritt wurde noch weitere drei bis fünf Mal wiederholt, wenn die Nanokristalle für die Charakterisierung herangezogen werden sollten. Waren die Quantenpunkte für den Transfer ins Wässrige bestimmt, wurde lediglich ein Mal gefällt, da sich gezeigt hatte, dass andernfalls bei dem Ligandenaustausch erhebliche Verluste bezüglich der Quantenausbeute zu verzeichnen waren.

6.4 Synthese thiofunktionalisierter Polyethylenoxide mittels Michael-Typ-Reaktion

6.4.1 Synthese thiofunktionalisierter Liganden mit kurzen Polyethylenoxiden

Für die Herstellung der polyethylenoxiden Liganden wurde ein Äquivalent Pentaerythritol-

tetrakis(3-mercaptopropionat) (Aldrich, > 95 %) mit variierenden Mengen an PEO-monoacrylat (Dajac Labs) umgesetzt. Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Michael-Typ-Reaktion, bei der Umsetzung diente Pyridin (Merck, zur Analyse) als Katalysator.

Bei der Synthese wurden 2 g (6 mmol) Polyethylenoxid-Monoacrylat mit Pentaerythritol-tetrakis(3-mercaptopropionat) in 2 Äquivalente an Pyridin unter Stickstoffatmosphäre und Lichtausschluss gelöst und über eine Dauer von 24 h gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Probe unter Stickstoffatmosphäre, Lichtausschluss und im Gefrierfach gelagert ^[123].

6.4.2 Darstellung längerer dreizähliger thiofunktionalisierter Polyethylenoxidliganden

Im Prinzip sind sich die Darstellungsweisen von kurzen und langen Polyethylenoxidketten recht ähnlich. Unterschiede ergeben sich hier lediglich bezüglich der Reaktivität, welche bei den längeren Ketten geringer ist. Diese Eigenschaft führt dazu, dass in Abhängigkeit von der Kettenlänge längere Reaktionszeiten und höhere Reaktionstemperaturen erforderlich sind. Eine weitere Abweichung ergibt sich aus den niedrigeren Schmelzpunkten, was den Zusatz eines geeigneten Lösungsmittels erfordert. Zu diesem Zweck hat sich die Verwendung von Chloroform als geeignet erwiesen.

Bei dieser Umsetzung wurden 2 Äquivalente (4 mmol) PEO-Monoacrylat mit einem Äquivalent (2 mmol) Pentaerythritoltetrakis(3-mercaptopropionat) und 4 Äquivalent (8 mmol) N-Ethyl-diisopropylamin unter Stickstoffatmosphäre in einen Dreihalsrundkolben überführt, welcher 20 mL wasserfreies Chloroform enthielt. Im Anschluss wurde eine geeignete Temperatur eingestellt, diese variierte zwischen Raumtemperatur und 50 °C und hing von der Kettenlänge des Polymers ab. Die Reaktionsdauern lagen in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur zwischen 48 und 76 Stunden.

Die Aufarbeitung erfolgte indem die Reaktionslösung auf -20 °C abgekühlt wurde. Um eine möglichst hohe Ausbeute zu erhalten, wurde die Menge an Chloroform im Vakuum auf wenigstens

die Hälfte reduziert, um zu vermeiden, dass ein Teil der Liganden bei dem nachfolgenden Fällungsschritt erneut gelöst wird. Die Reaktionslösung wurde langsam unter Rühren in kaltes Diethylether getropft. Dabei bildeten sich weiße flockige Kristalle. Bei den langkettigen Polymeren, ließen sich diese durch Vakuumfiltration über einem Glasfiltertiegel vom Lösungsmittel abtrennen. Nachfolgend wurden die Kristalle im Vakuum getrocknet und dann unter Stickstoffatmosphäre, Lichtausschluss und bei niedrigen Temperaturen verwahrt. Ebenso wurde mit den kurzkettigen Liganden nach der Abtrennung des Lösungsmittels verfahren. Die Abtrennung erfolgte an dieser Stelle allerdings durch 3-minütiges Zentrifugieren der Probe bei 3500 rcf, da der Verlust der kürzeren Liganden bei der Aufarbeitung mittels Vakuumfiltration zu groß ist. Dies steht mit den niedrigeren Schmelzpunkten der Probe im Zusammenhang, da die Liganden leicht in die flüssige Phase übergehen und dadurch im Filtrat aufgenommen werden ^[123].

6.4.3 Aktivierung der Liganden

Terminale Hydroxylgruppen der hergestellten Liganden eignen sich in der Regel nicht für die kovalente Verknüpfung mit Biomolekülen, weshalb entweder eine Umfunktionalisierung der funktionellen Gruppe oder die Kopplung unter Verwendung eines Aktivierungsreagenzes erfolgen muss.

Da bei beiden beschriebenen Methoden die Thiolgruppen mit der Hydroxylgruppe eine Konkurrenzreaktion eingehen kann, erfolgt zunächst die Umfunktionalisierung des PEO-Monoacrylats, und erst in einer Folgereaktion wird die thiolhaltige Komponente an die PEO-Einheit gekoppelt ^[123].

6.4.4 Veresterung der endständigen Hydroxylgruppe mit Bernsteinsäureanhydrid

In einen Dreihalskolben wurde unter Schlenckbedingungen wasserfreies Chloroform gegeben, dazu wurden 5 Äquivalente (20 mmol) Bernsteinsäureanhydrid (Aldrich, > 99 %) und 0.2 Äquivalente

(0.8 mmol) DMAP (Merck, 99 %), sowie 1 Äquivalent (4 mmol) PEO_n-Monoacrylat gegeben. Die Reaktionsmischung wurde unter Lichtausschluss über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit gesättigter 20 mL Natriumchloridlösung 3 Mal extrahiert, um die überschüssige Bernsteinsäure abzutrennen. Nachfolgend wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, auf -20 °C abgekühlt und über einen Tropftrichter in (-20 °C) kalten Diethylether getropft, worauf sich ein weißer Niederschlag bildete. Dieser ließ sich durch Zentrifugieren bei den kürzeren Liganden abtrennen. Die größeren Liganden wurden über Vakuumfiltration mit einer Fritte isoliert. Die Zielverbindung wurde anschließend im Ölpumpenvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das feste Reaktionsprodukt wurde bis zur weiteren Verwendung unter Lichtausschluss und Stickstoffatmosphäre im Kühlschrank gelagert ^[123]

6.5 Ligandenaustausch

Ein erfolgreicher Ligandenaustausch ist nur dann möglich, wenn der Ligand in einem großen Überschuss eingesetzt wird. Da für InP/ZnS-Quantenpunkte in der Literatur keine Liganden-Partikel-Verhältnisse angegeben sind, mussten diese empirisch ermittelt werden. Zu diesem Zweck wurde die entsprechende Mengen an Ligand eingewogen und in Chloroform gelöst. Alle Tubes wurden mit der gleichen Menge an InP/ZnS-Partikeln gelöst in Chloroform versetzt. Anschließend wurde zwei Mal mit Hexan gefällt, um nicht koordinierte Liganden, welche bei der Absorptionsmessung zu einem störenden Hintergrund führen, zu entfernen. Hinterher wurde der Rückstand im Stickstoffstrom getrocknet und in dest. Wasser gelöst. Häufig bildete sich dabei eine milchig trübe Suspension. Die Aufreinigung wurde daraufhin mit Hilfe von Spritzenfiltern (Rotilabo®-Spritzenfilter PTFE, 5 μm , 1 μm , 0,45 μm , 0,2 μm) durchgeführt. Wurde auch nach diesem Aufreinigungsschritt, keine transparente Lösung erhalten, erfolgte ein weiterer Reinigungsschritt mittels Ultrazentrifugation (Amicon® Ultra Centrifugal Filter Units Ultracel-100 K, Regenerated Cellulose 100,000 MWCO oder 10,000). Anschließend wurden die Proben mittels Absorptions- und Emissions-Spektroskopie charakterisiert und die Quantenausbeuten der Proben bestimmt. Das Ligand-Partikel-Verhältnis, welches für den jeweils untersuchten Liganden zu der höchsten Quantenausbeute führte, wurde für den Ligandenaustausch als am besten geeignet erachtet. Dieses Verhältnis wurde auch für den Transfer der Partikel mit Hilfe des jeweiligen Liganden zu späteren Zeitpunkten gewählt.

6.5.1 Puffertests

Die Durchführung der Puffertests erfolgte, indem in UV-VIS-Einweg-Küvetten je 2 mL der zu untersuchenden Pufferlösung vorgelegt wurden. Jeder Küvette wurden äquivalente Mengen hydrophiler Nanopartikeln zugefügt, sodass die Konzentration in den Küvetten bei $c = 0.27 \text{ mol/L}$ lag. Im Abstand von bestimmten Zeitintervallen wurden Absorptions- und Emissions-Spektren aufgenommen und bezüglich der Fluoreszenzintensität miteinander verglichen.

Im Folgenden sind die genauen Zusammensetzungen der verwendeten Pufferlösungen aufgelistet.

PBS (*phosphate buffered saline*) (**pH = 7.5**)

PBS (pH = 13.1)

PBS (pH = 7.5) mit NaOH alkalisch eingestellt

PBS (pH = 3.4)

PBS (pH = 7.5) mit HCl sauer eingestellt

TRIS (Tris(hydroxymethyl)aminoethan, 1 M)

0.6063 g Trizma® in 50 mL bidest. Wasser gelöst und mit HCl auf pH 8 eingestellt

MES (2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure, 0.1 M)

0.978 g MES mit bidest. Wasser auf 50 mL aufgefüllt und mit NaOH auf pH 6 eingestellt

Anschließend mit Steriflip von Millipore (0.22 µm) steril filtriert

DMEM (Dulbecco`s Modified Eagle`s Medium)

DMEM + 20% HEPES (2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure)

40 mL DMEM + 10 mL HEPES

DMEM + 20% FCS (Fetales Kälberserum)

40 mL DMEM + 10 mL FCS

Assay-Puffer (BSA, für 250 mL bidest. Wasser)

BSA (1 %: 2.5 g bovines Serumalbumin)

TRIS (50 mM: 6.057 g Trizma® + 12.5 mL bidest. Wasser, mit HCl auf pH 7.4 eingestellt)

Alle Substanzen wurden in einem Messkolben zusammengegeben und mit bidest. Wasser auf

250 mL aufgefüllt. Direkt vor dem Puffertest erfolgte eine Sterilfiltration.

6.5.2 Durchführung der pH-Wert-abhängigen Stabilität von InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X)

Die Untersuchung der Stabilität der InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X) erfolgte, indem die hydrophoben Nanokristalle mit den entsprechenden Liganden versehen und in die wässrige Phase überführt wurden. Anschließend wurde die zunächst trübe Lösung mit Hilfe von Spritzenfiltern (Rotilabo®-Spritzenfilter, 5 PTFE, 1 µm, 0,45 µm, 0,2 µm) aufgearbeitet. Nachfolgend konnte mittels Ultrafiltration (Amicon® Ultra Centrifugal Filter Units Ultracel-100K, Regenerated Cellulose 100,000 MWCO oder 10,000 MWCO) der Ligandenüberschuss zu wesentlichen Anteilen entfernt werden. Nachfolgend ließen sich die Partikel über Ultrafiltration aufkonzentriert. Die Versuche wurden in einer Dreifach-Bestimmung und jeweils bei zwei unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt.

Wässrige Lösungen, die sich im pH-Wert unterschieden, wurden mit Acetat- und Phosphatpufferlösungen erhalten. Folgende pH-Werte wurden eingestellt: 3; 4; 5; 6; 7; 8. Von diesen Lösungen wurde in jede Küvette jeweils 2 mL gefüllt. Den Küvetten wurden entsprechende Mengen an InP/ZnS-Lösungen zugesetzt, sodass die Konzentration bei den höher konzentrierten Proben bei 0,3 µM lag und bei den niedrigeren bei 0,05 µM.

6.5.3 Durchführung der Verdünnungsreihen

Die Verdünnungsreihen wurden mit jedem getesteten Liganden in einer Dreifachbestimmung durchgeführt. Die wasserlöslichen InP/ZnS Quantenpunkte wurden wie weiter oben beschrieben vorbereitet. In die erste Küvette der Verdünnungsreihe wurden die Partikel so mit bidest. Wasser verdünnt, dass das Gesamtvolumen 2 mL Wasser umfasste. Davon wurde die Hälfte abgenommen und in die nächste Küvette, die 1 mL bidest. Wasser enthielt, gegeben. Auf diese Weise wurden acht bis zehn Proben Verdünnungen erhalten.

6.5.4 Probenvorbereitung für die Untersuchung der Photostabilität

Die Vorbereitung erfolgte, indem die Quantenpunkte nach der weiter oben beschriebenen Weise ins Wasser überführt wurden. Nach der Aufarbeitung wurden 3 mL der kolloidalen 1- μ M-Lösung in Quarzküvetten überführt und ins Spektrometer gestellt. Die Messung der Photostabilität erfolgte am Fluorolog 3 von der Firma Jobin Yvon. Die Leistung der Lampe in dem Fluoreszenzspektrometer betrug 450 W. Das Anregungslicht hatte eine Wellenlänge von 350 nm. Bei der Emission wurde die Wellenlänge des Emissionsmaximums der zugrunde liegenden Quantenpunkte eingesetzt. Beide Spaltbreiten wurden auf eine Spaltbreite von 5 nm gebracht.

6.5.5 Toxizitätstest mit Hilfe des WST-8 Assay

Die Toxizität von $\text{InP/ZnS}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X})$, $\text{InP}(\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X})$ und $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ wurde unter Verwendung des WST-8 Assay (Quick Cell Proliferation Assay Kit (Biocat, K302-2500)) durchgeführt. Die Vorbereitung des Toxizitätstestes erfolgte, indem die Zelllinien auf einer Mikrotiterplatte (Greiner, 655180) so aufgetragen wurden, dass die Dichte bei 104 Zellen/mL lag. Erst nach Ablauf einer Wachstumsphase der Zellen von einem Tag konnte mit dem eigentlichen Toxizitätstest begonnen werden. Den Zellen wurde DMEM + 10 % HEPES-Puffer (1 M, Invitrogen, 15630-056) zugefügt. Hierfür wurde von jedem Testsystem eine Verdünnungsreihe angesetzt und zu den Zellen zugesetzt. Der Test wurde in einer Dreifach-Bestimmung durchgeführt. Die Inkubationsdauer belief sich auf 24 Stunden und erfolgte bei 37 °C. Nachfolgend wurden die Zellen einer feuchten Atmosphäre, die 5 % CO_2 enthielt, ausgesetzt. Anschließend erfolgte die Zentrifugation, wobei der Überstand der Untersuchung der Toxizität mittels LDH-Test diente. Die im Niederschlag verbliebenen Zellen wurden zwei Mal mit D-PBS, welches kein Ca oder Mg enthielt, gewaschen und für weitere 4 Stunden inkubiert. Die Bestimmung der Toxizität basiert bei diesem Test auf der von lebenden Zellen enzymatischen Umwandlung von Tetrazoliumsalz in farbiges Formazan. Daher wurde nach Ablauf der Inkubationszeit die Absorptionsintensität der

Proben bei 460 nm und 620 nm mittels eines TECAN Infinite 200 Plate Readers bestimmt.

6.5.6 Durchführung des Toxizitätstests mit dem Lactatdehydrogenase (LDH) Assay

Zu dem LDH Assay (Biocat, K313-500) wurden 10 μL des Zellüberstands (siehe weiter oben) in eine Mikrotiterplatte (Greiner, 655180) überführt, sowie 100 μL des WST-8 Assay. Anschließend wurde bei Raumtemperatur für 30 min inkubiert. Die Absorption wurde analog dem WST-8 Assay vermessen.

6.5.7 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Auftrennung der Probe erfolgte über die HPLC mit Hilfe einer mit Superose[®] 6 gefüllten Säule.

6.5.8 Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4)

Die AF4 wurde am AF2000MT der Firma Postnova Analytics GmbH durchgeführt.

6.5.9 Verkapselung mit dem Triblockligand DPA 3

In zehn 2-mL-Eppendorf-Reaktionsgefäße wurden jeweils 2 μL einer InP/ZnS-Nanopartikel-Lösung ($8,44 \cdot 10^{-6} \text{ M} = 8,44 \text{ nM}$) in Chloroform gegeben, somit befanden sich in jedem Gefäß 0,25 nmol InP/ZnS-Nanopartikel. Das Chloroform wurde im N_2 -Strom entfernt. Anschließend wurde eine Triblockligand-DPA-3-haltige Stammlösung hergestellt. Bei dem Liganden handelte es sich um DP-PEO-PCL-PEI-Ligand, mit der Zusammensetzung [3,3-Diethoxy-propanyl-polyethylenoxid₁₆₀₀-poly- ϵ -caprolacton₄₀₀]₂₋₃-polyethylen-imin₇₀₀. Es wurden 11,1 mg DPA 3 in 1 mL THF gelöst, somit hatte die Ligandenlösung eine Konzentration von 11,1 mg/mL. Zuerst wurden die verschiedenen Volumina an Ligandlösung in die Gefäße eingefüllt. Anschließend

wurden die Proben auf das Endvolumen von 300 mL mit THF aufgefüllt. Die verschiedenen eingewogenen Mengen an Ligand sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Verschiedene Mengen Ligand für Proben SPION 5 nm 1–14 und SPION 18 nm 1–14. Die eingeklammerten Lösungsmengen bei den Proben 13 und 14 geben die Mengen nach der 10-fachen Verdünnung an.

| Probennummer [Nummer] | Menge Ligand (Feststoff) [mg] | Menge Ligand (Lösung) [µL] | THF gesamt [µL] |
|----------------------------------|--|---|----------------------------|
| 1 | 0,08 | 7,21 | 300 |
| 2 | 0,1 | 9,01 | 300 |
| 3 | 0,2 | 18,02 | 300 |
| 4 | 0,4 | 36,04 | 300 |
| 5 | 0,6 | 54,05 | 300 |
| 6 | 0,8 | 72,07 | 300 |
| 7 | 1,0 | 90,09 | 300 |
| 8 | 1,5 | 135,14 | 300 |
| 9 | 2,0 | 180,18 | 300 |
| 10 | 3,0 | 270,27 | 300 |

Anschließend wurde jeder Probe 1 mL Wasser zugesetzt und die Lösung durch vortexten durchmischt. Im Anschluss erfolgte die Charakterisierung.

7 Zusammenfassung

Das Ziel der Arbeit bestand darin, InP/ZnS-Quantenpunkte für biologische Anwendungen nutzbar zu machen. Einen der ersten Schritte stellte in diesem Zusammenhang die Löslichkeit in Wasser dar. Den Wasserlöslichkeitstests ging die Herstellung geeigneter InP/ZnS-Quantenpunkte voraus. Dabei ließen sich Quantenpunkte erhalten, die zwischen 450 nm und 750 nm emittieren. Die Synthesen, bei denen für die Darstellung der Kerne höhere Temperaturen benötigt wurden, führten zu etwas größeren Quantenpunkten. Die Variante, die kürzere Reaktionsdauern und niedrigere Temperaturen erforderte, ermöglichte die Darstellung sehr kleiner InP/ZnS-Quantenpunkte. Unter toxikologischen Gesichtspunkten sind kleinere Quantenpunkte für *in vivo*-Anwendungen vorzuziehen. Daher wurde für die nachfolgenden Versuche hauptsächlich die Synthese, die zu kleineren Quantenpunkten führte, genutzt.

Die Wasserlöslichkeit der hydrophoben Quantenpunkte wurde durch zwei prinzipiell verschiedene Herangehensweisen erreicht. Zum einen konnte dies durch den Ligandenaustausch erreicht werden und zum anderen durch amphiphile Moleküle.

Die zum Ligandenaustausch durchgeführten Versuche lieferten das Ergebnis, dass der Ligandenaustausch mit dem $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden mit beliebigen zugrunde liegenden molaren Massen und auch bei Variation der funktionellen Gruppen zu wasserlöslichen Quantenpunkten führt. Dabei ist es nicht nur möglich, die anfängliche Fluoreszenz der Partikel zu erhalten, sondern es besteht weiterhin die Möglichkeit, bei Wahl des geeigneten Stabilisators und optimalen Ligand-Partikel-Verhältnisses die Quantenausbeuten weiter zu steigern. Dabei konnten Werte erzielt werden, die um 50 % höher lagen als vor dem Ligandenaustausch. Die InP/ZnS-Quantenpunkte lagen zwischen 10 und 35 %. Die Abtrennung von Nebenprodukten lässt sich, wie gezeigt werden konnte, über HPLC und AF4 mit hohem Trennerfolg durchführen.

Für die InP/ZnS-Quantenpunkte hat sich in dieser Arbeit gezeigt, dass sich die Verwendung amphiphiler Moleküle ebenfalls eignet, um wasserlösliche Nanopartikel zu erhalten. Zielführend waren hier Moleküle wie Diblock-Copolymere, Triblock-Copolymere sowie Polysorbat-80. In

jedem der drei genannten Fälle ließen sich wasserlösliche Partikel erhalten, die, wenn auch vermindert, weiterhin über fluoreszierende Eigenschaften verfügten. Dabei ließen sich mehrere Quantenpunkte innerhalb einer Mizelle verkapseln, was auf ein hohes Potential hindeutet, InP/ZnS-Quantenpunkte auch für Coverkapselungen nutzen zu können. Bei den Quantenausbeuten dieser Systeme traten aber nach dem Transfer in Wasser drastischere Verluste auf. Diese beliefen sich letztendlich auf 5 %. Daher wurde für die nachfolgenden Untersuchungen auf den Ligandenaustausch mit $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ -Liganden zurückgegriffen, um hydrophile InP/ZnS-Quantenpunkte zu erhalten.

Nachdem Lösungsansätze für den Transfer der Quantenpunkte in Wasser gefunden wurden, bestand die nachfolgende Aufgabe darin, zu testen, ob die InP/ZnS-Nanopartikel den hohen Anforderungen, die der Einsatz in biologischer Umgebung mit sich bringt, standhalten können. Zu diesem Zweck wurden Puffertests mit den gängigsten biologisch relevanten Lösungen durchgeführt. Zusätzlich wurde überprüft, wie sich die unterschiedlichen pH-Werte auf die Stabilität auswirken. Bei den durchgeführten Puffertests hatte sich herausgestellt, dass die Partikel im deutlich überwiegenden Teil der untersuchten Medien eine hohe Stabilität aufweisen. Den gleichen Schluss lassen auch die Untersuchungen bei unterschiedlichen pH-Werten zu. Hier ließ sich der Erhalt der Fluoreszenz bei allen durchgespielten pH-Werten auch bei minimalsten Konzentrationen nachweisen. Ein weiterer Aspekt musste in diesem Zusammenhang überprüft werden: wie sich die Verdünnung auf die Stabilität der Partikel auswirkt. Denn zahlreiche Arbeitsschritte, die für biologische Anwendungen notwendig sind, führen zu Verdünnungen, die näherungsweise als unendlich betrachtet werden können. Hierbei wurde anhand von Verdünnungsreihen festgestellt, dass die Stabilität auch durch erhebliche Verdünnungen nicht beeinträchtigt wird. An diese Experimente knüpften sich Untersuchungen bezüglich der kinetischen Photostabilität dieses Systems. Hier wurden bemerkenswerte Ergebnisse erzielt, denn es konnte der Nachweis erbracht werden, dass sich die Photostabilität auch nach einer Dauer von 24 Stunden kaum verringert. Daher kann geschlussfolgert werden, dass sich das zugrunde liegende System insbesondere für biologische Langzeit-Untersuchungen hervorragend eignet. Nachfolgend wurden Untersuchungen durchgeführt, die eine Antwort auf die entscheidende Fragestellung liefern sollten, wie es sich mit der Toxizität der Nanokristalle und der der Liganden verhält. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Tests bezüglich der Zytotoxizität konnten keine zellschädigenden oder toxischen Wirkungen im

Zusammenhang mit den Partikeln nachgewiesen werden.

Zusammenfassend lassen die durchgeführten Versuche die Schlussfolgerung zu, dass die InP/ZnS(PEO_n(SH)₃X)-Nanopartikel ein sehr hohes Potential aufweisen, für biologische Anwendungen nutzbar zu sein. Hoffentlich konnte diese Arbeit dazu beitragen, dass in naher Zukunft III-V-Halbleiter-Nanokristalle für neue Diagnose- und Therapiemöglichkeiten genutzt werden können.

8 Summary

The most promising application of colloidal semiconductor nanocrystals is probably as emitters in biomedical labelling, LEDs, or lasers. There has been a huge development during the past decades for such uses in the case of CdSe. Since this material is environmentally restricted it has little future in the industry. It is expected that among all III-V systems, InP is probably the only one which could offer a compatible emission colour range similar to that of CdSe nanoparticles but without intrinsic toxicity. Although the wet chemical synthesis for III-V compounds include poor emission efficiency, poor control of size distribution, poor stability and precursors with high reactivity, the outstanding advantages of these materials predominate against the disadvantages. Another convenient argument is that some of the nanocrystals within the III-V family are able to emit within the “optical window” if suitably sized.

The intention of the thesis was to work out methods which allow the use of these particles for biomedical labelling. For this application it is essential that they are soluble in an aqueous media without losing their emission efficiencies. Different sophisticated methods which allow the migration of those nanoparticles from the non-aqueous to the aqueous phase were demonstrated. Two different general approaches were tested. On the one hand a method based on a ligand exchange reaction was investigated. The promising stabilizing agent was of the following constitution $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$. The most interesting part of the molecule is the tridentate thiol group, which already proved in the case of CdSe/CdS/ZnS nanoparticles to reveal a stability that overcomes most of the other PEO-containing Ligands. On the other hand amphiphilic molecules such as, for example, certain “Diblock-“, “Triblock-Copolymers” or Polysorbate-80 seem to be promising candidates for this purposes. Here the encapsulation is due to Van-der-Waals interactions between the hydrophobic part of the native ligands, which are still attached to the nanoparticle surface and the hydrophobic fragment of the amphiphilic molecule. The hydrophilic unit mediates the solubility of the micelle and the outer sphere of this unit consists of functional groups which allow further derivatisation. An outstanding application for medical devices of those constructs is that they may be used for coencapsulation.

In summary, it was possible to prove that InP/ZnS nanoparticles reveal a high potential for the use in biological applications. Both general tactics that were investigated lead to water soluble particles. The use of all three kinds of amphiphilic molecules was successful in the sense that they permit the encapsulation of InP/ZnS quantum dots within a micelle. This strategy enabled the formation of nanobeads, where several particles were embedded within one unit and the fluorescence properties were still maintained.

In case of the $\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$ coated quantum dots it was possible to prove that they survive the conditions of a biological environment. Ligands with varying molar masses and functional groups in the outer sphere were synthesized; all of them lead to water soluble nanocrystals. The transfer of nanoparticles correlates with a huge over excess of ligand. Therefore further purification steps were necessary. Here purification via HPLC, ultrafiltration or FTT was investigated and proved to be successful. Afterwards, stability tests in buffer solutions were realized. For these purposes different biologically relevant buffer and cell media were used. In this course the dependency of the stability on the concentration at different pH-values was investigated. Here only insignificant decreases of fluorescence intensity were detected. The same result was received, when carrying out a dilution series of the nanoparticles in bidest. water (Millipore). Time resolved fluorescence intensity experiments exposed that InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$) Q.D. exhibit a high photo stability, which allows investigations of biological processes which occur at low pace. Furthermore cell toxicity tests were performed. For this reason WST-8- and LDH-Release-Assays were carried out. Neither InP core nor InP/ZnS core-shell particles have a damaging influence on the viability or the toxicity within the investigated concentration and time range. The received results of the experiments lead to the conclusion that InP/ZnS($\text{PEO}_n(\text{SH})_3\text{X}$) core-shell nanoparticles can be recommended for the use of biological or medical purposes. We expect that in the near future our III-V nanoparticles may benefit to reduce health risks.

9 Anhang

9.1 Verwendete Chemikalien

| Substanz | Gefahrensymbol | R-Sätze | S-Sätze |
|---|---|--------------------------|--------------------------------|
| Bernsteinsäure-anhydrid | Xn | 22-36/37 | 25-46 |
| Chloroform | Xn | 22-38-40-48/20/22 | 36/37 |
| Diethylether | F +, Xn | 12-19-22-66-67 | 9-29-33 |
| 4-(Dimethylamino)-pyridin | T | 24/25-36/38 | 22-36/37-45 |
| Dinatriumdihydrogen-phosphat | Kein gefährlicher Stoff nach GHS | - | - |
| Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) | - | - | - |
| Essigsäure | C | 10-35 | (1/2)-23-26-45 |
| N-Ethyldiisopropylamin | F, C | 11-22-34-52/53 | 16-26-36/37/39-45-61 |
| 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES) | - | - | - |
| Heptan | F, Xn, N | 11-38-65-67-50/53 | (2)-9-16-29-33-60-61-62 |
| Indium(III)-acetat | Xi | 36/37/38 | 26 |
| Indium(III)-chlorid | C, Xn | 22-34 | 26-36/37/39-45 |
| N-Isopropylamin | F+, Xi | 12-36/37/38 | 16-26-29 |

| Substanz | Gefahrensymbol | R-Sätze | S-Sätze |
|---|-------------------------------------|-----------------------------|----------------|
| Methanol | F, T | 11-23/24/25- 39/23/24/25 | 7-16-36/37-45 |
| Myristinsäure | Kein gefährlicher Stoff nach GHS | - | - |
| Natriumacetat | Kein gefährlicher Stoff nach GHS | - | - |
| Natriumchlorid | Kein gefährlicher Stoff nach GHS | - | - |
| Natriumdihydrogen- phosphat | Kein gefährlicher Stoff nach GHS | - | - |
| 1-Octadecen | - | - | - |
| Pentaerythritoltetrakis- (3-mercaptopropionat) | Xi | 36/37/38 | 26-36 |
| Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) | - | - | - |
| Pyridin | F, Xn | 11-20/21/22 | 26-28 |
| Schwefel | Xi | 38 | 46 |
| Toluol | F, Xn | 11-38-48/20-63-65-67 | 36/37-46-62 |
| Tris(hydroxymethyl)- aminomethan (TRIS) | Xi | 36/38 | 26-37/39 |
| [Tris(trimethylsilyl)- phosphin] | F | 17 | - |
| <i>n</i> -Trioctylphosphin (TOP) | C | 34 | 26-36/37/39-45 |
| <i>n</i> -Trioctylphosphinoxid (TOPO) | Xi | 36 | 24 |
| Zinkdistearat | Kein gefährlicher Stoff | - | - |

9.2 Auflistung der KMR-Substanzen (KAT. I und KAT II)

| CAS-Nummer | Stoffname (IUPAC) | Eingesetzte Menge | Kategorie |
|------------|-------------------|-------------------|-----------|
| 67-66-3 | Chloroform | 50 L | II |

9.2.1 Gefahrensymbole

| | |
|----|----------------------|
| E | explosionsgefährlich |
| F+ | hochentzündlich |
| F | leichtentzündlich |
| O | brandfördernd |
| T+ | sehr giftig |
| T | giftig |
| Xn | gesundheitsschädlich |
| Xi | reizend |
| C | ätzend |
| N | umweltgefährlich |

9.2.2 Liste der Risikosätze (R-Sätze)

| | |
|-----|---|
| R 1 | In trockenem Zustand explosionsgefährlich. |
| R 2 | Durch Schlag, Reibung, Feuer und andere Zündquellen explosionsgefährlich. |
| R 3 | Durch Schlag, Reibung, Feuer und andere Zündquellen besonders explosionsgefährlich. |
| R 4 | Bildet hochempfindliche explosionsgefährliche Metallverbindungen. |
| R 5 | Beim Erwärmen explosionsfähig. |
| R 6 | Mit und ohne Luft explosionsfähig. |

- R 7 Kann Brand verursachen.
- R 8 Feuergefahr bei Berührung mit brennbaren Stoffen.
- R 9 Explosionsgefahr bei Mischung mit brennbaren Stoffen.
- R 10 Entzündlich.
- R 11 Leichtentzündlich.
- R 12 Hochentzündlich.
- R 14 Reagiert heftig mit Wasser.
- R 15 Reagiert mit Wasser unter Bildung leicht entzündlicher Gase.
- R 16 Explosionsgefährlich in Mischung mit brandfördernden Stoffen.
- R 17 Selbstentzündlich an der Luft.
- R 18 Bei Gebrauch Bildung explosionsfähiger /leicht-entzündlicher Dampf-Luftgemische möglich.
- R 19 Kann explosionsfähige Peroxide bilden.
- R 20 Gesundheitsschädlich beim Einatmen.
- R 21 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut.
- R 22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
- R 23 Giftig beim Einatmen.
- R 24 Giftig bei Berührung mit der Haut.
- R 25 Giftig beim Verschlucken.
- R 26 Sehr giftig beim Einatmen.
- R 27 Sehr giftig bei Berührung mit der Haut.
- R 28 Sehr giftig beim Verschlucken.
- R 29 Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase.
- R 30 Kann bei Gebrauch leicht entzündlich werden.
- R 31 Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase.
- R 32 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
- R 33 Gefahr kumulativer Wirkungen.
- R 34 Verursacht Verätzungen.
- R 35 Verursacht schwere Verätzungen.
- R 36 Reizt die Augen.
- R 37 Reizt die Atmungsorgane.

- R 38 Reizt die Haut.
- R 39 Ernste Gefahr irreversiblen Schadens.
- R 40 Verdacht auf krebserzeugende Wirkung.
- R 41 Gefahr ernster Augenschäden.
- R 42 Sensibilisierung durch Einatmen möglich.
- R 43 Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich.
- R 44 Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.
- R 45 Kann Krebs erzeugen.
- R: 45-E23 Krebserzeugend. Auch giftig beim Einatmen.
- R 46 Kann vererbare Schäden verursachen.
- R 48 Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition.
- R 49 Kann Krebs erzeugen beim Einatmen.
- R 50 Sehr giftig für Wasserorganismen.
- R 51 Giftig für Wasserorganismen.
- R 52 Schädlich für Wasserorganismen.
- R 53 Kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
- R 54 Giftig für Pflanzen.
- R 55 Giftig für Tiere.
- R 56 Giftig für Bodenorganismen.
- R 57 Giftig für Bienen.
- R 58 Kann längerfristig schädliche Wirkungen auf die Umwelt haben.
- R 59 Gefährlich für die Ozonschicht.
- R 60 Kann die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.
- R 61 Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
- R 62 Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.
- R 63 Kann das Kind im Mutterleib möglicherweise schädigen.
- R 64 Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen.
- R 65 Gesundheitsschädlich: Kann beim Verschlucken Lungenschäden verursachen.
- R 66 Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
- R 67 Dämpfe können Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

R 68 Irreversibler Schaden möglich.

9.2.3 Kombinierte Risikosätze

- R 14/15 Reagiert heftig mit Wasser unter Bildung hochentzündlicher Gase.
- R 15/29 Reagiert mit Wasser unter Bildung giftiger und hochentzündlicher Gase.
- R 20/21 Gesundheitsschädlich beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut.
- R 20/22 Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken.
- R20/21/22 Gesundheitsschädlich beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut.
-
- R 21/22 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken.
- R 23/24 Giftig beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut.
- R 23/25 Giftig beim Einatmen und Verschlucken.
- R 23/24/25 Giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut.
- R 24/25 Giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken.
- R 26/27 Sehr giftig beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut.
- R 26/28 Sehr giftig beim Einatmen und Verschlucken.
- R 26/27/28 Sehr giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut.
- R 27/28 Sehr giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken.
- R 36/37 Reizt die Augen und die Atmungsorgane.
- R 36/38 Reizt die Augen und die Haut.
- R 36/37/38 Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut.
- R 37/38 Reizt die Atmungsorgane und die Haut.
- R 39/23 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen.
- R 39/24 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut.
- R 39/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Verschlucken.
- R 39/23/24 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut.

- R 39/23/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken.
- R 39/24/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 39/23/24/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 39/26 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen.
- R 39/27 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut.
- R 39/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Verschlucken.
- R 39/26/27 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut.
- R 39/26/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken.
- R 39/27/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 39/26/27/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 42/43 Sensibilisierung durch Einatmen und Hautkontakt möglich.
- R 48/20 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen.
- R 48/21 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut.
- R 48/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Verschlucken.
- R 48/20/21 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Berührung mit der Haut.
- R 48/20/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken.
- R 48/21/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei

längerer Exposition durch Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.

- R 48/20/21/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 48/23 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen.
- R 48/24 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut.
- R 48/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Verschlucken.
- R 48/23/24 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Berührung mit der Haut.
- R 48/23/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken.
- R 48/24/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 48/23/24/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 50/53 Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
- R 51/53 Giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
- R 52/53 Schädlich für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
- R 68/20 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen.
- R 68/21 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut.
- R 68/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch

Verschlucken.

- R 68/20/21 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut.
- R 68/20/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken.
- R 68/21/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- R 68/20/21/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.

9.2.4 Liste der Sicherheitsratschläge (S-Sätze)

- S 1 Unter Verschluss aufbewahren.
- S 2 Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
- S 3 Kühl aufbewahren.
- S 4 Von Wohnplätzen fernhalten.
- S 5 Unter ... aufbewahren. (geeignete Flüssigkeit vom Hersteller anzugeben)
- S 6 Unter ... aufbewahren. (inertes Gas vom Hersteller anzugeben)
- S 7 Behälter dicht geschlossen halten.
- S 8 Behälter trocken halten.
- S 9 Behälter an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 10 Inhalt feucht halten.
- S 11 Zutritt von Luft verhindern.
- S 12 Behälter nicht gasdicht verschließen.
- S 13 Von Nahrungsmitteln, Getränken und Futtermitteln fernhalten.
- S 14 Von ... fernhalten. (inkompatible Substanzen vom Hersteller anzugeben)
- S 15 Vor Hitze schützen.
- S 16 Von Zündquellen fernhalten – Nicht rauchen.

- S 17 Von brennbaren Stoffen fernhalten.
- S 18 Behälter mit Vorsicht öffnen und handhaben.
- S 20 Bei der Arbeit nicht essen und trinken.
- S 21 Bei der Arbeit nicht rauchen.
- S 22 Staub nicht einatmen.
- S 23 Gas/Rauch/Dampf/Aerosol nicht einatmen. (geeignete Bezeichnungen vom Hersteller anzugeben)
- S 24 Berührung mit der Haut vermeiden.
- S 25 Berührung mit den Augen vermeiden.
- S 26 Bei Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
- S 27 Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen.
- S 28 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel ... (vom Hersteller anzugeben)
- S 29 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen.
- S 30 Niemals Wasser hinzugießen.
- S 31 Von explosionsfähigen Stoffen fernhalten
- S 33 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladung treffen.
- S 34 Schlag und Reibung vermeiden.
- S 35 Abfälle und Behälter müssen in gesicherter Weise beseitigt werden.
- S 36 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.
- S 37 Geeignete Schutzhandschuhe tragen.
- S 38 Bei unzureichender Belüftung Atemschutzgerät anlegen.
- S 39 Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 40 Fußboden und verunreinigte Gegenstände mit ... reinigen. (Material vom Hersteller anzugeben)
- S 41 Explosions- und Brandgase nicht einatmen.
- S 42 Beim Räuchern/Versprühen geeignetes Atemschutzgerät anlegen.
(Bezeichnung vom Hersteller anzugeben)
- S 43 Zum Löschen ... verwenden. (vom Hersteller anzugeben)(wenn Wasser die Gefahr erhöht, anfügen: Kein Wasser verwenden)
- S 44 Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen (wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen).

- S 45 Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen (wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen).
- S 46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen.
- S 47 Nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren. (vom Hersteller anzugeben)
- S 48 Feucht halten mit ... (vom Hersteller anzugeben)
- S 49 Nur im Originalbehälter aufbewahren.
- S 50 Nicht mischen mit ... (vom Hersteller anzugeben)
- S 51 Nur in gut belüfteten Bereichen verwenden.
- S 52 Nicht großflächig für Wohn- und Aufenthaltsräume zu verwenden.
- S 53 Exposition vermeiden – vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. Nur für den berufsmäßigen Verwender –.
- S 56 Dieses Produkt und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen.
- S 57 Zur Vermeidung einer Kontamination der Umwelt geeigneten Behälter verwenden.
- S 59 Information zur Wiederverwendung/Wiederverwertung beim Hersteller/Lieferanten erfragen.
- S 60 Dieses Produkt und sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen.
- S 61 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen/Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen.
- S 62 Bei Verschlucken kein Erbrechen herbeiführen. Sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder dieses Etikett vorzeigen.
- S 63 Bei Unfall durch Einatmen: Verunfallten an die frische Luft bringen und ruhigstellen.
- S 64 Bei Verschlucken Mund mit Wasser ausspülen (Nur wenn Verunfallter bei Bewusstsein ist).

9.2.5 Kombinierte S-Sätze

- S 1/2 Unter Verschluss und für Kinder unzugänglich aufbewahren.
- S 3/7 Behälter dicht geschlossen halten und an einem kühlen Ort

aufbewahren.

- S 3/9/14 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren. (die Stoffe, mit denen Kontakt vermieden werden muss, sind vom Hersteller anzugeben)
- S 3/9/14/49 Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren. (die Stoffe, mit denen Kontakt vermieden werden muss, sind vom Hersteller anzugeben)
- S 3/9/49 Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 3/14 An einem kühlen, von ... entfernten Ort aufbewahren. (die Stoffe, mit denen Kontakt vermieden werden muss, sind vom Hersteller anzugeben)
- S 7/8 Behälter trocken und dicht geschlossen halten.
- S 7/9 Behälter dicht geschlossen an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 7/47 Behälter dicht geschlossen und nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren. (vom Hersteller anzugeben)
- S 20/21 Bei der Arbeit nicht essen, trinken oder rauchen.
- S 24/25 Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
- S 27/28 Bei Berührung mit der Haut beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen und Haut sofort abwaschen mit viel(vom Hersteller anzugeben)
- S 29/35 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen; Abfälle und Behälter müssen in gesicherter Weise beseitigt werden.
- S 29/56 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen; dieses Produkt und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen.
- S 36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.
- S 36/37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 36/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.

S 47/49 Nur im Originalbehälter bei einer Temperatur von nicht über ...°C
aufbewahren. (vom Hersteller anzugeben)

10 Danksagungen

Herrn Prof. Dr. Horst Weller danke ich für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die Möglichkeit, an diesem interessanten Thema arbeiten zu dürfen, sowie für seine Betreuung und die Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. A. C. Broekaert danke ich für die Bereitschaft zur Begutachtung meiner Dissertation.

Herrn Andreas Kornowski danke ich für die Unterstützung und den Rat in allen Fragen der Halbleiterpartikelsynthese sowie bei der Anfertigung der TEM-Aufnahme.

Frau Sylvia Bartholdi-Nawrath danke ich für die Anfertigung der TEM-Aufnahmen.

Für die XRD-Messungen danke ich Frau Almut Barck, Herrn Dr. Hauke Heller und Herrn Dr. Marcus Scheele.

Bei Frau Dr. Andrea Salcher und Frau Silke Johanning bedanke ich mich für die Durchführung der Toxizitätstests.

Für die Durchführung der HPLC möchte ich mich bei Frau Sunhild Salmen und Frau Katja Werner bedanken.

Für die gute Zusammenarbeit danke ich Dr. Marc Thiry, Dr. Elmar Pösel, Hauke Kloust und Christian Schmidke.

Vielen Dank auch meinen PraktikantInnen!

Für das Korrekturlesen der Arbeit danke ich Beate Ritz, Christoph Kirchner und Hauke Kloust.

Ein ganz besonderer Dank geht an Beate Ritz, Lena Altes, Constanze Schliehe, Ulrich I. Tromsdorf, Hauke Heller, Sebastian Jander und Micheal Ijeh, durch die mir die Zeit im AK Weller auch auf persönlicher Ebene in besonders guter Erinnerung bleiben wird.

Zu großem Dank bin ich auch allen anderen Mitgliedern des AK Weller verpflichtet: für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die Hilfsbereitschaft, die mir hier entgegengebracht wurde.

Ich danke auch meinen Freunden, meinen Schwestern und meiner Familie, die mir immer Mut zugesprochen haben oder ein offenes Ohr für mich hatten, wenn es erforderlich war. Besonders möchte ich auch meinem Freund David für die schöne Zeit, die wir auch neben der Entstehung dieser Arbeit gefunden haben, danken.

11 Literaturverzeichnis

- [1] D. J. Dhruba, D. W. Lucey, J. Bharali, H. Jayakumar, H. E. Pudavar, P. N. Prasad, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11364.
- [2] A. M. Derfus, W. C. Chan, S. N. Bhatia, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 11.
- [3] J. A. J. Fitzpatrick, L. A. Ernst, A. S. Waggoner, B. Ballou, M. P. Bruchez, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 2736.
- [4] Y. Cao, U. Banin, *Angew.Chem.Int.Ed.* **1999**, *38*, 3692.
- [5] R. L. Wells, C. G. Pitt, A. T. McPhail, A. P. Purdy, S. Shafieezad, R. B. Hallock, *American Chemical Society* **1989**, *1*, 4.
- [6] R. Xie, K. Chen, and X. Peng, *Nano Res.* **2008**, *1*, 457.
- [7] M. A. Malik, P. O'Brien, H. Helliwell, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 1463.
- [8] J. V. Frangioni, *Current Opinion in Chemical Biology* **2003**, 626.
- [9] J. P. Zimmer, S. Kim, S. Ohnishi, E. Tanaka, J. V. Frangioni, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*.
- [10] M. Kuno, D. P. Fromm, A. Gallagher, D. J. Nesbitt, O. I. Micic, A. J. Nozik, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 557.
- [11] R. Xie, D. Battaglia, X. Peng, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* 15432.
- [12] J. Gao, K. Chen, R. Xie, J. Xie, S. Lee, Z. Cheng, X. Peng, X. Chen, *Small* **2010**, *6*, 256.
- [13] P. M. Allen, W. Liu, V. P. Chauhan, J. Lee, A. Y. Ting, D. Fukumura, R. K. Jain, M. G. Bawendi, *J. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 470.
- [14] R. Xie, X. Peng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7677 .
- [15] J. M. Tam, J. O. Tam, A. Murthy, D. R. Ingram, L. L. Ma, K. Travis, K. P. Johnston, K. V. Sokolov, *ACS Nano* **2010**, *4*, 2178.
- [16] G. Schmid, *Wiley-VCH, Weinheim* **2010**, 2.
- [17] A. M. Nightingale, J. C. Mello, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 2612.
- [18] N. M. Dimitrijevic, T. Rajh, S. P. Ahrenkiel, J. M. Nedeljkovic, O. I. Micic, A. J. Nozik, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 18243.
- [19] A. Narayanaswamy, L. F. Feiner, A. Meijerink, P. J. van der Zaag, *ACS Nano* **2009**, *3*, 2539.
- [20] I. L. Mediniza, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, H. Mattoussi, *Nature Materials* **2005**, *4*,

- 435.
- [21] W. Liu, H. Choi, J. P. Zimmer, E. Tanaka, J. V. Frangioni, M. Bawendi*, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14530.
- [22] H. Mattoussi, J. M. Mauro, E. R. Goldman, G. P. Anderson, V. C. Sundar, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12142.
- [23] S. Fischer, A. Salcher, A. Kornowski, H. Weller, S. Förster, *Angewandte Chemie* **2011**, *123*, 7957.
- [24] M. Thiry, K. Boldt, M. S. Nikolic, F. Schulz, M. Ijeh, A. Panicker, T. Vossmeier, H. Weller, *ACS Nano* **2011**, *5*, 4965.
- [25] G. Prencipe, S. M. Tabakman, K. Welsher, Z. Liu, A. P. Goodwin, L. Zhang, J. Henry, H. Dai, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4783.
- [26] H. S. Choi, B. I. Ipe, P. Misra, J. H. Lee, M. G. Bawendi, and J. V. Frangioni, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 2354.
- [27] H. T. Uyeda, I. Medintz, J. K. Jaiswal, S. M. Simon, H. Mattoussi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *127*, 3870.
- [28] T. L. Kirschling, P. L. Golas, J. M. Unrine, K. Matyjaszewski, K. B. Gregory, R. D. Tilton, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, 5253.
- [29] J. V. Jokerst, T. Lobovkina, R. N. Zare, S. S. Gambhir, *Nanomedicine* **2011**, *6*, 715.
- [30] E. Pösel, S. Fischer, S. Foerster, H. Weller, *Langmuir* **2009**, *25*, 24, 13906.
- [31] K. Winnacker, *Chemische Technik: Prozesse und Produkte, Band 2, Neue Technologien*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [32] A. N. Goldstein, C. M. Echer, A. P. Alivisatos*, *Science* **1992**, *256*, 1425.
- [33] P. Buffat, J.-P. Borel, *Phys. Rev. A* **1976**, *13*, 2287.
- [34] J. d. P. Peter W. Atkins, *WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim* **2006**, *4*.
- [35] M. Nagel, *Dissertation: Größen- und formselektive Synthese von PbS Nanopartikeln und deren Kristallisation in 2D und 3D Übergittern.* **2007**, Hamburg.
- [36] C. Kittel, *Oldenbourg Verlag, München Wien*, **1999**.
- [37] H. Fu, L.-W. Wang, A. Zunger, *Phys. Rev. B.* **1996**, *56*, 1496.
- [38] T. Trindade, P. O. Brien, N. L. Pickett, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3843.
- [39] O. I. Micic, J. R. Sprague, C. J. Curtis, K. M. Jones, J. L. Machol, A. J. Nozik, H. Giessen, *Journal of Physical Chemistry* **1995**, *99*, 7754.
- [40] R. Rosetti, J. L. Ellison, J. M. Gibson, L.E. Brus, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *80*, 4464.

- [41] L. E. Brus, *J. Phys. Chem. B* **1986**, *90*, 2555.
- [42] L. E. Brus, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *79*, 5566.
- [43] M. Lannoo, P. E. Lippens, *Phys. Rev. B* **1989**, *39*, 10935.
- [44] A. Jablonski, *Z Phys.* **1835**, *94*, 38.
- [45] G. Stokes, *Phil Trans R Soc* **1852**, *142*, 463.
- [46] Berlman. 1971. Handbook of fluorescence spectra of aromatic molecules, New York., *Academic Press, New York.* **1971**, *2*.
- [47] http://www.pci.tu-bs.de/aggericke/PC4/Kap_III/Franck-Condon.htm.
- [48] J. Franck, *Trans. Faraday Soc.* **1925**, *21*, 536.
- [49] E. U. Condon, *Physical Review* **1928**, *32*, 858.
- [50] E. Condon, *Phys. Rev.* **1926**, *28*, 1182.
- [51] L. M. Stephenson, G. S. Hammond, *Angew. Chem.* **1969**, *8*, 279.
- [52] L. Qu, X. Peng. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2049.
- [53] C. Burda, S. Link, M. Mohamed, M El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 12286.
- [54] S. Adam, D. V. Talapin, H. Borchert, A. Lobo, C. McGinley, A. R. B. de Castro, M. Haase, H. Weller, T. Möller, *The Journal of Chemical Physics* **2005**, *123*, 084706.
- [55] A. Zunger, H. Fu., *Phys. Rev. B* **1996**, *56*, 1496.
- [56] J. L. Blackburn, R. J. Ellingson, O. I. Mic'ic', A. J. Nozik, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *107*, 102.
- [57] M. Grabolle, M. Spieles, V. Lesnyak, N. Gaponik, A. Eichmüller, U. Resch-Genger, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 6285.
- [58] R. F. Kubin, A. N. Fletcher, *Journal of Luminescence* **1982**, *27*, 455.
- [59] T. Schüttrigkeit, *Photonik* **2007**, 76.
- [60] J. A. Levitt, M. K. Kuimova, G. Yahioglu, P.-H. Chung, K. Suhling, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 11634.
- [61] I. Stamati, M. K. Kuimova, M. Lion, G. Yahioglu, D. Phillips, M. P. Deonarain, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2010** *9*, 1033.
- [62] B. R. Fisher, H.-J. Eisler, N. E. Stott, M. G. Bawendi, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 143.
- [63] K.T. Shimizu, W. K. Woo, B. R. Fisher, H. J. Eisler, M.G. Bawendi, *The American Physical Society* **2002**, *89*, 117401.
- [64] G. Schlegel, J. Bohnenberger, I. Potapova, A. Mews, *The American Physical Society*

- 2001**, 88, 137401.
- [65] J. Gopalakrishnan, *Chem. Mater.* **1995**, 7, 1265.
- [66] Y. Yin, A. P. Alivisatos, *Nature* **2005**, 437, 664.
- [67] V. Lamer, R. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 4847.
- [68] A. L. Rogach, D. V. Talapin, E.V. Shevchenko, A. Kornowski, H. Weller, *Adv. Funct. Mater.* **2002**, 12, 653.
- [69] W. Z. Ostwald, *Phys. Chem.* **1901**, 37, 385.
- [70] D.V. Talapin, A. L. Rogach, M. Haase, H. Weller, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 12278.
- [71] W. C. Chan, S. Nie, *Science* **1998**, 281, 2016.
- [72] N. Gaponik, D. V. Talapin, A. L. Rogach, K. Hoppe, E. V. Shevchenko, A. Kornowski, A. Eychmüller, H. Weller, *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106, 7177.
- [73] C. M. Evans, M. E. Evans, T. D. Krauss, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 10973.
- [74] A. A. Guzelian, J. E. B. Katari, A. V. Kadavanich, U. Banin, K. Hamad, E. Juban, A. P. Alivisatos, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100 7212.
- [75] C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8706.
- [76] M. Green, *J. Mater. Chem.* **2010**, 20, 5797.
- [77] A. Cros-Gagneux, F. Delpech, C. Nayral, A. Cornejo, Y. Coppel, B. Chaudre, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 18147.
- [78] S. Roy, M. Springborg, *J. Phys. Chem. A* **2005**, 109, 1324.
- [79] R. Xie, U. Kolb, J. Li, T. Basche', A. Mews, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 7480.
- [80] B. O. Dabbousi, J. Rodriguez-Viejo, F. V. Mikulec, J. R. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. F. Jensen, M. G. Bawendi, *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101, 9463.
- [81] F. Hatami, M. Grundmann, N. N. Ledentsov, F. Heinrichsdorff, R. Heitz, J. Böhrer, D. Bimberg, S. S. Ruvimov, P. Werner, V. M. Ustinov, P. S. Kop'ev, Z. I. Alferov, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 57, 4635.
- [82] A. Eichmüller, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104, 6514.
- [83] G. D. Scholes, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, 18, 1157.
- [84] S.-J. Chua, B. Wanga, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, 78, 4635.
- [85] D. V. Talapin, S. Götzinger, A. Kornowski, O. Benson, H. Weller, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 18826.
- [86] S. Hussain, N. Won, J. Nam, J. Bang, H. Chung, S. Kim, *ChemPhysChem* **2009**, 10, 1466.

- [87] Q. Ma, E. E. Remsen, T. Kowalewski, J. Schaefer, K. L. Wooley, *Nano Lett.* **2001**, *1*, 651.
- [88] B. Dubertret, P. Skourides, D. J. Norris, V. Noireaux, A. H. Brivanlou, A. Libchaber, *Science* **2002**, *298*, 1759.
- [89] H. Fan, E. W. Leve, C. Scullin, J. Gabaldon, D. Tallant, S. Bunge, T. Boyle, M. C. Wilson, C. J. Brinker, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 645.
- [90] X. Wu¹, H. Liu, J. Liu, K. N. Haley, J. A. Treadway, J. P. Larson, N. Ge, F. Peale, *Nature Biotechnology* **2003**, *21*, 41.
- [91] W. W. Yu, E. Chang, J. C. Falkner, J. Zhang, A. M. Al-Somali, C. M. Sayes, J. Johns, R. Drezek, V. L. Colvin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2871.
- [92] D. Chen, H. Peng, M. Jiang, *Macromolecules* **2003**, *36*, 2576.
- [93] S. Fujii, Y. Cai, J. V. M. Weaver, S. P. Armes, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7304.
- [94] F. Checot, S. Lecommandoux, Y. Gnanou, H.-A. Klok, *Angew. Chem.* **2001**, *114*, 1395.
- [95] K.-T. Yong, H. Ding, I. Roy, W.-C. Law, E. J. Bergey, A. Maitra, P. N. Prasad, *ACS Nano* **2009**, *3*, 502.
- [96] B. Fritzing, R. K. Capek, K. Lambert, J. C. Martins, Z. Hens, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 29, 10195.
- [97] M. De, P. S. Gosh, V. M. Rotello, *Advanced Materials* **2008**, *20*, 4225.
- [98] H. S. Choi, W. Liu, F. Liu, K. Nasr, P. Misra, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nature Nanotechnology* **2009**, *1*.
- [99] H. S. Choi, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. I. Ipe, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nature Biotechnol.* **2007**, *25*, 1165.
- [100] S. Haubold, M. Haase, A. Kornowski, H. Weller, *ChemPhysChem* **2001**, *2*, 331.
- [101] J. Gao, K. Chen, R. Xie, J. Xie, Y. Yan, Z. Cheng, X. Peng, X. Chen, *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 604.
- [102] S. D. Perrault, C. Walkey, T. Jennings, H. C. Fischer, C. W. Chan, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 1909.
- [103] P. Borm, D. Robbins, S. Haubold, T. Kuhlbusch, H. Fissan, R. Schins, V. Stone, W. Kreyling, J. Lademann, J. Krutmann, D. Warheit, E. Oberdorster, *Particle and Fibre Toxicology* **2006**, *3*, 11.
- [104] P. R. Gil, G. Oberdörser, A. Elder, V. Puentes, W. J. Parak, *ACS Nano* **2010**, *4*, 5527.
- [105] N. Lewinski, V. Colvin, R. Drezek, *Small* **2008**, *4*, 26.

- [106] A. Nel, T. Xia, L. Mädler, N. Li, *Science* **2006**, *311*, 622.
- [107] G. Oberdörster, E. Öberdörster, J. Oberdörster, *Environmental Health Perspectives* **2005**, *113*, 823.
- [108] U. I. Tromsdorf, O. T. Bruns, S. C. Salmen, U. Beisiegel, H. Weller, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 4434.
- [109] A. G. Cuenca, H. Jiang, S. N. Hochwald, M. Delano, W. G. Cance, S. R. Grobmyer, *Cancer* **2006**, *107*, 459.
- [110] O. I. Mičić, S.P. Ahrenkiel, A.J. Nozik, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 4022.
- [111] D. V. Talapin, A. L. Rogach, I. Mekis, S. Haubold, M. Haase, A. Kornowski, H. Weller *Physicochem. Eng. Aspects* **2002**, *202*, 145.
- [112] S. Xu, J. Ziegler, T. Nann, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 2653.
- [113] T. J. Trentler, S. C. Goel, K. M. Hickman, A. M. Viano, M. Y. Chiang, A. M. Beatty, P. C. Gibbons, W. E. Buhro, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2172.
- [114] D. W. Lucey, D. J. MacRae, M. Furis, Y. Sahoo, A. N. Cartwright, P. N. Prasad, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 3754.
- [115] H. Borchert, S. Haubold, M. Haase, H. Weller, *Nano Letters* **2002**, *2*, 151.
- [116] P. Reiss, L. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11588.
- [117] K. Huang, R. Demadrille, M. G. Silly, F. Sirotti, P. Reiss, O. Renault, *ACS Nano* **2010**, *4*, 4799.
- [118] D. V. Talapin, N. Gaponik, H. Borchert, A. L. Rogach, M. Haase, H. Weller, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 12659.
- [119] K. F. Jensen, S. Marre, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *39*, 1183.
- [120] K. F. Jensen, S. Marre, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *39*, 1183.
- [121] T. Strupeit, *Dissertation: Nanostrukturierte III-V Halbleiter*, **2009**, Hamburg.
- [122] A. Panicker, *Diplomarbeit: Synthese und Charakterisierung III-V-Halbleiter-Nanopartikeln*, **2008**, Hamburg.
- [123] M. Thiry, *Dissertation: Biofunktionalisierung von Nanopartikeln mittels mehrzähliger, thiol-basierter Polyethylenoxid-Liganden*, **2010**, Hamburg.
- [124] M. G. Warner, S. M. Reed, J. E. Hutchison, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 3316.
- [125] I. W. Hamley, *Ed; Wiley: Chichester, England* **2000**.
- [126] K. Boldt, *persönliche Mitteilung* **02.08.2011**.
- [127] C. A. Leatherdale, M. G. Bawendi, *Physical Review B* **2001**, *63*, 165315.

- [128] J. Koolman, K.-H. Röhm, *Thieme* **1998**, 2, 28.
- [129] K. M. Krueger, A. M. Al-Somali, M. Mejia, V. L. Colvin, *Nanotechnology* **2007**, 18, 1.
- [130] R. A. Sperling, T. Liedl, S. Duhr, S. Kudera, M. Zanella, C.-A. J. Lin, W. H. Chang, D. Braun, W. J. Parak, *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 11552.
- [131] K. Lagréné, *Scientific Report* **2005-2006**, 76.
- [132] A. Salcher, *Dissertation: Correlation between physicochemical properties of quantum dots and their cellular response*, **2009**, Hamburg.
- [133] H. Kloust, E. Pöselt, S. Kappen, C. Schmidtke, W. Pauer, H.-U. Moritz, H. Weller, **noch nicht veröffentlichte Ergebnisse**.
- [134] H. Kloust, *Diplomarbeit* **2010**.
- [135] M. B. Karam, G. Ponchel, J. L. Grossiord, D. Duchene, *Journal of Dispersion Science and Technology* **1993**, 14, 427.
- [136] E. Pöselt, C. Schmidtke, S. Fischer, K. Peldschus, J. Salamon, M. Heine, G. Adam, U. Schumacher, C. Wagener, S. Förster, H. Weller, **noch nicht veröffentlichte Ergebnisse**.
- [137] Z. L. Wang, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104, 1153.
- [138] B. J. Berne, R. Pecora, *Wiley, New York* **1976**.

12 Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und alle verwendeten Quellen und Hilfsmittel als solche gekennzeichnet habe.

Diese Arbeit ist zuvor in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde zur Erlangung des Doktorgrades vorgelegt worden.

Hamburg, den 21.10.2011

Andjana Panicker