

UNIVERSITÄT HAMBURG

**Darstellung von pH-Sensoren auf Basis von
Halbleiternanokristallen für die Anwendung
in der medizinischen Diagnostik**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.) an der Fakultät für Mathematik,
Informatik und Naturwissenschaften

- Fachbereich Chemie -

vorgelegt von

LASSE HABERCORN

Hamburg

Dezember 2018

Tag der Disputation: 15. Februar 2019

Druckfreigabe erteilt: 15. Februar 2019

1. Gutachter: Prof. Dr. Horst Weller

2. Gutachter: Prof. Dr. Alf Mews

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 2015 bis Dezember 2018 in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Horst Weller am Institut für Physikalische Chemie der Universität Hamburg angefertigt.

„Jedes Naturgesetz, das sich dem Beobachter offenbart, lässt auf ein höheres, noch unerkanntes schließen.“

Alexander von Humboldt (*1769 – †1859)

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	1
2 Abstract.....	3
3 Einleitung	5
4 Theoretische Grundlagen.....	7
4.1 Bandstrukturen im Festkörper	7
4.2 Besonderheiten nanoskaliger Systeme und Größenquantisierungseffekt	8
4.3 Halbleiternanokristalle.....	13
4.4 Synthese und Wachstum von Nanokristallen	16
4.5 Darstellung von wasserlöslichen Nanokristall-Polymerhybriden	19
4.6 UV/vis-Spektroskopie	20
4.7 Förster-Resonanz-Energie-Transfer	21
4.8 Fluoreszenzlöschung	23
5 Motivation	27
6 Ergebnisse und Diskussion	31
6.1 Darstellung polymerisierbarer pH-Indikatoren.....	31
6.1.1 Methylrotderivat Iod-MR-Sty: Mechanismus und Charakterisierung.....	31
6.1.2 Bromthymolblauerivat Sty-BTB: Mechanismus und Charakterisierung.....	36
6.1.3 Bromkresolpurpurderivat Sty-BKP: Mechanismus und Charakterisierung	38
6.2 Auswahl geeigneter FRET-Paare.....	40
6.2.1 FRET-System für Iod-MR-Sty	42
6.2.2 FRET-System für Sty-BTB.....	43
6.2.3 FRET-System für Sty-BKP.....	45
6.3 Darstellung wasserlöslicher pH-Sensoren.....	46
6.3.1 Mizellare Verkapselung und Emulsionspolymerisation: Optimierung.....	48
6.3.2 Kontrollexperimente ohne FRET-Akzeptoren	51
6.3.3 pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen	60
6.4 Reversibilität der pH-Sensoren	78
7 Ausblick	91
8 Experimenteller Teil	93
8.1 verwendete Edukte und Reagenzien.....	93
8.2 verwendete Lösungsmittel	95

8.3 Methoden und Geräte.....	96
8.3.1 Dünnschichtchromatographie	96
8.3.2 Säulenchromatographie.....	96
8.3.3 Dichtegradientenzentrifugation.....	96
8.3.4 NMR-Spektroskopie	97
8.3.5 Massenspektrometrie.....	97
8.3.6 Absorptionsspektroskopie	97
8.3.7 Emissionsspektroskopie	98
8.3.8 Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung	98
8.3.9 Transmissionselektronenmikroskopie	98
8.3.10 Dynamische Lichtstreuung.....	98
8.3.11 pH-Wertbestimmung	99
8.3.12 Gefriertrocknung	99
8.3.13 Reinstwasseranlage	99
8.4 Darstellung von polymerisierbaren pH-Indikatoren.....	99
8.4.1 Darstellung des Methylrotderivates Iod-MR-Sty	99
8.4.2 Darstellung des Bromthymolblauderivates Sty-BTB	102
8.4.3 Darstellung des Bromkresolpurpurderivates Sty-BKP	104
8.5 Darstellung von biokompatiblen Nanokristall-Polymerhybriden.....	106
8.6 Herstellung von Pufferlösungen unterschiedlicher pH-Werte.....	108
9 Literaturverzeichnis	109
10 Danksagung.....	117
11 Eidesstattliche Versicherung	119
12 Anhang	A
12.1 Sicherheit und Entsorgung	A
12.2 Datenblätter verwendeter Halbleiternanokristalle	E
12.2.1 Partikelcharge SAR-0-340-5.....	E
12.2.2 Partikelcharge SAR-0-351-1	F
12.3 Datenblatt des verwendeten PI- <i>b</i> -PEO MJ-D-12	G
12.4 H- und P-Sätze	H

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

1D	eindimensional
A	Akzeptor
a.u.	willkürliche Einheit (engl.: <i>arbitrary unit</i>)
ber.	berechnet
BHT	3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxytoluol
BKP	Bromkresolpurur
BTB	Bromthymolblau
c	Konzentration
CMC	kritische Mizellenkonzentration (engl.: <i>critical micelle concentration</i>)
γ	Oberflächenenergie
d	Dublett
d	Schichtdicke
D	Donor
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Dublett vom Dublett
DCM	Dichlormethan
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl.: <i>deoxyribonucleic acid</i>)
e	Eulersche Zahl $e = 2.71828$
e	Elementarladung $e = 1.602 \cdot 10^{-19}$ C
E	Energie, Extinktion, Effizienz
ε	Extinktionskoeffizient, Dielektrizitätskonstante
eq.	Äquivalent
ESI	Elektrosprayionisation
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
EU-28	Europäische Union mit aktuell 28 Mitgliedsstaaten (Stand 2018)
F	Fluoreszenzintensität, Drehimpuls
FLIM	Fluoreszenzzerfallszeitmikroskopie (engl.: <i>fluorescence lifetime imaging microscopy</i>)
g	Gravitationskonstante $g = 9.81$ N·kg ⁻¹

G	Grün (Probenbezeichnung)
G	freie Enthalpie
gef.	gefunden
GHS	Global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Chemikalien
h	Plancksches Wirkungsquantum $h = 6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1}$
\hbar	reduziertes Plancksches Wirkungsquantum $\hbar = 1.054 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1}$
HOAc	Essigsäure
HOMO	höchstes, besetztes Molekülorbital (engl.: <i>highest occupied molecular orbital</i>)
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie (engl.: <i>high resolution mass spectrometry</i>)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
J	Überlappungsintegral
k	Wellenvektor, Gleichgewichtskonstante
K	Kontrolle (Probenbezeichnung)
K	Komplexbildungskonstante
κ	Orientierungsfaktor
k_B	Boltzmannkonstante $k_B = 1.38065 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$
L	Länge
λ	Wellenlänge
LCAO	Linearkombination von Atomorbitalen (engl.: <i>linear combination of atomic orbitals</i>)
LUMO	niedrigstes, unbesetztes Molekülorbital (engl.: <i>lowest unoccupied molecular orbital</i>)
m	Multipllett
m	Masse
M	Molarität = mol pro Liter
MeOH	Methanol
MR	Methylrot
MRT	Magnetresonanztomographie
m/v	Masse-zu-Volumen-Verhältnis
MWCO	Ausschlussgrenze (engl.: <i>molecular weight cut-off</i>)

n	Stoffmenge, Quantenzahl, Brechungsindex
N	Menge aller natürlichen Zahlen
ν	Wellenzahl
N_A	Avogadrozahl $N_A = 6.022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
NMR	Kernspinresonanz (engl.: <i>nuclear magnetic resonance</i>)
OD	optische Dichte
PDI	Polydispersitätsindex
PE	Petrolether Sdp.: 50 – 70 °C
Ph	Phenyl-
PI- <i>b</i> -PEO	Polysisopren- <i>block</i> -Polyethylenoxid-Copolymer
PMMA	Polymethylmethacrylat
ppm	<i>parts per million</i>
PTFE	Polytetrafluorethylen
q	Quartett
QY	Quantenausbeute (engl.: <i>quantum yield</i>)
r	Partikelradius
R	Rot (Probenbezeichnung)
R	Radius, ideale Gaskonstante $R = 8.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
R_0	Förster-Radius
R_f	Retentionsfaktor
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
S	Übersättigung
Sdp.	Siedepunkt
Sty	Styryl-
t	Triplett
T	absolute Temperatur
τ	Fluoreszenzzerfallszeit
T_M	Schmelzpunkt
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
THF	Tetrahydrofuran
ToF	Flugzeitmassenspektrometrie (engl.: <i>time of flight</i>)
T_p	Umschlagpunkt (engl.: <i>turning point</i>)

tt	Triplet vom Triplet
UV	ultravioletter Lichtbereich
V	Volumen
VA-044	2,2'-Azobis[2-(2-imidazolin-2-yl)propan]dihydrochlorid
vis	sichtbarer Lichtbereich (engl.: <i>visible</i>)
vgl.	vergleiche
v/v	Volumenverhältnis
x	Ortskoordinate, unabhängige Variable
ψ	Wellenfunktion

1 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wird die erfolgreiche Darstellung von wasserlöslichen, pH-sensitiven Fluoreszenzsonden auf Basis von Halbleiternanokristallen mittels einer Emulsionspolymerisation präsentiert. Das genutzte Konzept beruht auf einem Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) zwischen emittierenden Halbleiternanokristallen als Donoren und pH-sensitiven Farbstoffen in der Polymerhülle als Akzeptor.

Zunächst wurden für die Umsetzung die kommerziell erhältlichen pH-Indikatoren Bromkresolpurpur und Bromthymolblau mittels Suzuki-Kupplung so funktionalisiert, dass sie sich durch die Einführung einer Styryl-Gruppe radikalisch polymerisieren lassen. Zusätzlich wurde ein Methylrotderivat totalsynthetisch aufgebaut, welches ebenfalls eine Styryl-Gruppe enthält. Diese drei polymerisierbaren pH-Indikatoren weisen alle einen pH-Umschlagspunkt in physiologischen Milieu auf und dienen in den Fluoreszenzsonden als FRET-Akzeptor.

Für die Darstellung dieser pH-sensitiven Fluoreszenzsonden wurden als FRET-Donoren Halbleiternanokristalle ausgewählt, deren Emission überwiegend mit lediglich einer Absorptionsbande der pH-Indikatoren überlappt. Die beiden FRET-Partner sind anschließend in einer Emulsionspolymerisation miteinander verbunden worden, sodass ein Energietransfer zwischen den beiden Chromophoren gewährleistet ist. Dies bewirkt selektiv in einem definierten pH-Bereich eine dynamische Löschung der Fluoreszenz durch einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer. Für die Triphenylmethanfarbstoffe ist dieser spektrale Überlapp bei pH-Werten im basischen Milieu gegeben. Bei dem Methylrotderivat erfolgt ein Löschen der Fluoreszenz im sauren Milieu.

In Abbildung 1.1 sind exemplarisch die Fluoreszenzsonden auf Basis des hergestellten Methylrotderivates abgebildet. Deutlich zu erkennen ist der Farbumschlag des pH-Indikators: Bei niedrigen pH-Werten überwiegt die rote Form des Indikators und bei hohen die gelbe Form. Da die rote Form einen spektralen Überlapp mit der Partikel-Emission aufweist, kommt es hier zu einer Fluoreszenzlöschung durch einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer. Unter UV-Licht ist deutlich zu erkennen, dass die Emissionsintensität der Fluoreszenzsonden mit abnehmenden pH-Wert ebenfalls abnimmt.

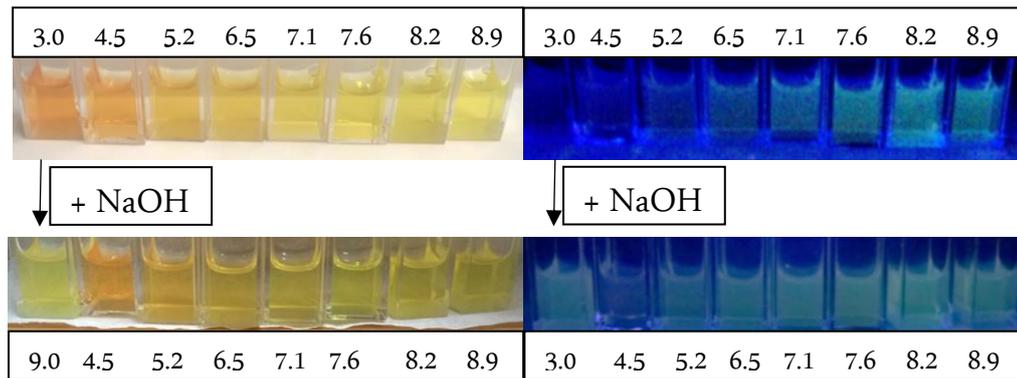


Abbildung 1.1: Wasserlösliche, pH-sensitive Fluoreszenzsonden bei unterschiedlichen pH-Werten unter Weißlicht (links) und unter UV-Licht (254 nm, rechts). Bei der Änderung des pH-Wertes einer sauren Probe durch Zugabe von Natronlauge erfolgt ein Farbumschlag des eingebauten Indikatormoleküls. Infolgedessen kann die Emission der Halbleiternanokristalle ungehindert nach außen dringen. Die Konstrukte lassen sich gezielt über den pH-Wert „ein-“ und „ausschalten“.

Ebenfalls ist in Abbildung 1.1 der Farbumschlag der Probe mit einem pH-Wert von 3.0 gezeigt. Durch Zugabe von Natronlauge wird der pH-Wert auf einen Wert von 9.0 erhöht. Es kommt zu einem Farbumschlag des Indikators von rot nach gelb. Damit geht auch der spektrale Überlapp zwischen der Partikel-Emission und der Indikator-Absorption verloren. Folglich ist in diesem Fall keine Löschung durch den Indikator mittels Förster-Resonanz-Energie-Transfer möglich und die Probe beginnt wieder zu emittieren. In weiteren Experimenten konnte gezeigt werden, dass es sich bei den beschriebenen Lösprozessen um dynamische Prozesse handelt und sich somit neben der Fluoreszenzintensität auch die Fluoreszenzzerfallszeit ändert.

Bei Verwendung der Triphenylmethanfarbstoffe findet das dynamische Löschen im basischen Milieu statt, wohingegen das Löschen im sauren Milieu mit Einsatz des Methylrot-derivates erreicht werden kann. Es ist somit zum einen möglich die dargestellten Konstrukte gezielt über den pH-Wert „ein-“ und „auszuschalten“, andererseits erlauben die Fluoreszenzeigenschaften der Konstrukte Rückschlüsse auf den umgebenden pH-Wert. Durch die Wahl der Indikatorfarbstoffe ist je nach Konstrukt ein Energietransfer im basischen oder im sauren Milieu möglich.

2 Abstract

In this work, the successful preparation of water-soluble, pH-sensitive fluorescence probes based on semiconductor nanocrystals using emulsion polymerization is presented. The concept is based on a Förster resonance energy transfer (FRET) between emitting semiconductor nanocrystals as donor and pH-sensitive indicators in a polymer shell as acceptor.

First, the commercially available pH indicators bromocresol purple and bromothymol blue were functionalized with a styryl group by Suzuki coupling so they could be radically polymerized. In addition, a methyl red derivative was synthesized, which also contains a styryl group. All three polymerizable pH indicators have a pH transition point under physiological conditions and serve as FRET acceptors in the fluorescence probes.

For the preparation of these pH-sensitive fluorescent probes, semiconductor nanocrystals were selected as FRET donors whose emission overlaps selectively with one absorption band of the pH indicators. The two FRET partners were subsequently joined together in an emulsion polymerization, thus ensuring energy transfer between the two chromophores. This selectively effects a dynamic quenching of the fluorescence by a Förster resonance energy transfer in a defined pH range. For the triarylmethane dyes, this spectral overlap is given at pH values in basic conditions. In the case of the methyl red derivative, the fluorescence is quenched in acidic conditions.

Figure 2.1 shows fluorescence probes based on the synthesized methyl red derivative. The color change of the pH indicator is clearly recognizable: at low pH values, the red form of the indicator predominates while at high values the yellow form predominates. The spectral overlap of the red absorption band with the particle emission leads to quenching by FRET. It is clearly seen that the emission intensity under UV light of the fluorescence probes also decreases with decreasing pH.

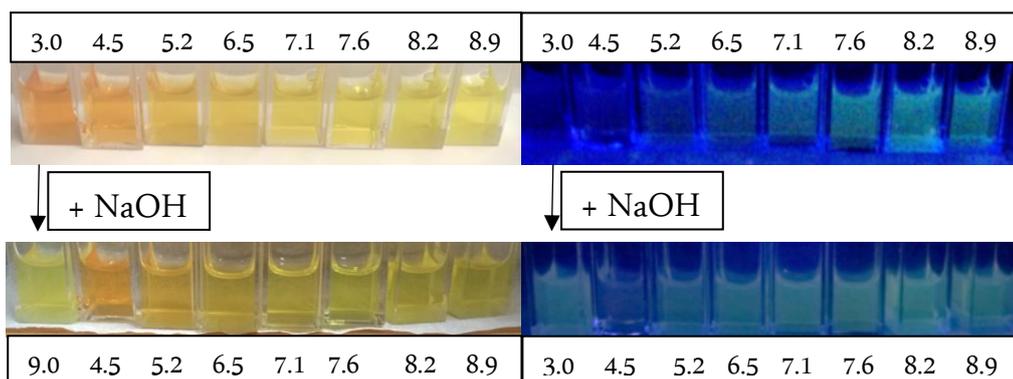


Figure 2.1: Water-soluble, pH-sensitive fluorescent sensors at different pH values under day light (left) and under UV light (254 nm, right). By changing the pH of an acidic sample by addition of sodium hydroxide solution, a color change in the incorporated indicator dye takes place. As a result, the emission of the nanocrystals can pass. These constructs can be specifically switched "on" and "off" by changing the pH.

In figure 2.1 the color change of the sample with a pH of 3.0 is shown as well. By addition of sodium hydroxide solution, the pH is increased to a value of 9.0. This induces a color change of the indicator dye from red to yellow. Thus, the spectral overlap between the particle emission and the indicator absorption is lost. Consequently quenching by the indicator via Förster resonance energy transfer is not possible anymore and the sample starts to re-emit. In further experiments the dynamic nature of the quenching processes were proven. Dynamic quenching leads to a decrease of the fluorescence intensity and of the fluorescence lifetime as well.

By using the triarylmethane dyes, dynamic quenching takes place at basic conditions, whereas quenching in acidic conditions can be achieved with the use of the methyl red derivative. On the one hand, it is possible to switch the illustrated constructs "on" and "off" by changing the pH value; on the other hand, the fluorescence properties of the constructs permit conclusions to be drawn on the surrounding pH value. The choice of indicator dyes enables energy transfer in the alkaline or acidic environment.

3 Einleitung

Laut einer Studie des Zentrums für Krebsregisterdaten des Robert Koch-Instituts, sind in Deutschland im Jahr 2014 etwa 476 000 Krebsneuerkrankungen diagnostiziert worden. Für 2018 wird eine Zahl von rund 500 000 Neuerkrankungen prognostiziert.¹ Diese erschreckende Zahl wird nach jetzigem Kenntnisstand noch davon übertroffen, dass rund 50% der Männer sowie 44% der Frauen in Europa im Laufe ihres Lebens an Krebs erkranken werden. Vermutlich werden jeder vierte Mann sowie jede fünfte Frau der Bundesrepublik Deutschland an einem Krebsleiden versterben.¹ Krebs ist damit die dritthäufigste Todesursache in der westlichen Welt und nach den Herz-Kreislauferkrankungen die zweithäufigste Todesursache in Deutschland² sowie der Europäischen Union (EU-28).³ Diese dramatischen Zahlen verdeutlichen, wie dringlich die Suche nach einer schnellen Diagnostik für Krebserkrankungen ist, denn die Überlebenschancen sinken mit Fortschreiten der Krankheit rapide. Eine Früherkennung ist somit unabdingbar. Nur eine schnelle Diagnose der Krankheit ermöglicht optimale Heilungs- und Therapiemöglichkeiten.

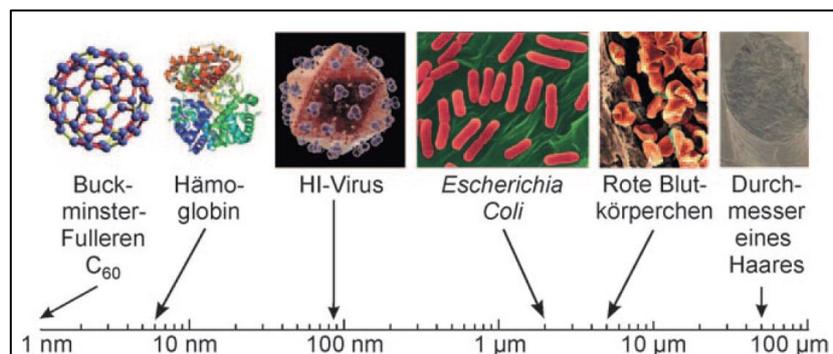


Abbildung 3.1: Größenskala zur Einordnung von Nanomaterialien.⁴

Durch den Einsatz der Nanotechnologie ergeben sich im Bereich der Therapie und Diagnostik zahlreiche neue Möglichkeiten. Nanokristalle nehmen lediglich eine Größe von wenigen Nanometern ein, damit befinden sie sich auf der in Abbildung 3.1 gezeigten Skala im Bereich der Proteine, wie zum Beispiel Hämoglobin.⁴ Aufgrund dieser geringen Abmessungen können sie direkt in Wechselwirkungen mit Proteinen oder zellulären Bestandteilen dieser Größenordnung treten. So werden bereits Eisenoxidnanokristalle in der Diagnostik als MRT-Kontrastmittel^{5,6} eingesetzt, auch ein Einsatz in der Tumorbekämpfung mittels Hyperthermie⁶ ist möglich. Zudem werden Silbernanopartikel als antiseptisches Material zur Wundheilung⁷ verwendet.

Ein weiteres Material, welches in der Nanotechnologie große Erfolge erzielt hat, sind Halbleiternanokristalle. Einige von diesen begleiten uns bereits heute nahezu täglich durch unseren Alltag, seien es Titandioxidnanokristalle in Sonnencremes⁸, Zahnpasta⁹ und Wandfarben¹⁰ oder fluoreszierende Nanokristalle in Leuchtdioden^{11,12} sowie in hochauflösenden Displays von Fernsehgeräten^{13,14}. Insbesondere fluoreszierende Halbleiternanokristalle bieten durch ihre neuartigen Eigenschaften ein hohes Potential, um in der medizinischen Therapie oder Diagnostik eingesetzt zu werden.¹⁵ Trotz aller Vorteile ist es jedoch notwendig, die toxikologischen Bedenken zu berücksichtigen. Daher finden Halbleiternanokristalle zunächst in der *in-vitro*-Diagnostik Anwendung, es können also Gewebeschnitte mit ihnen angefärbt oder fluoreszenzmikroskopisch untersucht werden.^{16,17} Um dieses Konzept erfolgreich zu verfolgen, ist es notwendig die Halbleiternanopartikel unter Erhalt ihrer besonderen Eigenschaften zu biokompatibilisieren.^{18–21} Im Rahmen dieser Arbeit wird eine Route präsentiert, welche neben dem erfolgreichen Transfer der Halbleiternanokristalle ins wässrige Medium auch eine Methode zur Entwicklung von pH-sensitiven Fluoreszenzsensoren für mögliche diagnostische *in-vitro*-Verfahren beschreibt. Dazu wird sich der Prozess des Förster-Resonanz-Energie-Transfers (FRET) zu Nutze gemacht. Dieser erlaubt einen strahlungslosen Energieübertrag von einem angeregten Donor auf einen Akzeptor. Erste Veröffentlichungen zeigen bereits das hohe Potential von Halbleiternanokristallen als Donoren für diesen Prozess. So ist es bereits möglich, durch den Einsatz von Halbleiternanokristallen mittels eines Förster-Resonanz-Energie-Transfers Energie auf andere Halbleiternanokristalle²², Fluoreszenzfarbstoffe^{23,24}, Antikörper²⁵, Proteine^{22,25}, DNA-Moleküle²⁵ oder andere Biokonjugate^{22,25} zu übertragen.

4 Theoretische Grundlagen

Wie zuvor erläutert bieten Nanopartikel ein breites Anwendungsspektrum für die Medizin. Im folgenden Abschnitt wird detailliert beschrieben, welchen Eigenschaften insbesondere Halbleiternanokristalle ihr hohes Potential für den Einsatz in der medizinischen Diagnostik verdanken. Weiterhin wird auf die physikalisch-chemischen Grundlagen dieser Eigenschaften und Effekte eingegangen. Auch die verwendeten Charakterisierungsmethoden werden erläutert.

4.1 Bandstrukturen im Festkörper

Festkörper lassen sich aufgrund ihrer elektrischen Eigenschaften in drei Kategorien einteilen. Die Einteilung erfolgt dabei über den Verlauf und die Lage sogenannter Energiebänder, in denen sich die Elektronen frei im Kristall bewegen können. In einem Kristall gibt es grundsätzlich zwei Arten solcher Energiebänder: Zum einen das besetzte Valenzband und zum anderen das unbesetzte Leitungsband. Sobald Elektronen aus dem Valenzband in das Leitungsband angeregt werden, wird eine elektrische Leitfähigkeit erzeugt. Entscheidend für die Klassifizierung eines Materials ist die relative Lage dieser beiden Bänder zueinander. Kommt es zu einer Überlappung beider Bänder, können Elektronen problemlos ohne jegliche Art von Energie vom Valenzband in das Leitungsband gelangen. Solche Materialien werden Leiter genannt. Leiter sind in der Lage permanent Strom zu leiten. Auch bei halbbesetzten Valenzbändern, wie es bei Alkalimetallen der Fall ist, kommt es zu einer elektrischen Leitfähigkeit. Beträgt der Abstand der beiden Bänder maximal 4 eV ²⁶, kann diese Energiedifferenz beispielsweise durch Anregung mit Wärme oder Licht überwunden werden. Bei solchen Materialien handelt es sich um Halbleiter. Halbleiter sind in der Lage Strom zu leiten, sofern die Elektronen durch ausreichend Energie ins Leitungsband angeregt werden. Liegt der Betrag der Bandlücke jedoch über 4 eV , so wird von Isolatoren gesprochen. In so einem Fall ist eine thermische Anregung der Elektronen in das Leitungsband nicht mehr ohne Weiteres möglich. Die Dunkelleitfähigkeit des Materials ist deshalb sehr klein.²⁶ Die Lage der Energiebänder der unterschiedlichen Materialien ist in Abbildung 4.1 schematisch dargestellt. Wird bei einem Halbleiter das Elektron in das Leitungsband angeregt, so bleibt im Valenzband ein positiv geladenes Loch

zurück. Elektron und Loch sind im Kristall frei beweglich, jedoch durch Coulomb-Wechselwirkungen aneinander gebunden. Diese Elektron-Loch-Paare werden Exzitonen genannt.

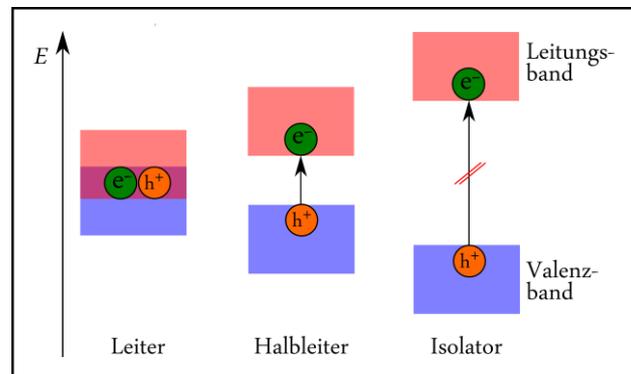


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung der Bandstrukturen in Festkörpern.

4.2 Besonderheiten nanoskaliger Systeme und Größenquantisierungseffekt

Bei Nanostrukturen tritt bei Unterschreiten einer gewissen Größe eine Abhängigkeit der physikalischen und chemischen Eigenschaften von der Partikelgröße auf. Dies resultiert aus dem besonders hohen Anteil an Oberflächenatomen im Verhältnis zum Volumenmaterial. Dieser Zusammenhang wird in Abbildung 4.2 besonders deutlich.⁴

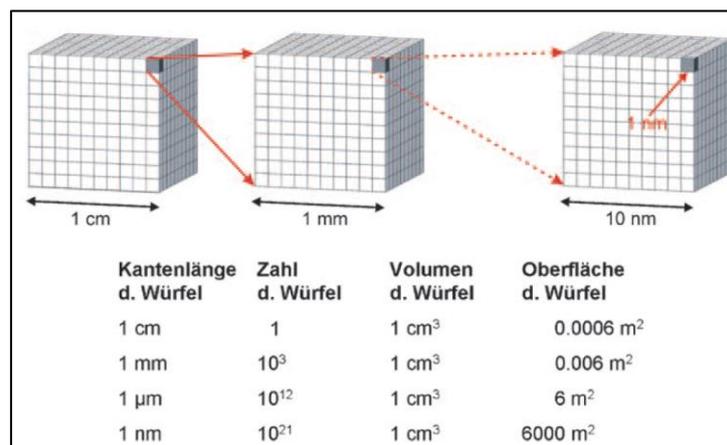


Abbildung 4.2: Modell zur Veranschaulichung des Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnisses von Nanopartikeln.⁴

Da bei einem makroskopischen Volumenmaterial die Oberflächenatome nur einen verschwindend geringen Anteil an den gesamten Atomen darstellen, nehmen diese nahezu

keinen Einfluss auf die Eigenschaften des Materials. Wird ein Volumenkristall jedoch verkleinert, so nimmt der Anteil an Oberflächenatomen maßgeblich Einfluss auf die Materialeigenschaften.⁴

Bei Halbleiternanokristallen tritt zusätzlich der sogenannte Größenquantisierungseffekt auf. Dabei verändert sich die Energiedifferenz zwischen Leitungs- und Valenzband. Diese Bandlücke stellt dann keine Materialkonstante mehr dar, wie es beim makroskopischen Festkörper der Fall ist, sondern ist stark von der Größe des Partikels abhängig. Durch den Größenquantisierungseffekt lässt sich die Zunahme der Bandlückenenergie von Halbleiternanokristallen mit abnehmender Partikelgröße beschreiben.

Dieser Effekt lässt sich über die Methode der Linearkombination von Atomorbitalen (*LCAO*) erklären. Es kommt bei abnehmender Partikelgröße zu einer Anhebung des Leitungsbandes und zu einer Absenkung des Valenzbandes. Dadurch vergrößert sich folglich die Energiedifferenz, also die Bandlücke, dieser beiden Bänder. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 4.3 dargestellt. Ausgehend vom makroskopischen Halbleiter über den Halbleiternanokristall bis hin zum einzelnen Molekül nimmt die Bandlückenenergie stetig zu.

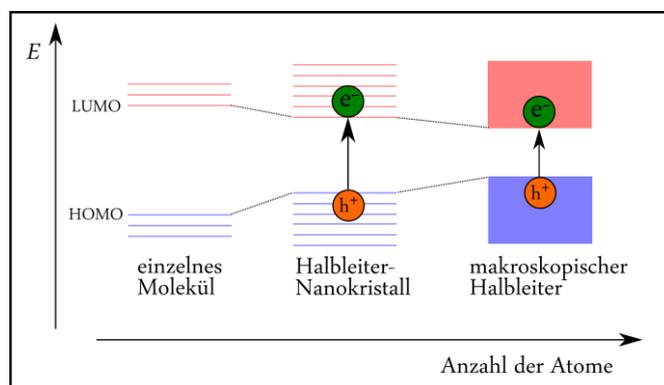


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung der Bandstruktur in einzelnen Molekülen, in Halbleiternanokristallen und im makroskopischen Halbleiter. Deutlich zu erkennen ist die Zunahme der Bandlückenenergie mit abnehmender Materialgröße.

Grundsätzlich halten sich Elektronen in Orbitalen mit diskreten Energieniveaus auf. Werden mehrere Atomorbitale zu Molekülorbitalen kombiniert, so entstehen bindende und antibindende Molekülorbitale. Die bindenden Molekülorbitale liegen dabei grundsätzlich energetisch niedriger als die dazugehörigen antibindenden Molekülorbitale. Somit halten sich die Elektronen vorwiegend in den energetisch günstigeren bindenden Molekülorbitalen auf. Die Molekülorbitale haben, wie die Atomorbitale, diskrete Energieniveaus. Im

makroskopischen Festkörper kommt es zu einer so dichten Aneinanderreihung der Energieniveaus, dass eine Separation nicht mehr möglich ist. Sie verschmelzen zu Energiebändern. Auch bei Nanokristallen liegen diskrete Energieniveaus vor. Die Dichte dieser Energieniveaus ist deutlich höher als beim einzelnen Molekül, daher wird der Abstand der bindenden und antibindenden Orbitale verringert. Da es sich bei Nanokristallen um einen Grenzbereich zwischen Molekülen und makroskopischen Festkörpern handelt, kommt es bei ihnen zur Bildung von vielen extrem schmalen Energieniveaus. Da mit abnehmender Partikelgröße die Anzahl der Atome und folglich auch die der Bänder-bildenden Orbitale abnimmt, steigt die Energiedifferenz mit abnehmender Partikelgröße an.

Quantitativ lässt sich dieser Effekt bei sphärischen Nanokristallen am Modell des Teilchens im Kasten demonstrieren. Es wird zu Grunde gelegt, dass es sich um einen Kristall mit einem periodischen Gitter in alle drei Raumrichtungen handelt, in dem die Ladungsträger die Teilchen sind und der Nanokristall der Kasten. Es wird dabei die Annahme von De Broglie zu Grunde gelegt, dass Elektronen sich sowohl als Teilchen, als auch als Welle durch den Kristall bewegen können. Zur exakten Beschreibung wird ein Kristall angenommen, welcher seine Wände bei $x = 0$ und $x = L$ hat. L entspricht dem Durchmesser des Kristalls. Zwischen diesen Wänden ist das Potential gleich Null und an den Wänden unendlich hoch. Somit kann sich das Elektron ausschließlich innerhalb des Kastens aufhalten. Es lässt sich die Schrödingergleichung für einen 1D-Fall nach Gleichung 4.1 formulieren:²⁷

$$E\psi = -\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} \quad (\text{Gleichung 4.1})$$

Mit:	E :	Energieeigenwert
	ψ :	Wellenfunktion des Teilchens
	\hbar :	reduziertes Plancksches Wirkungsquantum
	m :	Masse des Teilchens
	x :	Ortskoordinate

Die Schrödingergleichung aus Gleichung 4.1 lässt sich auch durch eine Kombination von Sinus- und Kosinusfunktionen nach Gleichung 4.2 beschreiben.²⁷

$$\psi = C \cdot \sin(kx) + D \cdot \cos(kx) \quad (\text{Gleichung 4.2})$$

Mit: C, D : Konstanten

k : Wellenvektor

Da sich das Elektron lediglich innerhalb des Kastens aufhalten kann, können folgende Randbedingungen aufgestellt werden: Die Wellenfunktion muss zum einen stetig sein und zum anderen an den Potentialwänden den Wert Null annehmen. Konkret betrachtet bedeutet das, dass beim Einsetzen von $x = 0$ sowie $x = L$ die Funktion nach Gleichung 4.2 Null werden muss. Wird für $x = 0$ eingesetzt, so entfällt der zweite Summand der Gleichung 4.2 vollständig, sobald D den Wert Null annimmt. Im Anschluss wird die vereinfachte Funktion bei $x = L$ betrachtet. Die Wellenfunktion soll hier ebenfalls den Wert Null annehmen.²⁷ Es wäre denkbar C ebenfalls gleich Null zu setzen, jedoch wäre diese Lösung physikalisch nicht sinnvoll, da die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Elektrons dann im gesamten Kasten Null betrüge. Bei genauerer Betrachtung der Sinusfunktion, lässt sich erkennen, dass sie nur den Wert Null annimmt, wenn es sich bei kx um n ganzzahlige vielfache von π handelt. Es gilt Gleichung 4.3.

$$kL = n\pi \longrightarrow k = \frac{n\pi}{L} \quad (\text{Gleichung 4.3})$$

Wird Gleichung 4.3 in die vereinfachte Wellenfunktion eingesetzt, so ergibt sich Gleichung 4.4.

$$\psi = C \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L} x\right) \quad (\text{Gleichung 4.4})$$

Zur weiteren Betrachtung wird die Energie eines freien Teilchens, welche nach Gleichung 4.5 definiert ist, herangezogen.

$$E = \frac{k^2 \hbar^2}{2m} \quad (\text{Gleichung 4.5})$$

Wird Gleichung 4.3 auf die Energie eines freien Teilchens nach Gleichung 4.5 angewendet, so ergibt sich Gleichung 4.6 für die Energie des Teilchens.²⁷

$$E = \frac{n^2 \hbar^2 \pi^2}{2mL^2} = \frac{n^2 \hbar^2}{8mL^2} \quad \text{mit } n \in \mathbb{N} \quad (\text{Gleichung 4.6})$$

Die Energie vom Teilchen im Kasten ist im Gegensatz zu der Energie freier Teilchen gequantelt. Folglich können nur diskrete Werte für die Energie des Ladungsträgers angenommen werden können. Diese lassen sich durch die Quantenzahl n beschreiben.

Werden die Abmessung eines kristallinen Festkörpers in mindestens einer der drei Raumrichtungen auf den Wert der De Broglie-Wellenlänge reduziert, kommt es zu einer Beschränkung der Wellenfunktion.²⁸ Aus Gleichung 4.6 wird ersichtlich, dass die Energie mit Zunahme der Quantenzahl n und Abnahme des Teilchendurchmessers L beträchtlich ansteigt.²⁷ Dieses Verhalten ist schematisch in Abbildung 4.4 dargestellt.

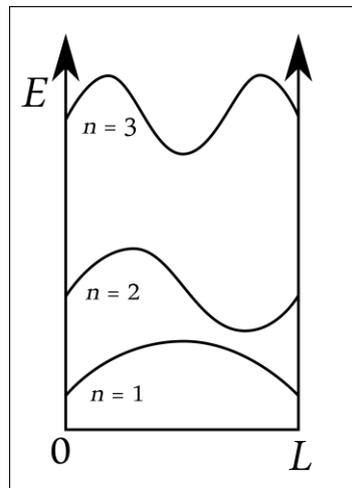


Abbildung 4.4: Modell des Teilchens im Kasten mit den Wellenfunktionen der ersten drei Energieniveaus.

Bei Halbleiternanokristallen kommt es bei Unterschreiten einer gewissen Größe zur Beschränkung. Konkret bedeutet das, dass die Abmessung des Partikels lediglich so groß wie die Exzitonen selbst oder gar kleiner sind. In so einem Fall kann sich das Exziton nur innerhalb des Kristalls befinden, wenn sich Elektron und Loch in einem Zustand höherer kinetischer Energie befinden.²⁹ Daher nimmt die Bandlücke mit abnehmender Partikelgröße zu. Quantitativ lässt sich die Änderung der Bandlückenenergie im Nanokristall im Vergleich zum näherungsweise unendlich ausgedehntem Volumenmaterial über die Brus-Formel nach Gleichung 4.7 beschreiben.^{30,31}

$$\Delta E = \frac{\pi^2 \hbar^2}{2R^2} \cdot \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1.786e^2}{4R\pi\epsilon_0\epsilon_r} \quad (\text{Gleichung 4.7})$$

Mit: ΔE : Energieänderung zur Materialkonstante des Volumenmaterials

\hbar : reduziertes plancksches Wirkungsquantum

R : Radius des Teilchens

- m_e^* : effektive Masse des Elektrons
- m_h^* : effektive Masse des Lochs
- e : Elementarladung
- ϵ_0 : Dielektrizitätskonstante im Vakuum
- ϵ_r : Hochfrequenzdielektrizitätskonstante des makroskopischen Materials

Die Brus-Formel setzt sich aus einem Term der kinetischen Energie (Minuend) und einem Term, welcher die Coulomb-Energie beschreibt (Subtrahend), zusammen.

4.3 Halbleiternanokristalle

Aufgrund des zuvor beschriebenen Größenquantisierungseffektes sind die optischen Eigenschaften von Halbleiternanokristallen abhängig von ihrer Größe. Je kleiner der Partikelradius ist, desto weiter verschieben sich die Wellenlänge der Emission und Absorption zu höheren Energien. Grundsätzlich sind die Banden im Emissionsspektrum im Vergleich zu den dazugehörigen Absorptionsbanden immer zu kleineren Energien verschoben. Dieser Effekt wird *Stokes-Shift* genannt und wird an folgender Abbildung 4.5 veranschaulicht.

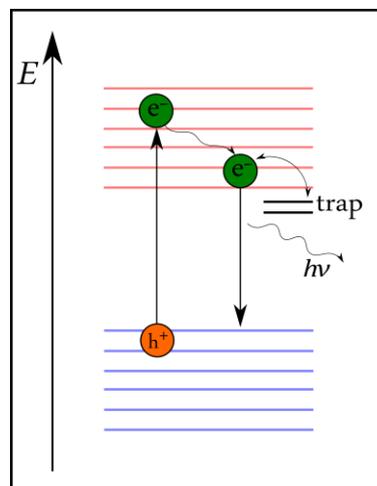


Abbildung 4.5: Unterschiedliche Energieniveaus in einem Halbleiternanokristall sowie die Erzeugung und Rekombination eines Exzitons.

Bei der Absorption eines Photons wird ein Elektron aus seinem elektronischen Grundzustand in einen angeregten elektronischen Zustand angehoben. Dabei wird das Elektron in einen höheren Schwingungszustand angeregt. Anschließend relaxiert das Elektron zu-

nächst strahlungslos in den Schwingungsgrundzustand des angeregten elektronischen Zustands. Erst danach rekombiniert das Elektron unter Aussendung eines Photons mit dem Loch in den Grundzustand.²⁹ Aufgrund dieser strahlungslosen Desaktivierung ist das emittierte Licht energieärmer als das absorbierte. Die unterschiedlichen Relaxationsprozesse haben zusätzlich Einfluss auf die Fluoreszenzzerfallszeiten.^{32–38} In Cadmiumselenid-Nanokristallen lässt sich der exzitonische 1S-Zustand in fünf Energieniveaus einteilen, welche sich im Drehimpuls F voneinander unterscheiden: $F = 0^L, 0^U, \pm 1^U, \pm 1^L$ und ± 2 .^{35,36} U steht für den energetisch höheren und L für den energetisch niedrigeren Zustand. Für den Übergang eines Elektrons gilt die Auswahlregel, dass die Änderung des Gesamtdrehimpulses ± 1 betragen muss.³⁶ Bestimmte Übergänge, bei denen die Änderung des Gesamtdrehimpulses andere Werte als ± 1 annimmt sind somit verboten, das Exziton befindet sich in einem sogenannten Dunkelzustand. Ist ein Ladungsträger in einen Dunkelzustand gelangt, so bedeutet das zwangsläufig, dass er aus einem höherenergetischen Zustand in diesen Dunkelzustand gelangt ist. Er muss dabei Energie, zum Beispiel durch Abgabe akustischer Phononen, verloren haben.³² Für eine strahlende Relaxation aus einem Dunkelzustand muss der Ladungsträger erst wieder durch Anregung mittels thermischer Energie in ein Niveau aus dem ein Übergang erlaubt ist, gelangen, oder es erfolgt eine strahlende Relaxation aufgrund von Wechselwirkungen mit Phononen. Da diese Prozesse eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt, erklärt das die relativ langen Fluoreszenzabklingzeiten von Cadmiumselenid-Nanokristallen.

Weitere typische Kenngrößen für Halbleiternanokristalle sind neben der Emissions- und der Absorptionswellenlänge auch die Fluoreszenzquantenausbeute, die ein Verhältnis aus der Anzahl der emittierten und der absorbierten Photonen ist. Aufgrund von Fehlstellen im Kristall oder nicht abgesättigten Valenzen an der Kristalloberfläche können Ladungsträger in sogenannten *traps* gefangen werden und so eine Rekombination unterbunden werden. Die Fluoreszenzquantenausbeute kann zusätzlich durch strahlungslose Rekombination der Elektron-Loch-Paare gemindert werden.²⁹

In Abbildung 4.6 sind Lösungen von Cadmiumselenid-Nanokristallen unterschiedlicher Größe unter UV-Licht dargestellt. Deutlich zu erkennen ist die unterschiedliche Farbe des Emissionslichtes, welches durch die unterschiedlichen Energiebeträge der Bandlücke verursacht wird.



Abbildung 4.6: Lösungen von CdSe-Nanokristallen unterschiedlicher Größe unter UV-Licht.³⁹

Zur Optimierung der optischen und elektronischen Eigenschaften ist es möglich eine Schicht aus einem weiteren halbleitenden Material auf die Partikeloberfläche aufzubringen. Es kommt zu einer Passivierung der Oberfläche, wodurch zum einen die vorhandenen Fehlstellen abgesättigt werden können und zum anderen die strahlungslose Rekombination minimiert wird. Je nach Wahl des Schalenmaterials lassen sich zudem die Emissions- und Absorptionswellenlänge zielgenau einstellen. In Abhängigkeit der Lage der Bandlücken von Kern- und Schalenmaterial zueinander, erfolgt die Unterteilung der Kern-Schale-Partikel in verschiedene Typen: Liegt die Bandlücke des Kernmaterials vollständig innerhalb der des Schalenmaterials, wird von Typ-I-Kern-Schale-Partikeln gesprochen.⁴⁰ Wird ein Schalenmaterial aufgebracht, welches mit der Bandlücke entweder die Valenzbandkante oder die Leitungsbandkante des Kerns umschließt, handelt es sich um ein Typ-II-Kern-Schale-Partikel.⁴⁰ Dieser Zusammenhang ist schematisch in Abbildung 4.7 dargestellt. Dort ist auf einem sphärischen Kern eine stäbchenförmige Schale aufgebracht.

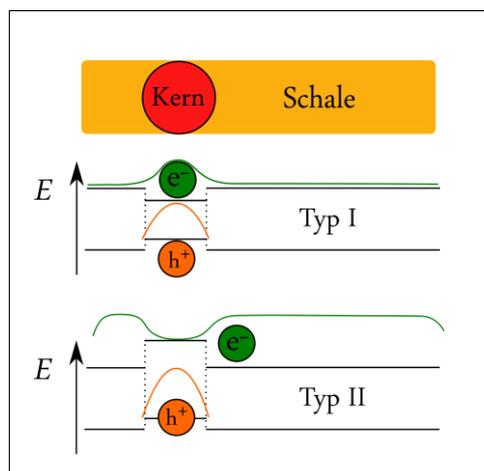


Abbildung 4.7: Schematische Illustration der unterschiedlichen relativen Lagen der Bandlücken von Kern- und Schalenmaterial zueinander und die daraus resultierenden Aufenthaltswahrscheinlichkeiten der Ladungsträger.

In diesem Fall wird von sogenannten *QuantumDots-in-QuantumRods* gesprochen. Zusätzlich sind auch die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten der beiden Ladungsträger eingezeichnet.

Allerdings sind die Lage und der Betrag der Bandlücken nicht die einzigen Kriterien für die Wahl eines Schalenmaterials. Soll eine Schale erfolgreich auf Kerne aufgebracht werden, ist es vonnöten, dass sich die Gitterparameter von Kern- und Schalenmaterial nicht allzu stark voneinander unterscheiden, andernfalls kommt es zu Gitterspannungen.⁴⁰

4.4 Synthese und Wachstum von Nanokristallen

Die Synthese von Nanostrukturen ist grundsätzlich über verschiedene Methoden denkbar. Je nach Anforderung des Materials kann beispielsweise auf Festphasen-, Flüssigphasen- oder Gasphasenreaktionen zurückgegriffen werden.⁴¹ Diese drei Methoden haben gemein, dass das sogenannte *bottom-up*-Verfahren zu Grunde gelegt wird. Dabei entstehen die Nanokristalle aus bestimmten Vorläuferverbindungen und wachsen anschließend. Im Gegensatz dazu, ist es ebenso möglich Nanostrukturen durch das gezielte Zerkleinern oder Mahlen von größeren Materialien zu erzeugen. Dabei handelt es sich um das *top-down*-Verfahren.

Obwohl das *bottom-up*-Verfahren deutlich aufwendiger in der Umsetzung ist, wird es bevorzugt, da nur hierbei kontrolliert Strukturen mit einer engen Größenverteilung erzeugt werden können. Diese enge Größenverteilung ist aufgrund der starken Abhängigkeit der Eigenschaften der Nanopartikel von ihrer Größe ein unabdingbares Kriterium bei der Wahl der Synthesestrategie. Die Nanokristallsynthesen nach diesem Verfahren werden in der Regel in hochsiedenden, organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Der Mechanismus der Partikelbildung lässt sich dabei nach La Mer in drei Phasen unterteilen.⁴² In der ersten Phase bilden sich aus den Vorläuferverbindungen Monomere. Die Monomerkonzentration steigt in dieser Phase nahezu linear an. Sobald eine gewisse Konzentration c_{\min} erreicht ist, bilden sich Nukleationskeime und es beginnt Phase II. Diese Phase wird Keimbildungsphase genannt. In dieser Phase kommt es durch die Bildung von Nukleationskeimen zur Verarmung an Monomer. Sobald die Konzentration wieder unter die Nukleationskonzentration c_{\min} sinkt, findet keine Nukleation, sondern ausschließlich Wachstum statt. Daher wird die dritte Phase auch als Wachstumsphase bezeichnet.⁴² Damit möglichst

einheitliche Strukturen mit einer engen Größenverteilung erhalten werden, sollten Wachstums- und Nukleationsphase separiert werden. Dies kann zum Beispiel durch unterschiedliche Reaktionstemperaturen erfolgen.⁴⁰ Der Verlauf des Partikelwachstums ist in Abbildung 4.8 schematisch dargestellt.

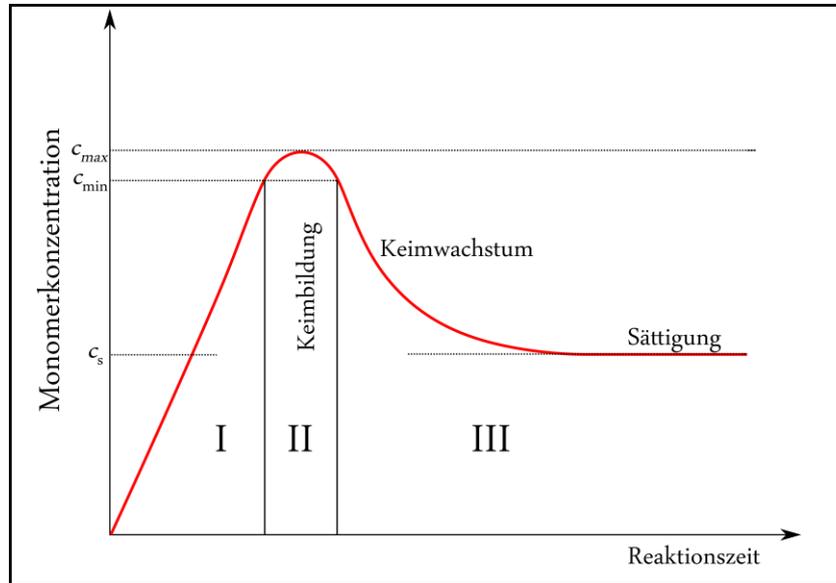


Abbildung 4.8: Phasen der Keimbildung und des Wachstums nach La Mer.

Im Folgenden wird der Wachstumsprozess thermodynamisch betrachtet. Die freie Enthalpie ΔG des Wachstums lässt sich in zwei Komponenten zerlegen. Für ein sphärisches Teilchen mit dem Radius r setzt sie sich aus einem Term der Oberflächenenergie γ und der freien Gitterenthalpie ΔG_V zusammen. Dieser Zusammenhang ist quantitativ in Gleichung 4.8 beschrieben.⁴³

$$\Delta G = 4\pi\gamma r^2 + \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_V \quad (\text{Gleichung 4.8})$$

Die freie Gitterenthalpie ΔG_V hängt dabei von der absoluten Temperatur T , der Boltzmannkonstante k_B , der Übersättigung S der Lösung sowie vom molaren Volumen V ab. Diesen Zusammenhang beschreibt Gleichung 4.9.⁴³

$$\Delta G_V = \frac{-k_B T \ln(S)}{V} \quad (\text{Gleichung 4.9})$$

Der Term der Oberflächenenergie ist immer positiv und steigt quadratisch mit dem Radius r an. Die freie Gitterenthalpie hingegen ist konsequent negativ und verläuft abfallend in der dritten Potenz zum Radius r . Somit ist definiert, dass die Funktion für die freie Enthalpie ΔG bei einem bestimmten kritischen Radius r_{krit} ein Maximum aufweist. Für die

Bestimmung von r_{krit} wird die Gleichung 4.8 nach r abgeleitet und die Nullstelle der Ableitung bestimmt (Gleichung 4.10 – 4.11).⁴³

$$\frac{d\Delta G}{dr} = 8\pi\gamma r_{\text{krit}} + 4\pi r_{\text{krit}}^2 \Delta G_V = 0 \quad (\text{Gleichung 4.10})$$

$$r_{\text{krit}} = \frac{-2\gamma}{\Delta G_V} = \frac{-2\gamma V}{k_B T \ln(S)} \quad (\text{Gleichung 4.11})$$

Der kritische Radius r_{krit} entspricht der Partikelgröße, bei der die Partikel stabil in Lösung sind, ohne sich aufzulösen.

Die Verläufe der Oberflächenenergie und der freien Gitterenthalpie sowie deren Summe, die freie Gesamtenthalpie, sind in Abbildung 4.9 schematisch dargestellt. Deutlich zu erkennen ist das Maximum der freien Enthalpie beim kritischen Radius r_{krit} .

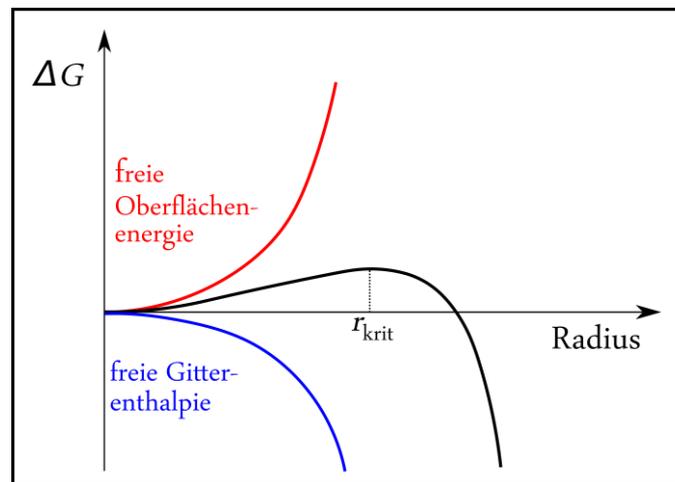


Abbildung 4.9: Verlauf der freien Enthalpie in Abhängigkeit der Partikelgröße als Resultat aus der Summe der freien Oberflächenenergie und der freien Gitterenthalpie.

4.5 Darstellung von wasserlöslichen Nanokristall-Polymerhybriden

Da in der Synthese der Halbleiternanokristalle langkettige, organische Liganden eingesetzt werden, sind diese nur in organischen Lösungsmitteln als kolloidale Lösung stabil. Folglich ist für die Anwendung der Nanokristalle in der Biochemie oder Medizin ein Transfer der Halbleiternanokristalle in wässriges Medium vonnöten. Dabei ist es besonders wichtig, dass die maßgeschneiderten optischen Eigenschaften der Kristalle bei diesem Phasentransfer nicht beeinträchtigt werden. Für den Phasentransfer wird eine in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Horst Weller entwickelte Methode verwendet. Die Verkapselung der Nanokristalle erfolgt dabei mittels des im Überschuss verwendeten amphiphilen Blockcopolymer Polyisopren-*block*-Polyethylenoxid (PI-*b*-PEO). Beim Phasentransfer ins wässrige System kommt es bei Überschreiten einer bestimmten Konzentration, der kritischen Mizellenkonzentration (CMC), zur Bildung einer mizellaren Struktur, wobei die Nanokristalle von dem Polymer umschlossen werden. Die hydrophobe Polyisopren-Einheit lagert sich durch Wechselwirkungen an der Partikeloberfläche an, sodass der hydrophile Polyethylenoxid-Part des Polymers nach außen zur wässrigen Phase zeigt. Über den Überschuss des verwendeten Emulgators kann die Anzahl der in einer Mizelle eingeschlossenen Nanokristalle gesteuert werden.^{18,44} Hohe Überschüsse führen zu nahezu ausschließlich einzeln verkapselten Kristallen, niedrigere führen zu Kristallensembles. Abbildung 4.10 zeigt die Struktur des verwendeten Blockcopolymer.

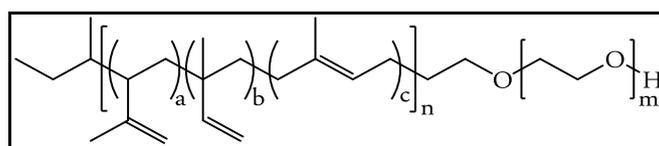


Abbildung 4.10: Strukturformel des Emulgators PI-*b*-PEO mit unterschiedlichen Verknüpfungsmöglichkeiten der Polyisopreneinheit: a) 3,4-Verknüpfung b) 1,2-Verknüpfung, c) 1,4-Verknüpfung.

Im Anschluss an diesen Phasentransfer wird eine Emulsionspolymerisation mit den Monomeren Styrol und Divinylbenzol durchgeführt. Die Monomere werden in die wässrige Phase gegeben. Sie diffundieren nach und nach in das Innere der Mizellen und werden dort radikalisch polymerisiert. Die vernetzte Polystyrolhülle schützt den Kristall vor Einflüssen aus dem wässrigen Medium^{18,44} und sorgt damit für eine besonders hohe Stabilität, auch im sauren Milieu. Durch die Zugabe der Menge an Monomer kann dabei die Größe der Konstrukte gezielt eingestellt werden. Durch die Veränderung des Anteils von Divinylbenzol kann der Vernetzungsgrad und damit die potenzielle Durchlässigkeit der Hülle

gesteuert werden. In Abbildung 4.11 ist der gesamte Verkapselungsprozess schematisch dargestellt.

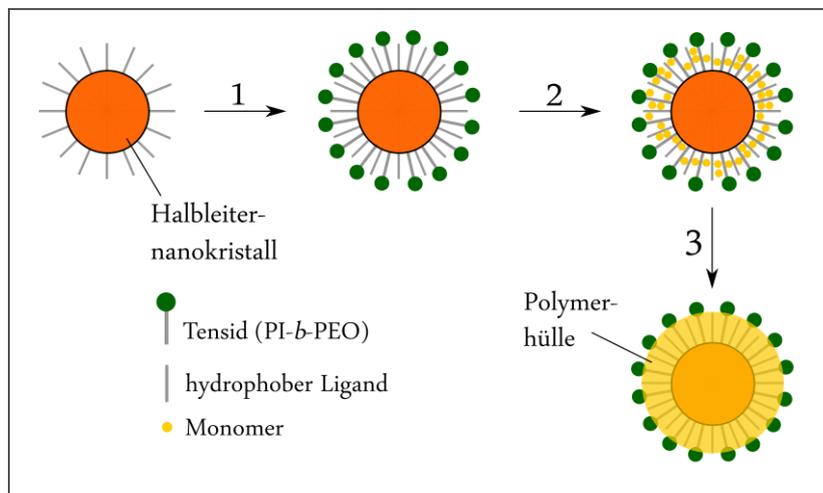


Abbildung 4.11: Schematische Darstellung des Phasentransfers der Nanopartikel ins wässrige Milieu mit anschließender Emulsionspolymerisation.

4.6 UV/vis-Spektroskopie

Bei der UV/vis-Spektroskopie handelt es sich um eine etablierte Methode zur Charakterisierung von Halbleiternanokristallen.⁴⁰ Es wird grundsätzlich zwischen Absorptionsspektroskopie und Emissionsspektroskopie unterschieden. Bei der Absorptionsspektroskopie wird die Menge an Licht detektiert, die durch die Probe hindurchdringt. Das erlaubt Rückschlüsse darauf, welche Wellenlänge wie stark von der Probe absorbiert, also aufgenommen, wird. Bei Halbleiternanokristallen werden in der Regel mehrere Banden im Spektrum erhalten, da verschiedene Übergänge an den diskreten Energieniveaus möglich sind. Außerdem hat bei Kern-Schale-Kristallen auch die Schale einen Einfluss auf die Absorptionsbanden.

Weiterhin lassen sich durch die Absorptionsspektroskopie über das Lambert-Beersche Gesetz^{45,46} (Gleichung 4.12) die molaren Extinktionskoeffizienten der in dieser Arbeit dargestellten Indikatorfarbstoffe bestimmen.

$$E = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon c d \quad (\text{Gleichung 4.12})$$

Mit:	E :	Extinktion
	I :	Intensität des detektierten Lichtes (Transmission)
	I_0 :	Intensität des eingestrahnten Lichtes
	ε :	molarer Extinktionskoeffizient
	c :	Stoffmengenkonzentration
	d :	Schichtdicke der Probe

Bei der Emissionsspektroskopie wird die Probe mit Licht einer definierten Wellenlänge angeregt und das Emissionslicht der Probe detektiert. Neben der Emissionswellenlänge wird mit der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung zusätzlich die Fluoreszenzzerfallszeit der angeregten Zustände bestimmt. Dazu wird ein gepulster Laser als Anregungsquelle verwendet.

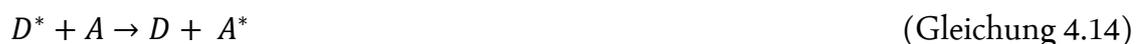
4.7 Förster-Resonanz-Energie-Transfer

Beim Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) handelt es sich um eine strahlungslose Energieübertragung von einem Donor auf einen Akzeptor. Dieser erfolgt durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen. Zunächst ist eine Anregung des Donors D , wie in Gleichung 4.13 beschrieben, notwendig:⁴⁷



Mit:	D :	Donor
	$h\nu$:	Energie
	D^* :	angeregter Donor

Im Anschluss an die Anregung wird die Energie strahlungslos auf den Akzeptor übertragen. Dieser Vorgang wird durch Gleichung 4.14 beschrieben:



Mit:	A :	Akzeptor
	A^* :	angeregter Akzeptor

Für den oben genannten Energietransfer müssen jedoch einige Voraussetzungen erfüllt sein: So ergibt sich eine besonders hohe Effizienz, wenn sich Donor und Akzeptor nur wenige Nanometer voneinander entfernt befinden. Weiterhin ist ein spektraler Überlapp zwischen der Emission des Donors und der Absorption des Akzeptors unabdingbar. Diese Grundvoraussetzung wird durch Abbildung 4.12 verdeutlicht.

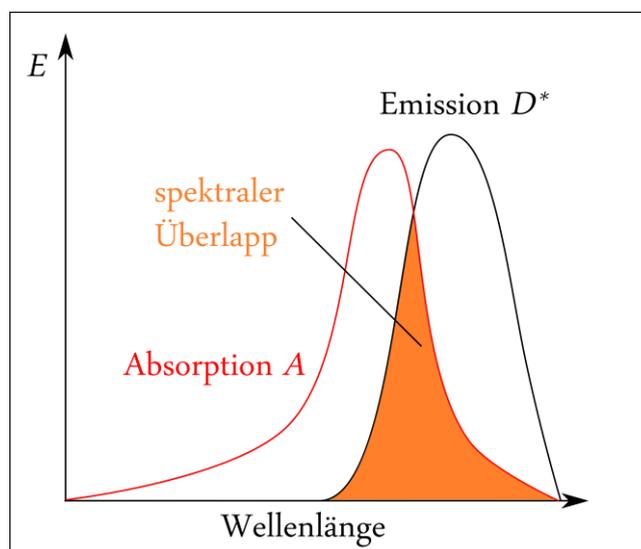


Abbildung 4.12: Eine Voraussetzung des FRET: Der spektrale Überlapp zwischen der Donor-Emission und der Akzeptor-Absorption muss gewährleistet sein.

Für jedes Donor-Akzeptor-Paar lässt sich der sogenannte Försterradius R_0 bestimmen. Dieser beschreibt den Abstand r zwischen Donor und Akzeptor, bei dem die Effizienz E der strahlungslosen Energieübertragung nach Gleichung 4.15 genau 50% beträgt.⁴⁸

$$E = \frac{1}{1 + \left(\frac{r}{R_0}\right)^6} \quad (\text{Gleichung 4.15})$$

Der Försterradius selbst ist dabei von der Quantenausbeute QY des Donors ohne jeglichen Energietransfer, vom Dipol-Dipol-Orientierungsfaktor κ sowie vom Brechungsindex n des Materials zwischen Donor und Akzeptor abhängig. Zusätzlich spielt neben der Avogadrozahl N_A das Überlappungsintegral J zwischen Donor-Emission und Akzeptor-Absorption eine entscheidende Rolle. Dieser Zusammenhang lässt sich quantitativ durch Gleichung 4.16 beschreiben.^{48,23}

$$R_0^6 = \frac{9.000 \cdot \ln(10) \cdot \kappa^2 \cdot QY \cdot J}{128 \pi^5 \cdot N_A \cdot n^4} \quad (\text{Gleichung 4.16})$$

Das Überlappungsintegral J berechnet sich nach Gleichung 4.17 aus der normierten Strahlungsintensität F_D des angeregten Donors sowie des Extinktionskoeffizienten ϵ des Akzeptors bei den entsprechenden Wellenlängen λ .²³

$$J = \int_0^\infty F_D(\lambda) \epsilon(\lambda) \lambda^4 d\lambda \quad (\text{Gleichung 4.17})$$

Unter Anwendung von Gleichung 4.17 auf Gleichung 4.16 ergibt sich für den Försterradius Gleichung 4.18.

$$R_0^6 = \frac{9.000 \cdot \ln(10) \cdot (\kappa^2 \cdot QY)}{128 \pi^5 \cdot N_A \cdot n^4} \int_0^\infty F_D(\lambda) \epsilon(\lambda) \lambda^4 d\lambda \quad (\text{Gleichung 4.18})$$

Der Orientierungsfaktor κ^2 kann je nach Anordnung von Donor und Akzeptor zueinander Werte zwischen 0 und 4 annehmen.⁴⁹ Für in Lösung frei bewegliche Teilchen wird der Orientierungsfaktor $\kappa^2 = \frac{2}{3}$ gesetzt.^{23,48} Dieser Wert wird auch für die folgende Auswertung herangezogen. Obwohl die Donor- und Akzeptormoleküle in den Konstrukten nicht mehr frei beweglich sind, erfolgt, bedingt durch den experimentellen Ablauf, eine zufällige Anordnung der Teilchen zueinander, die vergleichbar mit der statistischen Verteilung in Lösung ist. Der Brechungsindex der Polystyrolmatrix beträgt $n = 1.59$.⁵⁰ Für die Berechnung der Försterradien wird für diese Konstrukte eine Quantenausbeute von 60% angenommen.¹⁸

4.8 Fluoreszenzlöschung

Unter der Fluoreszenzlöschung wird die Abnahme der Fluoreszenz eines fluoreszierenden Materials verstanden. Ursachen der Fluoreszenzlöschung sind in der Regel Wechselwirkungen des Fluorophors mit sogenannten Löschern, also Molekülen oder auch Ionen, welche in der Lage sind, die Fluoreszenz zu mindern. Dabei wird aus dem angeregten Zustand strahlungslos relaxiert. Bei der Fluoreszenzlöschung wird zwischen der statischen und der dynamischen Löschung unterschieden.⁵¹

Statische Fluoreszenzlöschung tritt auf, wenn der Kontakt zwischen dem Löcher und dem Fluorophor deutlich länger als die Zerfallszeit des angeregten Zustandes ist. Fluorophor und Löcher bilden bereits im Grundzustand einen Komplex, welcher auch bei Anregung des Fluorophors nicht in der Lage ist zu fluoreszieren. Unmittelbar daraus folgt, dass die

Emissionsintensität beim statischen Löschen abnimmt, jedoch nicht die Fluoreszenzzerfallszeit. Beim statischen Löschen wird der Emissionsprozess unterbunden, somit bleibt die Fluoreszenzzerfallszeit der Donoren, welche nicht gelöscht werden, unverändert. Das statische Löschen lässt sich über die Stern-Volmer-Gleichung (Gleichung 4.19) beschreiben.^{48,51–53} F_0 beschreibt die Intensität der Emission ohne Löscher, F mit entsprechendem Löscher Q . K_s ist die Gleichgewichtskonstante der Komplexbildungsreaktion.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_s[Q] \quad (\text{Gleichung 4.19})$$

Bei der dynamischen Löschung hingegen kommt es zu einer Stoßreaktion zwischen dem angeregten Fluorophor und dem Löscher, wobei der Ladungsträger auf den Löscher übertragen wird. Dadurch ist die strahlende Rekombination der Ladungsträger nicht mehr möglich. Voraussetzung für eine dynamische Löschung ist jedoch, dass die Übertragung des Ladungsträgers innerhalb der Fluoreszenzzerfallszeit des angeregten Zustands stattfinden muss. Fluorophor und Löscher müssen demnach im angeregten Zustand des Fluorophors zusammenfinden. Auch bei dynamischer Löschung kommt es zu einer Abnahme der Fluoreszenzintensität, da der Ladungstransfer vom Fluorophor auf den Löscher in Konkurrenz zur Fluoreszenz steht. Für das dynamische Löschen lässt sich die Stern-Volmer-Gleichung⁵¹ (Gleichung 4.20) formulieren:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_Q \tau_0 [Q] \quad (\text{Gleichung 4.20})$$

Für die Fluoreszenzzerfallszeit τ_0 gilt allgemein Gleichung 4.21. Sie setzt sich aus der reziproken Summe der Geschwindigkeitskonstante k_1 für emittierende Relaxation sowie k_2 für strahlungslose Relaxation zusammen.

$$\tau_0 = \frac{1}{k_1 + k_2} \quad (\text{Gleichung 4.21})$$

Da der Ladungstransfer auf den Löscher mit der Fluoreszenz konkurriert, nimmt beim dynamischen Löschen neben der Fluoreszenzintensität auch die Fluoreszenzzerfallszeit ab. In Anwesenheit eines dynamischen Löschers ergibt sich für die Fluoreszenzzerfallszeit τ Gleichung 4.22. Dabei spielen die Geschwindigkeitskonstante k_Q der Löschreaktion sowie die Konzentration des Löschers Q eine Rolle.⁵¹

$$\tau = \frac{1}{k_1 + k_2 + k_Q[Q]} \quad (\text{Gleichung 4.22})$$

Daraus ergibt sich eine weitere Form der Stern-Volmer-Gleichung für das dynamische Löschen nach Gleichung 4.23.

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_Q \tau_0 [Q] = \frac{F_0}{F} \quad (\text{Gleichung 4.23})$$

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass statisches Löschen nur die Fluoreszenzintensität mindert, wohingegen das dynamische Löschen eine Abnahme der Fluoreszenzintensität und der Fluoreszenzzerfallszeit in gleichem Maße zur Folge hat.

Auch können statisches und dynamisches Löschen zusammen auftreten. Dies ist der Fall, wenn der Löscher den Fluorophor sowohl dynamisch als auch statisch löschen kann. Für diesen speziellen Fall ergibt sich eine Stern-Volmer-Gleichung nach Gleichung 4.24.⁵¹

$$\frac{F_0}{F} = (1 + K_S [Q])(1 + k_Q \tau_0 [Q]) \quad (\text{Gleichung 4.24})$$

In Abbildung 4.13 finden sich die Stern-Volmer-Auftragungen für das statische (A), das dynamische (B) sowie das kombinierte (C) Löschen.⁵¹

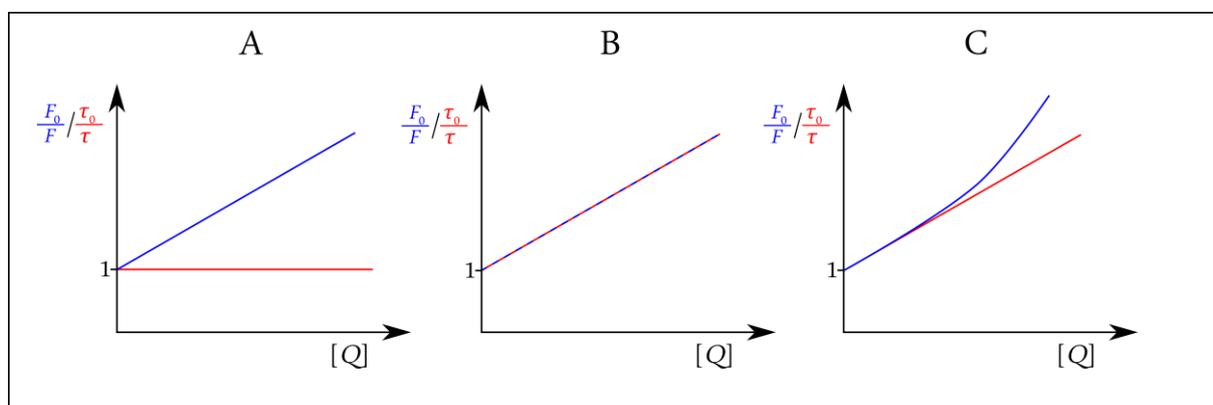


Abbildung 4.13: Stern-Volmer-Auftragungen für verschiedene Löschprozesse: Beim statischen Löschen (A) bleibt die Fluoreszenzzerfallszeit konstant während die reziproke Intensität mit zunehmender Konzentration des Löschers linear steigt. Beim dynamischen Löschen (B) steigen die reziproke Zerfallszeit und die reziproke Intensität gleichermaßen linear an. Beim kombinierten Löschen (C) steigt die reziproke Zerfallszeit linear, während die reziproke Intensität nichtlineares Verhalten mit einer Linkskrümmung aufweist.

Deutlich zu erkennen ist, dass beim statischen Löschen die Fluoreszenzzerfallszeit unabhängig von der Konzentration des Löschers ist. Die Auftragung der reziproken Fluores-

zenzintensität F zeigt ein lineares Verhalten mit positiver Steigung bei zunehmender Konzentration des Löschers Q . Bei der Stern-Volmer-Auftragung für das dynamische Löschen wird für die reziproke Fluoreszenzintensität sowie für die reziproke Fluoreszenzzerfallszeit jeweils eine Gerade mit identischer, positiver Steigung erhalten. Für das kombinierte Löschen ergibt sich für die reziproke Fluoreszenzzerfallszeit eine Gerade mit positiver Steigung bei zunehmender Löscherkonzentration. Die Fluoreszenzintensität hingegen weist einen nichtlinearen Anstieg mit einer Linkskrümmung auf.

Mit der Einzelphotonenzählung lässt sich ein Histogramm der unterschiedlichen Fluoreszenzzerfallszeit innerhalb einer Probe erstellen. Aus diesem Histogramm kann durch Anpassung mittels einer Zerfallsfunktion nach Gleichung 4.25 die Zerfallskonstante, welche in diesem Fall die Fluoreszenzabklingzeit ist, bestimmt werden.^{48,51,54–56}

$$A(t) = A \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (\text{Gleichung 4.25})$$

Läuft der exponentielle Zerfall der angeregten Zustände nicht monoexponentiell, sondern multiexponentiell ab, muss dementsprechend die Zerfallsfunktion angepasst werden. In so einem Fall lässt sich die Zerfallsfunktion nach Gleichung 4.26 formulieren:⁵⁴

$$A(t) = \sum A_i \cdot e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad (\text{Gleichung 4.26})$$

Dabei berechnet sich die mittlere Fluoreszenzzerfallszeit τ aus den jeweiligen Anfangswerten A_i und Zerfallszeiten τ_i nach Gleichung 4.27.^{54,57}

$$\tau = \frac{\sum A_i \tau_i^2}{\sum A_i \tau_i} \quad (\text{Gleichung 4.27})$$

5 Motivation

In der Biomedizin ist das fluoreszenzbasierte Bildgebungsverfahren bereits heute eine der leistungsfähigsten Methoden, um biologische Prozesse *in vivo* und *in vitro* zu visualisieren. Diese Methode kombiniert eine hohe Sensitivität und Auflösung in der räumlichen sowie in der zeitlichen Dimension.^{16,17} Bereits vor mehr als einem Jahrzehnt rückten Halbleiternanokristalle in den Fokus der medizinischen Forschung. Sie weisen gegenüber den konventionellen organischen Fluoreszenzfarbstoffen deutliche Vorteile auf:^{15,58,59}

- Ihre herausragende Photostabilität ermöglicht die Nutzung für moderne bildgebende Verfahren, auch über längere Zeitabschnitte, ohne dass es zu einem Ausbleichen kommt.
- Ihre engen Emissionsbanden erlauben simultane Detektion verschiedener Spezies.
- Hohe Extinktionskoeffizienten ermöglichen die Detektion einzelner Halbleiternanokristalle.
- Die breiten Absorptionsbanden der Halbleiternanokristallen bieten die Möglichkeit, unterschiedliche Systeme mit einer einzigen Anregungsquelle anzuregen.
- Die langen Fluoreszenzzerfallszeiten der Halbleiternanokristalle sind besonders interessant für dynamische Löschprozesse, wie sie zum Beispiel beim Förster-Resonanz-Energie-Transfer auftreten.

Die größte Herausforderung für dieses Anwendungsgebiet liegt in der Biokompatibilisierung. Die Halbleiternanokristalle müssen unter Erhalt ihrer besonderen optischen und elektronischen Eigenschaften kompatibel mit dem biologischen, also wässrigen, Milieu gemacht werden. Inzwischen gilt diese Problematik als gelöst. Eine Vielzahl an Verkapselungsmethoden beschreiben den erfolgreichen Transfer der Halbleiternanokristalle ins wässrige Milieu.^{18,21,44,60–63}

Neben der Visualisierung der biologischen Prozesse ist es zudem von Bedeutung chemische Parameter in Geweben oder Zellen durch nicht-invasive Methoden auszulesen. Erste Möglichkeiten zur Detektion des pH-Wertes in Zellen oder Geweben sind durch die Verwendung von organischen Fluoreszenzfarbstoffen ermöglicht worden. Diese verändern je nach umgebenden pH-Wert ihre Fluoreszenzeigenschaften.^{64–68} Auch gab es bereits erste

Ansätze zum Einsatz von Halbleiternanokristallen, um pH-Werte zu detektieren.^{69,70} Ferner wurde auch von FRET-Sonden auf Basis von Halbleiternanokristallen berichtet, bei denen Fluoreszenzfarbstoffe mit in die Ligandenhülle eingebracht wurden.^{71–75} Diese Fluoreszenzfarbstoffe sollen durch die Emission der Nanokristalle angeregt werden und folglich fluoreszierendes Verhalten zeigen. Die Problematik bei dieser Methode ist die Anregung dieser Konstrukte. Es muss darauf geachtet werden, dass durch die Anregungsquelle nicht direkt der Fluoreszenzfarbstoff, sondern ausschließlich der Nanokristall angeregt wird. Dieses Problem kann durch ein Konzept umgangen werden, welches nicht darauf abzielt Fluoreszenzfarbstoffe zu verwenden. In dieser Arbeit wird ein neues Konzept vorgestellt, welches darauf aufbaut pH-Indikatorfarbstoffe als FRET-Akzeptoren einzusetzen. Diese Indikatorfarbstoffe, die in der Lage sind, abhängig vom umgebenden pH-Wert, die Emission der Halbleiternanokristalle reversibel und dynamisch zu löschen, weisen selbst keine Fluoreszenz auf.

Um auf lange Sicht eine Etablierung der Halbleiternanokristall-basierten FRET-Sensoren in der Diagnostik zu erreichen, müssen bestimmte Kriterien erfüllt werden: Es werden speziell für den FRET-Mechanismus optimierte Halbleiternanokristalle mit hoher Fluoreszenzintensität und -zerfallszeit benötigt. Ferner muss eine erfolgreiche, gezielte und reproduzierbare Methode zur Bio-Verkapselung mit gezielter Verknüpfung der pH-Indikatormoleküle als FRET-Akzeptor gewährleistet werden. Weiterhin müssen die erzeugten Konstrukte eine wohldefinierte Geometrie aufweisen. Die wichtigste Grundvoraussetzung ist es jedoch, geeignete FRET-Paare zu finden und diese in einer definierten Distanz zueinander zu positionieren.

Zusätzlich gilt es einige weitere Probleme zu berücksichtigen und auszumerzen: So können Protonen beispielsweise nicht nur den gewünschten Effekt eines Farbumschlags des pH-Indikators verursachen und damit das Fluoreszenzverhalten des Konstruktes verändern, sondern sie können ebenfalls direkt in Wechselwirkungen mit der Nanokristalloberfläche treten. In so einem Fall würden zusätzliche Lösprozesse auftreten, welche nicht auf den Energietransfer vom Donor auf den Akzeptor zurückzuführen sind.

Ziel dieser Arbeit ist ein Methodentransfer des bereits etablierten Verfahrens zur Mizellen Verkapselung von Halbleiternanokristallen für eine potentielle Anwendung in der Biochemie und Biomedizin. Hauptaugenmerk liegt dabei zum einen auf einer gezielten Steu-

erung der Verkapselung. Durch die gezielte Variation verschiedener Parameter soll es ermöglicht werden, Nanokristalle nahezu einzeln oder auch als Ensembles in Polymermizellen einzubetten. Zum anderen kann darauf aufbauend durch eine anschließende Mini-Emulsionspolymerisation eine gezielte Einstellung der Größe dieser Nanokristallkonstrukte durch eine Polystyrolschale erfolgen. Durch unterschiedlich starke Vernetzungsgrade innerhalb der Polymerschale kann zudem die Abschirmung der Nanokristalle vom umgebendem Medium erreicht werden. Als Abschluss können die so erzeugten Nanokristall-Polymerhybride an der Oberfläche durch einen farbig umschlagenden pH-Indikator versehen werden. Dieser kovalent an der Oberfläche fixierte Indikator ermöglicht es durch den Förster-Resonanz-Energie-Transfer pH-abhängig die Emission der Nanokristalle dynamisch und reversibel zu löschen. Geeignete pH-Indikatoren sollten im Idealfall einen Umschlagspunkt im physiologischem Milieu aufweisen. Weiterhin muss die Absorption jener Indikatormoleküle in einer Form mit der Partikel-Emission überlappen. In allen anderen Formen sollte hingegen der Überlapp möglichst gering sein, damit ein Löschen der Emission ausschließlich nur in einem definierten pH-Bereich stattfindet.

Um alle diese Voraussetzungen zu erfüllen, werden einige pH-Indikatoren totalsynthetisch hergestellt. Andere pH-Indikatoren werden wiederum ausgehend von bekannten Indikatoren maßgeschneidert funktionalisiert, sodass eine polymerisierbare Gruppe eingeführt wird. Durch diese polymerisierbare Gruppe wird es möglich sein, die Indikatoren gezielt und irreversibel an die Konstrukte zu koppeln. Weiterhin muss der Indikator unmittelbaren Kontakt zum äußerem Medium haben, da nur so eine Detektion des umgebenden pH-Wertes möglich ist. Im Anschluss an die erfolgreiche Darstellung solcher pH-sensitiven, reversiblen Fluoreszenzsonden wird durch eine umfassende Analytik das hohe Potential solcher Konstrukte unter Beweis gestellt werden.

6 Ergebnisse und Diskussion

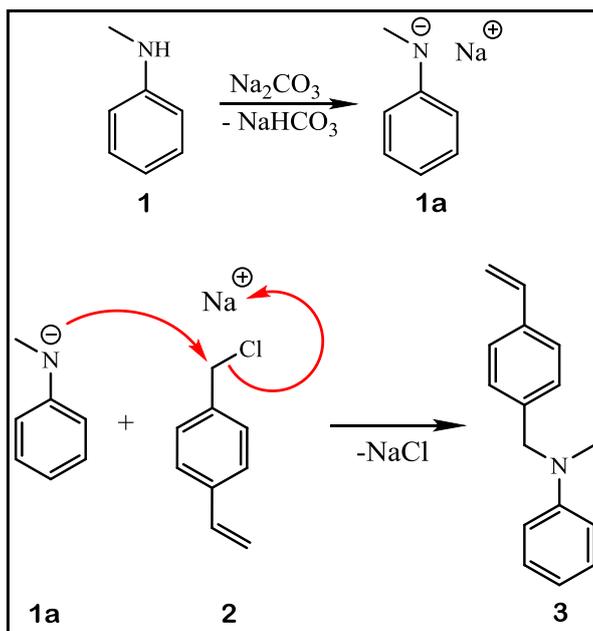
Im folgenden Abschnitt findet zunächst eine Diskussion des vollständigen Synthesewegs der pH-sensitiven FRET-Sensoren, beginnend mit der Darstellung der modifizierten pH-Indikatorfarbstoffe, statt. Anschließend erfolgt die nähere Betrachtung der Optimierung des Phasentransfers zur Darstellung wasserlöslicher pH-Sensoren. Abschließend werden die optischen Eigenschaften, sowohl der pH-Indikatorfarbstoffe als auch die der dargestellten pH-Sensoren beschrieben und diskutiert.

6.1 Darstellung polymerisierbarer pH-Indikatoren

In den nachfolgenden Abschnitten werden die Mechanismen der nach Abschnitt 8.4 dargestellten polymerisierbaren pH-Indikatoren erläutert. Weiterhin werden die optischen Eigenschaften der so hergestellten Indikatoren untersucht.

6.1.1 Methylderivat Iod-MR-Sty: Mechanismus und Charakterisierung

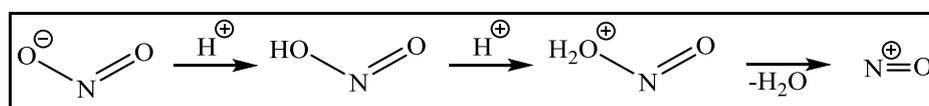
Die Darstellung des Methylderivates **5** erfolgt über die Zwischenstufe **3**. Die Zwischenstufe **3** wird nach Reaktionsschema 6.1 dargestellt.



Reaktionsschema 6.1: Nucleophile Substitutionsreaktion zur Bildung von *N*-Methyl-*N*-(4-vinylbenzyl)anilin.

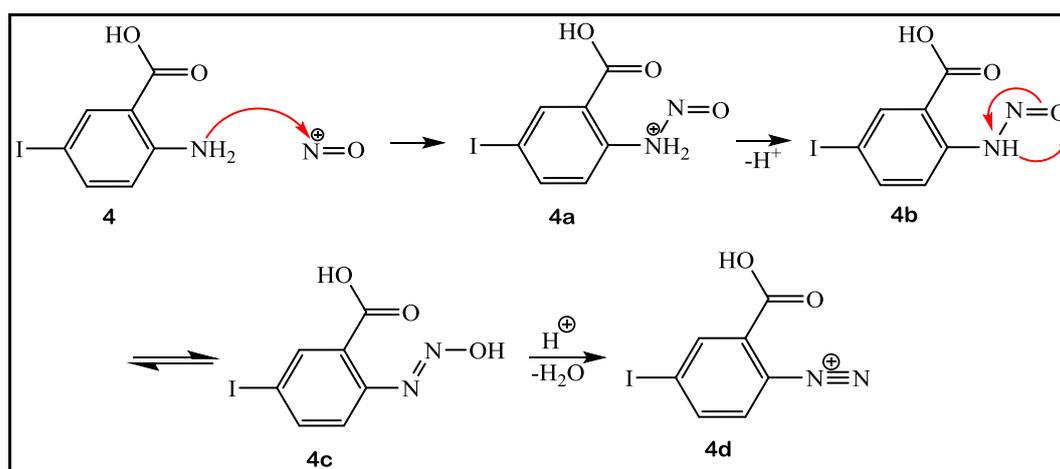
Zunächst wird das *N*-Methylanilin **1** mittels der Hilfsbase Natriumcarbonat am Stickstoffatom deprotoniert. Der so erhaltenen konjugierten Base **1a** ist es möglich, nucleophil am positiv polarisierten Benzylkohlenstoff des *p*-Vinylbenzylchlorids **2** anzugreifen. Bei dieser Substitutionsreaktion tritt das Chlorid-Ion aus dem Molekül aus. Es bildet sich das Produkt *N*-Methyl-*N*-(4-vinylbenzyl)anilin **3**.

In einer anschließenden Azokupplung wird *N*-Methyl-*N*-(4-vinylbenzyl)anilin **3** mit 5-Iod-Anthranilsäure **4** umgesetzt. Dazu wird zunächst im sauren Milieu unter Verwendung von Natriumnitrit das Diazoniumsalz der 5-Iod-Anthranilsäure **4d** gebildet. Anfänglich bildet Natriumnitrit in Anwesenheit von Säure das Nitrosylkation (NO⁺) nach Reaktionsschema 6.2.



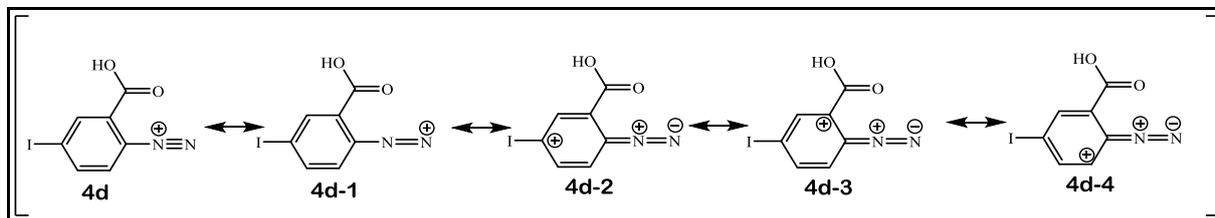
Reaktionsschema 6.2: Bildung von Nitrosylkationen aus Natriumnitrit im sauren Milieu.

Im folgenden Reaktionsschritt greift das freie Elektronenpaar des Stickstoffs der 5-Iod-Anthranilsäure nucleophil den Nitrosyl-Stickstoff an. Es bildet sich das ionische Zwischenprodukt **4a**. Unter Abspaltung eines Protons wird das Molekül **4b** gebildet. Im Anschluss wird über eine Protonierung die Zwischenstufe **4c** und letztendlich das Diazoniumsalz **4d** unter Wasserabspaltung erhalten. Der Mechanismus zur Bildung des Diazoniumsalzes **4d** ist in Reaktionsschema 6.3 dargestellt.



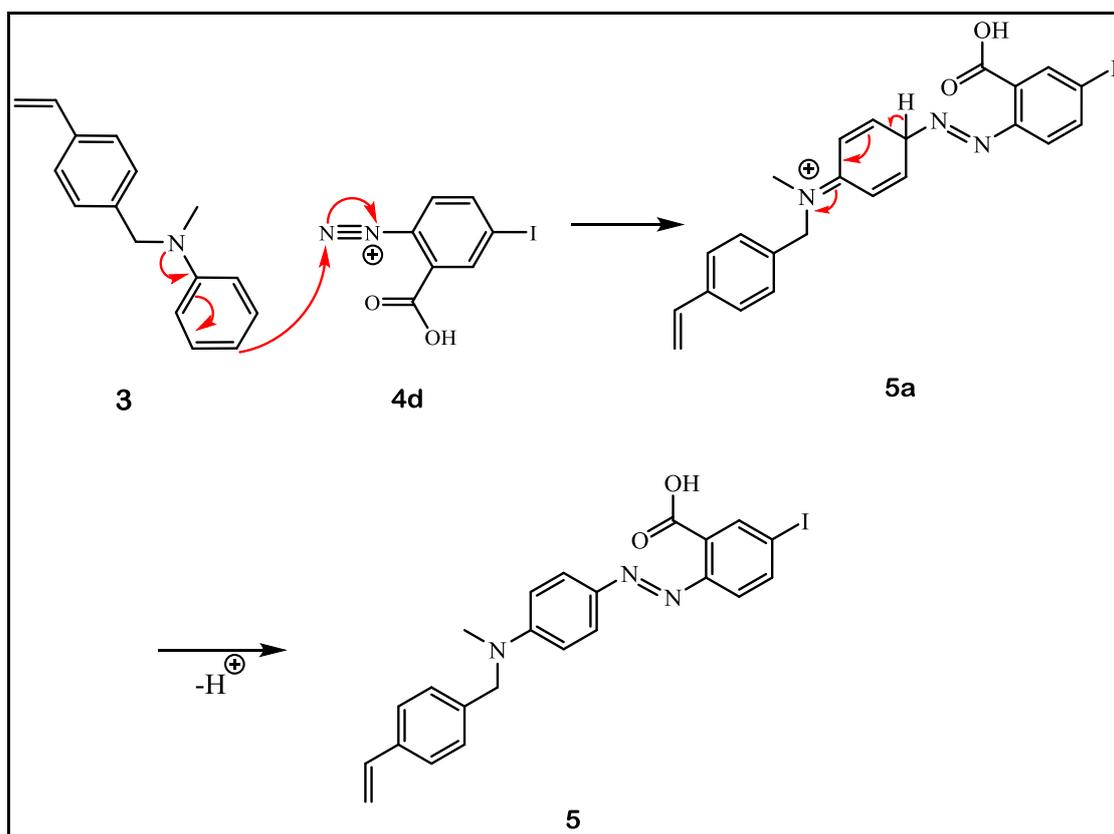
Reaktionsschema 6.3: Bildung des Diazoniumsalzes der 5-Iod-Anthranilsäure.

Das Diazoniumsalz **4d** ist aufgrund der Mesomeriestabilisierung energetisch besonders günstig. Die mesomeren Grenzstrukturen **4d** bis **4d-4** sind in Reaktionsschema 6.4 dargestellt.



Reaktionsschema 6.4: Mesomere Grenzstrukturen des Diazoniumsalzes der 5-Jod-Anthranilsäure.

Das zuvor hergestellte Anilinderivat **3** kann mit dem erhaltenen Diazoniumsalz **4d** in einer Azokupplung, deren Mechanismus nach Reaktionsschema 6.5 abläuft, zu dem Methylrotderivat Iod-MR-Sty **5** umgesetzt werden.



Reaktionsschema 6.5: Mechanismus der Azokupplung zur Bildung des Methylrotderivates Iod-MR-Sty.

Bei dieser elektrophilen aromatischen Substitutionsreaktion reagiert das Anilinderivat **3** als aktivierter Aromat, welcher aus der *para*-Stellung das Diazoniumsalz angreift. Dabei

bildet sich das Zwischenprodukt **5a**, welches unter Umlagerung und Abspaltung eines Protons das Methylrotderivat Iod-MR-Sty **5** bildet.

Bei dem so erhaltenen Methylrotderivat handelt es sich um einen pH-Indikator. Je nach umgebenen pH-Wert ändert sich entweder durch Protonierung oder Deprotonierung der Azogruppe das Absorptionsverhalten des Farbstoffs. Die Absorptionsspektren bei unterschiedlichen pH-Werten sind in Abbildung 6.1 dargestellt.

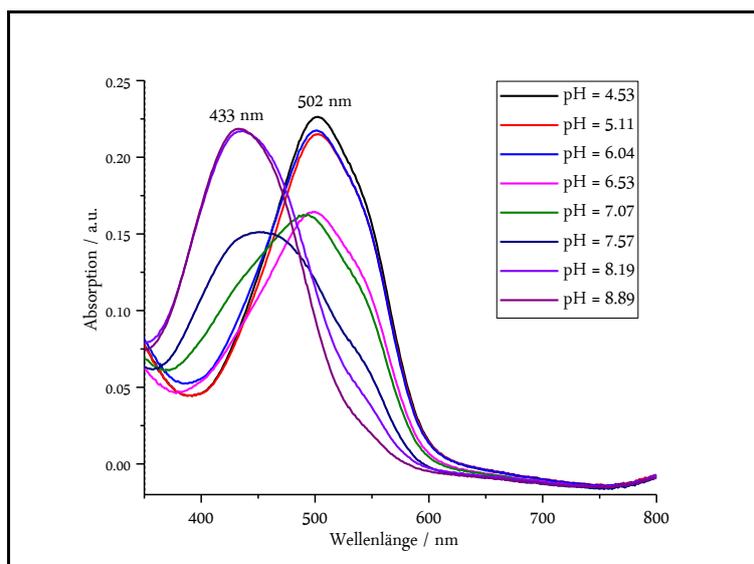


Abbildung 6.1: Absorptionsspektren des Methylrotderivats Iod-MR-Sty bei unterschiedlichen pH-Werten.

Deutlich zu erkennen ist die Bande bei 433 nm, welche bei hohen pH-Werten besonders ausgeprägt ist. Neben dieser Bande existiert eine weitere Bande bei 502 nm, die lediglich im sauren Milieu besonders markant ist. Weiterhin ist bei dieser Bande die im Vergleich zum nativen Methylrot⁷⁶ verbreiterte Schulter auffällig, welche gezielt durch die Iod-substituierte Anthranilsäure erzeugt wird.⁷⁷ Die verbreiterte Absorptionsbande soll einen höheren spektralen Überlapp mit dem Emissionsspektrum der Halbleiternanokristalle gewährleisten, um die FRET-Effizienz zu erhöhen.²³

Zur Bestimmung des Umschlagpunkts erfolgt in Abbildung 6.2 eine Auftragung der optischen Dichte OD der verbreiterten Schulter bei einer Wellenlänge von 543 nm gegen den jeweiligen pH-Wert. Mit Hilfe einer sigmoidalen Boltzmann-Anpassung kann der Umschlagpunkt des hergestellten pH-Indikators bestimmt werden. Dieser entspricht dem

Wendepunkt der Boltzmann-Anpassung und lässt sich anhand des Extrempunkts der ersten Ableitung bestimmen. Für das Methylrotderivat Iod-MR-Sty ergibt sich der Umschlagspunkt bei einem pH-Wert von 7.13.

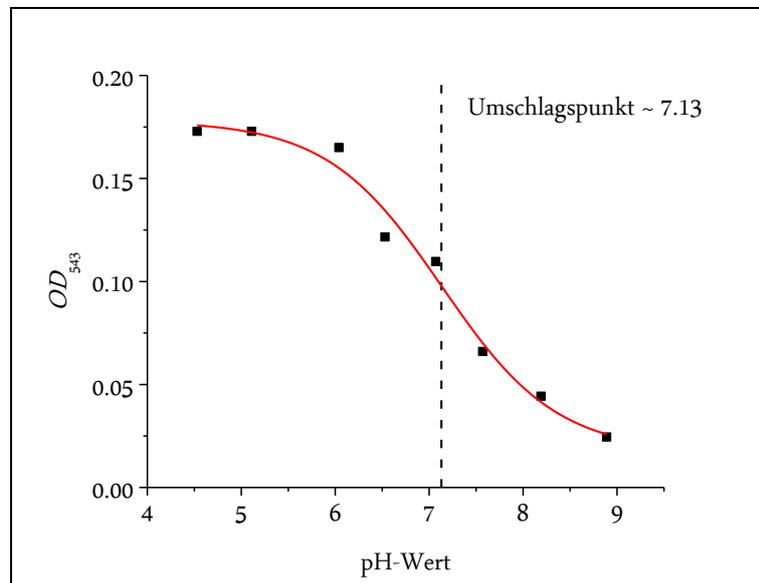
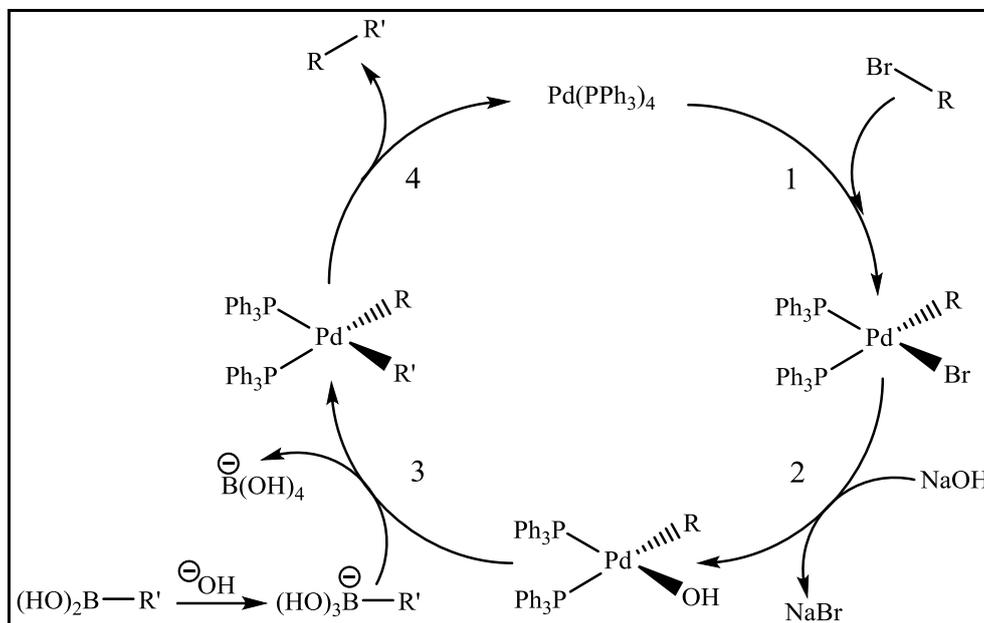


Abbildung 6.2: Auftragung der optischen Dichte OD bei 543 nm von Iod-MR-Sty in Abhängigkeit des pH-Werts, einschließlich der Boltzmann-Anpassung zur Bestimmung des Umschlagspunktes.

6.1.2 Bromthymolblauerivat Sty-BTB: Mechanismus und Charakterisierung

Die Darstellung des Bromthymolblauerivates Sty-BTB erfolgt in einer Palladium-katalysierten Suzuki-Kreuzkupplungsreaktion nach Reaktionsschema 6.6.



Reaktionsschema 6.6: Katalysezyklus der Suzuki-Kreuzkupplungsreaktion.

Diese Kreuzkupplungsreaktion läuft ausschließlich zwischen Arylhalogeniden und Arylboronsäuren ab.^{78,79} Als Katalysator wird Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) verwendet. Ausgehend von der Palladium(0)-Spezies beginnt der Katalysezyklus mit einer oxidativen Addition des Arylhalogenids an den Katalysator (1). Das Palladium wird dabei zu einem Palladium(II)-Komplex oxidiert. Im Anschluss wird durch eine Base ein Hydroxid-Ion auf den Katalysator unter Abspaltung des Bromids übertragen (2). Im nächsten Schritt findet eine Übertragung des organischen Rests R' der Boronsäure auf den Katalysator statt. Dabei wird die Hydroxygruppe des Katalysators wieder abgespalten (3). Zum Abschluss erfolgt eine reduktive Eliminierung. Der Katalysator wird regeneriert und es wird eine C-C-Einfachbindung zwischen den organischen Resten R und R' geknüpft (4).^{78,79}

Für die Darstellung des Bromthymolblauerivats Sty-BTB wurden als Edukte Bromthymolblau und 4-Vinylphenylboronsäure verwendet. Daraus definieren sich die organischen Reste R und R' nach Abbildung 6.3

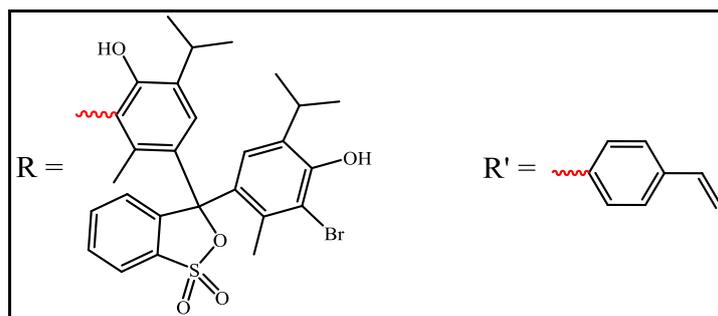


Abbildung 6.3: Definition der organischen Reste R und R' in der Suzuki-Kupplung für die Darstellung von Sty-BTB.

Bei dem so erhaltenen Bromthymolblauerivat handelt es sich ebenfalls um einen pH-Indikator, welcher je nach umgegebenen pH-Wert, bedingt durch das Öffnen des Sul-ton-rings im Basischen beziehungsweise das Schließen im Säuren⁸⁰ unterschiedliches Absorp-tionsverhalten aufweist. Die Absorptionsspektren bei unterschiedlichen pH-Werten sind in Abbildung 6.4 dargestellt. Deutlich zu erkennen ist die Bande bei 432 nm, die überwie-gend bei niedrigen pH-Werten auftritt. Neben dieser Bande existiert eine weitere intensive Bande bei 612 nm, welche lediglich im basischen Milieu auftritt.

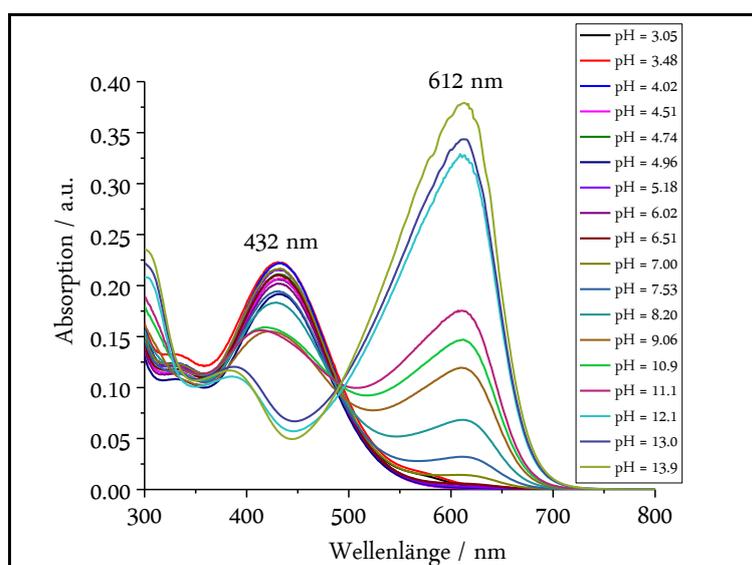


Abbildung 6.4: Absorptionsspektren des Bromthymolblauerivats Sty-BTB bei unterschiedlichen pH-Werten.

Auch bei diesem pH-Indikator wird in Abbildung 6.5 mittels einer Auftragung der opti-schen Dichte *OD* des Absorptionsmaximums bei 612 nm gegen die jeweiligen pH-Werte der Umschlagspunkt über eine Boltzmann-Anpassung bestimmt.

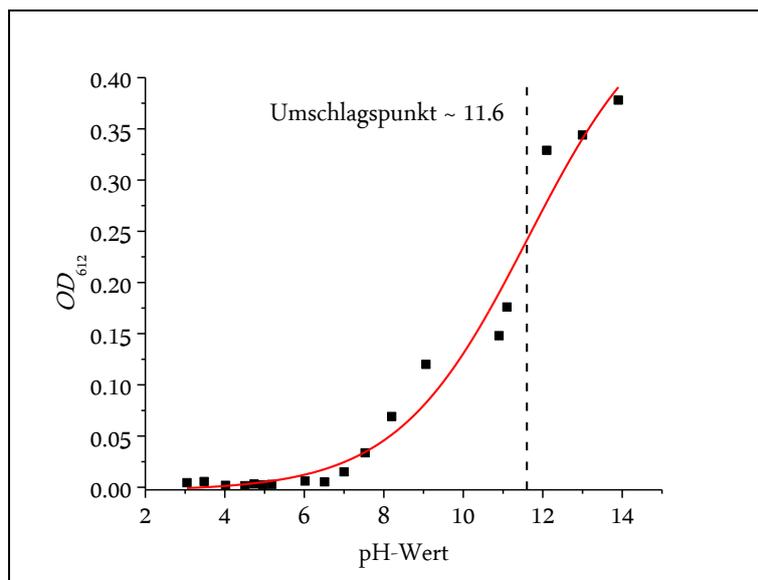


Abbildung 6.5: Auftragung der optischen Dichte OD von Sty-BTB bei 612 nm in Abhängigkeit des pH-Werts, einschließlich der Boltzmann-Anpassung zur Bestimmung des Umschlagspunktes.

Der pH-Umschlagspunkt für Sty-BTB liegt bei 11.6. Wie jedoch in den Abbildungen 6.4 und 6.5 zu erkennen ist, beginnt bereits ab einem pH-Wert von 6 – 7 die Ausbildung der Absorptionsbande bei 612 nm. Daher sind bereits ab diesen pH-Werten Einflüsse, welche auf einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer zurückzuführen sind, zu erwarten.

6.1.3 Bromkresolpurpurderivat Sty-BKP: Mechanismus und Charakterisierung

Die Darstellung des Bromkresolpurpurderivats Sty-BKP erfolgte analog zu dem in Abschnitt 6.1.2 beschriebenen Katalysezyklus. Die Reste R und R' definieren sich nach Abbildung 6.6.

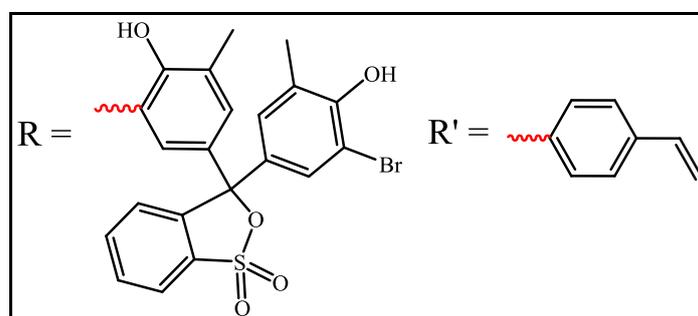


Abbildung 6.6: Definition der organischen Reste R und R' in der Suzuki-Kupplung für die Darstellung von Sty-BKP.

Das erhaltene Bromkresolpurpurderivat Sty-BKP verhält sich ähnlich pH-sensitiv wie das zuvor beschriebene Bromthymolblauerivat Sty-BTB. Die Absorptionsspektren bei unterschiedlichen pH-Werten sind in Abbildung 6.7 dargestellt.

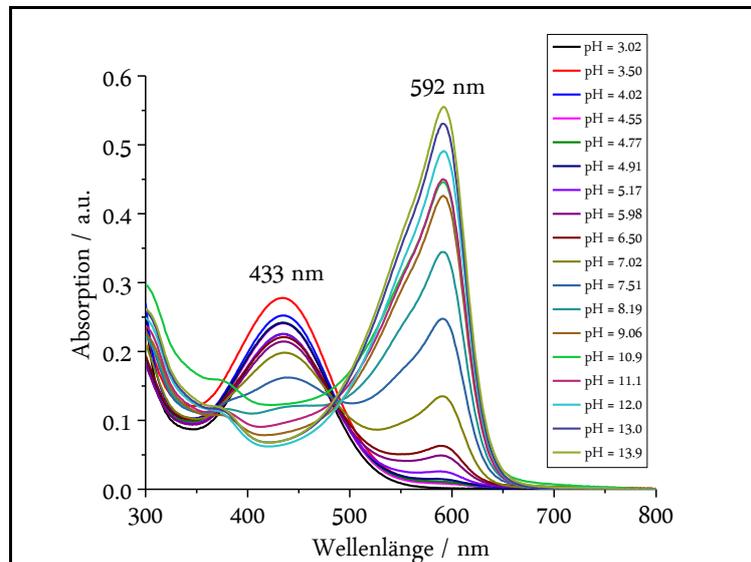


Abbildung 6.7: Absorptionsspektren des Bromkresolpurpurderivats Sty-BKP bei unterschiedlichen pH-Werten.

Deutlich zu erkennen ist die Bande bei 433 nm, welche bei niedrigen pH-Werten auftritt. Neben dieser Bande tritt eine weitere intensive Bande im basischen Milieu Bande bei 592 nm auf.

In Abbildung 6.8 wird durch Auftragung der optischen Dichte OD des Absorptionsmaximums bei 592 nm gegen die entsprechenden pH-Werte der Umschlagspunkt über eine Boltzmann-Anpassung ermittelt.

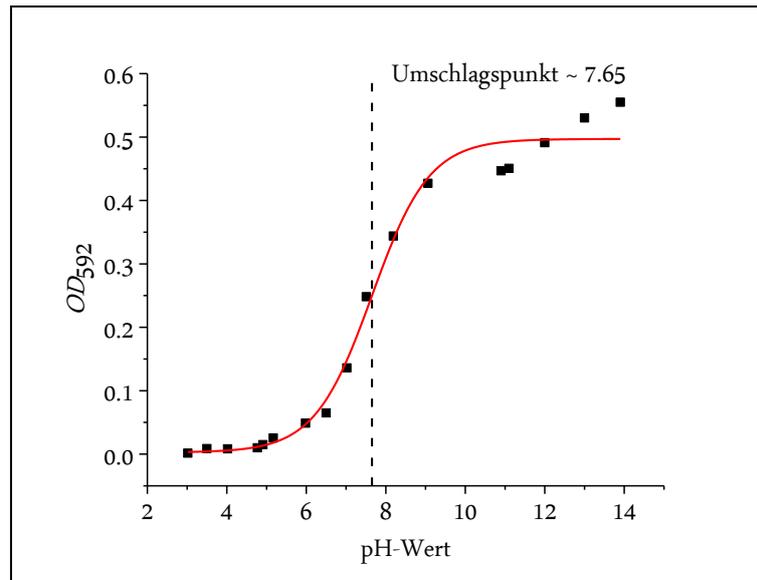


Abbildung 6.8: Auftragung der optischen Dichte OD von Sty-BKP bei 592 nm in Abhängigkeit des pH-Werts, einschließlich der Boltzmann-Anpassung zur Bestimmung des Umschlagspunktes.

Der pH-Umschlagspunkt für Sty-BKP liegt bei 7.65. Wie jedoch in den Abbildungen 6.7 und 6.8 zu erkennen ist, beginnt sich bereits ab einem pH-Wert von etwa 5 die Absorptionsbande bei 592 nm auszubilden. Daher sind bereits ab diesen pH-Werten Einflüsse aufgrund eines Förster-Resonanz-Energie-Transfers zu erwarten.

6.2 Auswahl geeigneter FRET-Paare

Um die pH-Indikatoren als FRET-Akzeptoren einsetzen zu können, ist es nötig kompatible FRET-Donoren zu finden, welche im Idealfall einen spektralen Überlapp mit ausschließlich einer der beiden Absorptionsbanden der jeweiligen Indikatorfarbstoffe aufweisen. Dazu wird das Ausmaß des Überlapps durch Übereinanderlegen der normierten Donor-Emission und Akzeptor-Absorption bestimmt. Ferner lässt sich über Gleichung 4.17 das Überlappungsintegral J sowie über Gleichung 4.18 der Förster-Radius R_0 für das jeweilige FRET-Paar bestimmen. Für die dargestellten Indikatorfarbstoffe wurden insgesamt zwei Chargen an Partikeln verwendet:

- SAR-0-340-5: Diese Charge beinhaltet grüne Partikel mit einem Emissionsmaximum bei 543 nm und einer Quantenausbeute von >70%. Die grünen Partikel haben eine Größe von rund 3.5 nm x 8.8 nm. Es handelt sich somit um stäbchenförmige

QuantumDots-in-QuantumRods mit einem Länge-zu-Breite-Verhältnis von etwa 2.5.

- SAR-0-351-1: Hierbei handelt es sich um rote Partikel mit einem Emissionsmaximum bei 624 nm und einer Quantenausbeute von zirka 85%. Die roten Partikel weisen eine Größe von etwa 4.1 nm x 19.7 nm auf. Auch hierbei handelt es sich um stäbchenförmige *QuantumDots-in-QuantumRods*. Das Länge-zu-Breite-Verhältnis beträgt etwa 4.8.

Zunächst wird von den oben genannten Partikelchargen die Fluoreszenzzerfallszeit der nativen Partikel in organischer Lösung bestimmt, um diese später mit den Fluoreszenzzerfallszeiten der pH-Sensoren vergleichen zu können. Dabei wird mittels Einzelphotonenzählung eine Zerfallskurve der angeregten Zustände detektiert. Die Fluoreszenzzeit-histogramme für die Bestimmung der Fluoreszenzzerfallszeiten der nativen Partikel sind in Abbildung 6.9 dargestellt.

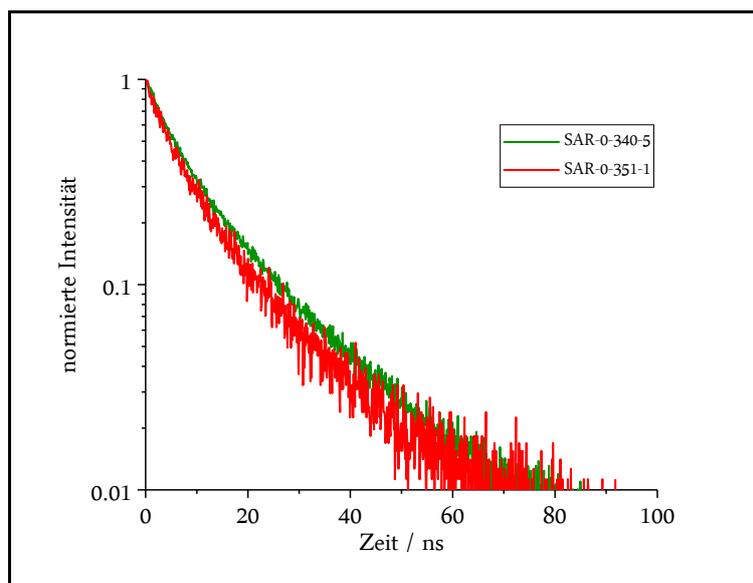


Abbildung 6.9: Fluoreszenzzeit-histogramme der nativen Partikel zur Bestimmung der Fluoreszenzzerfallszeiten.

Da aus der logarithmischen Auftragung aus Abbildung 6.9 ersichtlich wird, dass kein monoexponentieller Abfall der Zerfallsfunktion erfolgt, wird für die Bestimmung der Fluoreszenzzerfallszeiten eine biexponentielle Anpassung der Kurven vorgenommen, welche durch Gleichung 6.1 beschrieben werden kann.⁵⁷

$$A(t) = A_1 \cdot e^{-\frac{x}{\tau_1}} + A_2 \cdot e^{-\frac{x}{\tau_2}} \quad (\text{Gleichung 6.1})$$

Dabei berechnet sich die Fluoreszenzzerfallszeit τ aus den jeweiligen Anfangswerten A_i und Zerfallszeiten τ_i nach Gleichung 6.2.⁵⁷

$$\tau = \frac{\sum A_i \tau_i^2}{\sum A_i \tau_i} = \frac{A_1 \tau_1^2 + A_2 \tau_2^2}{A_1 \tau_1 + A_2 \tau_2} \quad (\text{Gleichung 6.2})$$

Für die Partikelcharge SAR-0-340-5 (grün) ergibt sich eine Fluoreszenzzerfallszeit von 13.7 ns. Für die Charge SAR-0-351-1 (rot) beträgt die Fluoreszenzzerfallszeit 12.1 ns.

6.2.1 FRET-System für Iod-MR-Sty

Für den pH-Indikator Iod-MR-Sty eignen sich die grünen Halbleiternanokristalle (Charge SAR-0-340-5) mit einem Emissionsmaximum bei 543 nm aufgrund des hohen Überlappungsintegrals zwischen ihrer Emissionsbande und der Absorptionsbande der sauren Form des pH-Indikatorfarbstoffs. In Abbildung 6.10 erfolgt eine Überlagerung der Absorptionsspektren des pH-Indikators Iod-MR-Sty (jeweils einmal in der sauren und einmal in der basischen Form) mit dem Emissionsspektrum der Halbleiternanokristalle.

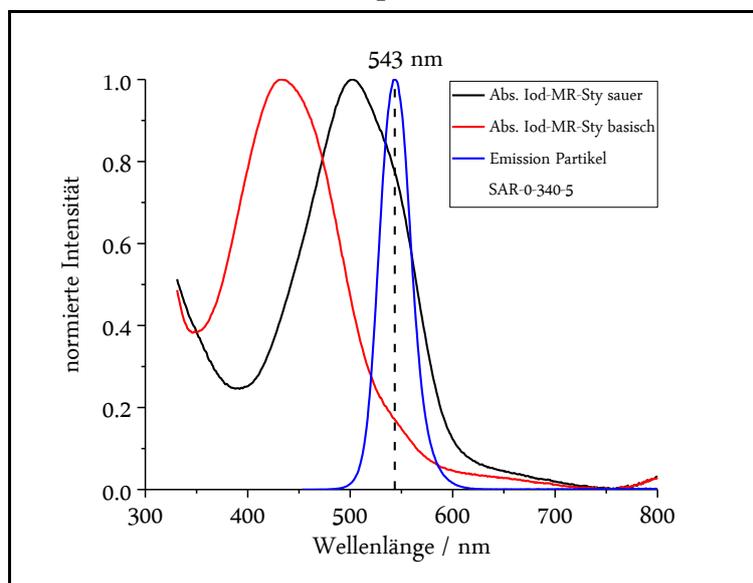


Abbildung 6.10: Überlagerung der Absorptionsspektren des pH-Indikators in saurer (schwarz) und basischer (rot) Form mit der Emission der Halbleiternanokristalle (blau) der Charge SAR-0-340-5 zur Bestimmung des Überlappungsintegrals J .

Deutlich zu erkennen ist der hohe Überlapp zwischen der Partikel-Emission bei 543 nm und der sauren Form des pH-Indikators sowie der geringe Überlapp mit der basischen Form. Folglich ist bei diesem System ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer im sauren

Milieu möglich. Wie bereits diskutiert, führt die Einbringung des Iod-Substituenten in den Indikator zu einer Verbreiterung der Absorptionsbande der sauren Form zu höheren Wellenlängen. Diese Verbreiterung führt zu einem größeren spektralen Überlapp zwischen Farbstoff-Absorption und Partikel-Emission (vgl. Abbildung 6.10).

In Abbildung 6.9 wird zudem die Bedeutung für den spektralen Überlapp der zuvor bereits diskutierten Verbreiterung der Absorptionsbande der sauren Form, bedingt durch den Iod-Substituenten, zu höheren Wellenlängen deutlich. Da jedoch ein gewisser Überlapp der Partikel-Emission mit der Absorption des Indikators im basischen Milieu vorhanden ist, ist auch hier ein Energieübertrag möglich, allerdings in abgeschwächter Form. Das Überlappungsintegral J berechnet sich nach Gleichung 6.3.

$$J = \int_{475}^{625} F_D(\lambda) \epsilon(\lambda) \lambda^4 d\lambda = 2.62 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \quad (\text{Gleichung 6.3})$$

Der Wert des Überlappungsintegrals beträgt $2.62 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$. Der Försterradius des Systems berechnet sich nach Gleichung 6.4.

$$R_0 = \left[\frac{9.000 \cdot \ln(10) \cdot \frac{2}{3} \cdot 0.6}{128 \pi^5 \cdot N_A \cdot 1.59^4} \cdot 2.62 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right]^{\frac{1}{6}} = 4.9 \text{ nm} \quad (\text{Gleichung 6.4})$$

Der Försterradius dieses FRET-Paares beträgt somit 4.9 nm.

6.2.2 FRET-System für Sty-BTB

Für den pH-Indikator Sty-BTB sind die roten Halbleiternanokristalle (SAR-0-351-1) mit einem Emissionsmaximum bei 624 nm geeignet. Die Emissionsbande der Partikel weist einen hohen spektralen Überlapp mit der basischen Absorptionsbande des Indikatorfarbstoffs auf. In Abbildung 6.11 erfolgt eine Überlagerung der Absorptionsspektren von Sty-BTB (jeweils einmal in der sauren und einmal in der basischen Form) mit dem Emissionsspektrum der Halbleiternanokristalle.

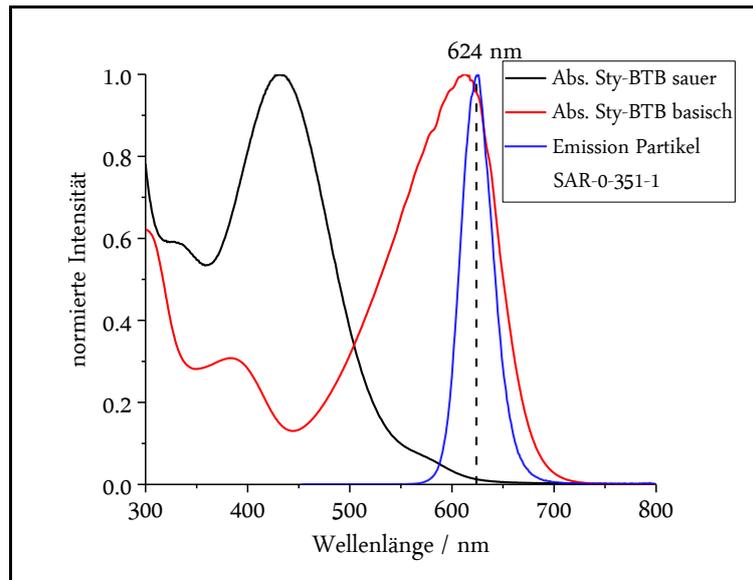


Abbildung 6.11: Überlagerung der Absorptionsspektren des pH-Indikators Sty-BTB in saurer (schwarz) und basischer (rot) Form mit der Emission der Halbleiternanokristalle (blau) der Charge SAR-0-351-1 zur Bestimmung des Überlappungsintegrals J .

Eindeutig zu erkennen ist der nahezu vollständige Überlapp zwischen der basischen Form des pH-Indikators mit der Partikel-Emission bei 624 nm sowie der äußerst geringe Überlapp der Absorptionsbande der sauren Form des Indikators mit der Donor-Emission. Folglich ist bei diesem System ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer im alkalischen Milieu möglich. Da jedoch ein minimaler Überlapp im sauren Milieu vorhanden ist, ist hier ebenfalls ein Energieübertrag möglich, der aber sehr viel schwächer als im Basischen ausfallen wird. Das Überlappungsintegral J berechnet sich nach Gleichung 6.5.

$$J = \int_{550}^{725} F_D(\lambda) \epsilon(\lambda) \lambda^4 d\lambda = 4.33 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \quad (\text{Gleichung 6.5})$$

Der Wert des Überlappungsintegrals beträgt $4.33 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$. Der Försterradius des Systems berechnet sich nach Gleichung 6.6.

$$R_0 = \left[\frac{9.000 \cdot \ln(10) \cdot \frac{2}{3} \cdot 0.6}{128 \pi^5 \cdot N_A \cdot 1.59^4} 4.33 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right]^{\frac{1}{6}} = 5.4 \text{ nm} \quad (\text{Gleichung 6.6})$$

Der Försterradius dieses FRET-Paares beträgt 5.4 nm.

6.2.3 FRET-System für Sty-BKP

Für den pH-Indikator Sty-BKP lassen sich ebenfalls die roten Halbleiternanokristalle (SAR-0-351-1) mit einem Emissionsmaximum bei 624 nm verwenden. Die Emissionsbande der Partikel weist auch hier einen spektralen Überlapp mit der basischen Absorptionsbande des Indikatorfarbstoffs auf, wie in nachfolgender Abbildung 6.12 ersichtlich ist.

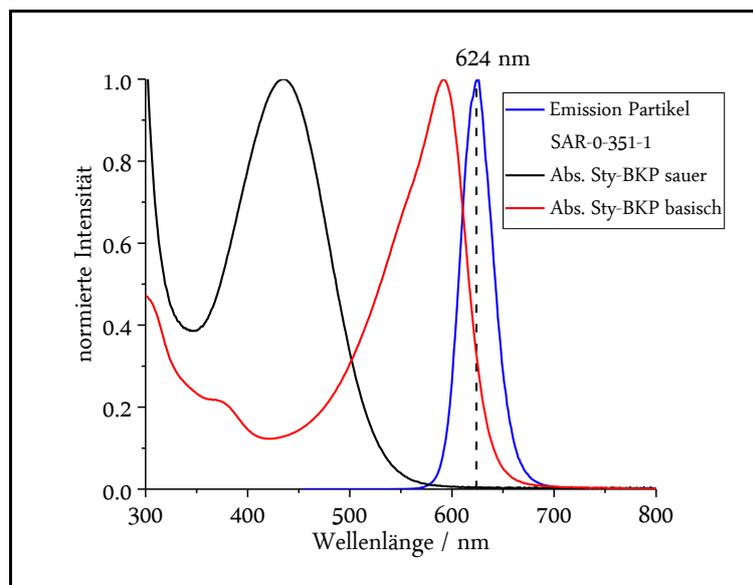


Abbildung 6.12: Überlagerung der Absorptionsspektren des pH-Indikators Sty-BKP in saurer (schwarz) und basischer (rot) Form mit der Emission der Halbleiternanokristalle der Charge SAR-0-351-1 zur Bestimmung des Überlappungsintegrals J .

Hier erfolgt eine Überlagerung der Absorptionsspektren von Sty-BKP (jeweils einmal in der sauren und einmal in der basischen Form) mit dem Emissionsspektrum der Halbleiternanokristalle.

Deutlich zu erkennen ist der Überlapp zwischen der Absorptionsbande der basischen Form des pH-Indikators mit der Partikel-Emission. Dieser fällt zwar deutlich geringer aus, als bei dem zuvor beschriebenen Indikator Sty-BTB. Sty-BKP hat aber den entscheidenden Vorteil, dass der spektrale Überlapp ausschließlich in der basischen Form gegeben ist und in der sauren Form vernachlässigbar gering ist. Daher wird der Energietransfer bei diesem System allein im alkalischen Milieu zu beobachten sein. Das Überlappungsintegral J berechnet sich nach Gleichung 6.7.

$$J = \int_{550}^{725} F_D(\lambda) \epsilon(\lambda) \lambda^4 d\lambda = 1.76 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \quad (\text{Gleichung 6.7})$$

Der Wert des Überlappungsintegrals beträgt $1.76 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$. Der Försterradius des Systems wird nach Gleichung 6.8.

$$R_0 = \left[\frac{9.000 \cdot \ln(10) \cdot \frac{2}{3} \cdot 0.6}{128 \pi^5 \cdot N_A \cdot 1.59^4} \cdot 1.76 \cdot 10^{15} \frac{\text{L} \cdot \text{nm}^4}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right]^{\frac{1}{6}} = 4.6 \text{ nm} \quad (\text{Gleichung 6.8})$$

Der Försterradius für dieses System beträgt folglich 4.6 nm.

6.3 Darstellung wasserlöslicher pH-Sensoren

Nachfolgend findet eine Auswertung und Diskussion des Prozesses zur Darstellung der wasserlöslichen pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen statt. Im Vordergrund stehen dabei die optischen Eigenschaften. Für die Herstellung der pH-Sensoren wird ein zweistufiger Syntheseprozess gewählt, sodass das Partikel zunächst von einer dichten Polystyrolschale mit einem hohen Grad an Vernetzung umgeben wird. Darauf folgt eine vergleichsweise dünne Schale aus unvernetztem Polystyrol, welches mit dem pH-Indikator copolymerisiert wird. Dadurch copolymerisieren die Indikatormoleküle ausschließlich an der Oberfläche der hydrophoben Polymerschale und bleiben somit zugänglich für Protonen, was obligatorisch für einen Farbumschlag ist. In Tabelle 6.1 sind die zuvor bestimmten Eigenschaften der einzelnen Donor-Akzeptor-Paare dargestellt.

Tabelle 6.1: Zusammengefasste Eigenschaften der polymerisierbaren pH-Indikatoren sowie Emissionsmaxima der gewählten Partikel-Chargen und die sich daraus ergebenden Försterradien.

Indikator	Absorptionsmaxima sauer / basisch	Umschlags- punkt	Emissionsma- xium Partikel	Försterradius R_0
Iod-MR-Sty	502 nm / 433 nm	pH = 7.13	543 nm	4.9 nm
Sty-BTB	432 nm / 612 nm	pH = 11.6 ¹⁾	624 nm	5.4 nm
Sty-BKP	433 nm / 592 nm	pH = 7.65	624 nm	4.6 nm

¹⁾ Der Umschlagspunkt von 11.6 für Sty-BTB ergibt sich aus der Boltzmann-Anpassung der gemessenen optischen Dichten bei den entsprechenden pH-Werten. Der relevante Überlapp entsteht aber bereits allmählich, wenn ein pH-Wert von zirka 7 überschritten wird (vgl. Abbildung 6.4).

Aus der Tabelle lässt sich entnehmen, dass der FRET-Radius für das Paar mit Sty-BKP am geringsten ist, dies ist auf den vergleichsweise geringen spektralen Überlapp zwischen Akzeptor- und Donorbande zurückzuführen. Aufgrund des geringeren spektralen Überlapps ist eine höhere räumliche Nähe erforderlich. Weiterhin weisen alle Indikatorfarbstoffe einen Umschlagpunkt, beziehungsweise im Fall des Sty-BTB eine beginnende und für einen FRET zur Verfügung stehende Absorption im physiologischen Milieu auf, was besonders für die angestrebte Anwendung von entscheidender Bedeutung ist.

Die Probenbezeichnungen setzen sich aus folgenden Kürzeln zusammen:

K:	Kontrollexperiment ohne Farbstoff
MR:	Probe mit dem pH-Indikator Iod-MR-Sty
BTB:	Probe mit dem pH-Indikator Sty-BTB
BKP:	Probe mit dem pH-Indikator Sty-BKP
G:	Probe auf Basis grüner Partikel (SAR-0-340-5)
R:	Probe auf Basis roter Partikel (SAR-0-351-1)
600/1200:	Überschuss des Emulgators PI- <i>b</i> -PEO

6.3.1 Mizellare Verkapselung und Emulsionspolymerisation: Optimierung

Zunächst werden die Prozesse der mizellaren Verkapselung und der Emulsionspolymerisation für die Darstellung pH-sensitiver Fluoreszenzsonden optimiert. Die Optimierung soll vor allem hinsichtlich der Größe, der Anzahl der in einer Mizelle verkapselten Partikel und der Abschirmung der Partikel vom wässrigen Medium erfolgen. Mittels der Kontrollexperimente K-R-600 und K-R-1200 (vgl. Tabelle 8.3) wird der Einfluss des Emulgatorüberschusses untersucht. In beiden Experimenten sind die roten Partikel der Charge SAR-0-351-1 in einem zweischaligen Prozess verkapselt worden. Die Verkapselung erfolgte mit etwa 600 Äquivalenten (K-R-600) und etwa 1200 Äquivalenten (K-R-1200) Emulgator pro Nanokristall. Es wurde ein Emulgator mit einer hohen Molmasse von 13.1 kDa gewählt, da hier die höchsten Stabilitäten zu erwarten sind.¹⁸ Für die anschließende Berechnung zur Dimensionierung der Emulsionspolymerisation wurde für den Emulgator PI-*b*-PEO eine Aggregationszahl von 100 angenommen.⁸¹ Die Aggregationszahl gibt die Anzahl an Tensidmolekülen an, die sich zu einer Mizelle zusammenlagern. Die ebenfalls in Tabelle 8.3 (Abschnitt 8.5) aufgeführten Monomermengen sind so gewählt, dass die bei der Polymerisation erzeugte Schalendicke etwa 7 nm beträgt. Diese Schalendicke soll eine ausreichende Abschirmung des Partikels vom äußeren Medium gewährleisten. Weiterhin soll aufgrund der Größe eine hohe Effizienz des Förster-Resonanz-Energie-Transfers durch eine räumliche Nähe beim Aufbringen eines FRET-Akzeptors auf die Oberfläche der Polymerhülle möglich sein. Um die Abschirmung zusätzlich zu verbessern, werden in der ersten Schale 10% des Monomers Styrol durch den Quervernetzer Divinylbenzol ersetzt. In Abbildung 6.13 finden sich TEM-Aufnahmen der mit 600 Äquivalenten (links) verkapselten und mit 1200 Äquivalenten (rechts) verkapselten Partikel. Der Einfluss des Polymerüberschusses ist hierbei deutlich erkennbar: Bei 600 Äquivalenten sind ausnahmslos mehrere Halbleiternanokristalle in einer Polymerhülle eingekapselt. Auch wird die hohe Varianz der Durchmesser bei dieser Probe ersichtlich. So liegen viele Konstrukte mit einem Durchmesser von rund 25 – 30 nm vor, zudem ist eine hohe Anzahl an Konstrukten mit einem Durchmesser von rund 100 nm in den Bildern zu erkennen. Die gesamte Probe wirkt bezüglich ihrer Größenverteilung eher polydispers. Bei der Probe mit rund 1200 Äquivalenten hingegen liegen die Partikel überwiegend einzeln verkapselt vor. Lediglich einige Polymerkapseln weisen mehrere Partikel auf. Die Größe der verkapselten Nanopartikel beträgt etwa 20 – 25 nm.

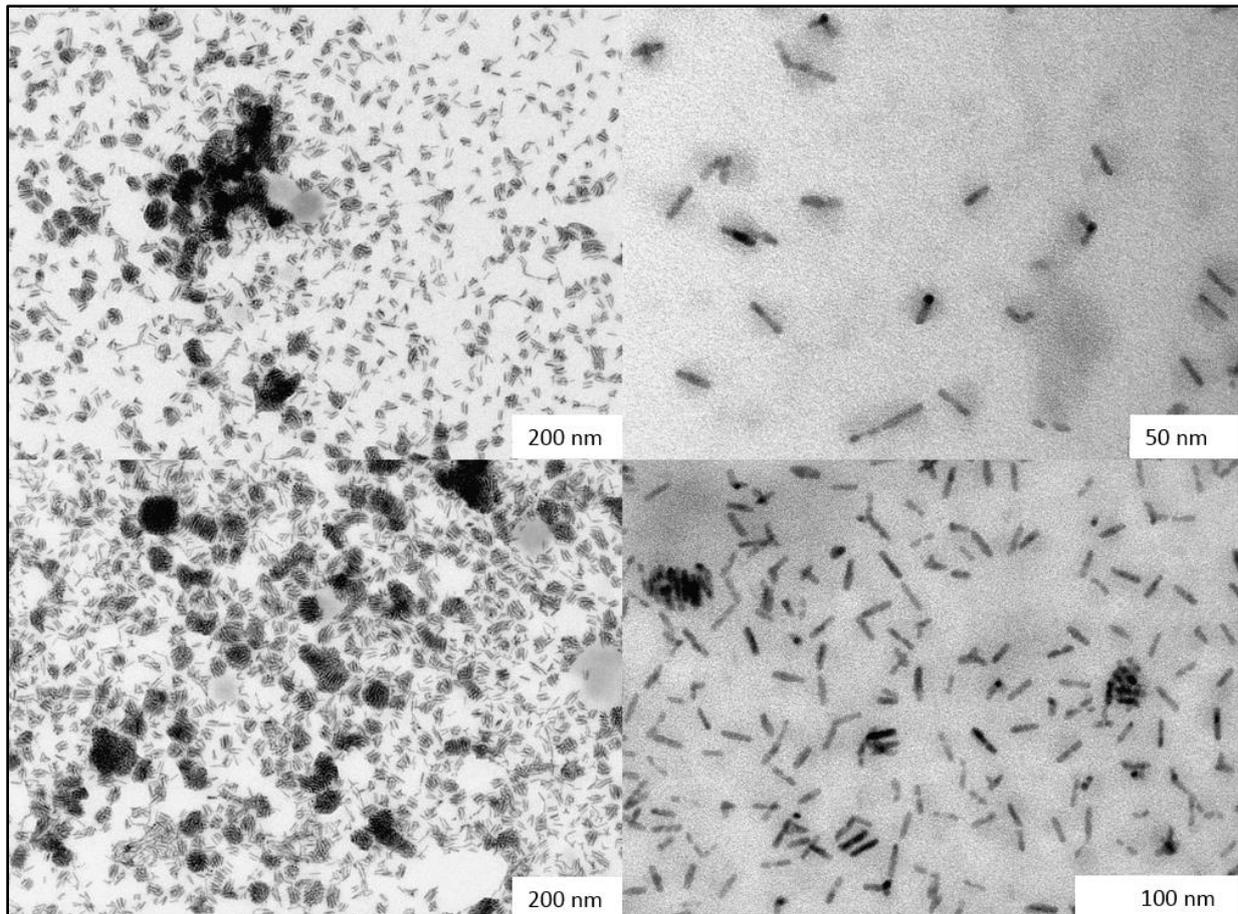


Abbildung 6.13: TEM-Aufnahmen der Polymer-verkapselten Nanokristalle: K-R-600 mit 600 eq. PI-*b*-PEO (links) und K-R-1200 mit 1200 eq. PI-*b*-PEO (rechts).

In Abbildung 6.14 sind die zu den Proben gehörenden Größenverteilungen aus der dynamischen Lichtstreuung aufgetragen. In diesen Verteilungen bestätigt sich, was bereits in den TEM-Bildern ersichtlich wurde:

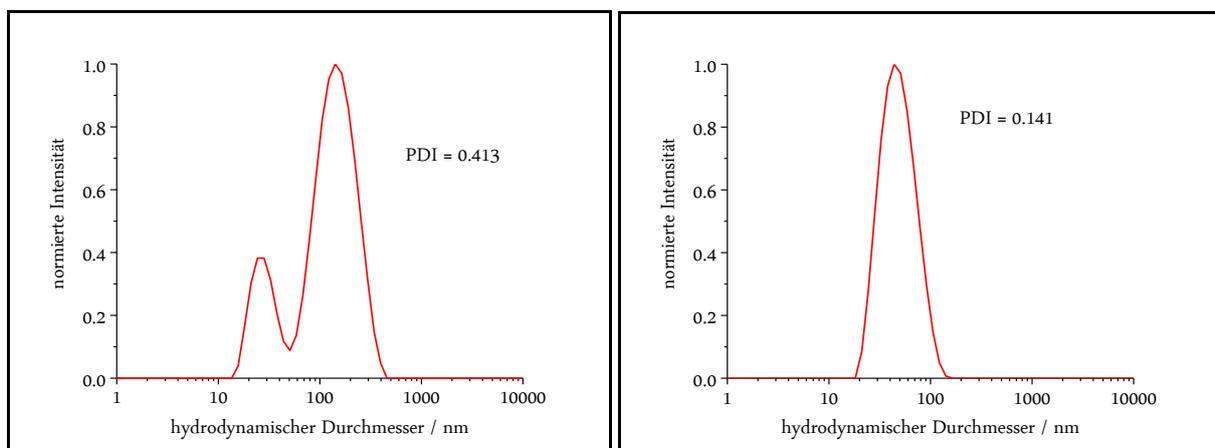


Abbildung 6.14: Intensitätsgewichtete Größenverteilungen der Polymer-verkapselten Nanokristalle aus der dynamischen Lichtstreuung. K-R-600 mit 600 eq. PI-*b*-PEO (links) und K-R-1200 mit 1200 eq. PI-*b*-PEO (rechts).

Die Probe mit lediglich 600 Äquivalenten Emulgator weist eine bimodale Verteilung mit einem Maximum bei etwa 25 nm und einem bei 130 nm auf. Folglich ist bei dieser Probe der Polydispersitätsindex mit etwa 0.4 sehr hoch. Bei der Probe mit 1200 Äquivalenten Emulgator weist die Größenverteilung nur ein Maximum bei etwa 43 nm auf. Dementsprechend ist der Polydispersitätsindex hier mit rund 0.14 eher niedrig und spricht damit für eine hohe Monodispersität. Da bei der dynamischen Lichtstreuung der hydrodynamische Radius bestimmt wird, ist dieser immer etwas größer als der Radius, welcher sich aus den TEM-Bildern bestimmen lässt. Bedingt durch die Proportionalität der Intensität mit der sechsten Potenz des Radius kommt es bei der dynamischen Lichtstreuung zusätzlich zu einer Verschiebung der Größenverteilung zu höheren Radien, da größere Teilchen einen stärkeren Einfluss haben als kleinere.⁸² Zudem sind die Abmessungen der Polymerhülle im TEM aufgrund des geringen Kontrastes nur schwierig zu erkennen. Eintrocknungseffekte der Konstrukte auf den TEM-Grids verfälschen die Abmessungen zusätzlich.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sowohl mit 600 als auch mit 1200 Äquivalenten des Emulgators ein erfolgreicher Phasentransfer der Partikel ins wässrige Milieu möglich ist. Allerdings werden beim Phasentransfer mit nur 600 Äquivalenten keine einheitlichen Konstrukte erhalten. Die Größenverteilung ist polydispers und die Anzahl der verkapselten Partikel pro Mizelle variiert stark. Bei der Verkapslung mit 1200 Äquivalenten ist es möglich, gezielt einzeln verkapselte Partikel mit einer engen Größenverteilung zu erhalten. Eine schmale Größenverteilung und eine hohe Reproduzierbarkeit sind Grundlage für die weiteren Experimente zur Darstellung von pH-sensitiven Konstrukten, daher wird in allen folgenden Experimenten ein Emulgatorüberschuss von 1200 Äquivalenten gewählt.

6.3.2 Kontrollexperimente ohne FRET-Akzeptoren

Um den Einfluss der modifizierten pH-Indikatoren auf die optischen Eigenschaften des wasserlöslichen Nanokristallsystems exakt zu beschreiben, werden zunächst Kontrollexperimente betrachtet, welche noch keinen FRET-Akzeptor tragen.

Kontrollexperiment K-G-1200 mit grünen Partikeln ohne FRET-Akzeptor

Zunächst wird das Kontrollexperiment ohne Akzeptorfarbstoff (K-G-1200) betrachtet, um später abzugrenzen, welche Eigenschaften auf den pH-Indikatorfarbstoff zurückzuführen sind. In Abbildung 6.15 ist eine TEM-Aufnahme der Probe K-G-1200 sowie die mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmte Größenverteilung dargestellt. In der TEM-Aufnahme sind deutlich die Polymer-verkapselten Nanokristalle zu erkennen. Es liegen sowohl einzeln verkapselte Partikel sowie verkapselte Ensembles vor.

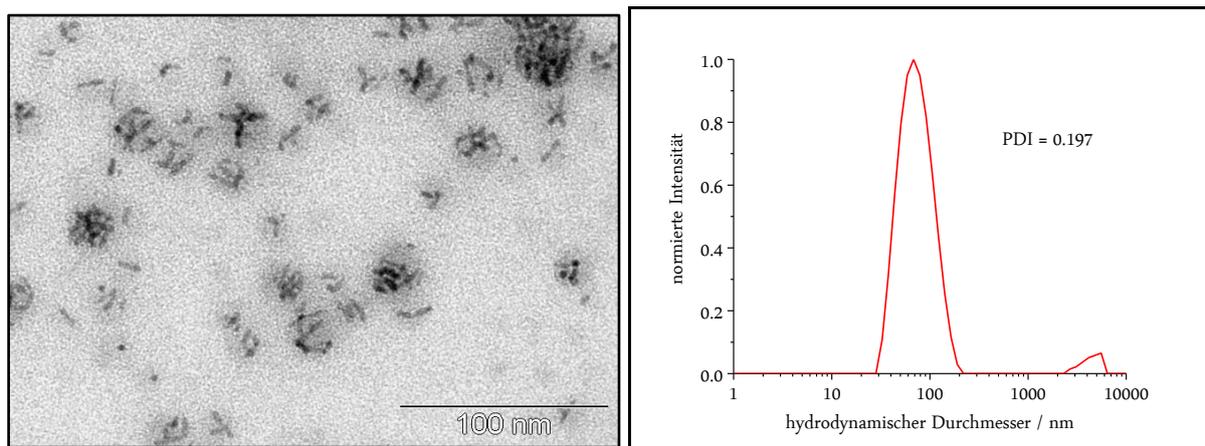


Abbildung 6.15: TEM-Aufnahme der Probe K-G-1200 (links) sowie die intensitätsgewichtete Größenverteilung der Probe K-G-1200 aus der dynamischen Lichtstreuung (rechts).

Die Größe der Konstrukte in der TEM-Aufnahme beträgt etwa 35 – 45 nm. Aus der mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmten Größenverteilung lässt sich ein Polydispersitätsindex von etwa 0,2 ableiten, was für die Einheitlichkeit der Konstrukte spricht. Das Maximum der intensitätsgewichteten Größenverteilung liegt bei etwa 65 nm. Der Unterschied im Vergleich zum TEM lässt sich auf die zuvor erläuterten Effekte zurückführen. Zusätzlich ist der hydrodynamische Radius in der DLS immer größer als der Radius ohne Hydrathülle. In Abbildung 6.16 sind die Absorptionsspektren des Kontrollperiments K-G-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten dargestellt.

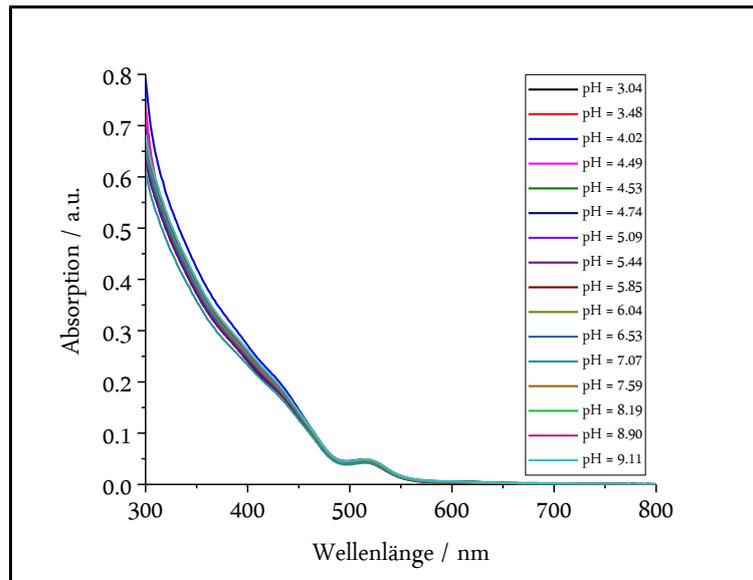


Abbildung 6.16: Absorptionsspektren des Kontroll-experiments K-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Gut zu erkennen sind die Absorptionsmaxima bei etwa 515 nm und 440 nm. Dabei handelt es sich um das erste beziehungsweise das zweite Absorptionsmaximum der in den Konstrukten enthaltenen Halbleiternanokristalle. Der pH-Wert hat keinen Einfluss auf das Absorptionsverhalten der Konstrukte. Die erzeugte Polystyrolhülle selbst nimmt ebenfalls keinen Einfluss auf die Lage der Maxima, es kommt jedoch zu einer leichten Streuung. Die zu den Absorptionsspektren gehörenden Emissionsspektren sind in Abbildung 6.17 dargestellt.

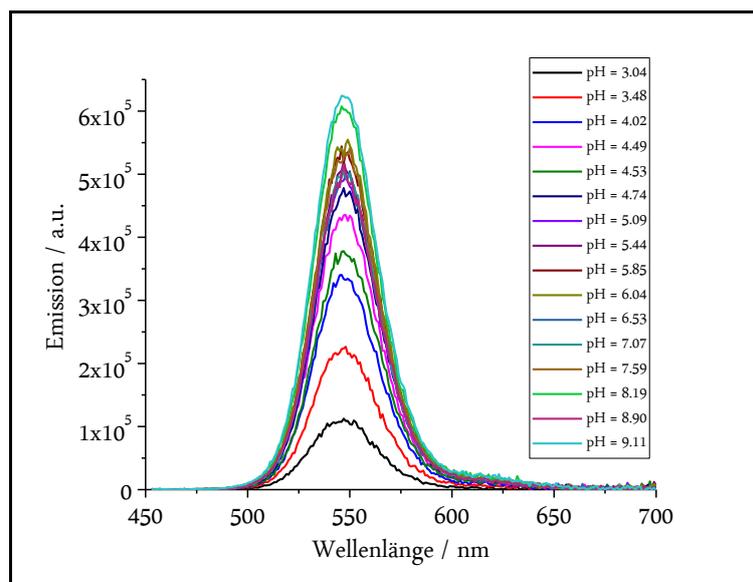


Abbildung 6.17: Emissionsspektren des Kontroll-experiments K-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Die Emissionsspektren weisen im Gegensatz zu den Absorptionsspektren ein deutliches pH-abhängiges Verhalten auf. Bei genauerer Betrachtung lässt sich festhalten, dass bei den niedrigen pH-Werten von etwa 3.0 und 3.5 die Emission eher gering ist, wobei sie bei höheren pH-Werten stetig zunimmt. Die höchsten Emissionsintensitäten ergeben sich bei pH-Werten von etwa 8 bis 9.

Noch deutlicher wird der Effekt in Abbildung 6.18. Hier sind die Integrale der jeweiligen Emissionsspektren gegen den pH-Wert aufgetragen.

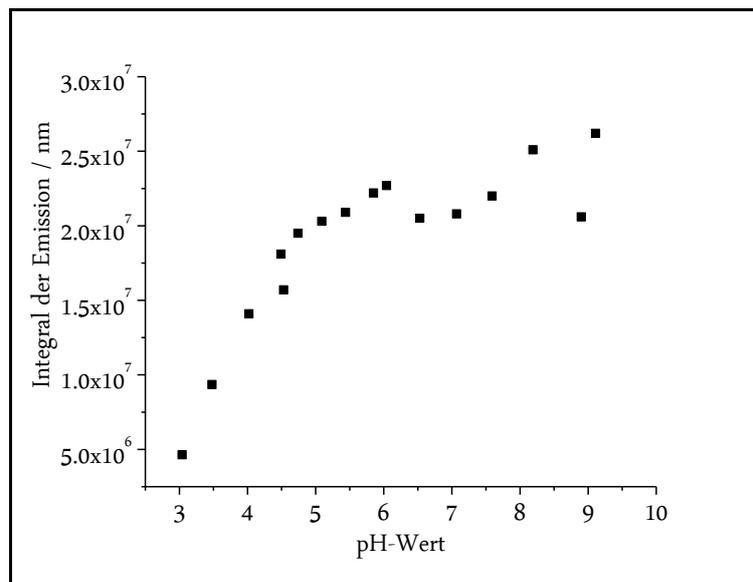


Abbildung 6.18: Auftragung der integrierten Emissionsspektren des Kontrolllexperiments K-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Dabei lässt sich der zuvor angedeutete Trend belegen: Je höher der pH-Wert, desto größer ist im Schnitt auch das Signal der Emission. Je niedriger der pH-Wert, desto höher ist die Konzentration an Protonen und somit der durch die Protonen erzeugte Effekt der Fluoreszenzlöschung. Auch wenn die Partikel durch die erzeugte Polystyrolschale zwar weitestgehend vom wässrigen Medium abgeschirmt sind, ist dennoch ein gewisses Löschen durch die Protonen zu beobachten.

Ein weiteres Kriterium zur Beschreibung der Löschprozesse ist die Fluoreszenzzerfallszeit der angeregten Zustände. Hierzu sind die erhaltenen Zerfallskurven mittels dem in den theoretischen Grundlagen (vgl. Abschnitt 4.8) beschriebenen Verfahren mit einer biexponentiellen Zerfallsfunktion angepasst worden. Aus dieser Anpassung lassen sich die Fluoreszenzzerfallszeiten bestimmen.

Das Ergebnis dieser Anpassung ist in Abbildung 6.19 dargestellt.

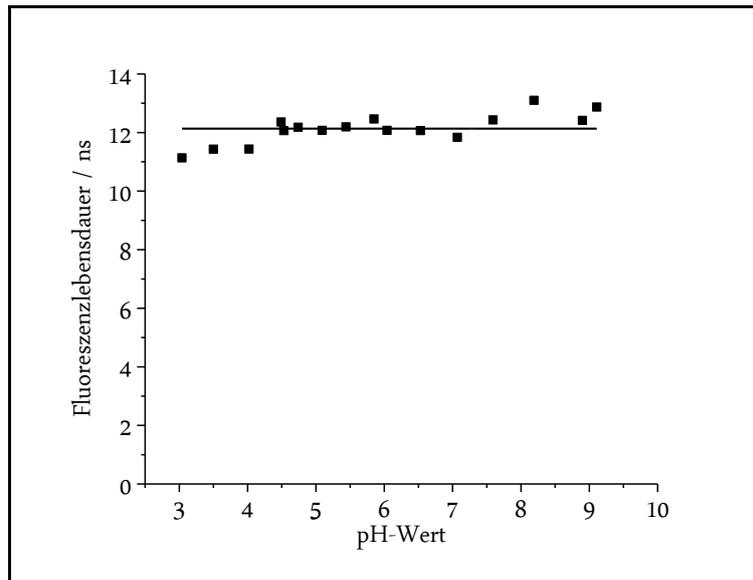


Abbildung 6.19: Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten des Kontrollexperimentes K-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten sowie einer linearen Anpassung mit einer Steigung von Null.

Die Fluoreszenzzerfallszeiten nehmen je nach pH-Wert einen Wert von etwa 11 – 13 ns ein. Damit hat bei dem Verkapselungsprozess die Zerfallszeit im Vergleich zu den nativen Partikeln (13.7 ns) leicht abgenommen. Die Absenkung der Zerfallszeiten lässt sich durch den Verkapselungsprozess mit anschließender Emulsionspolymerisation erklären. Die Partikel kommen bei der Emulsionspolymerisation in direkten Kontakt mit Wasser sowie Radikalen, welche in der Lage sind die Fluoreszenzeigenschaften der Partikel zu verändern. Aus Abbildung 6.19 wird ersichtlich, dass im Gegensatz zur Fluoreszenzintensität bei den Zerfallszeiten kein pH-abhängiges Verhalten auftritt.

Um das unterschiedliche Verhalten der Fluoreszenzintensität und der Zerfallszeit zu verdeutlichen, erfolgt in Abbildung 6.20 die Stern-Volmer-Auftragung für das Kontrollexperiment K-G-1200. Dort sind die Terme $\frac{F_0}{F}$ sowie $\frac{\tau_0}{\tau}$ gegen die Konzentration des Löschers, also in diesem Fall die der Protonen, aufgetragen. Als F_0 und τ_0 werden die Intensität und Fluoreszenzzerfallszeit bei der niedrigsten Protonenkonzentration, also dem höchsten pH-Wert eingesetzt.

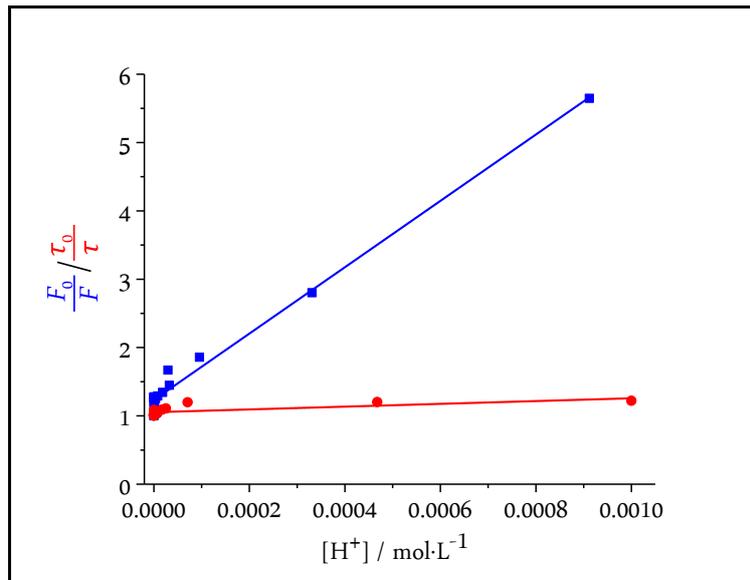


Abbildung 6.20: Stern-Volmer-Auftragung für das Kontrollexperiment K-G-1200. Für den in blau gegen die Konzentration der Protonen aufgetragenen Term $\frac{F_0}{F}$ ergibt sich eine Gerade mit positiver Steigung. Die Fluoreszenzintensität nimmt mit zunehmender Protonenkonzentration ab. Der in rot gegen die Konzentration der Protonen aufgetragene Term $\frac{\tau_0}{\tau}$ bleibt konstant. Die Fluoreszenzzerfallszeit ist somit unabhängig von der Protonenkonzentration. In diesem Fall liegt ein statisches Löschen vor.

Für den Term $\frac{\tau_0}{\tau}$ ergibt sich ein linearer Verlauf, der sich mit einer Steigung von nahezu Null anpassen lässt. Das bedeutet, dass der pH-Wert keinen Einfluss auf die Fluoreszenzzerfallszeiten hat. Für den Term $\frac{F_0}{F}$ ergibt sich ebenfalls eine Gerade, jedoch mit einer deutlich positiven Steigung. Daraus folgt unmittelbar, dass mit zunehmender Protonenkonzentration die Fluoreszenzintensität linear abnimmt. Dieses Verhalten beschreibt exakt den Prozess der statischen Fluoreszenzlöschung. Beim Prozess der statischen Fluoreszenzlöschung wird die strahlende Relaxation unterbunden. Somit nimmt dieser Prozess lediglich Einfluss auf die Fluoreszenzintensität, jedoch nicht auf die Zerfallszeit. Protonen sind demnach in der Lage die Emission der Nanokristalle in diesen Konstrukten statisch zu löschen. Trotz der stark vernetzten Polymerschale ist diese, vermutlich aufgrund der geringen Schichtdicke, weiterhin durchlässig für Protonen, sodass diese in der Lage sind einen Löschprozess auszulösen.

Kontrollexperiment K-R-1200 mit roten Partikeln ohne FRET-Akzeptor

Nachfolgend wird das Kontrollexperiment, basierend auf roten Partikeln (SAR-0-351-1) ohne Akzeptorfarbstoff (K-R-1200) betrachtet, um später abzugrenzen welche optischen Eigenschaften durch die pH-Indikator verursacht werden. In Abbildung 6.21 ist eine TEM-Aufnahme der Probe K-R-1200 sowie die mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmte Größenverteilung dargestellt. In der TEM-Aufnahme sind deutlich die Polymer-verkapselten Nanokristalle zu erkennen. Es liegen überwiegend einzeln verkapselte Nanokristalle vor.

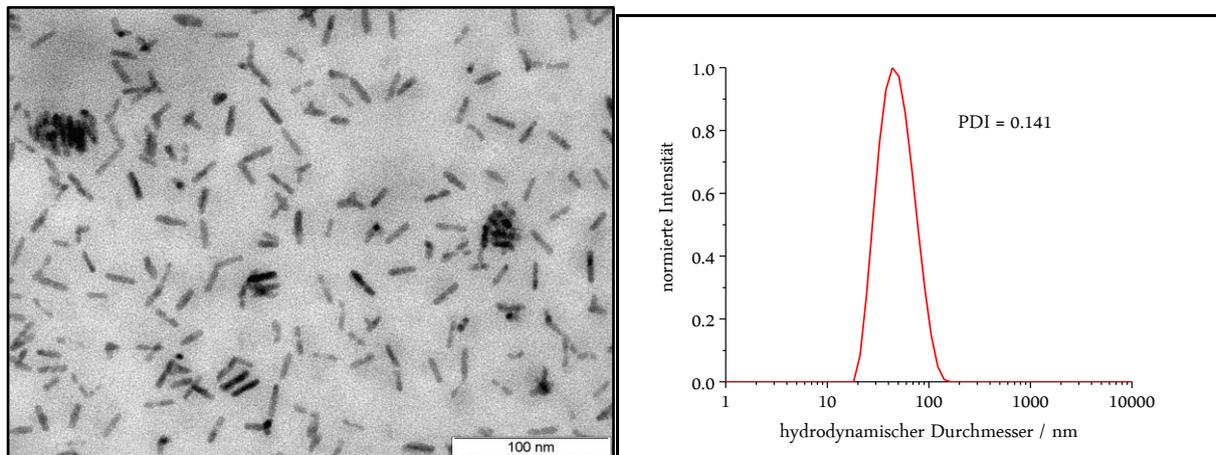


Abbildung 6.21: TEM-Aufnahme der Probe K-R-1200 (links) sowie die intensitätsgewichtete Größenverteilung der Probe K-R-1200 aus der dynamischen Lichtstreuung.

Die Größe der Konstrukte in der TEM-Aufnahme beträgt im Schnitt etwa 20 – 25 nm. Das Maximum der Größenverteilung aus der dynamischen Lichtstreuung liegt bei etwa 43 nm. Der Polydispersitätsindex liegt bei etwa 0,14 und unterstreicht damit die monodisperse Größenverteilung. Auch hier wird der zuvor beschriebene Unterschied zwischen den unterschiedlichen Messmethoden deutlich.

In Abbildung 6.22 sind die Absorptionsspektren des Kontrollperiments K-R-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten dargestellt.

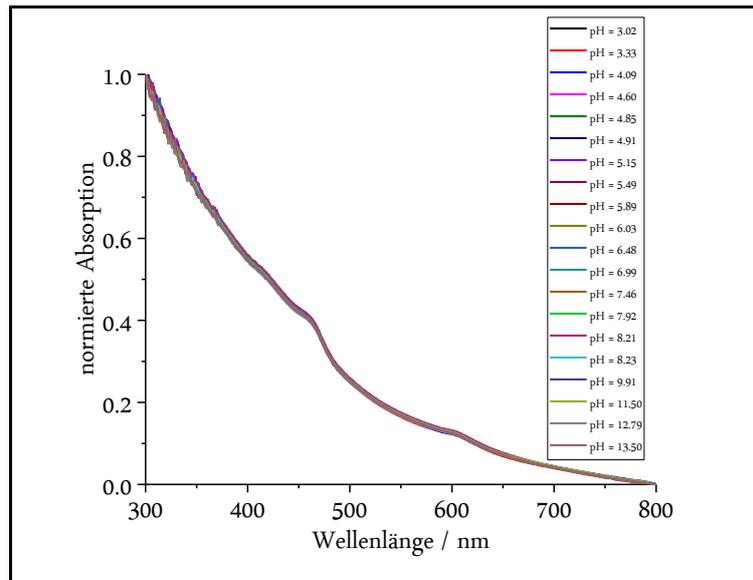


Abbildung 6.22: Absorptionsspektren des Kontrolllexperiments K-R-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten.

Deutlich zu erkennen sind das erste Absorptionsmaximum der Partikel bei 606 nm und das zweite Absorptionsmaximum bei 465 nm. Die Absorptionsspektren zeigen kein pH-abhängiges Verhalten. Es kommt lediglich zu einer Streuung aufgrund der Polystyrolschale.

Eine Auftragung der zu den Absorptionsspektren gehörenden Emissionsspektren erfolgt in Abbildung 6.23.

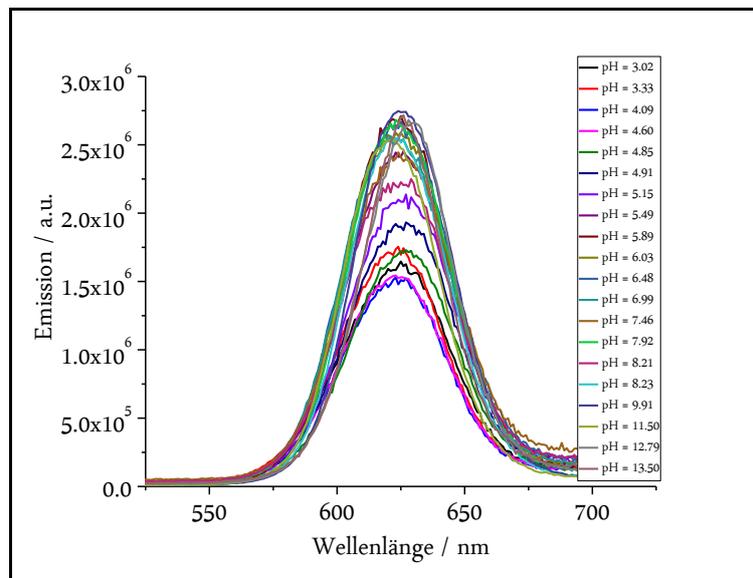


Abbildung 6.23: Emissionsspektren des Kontrolllexperiments K-R-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten.

Die Emissionsspektren weisen im Gegensatz zu den gezeigten Absorptionsspektren pH-abhängiges Verhalten auf. Niedrige pH-Werte und somit hohe Protonenkonzentrationen

führen zu einer Abnahme der Emissionsintensität. Dies gilt jedoch nur für pH-Werte von 3 bis 7. Bei höheren pH-Werten nimmt die Emissionsintensität leicht ab. Dieser Zusammenhang lässt sich durch Abbildung 6.24 verdeutlichen. Dort sind die integrierten Emissionsspektren gegen die jeweiligen pH-Werte aufgetragen.

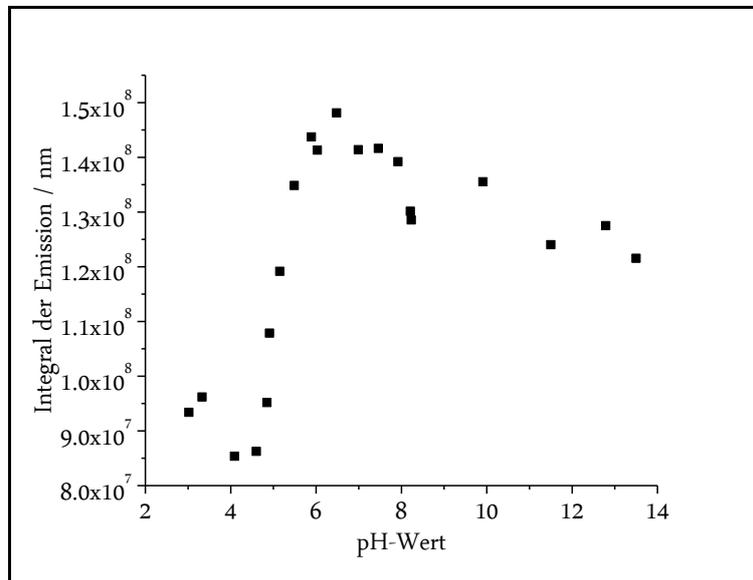


Abbildung 6.24: Auftragung der integrierten Emissionsspektren des Experiments K-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Anhand dieser Auftragung wird ersichtlich, dass es bei besonders niedrigen pH-Werten durch Protonen zum Löschen der Fluoreszenz kommt. Bei einem pH-Wert im neutralen Milieu wird das Emissionssignal maximal. Bei noch höheren pH-Werten nimmt die Emissionsintensität allmählich wieder ab. Es kommt zu einem Löschen der Fluoreszenz durch Hydroxid-Ionen.

Um die Löschprozesse bei dem Kontrollexperiment genau beschreiben zu können, sind in Abbildung 6.25 die ermittelten Fluoreszenzzerfallszeiten bei unterschiedlichen pH-Werten dargestellt. Sie schwanken dabei zwischen etwa 7.5 und 9.5 ns. Für den Bereich von pH = 3 bis pH = 8 liegen die Werte relativ konstant bei etwa 9 ns, bei höheren pH-Werten kommt es zu einem leichten Abfall der Zerfallszeiten durch dynamischen Löschen verursacht durch Hydroxidionen. Die Zerfallszeit der nativen Partikel vor der Verkapselung liegt bei 12.1 ns. Das bedeutet, es kommt auch hier zu einer Abnahme der Zerfallszeiten durch den Transfer ins wässrige Milieu und die anschließende Emulsionspolymerisation.

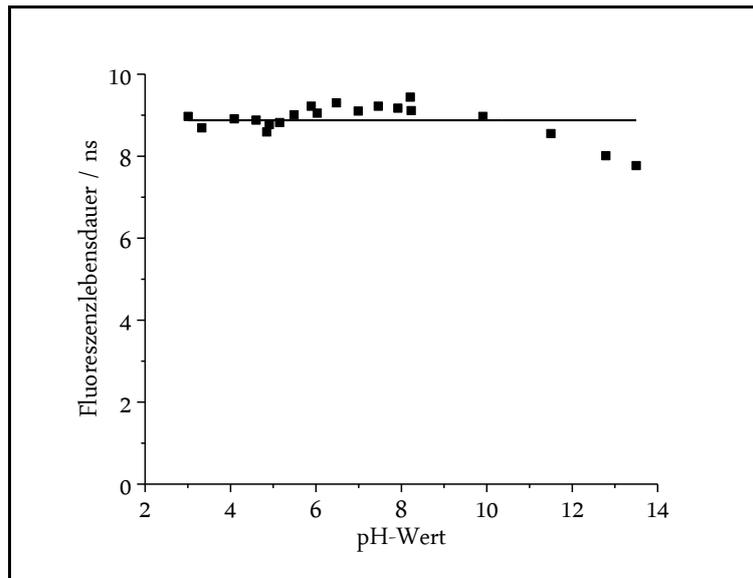


Abbildung 6.25: Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten des Kontrollexperiments K-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten sowie einer linearen Anpassung mit einer Steigung von Null.

Durch die Stern-Volmer-Auftragung in Abbildung 6.26 lassen sich zusätzliche Informationen über die Löschprozesse der Emission erhalten.

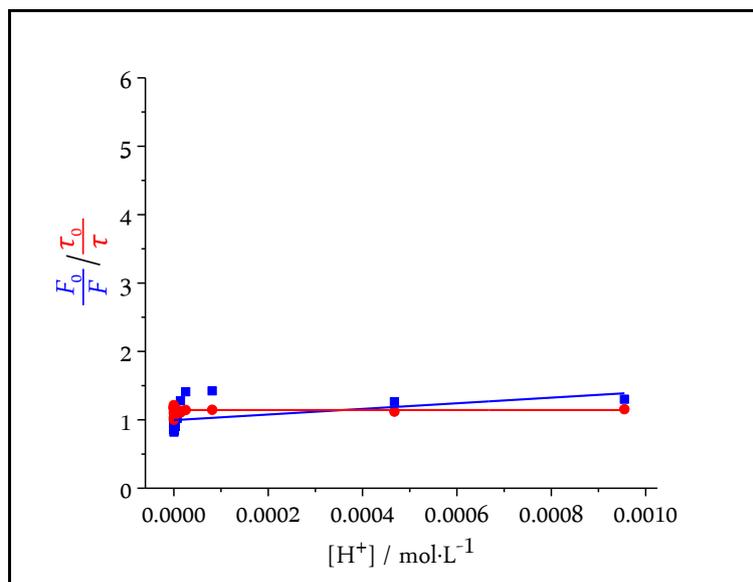


Abbildung 6.26: Stern-Volmer-Auftragung für das Kontrollexperiment K-R-1200. Der in blau aufgetragene Term $\frac{F_0}{F}$ sowie der in rot aufgetragene Term $\frac{\tau_0}{\tau}$ verhalten sich nahezu unabhängig von der Protonenkonzentration.

Dort sind die Terme $\frac{F_0}{F}$ sowie $\frac{\tau_0}{\tau}$ in Abhängigkeit der Löscherkonzentration aufgetragen. Als F_0 und τ_0 werden die Intensität und Zerfallszeit bei der geringsten Protonenkonzentration, also dem höchsten pH-Wert eingesetzt. Für den Term $\frac{\tau_0}{\tau}$ ergibt sich eine Gerade mit einer Steigung nahe Null. Das bedeutet, dass die Fluoreszenzzerfallszeit nicht von der

Protonenkonzentration abhängt. Beim Term $\frac{F_0}{F}$, welcher die Emissionsintensität beschreibt, wird eine Gerade mit einer geringen positiven Steigung erhalten. Daher lässt sich die Aussage treffen, dass die Emissionsintensität durch die Anwesenheit von Protonen leicht gelöscht wird. Da die Protonen jedoch keinen Einfluss auf die Zerfallszeiten der angeregten Zustände haben, kann hier, wie schon bei der Probe K-G-1200, von einem statischen Löschen der Emission durch die Protonen gesprochen werden. Im Vergleich zur Probe K-G-1200 mit den grünen Partikeln, weist die Probe K-R-1200 eine wesentlich geringe Empfindlichkeit gegenüber den Protonen auf. Die Polystyrolschale der Probe K-R-1200 ist vermutlich besser vernetzt und somit undurchdringlicher für die Protonen.

6.3.3 pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen

In diesem Abschnitt erfolgt die Auswertung und Diskussion der unter der Verwendung der zuvor synthetisierten pH-Indikatorfarbstoffen dargestellten pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen.

Experiment MR-G-1200: grüne Partikel mit Akzeptorfarbstoff Iod-MR-Sty

Nachfolgend wird das Experiment MR-G-1200 beschrieben, dabei wurden grüne Partikel mit einem Emissionsmaximum bei 543 nm mit dem pH-Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty kombiniert. Aufgrund des Überlappungsintegrals zwischen der Absorption des Indikators im sauren Milieu und der Partikel-Emission wird ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer bei niedrigen pH-Werten erwartet.

Zunächst sind in Abbildung 6.27 eine TEM-Aufnahme sowie die mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmte intensitätsgewichtete Größenverteilung dargestellt.

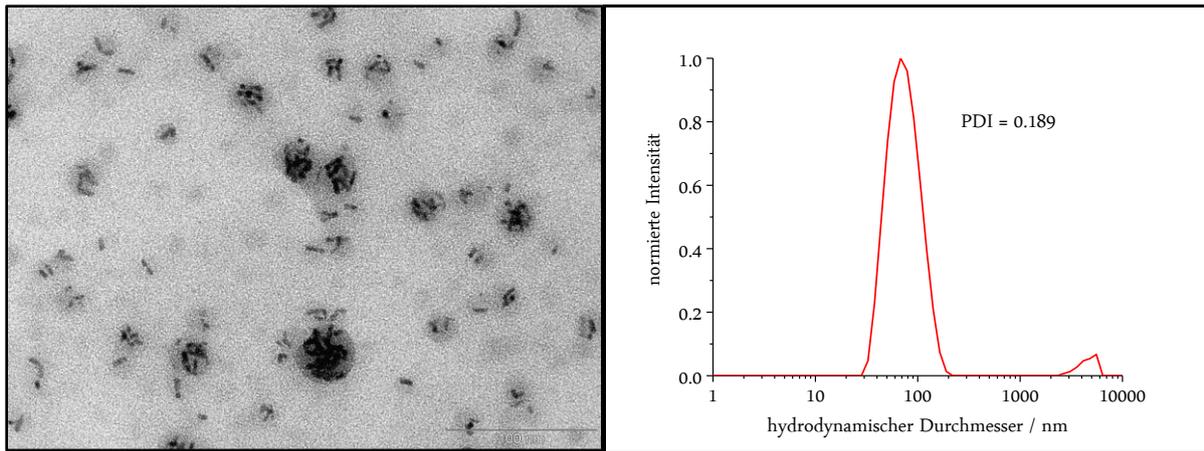


Abbildung 6.27: TEM-Aufnahme der Probe MR-G-1200 (links) sowie die intensitätsgewichtete Größenverteilung der Probe MR-G-1200 aus der dynamischen Lichtstreuung (rechts).

In der TEM-Aufnahme sind deutlich die in Polymer eingekapselten, stäbchenförmigen Partikel zu erkennen. Es liegen hier, wie auch bei dem Kontrollexperiment K-G-1200, einzeln verkapselte Partikel sowie verkapselte Partikelensembles vor. In der TEM-Aufnahme beträgt die Größe der Konstrukte etwa 25 – 45 nm. Das Maximum der Größenverteilung aus der Lichtstreuung beträgt etwa 60 nm. Die Diskrepanz zwischen den beiden Methoden wurde anhand der vorangegangenen Experimente bereits begründet. Der Polydispersitätsindex liegt bei etwa 0.19 und bestätigt damit die monodisperse Größenverteilung.

In Abbildung 6.28 sind die Absorptionsspektren der Probe MR-G-1200, mit dem Akzeptorfarbstoff, bei unterschiedlichen pH-Werten aufgetragen.

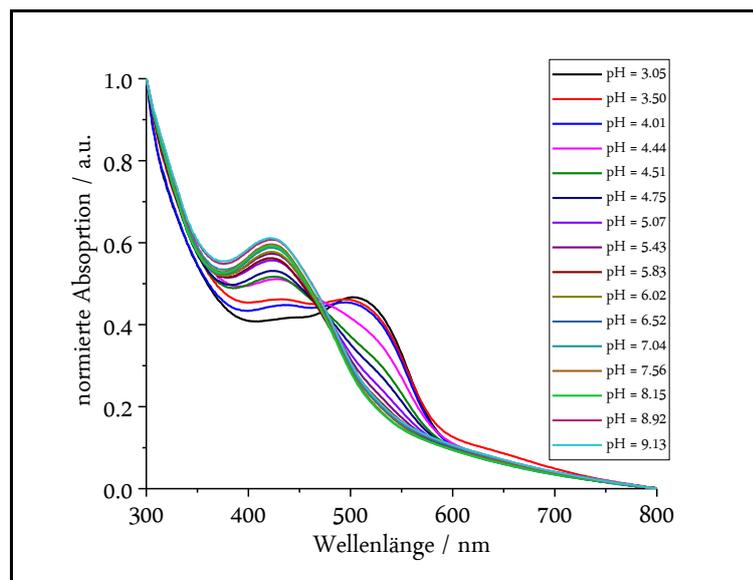


Abbildung 6.28: Absorptionsspektren des Experiments MR-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten. Deutlich zu erkennen ist das pH-abhängige Absorptionsverhalten der Probe.

Es kann ein deutliches pH-abhängiges Absorptionsverhalten der Konstrukte beobachtet werden. Die beiden markantesten Banden im Spektrum sind auf den pH-Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty zurückzuführen. So ist die Bande bei etwa 433 nm im Basischen besonders ausgeprägt, wobei diese bei sinkendem pH-Wert allmählich verschwindet. Mit der Bande bei etwa 502 nm verhält es sich genau umgekehrt. Diese ist besonders intensiv bei niedrigen pH-Werten und verschwindet zusehends bei Erhöhung des pH-Wertes. Diese beiden Maxima belegen, dass der pH-Indikatorfarbstoff weiterhin für Protonen zugänglich ist und somit für einen Farbumschlag zur Verfügung steht.

Die Absorptionsmaxima der Partikel werden durch die Absorption des Indikators nahezu vollständig überlagert. Lediglich das zweite Absorptionsmaximum bei etwa 415 nm ist bei niedrigen pH-Werten noch angedeutet zu erkennen. Die zu den Absorptionsspektren gehörenden Emissionsspektren sind in Abbildung 6.29 dargestellt.

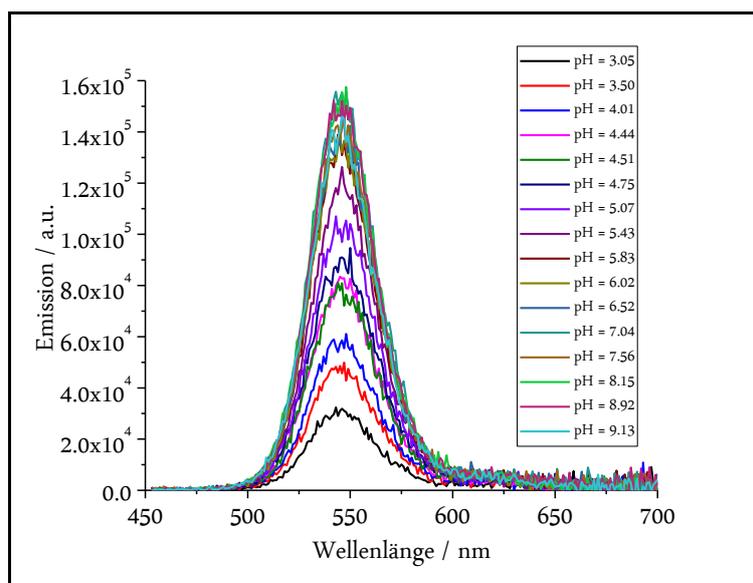


Abbildung 6.29: Emissionsspektren des Experiments MR-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten. Deutlich zu erkennen ist die pH-abhängige Emissionsintensität der Probe.

Hier lässt sich ein ähnlicher Trend wie in dem Kontrollexperiment K-G-1200 beobachten. Die Emissionsspektren weisen ein deutlich pH-abhängiges Verhalten auf. Bei niedrigen pH-Werten ist die Emission eher gering, wobei sie bei steigendem pH-Wert kontinuierlich zunimmt. Um diesen Trend zu verdeutlichen, sind in Abbildung 6.30 die integrierten Emissionsspektren gegen den jeweiligen pH-Wert aufgetragen.

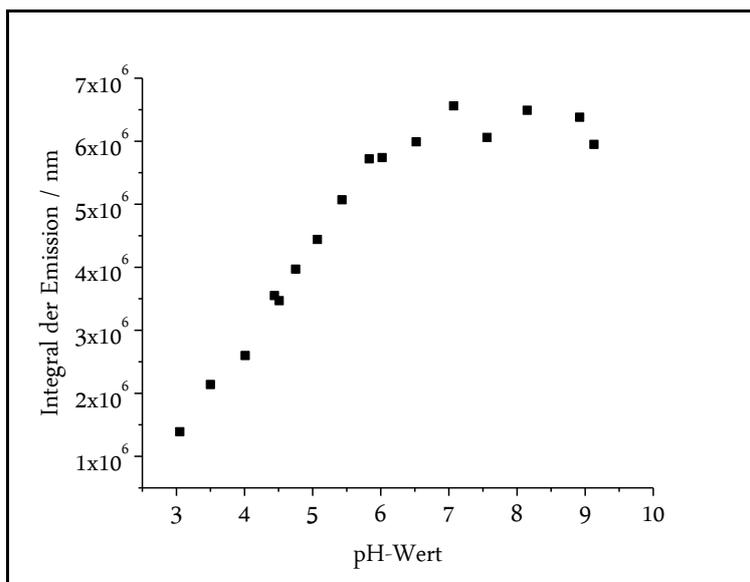


Abbildung 6.30: Auftragung der integrierten Emissionsspektren des Experiments MR-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Dort ist eindeutig zu erkennen, dass das Integral der Emission über den Bereich eines pH-Werts von 3 bis etwa 7 nahezu linear zunimmt. Bei weiterer Erhöhung des pH-Werts bleibt das Integral der Emission annähernd konstant. Das Verhalten der Probe ähnelt in Bezug auf die reine Emissionsintensität dem des Kontrollexperimentes K-G-1200 ohne pH-Indikatorfarbstoff.

In den Absorptionsspektren (Abbildung 6.28) ist zu erkennen, dass die Absorptionsbande bei 502 nm, ausgehend von pH = 3, bis zu einem pH-Wert von etwa 6.5 – 7 stetig abnimmt. Daher verringert sich auch der Energietransfer, aufgrund des abnehmenden spektralen Überlapps zwischen Akzeptor und Donor bis zu einem pH-Wert von 7. Folglich kommt es über den Bereich von pH = 3 bis pH = 7 zu einer kontinuierlichen Zunahme der Emission. Dieses Verhalten legt nahe, dass das Löschen der Emission bei dieser Probe durch einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer, resultierend aus dem spektralen Überlapp der Partikel-Emission mit der Absorptionsbande der sauren Form des pH-Indikatorfarbstoffs Iod-MR-Sty, verursacht wird. Um ein rein statisches Löschen, wie im Kontrollexperiment K-G-1200, durch die Protonen auszuschließen, erfolgt in Abbildung 6.31 eine Auftragung der mittels biexponentieller Anpassung bestimmten Fluoreszenzzerfallszeiten.

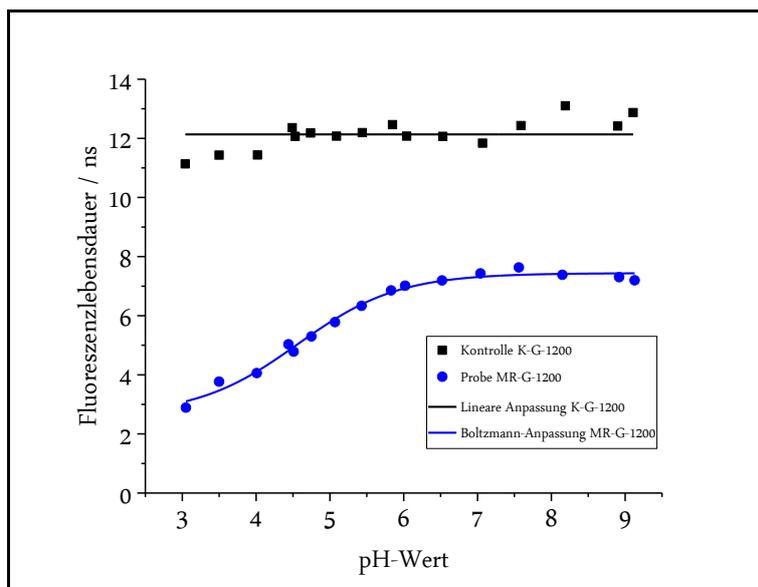


Abbildung 6.31: Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten des Experiments MR-G-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten sowie einer Anpassung nach Boltzmann (blau). Zusätzlich sind die Fluoreszenzzerfallszeiten des Kontrollexperimentes K-G-1200 sowie deren lineare Anpassung in schwarz als Referenz aufgetragen.

Aus der Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten gegen den pH-Wert lässt sich deutlich erkennen, dass zwischen einem pH-Wert von 3 und 7 die Zerfallszeiten im Vergleich zu höheren pH-Werten deutlich abgesenkt sind. Auch hier gilt wie bei der Emission bereits beschrieben: Je niedriger der pH-Wert, desto höher der spektrale Überlapp und der Förster-Resonanz-Energie-Transfer und desto niedriger die Fluoreszenzzerfallszeit. Bei einem pH-Wert von 3 liegt die bestimmte Fluoreszenzzerfallszeit bei rund 3 ns. Von dort ausgehend nimmt sie mit steigendem pH-Wert stetig zu. Ab einem pH-Wert von etwa 7 bleibt neben der Fluoreszenzintensität zudem die Fluoreszenzzerfallszeit annähernd konstant. Durch eine Boltzmann-Anpassung konnten die Plateaus im Sauren bei 2.7 ns und im Basischen bei 7.5 ns bestimmt werden. Zum Vergleich sind in Abbildung 6.31 ebenfalls die Fluoreszenzzerfallszeiten des Kontrollexperimentes MR-G-1200 aufgetragen. Hierbei fällt auf, dass die Fluoreszenzzerfallszeiten bei der Probe mit Indikatorfarbstoff auch in der basischen Form deutlich geringer sind als beim Kontrollexperiment. Das lässt sich darauf zurückführen, dass, wie bereits erwähnt, auch die basische Form des Indikatorfarbstoffs einen konstanten spektralen Überlapp mit der Donor-Emission aufweist (vgl. Abschnitt 6.2.1, Abbildung 6.10) und somit ebenfalls ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer im basischen Milieu möglich ist.

Um die Löschprozesse exakt beschreiben zu können, erfolgt in Abbildung 6.32 die Stern-Volmer-Auftragung. Dabei werden die Terme $\frac{F_0}{F}$ beziehungsweise $\frac{\tau_0}{\tau}$ gegen die optische Dichte der löschende Bande bei 502 nm (links) sowie gegen die Protonenkonzentration (rechts) aufgetragen, da diese verantwortlich für das Auftreten dieser Absorptionsbande ist. Als F_0 und τ_0 werden die Intensität und Zerfallszeit bei der geringsten optischen Dichte eingesetzt, da dort der spektrale Überlapp am geringsten ist.

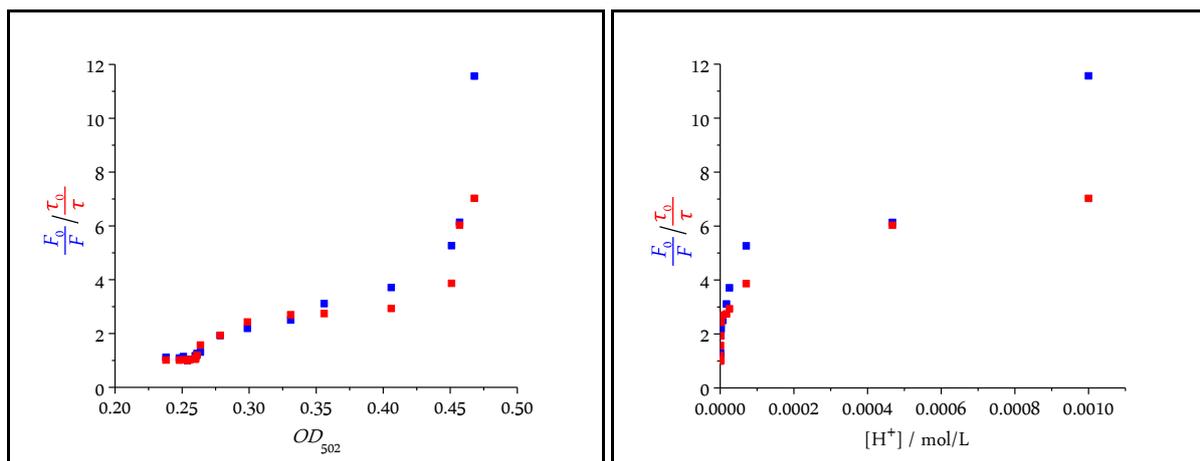


Abbildung 6.32: Auftragung der Terme $\frac{F_0}{F}$ in blau und $\frac{\tau_0}{\tau}$ in rot gegen die optische Dichte bei 502 nm (links) sowie gegen die Protonenkonzentration (rechts) für das Experiment MR-G-1200. Die Fluoreszenzintensität und -zerfallszeit nehmen mit zunehmender optischer Dichte ab. Die Erhöhung der optischen Dichte bei 502 nm bewirkt somit einen dynamischen Löschprozess.

Die Terme $\frac{F_0}{F}$ und $\frac{\tau_0}{\tau}$ nehmen mit zunehmender optischer Dichte deutlich zu. Das bedeutet folglich, dass die Emissionsintensität und Fluoreszenzzerfallszeit bei zunehmender optischer Dichte abnehmen. Bedingt durch die Absorptionsbande bei 502 nm, welche im Säuren durch den Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty hervorgerufen wird, erfolgt ein Löschen der Partikel-Emission. Je intensiver diese Bande ist, desto geringer ist die Emissionsintensität und die Fluoreszenzzerfallszeit. Weiterhin fällt auf, dass es bei sehr hohen Protonenkonzentration zusätzlich zu einer starken Löschung der Fluoreszenzintensität kommt. Neben dem dynamischen Löschprozess durch den Indikatorfarbstoff kommt es folglich bei niedrigen pH-Werten außerdem zu einem statischen Protonenlöschen, welches auch bei dem entsprechenden Kontrollexperiment beobachtet werden kann. Beim Kontrollexperiment ohne Indikatorfarbstoff tritt nur statisches Löschen auf. Die Zerfallszeiten verändern sich hier nicht. Mithilfe des Indikatorfarbstoffes ist es somit möglich die Emission der Partikel dynamisch zu löschen. Da der Term der Intensität gerade bei hohen optischen Dichten

und somit bei niedrigen pH-Werten etwas oberhalb des Terms der Zerfallszeiten liegt, kann davon ausgegangen, dass zusätzlich zu dem dynamischen Löschen durch den pH-Indikatorfarbstoff ein statischer Löschprozess durch hohe Protonenkonzentrationen auftritt. Aufgrund des eindeutig dynamisch verlaufenden Löschprozesses kann darauf geschlossen werden, dass es erfolgreich gelungen ist, den Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty fest an die Oberfläche der Konstrukte zu binden und somit eine pH-sensitive Emission der Konstrukte zu erzeugen.

Experiment BTB-R-1200: rote Partikel mit Akzeptorfarbstoff Sty-BTB

Im Folgenden wird das Experiment BTB-R-1200 beschrieben, dabei wurden rote Partikel mit einem Emissionsmaximum bei 624 nm mit dem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BTB kombiniert. Aufgrund des Überlappungsintegrals zwischen der Partikel-Emission und der Absorption des Indikators im Basischen wird ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer bei hohen pH-Werten erwartet.

Für das Experiment BTB-R-1200 mit dem copolymerisierten Bromtyhmolblauderivat Sty-BTB finden sich in Abbildung 6.33 eine TEM-Aufnahme (links) sowie die mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmte Größenverteilung (rechts).

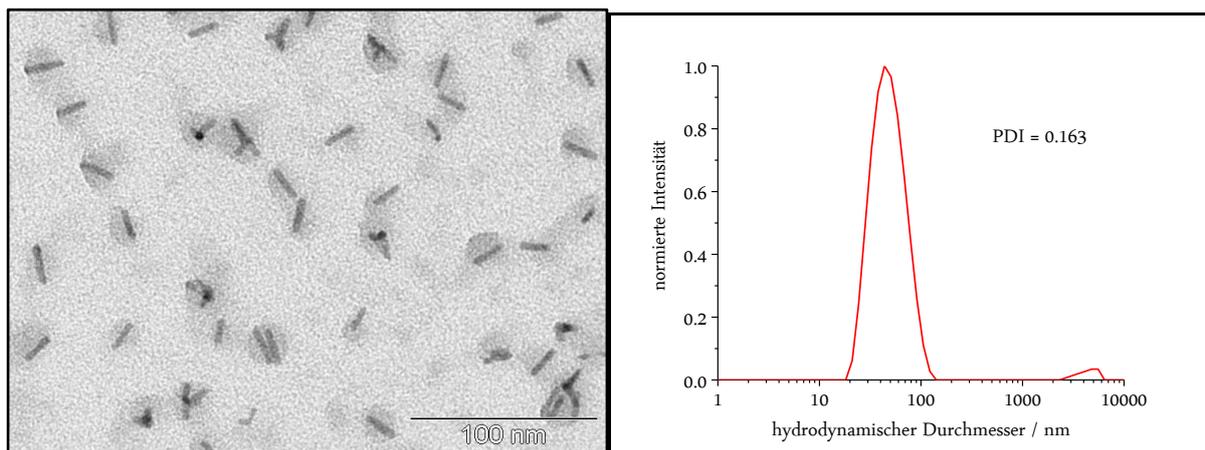


Abbildung 6.33: TEM-Aufnahme der Probe BTB-R-1200 (links) sowie die intensitätsgewichtete Größenverteilung der Probe BTB-R-1200 aus der dynamischen Lichtstreuung.

Anhand der TEM-Aufnahme lässt sich eine durchschnittliche Größe der Partikelkonstrukte von etwa 20 – 25 nm bestimmen. Das Maximum der intensitätsgewichteten Größenverteilung aus der dynamischen Lichtstreuung beträgt etwa 43 nm. Der Polydispersitätsindex von etwa 0.16 belegt die hohe Einheitlichkeit der Partikelkonstrukte.

In Abbildung 6.34 sind die Absorptionsspektren der Probe BTB-R-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten dargestellt.

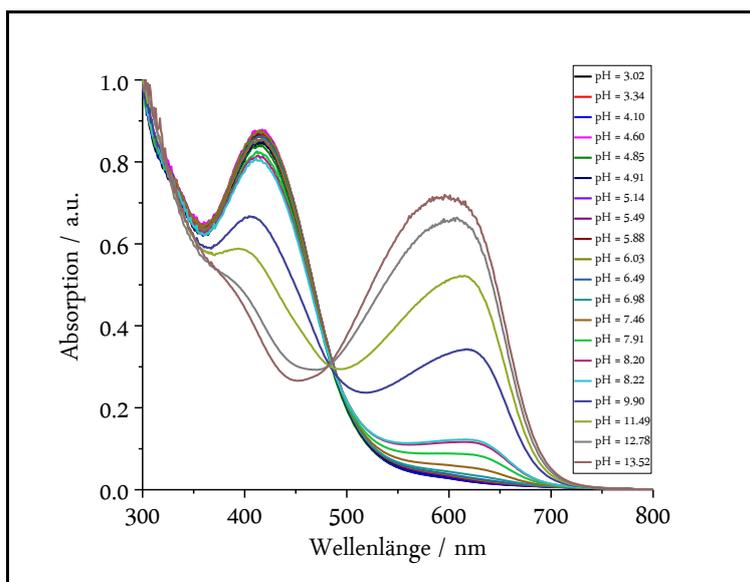


Abbildung 6.34: Absorptionsspektren des Experiments BTB-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten. Deutlich zu erkennen ist das pH-abhängige Absorptionsverhalten der Probe.

Deutlich ist hier der Einfluss des pH-Werts auf das Absorptionsverhalten zu erkennen: Die beiden Absorptionsbanden bei 432 und 612 nm werden durch die unterschiedlichen Formen des pH-Indikatorfarbstoffs Sty-BTB verursacht. Bei höheren pH-Werten, also im basischen Milieu, ist die Absorptionsbande bei etwa 612 nm besonders ausgeprägt. Mit zunehmender Azidität sinkt die Intensität dieser Bande stetig ab, bis sie bei etwa pH = 7 vollständig verschwunden ist. Bei niedrigen pH-Werten hingegen dominiert die Absorptionsbande bei 432 nm. Die Intensität dieser Bande ist bei besonders niedrigen pH-Werten maximal und nimmt bei steigenden pH-Werten ab etwa 7 allmählich ab. Der Indikatorfarbstoff ist somit weiterhin für Protonen zugänglich, sodass ein Farbumschlag möglich ist.

Die zu den oben dargestellten Absorptionsspektren gehörenden Emissionsspektren sind in Abbildung 6.35 dargestellt.

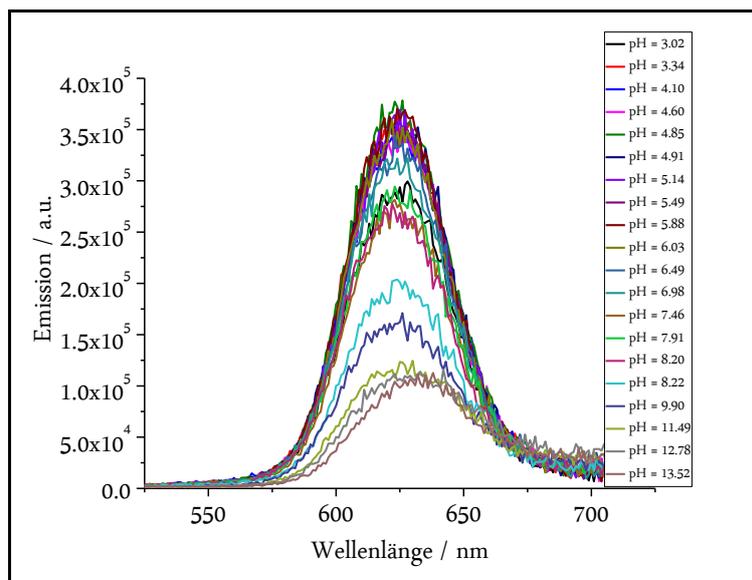


Abbildung 6.35: Emissionsspektren des Experiments BTB-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten. Deutlich zu erkennen ist die pH-abhängige Emissionsintensität der Probe.

Die höchsten Emissionsintensitäten werden bei pH-Werten im Bereich von 4 – 6 erreicht. Bei pH-Werten oberhalb von 6 kommt es zu einer kontinuierlichen Abnahme der Emissionsintensität. Auch bei einem sehr niedrigen pH-Wert von 3.02 ist die Intensität verringert. Weiterhin fällt auf, dass es bei sehr hohen pH-Werten zu einer stetigen Verschiebung des Emissionsmaximums zu höheren Wellenlängen kommt. Zusätzlich fällt auf, dass bei einer Erhöhung des pH-Wertes von 12.78 auf 13.52 kein weiteres Löschen stattfindet. Offensichtlich liegt bei diesen Partikeln eine zweite Spezies mit einem Emissionsmaximum bei etwa 633 nm vor, welche sich nicht durch den Indikatorfarbstoff löschen lässt. Für die Auftragung der integrierten Emissionsspektren wird das Integral der Emission bei einem pH-Wert von 13.52 als Null definiert. Da davon auszugehen ist, dass sich diese Spezies nicht löschen lässt, wird jene Intensität als Blindwert von allen anderen Integralen subtrahiert. Die Auftragung der um den Blindwert bereinigten und integrierten Emissionsspektren gegen den pH-Wert findet sich in Abbildung 6.36.

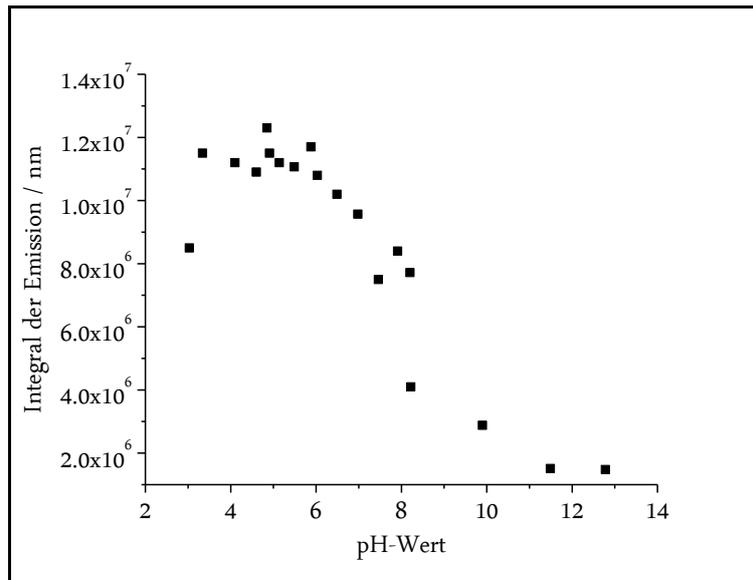


Abbildung 6.36: Auftragung der integrierten Emissionsspektren des Experiments BTB-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Hier lässt sich deutlich erkennen, dass die Emission bei sehr niedrigen pH-Werten sowie bei pH-Werten oberhalb von 6 vermindert ist. Bei niedrigen pH-Werten erfolgt höchstwahrscheinlich ein Löschen der Fluoreszenz durch die anwesenden Protonen. Bei höheren pH-Werten wird das Löschen durch den spektralen Überlapp mit der Absorption der basischen Form des pH-Indikators Sty-BTB verursacht. Zur Bestätigung, erfolgt in Abbildung 6.37 eine Auftragung der bestimmten Fluoreszenzzerfallszeiten der Probe.

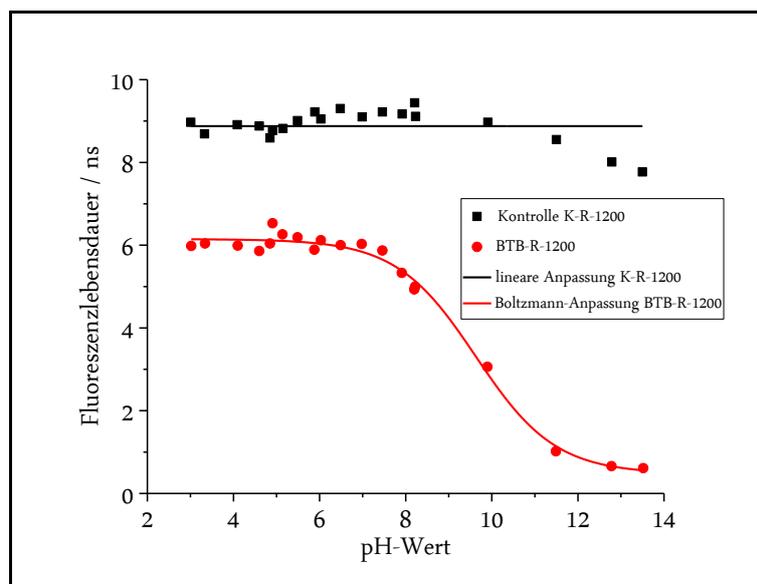


Abbildung 6.37: Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten des Experiments BTB-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten sowie einer Anpassung nach Boltzmann (rot). Zusätzlich sind die Fluoreszenzzerfallszeiten des Kontrollexperimentes K-R-1200 sowie deren lineare Anpassung in schwarz als Referenz aufgetragen.

Hier wird sofort deutlich, dass die Fluoreszenzlöschung im sauren Bereich durch die Protonen keinen Einfluss auf die Fluoreszenzzerfallszeiten hat, denn diese sind über den Bereich von $\text{pH} = 3$ bis $\text{pH} = 6.5$ konstant bei etwa 6 ns. Somit ist die Fluoreszenzlöschung im sauren Bereich eindeutig auf das statische Löschen der Protonen zurückzuführen. Erst bei einer Erhöhung des pH-Wertes über 6.5 nimmt neben der Fluoreszenzintensität auch die Fluoreszenzzerfallszeit bis zu einem Wert von 0.8 ns ab. In diesem Bereich liegt folglich ein dynamischer Löschprozess vor. Dieser Löschvorgang erfolgt durch einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer, welcher durch den spektralen Überlapp mit der Absorption des Indikatorfarbstoffs Sty-BTB ermöglicht wird. Durch eine Boltzmann-Anpassung konnten die Plateaus im Sauren bei 6.1 ns und im Basischen bei 0.5 ns bestimmt werden. Zum Vergleich sind in Abbildung 3.37 zusätzlich die Zerfallszeiten des Kontrollperiments ohne Indikatorfarbstoff aufgetragen. Auffällig ist, dass die Zerfallszeiten auch im sauren Bereich bei der Probe BTB-R-1200 im Vergleich zum Kontrollexperiment von 9 ns auf etwa 6 ns abgesenkt sind. Da zudem die saure Form des Indikatorfarbstoffs Sty-BTB einen gewissen spektralen Überlapp mit der Partikel-Emission aufweist (vgl. Abschnitt 6.2.2, Abbildung 6.11) ist auch bei niedrigen pH-Werten ein schwacher, aber dennoch signifikanter, dynamischer Löschvorgang durch einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer möglich.

Um die Löschprozesse detailliert beschreiben zu können, erfolgt in Abbildung 6.38 die Stern-Volmer-Auftragung. Dabei werden beiden Terme $\frac{F_0}{F}$ und $\frac{\tau_0}{\tau}$ zum einen gegen die optische Dichte OD bei 612 nm (links) und zum anderen gegen die Konzentration an Hydroxid-Ionen (rechts) aufgetragen. Als F_0 und τ_0 werden die Intensität und Zerfallszeit bei der geringsten optischen Dichte eingesetzt.

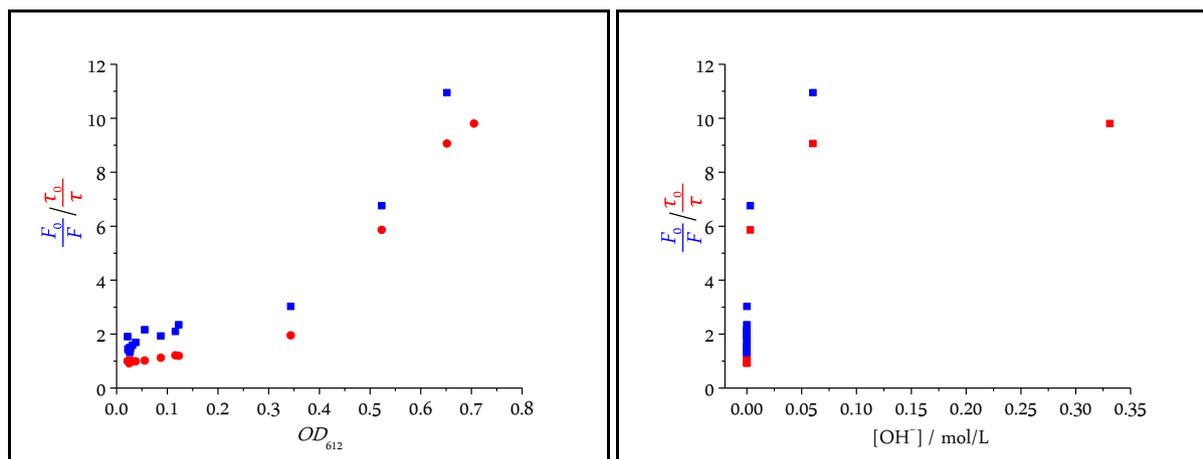


Abbildung 6.38: Auftragung der Terme $\frac{F_0}{F}$ in blau und $\frac{\tau_0}{\tau}$ in rot gegen die optische Dichte bei 612 nm (links) sowie gegen die Konzentration an Hydroxid-Ionen (rechts) für das Experiment BTB-R-1200. Die Fluoreszenzintensität und -zerfallszeit nehmen mit zunehmender optischer Dichte ab. Die Erhöhung der optischen Dichte bei 612 nm führt somit zu einem dynamischen Löschprozess.

Die Terme $\frac{F_0}{F}$ und $\frac{\tau_0}{\tau}$ steigen beide mit zunehmender optischer Dichte in ähnlichem Maße an. Das bedeutet, dass sowohl die Emissionsintensität als auch die Fluoreszenzzerfallszeit mit zunehmender optischer Dichte abnehmen. Ein rein statisches Löschen kann folglich ausgeschlossen werden. Da die Werte des Terms der Fluoreszenzintensität konsequent über denen der Zerfallszeiten liegen, lässt sich zusätzlich zu dem dynamischen Löschprozess ein statischer Löschprozess annehmen, welcher besonders bei niedrigen pH-Werten durch hohe Protonenkonzentrationen ins Gewicht fällt. Auffällig ist, dass der dynamische Löschprozess bei optischen Dichten über 0.3 deutlich stärker ausgeprägt ist als bei niedrigen optischen Dichten. Da in diesem Fall hohe optische Dichten mit einer hohen Hydroxid-Konzentration einhergehen, kann davon ausgegangen werden, dass es bei optischen Dichten oberhalb von 0.3 zusätzlich zu einem dynamischen Löschprozess durch die Hydroxidionen kommt. Dieser Löschprozess konnte auch schon bei dem entsprechenden Kontrollexperiment K-R-1200 bei pH-Werten oberhalb von 9 (vgl. Abbildung 6.37) beobachtet werden.

Aufgrund des eindeutig dynamisch ablaufenden Löschprozesses, kann festgehalten werden, dass der pH-Indikatorfarbstoff fest an die Oberfläche der Konstrukte gebunden ist, und weiterhin für Protonen zugänglich ist, sodass ein Farbumschlag erzeugt werden kann. Es ist also gelungen das Emissionsverhalten der Partikel pH-sensitiv über einen FRET-Mechanismus zu beeinflussen.

Experiment BKP-R-1200: rote Partikel mit Akzeptorfarbstoff Sty-BKP

Im Folgenden wird das Experiment BKP-R-1200 beschrieben. Dabei handelt es sich um Konstrukte basierend auf roten Partikeln mit einem Emissionsmaximum bei 624 nm und dem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BKP. Aufgrund des Überlappungsintegrals zwischen der Partikel-Emission und der Absorption des Indikators im basischen Milieu ist ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer bei hohen pH-Werten zu erwarten.

In Abbildung 6.39 sind ein TEM-Bild sowie die mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmte Größenverteilung für die Probe BKP-R-1200 mit copolymerisiertem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BKP dargestellt.

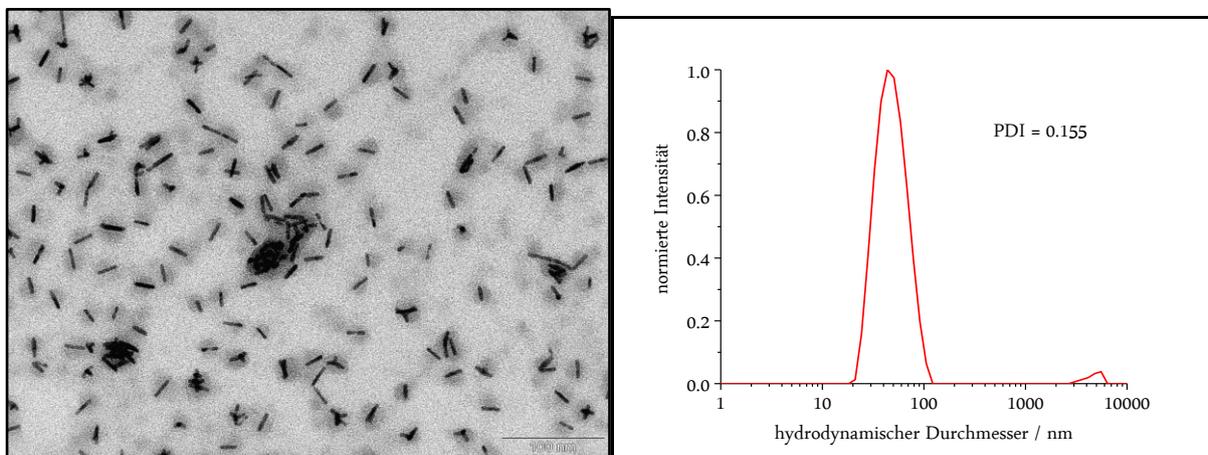


Abbildung 6.39: TEM-Aufnahme der Probe BKP-R-1200 (links) sowie die intensitätsgewichtete Größenverteilung der Probe BKP-R-1200 aus der dynamischen Lichtstreuung.

In der TEM-Aufnahme lassen sich sehr deutlich die in Polymerhülle eingekapselten, stabförmigen Nanopartikel erkennen. Die Partikel liegen überwiegend einzeln verkapselt vor, einige wenige Polymerkapseln weisen jedoch mehrere Kristalle im Inneren auf. Die Größe der Konstrukte beträgt etwa 25 – 30 nm. Die Größenverteilung aus der DLS hat ihr Maximum bei 46 nm. Der Polydispersitätsindex beträgt 0.155 und spricht für monodisperse Größenverteilung.

In Abbildung 6.40 sind die Absorptionsspektren der Probe BKP-R-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten dargestellt.

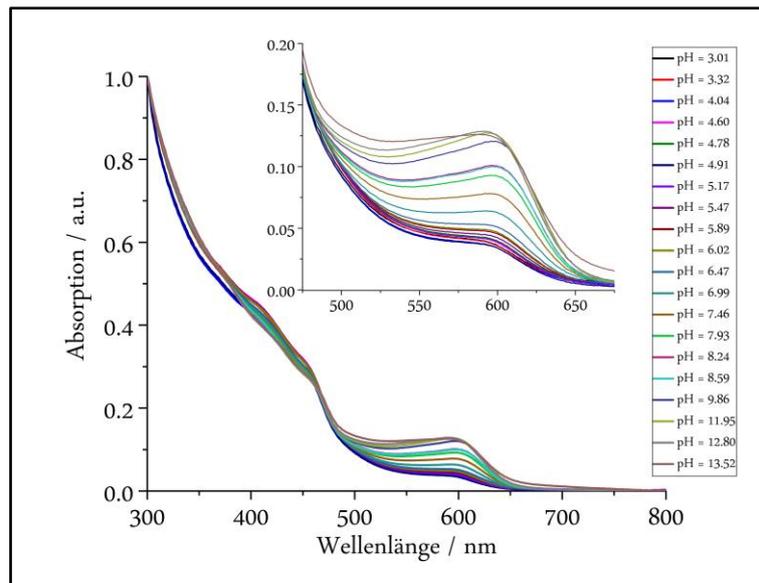


Abbildung 6.40: Absorptionsspektren des Experiments BKP-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten. Deutlich zu erkennen ist das pH-abhängige Absorptionsverhalten der Probe.

Es wird der deutliche Einfluss des pH-Wertes auf das Absorptionsverhalten ersichtlich: Bei basischen Bedingungen, also bei hohen pH-Werten ist die durch die basische Form des pH-Indikators Sty-BKP hervorgerufene Absorptionsbande bei 592 nm besonders ausgeprägt. Bei abnehmenden pH-Werten nimmt die Intensität dieser Bande nach und nach ab, bis sie bei einem pH-Wert von etwa 6,5 ganz verschwunden ist. Unterhalb dieses pH-Wertes ist in dem Bereich nur noch das Absorptionsmaximum der Partikel bei etwa 604 nm zu erkennen. Die Absorptionsbande der sauren Form des Indikatorfarbstoffs bei ist rund 433 nm nur sehr schwach ausgeprägt, aber dennoch in den Spektren bei niedrigen pH-Werten zu erkennen. Sie wird dabei von der Partikelabsorption etwas überlagert. Es lässt sich festhalten, dass der Indikatorfarbstoff Sty-BKP intakt ist und für einen Farbumschlag zur Verfügung steht.

In Abbildung 6.41 sind die zu der Probe gehörenden Emissionsspektren bei unterschiedlichen pH-Werten dargestellt.

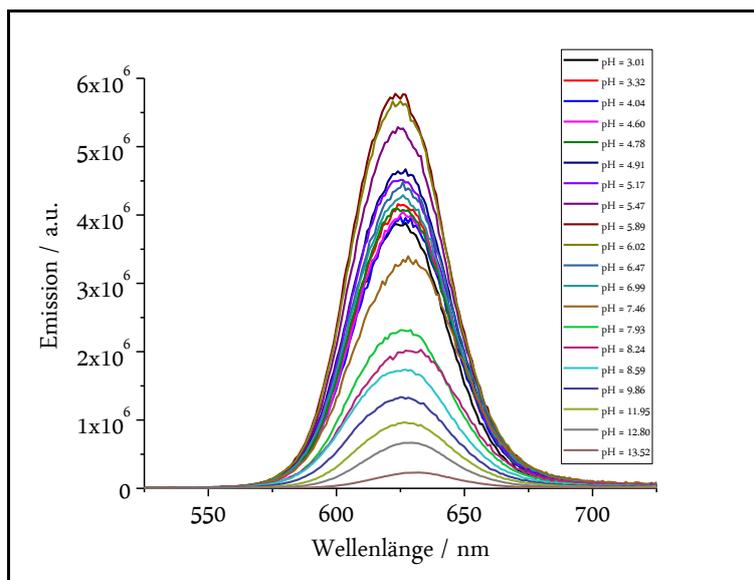


Abbildung 6.41: Emissionsspektren des Experiments BKP-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten. Deutlich zu erkennen ist die pH-abhängige Emissionsintensität der Probe.

Bei Betrachtung der Emissionsspektren wird schnell ersichtlich, dass die Intensität bei pH-Werten im Bereich von 5 – 6 am höchsten ist. Bei niedrigeren pH-Werten nimmt die Emissionsintensität kontinuierlich etwas ab. Bei pH-Werten oberhalb von 6 kommt es ebenfalls zu einer stetigen Abnahme der Emissionsintensität mit steigendem pH-Wert. Wie schon bei der Probe BTB-R-1200 beobachtet, kommt es auch hier bei hohen pH-Werten zu einer Verschiebung des Emissionsmaximums zu höheren Wellenlängen. Auch hier wird das Integral der Emission bei einem pH-Wert von 13.52 als Null definiert.

Für eine genauere Betrachtung des Emissionsverhaltens erfolgt in Abbildung 6.42 eine Auftragung der integrierten Emissionsspektren gegen den jeweiligen pH-Wert. Hier wird der zuvor erkannte Trend noch deutlicher. Das Maximum der Emission liegt bei einem pH-Wert von etwa 6. Unterhalb dieses pH-Wertes nimmt die Intensität, vermutlich bedingt durch statisches Löschen durch die hohe Konzentration an Protonen, stetig ab.

Auch oberhalb eines pH-Wertes von 6 kommt es zu einer Abnahme der Emission, hier ist anzunehmen, dass ein Förster-Resonanz-Energie-Transfer, bedingt durch den spektralen Überlapp zwischen der Donor-Emission und der Absorptionsbande der basischen Form des Indikatorfarbstoffs die Ursache ist.

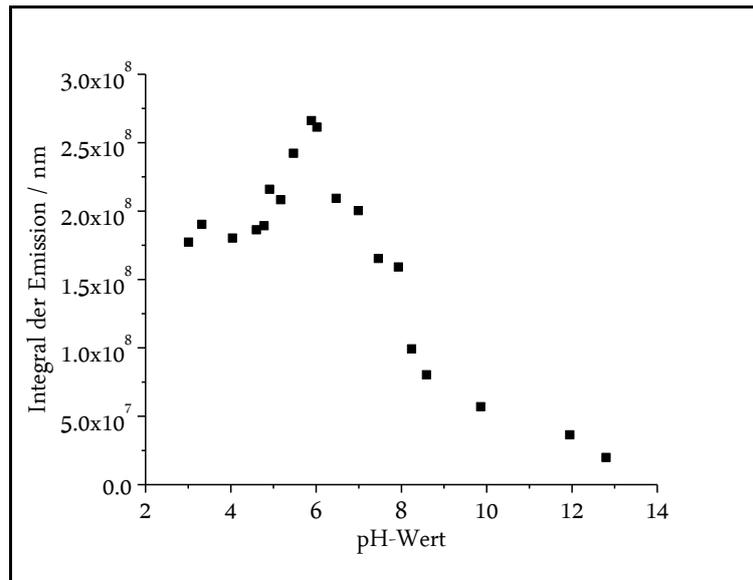


Abbildung 6.42: Auftragung der integrierten Emissionsspektren des Experiments BKP-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten.

Um den Löschvorgang genau beschreiben und eindeutig auf den spektralen Überlapp mit der Absorption des pH-Indikatorfarbstoffs zurückführen zu können, erfolgt in Abbildung 6.43 eine Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten der Probe BKP-R-1200 bei unterschiedlichen pH-Werten.

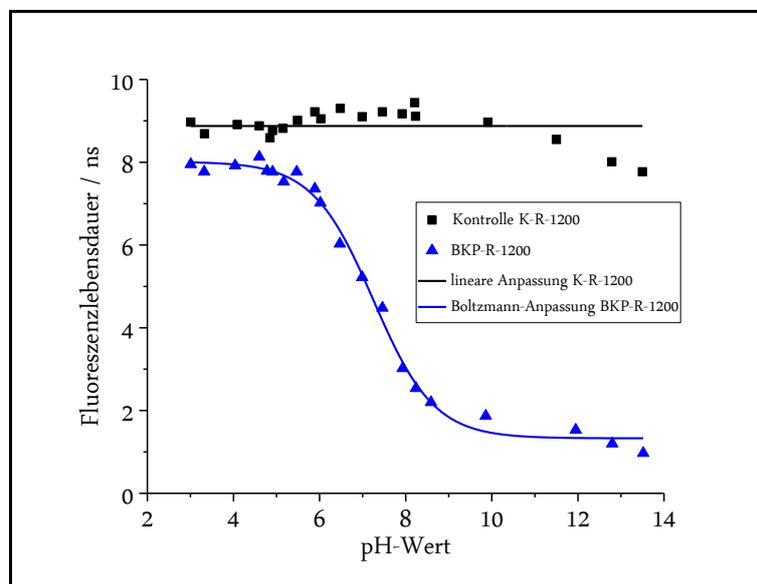


Abbildung 6.43: Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten des Experiments BKP-R-1200 in wässrigem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten sowie einer Anpassung nach Boltzmann (blau). Zusätzlich sind die Fluoreszenzzerfallszeiten des Kontrollexperimentes K-R-1200 sowie deren lineare Anpassung in schwarz als Referenz aufgetragen.

Hier wird, genau wie bereits bei Probe BTB-R-1200 beschrieben, ersichtlich, dass das Löschen der Emissionsintensität bei niedrigen pH-Werten keinerlei Einfluss auf die Fluoreszenzzerfallszeiten hat. Diese liegen über einen pH-Bereich von $\text{pH} = 3$ bis $\text{pH} = 5.7$ etwa konstant bei 8 ns. Somit handelt es sich bei der Fluoreszenzlöschung im sauren Bereich um ein statisches Löschen, welches durch die hohen Protonenkonzentrationen verursacht wird. Erst bei pH-Werten oberhalb von 5.7 kommt es neben dem Löschen der Fluoreszenzintensität zu einem Absinken der Fluoreszenzzerfallszeiten bis zu einem Wert von etwa 1 ns. Damit lässt sich annehmen, dass es sich bei den Löschprozessen im basischen Milieu um dynamisches Löschen handelt, welches auf einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer zwischen der Donor-Emission und Absorption der basischen Form des Indikatorfarbstoffs zurückzuführen ist. Durch eine Boltzmann-Anpassung konnten die Plateaus im Sauren bei 8.0 ns und im Basischen bei 1.3 ns bestimmt werden, wobei es im basischen Milieu weiter zu einer Absenkung der Abklingzeiten unterhalb des Plateaus kommt. Im Vergleich zu den Zerfallszeiten des Kontrolllexperiments ist die Fluoreszenzzerfallszeit der Probe BKP-R-1200 auch im Bereich niedriger pH-Werte von etwa 9 ns bei der Kontrolle auf einen Wert von 8 ns leicht abgesenkt. Das lässt sich damit begründen, dass auch die saure Form des pH-Indikators einen sehr geringen spektralen Überlapp mit der Donor-Emission hat (vgl. Abschnitt 6.2.3, Abbildung 6.12) und damit in der Lage ist, die Fluoreszenz dynamisch zu löschen. Im Vergleich zum in BTB-R-1200 verwendeten Sty-BTB ist der Überlapp bei Sty-BKP deutlich geringer, daher ist auch das Löschen in der sauren Form bei Probe BTB-R-1200 deutlich höher als bei Probe BKP-R-1200. Die Fluoreszenzzerfallsteiten der Probe BTB-R-1200 sind im sauren Bereich im Vergleich zur Kontrolle K-R-1200 um etwa 3 ns auf 6 ns abgesenkt, die Zerfallszeiten der Probe BKP-R-1200 nur um etwa 1 ns auf 8 ns.

Um die Löschprozesse detailliert beschreiben zu können, erfolgt in Abbildung 6.44 die Stern-Volmer-Auftragung. Hierbei werden die Terme $\frac{F_0}{F}$ und $\frac{\tau_0}{\tau}$ einerseits gegen die optische Dichte OD bei 592 nm aufgetragen (links), da die dort auftretende Absorptionsbande des pH-Indikators verantwortlich für die Löschprozesse ist. Andererseits erfolgt auch eine Auftragung gegen die Hydroxidkonzentration (rechts). Als F_0 und τ_0 dienen die Intensität und Zerfallszeit bei der geringsten optischen Dichte.

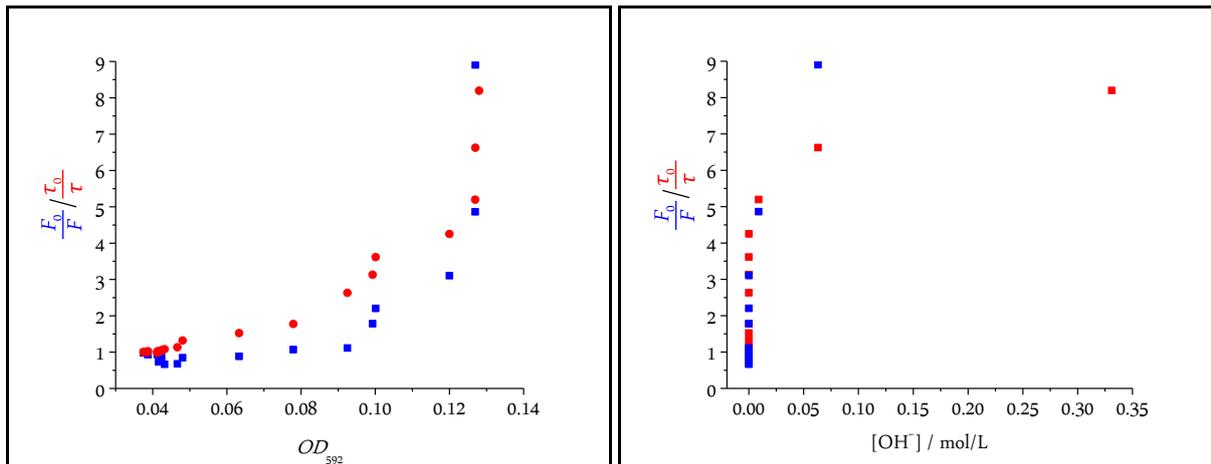


Abbildung 6.44: Auftragung der Terme $\frac{F_0}{F}$ in blau und $\frac{\tau_0}{\tau}$ in rot gegen die optische Dichte bei 592 nm (links) sowie gegen die Konzentration an Hydroxid-Ionen (rechts) für das Experiment BKP-R-1200. Die Fluoreszenzintensität und -zerfallszeit nehmen mit zunehmender optischer Dichte ab. Die Erhöhung der optischen Dichte bei 592 nm bewirkt somit ein dynamisches Löschen.

Die Werte für die Ausdrücke $\frac{F_0}{F}$ und $\frac{\tau_0}{\tau}$ steigen mit zunehmender optischer Dichte in einem ähnlichen Niveau an. Da beide Terme ansteigen, kann ein rein statisches Löschen ausgeschlossen werden. Für die Emissionsintensität und Fluoreszenzzerfallszeit geht aus dieser Auftragung konkret hervor: Je höher die optische Dichte ist, desto geringer werden die Emissionsintensität und Fluoreszenzzerfallszeit. Da auch hier in der Auftragung gegen die optische Dichte kein lineares Verhalten erhalten wird, ist davon auszugehen, dass auch hier mehr als ein dynamischer Löschprozess vorliegt. Konkret bedeutet das, dass es zusätzlich zu dem dynamischen Löschprozess durch den pH-Indikatorfarbstoff zu einem weiteren, durch Hydroxid-Ionen verursachten Löschprozess kommt, wie er bereits zuvor bei der Probe BTB-R-1200 und auch bei der Kontrolle K-R-1200 beobachtet werden konnte. Weiterhin fällt auf, dass in der Stern-Volmer-Auftragung der Term der Abklingzeiten meist über dem der Intensitäten liegt. Da dynamische Löschprozesse die Zerfallszeit sowie die Fluoreszenzintensität stets in gleichem Maße löschen, müssen diese Ergebnisse kritisch betrachtet werden. Insbesondere bei sehr kleinen Abklingzeiten im Bereich von unter 2 ns gerät die Messmethode an ihre Grenzen. Da jedoch nahezu alle Terme der Abklingzeiten oberhalb der Terme der Intensitäten liegen, ist es naheliegend, dass es bereits bei der Bestimmung von τ_0 zu einem Messfehler gekommen ist, da sich dieser im Anschluss auf alle Werte für $\frac{\tau_0}{\tau}$ auswirkt.

Nichtsdestotrotz lässt sich festhalten, dass es erfolgreich gelungen ist, den pH-Indikatorfarbstoff Sty-BKP an die Oberfläche der Partikelkonstrukte zu binden. An der Oberfläche

ist der Indikatorfarbstoff in der Lage das Emissionsverhalten der Partikel über einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer pH-abhängig zu beeinflussen.

6.4 Reversibilität der pH-Sensoren

Um zweifelsfrei zu zeigen, dass die gezeigten Löschprozesse auf einen Energietransfer zwischen der Partikel-Emission und der Farbstoffabsorption zurückzuführen sind, erfolgt in diesem Abschnitt eine Untersuchung der Konstrukte auf Reversibilität. Die Annahme dahinter ist, dass bei einer pH-Wertänderung ein Farbumschlag des Indikators erzeugt wird, der unmittelbar ein Umschalten des Fluoreszenzverhaltens der Konstrukte bewirken soll. Dazu wird in der Probe abwechselnd ein basischer und ein saurer pH-Wert eingestellt. Diese Wechsel der pH-Werte werden nachfolgend für alle Proben, auch für die Kontroll-experimente, dargestellt.

pH-Wertänderung der Kontrolle K-G-1200

Für einen Vergleich wird dieses Prozedere zunächst für die Kontrollexperimente ausgewertet. In Abbildung 6.45 finden sich die Emissionsspektren der Probe K-G-1200 bei den verschiedenen pH-Werten. Der pH-Wert der Probe wurde insgesamt sechsmal verändert.

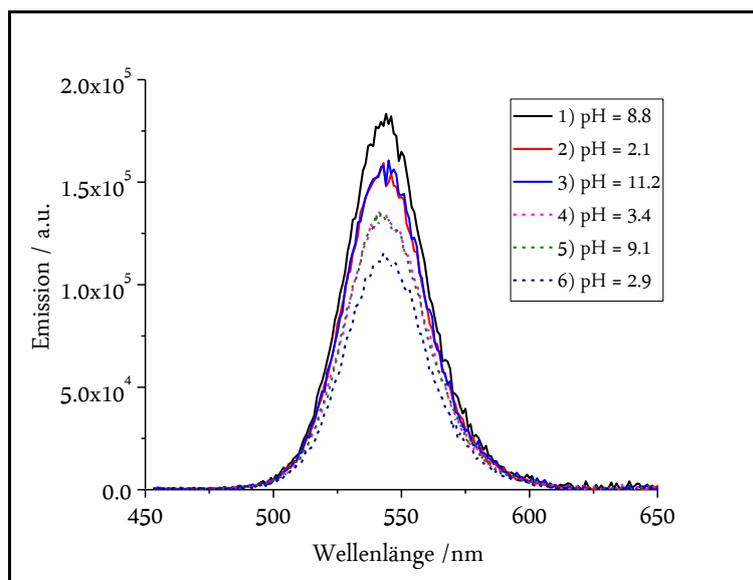


Abbildung 6.45: Emissionsspektren bei der pH-Wertänderung der Kontrolle K-G-1200 ohne Indikatorfarbstoff.

Deutlich zu erkennen ist, dass mit jeder Erniedrigung des pH-Wertes die Fluoreszenzintensität abnimmt. Bei anschließender Erhöhung des pH-Wertes bleibt die Intensität in etwa konstant.

Noch deutlicher wird dieses Verhalten in Abbildung 6.46. Dort sind die Verläufe der integrierten Emissionsspektren gegen die jeweiligen pH-Werte aufgetragen.

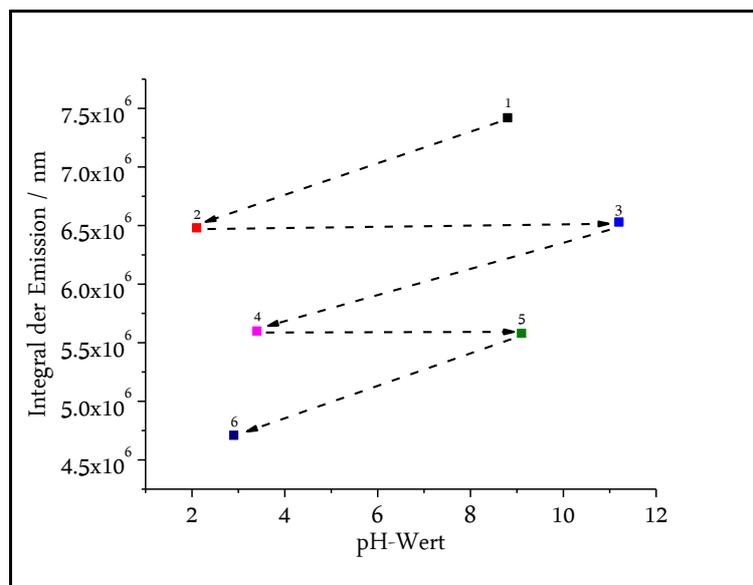


Abbildung 6.46: Verlauf der integrierten Emissionsspektren bei der pH-Wertänderung der Kontrolle K-G-1200 ohne Indikatorfarbstoff.

Hier wird ebenso ersichtlich, dass jede Absenkung des pH-Wertes zu einer irreversiblen Löschung der Emission führt. Diese kann nicht durch eine Erhöhung des pH-Wertes wieder rückgängig gemacht werden. Dieses Verhalten der Probe deutet auf ein statisches Löschen durch die Protonen hin.

In Abbildung 6.47 sind die bestimmten Fluoreszenzzerfallszeiten der Kontrolle K-G-1200 bei den pH-Wertänderungen aufgetragen.

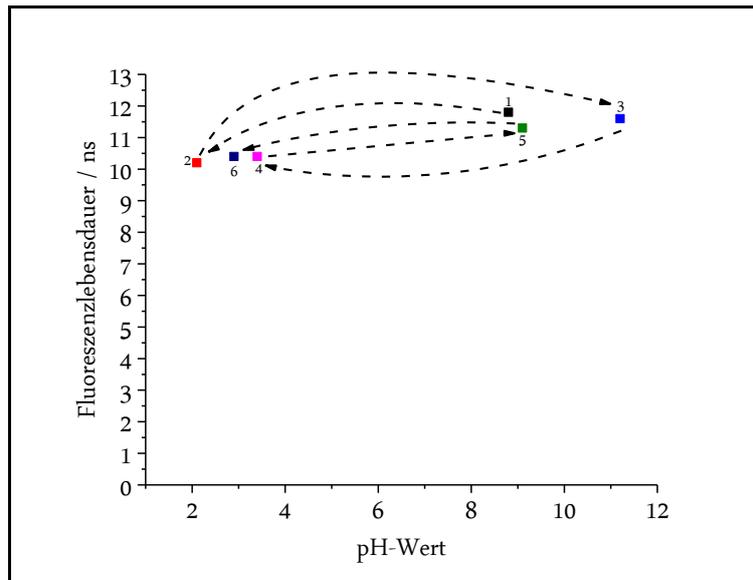


Abbildung 6.47: Verlauf der Fluoreszenzzerfallszeiten bei der pH-Wertänderung der Kontrolle K-G-1200 ohne pH-Indikator.

Hier lässt sich kein pH-abhängiges Verhalten erkennen. Die Zerfallszeiten schwanken unabhängig vom pH-Wert und der Reihenfolge zwischen etwa 10 und 12 ns. Bei jeder Erniedrigung des pH-Wertes nimmt die Emissionsintensität signifikant und irreversibel ab, wobei die Fluoreszenzzerfallszeiten nahezu konstant bleiben. Hieraus lässt sich ableiten, dass die Kontrolle K-G-1200 auf Basis der grünen Partikel lediglich einem irreversiblen statischen Löschen durch die Protonen unterliegt.

pH-Wertänderung der Kontrolle K-R-1200

In Abbildung 6.48 finden sich die Emissionsspektren der Kontrolle K-R-1200, basierend auf roten Partikeln, bei den jeweiligen pH-Wertänderungen.

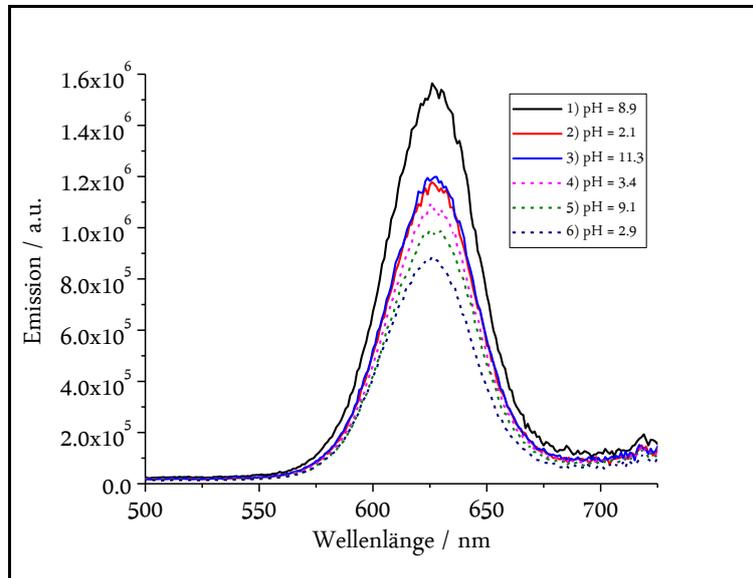


Abbildung 6.48: Emissionsspektren bei der pH-Wertänderung der Kontrolle K-R-1200 ohne Indikatorfarbstoff.

Auch bei dieser Probe ist insgesamt sechs Mal zwischen sauren und basischen pH-Werten hin- und hergewechselt worden. Deutlich zu erkennen ist auch hier, dass mit jeder Erniedrigung des pH-Wertes die Fluoreszenzintensität abnimmt. Bei anschließender Erhöhung des pH-Wertes bleibt die Intensität in etwa konstant, oder nimmt weiter ab. Eine signifikante Erhöhung der Intensität erfolgt jedoch in keinem Fall. Dies zeigt auch deutlich Abbildung 6.49, in der der Verlauf der integrierten Emissionsspektren bei den pH-Wertänderungen dargestellt ist.

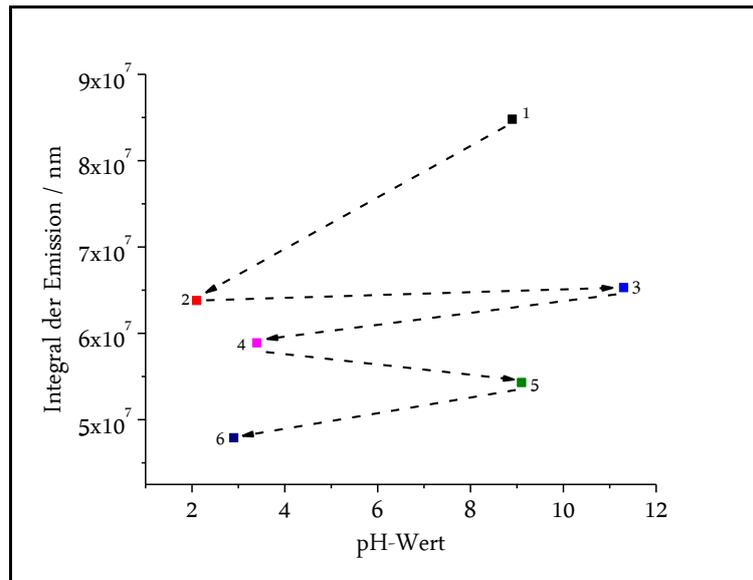


Abbildung 6.49: Verlauf der integrierten Emissionsspektren bei Änderung des pH-Wertes der Kontrolle K-R-1200 ohne Indikatorfarbstoff.

Es ist gut zu erkennen, dass jede Erniedrigung des pH-Wertes auch eine Verringerung der Emissionsintensität zur Folge hat. Eine Erhöhung der Intensität durch Erhöhung des pH-Wertes ist hingegen nicht möglich. Dieses Verhalten spricht für einen statischen Löschprozess, durch die hohen Protonenkonzentrationen im sauren Milieu. Um das zu bestätigen sind in Abbildung 6.50 die Fluoreszenzzerfallszeiten der Kontrolle K-R-1200 bei den jeweiligen pH-Wertänderungen dargestellt.

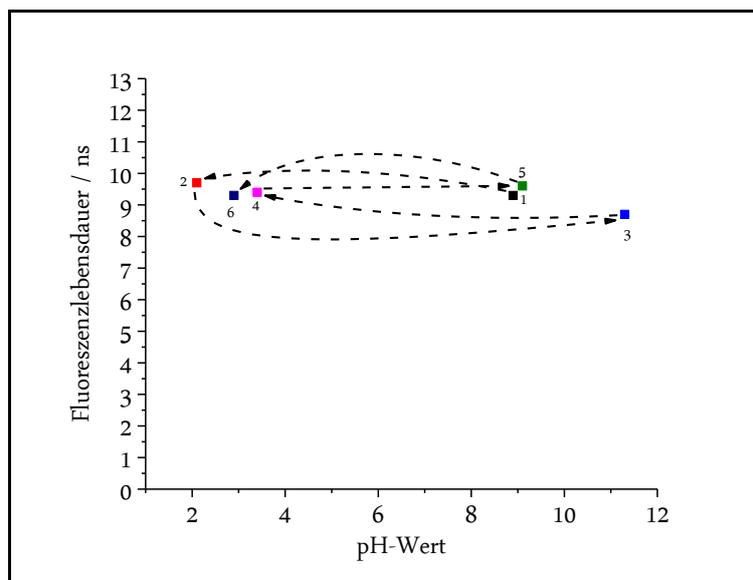


Abbildung 6.50: Verlauf der Fluoreszenzzerfallszeiten bei Änderung des pH-Wertes der Kontrolle K-R-1200 ohne pH-Indikator.

Auch hier ähnelt das Verhalten der Kontrolle K-R-1200 dem der Kontrolle K-G-1200. Die Fluoreszenzzerfallszeiten bleiben unabhängig vom pH-Wert konstant in einem Bereich von 8.5 – 10 ns.

Somit lässt sich sagen, dass bei der Kontrolle K-R-1200 ebenfalls lediglich ein irreversibles statisches Löschen durch die Protonen vorliegt. Bei jeder Erniedrigung des pH-Wertes nimmt die Emissionsintensität signifikant und irreversibel ab, wobei die Fluoreszenzzerfallszeiten unabhängig vom pH-Wert und der Abfolge der pH-Wertänderungen sind.

pH-Wertänderung der Probe MR-G-1200 mit dem pH-Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty

Bei dieser Probe ist ein Löschen durch einen FRET im sauren Milieu zu erwarten. In Abbildung 6.51 finden sich die Emissionsspektren der Probe MR-G-1200 mit dem pH-Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty bei den jeweiligen pH-Wertänderungen.

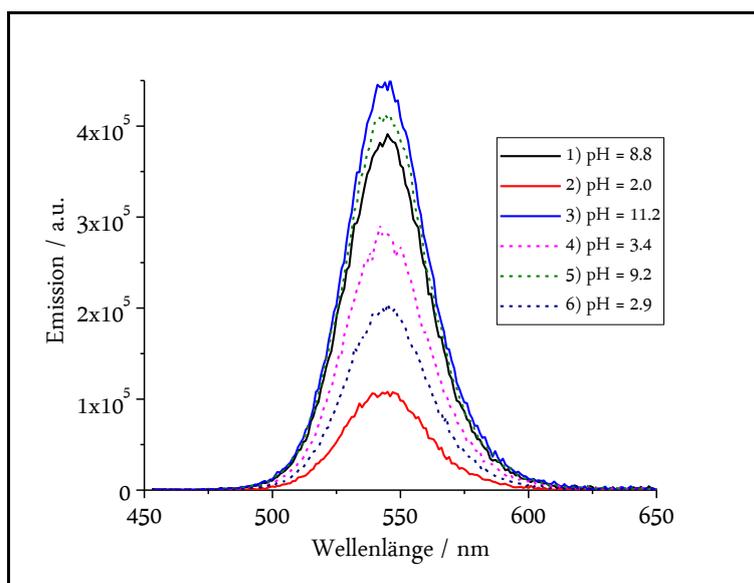


Abbildung 6.51: Emissionsspektren der Probe MR-G-1200 mit Iod-MR-Sty bei Änderung des pH-Werts.

Es lässt sich eindeutig erkennen, dass die pH-Werte deutlichen Einfluss auf die Emissionsintensität haben. Je niedriger der pH-Wert, desto geringer ist auch die Intensität. Im Unterschied zum Kontrolllexperiment ist in diesem Fall jedoch bei anschließender Erhöhung des pH-Wertes ein Anstieg, also eine Regeneration der Emission zu beobachten.

Noch deutlicher wird dieses Verhalten in Abbildung 6.52. Dort sind die integrierten Emissionsspektren bei den jeweiligen pH-Wertänderungen der Probe MR-G-1200 gegen den pH-Wert aufgetragen.

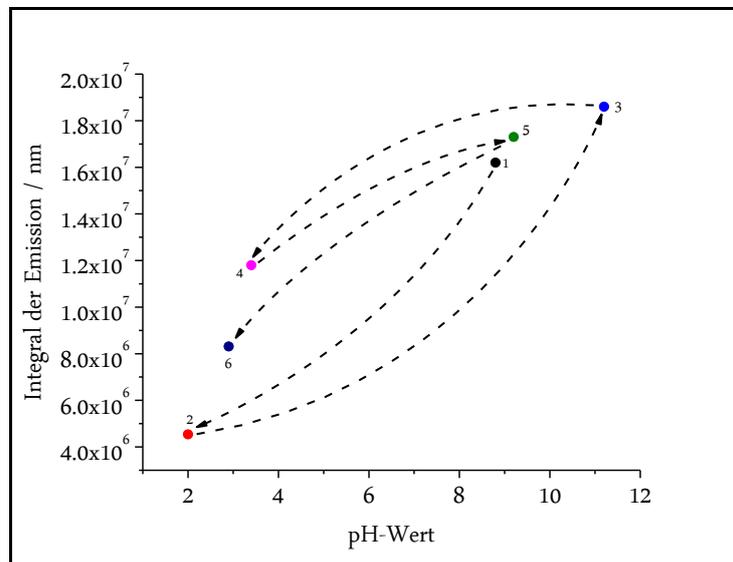


Abbildung 6.52: Verlauf der integrierten Emissionsspektren der Probe MR-G-1200 mit Iod-MR-Sty bei Änderung des pH-Wertes.

Aus der Abbildung wird das zuvor beschriebene Verhalten der Probe noch schneller ersichtlich. Eine Erniedrigung des pH-Wertes resultiert in einer Abnahme der Fluoreszenzintensität. Bei anschließender Erhöhung des pH-Wertes nimmt auch die Fluoreszenzintensität wieder zu, da der spektrale Überlapp der Absorption des pH-Indikators mit der Partikel-Emission abnimmt. Je niedriger der pH-Wert ist, desto niedriger ist auch die Emissionsintensität. Dieses Verhalten bleibt auch nach insgesamt sechs pH-Wert-Änderungen reversibel. In Abbildung 6.53 sind die aus der pH-Wertänderung erhaltenen Fluoreszenzzerfallszeiten aufgetragen. Zum Vergleich sind die Fluoreszenzzerfallszeiten der Kontrolle K-G-1200 zusätzlich mit aufgetragen.

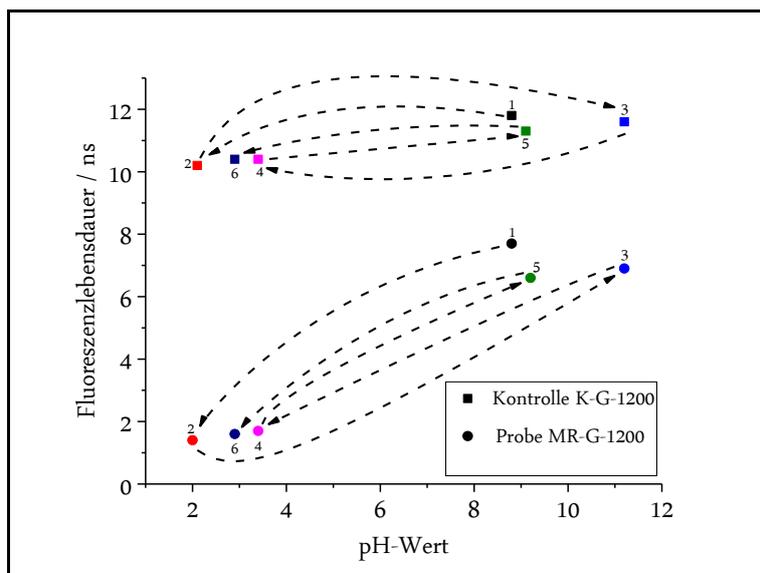


Abbildung 6.53: Verlauf der Fluoreszenzzerfallszeiten der Probe MR-G-1200 mit Iod-MR-Sty (Kreise) sowie beim Kontrollexperiment K-G-1200 (Quadrate) bei den pH-Wertänderungen.

Aus der Auftragung wird sofort ersichtlich, dass nicht nur die Emissionsintensitäten, sondern auch die Fluoreszenzzerfallszeiten mit abnehmenden pH-Wert sinken. Dieses Verhalten ist ebenfalls reversibel. Zusätzlich fällt auf, dass die Emissionsintensität bei Position 2 deutlich stärker gelöscht ist als die dazugehörige Zerfallszeit. Das lässt darauf schließen, dass zusätzlich zu den dynamischen Lösprozessen, auch hier ein statisches Protonenlöschen vorliegt. Die Fluoreszenzzerfallszeiten verhalten sich ähnlich reversibel wie die Emissionsintensität. Das zeigt zweifelsfrei, dass das dynamische Löschen, welches bei dieser Probe beobachtet werden kann, auf den Förster-Resonanz-Energie-Transfer, bedingt durch den spektralen Überlapp der Partikel-Emission mit der Absorptionsbande der sauren Form pH-Indikatorfarbstoff Iod-MR-Sty, zurückgeht. Es ist erfolgreich gelungen pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen darzustellen, welche sich bei niedrigen pH-Werten „ausschalten“ und bei hohen pH-Werten wieder „einschalten“ lassen.

pH-Wertänderung der Probe BTB-R-1200 mit dem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BTB

Bei dieser Probe ist ein Löschen durch einen FRET im basischen Milieu zu erwarten. In Abbildung 6.54 finden sich die Emissionsspektren bei den jeweiligen pH-Wertänderungen der Probe BTB-R-1200 mit dem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BTB.

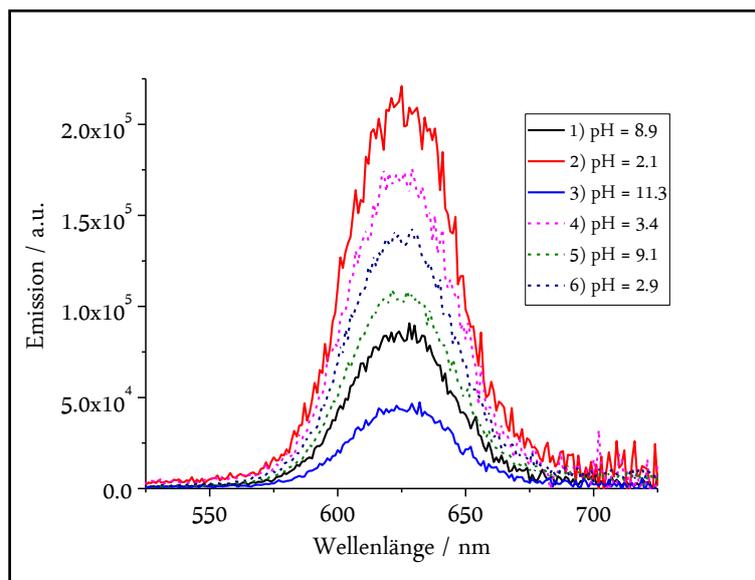


Abbildung 6.54: Emissionsspektren der Probe BTB-R-1200 mit dem pH-Indikator Sty-BTB bei den jeweiligen Änderungen des pH-Wertes.

Deutlich zu erkennen ist der Einfluss des pH-Wertes auf die Emissionsintensität. Die höchsten pH-Werte weisen die niedrigsten Intensitäten auf. Auch hier ist der Löschprozess reversibel. Bei Änderung des pH-Wertes von einem hohen zu einem niedrigeren Wert nimmt auch die Emissionsintensität wieder zu. Zur besseren Veranschaulichung erfolgt in *Abbildung 6.55* eine Auftragung der integrierten Emissionsspektren gegen den pH-Wert.

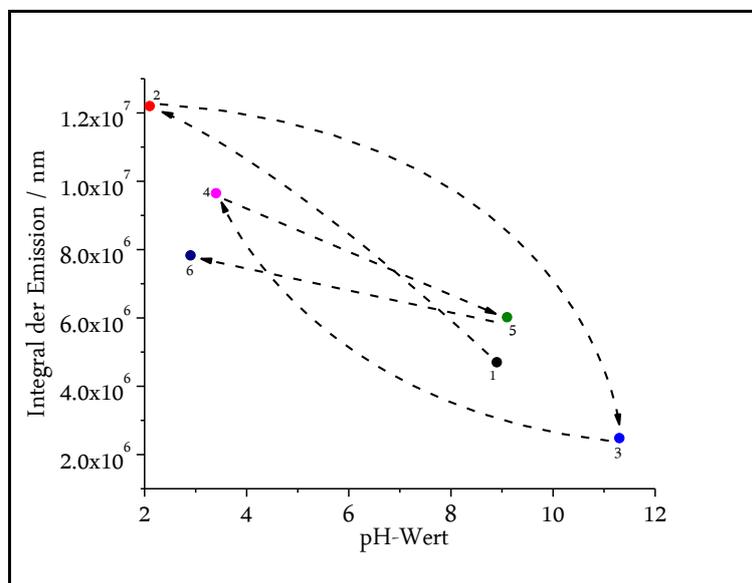


Abbildung 6.55: Verlauf der integrierten Emissionsspektren der Probe BTB-R-1200 mit dem Indikatorfarbstoff Sty-BTB bei den pH-Wertänderungen.

Aus der Auftragung wird schnell das gegenläufige Verhalten im Vergleich zum Kontroll-experiment deutlich. Bei dieser Probe findet das Löschen bei hohen pH-Werten statt. Bei

anschließender Absenkung des pH-Wertes nimmt der spektrale Überlapp der Absorptionsbande des pH-Indikators mit der Partikel-Emission ab, daher kommt es zu einem Anstieg in der Emissionsintensität. Der Löschvorgang ist somit über mindestens sechs pH-Wert-Wechsel reversibel. Weiterhin fällt auch hier ein durch Protonen verursachter, irreversibler Löschprozess auf. Dabei nimmt die Intensität der Probe von Position 2 über 4 nach 6 irreversibel ab. Zur weiteren Charakterisierung der Löschprozesse erfolgt in Abbildung 6.56 eine Auftragung der Fluoreszenzzerfallszeiten der Probe BTB-R-1200 bei den jeweiligen pH-Wertänderungen.

Zum Vergleich sind die Fluoreszenzzerfallszeiten der Kontrolle K-R-1200 zusätzlich mit aufgetragen. Aus der Auftragung wird sofort ersichtlich, dass zusätzlich zu den Emissionsintensitäten, auch die Fluoreszenzzerfallszeiten mit steigendem pH-Wert sinken.

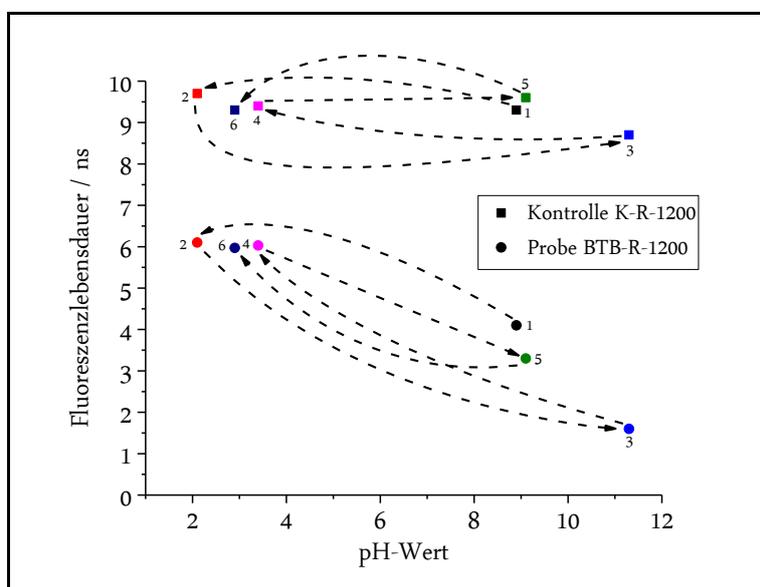


Abbildung 6.56: Verlauf der Fluoreszenzzerfallszeiten der Probe BTB-R-1200 mit Sty-BTB (Kreise) sowie beim Kontrollexperiment K-R-1200 (Quadrate) bei den pH-Wertänderungen.

Die Fluoreszenzzerfallszeiten verhalten sich dabei ähnlich reversibel wie die Emissionsintensität: Bei hohen pH-Werten sind die Fluoreszenzzerfallszeiten gering. Kommt es zu einer Absenkung des pH-Wertes, steigen die Zerfallszeiten wieder an. Das deutet eindeutig darauf hin, dass der Löschvorgang, welcher bei dieser Probe zu beobachten ist, auf den Förster-Resonanz-Energie-Transfer, bedingt durch den spektralen Überlapp der Partikel-Emission mit der Absorptionsbande des pH-Indikatorfarbstoff Sty-BTB im basischen Milieu zurückgeht. Neben dem dynamischen Löschprozess durch den Indikatorfarbstoff kann hier der bereits zuvor erwähnte irreversible Löschprozess im Säuren erklärt werden.

Da dieser Prozess allein die Fluoreszenzintensitäten, nicht aber die die Zerfallszeiten beeinflusst, liegt ein rein statischer Löschprozess vor, welcher auf die hohen Protonenkonzentrationen zurückzuführen ist.

Die Probe BTB-R-1200 weist über die Position von 2 über 4 nach 6 keine Veränderung in den Fluoreszenzzerfallszeiten, sondern lediglich der Fluoreszenzintensitäten auf. Daher ist der Löschvorgang, der in der Emissionsintensität in diesem Bereich auftritt, ein statischer, irreversibler Löschprozess, der durch die hohen Protonenkonzentrationen bei niedrigen pH-Werten verursacht wird. Es konnte gezeigt werden, dass die Darstellung von pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen, welche sich im basischen Milieu „ausschalten“ und im sauren wieder „einschalten“ lassen, erfolgreich gelungen ist.

pH-Wertänderung der Probe BKP-R-1200 mit dem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BKP

Bei dieser Probe ist ein Löschen durch einen FRET im basischen Milieu zu erwarten. In Abbildung 6.57 finden sich die Emissionsspektren der Probe BKP-R-1200 mit dem pH-Indikatorfarbstoff Sty-BKP bei den unterschiedlichen pH-Wertänderungen. Deutlich zu erkennen ist auch hier der Einfluss des pH-Wertes auf die Emissionsintensität.

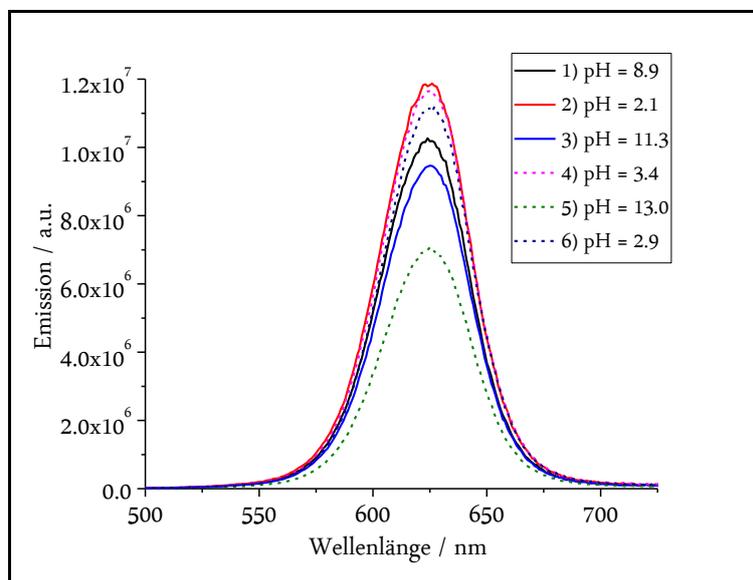


Abbildung 6.57: Emissionsspektren der Probe BKP-R-1200 mit dem pH-Indikator Sty-BKP bei den jeweiligen pH-Wertänderungen.

Die höchsten pH-Werte weisen die niedrigsten Emissionsintensitäten auf. Bei einer anschließenden Absenkung des pH-Wertes kommt es zu einem erneuten Anstieg der Emis-

sion. Zur besseren Veranschaulichung erfolgt in Abbildung 6.58 eine Auftragung der integrierten Emissionsspektren gegen den pH-Wert. Aus der Auftragung wird hier das gegenläufige Verhalten im Vergleich zum Kontrollexperiment deutlich. Bei der Probe BKP-R-1200 findet das Löschen bei hohen pH-Werten statt. Bei anschließender Absenkung des pH-Wertes nimmt auch der spektrale Überlapp der Absorptionsbande des pH-Indikators mit der Partikel-Emission ab, daher kommt es zu einem Anstieg in der Emissionsintensität. Der Löschvorgang ist somit über mindestens sechs pH-Wert-Wechsel reversibel.

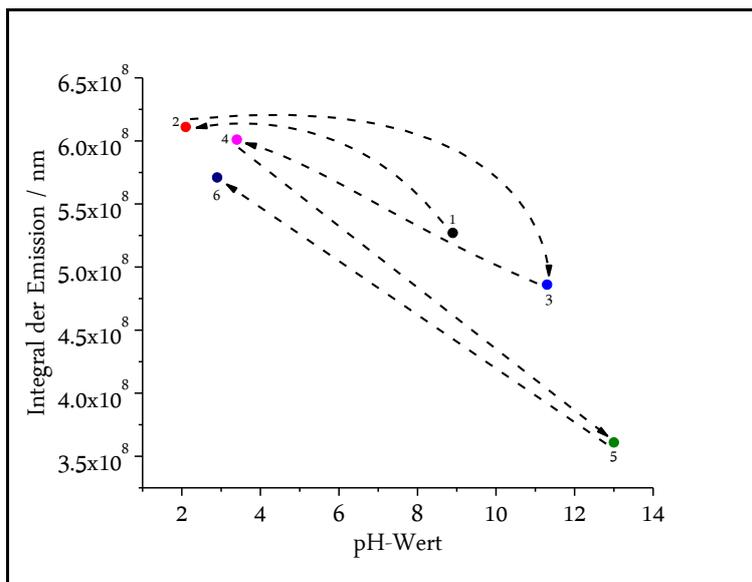


Abbildung 6.58: Verlauf der integrierten Emissionsspektren der Probe BKP-R-1200 mit dem Indikatorfarbstoff Sty-BKP bei den pH-Wertänderungen.

Bei Betrachtung der Änderung der integrierten Emission von Position 2 über 4 nach 6 kann auch bei dieser Probe ein gewisses Ausmaß eines irreversiblen Löschprozesses beobachtet werden. Auch bei dem Verlauf von 1 über 3 nach 5 fällt die Intensität ab, wobei zu diesem Zeitpunkt nicht eindeutig geklärt werden kann, ob es sich dabei um die direkten Auswirkungen des statischen Löschprozesses aus den jeweils vorangegangenen niedrigen pH-Werten handelt. Für weitere Charakterisierungen der Löschprozesse erfolgt in Abbildung 6.59 eine Auftragung der erhaltenen Fluoreszenzzerfallszeiten gegen den jeweiligen pH-Wert. Zum Vergleich sind die Fluoreszenzzerfallszeiten der Kontrolle K-R-1200 zusätzlich mit aufgetragen.

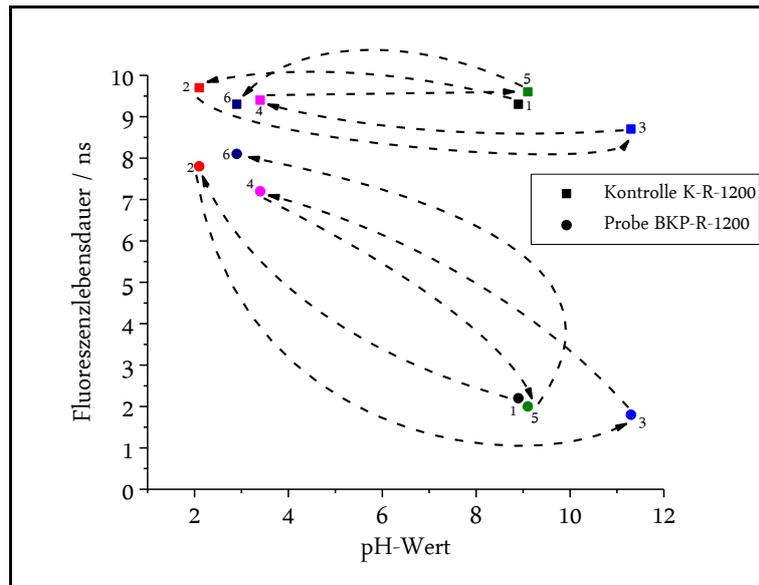


Abbildung 6.59: Verlauf der Fluoreszenzzerfallszeiten der Probe BKP-R-1200 mit Sty-BKP (Kreise) sowie beim Kontrolllexperiment K-R-1200 (Quadrate) bei den jeweiligen Änderungen des pH-Werts.

Aus der Auftragung wird sofort ersichtlich, dass zusätzlich zu den Emissionsintensitäten, auch die Fluoreszenzzerfallszeiten mit steigendem pH-Wert absinken. Sowohl die Emissionsintensität als auch die Fluoreszenzzerfallszeiten weisen dabei ein reversibles Verhalten auf. Das belegt eindeutig, dass der Löschvorgang, welcher bei dieser Probe zu beobachten ist, auf den Förster-Resonanz-Energie-Transfer, bedingt durch den spektralen Überlapp der Partikel-Emission mit der Absorptionsbande der basischen Form des pH-Indikatorfarbstoff Sty-BKP zurückgeht. Ferner zeigt sich, dass der Löschprozess im sauren Milieu von 2 über 4 nach 6, welche bei den Intensitäten zu beobachten ist, keine Auswirkungen auf die Zerfallszeiten hat. Daher handelt es sich dabei um einen rein statischen Löschprozess, der auf die hohen Protonenkonzentrationen bei niedrigen pH-Werten zurückzuführen ist.

Auch hier ist es erfolgreich gelungen pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen darzustellen, welche sich im basischen Milieu „ausschalten“ und im sauren wieder „einschalten“ lassen.

7 **Ausblick**

In dieser Arbeit konnten erfolgreich pH-Sensoren auf Basis von Halbleiternanokristallen dargestellt werden. Es konnte bewiesen werden, dass das zu Grunde gelegte Konzept des Förster-Resonanz-Energie-Transfers für das System ausgezeichnet angewendet werden kann. Nun stehen die Türen für eine Vielfalt an weiteren pH-Indikatoren offen. Durch andere und/oder weitere Substituenten an der Anthranilsäure des Methylrots, wie zum Beispiel eine Trifluormethoxy- oder Nitro-Gruppe, könnte das Absorptionsverhalten bezüglich eines Förster-Resonanz-Energietransfers weiter optimiert werden. Mit der Suzuki-Kupplung lassen sich weitere bromhaltige Triphenylmethanfarbstoffe wie zum Beispiel Bromkresolgrün oder Bromxylenolblau für diesen Prozess funktionalisieren.

Weiterhin ist es notwendig den Förster-Resonanz-Energie-Transfer für das System genauer zu betrachten. So erlauben gezielte kugelförmige oder zylindrische Verkapselungen mit definierten Farbstoffabständen Rückschlüsse auf die Position des Übergangsdipolmoments von stäbchenförmigen *QuantumDots-in-QuantumRods*. Die Gruppe um Uri Banin hat bereits beschrieben, dass die Dimensionalität eine entscheidende Rolle bei Energie-Transfer-Prozessen spielt.²⁴ Auch kann über eine Optimierung des Verkapselungsprozesses eine weitere Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Konstrukte gegen statisches Protonenlösen erreicht werden.

Schlussendlich sollen diese pH-Sensoren dazu verwendet werden, biologische Prozesse durch Methoden der Einzelpartikelabbildung besser darstellen zu können. So können neue Möglichkeiten in der medizinischen Diagnostik erschlossen werden. Werden diese Konstrukte zukünftig zum Beispiel zur Markierung von Biomolekülen oder Geweben eingesetzt, so können mittels unterschiedlicher Methoden der Fluoreszenzmikroskopie, wie zum Beispiel mittels Fluoreszenzzerfallszeitmikroskopie (FLIM), biologische Prozesse fluoreszenzmikroskopisch verfolgt werden.

8 Experimenteller Teil

8.1 verwendete Edukte und Reagenzien

In Tabelle 8.1 sind alle verwendete Reagenzien aufgeführt. Mit Ausnahme von Styrol und Divinylbenzol wurden alle Substanzen ohne weitere Reinigung eingesetzt. Styrol und Divinylbenzol wurden vor der Verwendung destillativ gereinigt, um den Stabilisator BHT abzutrennen.

Tabelle 8.1: Auflistung verwendeter Reagenzien.

Substanz	Hersteller	Reinheit / Qualität
Bromkresolpurpur	Carl Roth GmbH	p.a., ACS
Bromthymolblau	Merck KGaA	ACS
CdSe/CdS-DotRods	CAN GmbH / Fraunhofer-IAP CAN	in <i>n</i> -Hexan
Divinylbenzol	Merck KGaA	<i>for synthesis</i> , 60 – 65%, Iso- merengemisch, stabilisiert mit 200 ppm BHT
Citratpuffer pH = 3	Carl Roth GmbH	pH = 3.00 ± 0.02 (20 °C)
Essigsäure	chemolute	99.5% p.a.
5-Iod-Anthransäure	Sigma-Aldrich	97%
Kaliumphosphat	Sigma-Aldrich	≥ 98.0%
<i>N</i> -Methylanilin	Sigma-Aldrich	pure, ≥ 98.0%
Natriumcarbonat	Merck KGaA	Ph. Eur.
Natrumhydrogenphosphat- Dihydrat	Merck KGaA	Zur Analyse

Substanz	Hersteller	Reinheit / Qualität
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	Merck KGaA	reinst, > 98.0%
Natriumnitrit	Fluka Chemicals	> 98.0%
Natriumsulfat	Grüssing GmbH	reinst, wasserfrei
Natronlauge 1 M	Eigene Herstellung	
Salzsäure 37%	VWR	Reag. Ph. Eur, AnalaR NORMAPUR
Styrol	Merck KGaA	≥ 99.0%, stabilisiert mit 200 ppm BHT
Sucrose	Carl Roth GmbH	≥ 99.5% RNAse- und DNAse-frei
Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0)	Sigma-Aldrich	99%
VA-044	Wako Chemicals	
4-Vinylbenzylchlorid	Sigma-Aldrich	90%
4-Vinylphenylboronsäure	Sigma-Aldrich	≥ 95.0%

8.2 verwendete Lösungsmittel

Die kommerziell erhältlichen Lösungsmittel in nachfolgender Tabelle 8.2 wurden ohne weitere Reinigung verwendet.

Tabelle 8.2: Auflistung verwendeter Lösungsmittel.

Substanz	Hersteller	Reinheit / Qualität
Dichlormethan	VWR	100%, stabilisiert mit 0.2% EtOH
Chloroform	VWR	ACS, stabilisiert mit 0.6% EtOH
Chloroform- d_1	Eurisotop	stabilisiert mit Ag-Folie
DMSO- d_6	Deutero GmbH	99.8%
Ethanol	VWR	96.0 – 96.3%, unvergällt
Ethylacetat	VWR	100%
Methanol	VWR	100%
Tetrahydrofuran	VWR	stabilisiert mit 0.025 – 0.04% BHT

8.3 Methoden und Geräte

Nachfolgend werden die verwendeten Geräte und die angewandten Methoden kurz erläutert.

8.3.1 Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Fertigfolien des Typs *ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄* von *Macherey-Nagel* verwendet. Dabei handelt es sich um ein auf eine Aluminiumträgerplatte aufgebracht Kieselgel 60 mit Fluoreszenzindikator. Die Dünnschichtchromatographien wurden unter Kammersättigung durchgeführt. Die Bestimmung der R_f -Werte erfolgte bei farbigen Substanzen unter Weißlicht und bei UV-aktiven Substanzen unter UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

8.3.2 Säulenchromatographie

Die säulenchromatographische Reinigung von Reaktionsprodukten erfolgte an Kieselgel 60 mit einer Korngröße von 0.04 – 0.063 mm (230 – 400 mesh) des Herstellers *Macherey-Nagel*.

8.3.3 Dichtegradientenzentrifugation

Bei der Dichtegradientenzentrifugation handelt es sich um eine gängige Methode, um in der Biochemie Proteine oder Zellbestandteile nach der Größe aufzutrennen. Streng betrachtet erfolgt die Trennung nicht nach der Größe, sondern nach der Dichte, welche im Fall von Proteinen in der Regel direkt mit der Größe korreliert. In dieser Arbeit wurde diese Methode verwendet um die Nanopartikel-Polymerhybride von leeren Mizellen sowie niedermolekularen Bestandteilen abzutrennen. Dazu wurden unterschiedlich stark konzentrierte, sterile Sucrose-Lösungen (2.5%, 5 mL; 5.0%, 12 mL; 60%, 7 mL; m/v) sorgfältig übereinandergeschichtet. Nach dem Auftragen der Partikeldispersion (max. 2 mL) auf den Gradienten wurden diese bei 50 000 g für 12 h bei 15 °C zentrifugiert. Es wurde eine Zentrifuge des Typs *Sorvall™ RC 6 Plus* von *Thermo Scientific™* mit einem Rotor des Modells *SA300* verwendet. Die Einstellung für *Acceleration* betrug „4“, die Einstellung für

DecelARATION betrug „0“. Die Nanopartikel-Polymerhybride sammelten sich an der Grenzfläche zwischen der 5.0%igen und 60%igen Sucrose-Lösung.

8.3.4 NMR-Spektroskopie

Die NMR-spektroskopische Untersuchung der organischen Moleküle wurde in deuterierten Lösungsmitteln bei Raumtemperatur durchgeführt. Es wurden dabei folgende Geräte der NMR-Abteilung des Fachbereichs, unter der Leitung von Dr. Thomas Hackl, verwendet:

Bruker Fourier 300 (^1H -Resonanz: 300 MHz, ^{13}C -Resonanz: 75 MHz)

Bruker Avance I 400 (^1H -Resonanz: 400 MHz, ^{13}C -Resonanz: 100 MHz)

Bruker Avance III 400 (^1H -Resonanz: 400 MHz, ^{13}C -Resonanz: 100 MHz)

Die Kalibrierung innerhalb der Spektren erfolgte anhand der Lösungsmittelsignale:

- Chloroform: 7.26 bzw. 77.16 ppm (als CHCl_3 in CDCl_3)
- DMSO: 2.50 bzw. 39.52 ppm (als $\text{DMSO}-d_5$ in $\text{DMSO}-d_6$)

Die Zuordnung der Signale erfolgte unter Verwendung zweidimensionaler Spektren.

8.3.5 Massenspektrometrie

Die Massenspektren wurden durch die Massenspektrometrie-Abteilung des Fachbereichs, unter der Leitung von Dr. Maria Trusch, aufgenommen. Die hochaufgelösten ESI-Massenspektren wurden an einem Gerät des Typs *6224 Accurate-Mass-ToF*-Spektrometers der Firma *Agilent Technologies* angefertigt.

8.3.6 Absorptionsspektroskopie

Für die Messung der Absorptionsspektren wurden die Proben in Quarzglas- bzw. PMMA-Küvetten (10 mm Schichtdicke) an einem Spektrometer des Typs *Cary 50* der Firma *VARIAN* (heute: *Agilent Technologies*) über einen Wellenlängenbereich von 300 – 800 nm vermessen.

8.3.7 Emissionsspektroskopie

Für die Messung der Emissionsspektren wurden die Proben in Quarzglas- bzw. PMMA-Küvetten (10 mm Schichtdicke) an einem Emissionsspektrometer des Typs *FluoroMax4* der Firma *Horiba Jobin Yvon* vermessen. Die Proben wurden durch Licht mit einer Wellenlänge von 438 nm angeregt. Der Detektionswellenlängenbereich betrug 453 – 700 nm. Die Einstellung für die Spaltbreiten für Anregung und Detektion betragen jeweils „2“.

8.3.8 Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung

Mithilfe der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung ist es möglich die Fluoreszenzzerfallszeit der angeregten Zustände zu bestimmen. Dazu wurden die fluoreszierenden Proben mit einem gepulstem Diodenlaser des Typs *PDL 800-D* der Firma *PicoQuant* mit einer Wellenlänge von 438 nm angeregt. Die Aufzeichnung der Zerfallskurven erfolgte mit Hilfe eines *time-to-amplitude converters* von *Ortec*, eines *M300*-Monochromators von *Edinburgh* sowie eines *Photomultipliers* des Typs *PMA-M 185* von *PicoQuant*. Das Zeitintervall betrug 100 ns, der Messbereich wurde ebenfalls auf 100 ns skaliert.

8.3.9 Transmissionselektronenmikroskopie

Für die Aufnahme von TEM-Bildern wurden verdünnte Lösungen der Nanopartikel-Polymer-Hybride auf ein mit amorphem Kohlenstoff beschichtetes Kupfergrid (400 mesh) gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 15 – 60 s wurde die überschüssige Lösung mit einem Filterpapier seitlich abgenommen. Anschließend wurden die Proben für 24 h bei Raumtemperatur unter Normaldruck getrocknet. Die TEM-Bilder wurden anschließend an einem *Jeol JEM-1011* bei 100 kV, bzw. an einem *Philips CM-300 UT* bei 300 kV aufgenommen.

8.3.10 Dynamische Lichtstreuung

Die Bestimmung der Größenverteilung erfolgte durch dynamische Lichtstreuung. Dazu wurden die Proben in Quarzglas- bzw. PMMA-Küvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm in einem *ZetaSizer* der Firma *Malvern* vermessen. Die Wellenlänge des einfallenden Lichts betrug 633 nm, das Streulicht wurde in einem Winkel von 173° detektiert.

8.3.11 pH-Wertbestimmung

Die Bestimmung von pH-Werten wässriger Lösungen oder Suspensionen erfolgte an einem pH-Meter des Typs *FiveEasy* von *Mettler-Toledo* unter Verwendung einer pH-Elektrode des Typs *InLab[®] Micro* (Elektrolyt: Kaliumchlorid 3 M).

8.3.12 Gefriertrocknung

Zur Trocknung von wässrigen Lösungen oder Suspensionen wurden diese zunächst in flüssigen Stickstoff (-196 °C) eingefroren und anschließend bei einem Druck von ca. 0.05 mbar an einer Gefriertrocknungsanlage des Typs *Alpha 1-4LDplus* der Firma *Christ* bei -50 °C getrocknet.

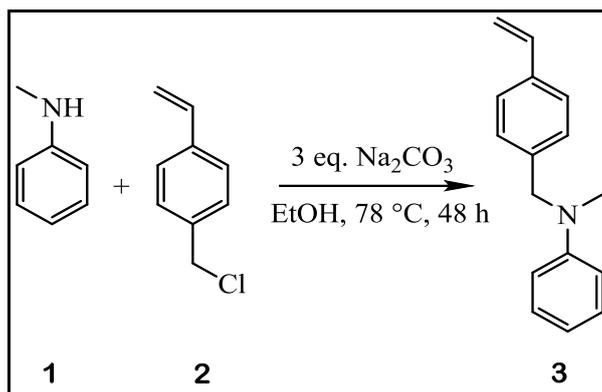
8.3.13 Reinstwasseranlage

Das für die Proben verwendete Reinstwasser stammte aus einer *PurelabFlex*-Anlage von *ELGA*, mit einem *Millipore Millipak[®]-Express40-Filter* mit einer Porengröße von 0.22 µm.

8.4 Darstellung von polymerisierbaren pH-Indikatoren

8.4.1 Darstellung des Methylrotderivates Iod-MR-Sty

Die Darstellung des polymerisierbaren Methylrotderivates **5** erfolgte über eine zweistufige Synthese, wobei zunächst aus den Edukten *N*-Methylanilin **1** und *p*-Vinylbenzylchlorid **2** das Zwischenprodukt *N*-Methyl-*N*-(4-vinylbenzyl)anilin **3** gebildet wurde (vgl. Reaktionsschema 8.1).



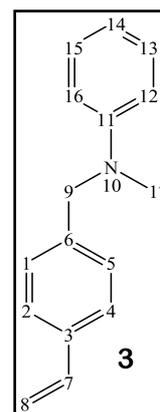
Reaktionsschema 8.1: Synthese zur Darstellung von *N*-Methyl-*N*-(4-vinylbenzyl)anilin.

Es wurden zunächst 984 μL (1.07 g, 7.00 mmol, 1.0 eq) *p*-Vinylbenzylchlorid, 1.14 mL (1.13 g, 10.5 mmol, 1.5 eq) sowie 1.67 g (15.8 mmol, 2.3 eq) Natriumcarbonat in 30 mL Ethanol dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde unter Stickstoffatmosphäre für 48 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 30 mL Wasser beendet. Das Gemisch wurde daraufhin fünf Mal mit jeweils 25 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend destillativ abgetrennt. Es wurden 1.12 g (5.02 mmol, 72%) einer gelben, öligen Flüssigkeit erhalten. Eine Weiterverwendung des erhaltenen Produkts fand ohne weitere Reinigung statt.

R_f : 0.85 (SiO₂, PE/EtOAc 9:1, v/v)

¹H-NMR (400 MHz, RT, CDCl₃): δ [ppm] = 7.30 – 7.17 (m, 6 H, H-1, H-2, H-4, H-5, H-13, H-15), 6.98 (dd, J = 7.6, 2.0 Hz, 2 H, H-12, H-16), 6.84 (tt, J = 7.6, 2.0 Hz, 1 H, H-14), 6.75 (dd, J = 10.1, 16.8 Hz, 1 H, H-7), 5.76 (dd, J = 10.1, 1.1 Hz, 1 H, H-8''), 5.25 (dd, J = 16.8, 1.1 Hz, 1 H, H-8'), 4.63 (s, 2 H, H-9), 1.93 (s, 1 H, H-17).

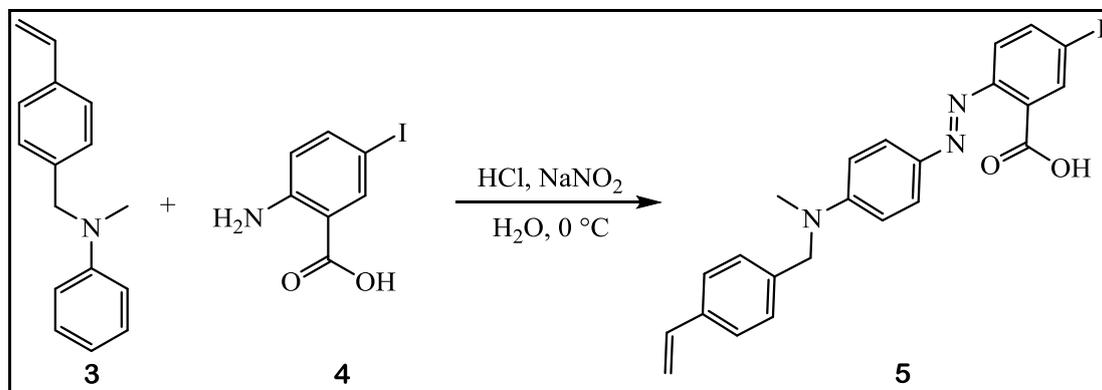
¹³C-NMR (100 MHz, RT, CDCl₃): δ [ppm] = 152.22 (C-11), 138.56 (C-6), 136.59 (C-7), 135.95 (C-3), 129.19 (C-13, C-15), 128.12 (C-1, C-5), 127.21 (C-2, C-4), 124.01 (C-14), 117.19 (C-12, C-16), 114.79 (C-8), 53.81 (C-9), 37.32 (C-17).



HRMS (ESI⁺) [g·mol⁻¹]: ber. für C₁₆H₁₈N⁺ [M+H]⁺: 224.1439, gef.: 224.1432.

Name nach IUPAC: *N*-Methyl-*N*-(4-vinylbenzyl)anilin

Im zweiten Syntheseschritt wurde das Zwischenprodukt **3** mit 5-Iod-Anthranilsäure **4** umgesetzt. Das Produkt dieser thermodynamisch kontrollierten Azokupplung ist das polymerisierbare Methylrotderivat Iod-MR-Sty **5** (vgl. Reaktionsschema 8.2).



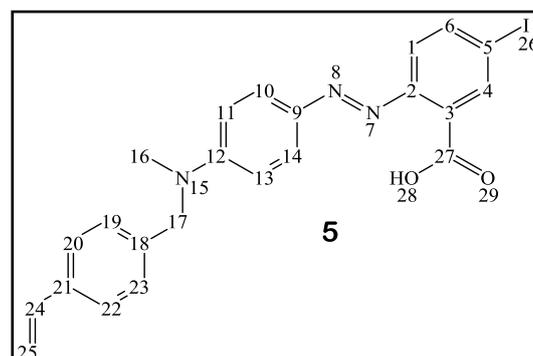
Reaktionsschema 8.2: Darstellung von Iod-MR-Sty durch Azokupplung.

Es wurden 2.46 g (9.35 mmol, 1.0 eq.) 5-Iod-Anthranilsäure in einem Gemisch aus 2.5 mL Wasser und 2.5 mL Salzsäure (37%) unter Erwärmen auf 80 °C dispergiert. Nach dem eine homogene Dispersion entstanden war, wurde die Lösung unter Zugabe von weiteren 0.5 mL Salzsäure (37%) sowie ca. 3 g Eis auf 0 °C abgekühlt. Unter kräftigem Rühren und Kühlen wurde innerhalb von 5 min eine Lösung von 0.65 g (9.4 mmol, 1.0 eq.) Natriumnitrit in 3 mL Wasser zu der Dispersion gegeben. Dabei färbte sich das Reaktionsgemisch hellgelb. Anschließend wurden 1.12 g (5.02 mmol, 0.54 eq.) des Zwischenproduktes **3** zugegeben. Das Reaktionsgemisch begann sofort sich rot zu färben. Es wurde für weitere 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Das tiefrote Reaktionsgemisch wurde durch Gefrier-trocknung von Wasser befreit. Der erhaltene rote Feststoff wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH/HOAc 9:1:0.1, v/v) gereinigt. Es wurden 0.64 g (1.3 mmol, 26% bezogen auf **3**, 19% bezogen auf **1**) eines dunkelroten Feststoffs erhalten.

R_f : 0.95 (SiO₂, DCM/MeOH/HOAc 9:1:0.1, v/v)

$T_M = 141$ °C

¹H-NMR (400 MHz, RT, CDCl₃): δ [ppm] = 8.66 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H-4), 7.89 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 1 H, H-6), 7.73 (d, $J = 9.2$ Hz, 2 H, H-10, H-14), 7.68 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, H-1), 7.39 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H, H-19, H-23), 7.14 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H, H-20, H-22), 6.80 (d,



$J = 9.3$ Hz, 2 H, H-11, H-13), 6.69 (dd, $J = 17.6, 10.9$ Hz, 1 H, H-24), 5.73 (dd, $J = 17.6, 0.9$ Hz, 1 H, H-25''), 5.25 (dd, $J = 10.9, 0.9$ Hz, 1 H, H-25'), 4.69 (s, 2 H, H-17), 3.22 (s, 3 H, H-16).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, RT, CDCl_3): δ [ppm] = 166.10 (C-27), 154.20 (C-12), 149.77 (C-2), 142.45 (C-9), 141.36 (C-6), 137.23 (C-4), 136.14 (C-18), 127.59 (C-24), 126.81 (C-10, C-14), 126.25 (C-21), 117.45 (C-19, C-23), 114.35 (C-20, C-22), 112.55 (C-11, C-13), 95.86 (C-5), 56.15 (C-17), 39.38 (C-16).

HRMS (ESI⁺) [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]: ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{IN}_3\text{O}_2^+$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺: 498.0679, gef.: 498.0686.

UV/Vis: 502 nm (pH = 3), 433 nm (pH = 9).

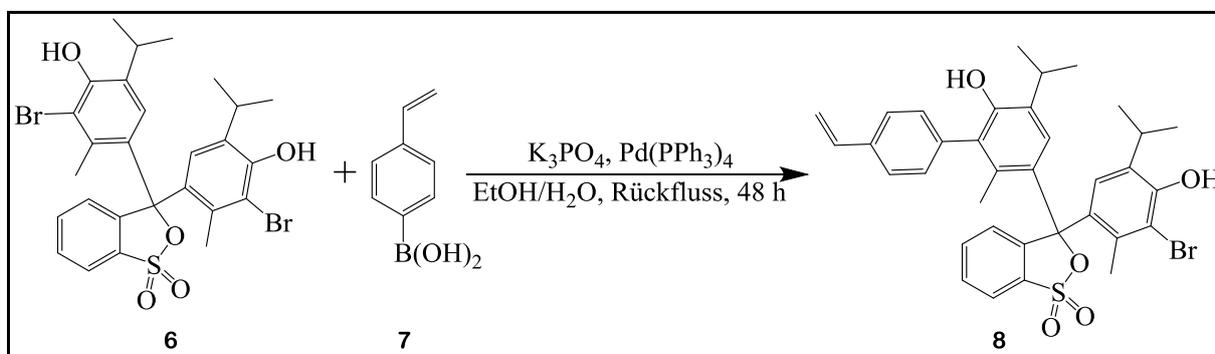
T_p: pH = 7.13

Extinktionskoeffizient: $\epsilon = 4.2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (pH = 1, $\lambda = 502$ nm)

Name nach IUPAC: (*E*)-5-Iod-2-((4-methyl(4-vinylbenzyl)amino)phenyl)diazenylbenzoesäure

8.4.2 Darstellung des Bromthymolblauerivates Sty-BTB

Das Bromthymolblauerivat **8** wurde in einer Suzuki-Kupplung aus Bromthymolblau **6** und 4-Vinylphenylboronsäure **7** erhalten.⁸³ Bei der Suzuki-Kupplung handelt es sich um eine Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktion (vgl. Reaktionsschema 8.3).



Reaktionsschema 8.3: Palladium-katalysierte Kupplungsreaktion zur Darstellung von Sty-BTB aus BTB.

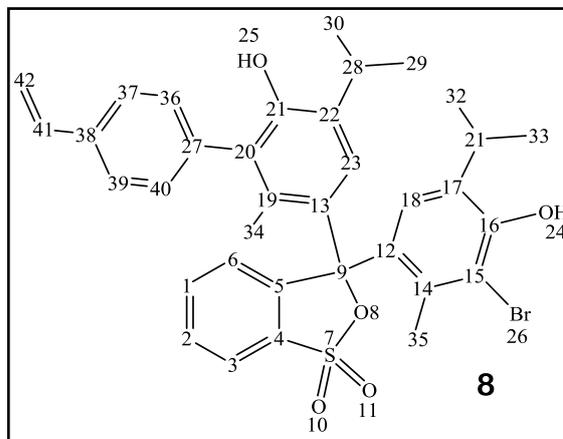
Es wurden 522 mg (0.836 mmol, 1.0 eq.) Bromthymolblau, 161 mg (1.09 mmol, 1.3 eq.) 4-Vinylphenylboronsäure sowie 660 mg (3.11 mmol, 3.7 eq.) Kaliumphosphat in 12 mL eines Wasser/Ethanol-Gemisches (7:3, v/v) gelöst. Zu der dunkelblauen Lösung wurden unter Sauerstoffausschluss 51 mg (0.044 mmol, 0.053 eq.) des Katalysators Pd(PPh₃)₄ gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 48 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Erkalten der Suspension wurde der Katalysator durch Filtration abgetrennt. Das blaue Filtrat wurde mit Salzsäure (1 M) auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Dabei änderte sich die Farbe der Lösung von blau zur rot. Die wässrige Lösung wurde anschließend fünf Mal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde anschließend destillativ entfernt. Das dunkelrote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH/HOAc, 6:1:0.2, v/v) gereinigt. Es wurden 127 mg (0.196 mmol, 23%) eines dunkelroten Feststoffs erhalten.

R_f: 0.7 (SiO₂, DCM/MeOH/HOAc 6:1:0.2, v/v).

T_M = 167 °C

¹H-NMR (400 MHz, RT, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.08 – 7.10 (m, 10 H, H-1, H-2, H-3, H-6, H-18, H-23, H-36, H-37, H-39, H-40), 6.72 (dd, *J* = 16.8, 10.0 Hz, 1 H, H-41), 5.76 (dd, *J* = 10.1, 1.1 Hz, 1 H, H-42''), 5.25 (dd, *J* = 16.8, 1.1 Hz, 1 H, H-42'), 2.93 (m, 2 H, H-28, H-31), 2.39 (2s, 6 H, H-34, H-35), 1.27 (m, 12 H, H-29, H-30, H-32, H-33).

¹³C-NMR (100 MHz, RT, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 154.15 – 121.91 (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-12, C-13, C-14, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-27, C-36, C-37, C-38, C-39, C-40, C-41), 115.50 (C-15), 114.76 (C-42), 99.19 (C-9), 28.04 (C-28, C-31), 23.47 (C-29, C-30, C-32, C-33), 17.16 (C-35), 14.81 (C-34).



HRMS (ESI⁺) [g·mol⁻¹]: ber. für C₃₅H₂₆BrO₅S⁺ [M+H]⁺: 647.1467, gef.: 647.1597.

UV/Vis: 432 nm (pH = 3), 612 nm (pH = 13).

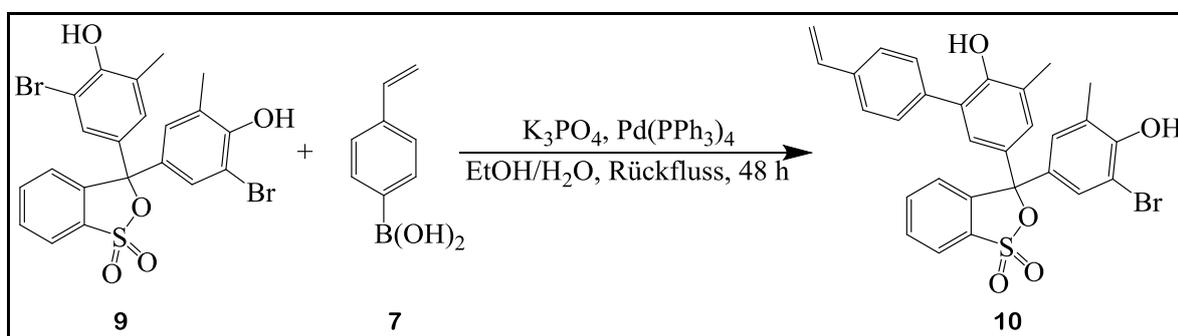
T_p: pH = 11.6

Extinktionskoeffizient: $\varepsilon = 3.4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (pH = 13, $\lambda = 612 \text{ nm}$)

Name nach IUPAC: 3-(3-Brom-4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylphenyl)-3-(6-hydroxy-5-isopropyl-2-methyl-4'-vinyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)-3*H*-benzo[*c*][1,2]oxathiol-1,1-dioxid

8.4.3 Darstellung des Bromkresolpurpurderivats Sty-BKP

Das Bromkresolpurpurderivat **10** wurde in einer Suzuki-Kupplung aus Bromkresolpurpur **9** und 4-Vinylphenylboronsäure **7** erhalten (vgl. Reaktionsschema 8.4).⁸³



Reaktionsschema 8.4: Palladium-katalysierte Kupplungsreaktion zur Darstellung von Sty-BKP aus BKP.

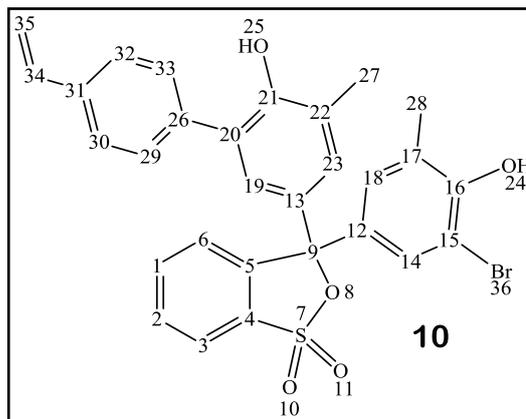
Es wurden 440 mg (0.814 mmol, 1.0 eq.) Bromkresolpurpur, 152 mg (1.03 mmol, 1.3 eq.) 4-Vinylphenylboronsäure sowie 632 mg (2.98 mmol, 3.7 eq.) Kaliumphosphat in 12 mL eines Wasser/Ethanol-Gemisches (7:3, v/v) gelöst. Zu der dunkelblauen Lösung wurden unter Sauerstoffausschluss 57 mg (0.049 mmol, 0.060 eq.) des Katalysators $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 48 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Erkalten der Suspension wurde der Katalysator durch Filtration abgetrennt. Das blaugüne Filtrat wurde mit Salzsäure (1 M) auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Dabei änderte sich die Farbe der Lösung von blaugrün zur rot. Die wässrige Lösung wurde anschließend fünf Mal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde anschließend destillativ entfernt. Das dunkelrote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH/HOAc, 6:1:0.2, v/v) gereinigt. Es wurden 141 mg (0.251 mmol, 31%) eines hellroten Feststoffs erhalten.

R_f : 0.65 (SiO_2 , DCM/MeOH/HOAc 6:1:0.2, v/v).

$T_M = 207 \text{ }^\circ\text{C}$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ [ppm] = 8.01 – 7.56 (m, 6 H, H-1, H-2, H-3, H-6, H-14, H-19), 7.46 (s, 4 H, H-29, H-30, H-32, H-33), 7.32 (m, 1 H, H-23), 7.24 (m, 1 H, H-14), 6.72 (m, 1 H, H-34), 5.76 (dd, $J = 10.1, 1.1$ Hz, 1 H, H-35'), 5.25 (dd, $J = 16.8, 1.1$ Hz, 1 H, H-35''), 2.25 (2s, 6 H, H-27, H-28).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, RT, $\text{DMSO-}d_6$): δ [ppm] = 154.55 – 123.55 (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-12, C-13, C-14, C-16, C-17, C-18, C-20, C-21, C-22, C-23, C-26, C-29, C-30, C-31, C-32, C-33, C-34), 118.71 (C-19) 114.77 (C-35), 113.16 (C-15), 104.80 (C-9), 16.49 (C-27, C28).



HRMS (ESI⁺) [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]: ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{BrO}_5\text{S}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$: 563.0528, gef.: 563.0544.

UV/Vis: 433 nm (pH = 3), 592 nm (pH = 13).

T_p : pH = 7.65

Extinktionskoeffizient: $\varepsilon = 3.3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (pH = 13, $\lambda = 592 \text{ nm}$)

Name nach IUPAC: 3-(3-Brom-4-hydroxy-5-methylphenyl)-3-(6-hydroxy-5-methyl-4'-vinyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)-3*H*-benzo[*c*][1,2]oxathiol-1,1-dioxid

8.5 Darstellung von biokompatiblen Nanopartikel-Polymerhybriden

Um die hydrophoben Nanopartikel biokompatibel zu machen, ist es vonnöten sie unter Erhalt der optischen Eigenschaften in wässrige Medien zu überführen. Dazu wurden die organischen Nanopartikellösungen (entsprechend jeweils 12 nmol Partikel) eingetrocknet und anschließend in 200 μL Chloroform gelöst. Die Partikel wurden im Anschluss durch Zugabe von 45 mL Methanol gefällt und zentrifugiert (8 000 g , 15 $^{\circ}\text{C}$, 20 min). Das erhaltene Partikelpellet wurde danach zusammen mit dem Emulgator PI-*b*-PEO ($M_w = 13\,100\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, MJ-D-12) in 3.0 mL THF aufgenommen. Unter Erwärmen auf 45 $^{\circ}\text{C}$ entstand eine klare Lösung. Nach Filtration (Spritzenfilter, PTFE, 0.2 μm) der Lösung wurde diese durch die Verwendung eines computergesteuerten Interdigitalmischers in Wasser überführt. Die Flussrate der Nanopartikel-Emulgator-Lösung betrug dabei 1.6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Die Flussrate des Wasserstroms betrug 14.4 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Das enthaltene THF wurde anschließend bei 62 $^{\circ}\text{C}$ im Stickstoffstrom entfernt.

Nachdem das THF vollständig aus der wässrigen Phase entfernt wurde, wurde die entsprechende Menge der Monomere Styrol und DVB für die erste Schale zugegeben. Nach Zugabe der beiden Monomere wurde für 15 min bei 700 RPM gerührt. Anschließend wurde der Initiator VA-044 (4 mg, 0.01 mmol, gelöst in 0.5 mL Wasser) zugegeben und das Reaktionsgemisch unter Rühren für 3 h auf 72 $^{\circ}\text{C}$ erhitzt. Danach wurden die Monomere für die zweite Schale hinzugefügt. Sofern den Proben Indikatoren zugesetzt wurden, wurden diese vor der Zugabe in 100 μL THF gelöst. Nach der Zugabe wurde unverzüglich erneut der Initiator VA-044 (4 mg, 0.01 mmol, gelöst in 0.5 mL Wasser) zugegeben und es wurde für weitere 5 h bei 72 $^{\circ}\text{C}$ gerührt.

Eine Übersicht über die Proben gibt Tabelle 8.3. Dort lassen sich ebenfalls die Überschüsse des Emulgators PI-*b*-PEO, die Menge an Monomer und die Charge der Nanopartikel entnehmen.

Tabelle 8.3: Probenübersicht.

Probe	Partikel	PI- <i>b</i> -PEO 13.1 kg·mol ⁻¹	Monomer 1. Schale	Monomer 2. Schale	Farbstoff
K-R-600	SAR-0-351-1 12 nmol	99.8 mg = 635 eq.	54.0 µL Styrol 6.0 µL DVB	3.0 µL Styrol	ohne
K-R-1200	SAR-0-351-1 12 nmol	197 mg = 1253 eq.	108 µL Styrol 12 µL DVB	3.0 µL Styrol	ohne
MR-G-1200	SAR-0-340-5 12 nmol	194 mg = 1234 eq.	108 µL Styrol 12 µL DVB	3.0 µL Styrol 7 mg Iod-MR-Sty	Iod-MR-Sty
K-G-1200	SAR-0-340-5 12 nmol	201 mg = 1279 eq.	108 µL Styrol 12 µL DVB	3.0 µL Styrol	ohne
BTB-R-1200	SAR-0-351-1 12 nmol	193 mg = 1228 eq.	108 µL Styrol 12 µL DVB	3.0 µL Styrol 9 mg Sty-BTB	Sty-BTB
BKP-R-1200	SAR-0-351-1 12 nmol	196 mg = 1247 eq.	108 µL Styrol 12 µL DVB	3.0 µL Styrol 8 mg Sty-BKP	Sty-BKP

Für das PI-*b*-PEO wird eine Aggregationszahl von 100 zu Grunde gelegt, davon ausgehend lässt sich die Anzahl der gebildeten Mizellen berechnen. Anhand dessen wurde die Farbstoffmenge so gewählt, dass sich rechnerisch eine Farbstoffdichte von 100 Molekülen pro Mizelle ergibt.

Nach der Emulsionspolymerisation wurden die Polydispersionen mittels *Sartorius*[®] Zentrifugenfilter (*MWCO* = 100 kDa) auf ein Endvolumen von etwa 2 mL konzentriert. Dabei wurden bereits einige niedermolekulare Bestandteile abgetrennt. Die wässrige Nanopartikelösung wurde durch eine Sucrose-Dichtegradientenzentrifugation gereinigt (vgl. Abschnitt: 8.3.3). Anschließend wurden die Partikel dem Gradienten entnommen und die überschüssige Sucrose-Lösung durch Waschen der Proben in Zentrifugenfiltern entfernt.

8.6 Herstellung von Pufferlösungen unterschiedlicher pH-Werte

Für die pH-abhängigen Messungen wurden diverse Pufferlösungen angesetzt. Die Pufferlösungen haben den Vorteil, dass sie auch durch Verdünnung durch die Nanopartikelösung ihren pH-Wert nicht verändern. Die Pufferlösungen mit pH-Werten von etwa 3.0 – 4.5 wurden aus einem Citratpuffer der *Carl Roth GmbH* angesetzt und mit Natronlauge eingestellt. Die Pufferlösungen mit pH-Werten von 4.5 – 8.9 wurden selbst aus Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat und Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat hergestellt und hatten eine Ionenstärke von 50 mM. Bei den Lösungen mit höheren pH-Werten (9.5 – 13.0) handelte es sich um unterschiedlich stark konzentrierte Lösungen von Natriumhydroxid in Wasser.

9 Literaturverzeichnis

- (1) Robert Koch-Institut – Zentrum für Krebsregisterdaten. Krebs in Deutschland für 2013/2014. **2017**.
- (2) Statistisches Bundesamt der Bundesrepublik Deutschland. Ergebnisse der Todesursachenstatistik für Deutschland - Ausführliche Vierstellige ICD10-Klassifikation - 2015. **2017**.
- (3) Eurostat Statistics Explained. Causes of Death — Standardised Death Rate, 2014 (per 100 000 Inhabitants). **2017**.
- (4) Goesmann, H.; Feldmann, C. Nanopartikuläre Funktionsmaterialien. *Angew. Chemie* **2010**, *122* (8), 1402–1437.
- (5) Raabe, N.; Forberich, E.; Freund, B.; Bruns, O. T.; Heine, M.; Kaul, M. G.; Tromsdorf, U.; Herich, L.; Nielsen, P.; Reimer, R.; *et al.* Determination of Liver-Specific r_2^* of a Highly Monodisperse USPIO by ^{59}Fe Iron Core-Labeling in Mice at 3 T MRI. *Contrast Media Mol. Imaging* **2015**.
- (6) Schmidtke, C.; Fischer, S.; Peldschus, K.; Salamon, J.; Kloust, H.; Tran, H.; Pietsch, A.; Heine, M.; Adam, G.; Schumacher, U.; *et al.* Tailor-Made Quantum Dot and Iron Oxide Based Contrast Agents for *in vitro* and *in vivo* Tumor Imaging. **2012**, *4*, 3346–3355.
- (7) Prabhu, S.; Poulouse, E. K. Silver Nanoparticles: Mechanism of Antimicrobial Action, Synthesis, Medical Applications, and Toxicity Effects. *Int. Nano Lett.* **2012**, *2* (1), 32.
- (8) Smijs, T. G.; Pavel, S. Titanium Dioxide and Zinc Oxide Nanoparticles in Sunscreens: Focus on Their Safety and Effectiveness. *Nanotechnol. Sci. Appl.* **2011**, *4* (1), 95–112.
- (9) Yu, J. X.; Li, T. H. Distinct Biological Effects of Different Nanoparticles Commonly Used in Cosmetics and Medicine Coatings. *Cell Biosci.* **2011**, *1* (1).
- (10) Kobayashi, M.; Kato, H.; Kakihana, M. Synthesis of Titanium Dioxide Nanocrystals with Controlled Crystal- and Micro-Structures from Titanium Complexes. *Nanomater. Nanotechnol.* **2013**, *3*, 1–10.
- (11) Colvin, V. L.; Schlamp, M. C.; Alivisatos, A. P. Light-Emitting Diodes Made from Cadmium Selenide Nanocrystals and a Semiconducting Polymer. *Nature* **1994**, *370* (6488), 354–357.
- (12) Tessler, N.; Medvedev, V.; Kazes, M.; Kan, S. H.; Banin, U. Efficient Near-Infrared

- Polymer Nanocrystal Light-Emitting Diodes. *Science (80)*. **2002**, *295* (5559), 1506–1508.
- (13) Chen, E.; Xie, H.; Huang, J.; Miu, H.; Shao, G.; Li, Y.; Guo, T.; Xu, S.; Ye, Y. Flexible/Curved Backlight Module with Quantum-Dots Microstructure Array for Liquid Crystal Displays. *Opt. Express* **2018**, *26* (3), 3466.
- (14) Dai, S. W.; Hsu, B. W.; Chen, C. Y.; Lee, C. A.; Liu, H. Y.; Wang, H. F.; Huang, Y. C.; Wu, T. L.; Manikandan, A.; Ho, R. M.; *et al.* Perovskite Quantum Dots with Near Unity Solution and Neat-Film Photoluminescent Quantum Yield by Novel Spray Synthesis. *Adv. Mater.* **2018**, *30* (7).
- (15) Medintz, I. L.; Uyeda, H. T.; Goldman, E. R.; Mattoussi, H. Quantum Dot Bioconjugates for Imaging, Labelling and Sensing. *Nat. Mater.* **2005**, *4* (6), 435–446.
- (16) Conway, J. R. W.; Carragher, N. O.; Timpson, P. Developments in Preclinical Cancer Imaging: Innovating the Discovery of Therapeutics. *Nat. Rev. Cancer* **2014**, *14* (5), 314–328.
- (17) Schäferling, M. The Art of Fluorescence Imaging with Chemical Sensors. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *51* (15), 3532–3554.
- (18) Kloust, H.; Schmidtke, C.; Merkl, J.-P.; Feld, A.; Schotten, T.; Fittschen, U. E. A.; Gehring, M.; Ostermann, J.; Pösel, E.; Weller, H. Poly(Ethylene Oxide) and Polystyrene Encapsulated Quantum Dots: Highly Fluorescent, Functionalizable, and Ultra Stable in Aqueous Media. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117* (44), 23244–23250.
- (19) Ostermann, J.; Merkl, J.-P.; Flessau, S.; Wolter, C.; Kornowski, A.; Schmidtke, C.; Pietsch, A.; Kloust, H.; Feld, A.; Weller, H. Controlling the Physical and Biological Properties of Highly Fluorescent Aqueous Quantum Dots Using Block Copolymers of Different Size and Shape. *ACS Nano* **2013**, *7* (10), 9156–9167.
- (20) Schmidtke, C.; Kreuziger, A. M.; Alpers, D.; Jacobsen, A.; Leshch, Y.; Eggers, R.; Kloust, H.; Tran, H.; Ostermann, J.; Schotten, T.; *et al.* Glycoconjugated Amphiphilic Polymers via Click-Chemistry for the Encapsulation of Quantum Dots. *Langmuir* **2013**, *29* (40), 12593–12600.
- (21) Zhang, F.; Lees, E.; Amin, F.; Rivera-Gil, P.; Yang, F.; Mulvaney, P.; Parak, W. J. Polymer-Coated Nanoparticles: A Universal Tool for Biolabelling Experiments. *Small* **2011**, *7* (22), 3113–3127.
- (22) Hildebrandt, N.; Spillmann, C. M.; Russ Algar, W.; Pons, T.; Stewart, M. H.; Oh,

- E.; Susumu, K.; Díaz, S. A.; Delehanty, J. B.; Medintz, I. L. Energy Transfer with Semiconductor Quantum Dot Bioconjugates: A Versatile Platform for Biosensing, Energy Harvesting, and Other Developing Applications. *Chemical Reviews*. 2017.
- (23) Hadar, I.; Halivni, S.; Even-Dar, N.; Faust, A.; Banin, U. Dimensionality Effects on Fluorescence Resonance Energy Transfer between Single Semiconductor Nanocrystals and Multiple Dye Acceptors. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119* (7), 3849–3856.
- (24) Halivni, S.; Sitt, A.; Hadar, I.; Banin, U. Effect of Nanoparticle Dimensionality on Fluorescence Resonance Energy Transfer in Nanoparticle-Dye Conjugated Systems. *ACS Nano* **2012**, *6* (3), 2758–2765.
- (25) Geißler, D.; Hildebrandt, N. Recent Developments in Förster Resonance Energy Transfer (FRET) Diagnostics Using Quantum Dots. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**.
- (26) Azim, N. H.; Subki, A.; Yusof, Z. N. B. Abiotic Stresses Induce Total Phenolic, Total Flavonoid and Antioxidant Properties in Malaysian Indigenous Microalgae and Cyanobacterium. *Malays. J. Microbiol.* **2018**, *14* (1), 25–33.
- (27) Davies, J. H. The Physics of Low-Dimensional Semiconductors - An Introduction. **2005**, 458.
- (28) De Broglie, L. Foundations of Physics The Reinterpretation of Wave Mechanics. **1970**, *1* (1), 5–15.
- (29) Weller, H. Colloidal Semiconductor Q-Particles: Chemistry in the Transition Region between Solid State and Molecules. *Angew. Chemie Int. Ed.* **1993**, *32*, 41–53.
- (30) Brus, L. Electronic Wave Functions in Semiconductor Clusters: Experiment and Theory. *J. Phys. Chem.* **1986**, *90* (12), 2555–2560.
- (31) Chukwuocha, E. O.; Onyeaju, M. C.; Harry, T. S. T. Theoretical Studies on the Effect of Confinement on Quantum Dots Using the Brus Equation. *World J. Condens. Matter Phys.* **2012**, *02* (02), 96–100.
- (32) Rogach, A. L. *Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots*; 2007; Vol. 134.
- (33) Rosen, M.; Kuno, M.; Nirmal, M.; Norris, D. J.; Bawendi, M. C. Band-Edge Exciton in Quantum Dots of Semiconductors with a Degenerate Valence Band- Dark and Bright Exciton States. **1996**, *54* (7), 4843–4856.
- (34) Labeau, O.; Tamarat, P.; Lounis, B. Temperature Dependence of the Luminescence Lifetime of Single Quantum Dots. *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90* (25), 4.

- (35) Jones, M.; Scholes, G. D. On the Use of Time-Resolved Photoluminescence as a Probe of Nanocrystal Photoexcitation Dynamics. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20* (18), 3533–3538.
- (36) De Mello Donegá, C.; Bode, M.; Meijerink, A. Size- and Temperature-Dependence of Exciton Lifetimes in CdSe Quantum Dots. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **2006**, *74* (8), 1–9.
- (37) Gómez, D. E.; Califano, M.; Mulvaney, P. Optical Properties of Single Semiconductor Nanocrystals. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8* (43), 4989–5011.
- (38) Nirmal, M.; Norris, D. J.; Kuno, M.; Bawendi, M. Observation of the “Dark Exciton.” *Phys. Rev. Lett.* **1995**, *75* (20), 3728–3731.
- (39) Talapin, D. V.; Lee, J. S.; Kovalenko, M. V.; Shevchenko, E. V. Prospects of Colloidal Nanocrystals for Electronic and Optoelectronic Applications. *Chem. Rev.* **2010**.
- (40) Reiss, P.; Protière, M.; Li, L. Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small* **2009**, *5* (2), 154–168.
- (41) Schmid, G. Nanoparticles: From Theory to Applications. *Mater. Manuf. Process.* **2004**.
- (42) La Mer, V. K. Nucleation in Phase Transitions. *Ind. Eng. Chem.* **1952**, *44* (6), 1270–1277.
- (43) Thanh, N. T. K.; Maclean, N.; Mahiddine, S. Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (15), 7610–7630.
- (44) Kloust, H.; Pösel, E.; Kappen, S.; Schmidtke, C.; Kornowski, A.; Pauer, W.; Moritz, H. U.; Weller, H. Ultrasmall Biocompatible Nanocomposites: A New Approach Using Seeded Emulsion Polymerization for the Encapsulation of Nanocrystals. *Langmuir* **2012**, *28* (18), 7276–7281.
- (45) Lambert, J. H. Photometria, Sive De Mensura et Gradibus Luminus, Colorum et Umbrae. *Leipzig W. Engelmann* **1760**, 433.
- (46) Swinehart, D. F. The Beer-Lambert Law. *J. Chem. Educ.* **1962**, *39* (7), 333.
- (47) Turro, N. J. Molecular Photochemistry of Organic Compounds: An Overview. *Mod. Mol. Photochem.* **1978**.
- (48) Lakowicz, J. R. Energy Transfer. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, **2006**, 443–475.
- (49) Clegg, R. M. Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Curr. Opin. Biotechnol.* **1995**, *6* (1), 103–110.

- (50) Smart, C.; Willis, E. Determination of Refractive Indices of Polystyrene Latices by Light Scattering. *J. Colloid Interface Sci.* **1967**, *25* (4), 577–583.
- (51) Lakowicz, J. R. Quenching of Fluorescence. *Princ. Fluoresc. Spectrosc.* **2006**, 277–330.
- (52) Lakowicz, J. R. Frequency-Domain Lifetime Measurements. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; **2010**, 157–204.
- (53) Transfer, R. E. Mechanisms and Dynamics of Fluorescence Quenching. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; **2006**, 331–351.
- (54) Lakowicz, J. R. Time-Domain Lifetime Measurements. *Princ. Fluoresc. Spectrosc.* **2006**, *1* (Chapter 22), 97–155.
- (55) Schlegel, G.; Bohnenberger, J.; Potapova, I.; Mews, A. Fluorescence Decay Time of Single Semiconductor Nanocrystals. *Phys. Rev. Lett.* **2002**.
- (56) Thiry, M.; Boldt, K.; Nikolic, M. S.; Schulz, F.; Ijeh, M.; Panicker, A.; Vossmeier, T.; Weller, H. Fluorescence Properties of Hydrophilic Semiconductor Nanoparticles with Tridentate Polyethylene Oxide Ligands. *ACS Nano* **2011**, *5* (6), 4965–4973.
- (57) Lyvers, D. P.; Moazzezi, M.; De Silva, V. C.; Brown, D. P.; Urbas, A. M.; Rostovtsev, Y. V.; Drachev, V. P. Cooperative Bi-Exponential Decay of Dye Emission Coupled via Plasmons. *Sci. Rep.* **2018**, *8*(1), 1–12.
- (58) Resch-Genger, U.; Grabolle, M.; Cavaliere-Jaricot, S.; Nitschke, R.; Nann, T. Quantum Dots versus Organic Dyes as Fluorescent Labels. *Nat. Methods* **2008**, *5* (9), 763–775.
- (59) Chen, O.; Zhao, J.; Chauhan, V. P.; Cui, J.; Wong, C.; Harris, D. K.; Wei, H.; Han, H. S.; Fukumura, D.; Jain, R. K.; *et al.* Compact High-Quality CdSe-CdS Core-Shell Nanocrystals with Narrow Emission Linewidths and Suppressed Blinking. *Nat. Mater.* **2013**, *12* (5), 445–451.
- (60) Schmidtke, C.; Lange, H.; Tran, H.; Ostermann, J.; Kloust, H.; Bastús, N. G.; Merkl, J. P.; Thomsen, C.; Weller, H. Radical Initiated Reactions on Biocompatible CdSe-Based Quantum Dots: Ligand Cross-Linking, Crystal Annealing, and Fluorescence Enhancement. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117* (16), 8570–8578.
- (61) Pösel, E.; Fischer, S.; Förster, S.; Weller, H. Highly Stable Biocompatible Inorganic Nanoparticles by Self-Assembly of Triblock-Copolymer Ligands. *Langmuir* **2009**, *25* (24), 13906–13913.
- (62) Feld, A.; Merkl, J. P.; Kloust, H.; Flessau, S.; Schmidtke, C.; Wolter, C.; Ostermann,

- J.; Kampferbeck, M.; Eggers, R.; Mews, A.; *et al.* A Universal Approach to Ultrasmall Magneto-Fluorescent Nanohybrids. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2015**, *54*(42), 12468–12471.
- (63) Weller, H.; Ostermann, J.; Schmidtke, C.; Kloust, H. Fluorescent Nanocrystals for Biomedical Applications. *Zeitschrift für Phys. Chemie* **2014**, *228* (2–3), 183–192.
- (64) Ma, X.; Wang, Y.; Zhao, T.; Li, Y.; Su, L. C.; Wang, Z.; Huang, G.; Sumer, B. D.; Gao, J. Ultra-PH-Sensitive Nanoprobe Library with Broad PH Tunability and Fluorescence Emissions. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (31), 11085–11092.
- (65) Rivera-Gil, P.; Nazareus, M.; Ashraf, S.; Parak, W. J. PH-Sensitive Capsules as Intracellular Optical Reporters for Monitoring Lysosomal PH Changes upon Stimulation. *Small* **2012**, *8*(6), 943–948.
- (66) Zhou, K.; Wang, Y.; Huang, X.; Luby-Phelps, K.; Sumer, B. D.; Gao, J. Tunable, Ultrasensitive PH-Responsive Nanoparticles Targeting Specific Endocytic Organelles in Living Cells. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2011**, *50*(27), 6109–6114.
- (67) Zhou, K.; Liu, H.; Zhang, S.; Huang, X.; Wang, Y.; Huang, G.; Sumer, B. D.; Gao, J. Multicolored PH-Tunable and Activatable Fluorescence Nanoplatfrom Responsive to Physiologic PH Stimuli. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (18), 7803–7811.
- (68) Wang, Y.; Zhou, K.; Huang, G.; Hensley, C.; Huang, X.; Ma, X.; Zhao, T.; Sumer, B. D.; Deberardinis, R. J.; Gao, J. A Nanoparticle-Based Strategy for the Imaging of a Broad Range of Tumours by Nonlinear Amplification of Microenvironment Signals. *Nat. Mater.* **2014**, *13* (2), 204–212.
- (69) Ji, X.; Palui, G.; Avellini, T.; Na, H. Bin; Yi, C.; Knappenberger, K. L.; Mattoussi, H. On the PH-Dependent Quenching of Quantum Dot Photoluminescence by Redox Active Dopamine. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (13), 6006–6017.
- (70) Medintz, I. L.; Stewart, M. H.; Trammell, S. A.; Susumu, K.; Delehanty, J. B.; Mei, B. C.; Melinger, J. S.; Blanco-Canosa, J. B.; Dawson, P. E.; Mattoussi, H. Quantum-Dot/Dopamine Bioconjugates Function as Redox Coupled Assemblies for in Vitro and Intracellular PH Sensing. *Nat. Mater.* **2010**, *9*(8), 676–684.
- (71) Geißler, D.; Linden, S.; Liermann, K.; Wegner, K. D.; Charbonnière, L. J.; Hildebrandt, N. Lanthanides and Quantum Dots as Förster Resonance Energy Transfer Agents for Diagnostics and Cellular Imaging. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (4), 1824–1838.
- (72) Ruedas-Rama, M. J.; Hall, E. A. H. pH Sensitive Quantum Dot-Anthraquinone

- Nanoconjugates. *Nanotechnology* **2014**, *25* (19).
- (73) Dennis, A. M.; Rhee, W. J.; Sotto, D.; Dublin, S. N.; Bao, G. Quantum Dot-Fluorescent Protein FRET Probes for Sensing Intracellular pH. *ACS Nano* **2012**, *6* (4), 2917–2924.
- (74) Tang, R.; Lee, H.; Achilefu, S. Induction of pH Sensitivity on the Fluorescence Lifetime of Quantum Dots by NIR Fluorescent Dyes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (10), 4545–4548.
- (75) Lemon, C. M.; Curtin, P. N.; Somers, R. C.; Greytak, A. B.; Lanning, R. M.; Jain, R. K.; Bawendi, M. G.; Nocera, D. G. Metabolic Tumor Profiling with pH, Oxygen, and Glucose Chemosensors on a Quantum Dot Scaffold. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (4), 1900–1915.
- (76) Ashraf, S. S.; Rauf, M. A.; Alhadrami, S. Degradation of Methyl Red Using Fenton's Reagent and the Effect of Various Salts. *Dye. Pigment.* **2006**, *69* (1–2), 74–78.
- (77) Mastroph, H.; Kartel, R. Untersuchungen Zum UV/Vis-Spektralverhalten von Azofarbstoffen. *J. für Prakt. Chemie* **1982**, *324* (5), 743–752.
- (78) Miyaura, N.; Suzuki, A.; January, W. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457–2483.
- (79) Wittmann, V. Neues von Der Suzuki-Reaktion. *Nachrichten aus der Chemie* **2002**, *50* (10), 1122–1127.
- (80) Ito, S.; Yamamoto, D. Mechanism for the Color Change in Bromocresol Purple Bound to Human Serum Albumin. *Clin. Chim. Acta* **2010**, *411* (3–4), 294–295.
- (81) Ostermann, J. Maßgeschneiderte Polymerliganden Für Die Biomedizinische Anwendung von Quantum Dots, Universität Hamburg, **2014**.
- (82) West, P.; McCartney, A. M. L. A Comparison of Atomic Force Microscopy (AFM) and Dynamic Light Scattering (DLS) Methods to Characterize Nanoparticle Size Distributions. **2008**, 89–96.
- (83) Pct, W. I. WO 2017/125462 Al. **2017**, No. 12.

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mir kurz etwas Zeit nehmen, um mich bei allen zu bedanken, die zum Abschluss dieser Arbeit beigetragen haben.

Als erstes möchte ich mich selbstverständlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Horst Weller für die herzliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die herausfordernde aber dennoch interessante Themenstellung bedanken. Ich danke ihm auch für die zahlreichen Diskussionen und ausgezeichnete Unterstützung bei meiner Forschung.

Bei Prof. Dr. Alf Mews möchte ich mich für die Übernahme des Zweitgutachtens dieser Arbeit bedanken. Auch danke ich den weiteren Mitgliedern der Prüfungskommission für die Teilnahme an der Disputationsprüfung: Prof. Dr. Hans-Ulrich Moritz und Dr. Thomas Hackl.

Ich danke dem Fraunhofer Centrum für angewandte Nanotechnologie (ehemals CAN GmbH), insbesondere Öznur Tokmak für die Zurverfügungstellung großer Mengen hochwertiger Halbleiternanokristalle sowie für die technische Unterstützung.

Ich danke dem gesamten NMR-Team unter der Leitung von Dr. Thomas Hackl, und dem Team der Massenspektrometrie von Dr. Maria Trusch für das Messen zahlreicher Spektren.

Ebenfalls möchte ich mich bei Daniela Weinert und Stefan Werner für das Anfertigen unzähliger TEM-Bilder danken.

Für die ausgezeichnete Einarbeitung in das Thema und stetige Unterstützung bei der Bewältigung von Problemen in meiner Anfangsphase danke ich Dr. Johannes Ostermann und Dr. Jan-Philip Merkl.

Bei Marcus Janschel möchte ich mich für die ausgiebige Belieferung mit Polymeren für die Verkapselung bedanken. Weiterhin danke ich ihm und Rieke Koll für zahlreiche konstruktive Diskussionen, welche stetig zum Vorankommen des Projekts mit beigetragen haben.

Meinen Praktikanten Maria Isabel Bücking-Vilchez, Julia Funk, Christina Johannsen, Janine-Denise Kopicki, Jacqueline Moll, Denise Oetzmann, Cristina Maria Plunkett, Julian Sanchez-Collier und Eva Schendera danke ich für die gute Mitarbeit im Labor. Besonders hervorheben möchte ich Julia Funk, die durch ihre Ideen das Thema signifikant mit vorantreiben konnte.

Auch allen anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Weller danke ich für die herzliche Aufnahme und die schöne Zeit während der letzten Jahre. Ganz besonderes danke ich meinen Büro-Kollegen der letzten Jahre: Marcel Dohrmann, Friederieke Gorris, Rieke Koll, Jan Krohn, Dr. Robert Seher, Felix Thiel und Dr. Sarah Wölper.

11 Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der elektronischen Version. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Hamburg, den 19. Dezember 2018, Lasse Habercorn

12 Anhang

12.1 Sicherheit und Entsorgung

Tabelle 12.1: Auflistung aller verwendeten Chemikalien, einschließlich der Gefahrensymbole, H- und P-Sätze sowie Entsorgung.

Substanz	Gefahrensymbole	H -Sätze	P -Sätze	Entsorgung
Bromkresolpurpur	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	a
Bromthymolblau	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	a
Dichlormethan		315-319-335- 336-351-373	261-281- 305+351+338	b
Divinylbenzol, Isomerenmischung		315-319-335- 411	273-302+352- 304+340- 305+351+338	c
CdSe/CdS- <i>DotRods</i>	<i>nicht vollständig geprüfter Stoff</i>			d
Chloroform		302-331-315- 319-351- 361d-336- 372	261-281- 305+351+338- 311	b
Chloroform- <i>d</i> ₁		302-331-315- 319-351- 361d-336- 372	261-281- 305+351+338- 311	b
Citratpuffer pH = 3	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	e
DMSO- <i>d</i> ₆	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	c
Essigsäure 96%		226-290-314	210-280- 301+330+331- 305+351+338- 308+310	e
Ethanol		225-319	210-240- 305+351+338- 403+233	c
Ethylacetat		225-319-336- EUH066	210-233-240- 305+351+338- 403+235	c

Substanz	Gefahrensymbole	H -Sätze	P -Sätze	Entsorgung
<i>n</i> -Hexan		225-304- 361f-373- 315-336-411	210-240-273- 301+310-331- 302+352- 403+235	c
5-Iodanthranilsäure		315-319-335	261- 305+351+338	a
Kaliumphosphat		318-335	280- 304+340+312- 305+351+338	a
Kieselgel 60	<i>keine</i>	<i>keine</i>	260	f
Königswasser		272-300-312- 314-330	260-264-280- 284-301+310- 301+330+331- 302+352- 303+361+353- 304-340- 305+351+338- 320-403+233- 405-501	g
Methanol		225-331-311- 301-370	210-233-280- 3102+352- 304+340- 308+310- 403+235	c
<i>N</i> -Methylanilin		301-311-331- 373-410	260-261- 301+310-361- 405-501	c
<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(4-vinylbenzyl)anilin	<i>nicht vollständig geprüfter Stoff</i>			c
Natriumcarbonat		319	260- 305+351+338	a

Substanz	Gefahrensymbole	H -Sätze	P -Sätze	Entsorgung
Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	a
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	a
Natriumnitrit		272-301-319-400	220-273-301+310-305+351+338	a
Natriumsulfat	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	a
Natronlauge 1 M		290-314	280-301+330+331-305+351+338-308+310	h
Petrolether 50 – 70		225-304-315-336-411	201-210-280-301+310-403+233-501	c
PI-b-PEO	<i>nicht vollständig geprüfter Stoff</i>			a
Salpetersäure 65%		272-290-331-314-EUH071	280-301+330+331-305+351+338-308+310	i
Salzsäure 37%		290-314-335	260-280-303+361+353-304+340+310-305+351+338	e
Styrol		226-332-315-319-361d-372	210-302+352-305+351+338-314	c
Sucrose	<i>keine</i>	<i>keine</i>	<i>keine</i>	a

Substanz	Gefahrensymbole	H -Sätze	P -Sätze	Entsorgung
Tetrahydrofuran		225-302-319- 335-351- EUH019	210-280- 301+312+330- 305+351+338- 370+378- 403+235	c
Tetrakis(triphenyl- phosphin)-palla- dium(0)		H413	273-501	j
Wasserstoffperoxid 30%		271-302-314- 332-335-412	280- 305+351+338- 310	k
VA-044	<i>nicht vollständig geprüfter Stoff</i>			j
4-Vinylbenzyl-chlo- rid		302-311-314- 317	280- 305+351+338- 310	b
4-Vinylphenyl- boronsäure		302-312-332	280	a

Entsorgungsschlüssel:

- a) Sammelbehälter für kontaminierte Betriebsmittel
- b) Kanister für organische Lösungsmittel, halogenhaltig
- c) Kanister für organische Lösungsmittel, halogenfrei
- d) in Königwasser lösen, dann g)
- e) Kanister für andere Säuren, HCl- und H₂SO₄-haltig
- f) Sammelbehälter für kontaminiertes Kieselgel
- g) mit H₂O₂ verkochen, dann e)
- h) Kanister für andere Basen
- i) Kanister für andere Säuren, nitrathaltig
- j) in Salzsäure lösen, dann e)

12.2 Datenblätter verwendeter Halbleiternanokristalle

12.2.1 Partikelcharge SAR-0-340-5

Center for Applied Nanotechnology (CAN) GmbH
Grindelallee 117, 20146 Hamburg, Germany
Phone: +49 40 42838 4983, FAX: +49 40 42838 5797
E-mail: info@can-hamburg.de



Datasheet CANdot® Series A plus hex

		LOT number:	SAR-0-340-5
Product description:	elongated CoreShell Particles CdSe/CdS		
Solvent:	Hexane	Surface groups:	TOPO/TOP/HPA
Appearance (form):	Dispersion	Appearance (color):	green
Storage:	4-25 °C, do not freeze	Shelf life:	12 months
Concentration:	7,35 mg/mL	Emission:	530 ± 8 nm
FWHM:	< 45 nm	Quantum yield:	>70

Analysis

Data			Visualisation
Absorption spectroscopy			
Absorption-maximum	HWHM	calculated concentration	
521 nm	21 nm		
Fluorescence Spectroscopy			
Emission-maximum	FWHM	Quantum Yield*	
536 nm	41 nm	80%	
* measured in Ulbricht sphere (ex. 450 nm)			
Transmission electron microscopy			
Diameter	Length		
(3,5 ± 0,45) nm	(8,8 ± 2,2) nm		
Shape	Note / comment		
elongated	AR 2-3		

Disclaimer: This product is for R&D purpose only. Not to be used for food, drug, household, agriculture or cosmetic products. CAN GmbH cannot be held liable for any damage or harm resulting from handling, use or contact with the above product.

12.2.2 Partikelcharge SAR-0-351-1

Center for Applied Nanotechnology (CAN) GmbH
 Grindelallee 117, 20146 Hamburg, Germany
 Phone: +49 40 42838 4983, FAX: +49 40 42838 5797
 E-mail: info@can-hamburg.de



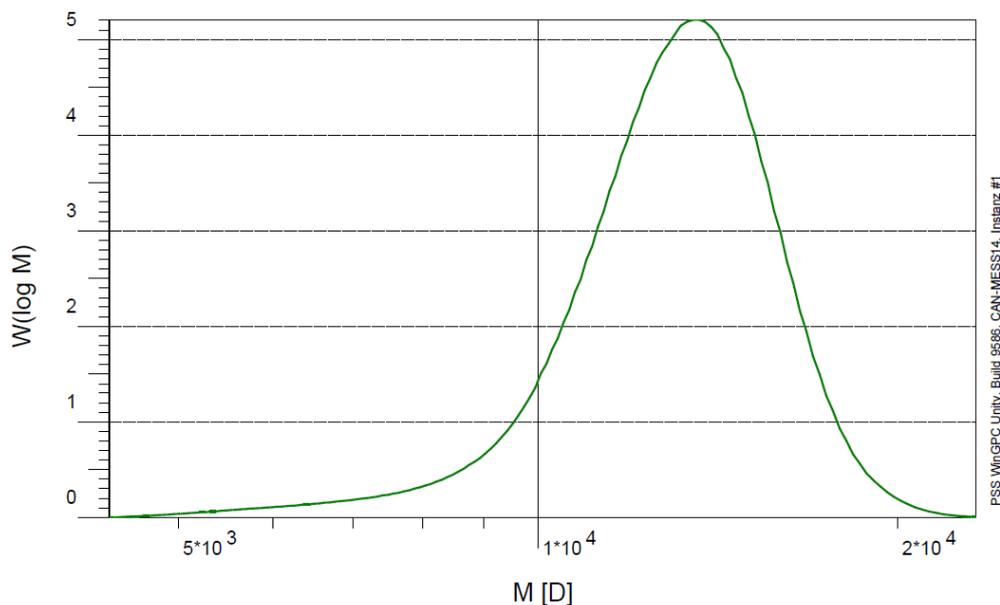
Datasheet CANDot[®] Series A plus hex

		LOT number:	SAR-0-351-1
Product description:	elongated CoreShell Particles CdSe/CdS		
Solvent:	Hexane	Surface groups:	TOPO/TOP/HPA
Appearance (form):	Dispersion	Appearance (color):	red
Storage:	4-25 °C, do not freeze	Shelf life:	12 months
Concentration:	105 mg/mL	Emission:	620 ± 8 nm
FWHM:	< 45 nm	Quantum yield:	

Analysis

Data			Visualisation
Absorption spectroscopy			
Absorption-maximum	HWHM	calculated concentration	
604 nm	19 nm		
Fluorescence Spectroscopy			
Emission-maximum	FWHM	Quantum Yield	
617 nm	36 nm		
Transmission electron microscopy			
Diameter	Length		
4,1 nm	19,7 nm		
Shape	Note / comment		
elongated	AR 4-5		

Disclaimer: This product is for R&D purpose only. Not to be used for food, drug, household, agriculture or cosmetic products. CAN GmbH cannot be held liable for any damage or harm resulting from handling, use or contact with the above product.

12.3 Datenblatt des verwendeten PI-*b*-PEO MJ-D-12

Probe :	Vial 52: MJ-D-12		
Integration von :	Donnerstag 20.10.16 12:09:36	21.570 ml	
Integration bis :	Donnerstag 20.10.16 12:12:06	24.074 ml	
Kalibration :	20141215_PEG_repariert.CAL	THF	
MHK - A (Kal.):	0.000E+0	MHK - K (Kal.): 1.000E+0 ml/g	
Int.Stand.-K :	50.000 ml	Int.Stand.-M :	----- ml
Pumpe :	Tosoh EcoSEC	Flußrate :	1.000 ml/min
Konzentration :	1.500 g/l	Injektvolumen :	100.000 µl
Säule 1 :	PSS SDV 5µm Vorsäule	Temperatur :	35.000 °C
Säule 2 :	PSS SDV 5µm 100000A	Temperatur :	35.000 °C
Säule 3 :	PSS SDV 5µm 1000A	Temperatur :	35.000 °C
Säule 4 :	PSS SDV 5µ 100Å	Temperatur :	35.000 °C
Detektor 1 :	Tosoh EcoSEC UV	Versatz :	0.000 ml
Detektor 2 :	Tosoh EcoSEC RI	Versatz :	0.033 ml
Operateur :	cary	Messintervall :	1.000 sec

Tosoh EcoSEC RI

		Unsicherheit [%]	
Mn :	1.2536e4	0.77	g/mol
Mw :	1.3101e4	0.77	g/mol
Mz :	1.3589e4	0.77	g/mol
Mv :	0.000000	0.77	g/mol
D :	1.0450e0	1.08	
[n] :	0.000000	0.00	ml/g
Vp :	2.2262e1	0.77	ml
Mp :	1.3628e4	0.77	g/mol
FI :	6.101e-1	0.77	ml*V
< 4373	0.00	0.77	
w% :	100.00	0.77	
> 23240	0.00	0.77	

Projekt : D:\WIN GPC DATA\Win GPC Admin.LDX
Datum : Donnerstag 20.10.16 14:11:53

Kostenstelle :
Zeichen :

12.4 H- und P-Sätze

H-Sätze nach CLP-Verordnung

H200-Reihe: Physikalische Gefahren

H200	Instabil, explosiv
H201	Explosiv, Gefahr der Massenexplosion.
H202	Explosiv; große Gefahr durch Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H203	Explosiv; Gefahr durch Feuer, Luftdruck oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H204	Gefahr durch Feuer oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H205	Gefahr der Massenexplosion bei Feuer.
H220	Extrem entzündbares Gas.
H221	Entzündbares Gas.
H222	Extrem entzündbares Aerosol.
H223	Entzündbares Aerosol.
H224	Flüssigkeit und Dampf extrem entzündbar.
H225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
H228	Entzündbarer Feststoff.
H240	Erwärmung kann Explosion verursachen.
H241	Erwärmung kann Brand oder Explosion verursachen.
H242	Erwärmung kann Brand verursachen.
H250	Entzündet sich in Berührung mit Luft von selbst.
H251	Selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H252	In großen Mengen selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H260	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase, die sich spontan entzünden können.
H261	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase.
H270	Kann Brand verursachen oder verstärken; Oxidationsmittel.
H271	Kann Brand oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel.
H272	Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.
H280	Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren.
H281	Enthält tiefgekühltes Gas; kann Kälteverbrennungen oder -Verletzungen verursachen.

H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H300-Reihe: Gesundheitsgefahren

H300 Lebensgefahr bei Verschlucken.

H301 Giftig bei Verschlucken.

H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.

H304 Kann bei Verschlucken und Eindringen in die Atemwege tödlich sein.

H310 Lebensgefahr bei Hautkontakt.

H311 Giftig bei Hautkontakt.

H312 Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt.

H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

H315 Verursacht Hautreizungen.

H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H318 Verursacht schwere Augenschäden.

H319 Verursacht schwere Augenreizung.

H330 Lebensgefahr bei Einatmen.

H331 Giftig bei Einatmen.

H332 Gesundheitsschädlich bei Einatmen.

H334 Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

H335 Kann die Atemwege reizen.

H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

H340 Kann genetische Defekte verursachen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

H341 Kann vermutlich genetische Defekte verursachen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

H350 Kann Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

H350i Kann bei Einatmen Krebs erzeugen.

H351 Kann vermutlich Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

- H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen (konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H360F Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
- H360D Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
- H360FD Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
- H360Fd Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
- H360Df Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
- H361 Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen (konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht)
- H361f Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
- H361d Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
- H361fd Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
- H362 Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen.
- H370 Schädigt die Organe (oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H371 Kann die Organe schädigen (oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H372 Schädigt die Organe (alle betroffenen Organe nennen) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).
- H373 Kann die Organe schädigen (alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben,

wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).

H400-Reihe: Umweltgefahren

- H400 Sehr giftig für Wasserorganismen.
- H410 Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
- H411 Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
- H412 Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
- H413 Kann für Wasserorganismen schädlich sein, mit langfristiger Wirkung.

EUH-Sätze

- EUH001 In trockenem Zustand explosiv.
- EUH006 Mit und ohne Luft explosionsfähig.
- EUH014 Reagiert heftig mit Wasser.
- EUH018 Kann bei Verwendung explosionsfähige / entzündbare Dampf /Luft-Gemische bilden.
- EUH019 Kann explosionsfähige Peroxide bilden.
- EUH029 Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase.
- EUH031 Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase.
- EUH032 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
- EUH044 Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.
- EUH059 Die Ozonschicht schädigend.
- EUH066 Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
- EUH070 Giftig bei Berührung mit den Augen.
- EUH071 Wirkt ätzend auf die Atemwege.
- EUH201 Enthält Blei. Nicht für den Anstrich von Gegenständen verwenden, die von Kindern gekaut oder gelutscht werden könnten.
- EUH201A Achtung! Enthält Blei.
- EUH202 Cyanacrylat. Gefahr. Klebt innerhalb von Sekunden Haut und Augenlider zusammen. Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
- EUH203 Enthält Chrom(VI). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
- EUH204 Enthält Isocyanate. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.

- EUH205 Enthält epoxidhaltige Verbindungen. Kann allergische Reaktionen hervorrufen
- EUH206 Achtung! Nicht zusammen mit anderen Produkten verwenden, da gefährliche Gase (Chlor) freigesetzt werden können.
- EUH207 Achtung! Enthält Cadmium. Bei der Verwendung entstehen gefährliche Dämpfe. Hinweise des Herstellers beachten. Sicherheitsanweisungen einhalten.
- EUH208 Enthält (Name des sensibilisierenden Stoffes). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
- EUH209 Kann bei Verwendung leicht entzündbar werden.
- EUH209A Kann bei Verwendung entzündbar werden.
- EUH210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
- EUH401 Zur Vermeidung von Risiken für Mensch und Umwelt die Gebrauchsanleitung einhalten.

P-Sätze nach CLP-Verordnung

P100-Reihe: Allgemein

- P101 Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungsetikett bereithalten.
- P102 Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
- P103 Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen.

P200-Reihe: Vorsorgemaßnahmen

- P201 Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
- P202 Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
- P210 Von Hitze / Funken / offener Flamme / heißen Oberflächen fernhalten.
Nicht rauchen.
- P211 Nicht gegen offene Flamme oder andere Zündquelle sprühen.
- P220 Von Kleidung /.../ brennbaren Materialien fernhalten/entfernt aufbewahren.
- P221 Mischen mit brennbaren Stoffen /... unbedingt verhindern.
- P222 Kontakt mit Luft nicht zulassen.

- P223 Kontakt mit Wasser wegen heftiger Reaktion und möglichem Aufflammen unbedingt verhindern.
- P230 Feucht halten mit ...
- P231 Unter inertem Gas handhaben.
- P232 Vor Feuchtigkeit schützen.
- P233 Behälter dicht verschlossen halten.
- P234 Nur im Originalbehälter aufbewahren.
- P235 Kühl halten.
- P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden.
- P241 Explosionsgeschützte elektrische Betriebsmittel / Lüftungsanlagen / Beleuchtung /... verwenden.
- P242 Nur funkenfreies Werkzeug verwenden.
- P243 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen.
- P244 Druckminderer frei von Fett und Öl halten.
- P250 Nicht schleifen / stoßen /.../ reiben.
- P251 Behälter steht unter Druck: Nicht durchstechen oder verbrennen, auch nicht nach der Verwendung.
- P260 Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol nicht einatmen.
- P261 Einatmen von Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol vermeiden.
- P262 Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen.
- P263 Kontakt während der Schwangerschaft / und der Stillzeit vermeiden.
- P264 Nach Gebrauch ... gründlich waschen.
- P270 Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
- P271 Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
- P272 Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.
- P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- P280 Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.
- P281 Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
- P282 Schutzhandschuhe / Gesichtsschild / Augenschutz mit Kälteisolierung tragen.
- P283 Schwer entflammbare / flammhemmende Kleidung tragen.
- P284 Atemschutz tragen.

- P285 Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen.
P231 + P232 Unter inertem Gas handhaben. Vor Feuchtigkeit schützen.
P235 + P410 Kühl halten. Vor Sonnenbestrahlung schützen.

P300-Reihe: Empfehlungen

- P301 Bei Verschlucken:
P302 Bei Berührung mit der Haut:
P303 Bei Berührung mit der Haut (oder dem Haar):
P304 Bei Einatmen:
P305 Bei Kontakt mit den Augen:
P306 Bei kontaminierter Kleidung:
P307 Bei Exposition:
P308 Bei Exposition oder falls betroffen:
P309 Bei Exposition oder Unwohlsein:
P310 Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P311 Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P312 Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P313 Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P314 Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P315 Sofort ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P320 Besondere Behandlung dringend erforderlich (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P321 Besondere Behandlung (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P322 Gezielte Maßnahmen (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P330 Mund ausspülen.
P331 Kein Erbrechen herbeiführen.
P332 Bei Hautreizung:
P333 Bei Hautreizung oder -ausschlag:
P334 In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
P335 Lose Partikel von der Haut abbürsten.
P336 Vereiste Bereiche mit lauwarmem Wasser auftauen. Betroffenen Bereich nicht reiben.
P337 Bei anhaltender Augenreizung:

- P338 Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
- P340 Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
- P341 Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
- P342 Bei Symptomen der Atemwege:
- P350 Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.
- P351 Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen.
- P352 Mit viel Wasser und Seife waschen.
- P353 Haut mit Wasser abwaschen / duschen.
- P360 Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
- P361 Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen.
- P362 Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
- P363 Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
- P370 Bei Brand:
- P371 Bei Großbrand und großen Mengen:
- P372 Explosionsgefahr bei Brand.
- P373 Keine Brandbekämpfung, wenn das Feuer explosive Stoffe / Gemische / Erzeugnisse erreicht.
- P374 Brandbekämpfung mit üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus angemessener Entfernung.
- P375 Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.
- P376 Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.
- P377 Brand von ausströmendem Gas: Nicht löschen, bis Undichtigkeit gefahrlos beseitigt werden kann.
- P378 zum Löschen verwenden.
- P380 Umgebung räumen.
- P381 Alle Zündquellen entfernen, wenn gefahrlos möglich.
- P390 Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermeiden.
- P391 Verschüttete Mengen aufnehmen.
- P301 + P310 Bei Verschlucken: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

- P301 + P312 Bei Verschlucken: Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P301 + P330 Bei Verschlucken: Mund ausspülen. Kein Erbrechen herbeiführen.
+ P331
- P302 + P334 Bei Kontakt mit der Haut: In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
- P302 + P350 Bei Kontakt mit der Haut: Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.
- P302 + P352 Bei Kontakt mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen
- P303 + P361 Bei Kontakt mit der Haut (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten
+ P353 Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
- P304 + P340 Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert
- P304 + P341 Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
- P305 + P351 Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser
+ P338 spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
- P306 + P360 Bei Kontakt mit der Kleidung: Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
- P307 + P311 Bei Exposition: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P308 + P313 Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P309 + P311 Bei Exposition oder Unwohlsein: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P332 + P313 Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P333 + P313 Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P335 + P334 Lose Partikel von der Haut abbürsten. In kaltes Wasser tauchen /nassen Verband anlegen.
- P337 + P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P342 + P311 Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
- P370 + P376 Bei Brand: Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.

- P370 + P378 Bei Brand: zum Löschen verwenden.
- P370 + P380 Bei Brand: Umgebung räumen
- P370 + P380 Bei Brand: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der
+ P375B Entfernung bekämpfen
- P371 + P380 Bei Großbrand und großen Mengen: Umgebung räumen. Wegen Explo-
+P375 sionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.

P400-Reihe: Lagerhinweise

- P401 ... aufbewahren.
- P402 An einem trockenen Ort aufbewahren.
- P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
- P404 An einem geschlossenen Behälter aufbewahren.
- P405 Unter Verschluss aufbewahren.
- P406 In korrosionsbeständigem /... Behälter mit korrosionsbeständiger Ausklei-
dung aufbewahren.
- P407 Luftspalt zwischen Stapeln / Paletten lassen.
- P410 Vor Sonnenbestrahlung schützen.
- P411 Bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C / ... aufbewahren.
- P412 Nicht Temperaturen von mehr als 50 °C aussetzen.
- P413 Schüttgut in Mengen von mehr als ... kg bei Temperaturen von nicht mehr
als ... °C aufbewahren
- P420 Von anderen Materialien entfernt aufbewahren.
- P422 Inhalt in / unter ... aufbewahren
- P402 + P404 In einem geschlossenen Behälter an einem trockenen Ort aufbewahren.
- P403 + P233 Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
- P403 + P235 Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
- P410 + P403 Vor Sonnenbestrahlung geschützt an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
- P410+ P412 Vor Sonnenbestrahlung schützen und nicht Temperaturen von mehr als
50 °C aussetzen.
- P411+ P235 Kühl und bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C aufbewahren.

P500-Reihe: Entsorgung

- P501 Inhalt / Behälter ... zuführen.