

Fluoreszente, hybride Nanosensoren auf Silicatbasis für die Bioanalytik

Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Dragan Griebel

aus

Bitola

- 2003 -

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A _{BET}	gemessene spezifische Oberfläche nach Brunauer, Emmet und Teller
A _G	berechnete, geometrische Oberfläche
Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
AFM	Rasterkraftmikroskopie
AK	Antikörper
AMEO	3-Aminopropyltriethoxysilan
BTMSiEB	Bis(trimethoxysilylethyl)benzol
Dig	Digoxin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DRIFT	FT-IR-Spektroskopie in diffuser Reflexion
DTA	Differentialthermoanalyse
EDC	(N'-[3-Dimethylaminopropyl]-N-Ethylcarbodiimid
Et	Ethyl
ETEO	Ethyltriethoxysilan
ETMO	Ethyltrimethoxysilan
EtOH	Ethanol
Eu(TNB) ₃	Europium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion
Fig.	Figure
FLUOS-Si	6-Hydroxy-3-oxo-3H-9-[2-carboxy-4-(N-{3-triethoxysilylpropyl}amido)phenyl]-Xanthen
GF20	2-(3-Triethoxysilylpropyl)-Bernsteinsäureanhydrid
IEP	Isoelektrischer Punkt
ISC	Intersystem Crossing
JA133-NHS	JA133-N-Hydroxysuccinimidester: 6-(2-Carboxy-3,4,5,6-tetrachlorophenyl)-1-[4-[(2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl)oxy]-4-oxobutyl]-11-ethyl-1,2,10,11-tetrahydro-2,2,4,8,10,10-hexamethyl-Pyrano[3,2-g:5,6-g']diquinolin-13-ium
JA133-Si	silyliertes JA133 mit terminalen Ethoxygruppen:

	6-(2-Carboxy-3,4,5,6-tetrachlorophenyl)-1-ethyl-1,2,10,11-tetrahydro-2,2,4,8,10,10-hexamethyl-11-[4-oxo-4-[[3-(triethoxysilyl)propyl]amino]butyl]-Pyrano[3,2-g:5,6-g']dichinolin-13-ium
Kap.	Kapitel
LFR300 [®]	Lumogen Rot 300 (BASF)
Ln	Lanthanoid
MAK	monoklonaler Antikörper
MAS	Massenspektroskopie
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MR121-NHS ,4,8,9,10,11-	1-[4-[(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl)oxy]-4-oxobutyl]-11-ethyl-hexahydro-2H-Dipyrido[3,2-b:2',3'-i]phenoxa-zinium
MR121-Si	1-[4-Oxo-4-[[3-(triethoxysilyl)propyl]amino]butyl]-11-ethyl-3,4,8,9,10,11- hexahydro-2H-Dipyrido[3,2-b:2',3'-i]phenoxa-zinium
Pd-Si	PDTPPC-dotierte Silicat-Nanopartikel
PdTPPC	5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxyphenyl)-porphyrin-Pd(II)
PhTEO	Phenyltriethoxysilan
PhTMO	Phenyltrimethoxysilan
PLD	Partikelladungsdetektor
RB2-Si	1-Amino-4-[(4- {[4-(3-triethoxysilylpropyl)amino-6-[(3-sulfo-phenyl)amino]-1,3,5,-triazin-2-yl]amino}-3-sulfo-phenyl)amino]-9,10-dihydro-9,10-dioxo-2-Anthrazensulfonsäure Trinatriumsalz
RD	Roche Diagnostics
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RFA	Röntgenfluoreszenzanalyse
rt	Raumtemperatur
Ru-phen	Tris-(1,10-phenantrolin)ruthenium(II)-dichlorid * n H ₂ O
SAXS	Röntgen-Kleinwinkelstreuung
SEM	Scanning Electron Microscopy (s. REM)
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethoxysilan
TFPTMSi	3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilan
THF	Tetrahydrofuran

TNB	4,4,4-Trifluoro-(1-naphtoyl)-1,3-butandion
TnT	Troponin T
<TnT>	anti-Troponin T
TRF	Time Resolved Fluorescence
UNG	unterste Nachweisgrenze
w.E.	willkürliche Einheiten
Zn-Si	ZnTMPyP-dotierte Silicat-Nanopartikel
ZnTMPyP	5,10,15,20-Tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-Zn(II)

Abkürzungen für die synthetisierten Silicat-Nanopartikel:

SN	Silicat-Nanopartikel
FSN	Fluorophordotierte Silicat-Nanopartikel
KS-FSN	Fluorophordotierte Silicat-Nanopartikel mit Kern-Schale-Aufbau
KS-OFSN	Fluorophordotierte Silicat-Nanopartikel mit Kern-Schale-Aufbau und Oberflächenmodifizierung

Unter Silicat-Nanopartikel werden in dieser Arbeit SiO₂-Teilchen, die mit Silanol- und/oder Organosilan-Gruppen durchsetzt sein können, verstanden. Dies ist eine starke Vereinfachung, denn „Silicate“ sind definitionsgemäss Salze oder Ester der Ortho-Kieselsäure.

Literaturhinweise sind durch hochgestellte Zahlen in eckigen Klammern ^[] gekennzeichnet. Spektroskopische Daten, die nicht im Hauptteil aufgeführt sind, befinden sich im Experimentalteil im Anschluss an die jeweilige Versuchsdurchführung.

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	I
INHALTSVERZEICHNIS.....	IV
1 EINLEITUNG	1
2 PROBLEMSTELLUNG	4
3 KENNTNISSTAND.....	7
3.1 SiO ₂ -PARTIKELSYNTHESEN	7
3.2 DER STÖBER-PROZESS	9
3.2.1 <i>Allgemeines</i>	9
3.2.2 <i>Synthesebedingungen und Partikeleigenschaften</i>	10
3.2.3 <i>Wachstumsmodelle</i>	14
3.3 SPHÄRISCHE, HOMOGEN EINGEFÄRBTE SILICAT-NANOPARTIKEL	18
3.3.1 <i>Verwendung von Lumophoren als Signalgruppen</i>	20
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION	26
4.1 FARBSTOFFDOTIERTE SILICAT-NANOPARTIKEL.....	26
4.1.1 <i>Evaluierung des Leitpartikels</i>	29
4.1.2 <i>Carboxylgruppenbestimmung durch PLD</i>	34
4.1.3 <i>Lyophilisations- und Redispergierungsfähigkeit der synthetisierten Silicat-Nanopartikel</i>	38
4.1.4 <i>Porphyrinmetallkomplexe in Silicat-Nanopartikeln</i>	41
4.1.5 <i>Ruthenium-Komplexe als Sensormoleküle in Silicat-Nanopartikel</i>	45
4.2 HYDROPHOBE SILICATMATRIZES.....	48
4.2.1 <i>Arylmodifizierte Silicat-Nanopartikel</i>	49
4.2.2 <i>Fluoralkylalkoxysilan hydrophobierte Silicatpartikel mit eingebundenem JA133-Si</i>	53
4.2.3 <i>Lanthanoidkomplexe mit 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion als Liganden</i>	56
4.2.4 <i>Synthese neuartig hydrophobierter und Lanthanoid-Kompelx dotierter Silicat-Nanopartikel</i> ...59	59
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	67
5 SUMMARY.....	74
6 EXPERIMENTALTEIL.....	80
6.1 METHODEN UND MATERIALIEN	80
6.1.1 <i>Spektroskopische Methoden</i>	80
6.1.2 <i>Sonstige Analytische Methoden</i>	83
6.1.3 <i>Ausgangsverbindungen</i>	85

6.1.4	<i>Vorgehensweise</i>	85
6.2	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	86
6.2.1	<i>Anwendungsrelevante Eigenschaften des Partikel-Typs KS-OFSN</i>	86
6.2.2	<i>Lyophilisation von Silicat-Nanopartikel</i>	88
6.2.3	<i>Synthese von Organometall-Komplex dotierten Silicatpartikeln</i>	92
6.2.3.1	Darstellung von ZnTMPyP-dotierten Silicatpartikeln.....	93
6.2.3.2	Darstellung von PdTPPC dotierten Silicatpartikeln.....	94
6.2.3.3	Darstellung von Tris-(1,10-phenantrolin)-ruthenium(II) dotierten Silicatpartikeln.....	96
6.2.3.4	Darstellung größerer Ru-dotierter Silicatpartikel.....	97
6.2.4	<i>Farbstoffdotierte und organisch-modifizierte Silicatpartikel</i>	99
6.2.4.1	Mit Bis(trimethoxysilylethyl)benzol modifizierte und mit Lumogen F Rot [®] dotierte Silicatpartikel.....	99
6.2.4.2	Darstellung Fluoralkylsilan- und JA133-modifizierter Silicat-Nanopartikel.....	100
6.2.5	<i>Lanthanoid-Komplexe mit 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion</i>	102
6.2.5.1	Darstellung von Terbium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion.....	102
6.2.5.2	Darstellung von Gadolinium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion.....	103
6.2.5.3	Darstellung von Dysprosium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion.....	104
6.2.5.4	Darstellung von Erbium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion.....	105
6.2.6	<i>Darstellung von Eu(III)-tris-4,4,4-trifluoro-1-(2-naphthoyl)-1,3-butandion dotierten Silicatpartikeln</i>	106
7	LITERATUR	109

1 EINLEITUNG

„Where Nature finishes producing its own species, man begins, using natural things and with the help of this nature, to create an infinity of species“. Mit diesem Zitat von Leonardo da Vinci gibt der Nobelpreistäger Jean-Marie Lehn einen Ausblick auf die Perspektiven der Supramolekularen Chemie.^[1] Diese beschäftigt sich einerseits mit den grundlegenden Prinzipien, nach denen die Natur ihre komplexen und hochfunktionellen Molekülensembles erzeugt, und andererseits mit der Nutzung dieser Prinzipien für neuartige Funktionseinheiten und Materialien, die in der Sensorik, Katalyse und anderen Bereichen der Ingenieurwissenschaften sowie der biomedizinischen Forschung einsetzbar sind.^[2-4] Enorme Fortschritte auf dem Gebiet der Biowissenschaften führen gegenwärtig zu der großen Herausforderung, Materialwissenschaften und Biotechnologie zu verschmelzen (Abb.1.1).

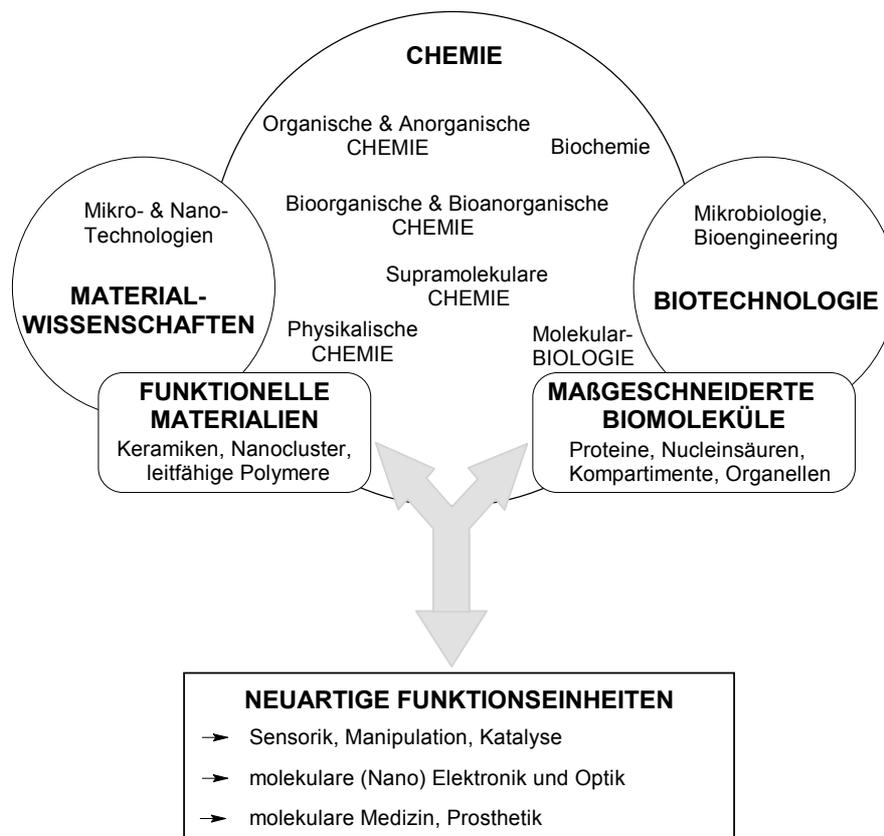


Abb. 1.1: Die Chemie als zentrale Wissenschaft für die Entwicklung anwendungsbezogener Disziplinen wie Materialforschung und Biotechnologie.^[2]

Biotechnologie und Materialwissenschaften nähern sich von verschiedenen Seiten auf derselben Größenskala aneinander an. Die bisher herrschende Lücke dazwischen kann durch kolloidale Systeme geschlossen werden.^[5] Diese Systeme bestehen aus Partikeln mit Durchmessern im Bereich zwischen 1 nm und 500 nm. Typisch für solche Partikel ist, dass in Lösung die Brownsche Molekularbewegung die gravimetrische Sedimentation überwiegt, so dass diese Partikel stabile Dispersionen ausbilden können. Kolloidale Partikel werden schon seit langem für industrielle Erzeugnisse wie Farbpigmente, Pulverlacke, Klebstoffe, Katalysatorträger, Adsorptionsmittel, Magnetpigmente, Verbundwerkstoffe, Zement, Bohrspülflüssigkeiten, Thixotropiemittel, Tinten, Füllstoffe, Emulgatoren, Dispersionshilfsmittel, Emulsionen, Salben und Depotsysteme verwendet. Betrachtet man nun das Anwendungspotential amorpher SiO₂-Dispersionen, so findet man sie insbesondere eingesetzt als Filterhilfsstoffe, Träger für Biozide, als Speicherstoffe, Katalysatorträger^[6-8], Füllstoffe^[9], tonerähnliche Druckerfarben^[10-13] oder zur Immobilisierung bzw. Reinigung in der Biotechnologie.^[14, 15]

Anwendungen in der Biotechnologie gewinnen insbesondere in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung.^[16, 17] In einer Vielzahl diagnostischer Tests und Analyseverfahren werden derzeit submikron-große, gleichförmige Latexpartikel (=Polystyrol) oder Mikrokugeln als Substrate oder zur Unterstützung für immunologisch basierende Reaktionen eingesetzt. Hierzu gehören die Partikel-Capture-Assays, Partikel-Immunoassays, die neuesten Sandwich-Tests mit gefärbten Partikeln oder die Festphasen-Assays, welche SiO₂- oder magnetische Mikrokugeln implizieren.^[18-22] Bevor diese Mikrokugeln überhaupt in einem Assay verwendet werden können, müssen sie für die Anbindung des Analyten vorbereitet und mit entsprechenden Liganden (meistens Proteinen und Antigenen) an ihrer Oberfläche modifiziert werden. Ebenso muss die Wechselwirkung der Mikrokugeln mit anderen Testkomponenten, wie z.B. mit Filtern, Membranen, Magneten etc., bei der Wahl des Testsystems und der Art der verwendeten Partikel miteinbezogen werden. Hier liegt ein Ansatzpunkt für die Verwendung von SiO₂-Nanopartikeln. Die Hersteller derartiger Systeme müssen sich mit diesen Anforderungen bereits sehr früh im Entwicklungsprozess auseinandersetzen, um die geeigneten Methoden auszuwählen. Dazu gehören maßgeschneiderte Mikrokugeln mit speziellen chemischen Eigenschaften, wie z.B. Partikel mit einer höheren oder niedrigeren Dichte und/oder einem höheren Brechungsindex als Polystyrol (z.B. Dimmer-Partikel für turbidimetrische Assays). Bei der Adsorption von Proteinen sind hydrophobe Wechselwirkungen als die am häufigsten auftretenden Bindemechanismen anzuführen.

Polystyroloberflächen (hydrophobes Polymer) weisen oft einen hohen Grad an unspezifischer Proteinadsorption auf. Somit gehören sie nicht zur ersten Wahl, wenn es darum geht, Partikel einzusetzen, die relativ spezifisch Proteine adsorbieren sollen. Mikropartikel mit einer hohen Konzentration an hydrophilen Monomeren an der Oberfläche, wie z.B. Acrylsäure oder Acrylamide, neigen weniger zu unspezifischen Adsorptionen. SiO₂-Mikro- oder Nanopartikel sind von Natur aus hydrophil, so dass eine unspezifische Proteinanbindung nicht zu erwarten ist, und nach der kovalenten Anbindung des Proteins nur die gewünschte Antigen-Antikörper-Reaktion stattfinden sollte. Weiterhin bewirken die unterschiedlichen Dichten der SiO₂- und Polystyrol-Partikel (1.96 g/cm³ bei SiO₂; 1.05 g/cm³ bei Polystyrol) eine deutliche Differenz in der Sedimentationsgeschwindigkeit beider Feststoffe.

Vorteilhaft ist auch, dass SiO₂-Partikel vor der Oberflächenmodifizierung keiner weiteren Reinigungsschritte bedürfen. Latex-Partikel hingegen werden gewöhnlich nach einem Emulsionsverfahren hergestellt. Die dabei verwendeten adsorbierten, oberflächenreaktiven Reagenzien bzw. Emulsionsreagenzien müssen nach der Partikelsynthese in mehreren Reinigungsschritten von der Teilchenoberfläche entfernt werden.

Latexpartikel, sowohl Mikro- als auch Nanopartikel, werden vor oder nach der Polymerisation mit einer Vielzahl von Farbstoffen eingefärbt. Ursprünglich geschah dies zur verbesserten Sichtbarkeit und Farbdiskriminierung, inzwischen werden sie auch zur quantitativen Analyse auch mit Fluorophoren (fluoreszierende Farbstoffe mit spezifischen spektralen Eigenschaften) eingesetzt.

2 PROBLEMSTELLUNG

Ziel dieser Arbeit, die im Rahmen eines vom BMBF geförderten Projektes (Förderkennzeichen: 03C02899) durchgeführt wurde, war die Herstellung einer Gruppe von funktionellen, anorganisch-organischen Nanopartikeln mit einem Durchmesser von 50 bis 200 nm. Diese sollten als Detektorreagenzien in bioanalytischen, insbesondere *in vitro* diagnostischen Tests eingesetzt werden.^[23]

Detektorreagenzien sind Substanzen, die über spezifische Bindepartner (z.B. Antikörper) an komplementäre Gruppen auf Analytmolekülen binden, welche spezifisch für ein Krankheitsbild sind. Neben diesem Bindepartner trägt das Detektorpartikel eine Signalgruppe, die eine Detektion mit einfachen analytischen Methoden (z.B. visuell, fluorometrisch oder turbidimetrisch) ermöglicht. Der Nachweis kann quantitativ oder qualitativ erfolgen. Die Detektorpartikel (farbige bzw. fluoreszente Partikel) sollen in immunochromatographischen Teststreifen eingesetzt werden. Eine zu untersuchende Probe (z.B. Blut) wird dazu im Applikationsbereich aufgetragen und durchtränkt dabei die beiden Konjugatvliese (s. Abb. 2.1). In diesen befinden sich die signalgebenden Antikörper-Partikel (Vlies 2, „Beads“) sowie ein biotinylierter Antikörper (Vlies 1), der mit einem zweiten Epitop des Analyten (z.B. TnT) reagiert. Ist der gesuchte Analyt vorhanden, so kommt es zur Ausbildung des Sandwichkomplexes MAK1/Analyt/MAK2. Aufgrund der Wechselwirkung Streptavidin-Biotin kann der „Sandwich“ am Resultatstrich binden und durch die gefärbten Beads einen farbigen Strich erzeugen. Am zweiten Strich, dem Kontrollstrich, ist ein Epitopeptid des gesuchten Analyten fixiert. Es bindet die überschüssigen Beads und erzeugt einen zweiten farbigen Strich. Dieser dient als Funktionskontrolle und zeigt alleine das ordnungsgemäße Verhalten der Partikelkonjugate an. Ist kein Analyt vorhanden, so kann kein Sandwich ausgebildet und an der Resultatlinie kein farbiger Strich generiert werden (\Rightarrow Kontrollstrich). In Gegenwart des Analyten sind somit zwei farbige Striche sichtbar, während ohne Analyt nur ein Strich zu sehen ist (s. Abb.2.1).

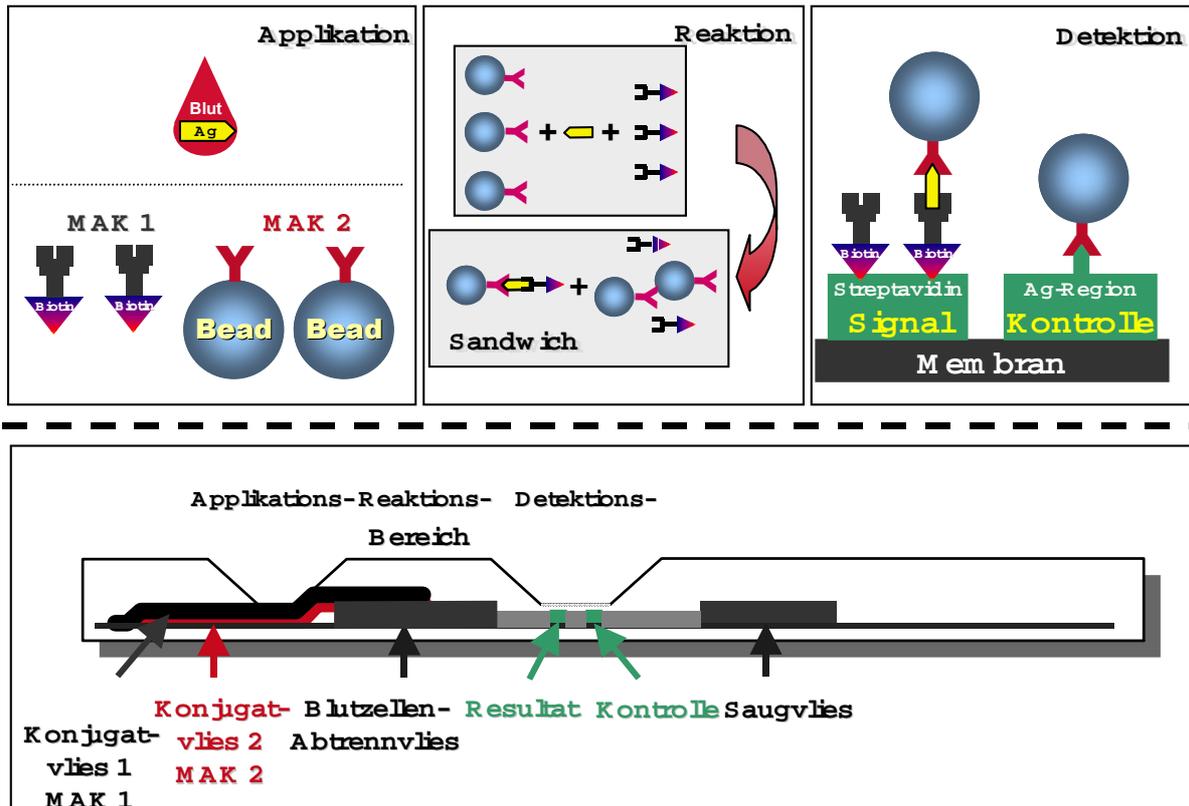


Abb. 2.1: Funktionsprinzip eines Teststreifens, quantitative Bewertung der fluoreszierenden Silicat-Nanopartikel auf Signal- und Kontrollstrich durch eine CCD-Kamera.
(Quelle: Roche Diagnostics)

Funktionell sollten die neuen Partikel in der Lage sein, klinisch relevante Konzentrationen der Modell-Analyten Troponin T (Herzinfarkt-Marker), Digoxin (Herzmedikament) bzw. CRP (C-reaktives Protein) zu messen. Dabei sollen wesentliche Funktionsmerkmale, wie z.B. Sensitivität und nichtspezifische Bindung, mindestens vergleichbar, möglichst aber besser sein als bei konventionellen kolloidalen Detektionssystemen (z.B. Goldpartikel, herkömmliche Latices). Zu Beginn der Arbeit lagen die unteren Nachweisgrenzen (UNG) der verfügbaren kommerziellen Tests bei 0.1 ng/ml Troponin T ($= 3 \cdot 10^{-12}$ mol/l; Teststreifen-Test), bei 0.25 ng/ml Digoxin ($= 3 \cdot 10^{-10}$ mol/l; turbidimetrischer Test) und bei 5 µg/ml CRP ($= 5 \cdot 10^{-8}$ mol/l; turbidimetrischer Test).

Der hydrophile Charakter von SiO₂-Partikeln verhindert, dass Proteine unspezifisch auf der Partikeloberfläche adsorbieren. Mit ihrer einheitlichen und glatten Oberfläche sind Silicatpartikel auch als Träger von spezifischen Bindepartnern (Enzyme, Antigene) in der Diagnostik einsetzbar. Dies ist eine weitere essentielle Eigenschaft für die Anwendung in Immunoassays. Als Herstellungsmethode für SiO₂-Partikel bietet das Stöber-Verfahren durch die Gewährleistung hoher Monodispersität eine Reihe wichtiger Vorteile. Ein Beispiel dafür

ist das einheitliche Verhalten der Partikel, das sie für einen Einsatz in chromatographischen Systemen prädestiniert (z.B. diagnostische Teststreifen). Mikro- oder Nanopartikel haben gegenüber Festphasenträgern einen deutlichen Vorteil: sie lassen sich leicht aus einer wässrigen Phase separieren. Farblose SiO₂-Partikel werden bereits für die Isolierung von DNA- oder auch RNA-Fragmenten von HIV-Viren eingesetzt.^[14]

Ziel der Arbeit war daher die reproduzierbare Darstellung farbstoffdotierter, oberflächenmodifizierter SiO₂-Partikel im Größenbereich von 50 bis 200 nm. Diese Partikel sollten als stabile, wässrige Dispersion vorliegen. Ein einheitliches Verhalten der Partikel im Detektionsprozess sollte durch eine enge Größenverteilung sowie sphärische Morphologie erzielt werden.

Zur Oberflächenfunktionalisierung sind prinzipiell alle reaktiven Gruppen geeignet. Im Rahmen dieser Arbeit wurden allerdings bevorzugt Carbonsäurefunktionen aufgebracht. Hierzu war es notwendig, Methoden zur quantitativen Charakterisierung der Oberflächenbelegung mit COOH-Gruppen zu evaluieren.

Der eingebaute Farbstoff hat die Funktion einer Signalgruppe, die die qualitative oder quantitative Detektion des Detektorreagenzes mit einfachen analytischen Methoden gewährleistet. Die Option, das Detektorsystem zu variieren, setzt voraus, dass die Partikel mit einer Vielzahl von Farbstoffen dotiert werden können. Hierzu sollte durch Hydrophobierung von SiO₂-Nanopartikeln ein Zugang zu neuartigen, fluoreszenten Signalgruppen ermöglicht werden.

Zusammenfassend lässt sich die Aufgabenstellung in vier Punkte gliedern:

- Reproduzierbare Darstellung farbstoffdotierter SiO₂-Partikel
- Synthese neuartiger hydrophober Silicat-Nanopartikel
- Einbau von Signalgruppen mit besonderen Fluoreszenzeigenschaften in die neuartigen Silicat-Nanopartikel
- Evaluierung eines Leitpartikeltyps, der im Teststreifen den Nachweis medizinisch relevanter Konzentrationen erlaubt.

3 KENNTNISSTAND

3.1 SiO₂-Partikelsynthesen

Silicatpartikel können auf unterschiedlichen Wegen synthetisiert werden. Großtechnisch werden sie durch Flammenhydrolyse (z.B. Aerosil[®]) hergestellt.^[24] Dazu wird ein homogenes Gasmisch aus Siliciumtetrachlorid, Wasserstoff und Luft in einem gekühlten Verbrennungsraum umgesetzt.^[25] Eine Knallgasflamme liefert das zur Hydrolyse notwendige Wasser. Die Teilchengrößen liegen zwischen 7 nm und 40 nm. Von großtechnischer Bedeutung ist ebenfalls die Darstellung kolloidaler SiO₂-Dispersionen mittels Zugabe einer Wasserglaslösung zu einer verdünnten Säure bzw. durch deren Überführung in die protonierte Form mittels Ionenaustauscher (z.B. Ludox[®]).^[26]

Im folgenden sind einige kommerziell erhältliche kolloidale SiO₂-Dispersionen aufgeführt:

Sicastar[®] (micromod), 80-800 nm^[27]

Köstrosol[®] (CWK-Bad Köstritz)

Snowtex[®] (Nissan Chem. Ind.), 10-100 nm^[28]

Ludox[®] (GRACE Davison) monodispers, 7-80 nm^[29, 30]

Aerosil[®] (Degussa), 7-40 nm^[31]

Compol[®] (Fujimi)^[32]

Nalcoag[®] (Nalco), 4-25 nm, stabilisiert mit Na₂O^[28]

Nyacol[®] (Nyacol), 3-50 nm^[28]

Cab-O-Sil[®] (Cabot Corp.)^[33]

In der Forschung wurden weiterhin diverse Emulsionstechniken eingesetzt, beispielsweise Organosilicatpartikel (*Silicone*) über Emulsions-Polymerisation,^[34] und die daraus resultierenden Partikel auf Größe und Größenverteilung untersucht. Diese Partikel sind normalerweise kleiner als 100 µm.^[35-40]

Aus einem TEOS-Weinsäure-Cyclohexanol-Wasser-System können sphärische, mesoporöse SiO₂-Partikel im Größenbereich von 0.3 µm - 1.0 µm hergestellt werden.^[41] Diese Partikel entstehen aus kompakten SiO₂-Primärpartikeln von etwa 20 nm Größe. Mesoporöse SiO₂-Hohlkugeln sind nach einem modifizierten Stöber-Prozess durch saure Hydrolyse von TEOS

herstellbar.^[42] Diese Partikel vom Typ M41S haben eine spezifische Oberfläche von 850-950 m²/g und nach Kalzinieren bei 500°C, Mesoporen mit einem Durchmesser von ca. 2 nm.^[43-45] Das Einsatzgebiet dieser Mikropartikel ist die Chromatographie. Eine weitere Variante mesoporöser SiO₂-Partikel aus der M41S-Familie sind die Typen MCM41^[43, 46-48] und MCM48.^[45] Diese Partikel sind über verschiedene Syntheserouten zugänglich, wobei der grundlegende Unterschied im pH-Wert der Reaktionslösung sowie der verwendeten SiO₂-Quelle liegt. Mesoporöse SiO₂-Partikel wurden auch unter sauren Bedingungen nach der oberflächenbasierenden supramolekularen *Templatmethode* hergestellt.^[49] Hierbei wachsen in 7-10 Tagen bei 80°C kreiselförmige Precursoren auf ca. 6 µm große, sphärische, polydisperse Partikel mit enger Porengrößenverteilung an. Die Ausbildung der sphärischen Partikel ist dabei stark von Temperatur und Acidität der Lösung abhängig.

Mit Hilfe von Emulgatoren in einer wässrigen Lösung aus Methyltrimethoxysilan sind 10-30 nm große sphärische Organosilicat-Mikronetzwerke hergestellt worden.^[50, 51] Die Partikel haben eine dendritische Grundstruktur und können mit diversen funktionellen Gruppen (Vinyl-, Mercaptogruppen, etc.) oberflächenmodifiziert werden.

Das wohl bekannteste Verfahren zur Herstellung von monodispersen, kugelförmigen Silicatpartikeln wurde von Stöber, Fink und Bohn vorgestellt.^[52] Dieses Verfahren diente auch in der vorliegenden Arbeit als Basis und soll deshalb im folgenden Kapitel ausführlich beschrieben werden. Die Stöber-Methode ist nicht nur für die Darstellung reiner SiO₂-Partikel bekannt, sondern auch für die Synthese von B₂O₃-dotierten^[53] oder Mischoxid-Partikeln aus z.B. SiO₂/ZrO₂, SiO₂/TiO₂^[54] oder SiO₂/SnO₂^[55] geeignet. Weiterhin konnten durch Cokondensation auch organische Moleküle wie beispielsweise Farbstoffe^[23, 27] in SiO₂-Partikel eingebaut werden.

3.2 Der Stöber-Prozess

3.2.1 Allgemeines

Schon 1955 beobachtete G. Kolbe bei der Hydrolyse von TEOS die Bildung kugelförmiger SiO₂-Partikel.^[56] Stöber et al. nahmen 1968 diesen Prozess wieder auf und untersuchten ihn erstmals systematisch zur Darstellung monodisperser Partikel.^[52] Die nach dem Stöber-Prozess erhaltenen kolloidalen Partikel sind laut Klassifizierung von Staudinger im Bereich der Dispersionskolloide anzusiedeln.^[57]

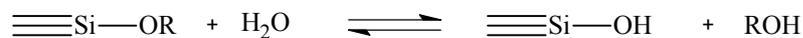
Das von Stöber et al. entwickelte Verfahren basiert auf dem Sol-Gel Prozess.^[58f] Dieses nasschemische Verfahren hat den Vorteil, dass es, verglichen mit anderen Partikelsynthesen, bei milden Reaktionstemperaturen durchgeführt werden kann. Es ist somit attraktiv für Dotierungen mit temperaturlabilen Verbindungen. Vorteilhaft ist auch der abgedeckte Größenbereich von Durchmessern zwischen 40 nm und 3.6 µm, mit reproduzierbar sphärischen und monodispersen SiO₂-Partikeln.^[59-64] Die Herstellung stabiler Dispersionen wird durch diese gleichförmigen Partikel erleichtert.^[65] Während des Herstellungsprozesses müssen keine Tenside eingesetzt werden, so dass aufwendige Reinigungsschritte, wie sie beispielsweise bei Latexpartikeln nötig sind, entfallen. Weitere wichtige Materialeigenschaften von SiO₂-Partikel sind unter anderem die Inertheit gegenüber den meisten chemischen Systemen sowie Stabilität gegenüber Reaktionstemperaturen von bis zu 1000°C.^[66]

Die aus dem Stöber-Prozess resultierenden monodispersen Silicat-Nanopartikel dienen in vielen Studien als Modellsysteme. So können z.B. Partikel, die mit 1-Octadecanol oberflächenmodifiziert wurden, für eine physiochemische Studie der Struktur und der Dynamik konzentrierter Dispersionen eingesetzt werden.^[67] Auch bei Lichtstreuungsstudien,^[68-71] Rheologieuntersuchungen,^[72-74] der Bildung geordneter Sedimente^[75, 76] oder bei den Stabilitätsuntersuchungen von Kolloiden^[57] werden sie als Modellsysteme verwendet.

3.2.2 Synthesebedingungen und Partikeleigenschaften

Beim Stöber-Prozess werden die SiO₂-Partikel durch Hydrolyse und Kondensation eines Siliciumalkoxides, meistens Tetraethoxysilan (TEOS), hergestellt. Die Reaktion findet in einem Gemisch aus Wasser, Ammoniak und einem niederen Alkohol, oft Ethanol, statt. Die Hauptreaktionen bei der Bildung der SiO₂-Partikel (Schema 3.2.2.1) lassen sich wie folgt beschreiben:^[58]

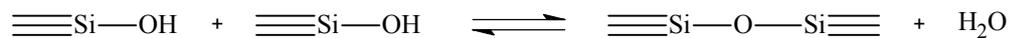
1) Hydrolyse



2) Kondensation I



3) Kondensation II



4) Gesamtreaktion



Schema 3.2.2.1: Wichtige Reaktionen beim Stöber-Prozess.^[77]

Bei der Synthese werden Alkohol, Wasser und Ammoniak vorgelegt und anschließend mit TEOS versetzt. Je nach Synthesebedingungen tritt nach wenigen Sekunden bis Minuten eine Opaleszenz der Lösung ein. Diese Induktionsperiode nimmt mit abnehmender Partikelgröße und Temperatur zu.^[78] Die erhaltenen Partikel weisen bezüglich ihrer Größe eine Standardabweichung von 2-8 % auf. Der Alkohol dient während der Reaktion als Cosolvens für das in Wasser unlösliche TEOS. Durch den Ammoniak werden sowohl die Hydrolyse- als auch die Kondensationsreaktion katalysiert. Die Base deprotoniert die oberflächlichen Silanolgruppen der ausgebildeten Partikel. Die so erzeugten negativen Ladungen stabilisieren das kolloidale System infolge elektrostatischer Abstoßung. So bleiben die Suspensionen über mehrere Monate bis Jahre hinweg stabil. Gleichzeitig ermöglichen die vorhandenen Silanolgruppen eine Funktionalisierung der Partikeloberfläche mit organofunktionellen Silanen

(vgl. Kap. 4.1). In der Literatur sind hierzu bereits diverse Beispiele aufgeführt (z.B. AMEO,^[66, 79] ETEO,^[80] MEMO,^[81, 82] MPTMO,^[6, 7] GLYMO,^[67, 82] GF20^[83]). Durch geeignete Oberflächenmodifizierung kann die Dispergierbarkeit in verschiedenen Lösungsmitteln variiert werden.^[59, 80]

Die Partikelgröße lässt sich durch die Ammoniak- und Wasserkonzentration, die Reaktionstemperatur und das eingesetzte Lösungsmittel steuern. Der Einfluss der Reagenzkonzentrationen auf die Partikelgröße ist in mehreren Publikationen untersucht worden.^[59-63] Eine Berechnung des Partikeldurchmessers kann über empirische Formeln erfolgen. In dieser Arbeit wurde die von Bogush et al. verwendet:^[60]

$$d = A \cdot [\text{H}_2\text{O}]^2 \cdot e^{-(B[\text{H}_2\text{O}])^{1/2}}$$

$$\text{mit } A = [\text{TEOS}]^{1/2} \cdot (82 - 151 \cdot [\text{NH}_3] + 1200 \cdot [\text{NH}_3]^2 - 366 \cdot [\text{NH}_3]^3)$$

$$B = 1.05 + 0.523 \cdot [\text{NH}_3] - 0.128 \cdot [\text{NH}_3]^2$$

Hierbei ist d der Partikeldurchmesser in Nanometern. Die Konzentrationen sind in mol/l angegeben. Mit dieser Korrelation lässt sich die Partikelgröße mit einer Genauigkeit von 10 % berechnen.

Folgende weitere Tendenzen sind zu erkennen:

1. Sowohl die Erhöhung der Ammoniak- als auch die der Wasserkonzentration beschleunigt die Reaktion und lässt die Partikelgröße steigen. Wird eine bestimmte Wassermenge überschritten, wachsen die Partikel nicht mehr. Sie werden statt dessen wieder kleiner und polydispers.^[32, 78] Der Wendepunkt wird bei einer Wasserkonzentration von 8 mol/l beschrieben.^[78] Gleiche Beobachtungen machten van Helden et al.^[59] und Tan et al.^[63] Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur führt zu kleineren Partikeln.^[32, 59, 60, 78]
2. Mit steigender Kettenlänge des Alkohols und dessen Verzweigungsgrad nimmt die Partikelgröße zu^[32, 52, 67, 84-87] und die Monodispersität ab.^[52] Bei Methanol als Lösungsmittel muss die Reaktionstemperatur unter 0°C liegen,^[63] da es sonst zur Vergelung kommt. Tendenziell lässt sich die Aussage treffen, dass die Partikelgröße mit der Polarität des Alkohols steigt.^[87]

3. Die Partikelgröße nimmt zu, je länger die Alkoxidreste des Silanes sind.^[52] Die Ionenstärke der Reaktionslösung (*Salzeffekt*) vermag ebenfalls die Partikelgröße infolge der Komprimierung der elektrostatischen Doppelschicht zu beeinflussen.^[28, 32] Dazu gilt: Je höher die Salzmenge ist, desto größer werden die Partikel. Wird eine bestimmte Salzmenge überschritten, flockt die Dispersion aus.
4. Übersteigt die TEOS-Konzentration 0.2 mol/l, werden die Partikel polydisperser und weniger rund.^[59] Teilweise werden diese Effekte auch erst für Konzentrationen oberhalb 0.5 mol/l beschrieben.^[60] Die Ammoniakkonzentration vermag die Partikelmorphologie ebenfalls zu beeinflussen.^[52]

Anhand von TEM-Aufnahmen wurde gezeigt, dass sich mit abnehmender Partikelgröße die Sphärizität verschlechtert.^[32, 79] Bei kleinen Durchmessern, wie z.B. 70 nm, können die Partikel nur noch als annähernd rund bezeichnet werden. Die Oberfläche ist dann weniger glatt und die Partikel sind nicht gleichmäßig geformt.

Ludox[®] - (9 nm) und Compol[®]-Partikel (50 nm), die nicht aus TEOS hergestellt sind, sind nur geringfügig runder und besitzen eine weniger rauhe Oberfläche als vergleichbare Stöber-Partikel. Die Polydispersität dieser Partikel und die von Stöber-Partikeln ist nahezu identisch.^[32] Gleichförmige und monodisperse SiO₂-Partikel, die kleiner sind als 40 nm, können z.B. aus Wasser-in-Öl-Mikroemulsionen hergestellt werden.^[88] Auch kommerziell erhältliche Ludox[®]-Teilchen können als Keimpartikel genutzt werden und durch die Stöber-Methode weiter anwachsen.^[89] Nach dieser Methode hergestellte SiO₂-Partikel lassen sich durch die Keimpartikel-Wachstumsmethode (*Seeded-Growth*) ebenso vergrößern.^[6, 60, 70, 75, 78, 80, 89, 90] Vorteilhaft ist dabei die Zunahme der Monodispersität und Sphärizität, bei gleichzeitiger Verringerung von Oberflächenrauigkeiten der Partikel. Bei Teilchen, die größer sind als 170 nm führt eine weitere Zugabe von TEOS zur Ausbildung neuer Sekundärpartikel mit einem Radius von 10-15 nm.^[90]

Die resultierende Partikelgröße und die jeweils benötigten TEOS-Mengen für die zusätzliche Schale lassen sich mit folgender Formel abschätzen:

$$d = d_0 \left(\frac{V}{V_0} \right)^{\frac{1}{3}}$$

d = endgültige Partikelgröße; d_0 = Partikelgröße der Keimpartikel

V_0 = TEOS-Volumen zur Darstellung der Keimpartikel

V = Gesamtes TEOS-Volumen, welches zur Lösung gegeben wurde (inklusive V_0)

Anders als Ludox[®]-Teilchen sind Stöber-Partikel nicht vollkommen hydrolysiert. Sie besitzen noch eine signifikante Anzahl an Ethoxygruppen,^[91, 92] was Ergebnisse von Harris et al.,^[84, 85] Matsoukas und Gulari^[67, 86] bestätigen. Beim Stöber-Prozess wird die Hydrolyse bei der Polymerisation als geschwindigkeitsbestimmender Schritt angenommen. Unter diesen Bedingungen polymerisiert ein Teil der Monomere bevor die Hydrolyse aller Ethoxygruppen am Silicium abgeschlossen ist. Erkennbar wird diese unvollständige Polykondensation in quantitativen ²⁹Si-MAS-Einpuls-NMR-Messungen. Burneau et al.^[93] und andere Arbeitsgruppen^[60, 94] zeigten, dass Stöber-Partikel typischerweise etwa 60-65 % Q⁴, 30-35 % Q³ und wenige Prozent Q²-Gruppen enthalten.

Nicht nur mittels NMR-Spektroskopie sondern auch in Elementaranalysen wird die unvollständige Hydrolyse und Kondensation nachgewiesen. Die Stöber-Partikel besitzen noch einen Anteil von ca. 2-2.5 % Kohlenstoff.^[60] Dieser wird aber nicht nur durch die noch vorhandenen Ethoxygruppen hervorgerufen, sondern auch durch verbliebene Lösungsmittelmoleküle (meist Ethanol). Weiterhin lässt sich auch Stickstoff nachweisen (< 1 %), was auf einen Einschluss von Ammoniak zurückzuführen ist.^[78, 95]

In Partikeln, die nach der Stöber-Methode hergestellt wurden, sind sowohl Mikroporen (< 2 nm),^[59, 78, 79, 96] als auch Ultramikroporen (<< 1 nm) gefunden worden.^[75, 93, 97] Meso- und Makroporen (2-50 nm bzw. > 50 nm) sind ebenfalls bekannt.^[6, 79] Letztere wurden auf den Zwischenkornabstand der Partikel, d.h. die Lücken der lose gepackten Teilchen, zurückgeführt.^[93, 96] Die über Stickstoffsorptions-Untersuchungen nach Brunauer, Emmet und Teller (BET) gemessene spezifische Oberfläche A_{BET} der Stöber-Partikel liegt deutlich über der berechneten geometrischen spezifischen Oberfläche A_G . Bei durchschnittlich 42 nm

großen Partikeln wurde z.B. eine A_{BET} von $370 \text{ m}^2/\text{g}$ gefunden, für 100 nm und 139 nm durchmessende Partikel $51 \text{ m}^2/\text{g}$ bzw. $22 \text{ m}^2/\text{g}$.^[66, 98] Dies ist ebenfalls ein Beleg für die Porosität. Die Poren der Stöber-Partikel sind für ihre, verglichen mit kristallinem SiO_2 , geringere Dichte verantwortlich. In Abhängigkeit von den Syntheseparametern liegt sie zwischen $1.98 \text{ g}/\text{cm}^3$ und $2.10 \text{ g}/\text{cm}^3$.^[6, 64, 71, 73, 79, 96, 99] Amorphes SiO_2 hat eine Dichte von $2.20 \text{ g}/\text{cm}^3$,^[100] wie sie beispielweise auch für Ludox[®]-Partikel ermittelt wurde.^[28]

Basierend auf TGA-Untersuchungen wurde angenommen, dass auf der Oberfläche kleiner Stöber-Partikel (42 nm) hauptsächlich Ethoxygruppen gebunden sind, während größere Partikel ($139, 191, 377 \text{ nm}$) primär Si-OH Gruppen tragen.^[98] Die Anzahl der an der Oberfläche befindlichen Silanolgruppen liegt für Partikel, die nach der Stöber-Methode hergestellt wurden, bei $4.5\text{-}4.9 \text{ SiOH}/\text{nm}^2$.^[28, 58, 101, 102] Der Großteil der Silanolgruppen befindet sich jedoch innerhalb der Partikel und weist Wasserstoffbrückenbindungen auf.^[103] In ^{29}Si -MAS-NMR und TGA-Untersuchungen ergab sich für 730 nm große Teilchen ein Gesamtsilanolgruppengehalt (Oberfläche + Bulk) von $6.4 \text{ mmol}/\text{g SiO}_2$ (etwa $940 \text{ Moleküle}/\text{nm}^2$ bei $4.1 \text{ m}^2/\text{g}$). Bei 10 nm großen Teilchen sind dies $6.5 \text{ mmol}/\text{g SiO}_2$ (ca. $13 \text{ Moleküle}/\text{nm}^2$ bei $300 \text{ m}^2/\text{g}$).^[93]

Aus den Anteilen der Q-Gruppen lässt sich indirekt auf die Oberfläche von Stöber-Partikel schließen. Daraus ergibt sich gleichzeitig eine Größe für die Primärteilchen, aus denen sich die Stöber-Partikel durch Aggregation bilden, von 2.5 nm bis 4 nm .^[58, 104] Die von Plueddeman angegebenen Größen decken sich gut mit den Werten von Bogush und Zukoski, die eine Primärpartikelgröße von $3\text{-}6 \text{ nm}$ berechneten.^[105, 106]

3.2.3 Wachstumsmodelle

Einige mit der Farbstoffdotierung und der Darstellung von Organosilicatpartikeln verknüpften Effekte sind unter Berücksichtigung der Entstehungs- und Wachstumsmechanismen besser zu verstehen. Deshalb werden im Folgenden einige aus der Literatur bekannte Wachstumsmodelle vorgestellt.

Das Wachstum monodisperser Partikel wird gewöhnlich nach der Theorie von LaMer et al. erklärt.^[107] Danach wird die SiO_2 -Keimbildung durch das Überschreiten der kritischen Kieselsäurekonzentration C_{SAT^*} initiiert. Diese liegt oberhalb der Sättigungskonzentration C_{SAT} . Die Keimbildung erfolgt sehr schnell und reduziert die Kieselsäurekonzentration

unterhalb C_{SAT}^* . In Folge dessen findet keine zusätzliche Keimbildung mehr statt. Weiteres Wachstum der Primärpartikel erfolgt durch diffusionskontrollierte Anbindung der verbliebenen monomeren Precursormoleküle auf die Partikeloberfläche. Da alle Primärpartikel gleichzeitig gebildet werden und gleich schnell wachsen, werden monodisperse Partikel gebildet. Mit dieser Theorie kann jedoch nicht die Porosität und die damit verbundene geringere Dichte der Stöber-Partikel erklärt werden.

In den letzten Jahren wurden weitere Modelle vorgeschlagen. Sie lassen sich in *Aggregationsmodelle*, *Monomer-Additions-Modelle* sowie einer Kombination aus beiden unterteilen. In Analogie zum LaMer-Modell stehen die Monomer-Additions-Modelle, denen eine eher chemische Beschreibung zugrunde liegt. Ansatzpunkte sind die Hydrolyse- und Kondensationsgeschwindigkeit sowie die Löslichkeit der Kieselsäure. Bei den Aggregationsmodellen sind die entscheidenden Parameter physikalischer Natur, wie Kolloidstabilität, Größe der Keime, Oberflächenladung, Diffusions- und Aggregations-eigenschaften, Ionenstärke der Lösung oder das verwendete Solvenz.

Anhand von Lichtstreuungsmessungen (Δ Partikelgröße/Zeit), TEM-Aufnahmen (Partikelgröße und -form) und raman-spektroskopischen Untersuchungen (Hydrolysegeschwindigkeit des TEOS) schlugen Matsoukas und Gulari ein Monomer-Additionsmodell vor.^[67, 86, 108] Sie stellten den gesamten Keimbildungs- und Wachstumsprozess über eine Reihe kinetischer Gleichungen dar. Dabei ist die Hydrolyse-reaktion von TEOS der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion und die Keimbildung das Resultat aus der Kondensation hydrolysierter Monomere. Ein Wachstum findet nur durch die Addition von Monomeren statt, wobei das Gleichgewicht zwischen Monomer-Addition und Keimbildung die Polydispersität und die Partikelgröße bestimmt. Bedingt durch die langsame Hydrolyse-reaktion wird eine erneute Keimbildung reduziert und das Wachstum der bestehenden Partikel begünstigt. Dieses Modell kann die Monodispersität der Partikel erklären. Da ihr kinetisches Modell nur den Partikelkeimbildungsprozess beschreibt, vermag es nicht die endgültige Partikelgröße vorherzusagen.

Bogush und Zukoski legten ihren Überlegungen TEM-Aufnahmen, ^{29}Si -NMR-Spektren, Leitfähigkeitsmessungen, sowie die Bestimmung geringer Volumenänderungen im Reaktionsmedium zugrunde.^[60, 62, 105, 106, 110-112] Nach Berechnung der Keimbildungs-geschwindigkeit schlossen sie, dass es sich beim Stöber-Prozess nicht um einfaches

diffusionskontrolliertes Wachstum handelt und der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Kondensationsreaktion der hydrolysierten TEOS-Moleküle ist.^[113, 114] Während der gesamten Reaktionszeit bilden sich langsam aber stetig Keime nach. Dies wiederum würde gemäß der Theorie von LaMer zu einer polydispersen Suspension führen und widerspricht den gefundenen Resultaten. Deshalb schlugen Bogush und Mitarbeiter ein *kontrolliertes* Keimbildungs-Aggregationsmodell vor. Die Primärpartikel (1-3 nm) sind aufgrund ihrer geringen Größe kolloidal instabil und aggregieren zu größeren Gebilden. Diese Einheiten wachsen weiter, indem neu gebildete Primärpartikel und kleinere Aggregate an deren Oberfläche gebunden werden. Da kleine Partikel weniger stabil sind als große, wachsen die kleineren infolge Aggregation untereinander schneller an. Große Partikel agglomerieren nicht mehr, da ihre elektrostatische Abstoßung weitreichend genug ist, um dies zu verhindern. Somit wird die Monodispersität der Partikel durch größenabhängige (kontrollierte) Aggregations-geschwindigkeiten erreicht. Die endgültige Teilchengröße und das Wachstum werden in diesem Modell unter anderem von der Oberflächenladung sowie der Größe der Primärpartikel bestimmt. Ihr vorgeschlagener Keimbildungs-Aggregationsmechanismus ähnelt dem der Emulsionspolymerisation von Styrol.^[115] Der postulierte Aggregationsmechanismus sollte aufgrund der Zwischenräume unter den Partikeln (< 10 nm) zu hochporösen Partikeln führen. Die gefundenen geringen Porositäten bei Stöber-Partikeln sowie deren glatte Oberfläche stehen jedoch diesem Modell entgegen.^[6]

Bailey et al.^[33, 116] schlugen einen aggregativen Mechanismus vor. Nach ihrer Theorie handelt es sich bei den von Bogush und Zukoski beobachteten dichten und 1-3 nm großen Primärpartikeln um Artefakte, die beim Trocknen der TEM-Proben entstanden sind. Deshalb verwendeten sie eine spezielle CRYO-Präparationsmethode und zeigten, dass hydrolysierte TEOS-Monomere zu Clustern polymerisieren, die so lange wachsen und sich quervernetzen, bis sie unlöslich werden und aggregieren (s. Abb. 3.2.3.1). Somit entstehen kolloidal stabile Keimpartikel, die sich durch fortschreitende Vernetzung weiter verdichten. Die Keimpartikel wachsen, indem hydrolysierte TEOS-Monomere und Cluster bzw. Polymere auf der Partikeloberfläche aufkondensieren. Nach einiger Zeit werden keine zusätzlichen Keimpartikel mehr ausgebildet. Die sich neu bildenden Polymere werden von den Keimpartikeln abgefangen, bevor sie groß genug sind, selbst neue Partikel auszubilden. Im Unterschied zur Theorie von Bogush und Zukoski sind hier die entstandenen Partikel aufgrund ihrer Größe und elektrischen Doppelschicht bereits von Anfang an stabil. Somit wachsen diese Keimpartikel nicht durch Aggregation mit sich selbst, sondern nur durch die

Kondensation hydrolysierter TEOS-Moleküle bzw. löslicher Polymere auf der Partikeloberfläche.

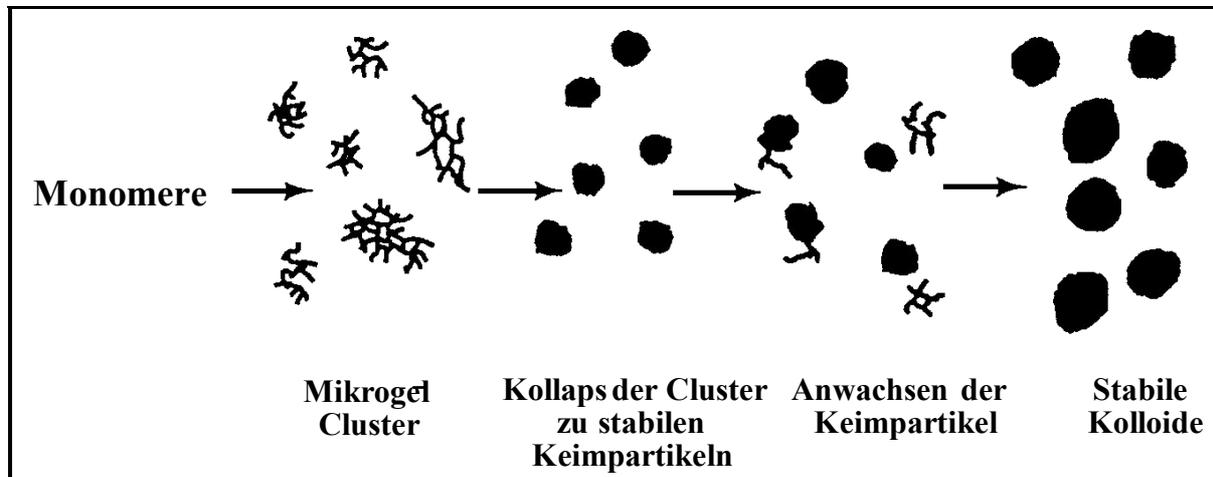


Abb. 3.2.3.1: Partikelentstehung und Wachstum nach Bailey et al.^[116]

Zusammenfassend sprechen für die Aggregationsmodelle z.B. die im Vergleich zu amorphem Siliciumdioxid geringere Dichte der Stöber-Partikel,^[6, 79, 96] der Einschluss von Wasser und Ammoniak in den Teilchen^[78, 95] und das Vorhandensein von Mikroporen.^[59, 75, 96, 97] Es existieren jedoch zahlreiche Beobachtungen, die jeweils ein Wachstumsmodell ausschließen. Weder die Agglomerationsmodelle, noch die Monomer-Additionsmodelle können die in der Literatur gefundenen Ergebnisse ausreichend erklären. Deshalb werden auch Kombinationen aus beiden vorgeschlagen, wie das von van Blaaderen et al.^[94] und Giesche.^[78] Beide Modelle nehmen die Hydrolyse des TEOS als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt an, was sich sowohl mit dem Monomer-Additions-Modell von Matsoukas,^[67, 86] als auch mit vielen weiteren Publikationen deckt.^[94, 105, 117] Dabei wird die Kondensation als zweiter Reaktionsschritt, der bis zu drei mal schneller als die Hydrolyse abläuft, beschrieben.^[94, 105, 106] Es gibt jedoch einige Publikationen, die für die Polymerisation der Kieselsäure eine Reaktion zweiter, dritter oder sogar vierter Ordnung vorschlagen.^[28, 118] Weitere Modelle sind von Philipse et al.,^[69, 70] Harris et al.^[84, 85] sowie Schäfer und Keefer^[119, 120] vorgestellt worden. Bei Philipse et al. handelt es sich um ein weiteres reines Aggregationsmodell, das dem von Bogush und Zukoski ähnelt. Schäfer und Keefer legen ein von Eden entwickeltes Wachstumsmodell zugrunde. Harris et al. bauten ihre Theorie für eine homogene Keimbildung sowie für Wachstum auf dem klassischen LaMer-Modell auf.

Die Partikelbildungstheorie aus übersättigten Systemen ist ein Gebiet, in dem die Entwicklung rasch voranschreitet,^[121] wobei die kombinierten Modelle den Stöber-Prozess und die mit ihm verbundenen Phänomene am besten beschreiben.

3.3 Sphärische, homogen eingefärbte Silicat-Nanopartikel

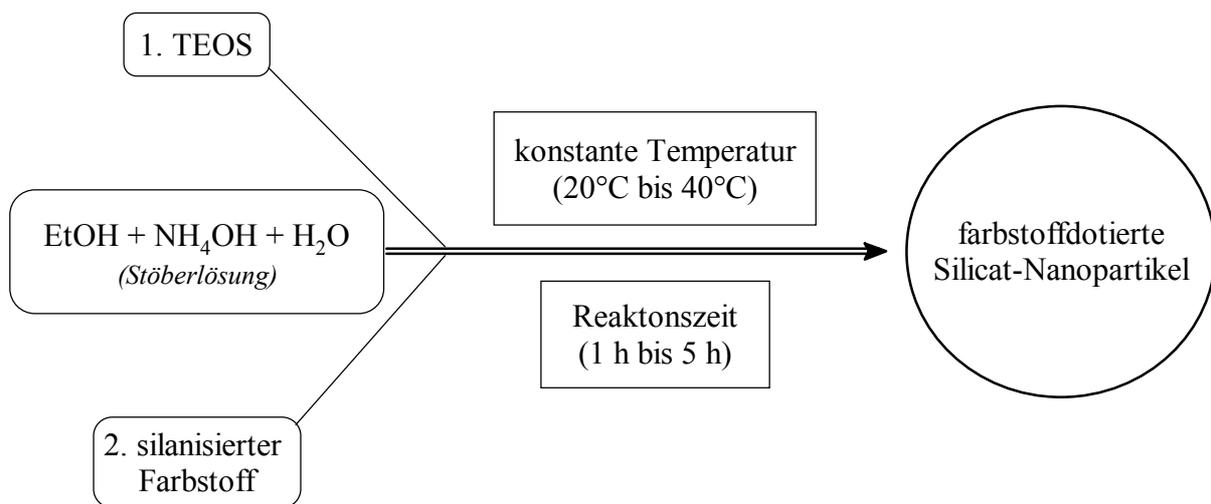
Für sphärische Silicat-Partikel gibt es eine Reihe von etablierten technischen Anwendungen (s. Kap. 3.1). So sind diese Nanopartikel auch für verschiedene optische Anwendungen von Interesse und sind in den Mittelpunkt weiterer Wissenschaftsdisziplinen sowie technischer Applikationen gerückt.^[27]

- In der Molekularbiologie zur Isolierung und Reinigung von Nukleinsäuren und Proteinen
- In der Zellbiologie für Phagozytose-Untersuchungen
- In der klinischen Chemie als Bestandteil von diagnostischen Assays
- In der Biochemie und Technischen Chemie als Festphasen für die Untersuchung von Molecular Recognition-Phänomenen
- In heterogen-katalytischen Prozessen

Im Life-Science-Bereich gibt es zahlreiche Partikelapplikationen, die auf eine Visualisierung von (sub)mikroskopischen Zuständen und Vorgängen hinauslaufen bzw. eine sichere Partikeldetektion erfordern. Die über den Stöber Prozess herstellbaren monodispersen sphärischen Polykieselsäure-Partikeln sind jedoch für eine nachträgliche homogene Färbung bzw. Fluoreszenzmarkierung nicht geeignet. Generell ist die Kombination von Fluoreszenzfarbstoffen mit (a)sphärischen Silicat-Partikeln in Form von Mischungen als Farbpigmente^[122] oder als Farbbeschichtung^[123] bekannt. Heterogene Mischungen aus Fluoreszenzfarbstoffen und Silicumdioxid-Partikeln^[124] können durch einfache chemische oder physikalische Trennmethode (Extraktion) in ihre Komponenten getrennt werden.

Die kovalente und homogene Einbindung von Fluoreszenzfarbstoffen in monodisperse Silicatpartikel mit einstellbarer Größe im Bereich von 50 nm bis 10 µm wurde jüngst

beschrieben.^[23, 27] Dabei werden silanierte Farbstoffe unter Stöber-ähnlichen Bedingungen mit TEOS zur Reaktion gebracht. Wie bereits erwähnt kann unter anderem durch die Wahl von Reaktionszeit und -temperatur Einfluss auf die Partikelgröße genommen werden (s. Kap. 3.2.2). In Schema 3.3.1 ist die Herstellung monodisperser, nanoskaliger und homogen eingefärbter Silicatpartikel unter *Stöber-ähnlichen Bedingungen* gezeigt. Dabei wird ein zuvor mit einem Organotrialkoxysilan (z.B. AMEO) silanierter Farbstoff mit TEOS zur Reaktion gebracht. Durch die kovalente Einbindung des Farbstoffes in die Silicatpartikel wird ein Ausbluten verhindert. Die erhaltenen Partikel lassen sich nach Aufreinigung und Überführung in eine ethanolische Dispersion mit Organotrialkoxysilanen (z.B. GF20, AMEO), bei einem pH-Wert von 7-8 an ihrer Oberfläche modifizieren.^[23, 27]



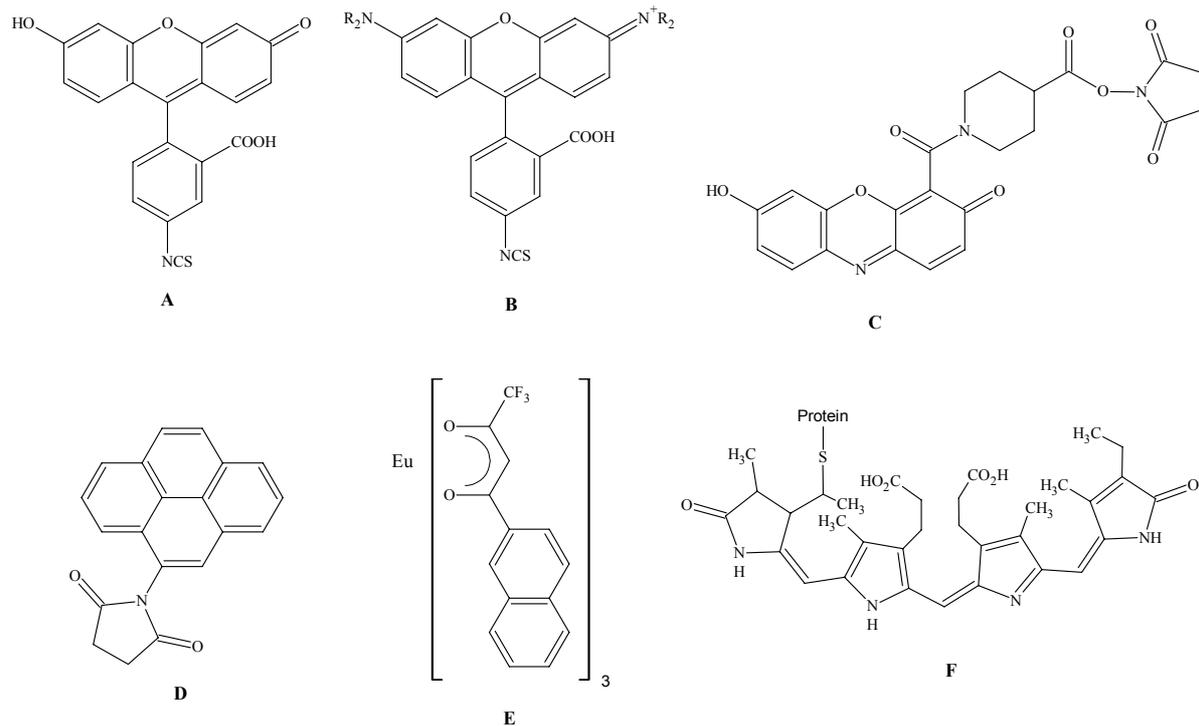
Schema 3.3.1: Reaktionsbedingungen für die Synthese von monodispersen homogen eingefärbten Silicat-Nanopartikeln. Bei gleichbleibenden Eduktkonzentrationen wird durch Temperatur und Reaktionszeit Einfluss auf die Partikelgröße genommen.

3.3.1 Verwendung von Lumophoren als Signalgruppen

Informationen über Vorgänge in Chemie und Biologie können uns bequem durch eigens dafür konstruierte Molekularsysteme (molecular devices) mittels Lichtemission übertragen werden.^[125, 126] Neben dieser sensorischen Rolle, haben solche Molekularsysteme auch Potenzial für die Informationsverarbeitung, weil ihre Emission zwischen zwei unterscheidbaren Energiezuständen durch externe Stimulation geschaltet werden kann.^[127]

Die Vorteile molekularer Fluoreszenz oder Lumineszenz können wie folgt zusammengefasst werden.^[126] Hohe Sensitivität bis hin zur Detektion von einzelnen Molekülen,^[128-130] „an-aus“-Schaltbarkeit, Möglichkeit von Mensch-Molekül-Kommunikation, räumliche Auflösung im Sub-Nanometer- mit Visualisierung im Sub-Mikrometer- und zeitlicher Auflösung im Sub-Millisekunden-Bereich.^[131, 132] Zusätzlich wurden viele der strukturellen Eigenschaften, die die Fluoreszenzausbeute kontrollieren bzw. stören, beschrieben.^[101] Torsion von Doppelbindungen, niedrige $n\pi^*$ -Energieniveaus, „schwere“ Atome, schwache Bindungen, und Möglichkeiten zum photoinduzierten Elektronentransfer (PET) oder elektronischem Elektronentransfer (EET). Die essenzielle Existenz von hochgradig delokalisierten π -Systemen zur Kompensation dieser negativen Effekte wurde außerdem erkannt. Somit gibt es viele Möglichkeiten, diese strukturellen Eigenschaften durch chemische oder physikalische Manipulation auf molekularer Ebene zu modulieren.

Fluoreszenzmarker finden schon seit langer Zeit vielfältige Anwendungen in der Biologie, Biomedizin und der Analytik.^[133, 134] Einsatzgebiete sind die Fluoreszenzdetektion in der HPLC nach Vorsäulen- oder Nachsäulenderivatisierung,^[135] die Fluoreszenzmikroskopie,^[136] die DNA-Analytik und die Anwendung als Marker in Immunoassays.^[137] Bei letzteren erfolgt die Markierung meist über eine kovalente Bindung zwischen Markern und Zielsubstanz. In Abbildung 3.3.1.1 sind einige häufig verwendete Fluoreszenzmarker gezeigt, deren spektroskopische Eigenschaften in Tab.3.3.1.1 näher beschrieben sind.

Abb. 3.3.1.1: Ausgewählte Fluoreszenzmarker **A-F**. Siehe Tabelle 3.3.1.1Tabelle 3.3.1.1: Spektrale Daten der ausgewählten Fluoreszenzmarker **A-F**:

	$\lambda_{\text{abs/exc}}$ [nm]	λ_{em} [nm]	ϵ [$1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$]	τ [ns]	θ
Fluoresceinisothiocyanat A	492	520	7×10^4	4.5	0.85
Rhodamin-B-isothiocyanat B (R=Et)	550	585	[a]	3.0	0.7
Resorufinderivate C	575	590			
Pyrenmaleimid D	340	375, 392	3.8×10^4	100	
Europium-tris[2-naphthoyl-trifluoroacetat] E	340	590, 613	3.6×10^4	7×10^5	0.8
Phycocyanobilin, proteingebunden F	614	643	5.8×10^5	2.2	0.52*

[a] Unklare Literaturangaben: 12300 ^[138a,b]; 103000 ^[139]* manche Phycocyanobiline liefern Quantenausbeuten (θ) bis zu 0.98

Neben allgemeinen Anforderungen an Lumineszenzmarker sollten Fluoreszenzmarker für die Anwendung in Immunoassays noch einige zusätzliche Bedingungen erfüllen, die unmittelbar aus dem Test- und Messprinzip ableitbar sind. So resultiert das Untergrundsignal hauptsächlich aus der Eigenfluoreszenz von Serumbestandteilen, die einen breiten Wellenbereich überdeckt:

- Serumproteine werden bei 280 nm angeregt und emittieren zwischen 320 und 350 nm.

- Bestandteile wie NADH und Bilirubin werden zwischen 330 nm und 360 nm bzw. 450-465 nm angeregt und fluoreszieren im Bereich von 430 bis 470 nm bzw. bei ca. 515 nm.
- Die Nachweisgrenze für Immunkonjugate eines Fluoreszenzmarkers mit Rinderserumalbumin oder Immunglobulin G (IgG) ist im Schnitt in Serum 10 bis 50 mal höher als in Pufferlösungen.
- Viele Festphasenmaterialien wie Polystyrol tragen ebenfalls zum Leerwert bei.
- Die Lichtstreuung ist besonders bei Lösungen, die Proteine oder kolloidal gelöste Substanzen enthalten, ein Problem: Neben der Rayleigh- und Tyndall-Streuung (gleiche Frequenz wie der Anregungsstrahl) tritt auch Raman-Streuung mit einer meist um 50 nm verschobenen Wellenlänge auf.
- Die Fluoreszenzlöschung kann oft Folge geringster Änderungen in der Umgebung des Fluorophors sein (pH-Wert, Polarität, Oxidationsstufe, Nähe von Schweratomen oder anderen absorbierenden Gruppen). Wird z.B. ein Protein mehrfach markiert, können sich zwei Fluorophore so nahe kommen, dass es zur Selbstlöschung der Signale kommt, wenn sich Absorptions- und Emissionsspektren überlappen.

Grundsätzlich sind Fluoreszenzmessungen mit höchster Empfindlichkeit möglich. In der Praxis ist die Sensitivität von Fluoreszenzimmunoassays aber durch Untergrundfluoreszenz, Streuung und Löscheffekte drastisch eingeschränkt. Um diese Einflüsse zu minimieren, sind folgende Eigenschaften bei Fluoreszenzmarkern wünschenswert.^[140b]

- Möglichst langwellige Emission (500-700 nm)
- Große Stokes'sche Verschiebung von > 50 nm
- Lange Fluoreszenzlebensdauer von $\tau > 20$ ns

Eine ausreichend lange Lebensdauer ist besonders für die Nutzung des Prinzips des Fluoreszenzpolarisationstransfers von Bedeutung. Diese auch als Photoselektionsmethode bekannte Eigenschaft beruht auf der Kasha-Regel, nach der die Fluoreszenz stets vom niedrigsten angeregten Zustand erfolgt, gleichgültig welches der elektronisch angeregte Zustand des Moleküls gewesen ist. Da bei vielen ungesättigten Molekülen eine Anisotropie der Lichtabsorption vorliegt, werden durch Variation der Wellenlänge des polarisiert eingestrahlt Lichts (über das Absorptionsspektrum) nur jene Moleküle angeregt, deren Achsen parallel zur Ebene des polarisierten Lichtes liegen.^[140a] Fluoreszenzlebensdauern von

$\tau > 100$ ns ermöglichen eine deutliche Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses und damit der Sensitivität, da die Messungen erst nach dem Abklingen der Untergrundfluoreszenz und der Lichtstreuung erfolgen können. Dieses Prinzip findet Anwendung bei zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen.^[138a,b; 140c] Das Prinzip des Detektionsmodus der zeitaufgelösten Fluoreszenz ist in Abb.3.3.1.2 veranschaulicht.

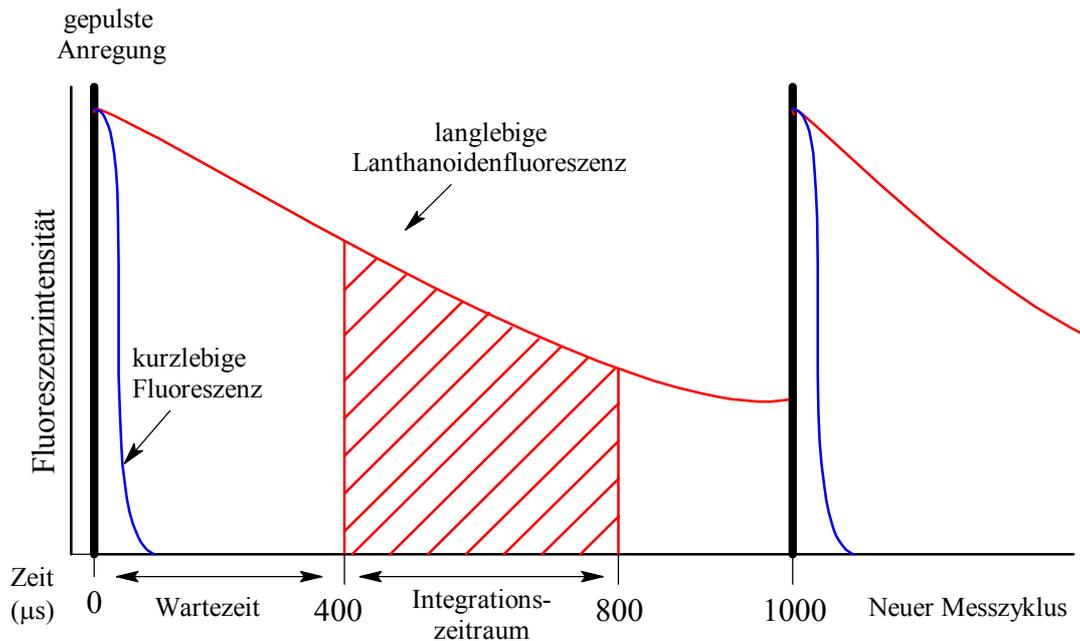
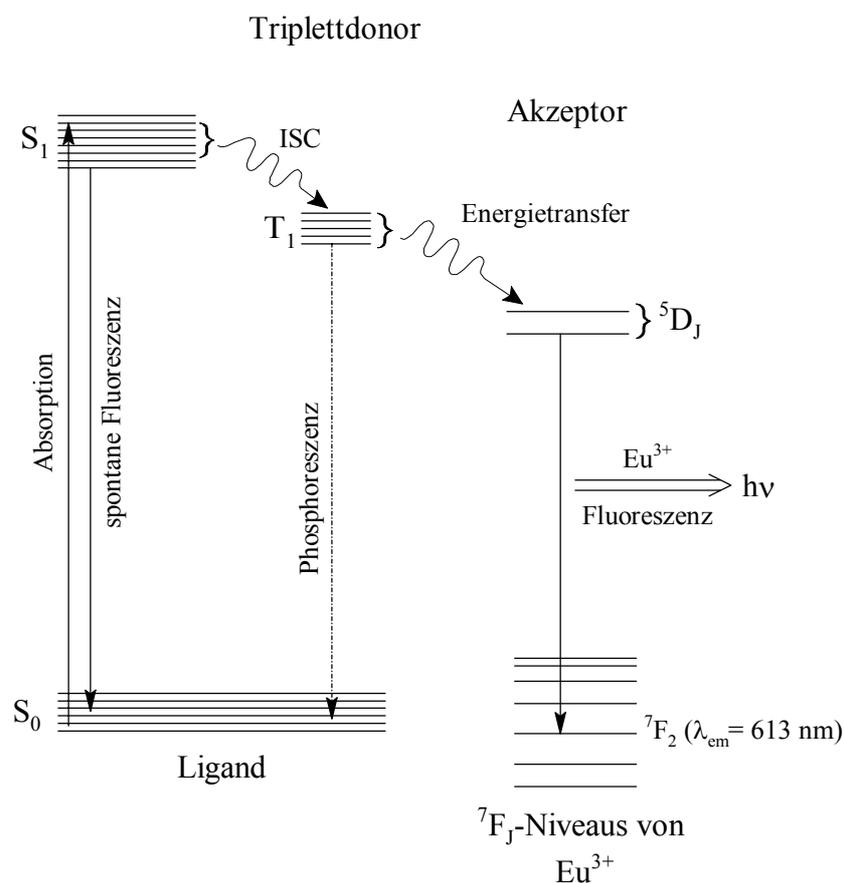


Abb. 3.3.1.2: Prinzip des Detektionsmodus bei der zeitaufgelösten Fluoreszenz.

Die Lebensdauer der unspezifischen Untergrundsignale beträgt im allgemeinen weniger als 10 ns. Für eine störungsfreie Messung des spezifischen Signals werden Marker benötigt, deren Lebensdauer mindestens das Zehnfache der Abklingzeit des Untergrundsignals beträgt. Geeignete organische Fluorophore mit Lebensdauern $\tau > 50$ ns sind jedoch sehr rar. Pyrenderivate wie **D** in Schema 3.3.1.1 zeigen zwar eine Lebensdauer von ca. 200 ns (vgl. Tabelle 3.3.1.1), die sich jedoch als nicht ausreichend erwiesen hat. Wesentlich länger ist die Lebensdauer von Phosphoreszenzprozessen. Die prinzipielle Verwendbarkeit von phosphoreszenten Markern wie Erythrosinderivaten in sauerstofffreier Lösung konnte zwar gezeigt werden, doch werden derzeit bei der Nutzung der Phosphoreszenz wegen sehr geringer Quantenausbeute und hohen Aufwands keine Fortschritte erzielt. Erst die Verwendung von Komplexen Seltener Erden, vornehmlich Europium(III), als Marker eröffnete Aussichten auf eine drastische Verbesserung der Empfindlichkeit von Fluoreszenzimmunoassays mit zeitaufgelöster Messtechnik. Damit einher ging auch die

Möglichkeit zur Entwicklung von fluoreszenten Alternativen zu Radioimmunoassays (RIA)^[133] mit höherer Empfindlichkeit. Die Verwendung von Europiumtrisdiketonaten wurde bereits 1978 von Wieder vorgeschlagen und von anderen Arbeitsgruppen weiterentwickelt.^[127] Die Chelatkomplexe von Europium(III), Terbium(III), Samarium(III) und Dysprosium(III) zeichnen sich durch einzigartige Fluoreszenzeigenschaften (vgl. E, Schema 3.3.1.1 und Tabelle 3.3.1.1) aus. Neben den Vorteilen der extrem langen Lebensdauern von ca. 1 μ s bis zu 1 ms, einer sehr großen Stokes'schen Verschiebung (> 200 nm) und scharfen Emissionslinien, können mit den Komplexen hohe Nachweisempfindlichkeiten (< 10⁻¹⁴ mol/l) erreicht werden. Der Grund für die beobachtete Lebensdauer liegt im Anregungs-/Emissionsmechanismus, der in Schema 3.3.1.1 anhand eines Energieniveauschemas gezeigt ist.



Schema 3.3.1.1: Vereinfachte Darstellung des Energieniveauschemas eines angeregten Chelatliganden, der über ein geeignetes Triplettniveau zum intramolekularen Energietransfer in ein 4f-Energie-niveau, beispielsweise eines Europiumatoms (*Resonanzniveau*), verfügt und so die *Metallionenfluoreszenz* stimuliert (nach Crosby).^[191]

Nach Anregung des Liganden in den S_1 -Zustand und ISC in ein energetisch äquivalentes Triplettniveau des Liganden, erfolgt ein Energietransfer in Resonanzniveaus des Metall-Ions

(*Antenneneffekt*), aus denen dann die für Metall-Ionen typische scharfe Emission erfolgt. Die Fluoreszenzeigenschaften der Chelate von Seltenen Erden alleine machen jedoch noch keinen leistungsfähigen Marker für Immunoassays aus. Wesentlich ist eine, auch in wässrigen Pufferlösungen stabile Bindung an Antigene und Antikörper. Wegen ihrer hohen Stabilität und Wasserlöslichkeit werden für die meisten Anwendungen Polyamino-polycarboxylatchelate, meist Derivate der Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) oder Diethylentriaminpentaessigsäure, eingesetzt. Gebräuchlich sind auch die 1,3-Diketone β -Naphthoyl- und Pivaloyltrifluoraceton.

Die Verwendung von Chelatkomplexen der dreiwertigen Lanthanoid-Ionen ermöglichte durch Anwendung zeitaufgelöster Messtechnik nicht nur die Entwicklung hochempfindlicher Immunoassays, sondern auch die Simultanbestimmung mehrerer Parameter, da die verschiedenen Ln(III)-Komplexe bei deutlich unterschiedlichen Wellenzahlen und Fluoreszenzlebensdauern emittieren.

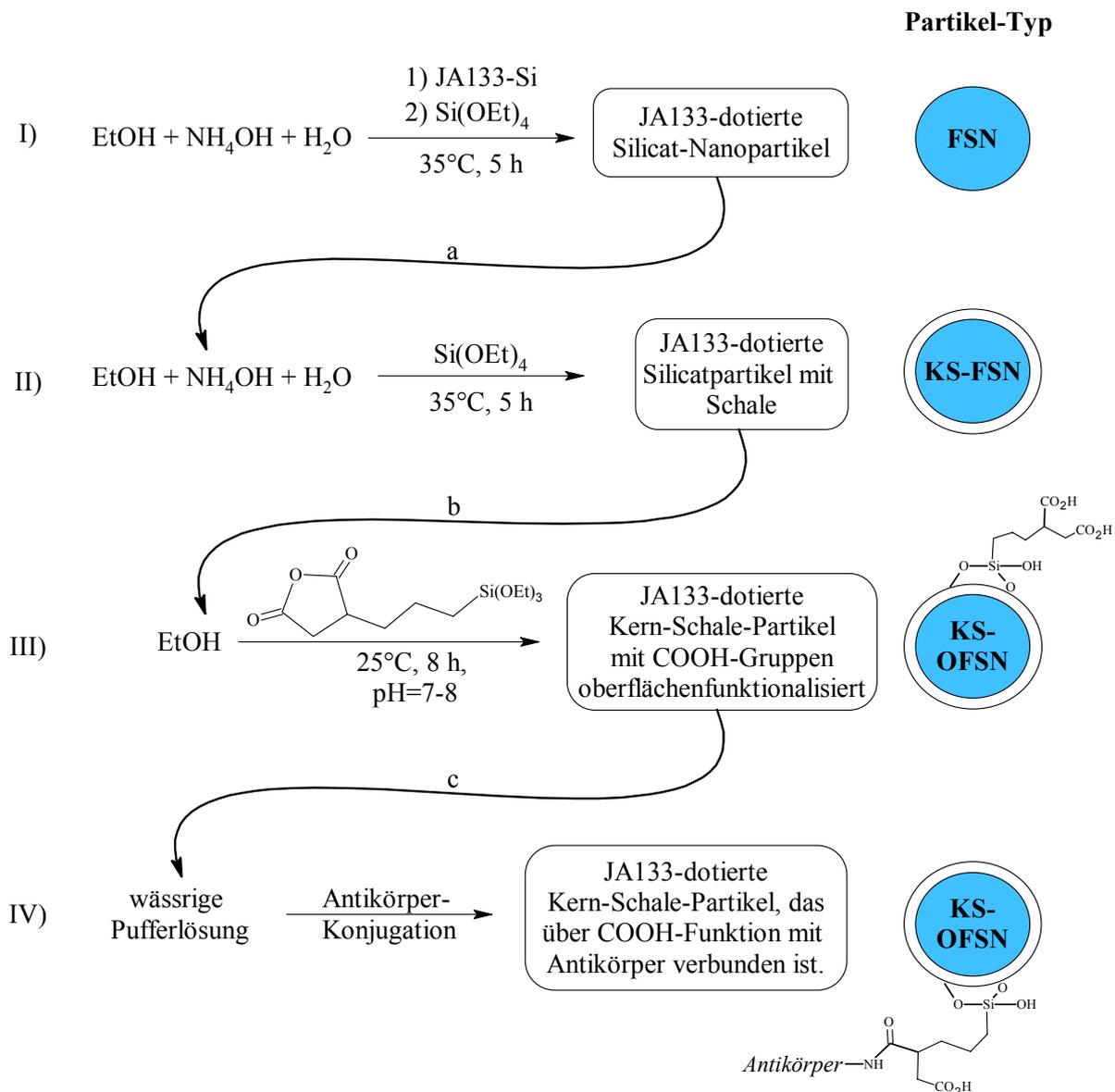
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1 Farbstoffdotierte Silicat-Nanopartikel

Monodisperse Systeme besitzen gegenüber polydispersen, neben der besseren Stabilität, den Vorteil eines einheitlichen physikalischen Verhaltens. Dies ist vor allem bei chromatographischen Anwendungen wie z.B. diagnostischen Teststreifen notwendig, bei denen die Partikel ein identisches Laufverhalten zeigen müssen. In vorangegangenen Arbeiten wurde ein Silicatpartikel-Typ mit homogenem, kovalentem Farbstoffeinbau und Oberflächen-carboxylierung entwickelt.^[23] Bei Verwendung unterschiedlicher Farbstoffe zeigte die Beladbarkeit mit den Antikörpern von Dig und TnT deutliche Unterschiede. So ließen sich mit RB2-Si und FLUOS-Si dotierte und anschließend mit 2-(3-Triethoxy-silylpropyl)-Bernsteinsäureanhydrid (GF20) oberflächenmodifizierte Partikel erfolgreich beladen. Die mit dem silylierten Fluoreszenzfarbstoff JA133-Si eingefärbten und oberflächenmodifizierten Partikel bereiteten jedoch Probleme. Hier war keine oder nur geringe Beladung zu erreichen.^[23]

Im Rahmen dieser Arbeit wurde als Ursache für die schlechte Konjugation die relativ hydrophobe Natur des favorisierten Farbstoffes JA133-Si diskutiert, und angenommen, seine oberflächennahe Anreicherung könnte zu einer Behinderung der Antikörper-Konjugation (Beladung) führen. Durch Zentrifugation und Redispergierung intensivierete Waschvorgänge, zur Minimierung von eventuell adsorptiv gebundenem Farbstoff, führten zu keiner Verbesserung. Deshalb wurde bei den anschließend hergestellten Partikeln vor der Oberflächencarboxylierung eine zusätzliche silicatische Schale nach dem *Seeded-Growth* Verfahren aufkondensiert (s. Kap. 3.2.2).^[78] Ein Ziel dieser Arbeit war es einen *Leitpartikel-Typ*, bei dem die wichtigsten Partikelparameter (Partikelgröße, Fluorophorkonzentration, Schalendicke, Oberflächenbelegung mit GF20) bestimmt werden sollten, zu synthetisieren. Weiterhin sollte dieser Partikel-Typ bei Untersuchungen von Roche Diagnostics medizinisch relevante Sensitivitäten in diagnostischen Teststreifen erzielen. In Schema 4.1.1 ist die allgemeine Syntheseroute, die zur Evaluierung des Leitpartikel-Typs **KS-OFSN** führte, gezeigt. In der ersten Reaktion (Reaktionsschritt I) werden unter Stöber-ähnlichen Bedingungen Silicat-Nanopartikel mit kovalent eingebundenem JA133-Si erhalten (Partikel-

Typ FSN). Die eingebundene Fluorophormenge wird durch UV-VIS-Spektroskopie der Zentrifugationsüberstände ermittelt.



Schema 4.1.1: Reaktionssequenz zur Darstellung von Silicat-Nanopartikel mit Kern-Schale-Aufbau, kovalent eingebundenem Fluorophor JA133-Si und carboxylfunktionalisierter Partikeloberfläche (Partikel-Typ **KS-OFSN**).

Nach Aufreinigung der Dispersion durch Zentrifugation und Redispersierung (Reaktionsschritt a) werden die erhaltenen Partikel in der berechneter Menge (s. Kap. 3.2.2) eines Ethanol/ Wasser-Gemisches redispersiert. Anschließend wird die ebenfalls berechnete Menge (nach Formel Kap. 3.2.2) an Ammoniak und Tetraethoxysilan zugegeben (Reaktionsschritt II). Nach fünf Stunden wird die Dispersion wieder aufgereinigt. Die nun

erhaltenen Silicatpartikel haben einen farbigen (JA133-Si) Kern und eine Silicat-Schale (Partikel-Typ **KS-FSN**). Zur Oberflächenmodifizierung werden die Kern-Schale-Partikel zunächst durch Zentrifugation und Redispergierung in Wasser aufgereinigt und abschließend in Ethanol bei pH=7-8 redispergiert (Reaktionsschritt b). Um die Reaktionsgeschwindigkeit der Oberflächencarboxylierung (Reaktionsschritt III) mit 2-(3-Triethoxysilylpropyl)-Bernsteinsäureanhydrid (GF20) zu beschleunigen, erweist sich eine Aufkonzentration des Feststoffgehaltes auf bis zu 6 % (w/w) als vorteilhaft. Die nach acht Stunden resultierenden Silicat-Nanopartikel (Typ **KS-OFNS**) werden in Wasser redispergiert, und die Oberflächenbeladung mit Carboxylgruppen durch konduktometrische Titration bestimmt (Reaktionsschritt c). Die so hergestellten wässrigen Partikeldispersionen wurden vom Projektpartner RD mit Antikörpern konjugiert und bewertet (Reaktionsschritt IV). Die in Schema 4.1.1 beschriebenen Reaktionsschritte I-IV wurden unter Variation der Partikelparameter (Größe, Fluorophorkonzentration, Schalendicke, GF-Modifizierung) so lange wiederholt, bis alle Kenndaten des Leitpartikels ermittelt waren.

Der vorgegebene Größenbereich wird durch geeignete Wahl der Reagenzienkonzentration eingestellt. In Tabelle 4.1.1 sind evaluierte Eduktkonzentrationen mit Angaben zur jeweiligen Ausbeute an Partikeln und die erzielte Größe aufgeführt. Die Angaben beziehen sich auf eine Reaktionszeit von fünf Stunden mit einer Reaktionstemperatur von 35°C (s. Kap. 6.2.1).

Tabelle 4.1.1: Im Rahmen dieser Arbeit ermittelte Parameter zur Synthese von farbstoffdotierten nanoskaligen Silicat-Partikeln (Partikel-Typ **FSN**).

Partikel-Typ	Farbstoff	H ₂ O [ml]	NH ₄ OH [ml]	EtOH [ml]	TEOS [ml]	Partikel [g]	Durchmesser [nm]
FSN 56	JA133-Si	12	17	445.6	25.4	5.82	116
FSN 62	JA133-Si	11.5	16.3	428	24.3	5.71	130
FSN 63	MR121-Si	2.4	3.4	89.2	5.0	1.38	130
FSN 64	JA133-Si	151	9.9	297	21.6	5.18	169
FSN 71	JA133-Si	168	11	330	24	5.62	130
FSN 72	JA133-Si	168	11	330	24	5.12	133
FSN 73	JA133-Si	84	5.5	165	12	2.73	114
FSN 74	MR121-Si	84	5.5	165	12	3.45	111

Die Teilchengröße der Silicat-Partikel wurde durch Photonenkorrelations-Spektroskopie (PCS) bzw. dynamische Lichtstreuung (DLS) ermittelt.^[141] Die qualitative Oberflächencharakterisierung der mit GF20 modifizierten SiO₂-Partikel erfolgte über DRIFT-Spektroskopie. Zur Auswertung der Spektren wurden diese in Kubelka-Munk-Einheiten dargestellt. Die Kubelka-Munk-Theorie beschreibt die lineare Beziehung zwischen spektraler Intensität und Probenkonzentration bei unendlicher Probenverdünnung in einer nichtabsorbierenden Matrix (KBr).^[142]

4.1.1 Evaluierung des Leitpartikels

Vom Projektpartner (RD) wurde eine neue Methode zur Funktionstest-unabhängigen Charakterisierung, basierend auf der Messung von Oberflächenplasmonresonanzen (*surface plasmon resonance*) und die dabei mögliche Verfolgung von Molekülinteraktionen in Echtzeit, entwickelt. Somit konnte die Immunreaktivität der synthetisierten Silicat-Partikel auf dem BIACORE[®]-Analysegerät durchgeführt werden (s. Abb. 4.1.1.1). Bei der Messung wird eine konstante Konzentration von MAK<TnT>-Partikel Konjugaten mit variablen Konzentrationen von TnT vorinkubiert. Nach einer gewissen Zeit werden diese Mischungen auf einen Sensorchip gegeben, auf dem TnT fixiert ist. Je schlechter die Partikel das Antigen während der Vorinkubation gebunden haben, desto schneller binden sie an den Sensor und desto steiler ist der „Slope“ (Kinetik der Partikelbindung an den Chip). Die TnT-Konzentration IC₅₀, bei der der Slope halbmaximal ist, ist ein relativ gutes Maß für die Immunreaktivität der Partikelkonjugate. Die Partikel wurden auf Basis des IC₅₀-Wertes miteinander verglichen, dabei korrelierten die erhaltenen Werte gut mit der Funktion im Teststreifen.

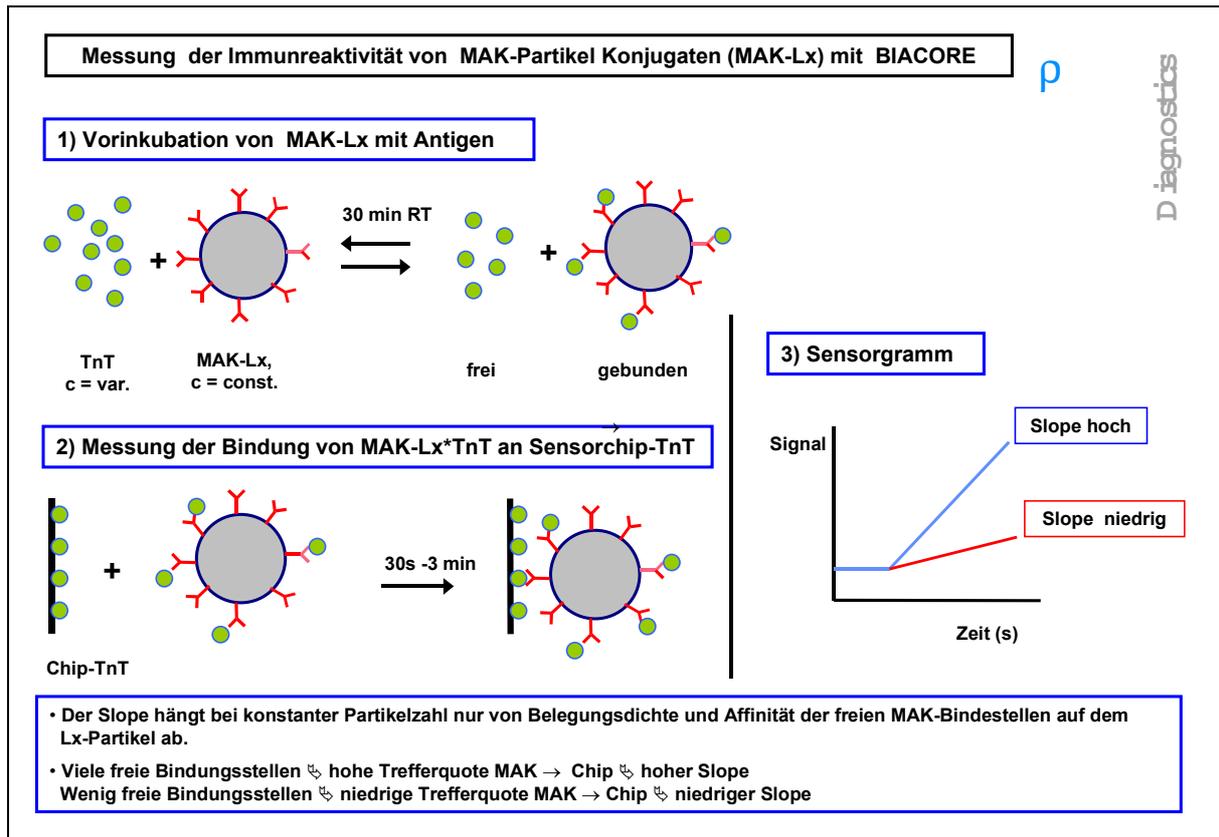


Abb. 4.1.1.1: Prinzip der BIACORE®-Messung der Immunreaktivität von MAK-Partikeln.
(Quelle: Roche Diagnostics)

Als eine mögliche Ursache für die zuvor erwähnte Diskrepanz in der Beladbarkeit wurden unterschiedliche Synthesebedingungen (Eduktkonzentrationen und Reaktionstemperatur) angenommen. So konnten Partikel (Typ **KS-OFSN**), die bereits früher über am ISC^[23] empirisch ermittelte Eduktkonzentrationen hergestellt wurden (s. Schema 4.1.1) gut beladen werden, während Partikel (Typ **KS-OFSN**), die nach einer von Bogush und Mitarbeitern beschriebenen, empirisch abgeleiteten Formel für die Eduktkonzentrationen synthetisiert wurden,^[60] schlechte Beladungen zeigten. Als Grund für die unterschiedliche Beladbarkeit der Silicat-Partikel ist die eingesetzte Wassermenge anzusehen. Reproduktionsansätze beider Synthesen lieferten entsprechend reproduzierbare Ergebnisse. So konnten **KS-OFSN 55a** und **KS-OFSN 64b2** (am ISC empirisch ermittelte Eduktkonzentrationen)^[23] gut und **KS-OFSN 56** und **KS-OFSN 62** (berechnete Eduktkonzentrationen nach Bogush und Mitarbeitern) schlecht beladen werden. In Abbildung 4.1.1.2 sind die unterschiedlichen Beladungen der Partikel anhand eines Balkendiagramms gezeigt. Hierbei sind auf der Abszissen- die synthetisierten Partikel und auf der Ordinatenachse die bestimmten <Tn-T>-Mengen (in $\mu\text{g}/\text{mg}$ Partikel) aufgetragen.

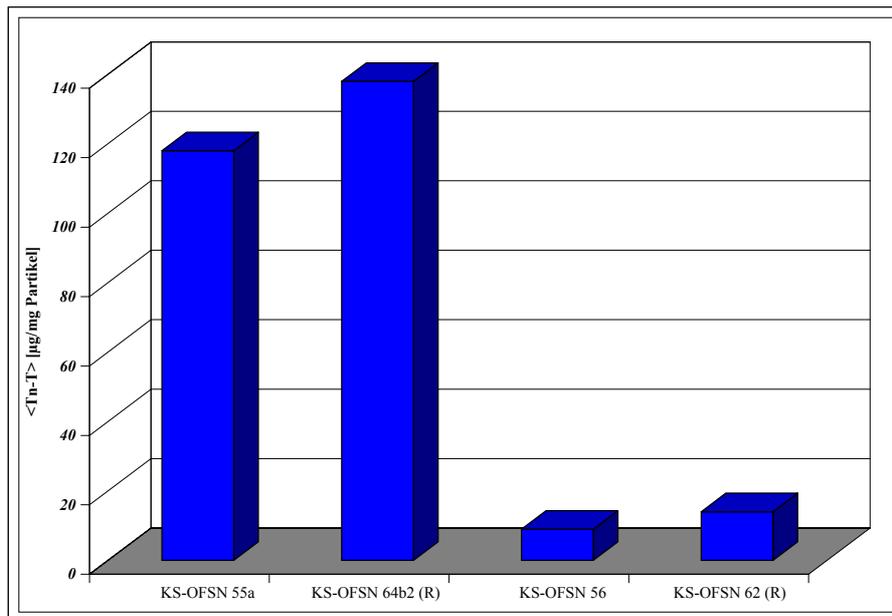


Abb. 4.1.1.2: **KS-OFSN 64b2**: Reproduktionsansatz von **KS-OFSN 55a** (empirisch am ISC, ΔT , großer Wasserüberschuß); **KS-OFSN 62**: Reproduktionsansatz von **KS-OFSN 56** (Syntheseparameter berechnet, rt, leichter Wasserüberschuss).

Dabei sind die Partikel, die mit einem Wasserüberschuss bei 35°C synthetisiert wurden (**KS-OFSN 55a** und **KS-OFSN 64b2**) etwa hundertmal besser mit $\langle Tn \rangle$ beladbar, als die bei Raumtemperatur mit Wasserunterschuss (bezogen auf eingesetztes TEOS) synthetisierten Partikel (**KS-OFSN 56** und **KS-OFSN 62**).

Als eine weitere Ursache für unterschiedliche Beladungen wurde die Stärke der silicatischen Ummantelung und die Carboxylgruppendichte untersucht. Tendenziell ließen sich Partikel mit dickerer Schale und höherer Oberflächenmodifizierung signifikant besser beladen. Die optimale Schalendicke und Carboxylgruppendichte wurde anhand weiterer, nach dem Kern-Schale-Prinzip aufgebauter, Silicat-Nanopartikel (**KS-OFSN 71** und **KS-OFSN 72**) evaluiert. Dazu wurden die Partikel mit der theoretisch maximalen Menge an GF20, die für die Ausbildung eines *Monolayers* nötig ist, an der Oberfläche funktionalisiert (basierend auf der Annahme, dass durchschnittlich $4.5 \text{ SiOH-Gruppen}/\text{nm}^2$ vorliegen)^[28, 58, 101, 102] und die Schalendicke variiert. In Tabelle 4.1.1.1 sind einige ausgewählte Kenndaten, die zur Herstellung des Leitpartikels führten, gezeigt.

Tabelle 4.1.1.1: Kenndaten zur Evaluierung des Leitpartikel-Typs; nach der beschriebenen Reaktionsführung in Schema 4.1.1; Bestimmung der GF20-Belegung mittels konduktometrischer Titration.

Partikel Typ	Farbstoff	Farbstoffdichte [$\mu\text{mol/g SiO}_2$]	Monolayer mit GF20 (theor.) [$\mu\text{eq CO}_2\text{H/g}$]	Belegung mit GF20 (gef.) [$\mu\text{eq CO}_2\text{H/g}$]	\varnothing [nm]	Schalendicke [nm]
KS-OFSN 56a1	JA133-Si	4.6	370	123	124	7
KS-OFSN 56a2	JA133-Si	4.6	370	62	124	7
KS-OFSN 56b1	JA133-Si	4.6	356	120	129	12
KS-OFSN 56b2	JA133-Si	4.6	356	68	129	12
KS-OFSN 56c1	JA133-Si	4.6	334	130	137	20
KS-OFSN 56c2	JA133-Si	4.6	334	72	137	20
KS-OFSN 71a	JA133-Si	7.8	312	303	147	8
KS-OFSN 71b	JA133-Si	7.8	294	278	156	13
KS-OFSN 72a	JA133-Si	9.4	300	289	153	10
KS-OFSN 72b	JA133-Si	9.4	284	260	161	14
KS-OFSN 73	JA133-Si	7.8	334	332	137	12

Die durch konduktometrische Titration bestimmten Beladungsergebnisse können direkt mit der Schalendicke korreliert werden, da alle übrigen Parameter gleich gehalten wurden. Damit ist eine Mindestschalendicke von 12-13 nm erforderlich. Messungen von Roche Diagnostics (s. auch Tab. 4.2.2.2) ergaben bezüglich der Farbstoffkonzentration, dass die Partikel mit 7.8 $\mu\text{mol/g SiO}_2$ die höchste Fluoreszenzintensität zeigen, wohingegen Partikel mit einer JA133-Si Konzentration von 5.6 $\mu\text{mol/g SiO}_2$ bzw. 9.4 $\mu\text{mol/g SiO}_2$ eine geringere Fluoreszenzintensität aufwiesen. Ein Grund dafür sind die durch Fluoreszenz- und UV-VIS-

Spektroskopie bei verschiedenen Feststoffkonzentrationen ermittelten Quenchingeffekte. Eine Erklärung für diesen fluoreszenzmindernden Prozess steht aus.

Das Optimum an Fluoreszenz des Leitpartikels (**KS-OFSN 71b**) liegt bei einem Feststoffgehalt von etwa 0.05 % bzw. eine Fluorophorkonzentration von ca. 1-1.8 $\mu\text{mol/g SiO}_2$ (Abbildung 4.1.1.3, magentafarbene und gelbe Linie).

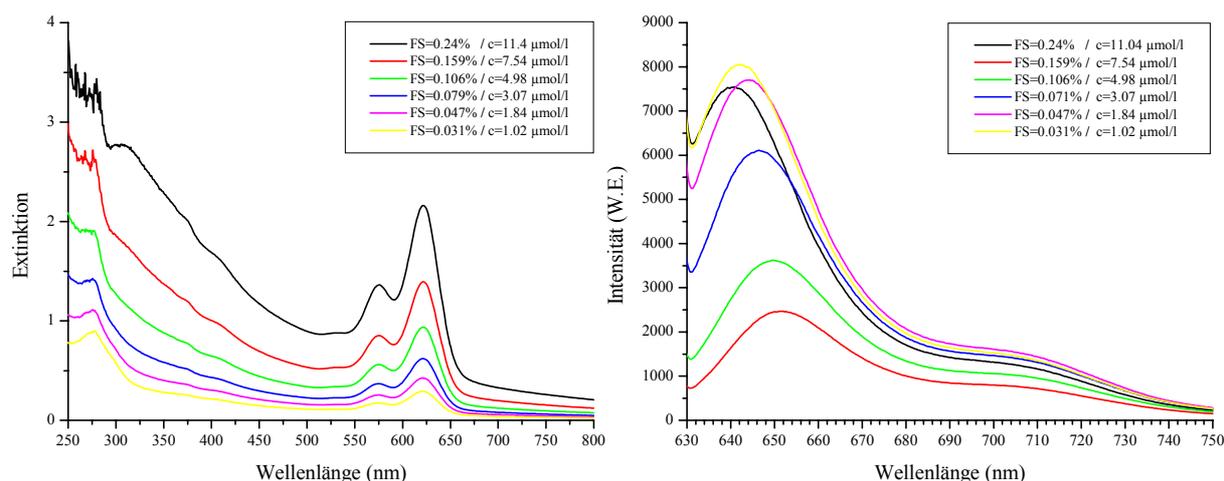


Abb. 4.1.1.3: Vergleich von UV-Vis-Spektren (links: $\lambda_{\text{abs}} = 617 \text{ nm}$) und Fluoreszenzspektren (rechts: $\lambda_{\text{em}} = 644 \text{ nm}$) der Leitpartikeldispersion (**OFSN 71b**) bei verschiedenen Feststoffgehalten (FS) und entsprechenden JA133-Si-Konzentrationen (c).

Im folgenden sind die Charakteristika des Leitpartikels **KS-OFSN 71b** zusammengefasst:

- Ein Gesamtdurchmesser von ca. 140 nm, bei einer Schalendicke von 12 nm
- Eine JA133-Si-Konzentration von 7.8 $\mu\text{mol/g SiO}_2$
- Monolagenbelegung mit Carboxylgruppen (ca. 260-303 $\mu\text{eq CO}_2\text{H/g SiO}_2$)
- Gutes chromatographisches Laufverhalten (s. Abb. 4.1.1.4)

Abbildung 4.1.1.4 demonstriert das Leistungsverhalten von Konjugaten des Leitpartikels im Teststreifen-Assay. Mit einem 10 ng Standard wurde sowohl ein Signal an der Auffanglinie (obere Linie), als auch am Resultatstrich (untere Linie) erzielt (vgl. auch Kap. 2). Dabei betrug die unterste analytische Sensitivität 1.5 ng/ml (**KS-OFSN 71b**).

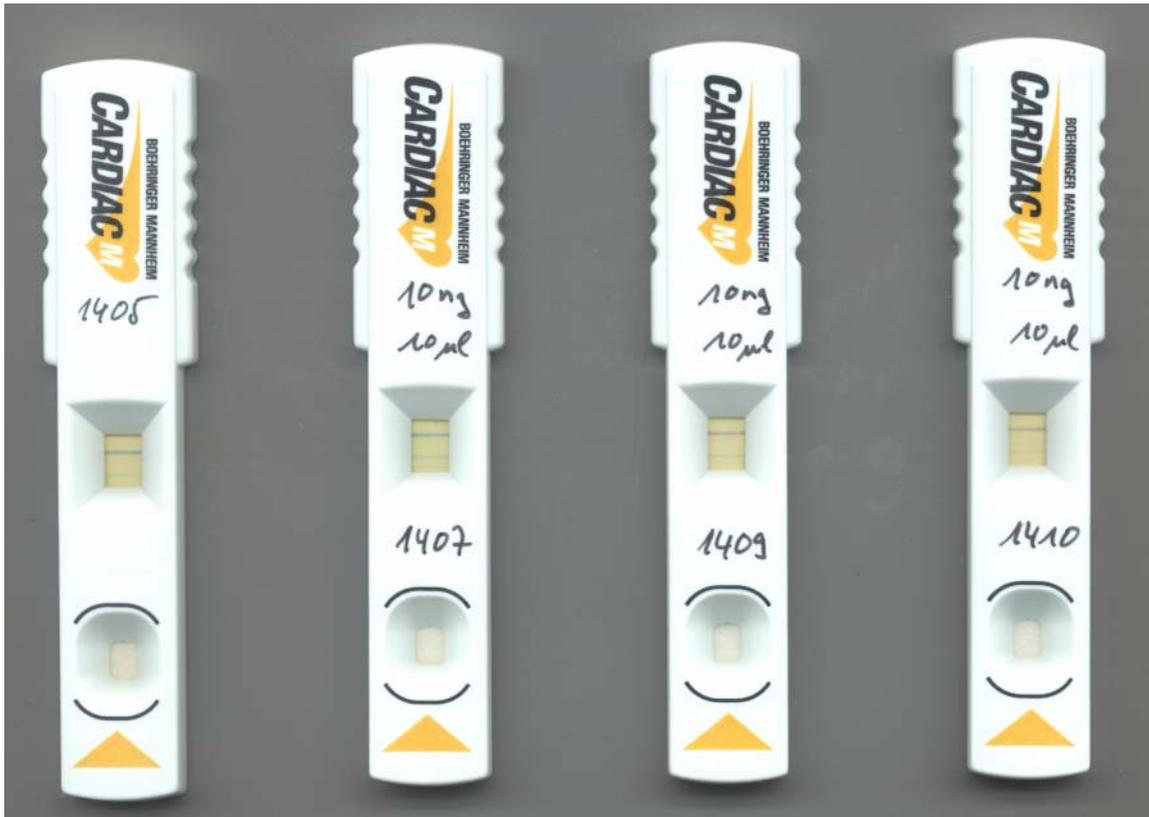


Abb. 4.1.1.4 Teststreifen mit verschiedenen Konjugationen (*Quelle: Roche Diagnostics*):
 1405: **KS-OFSN 71b**; 2mg MAK <Tn-T> im Angebot; keine EDC-Nachvernetzung
 1407: **KS-OFSN 71b**; 0.5mg MAK <Tn-T> im Angebot; keine EDC-Nachvernetzung
 1409: **KS-OFSN 71b**; 2mg MAK <Tn-T> im Angebot; 2mM EDC-Nachvernetzung
 1410: **KS-OFSN 71b**; 1mg MAK <Tn-T> im Angebot; 2mM EDC-Nachvernetzung

Die Reproduktion des Leitartikels war erfolgreich (**KS-OFSN 73**), wobei die nun von RD semimaschinell gefertigten Teststreifen eine untere Nachweisgrenze von etwa 0.05 ng/ml TnT zeigten. Laut Angaben des Projektpartners (RD) führten Belastungen der mit EDC nachvernetzten Konjugate über eine Woche bei 35°C vor Auftrag auf den Prüf-Teststreifen zu keinem Aktivitätsverlust. Weiterhin trete der negative Effekt des Eintrocknens der Konjugate auf dem Prüf-Teststreifen bei semimaschinell gefertigten Teststreifen nicht auf.

4.1.2 Carboxylgruppenbestimmung durch PLD

Die Oberflächenbelegung mit Carboxylgruppen der synthetisierten Silicat-Nanopartikel (s. Kap. 4.1) wurde durch konduktometrische Titration bestimmt (vgl. Tabelle 4.1.1.1).^[23] Da bei dieser Methode viel Substanz benötigt wird (0.5 g – 0.8 g), wurde eine alternative Methode getestet. Durch den Einsatz eines Partikelladungsdetektors (PLD) (Abb. 4.1.2.1)

sollte sich die benötigte Substanzmenge auf etwa 0.01 g (ca. 2-3 %, verglichen mit der konduktometrischen Titration) reduzieren lassen.

Die Messzelle des PLD besteht aus Teflon (PTFE); der Zylinder kann aus Teflon oder Polypropylen gefertigt sein. Er wird durch einen kleinen Motor mit einer Frequenz von einigen Hertz (meist 5 Hz) auf und ab bewegt.

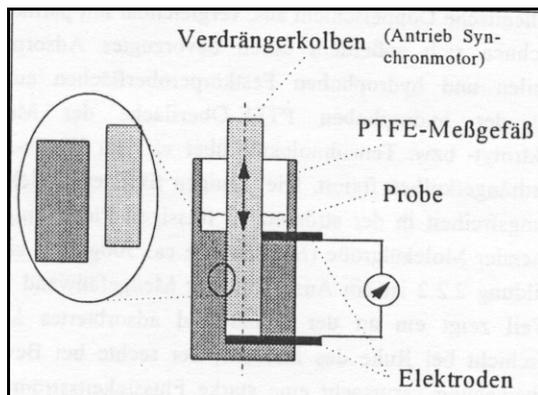


Abb. 4.1.2.1:

Messzelle mit vergrößertem Ausschnitt des Messspaltes zwischen Gefäßwand und Verdrängerkolben (Abstand 0.15 mm)

Durch die Bewegung des Kolbens werden die Ionen der elektrischen Doppelschicht, die sich über der Wand der Messzelle und des Kolbens ausbildet, abgeschert (s. Abb. 4.1.2.2). Der dadurch erzeugte Ionenfluss wird als Wechselstrom an den Elektroden gemessen. Das Vorzeichen des erhaltenen Signals wird der Ladung der Wand entsprechend angezeigt.

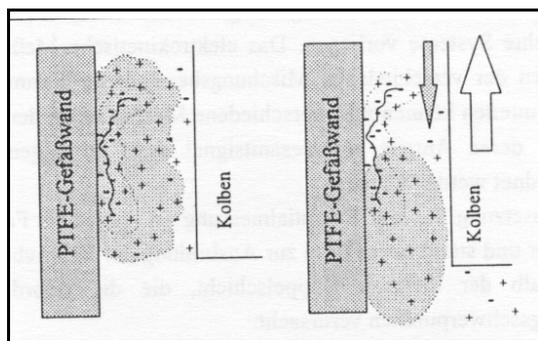


Abb. 4.1.2.2:

Links: ruhender Verdrängerkolben, statistisch intakte Doppelschicht

Rechts: Kolbenbewegung nach oben, Flüssigkeitsströmung nach unten \Rightarrow Teilabriss und Verschiebung der diffusen Schicht

Bei einer kolloidalen Dispersion enthält das Signal die Beiträge von der Wand, der Messzelle, des Kolbens und des kolloidalen Materials, welches an der Wand festgehalten wird. Das Signal von SiO_2 -Dispersionen liegt nahe bei dem der reinen Elektrolytlösung. Eine Bedeckung der negativ geladenen Teflon- bzw. Polypropylenwand mit positiv geladenen Teilchen (beispielsweise Al_2O_3) ist ausgeprägter und stabiler als mit negativ geladenen SiO_2 -

Partikeln. Jedoch reicht deren zeitweiliges Verweilen an der Gefäßwand aus, das Signal zu beeinflussen.

Zur Bestimmung der Oberflächenladungsdichte von kolloidalen Teilchen wird ein entgegengesetzt geladener Polyelektrolyt zutitriert. Nach bisherigen Erfahrungen kann über dieses Verfahren die Oberflächenladung zuverlässig bestimmt werden, und zwar auch bei negativ geladenen Teilchen.^[188] Voraussetzung ist die Verwendung von Polyelektrolyten (s. Abb. 4.1.2.3) mit hoher Ladungsdichte, um eine Ladungsneutralisation zu erreichen. Für positiv geladene Teilchen sind 0.001 M wässrige Lösungen von Natriumpolyethylensulfonat (Formel I) bzw. Poly(diallyldimethylammonium)chlorid (Formel II) für negativ geladene Teilchen geeignet.

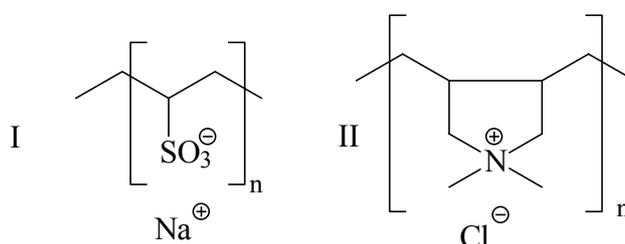


Abb. 4.1.2.3: Formeln von Polyelektrolyten, die in der PLD Verwendung finden;
Formel I: Natriumpolyethylensulfonat
Formel II: Poly(diallyldimethylammonium)chlorid

Die Kalibrierung erfolgte mit Hilfe von Partikel-Standards der Firma Bangs-Laboratories. Diese lieferten zwar reproduzierbare Ergebnisse, lagen jedoch um ca. 30 % zu hoch, wie Tabelle 4.1.2.1 belegt.

Tab. 4.1.2.1: Statische Titration eines Standardpartikels von Bangs-Laboratories mit 0.001 N Polyallyldimethylammoniumchlorid

Bangs-Standard [32 μ eq/g]	Substanzmenge [g]	Verbrauchtes Vol. [ml]	Belegung [μ eq/g]
1. Messung	0.1	3.927	39
2. Messung	0.1	4.296	42
3. Messung	0.01	0.4337	43
4. Messung	0.3	1.328	44

Anschließend wurden die synthetisierten Partikel vom Typ **KS-OFSN** über die PLD-Methode vermessen, wie in Tabelle 4.1.2.2 zu sehen ist. Dabei wurden neben den Silicatpartikeln vom Typ **KS-OFSN** (mit JA133-Si) auch Partikel vom Typ **OFSN** (mit MR121-Si) vermessen.

Bei letzteren wurde keine zusätzliche SiO₂-Schale aufkondensiert, da der dort eingesetzte Farbstoff MR121-Si polarer und kleiner als JA133-Si ist, und sich somit nicht an der Partikeloberfläche anreichern sollte (vgl. Kap. 4.1).

Tabelle 4.1.2.2: Statische Titration mit 0.001 N „Poly-Dadmac-Standard“ (Polyallyldimethylammoniumchlorid).

Partikel-Typ	Eingesetzte Partikelmenge [mg]	Verbrauchtes Vol. 1. Messung [ml]	Verbrauchtes Vol. 2. Messung [ml]	Belegung 1. Messung [μeq/g]	Belegung 2. Messung [μeq/g]	Konjugation mit MAK<TnT> [μg gebundener AK/mgPartikel]
KS-OFSN 62a1	14.50	0.596	0.600	41.1	41.3	1-2
KS-OFSN 62a2	14.75	0.62	0.617	42.0	41.8	2-6
KS-OFSN 62b1	17.70	0.646	0.641	36.4	36.2	2-3
KS-OFSN 62b2	18.30	0.670	0.668	36.6	36.5	3-6
OFSN63a	10.50	0.389	0.391	37.0	37.2	0
OFSN63b	10.30	0.398	0.396	38.6	38.4	0
KS-OFSN 64a1	11.25	0.478	0.502	42.5	44.6	0
KS-OFSN 64a2	10.45	0.466	0.457	44.6	43.7	0
KS-OFSN 64b1	16.80	0.507	0.499	30.2	29.7	5-11
OFSN 64b2	16.80	0.543	0.549	32.3	32.6	95-134

Die erhaltenen Ergebnisse für die Konjugation der Partikel mit MAK<TnT> korrelierten weder mit berechneten noch mit den mittels PLD gefundenen Carboxylgruppendichten.

Somit konnte weder die beim Max-Planck-Institut für Kolloid und Grenzflächenforschung in Golm (Projektpartner; Bestimmung von Carboxylgruppendichten auf Polystyrolpartikeln), noch die in der Papierindustrie etablierte PLD-Methode auf die synthetisierten hybriden Silicat-Nanopartikel vom Typ **KS-OFSN** und **OFSN** angewandt werden. Deshalb wurde die PLD-Methode für die evaluierten Partikel nicht weiter verfolgt. Die Oberflächenbeladung der Silicat-Nanopartikel wurde weiterhin nach der Methode der konduktometrischen Titration bestimmt (vgl. Tabelle 4.1.1.1; s. Kap. 6.2.1).^[23]

4.1.3 Lyophilisations- und Redispergierungsfähigkeit der synthetisierten Silicat-Nanopartikel

Dispersionen sind oft nicht lange stabil und nach einiger Zeit tritt Sedimentation bzw. Agglomeration ein. Auch der benötigte Raumbedarf zur Aufbewahrung von Dispersionen ist nachteilig. Somit wäre es wünschenswert, die synthetisierten Partikel (s. Kap. 4.1.1) und ihre Eigenschaften so zu konservieren, dass sie je nach Bedarf zur Verfügung stehen. Aus diesem Grund wurde ein Lyophilisationsverfahren zur Probenpräparation getestet.^[182] Bei dieser Methode wird das Solvens sehr schonend entfernt. Somit ist zu erwarten, dass die verbleibenden Partikel nicht agglomerieren, wie das bei Entfernung des Solvens durch Erhitzen der Fall ist.

Die über Lyophilisation (Gefriertrocknung) erhaltenen feinen Pulver (Lyophilisate) der Partikel-Typen **FSN**, **OFSN** und **KS-FSN** bzw. **KS-OFSN** (s. Kap. 4.1) wurden auf ihre physikalischen und spektroskopischen Eigenschaften hin untersucht (vgl. Kap. 6.2.2). Besonders wichtig war das Verhalten des Fluorophors nach diesem Prozess. So wurde z.B. die Fluoreszenz der Lyophilisate vermessen. In Abbildung 4.1.3.1 sind Fluoreszenzspektren von MR121-Si dotierten und gefriergetrockneten Silicat-Nanopartikeln vom Typ **FSN** gezeigt.

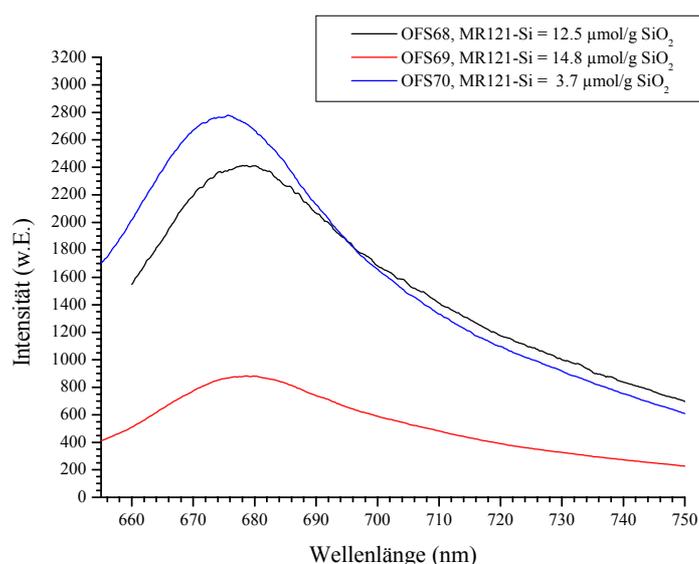


Abb. 4.1.3.1: Fluoreszenzmessung ($\lambda_{\text{exc}} = 640 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 675 \text{ nm}$) an MR121-Si dotierten, lyophilisierten SiO₂-Partikeln (als Pulver) \Rightarrow Evaluierung der optimalen Fluorophorkonzentration (hier $< 12.5 \text{ µmol/g SiO}_2$)

Für Fluoreszenzmessungen wurden die Pulverproben auf einem Objektträger mit Tesafilm fixiert und vermessen. Es wurde vor jeder Messung sichergestellt, dass weder Objektträger, noch Tesafilm im zu detektierenden Wellenlängenbereich fluoreszieren. Es treten, wie in Dispersion (vgl. Kap. 4.1.1), fluoreszenzmindernde Effekte aufgrund von Überkonzentration auf. Die thermische Stabilität der Fluorophore JA133-Si und MR121-Si in der Partikelmatrix wurde durch DSC-Messungen untersucht. Hierzu wurden die Partikelpulver unter Luft- und unter Stickstoffatmosphäre erhitzt (s. Tabelle 6.2.2.1). Weitere Untersuchungen der Fluorophore fanden durch Schwingungsspektroskopie statt. Da jedoch weder in Transmission (FT-IR-Spektroskopie) noch in diffuser Reflexion (DRIFT-Spektroskopie) zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden konnten, wurde versucht, die Partikelpulver raman-spektroskopisch zu vermessen. Dadurch wurden aussagekräftige Messergebnisse erhalten. Gründe dafür könnten in der Probenkonzentration (höher bei Raman-Spektroskopie) sowie den Auswahlregeln der beiden Spektroskopiearten liegen. In Abb. 4.1.3.2 sind Ramanspektren gefriergetrockneter Silicat-Nanopartikel, die JA133-Si- (**KS-OFSN**) bzw. MR121-Si-dotiert (**OFSN**) und mit verschiedenen Mengen an GF20 oberflächenmodifiziert sind, gezeigt. Die erhaltenen charakteristischen Signale sind ein weiteres Indiz, neben den Fluoreszenzen (vgl. Abb. 4.1.3.1), dass die Fluorophore nach der Lyophilisation intakt bleiben.

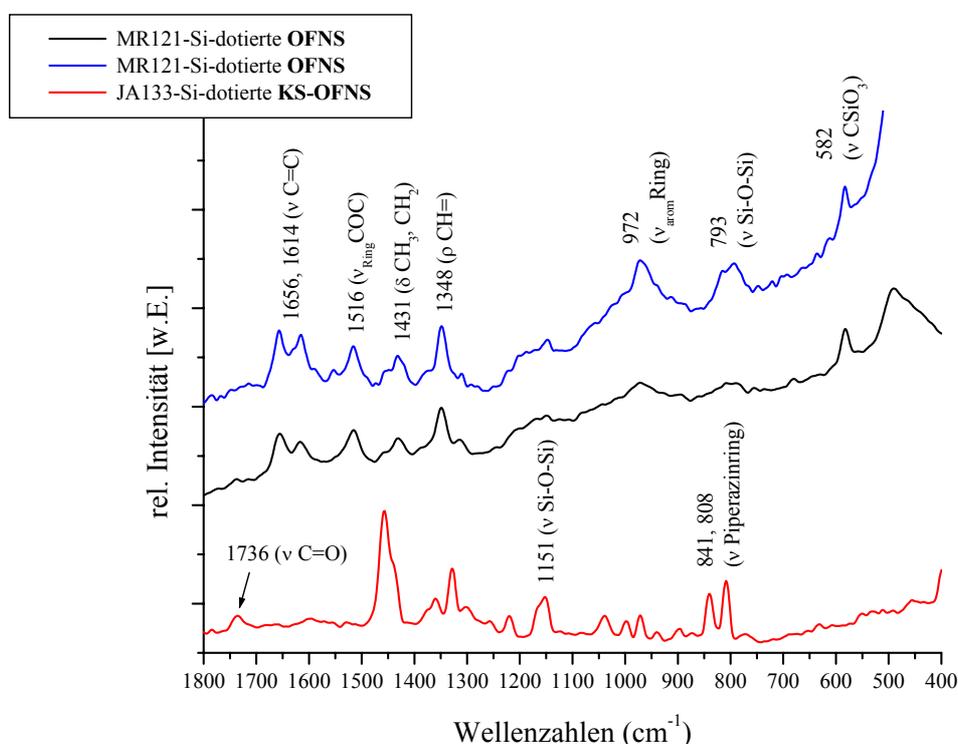


Abb. 4.1.3.2: Ramanspektren lyophilisierter Silicat-Nanopartikel vom Typ **OFSN** (MR121-Si-dotiert, schwarz, blau) und **KS-OFSN** (JA133-Si-dotiert, rot); Oberflächenmodifizierung mit GF20: rot= 67, schwarz= 88, blau= 104; jeweils in $\mu\text{mol CO}_2\text{H/g}$ Partikel.

Pulver lyophilisierter und nicht oberflächenmodifizierter Partikel ließen sich nach längerer Ultraschallbehandlung (ca. 1h) agglomeratfrei in Wasser ($\text{pH} \approx 7.4$) redispergieren wie über TEM- und DLS-Aufnahmen bestätigt wurde. Abbildung 4.1.3.3 zeigt TEM-Aufnahmen gefriergetrockneter (links, trocken) und wieder redispergierter (rechts) Silicat-Partikel vom Typ **KS-FSN**.

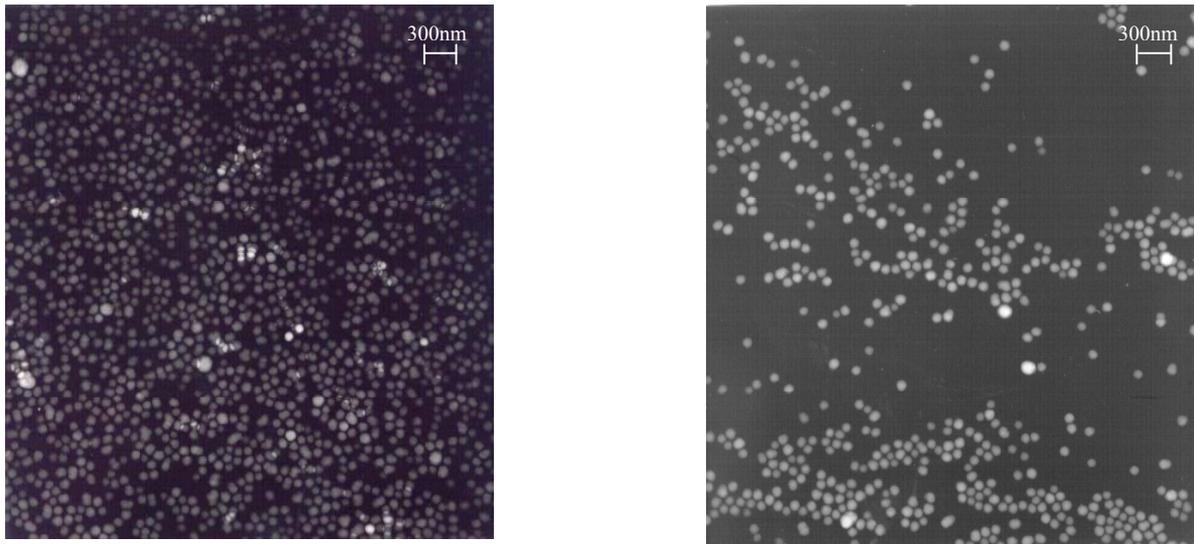


Abb. 4.1.3.3: TEM-Aufnahmen von JA133-Si-dotierten Silicat-Nanopartikeln vom Typ **KS-FSN**; Lyophilisat (links, trocken), in Wasser redispergiert (rechts).

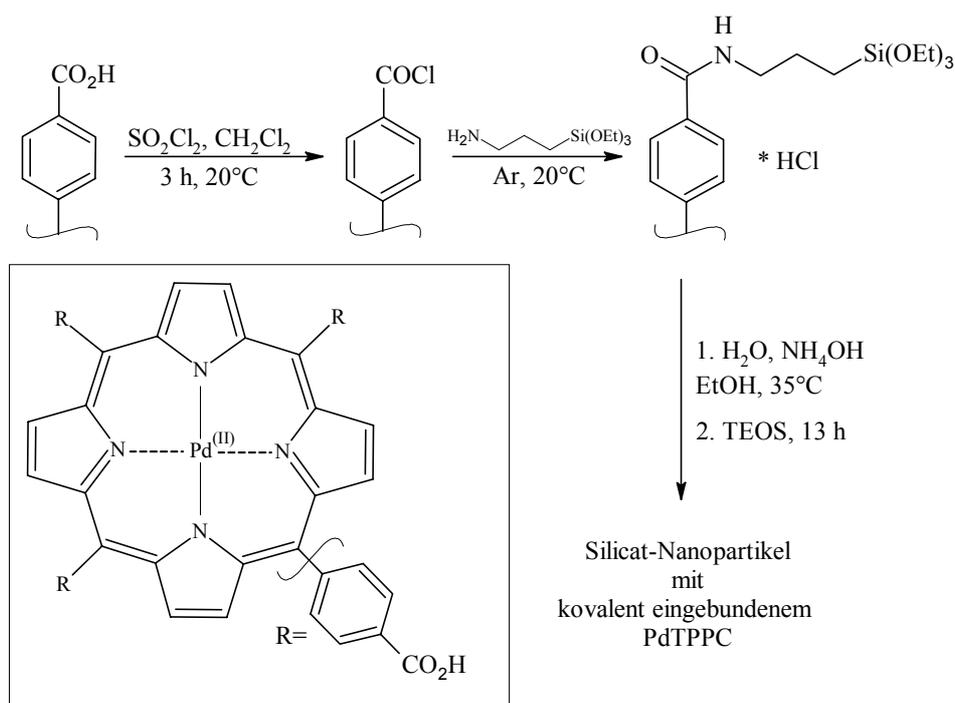
Mit GF20 oberflächenmodifizierte Partikel konnten nur sehr schlecht oder gar nicht redispergiert werden. Gründe dafür sind wohl in der Reaktivität des Modifizierungsreagenzes als auch in der Probenbereitung zu suchen. So könnte beispielsweise ein positiver Effekt durch Zuhilfenahme von Dispergierungsreagenzien,^[183] auf die bei den untersuchten Proben völlig verzichtet wurde, erzielt werden.

Somit konnte gezeigt werden, dass die synthetisierten Partikel vor der Oberflächenmodifizierung mit GF20 lyophilisierbar sind. Noch wichtiger ist, dass sie sich anschließend wieder redispergieren und weiter verarbeiten lassen. Die gefundene Einschränkung, dass sich GF20 modifizierte gefriergetrocknete Partikel nicht Redispergieren lassen, kann leicht umgangen werden. So könnten die Dispersionen lyophilisiert und erst bei Bedarf redispergiert und oberflächenmodifiziert werden. Somit stellt die Lyophilisation eine Möglichkeit zur langzeitigen Konservierung von komplex aufgebauten Silicat-Nanopartikel dar.

4.1.4 Porphyrinmetallkomplexe in Silicat-Nanopartikeln

Neben dem Einbau von organischen Fluorophoren (vgl. vorherige Kapitel), sollten auch Porphyrine sowie ihre Komplexe mit Übergangsmetallen, wie beispielsweise Mangan, Palladium oder Zink, in Silicat-Nanopartikel eingebunden werden. Vor allem die bekannten langlebigen Lumineszenzen dieser Komplexe machten sie interessant.^[172] Die mögliche Einbindung von Porphyrinen über den Sol-Gel-Prozess in hybride Silica-Matrizes wurde bereits gezeigt,^[173] jedoch ist ihre Einbindung in Silicat-Nanopartikel nicht bekannt. Aufgrund ihrer langen Fluoreszenzlebensdauern wurden die Porphyrinkomplexe 5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxy-phenyl)-porphyrin-Pd(II) (PdTPPC) und 5,10,15,20-Tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-Zn(II)-tetrachlorid (ZnTMPyP) ausgewählt, um sie in Silicat-Nanopartikel einzubauen.

Versuche, den PdTPPC-Komplex durch Zugabe zu einer Stöber-ähnlichen Lösung direkt in die Silicatpartikel einzubauen (vgl. Schema 4.1.1, Reaktionsschritt I), scheiterten und die gesamte Menge an eingesetztem Komplex konnte UV-VIS-spektroskopisch im Zentrifugationsüberstand nachgewiesen werden. Deshalb wurde PdTPPC mit AMEO silanisiert, um anschließend durch Cokondensation kovalent in die Silicat-Nanopartikel eingebunden zu werden (s. Schema 4.1.4.1).



Schema 4.1.4.1: Reaktionsfolge zur Synthese von Silicat-Nanopartikeln mit kovalent eingebautem PdTPPC-Komplex.

Hierzu wurde PdTPPC in Dichlormethan unter Schutzgasatmosphäre gelöst und für 3 Stunden mit Thionylchlorid umgesetzt. Nach Isolierung wird der erhaltene Feststoff in Dioxan gelöst und mit 3-Aminopropyltriethoxysilan umgesetzt. Abbildung 4.1.4.1 zeigt die um 80 cm^{-1} zu höheren Wellenzahlen verschobene charakteristische Carbonylschwingung des Säurechlorids.^[144]

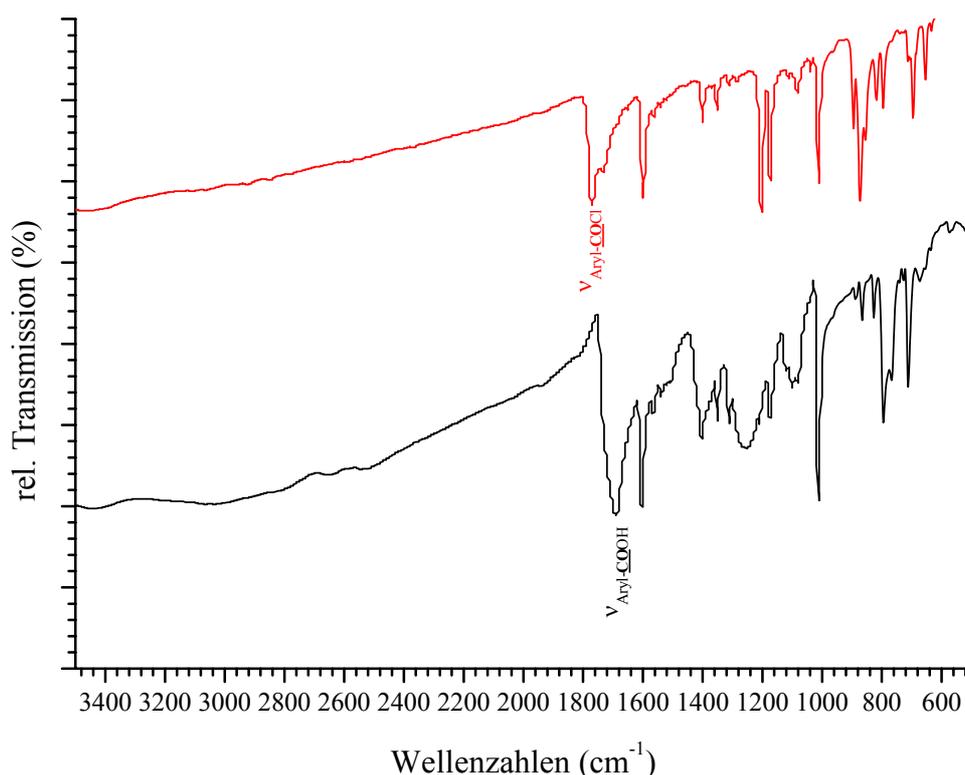


Abb. 4.1.4.1: Transmissions-IR-Spektren des PdTPPC-Komplexes (schwarz) mit $\nu_{\text{COOH}}=1690\text{ cm}^{-1}$ und des entsprechenden Säurechlorids (rot) mit $\nu_{\text{COCl}}=1770\text{ cm}^{-1}$ (KBr-Presslinge).

Diese Reaktionsmischung wird anschließend zu einer auf 35°C temperierten Lösung aus Wasser, Ammoniak und Ethanol gegeben. Nach Zutropfen von TEOS, wird die Reaktionsmischung für weitere 13 Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Das Säurechlorid kann unter Argon aufbewahrt und bei Bedarf silanisiert und weiter verarbeitet werden. Die erfolgreiche kovalente Einbindung von PdTPPC in Silicat-Nanopartikel wurde mittels Festkörper-NMR-, UV-VIS- sowie IR-Spektroskopie belegt (s. Kap. 6.2.3.2). Wie TEM- und REM-Aufnahmen zeigen sind die erhaltenen Partikel polydispers mit einer nahezu bimodalen Verteilung (s. Abb. 4.1.4.2, links). Durch UV-VIS- und Fluoreszenzspektroskopie der jeweiligen Zentrifugationsüberstände wurde die Einbaurrate von PdTPPC auf maximal 0.7 % (w/w) bestimmt.

Aufgrund seiner kationischen Natur, lässt sich der Komplex 5,10,15,20-Tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-Zn(II)-tetrachlorid (ZnTMPyP) während der etablierten Synthese (s. Schema 4.1.1) direkt durch Zugabe in die anionischen Silicat-Nanopartikel einbauen. Wie Abbildung 4.1.4.2 (rechts) illustriert, haben die erhaltenen Partikel eine enge Größenverteilung. Weiterhin können sie einen ZnTMPyP-Gehalt bis zu 1 % (w/w) besitzen. Die erfolgreiche Einbindung in die Silicatpartikel wurde durch verschiedene Spektroskopiemethoden gesichert (vgl. Kap. 6.2.3).

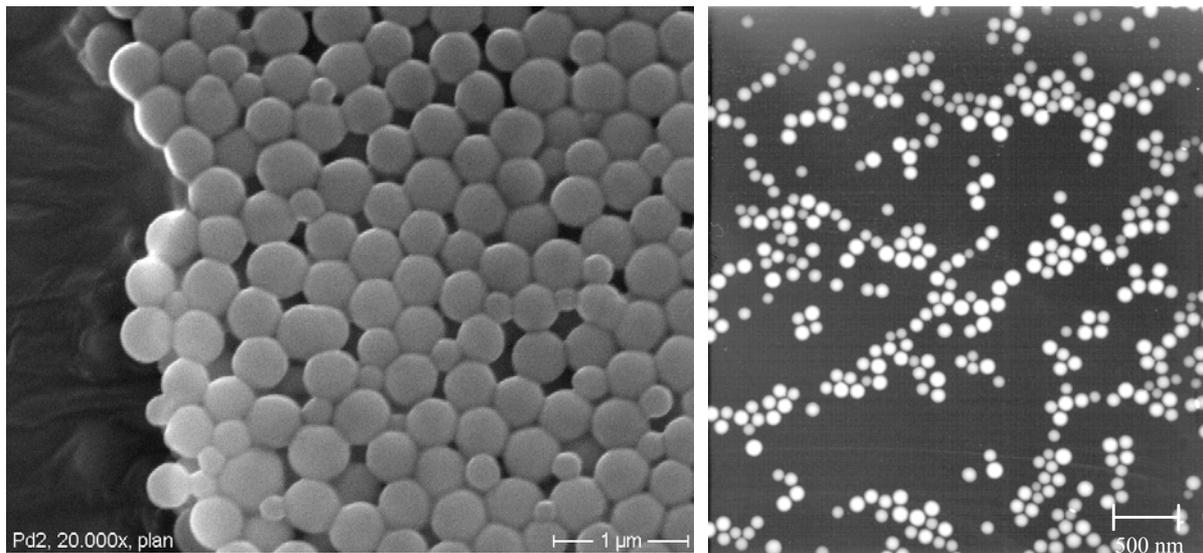


Abb. 4.1.4.2: REM-Aufnahme von PdTPPC-Si dotierten Silicatpartikeln (links), $d \approx 200 - 300$ nm, (Pd2, Einbaureate ca. 0.56 % (w/w)); TEM-Aufnahme von ZnTMPyP dotierten Silicat-Nanopartikeln (rechts), $d \approx 140 - 150$ nm (Zn1, Einbaureate ca. 0.83 % (w/w)).

Oberflächenbestimmungen (nach BET) der PdTPPC-Si- und ZnTMPyP-dotierten Silicat-Nanopartikel lieferten nur geringfügig höhere Oberflächen als berechnet.

Dabei wurde die geometrische Oberfläche nach der Formel $\frac{6}{\rho \cdot d}$ berechnet.

Die Skelettdichte (ρ) wurde durch Heliumpyknometrie der jeweiligen Partikel (Typ FSN) ermittelt. Der Partikeldurchmesser d konnte nicht mittels dynamischer Lichtstreuung gemessen werden, da die Emissionswellenlänge ($\lambda_{em} = 488$ nm) des verwendeten Argon-Lasers die Metall-Porphyrin-dotierten Silicat-Nanopartikel zur Fluoreszenz anregte und so die Messergebnisse verfälschte. Deshalb wurde anhand von TEM-Bildern, unter Berücksichtigung von mindestens 50 Partikeln, ein Mittelwert durch manuelles Ausmessen gebildet.

Die gefundenen mittleren Dichten von $\rho = 2.08 \text{ g/cm}^3$ für Pd-Si und $\rho = 2.11 \text{ g/cm}^3$ für Zn-Si sind nur etwas höher als für reine Silicat-Nanopartikel (1.98 g/cm^3). Wie Zetapotenzialmessungen (Abb. 4.1.4.3) zeigen, weisen die Partikeldispersionen bei einem pH-Wert von ≥ 7.5 sehr gute Stabilitäten auf (mit ζ -Potentialen von $> \pm 50 \text{ mV}$, wird die Stabilität einer Suspension als *sehr gut*,^[174] mit ζ -Potentialen von $> 30 \text{ mV}$, als *gut*^[143] bezeichnet).

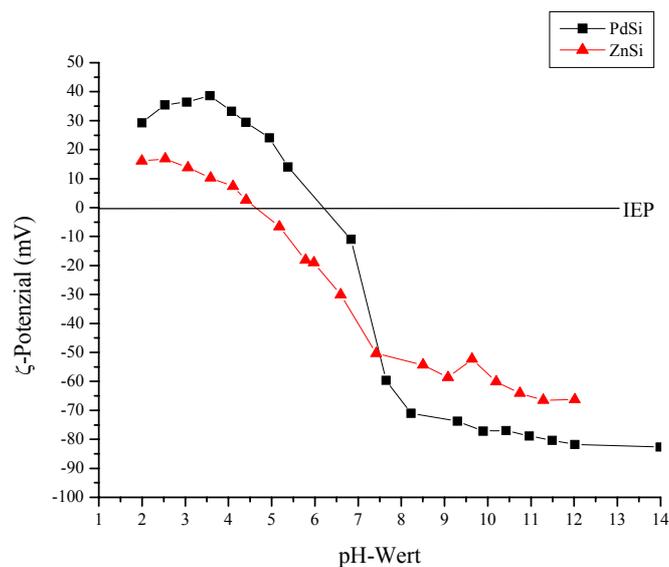


Abb. 4.1.4.3: Zetapotenzialverlauf von Pd-Si (schwarz, $\zeta = -59.6 \text{ mV}$ bei $\text{pH} = 7.6$) und Zn-Si (rot, $\zeta = -50.3 \text{ mV}$ bei $\text{pH} = 7.4$) als wässrige Dispersionen; $\text{IEP}_{(\text{Zn-Si})} = 4.6$; $\text{IEP}_{(\text{Pd-Si})} = 6.1$.

Somit konnten Silicat-Nanopartikel über den Sol-Gel-Prozess mit den Porphyrinen PdTPPC und ZnTMPyP dotiert werden. Dabei musste PdTPPC erst silanisiert werden, das kationische ZnTMPyP ließ sich dagegen direkt in die Silicat-Nanopartikel einbauen. Somit können nun auch Porphyrine in Silicat-Nanopartikel eingebaut werden, was einen Einsatz dieser Teilchen in beispielsweise Toner attraktiv macht. Messungen der Fluoreszenzlebenszeiten stehen noch aus. Sollten jedoch die Porphyrin-Komplexe in den synthetisierten Teilchen eine ähnliche Fluoreszenzabklingzeit besitzen wie in Lösung, könnten sie als TRF-Label (nach ähnlicher Verfahrensweise wie in Schema 4.1.1) im Bereich *Life-Science* eingesetzt werden.

4.1.5 Ruthenium-Komplexe als Sensormoleküle in Silicat-Nanopartikel

Kationische Rutheniumkomplexe dienen als Modellverbindungen in supramolekularen Systemen^[175] und als elektrochemolumineszierende Komplexe in speziellen anorganisch-organischen Hybridpolymeren.^[176] Als Dioxoruthenium(VI)porphyrine sind sie wichtige Katalysatoren zur Synthese diverser organischer Verbindungen.^[177] Im Bereich *Life Science* werden sie als Glukose-^[178] oder Sauerstoffsensormoleküle^[179] eingesetzt. Bei letzterer Anwendung werden Rutheniumkomplexe meist in organische Polymere eingebunden. Durch Sauerstoffkoordination am Ruthenium tritt Quenching der Fluoreszenz des Komplexes auf.^[180, 181] Damit dieser Effekt quantitativ genutzt werden kann, ist ein kontrollierter bzw. gleichmäßiger Gasfluss in der jeweiligen Matrix erforderlich.

Die im Rahmen dieser Arbeit nasschemisch synthetisierten Silicat-Nanopartikel sollten aufgrund ihrer hochpolaren anionischen Matrix eine sehr geringe bzw. gar keine Sauerstoffpermeation aufweisen. Diese These sollte anhand der Einbindung von Tris-(1,10-phenantrolin)ruthenium(II)-dichlorid (Ru-phen) überprüft werden.

Der Komplex konnte durch direkte Zugabe zum Stöber-Prozess quantitativ mit einer Konzentration von ca. 50 mg/g SiO₂ in Silicat-Nanopartikel eingebaut werden. In Abb. 4.1.5.1 sind die erhaltenen, im Mittel 200 nm durchmessenden, monodispersen Partikel in einer TEM-Aufnahme (links) zu sehen. Das entsprechende Fluoreszenzspektrum dieser Partikel zeigt Abb. 4.1.5.1 rechts. Das Fluoreszenzspektrum der wässrigen Dispersion weist auch die typische Emission des Komplexes bei 597 nm ($\lambda_{\text{exc}} = 446$ nm) auf.

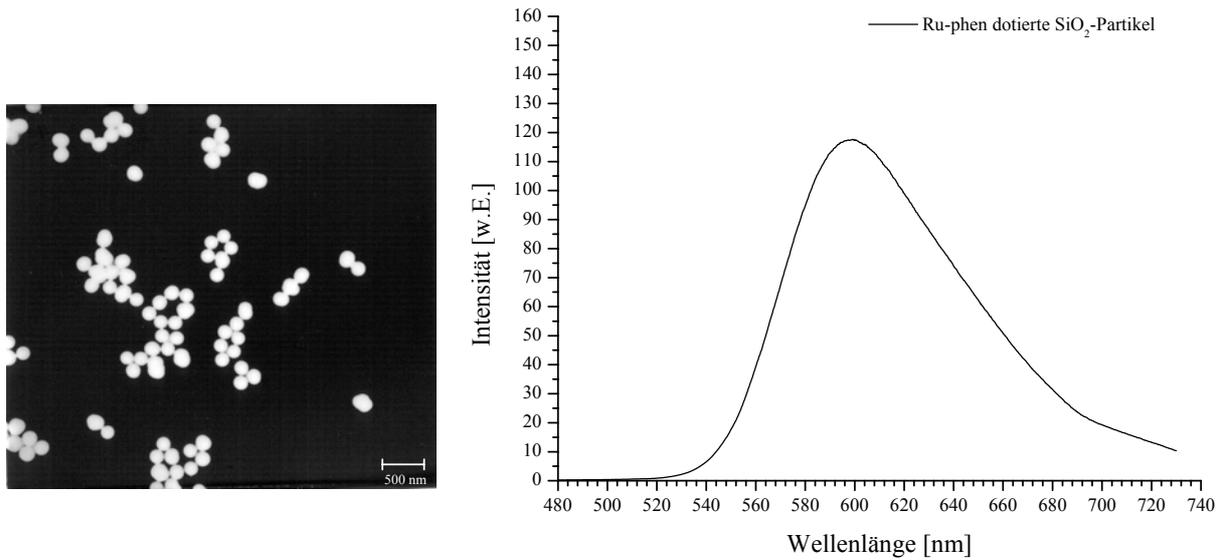


Abb. 4.1.5.1: TEM-Aufnahme von Ru-phen-dotierten (≈ 50 mg/g SiO₂) Silicatpartikeln (links); Fluoreszenzspektrum (rechts) einer 5 %-igen (w/w) wässrigen Dispersion dieser Partikel ($\lambda_{\text{exc}} = 446$ nm; $\lambda_{\text{em}} = 597$ nm).

Der blutungsstabile Einbau von bis zu 5 % (w/w) Ru-phen in Silicat-Nanopartikeln war erfolgreich. In Abbildung 4.1.5.2 ist die Sauerstoffpermeabilität (vermessen von Roche Diagnostics) der Ruthenium-Komplex-dotierten Silicat-Nanopartikel veranschaulicht. Wie zu erkennen, zeigen die Teilchen selbst bei hohem Gasdruck nur einen geringen Abfall der Fluoreszenzintensität, der auf geringe Sauerstoffpermeation hindeutet.

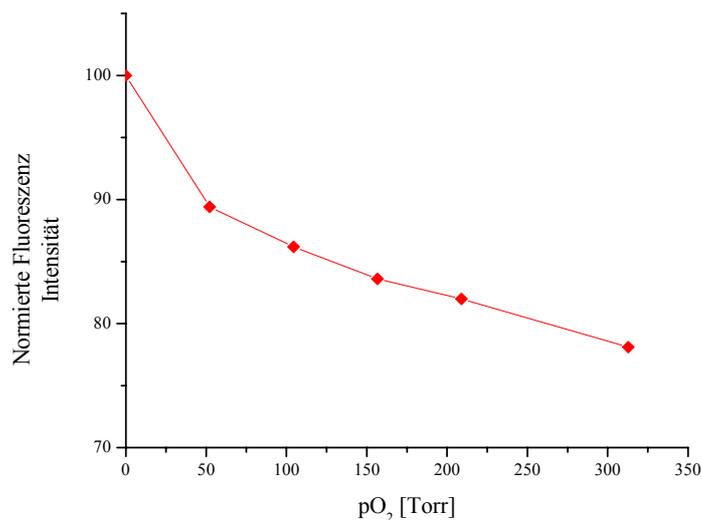


Abb. 4.1.5.2: Ru-phen dotierte SiO₂-Partikel ($d \approx 200$ nm) eingebettet in ein polyurethan-basierendes Hydrogel. Die Normierung beruht auf einem nichtlinearen Stern-Volmer Modell mit $K_{\text{SV}} = 0.0063$ (Stern-Volmer Konstante). (Quelle: Roche Diagnostics)

Aufgrund der geringen Sauerstoffpermeation würden sich mit Ru-phen dotierte Silicat-Nanopartikel zwar nicht als Detektionssensorsubstrat eignen, wohl aber als ebenso notwendiger Referenzstandard. Mit ζ -Potentialen von ≤ -50 mV zeigen die Dispersionen schon bei pH 9 gute Stabilitäten. Die ermittelte Skelettdichte liegt mit $2.05 \text{ g/cm}^3 - 2.10 \text{ g/cm}^3$ etwas höher als bei reinen Silicatpartikeln. Die bei BET-Untersuchungen an diesen Partikeln gefundenen Porengrößen von ca. 15 nm (s. Kap. 6.2.3.3) könnten auch vom entsprechenden Zwischenkornabstand (s. Kap. 3.2.2) stammen.

Durch eine zusätzliche Cokondensation von Organo- oder Fluoralkyltrialkoxysilanen könnten diese Poren vergrößert und somit eine höhere Gaspermeation erzielt werden (s. Kap. 4.2). Vorteilhaft auf die Gaspermeation könnte sich dann auch die erhöhte Hydrophobie der so modifizierten Silicat-Nanopartikel auswirken. Im Idealfall wären solche Ru-phen dotierten Partikel somit auch als Sensorsubstrate für Sauerstoff einsetzbar. Im anschließenden Kapitel werden weitere Vorteile von Silicatpartikeln gegenüber organischen Polymerpartikeln erläutert.

4.2 Hydrophobe Silicatmatrizes

Bei neutralen, hydrophoben oder gar anionischen Fluorophoren gelingt die effiziente Einbindung durch kovalente Anbindung in die Silicat-Matrix (s. Kap. 4.1).^[23] Dies wiederum wirkt sich störend auf die Partikelmorphologie aus, weswegen beispielsweise keine monodispersen Silicat-Nanopartikel, die kleiner als 80 nm sind, synthetisiert werden konnten. Auch kann sich bei einigen Fluorophoren die unmittelbare silicatische Umgebung negativ auf die Lumineszenz auswirken. Diese Aspekte führten in jüngerer Zeit zu einem gesteigertem Interesse an Hydrophobierungsmöglichkeiten von Silicatmatrizes, wie beispielsweise die *wasserfreie Synthese*^[145-147] oder Synthesen unter Zuhilfenahme von Emulsions-techniken.^[148, 149] Die Möglichkeit des physikalischen Einbaus birgt oft Probleme, denn nicht kovalent eingebundene hydrophobe Moleküle bluten meist noch über mehrere Waschzyklen hinweg aus. Ferner liegt die Einbaueffizienz meist unterhalb jener der chemischen Dotierung.

Da in dieser Arbeit chromophore Moleküle in Silicat-Nanopartikel eingebaut werden sollten, mussten auch die spektroskopischen Eigenschaften berücksichtigt werden. Diese werden bei organischen Farbstoffen entscheidend durch konjugierte π -Systeme beeinflusst. So besitzen alle organischen Farbstoffe ausgedehnte chromophore Systeme mit einer unterschiedlichen Anzahl anellierter bzw. konjugierter Ringsysteme und/oder Doppelbindungen, welche hohe Hydrophobie besitzen. Wie von S. Shibata et al. beschrieben, kann durch die Hydrophobierung der Partikelmatrix die Affinität zu organischen Farbstoffen verbessert werden.^[150] Auf diesem Wege lässt sich z.B. der Einbau von Rhodamin 6G erhöhen. S. Shibata et al. synthetisierten ihre hybriden Partikel über das Sol-Gel-Verfahren, wobei sie von vorhydrolysiertem Phenyltriethoxysilan (PhTEO) ausgingen, jedoch kein TEOS verwendeten. Die so hergestellten Partikel sind zwar sphärisch aber sehr polydispers mit Größen bis in den Mikrometerbereich.

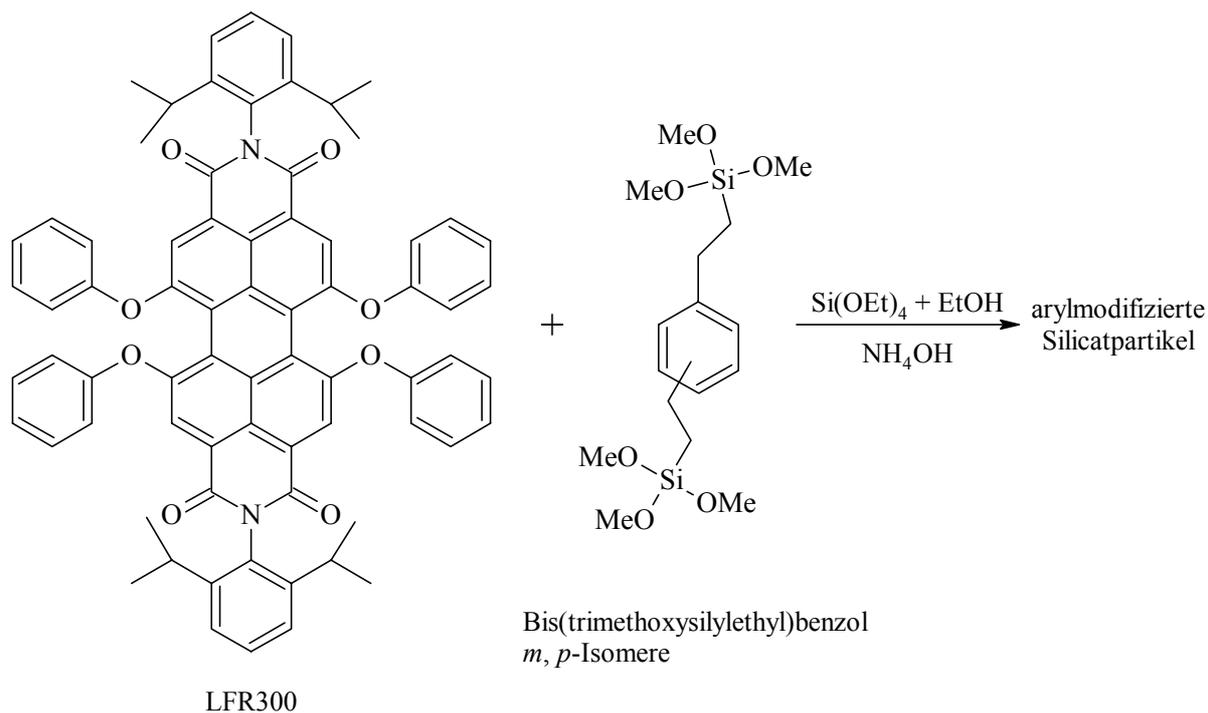
Ein auf van Blaaderen zurückgehendes Verfahren zur Synthese von Organosilicatpartikel basiert auf einem modifizierten Stöber-Prozess unter Verwendung von AMEO und TEOS.^[32, 79, 151] Die so erhaltenen Teilchen sind poröser als die nach der eigentlichen Stöber-Methode hergestellten SiO_2 -Partikel, haben jedoch eine höhere Monodispersität, besser ausgeprägte kugelförmige Gestalt und sind mit organischen Gruppen durchsetzt. Daher wurde

versucht mit Organotrialkoxysilanen (z.B. $\text{EtSi}(\text{OEt})_3$) stöberähnliche, hydrophobe Silicat-Partikel darzustellen.^[23]

Wie bereits erwähnt, basiert die Synthese von Organosilicatpartikeln auf dem Stöber-Prozess und impliziert eine simultane bzw. kombinierte Hydrolyse und Kondensation von Tetraethoxysilan mit einem Alkyl-/Aryl- bzw. Fluoralkylalkoxysilan. Um zu diskreten Partikeln zu gelangen, sind z.T. besondere Bedingungen notwendig. Im Speziellen wurde zunächst untersucht, ob sich durch die Abwandlung des Stöber-Prozesses monodisperse, sphärische Partikel darstellen lassen. Ebenso wurde auch geprüft, welche Silane für die Synthese geeignet sind und in welchem Maße die organischen Gruppen eingebaut werden können. Zur Darstellung der hybriden Partikel waren geeignete Syntheserouten zu finden. Ist dieses Teilziel erfolgreich abgeschlossen, können die Organosilicatpartikel bezüglich der zuvor aufgeführten Eigenschaften (z.B. mittels Porosimetrie, Migrationstests, BET-Messungen) charakterisiert werden. Die Parameter, die bei dieser Variante eingehalten werden müssen, sowie die Charakterisierung dieser Systeme werden nachfolgend erläutert.

4.2.1 Arylmodifizierte Silicat-Nanopartikel

Wie zu Beginn dieses Kapitels erwähnt, sollte durch Hydrophobierung mit aromatischen Gruppen eine attraktive $\pi\pi^*$ -Wechselwirkung von Matrix und Chromophor erzielt werden. Die auftretenden HOMO-LUMO-Wechselwirkungen lassen sich durch die Molekülorbitaltheorie beschreiben.^[61] Bei der Hydrophobierung von Silicat-Partikeln durch Cokondensation mit Bis(trimethoxysilylethyl)benzol (gemischte *m*-, *p*-Isomere) ist die Reaktionsfolge sowie -führung entscheidend. Dies ist verständlich, zieht man die verschiedenen Reaktionskinetiken sowie Partikelbildungsmechanismen in Betracht (s. Kap. 3.2.3). Kriterien wie Zugabegeschwindigkeit von Reaktanden und Reaktionszeiten sind genau einzuhalten, da sonst eine erfolgreiche Synthese scheitert. Das Fluorophor Lumogen Rot F300[®] (LFR300) konnte in Silicat-Nanopartikel physikalisch eingebaut werden, die durch Bis(trimethoxysilylethyl)benzol hydrophobiert waren (Schema 4.2.1.1).



Schema 4.2.1.1: Reaktion von (*m*-, *p*-) Bis(trimethoxysilylethyl)benzol mit TEOS bei Raumtemperatur zum physikalischen Einbau von LFR300 in Silicat-Nanopartikel (s. Abb. 4.2.1.3).

Dazu wurde das Fluorophor in Dichlormethan gelöst und zu einem Ethanol-Wassergemisch gegeben. Nach Zugabe von Ammoniaklösung wurden Tetraethoxysilan und Bis(trimethoxysilylethyl)benzol simultan innerhalb von 15 Minuten zugegeben. Die Partikel wurden durch Zentrifugieren und Redispergieren in Wasser aufgereinigt und isoliert. Dabei wurde der jeweilige Überstand UV-VIS- und fluoreszenzspektroskopisch auf Anteile von LFR untersucht. Dadurch konnte ein blutungsstabiler Einbau von bis zu $2.2 \mu\text{mol LFR300/g SiO}_2$ nachgewiesen werden. Die erhaltenen Teilchen hatten laut DLS- und TEM-Messungen eine Größe von ca. 50 nm mit einer engen Größenverteilung (s. Abb. 4.2.1.1).

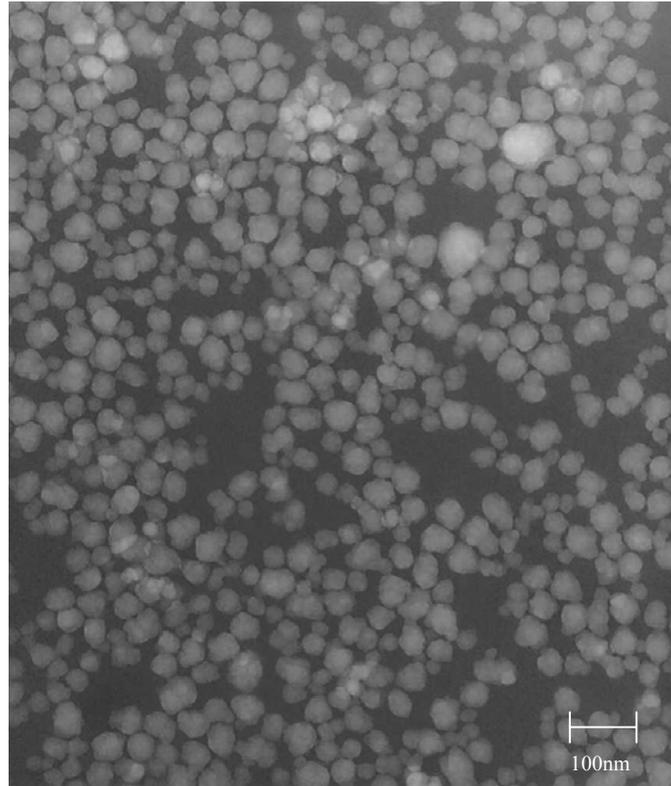


Abb. 4.2.1.1: TEM-Aufnahme ca. 50 nm großer Silicat-Nanopartikel, die mit BTMSiEB hydrophobiert und physikalisch mit 2.2 μmol LFR300[®]/g SiO₂ dotiert sind.

Der erfolgreiche Einbau von LFR300 und Bis(trimethoxysilylethyl)benzol ist durch Festkörper-NMR-Spektroskopie gesichert. Abbildung 4.2.1.2 zeigt im ²⁹Si-NMR-Spektrum (VACP/MAS) bei -66.3 ppm die typische Verschiebung von Alkyltrialkoxysilanen (T³-Gruppe) und im ¹³C-NMR-Spektrum (VACP/MAS) ein typisches Signal von Arylen bei 127 ppm sowie 142 ppm.

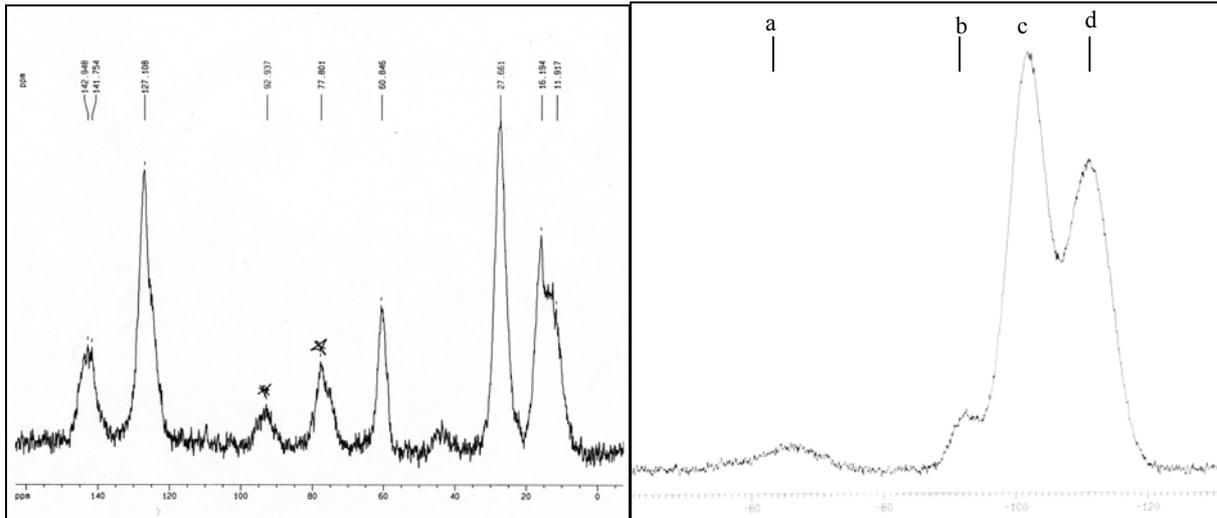


Abb. 4.2.1.2: Festkörper-NMR-Spektren von mit (*m*-, *p*-) Bis(trimethoxysilylethyl)benzol und LFR300 modifizierten Silicat-Nanopartikeln ($v_{rot} = 5000$ Hz)
 links: ^{13}C -NMR-Spektrum VACP/MAS): $\delta = 14.05$ (Si- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 27.6 (Si- CH_2 $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 43.72 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$ -O), 60.75 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -O), 127.19 , 142.94 ($\underline{\text{C}}_{\text{Aryl}}$); rechts: ^{29}Si -NMR-Spektrum (VACP/MAS): $\delta_a = -66.3$ (T^3), $\delta_b = -92.5$ (Q^2), $\delta_c = -101$ (Q^3), $\delta_d = -111$ (Q^4); *Seitenrotationsbanden

Eine schematische Darstellung der physikalischen Einbindung von Lumogen Rot in Silicat-Nanopartikel, sowie eine mögliche Orientierung für eine attraktive $\pi\pi^*$ -Wechselwirkung zwischen den Arylgruppen des Bistrialkoxysilans in der Matrix und den Arylgruppen des Fluorophors ist in Abbildung 4.2.1.3 prinzipiell skizziert (eingekreister Bereich).

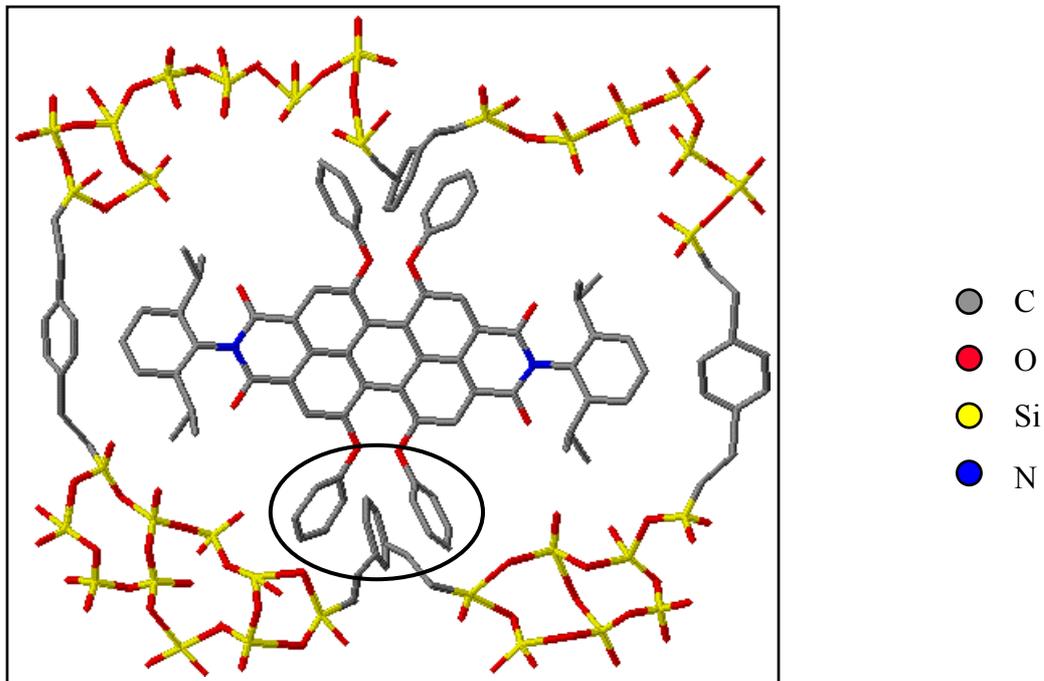


Abb. 4.2.1.3: Mit Bis(trimethoxysilylethyl)benzol Partikel; Ausschnitt der möglichen $\pi\pi^*$ -Systeme.
 BET-Messungen ergeben eine spezifische Oberfläche von 302 Oberfläche $60 \text{ m}^2/\text{g}$ beträgt. Die große Partikeloberfläche, mit durchschnittlichen Porengrößen

von 15 nm, ist ein weiterer Hinweis für den Einbau von Bis(trimethoxysilylethyl)benzol in die Silicat-Nanopartikel.

Diese hier erstmals synthetisierten etwa 50 nm durchmessenden Partikel stehen im Widerspruch zu den bisher veröffentlichten Ergebnissen für Organosilicatpartikel, die nur als große Partikel (>200 nm) mit uneinheitlicher Verteilung und Morphologie erhalten werden konnten.^[23, 79, 150] Eine Erklärung dafür, ist wohl im verwendeten bifunktionellen Arylalkoxysilan zu finden. Dieses kann über zwei Alkoxysilylgruppen mit TEOS reagieren und vernetzen. Somit ist der Benzolring in seiner Beweglichkeit eingeschränkt und behindert eine weitere Kondensationsreaktion in seiner Umgebung möglicherweise nicht so stark, wie eine monosubstituierte Phenylgruppe. Diese Hypothese lässt sich durch die homogene Größenverteilung der synthetisierten Silicat-Nanopartikel untermauern. Weiterhin könnte die festere Einbindung des Hydrophobierungsreagenzes in die Partikel-Matrix eine günstigere Orientierung der beiden π -Systeme (Matrix \leftrightarrow Chromophor) zueinander ermöglichen, was mit einer besseren Wechselwirkung einhergeht (vgl. Abb. 4.2.1.3). Diese Vermutung wird durch das blutungsstabile Verhalten und die Sphärizität der synthetisierten Silicat-Nanoteilchen gestützt.

4.2.2 Fluoralkylalkoxysilan hydrophobierte Silicatpartikel mit eingebundenem JA133-Si

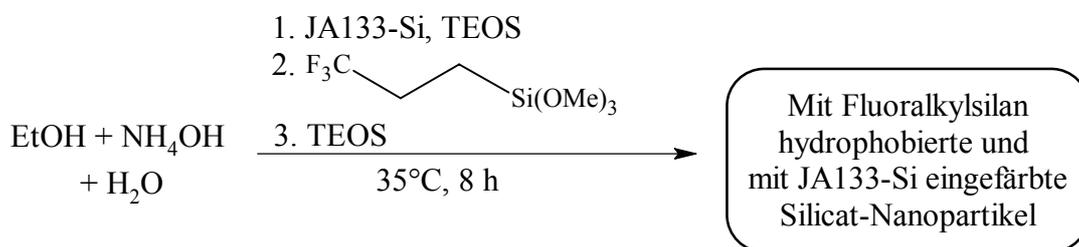
Latexpartikel sind hydrophob und deshalb als Wirt (Host) für hydrophobe Moleküle sehr geeignet und im Einsatz.^[152] Silicatpartikel sind naturgemäß hydrophil und eignen sich daher nicht für die Aufnahme von hydrophoben Molekülen (vgl. Kap. 4.2.1).

Organofluorverbindungen besitzen besondere Eigenschaften (z.B. Teflon[®] von DuPont), unter anderem ausgeprägte Superphobie.^[154] Um diese zu nutzen werden sie in der Medizin,^[155, 156] der Katalyse,^[157, 158] in Latexpartikeln,^[159] und Beschichtungen eingesetzt.^[109, 153] Jedoch sind noch keine mit Fluororganosilanen modifizierten Silicat-Nanopartikel auf nasschemischem Weg synthetisiert worden. Dies wäre jedoch aus den oben erwähnten Gründen wünschenswert.

Somit war es Ziel, eine starke Hydrophobierung von Silicat-Nanopartikeln durch Fluororganylalkoxysilane zu erreichen. Die so modifizierten Teilchen sollten anschließend

mit Komplexen oder organischen Farbstoffen, die in hydrophober Umgebung besondere Eigenschaften besitzen (z.B. fluoreszente) dotiert werden können, ohne die gewünschten Eigenschaften zu stören. Dies könnte beispielsweise für medizinische, biochemische oder optische Anwendungen sehr vorteilhaft sein.

In Schema 4.2.2.1 ist die Herstellung Fluoralkylsilan hydrophobierter und JA133-Si eingefärbter Silicat-Nanopartikel gezeigt.



Schema 4.2.2.1: Reaktionsbedingungen für die Synthese von mit 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan hydrophobierten und mit JA133-Si eingefärbten Silicat-Nanopartikel.

Dabei wurde zu einer temperierten Lösung aus Ethanol, Wasser und Ammoniak sukzessive JA133-Si, TEOS und 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan (TFPTMSi) gegeben. Nach kurzem Rühren wird noch einmal Tetraethoxysilan zur Reaktionsmischung gegeben. Nach einer Reaktionszeit von acht Stunden wird die Dispersion durch Zentrifugieren und Redispergieren aufgereinigt. Tabelle 4.2.2.1 zeigt eingesetzte Eduktmengen sowie erzielte Partikelgrößen. Hierbei fällt auf, dass Partikel erst ab einer TFPTMSi-Konzentration kleiner 0.4 % (w/w) erhalten wurden.

Tabelle. 4.2.2.1: Verwendete Eduktmengen für die Synthese von Fluoralkylsilan hydrophobierten und JA133-Si eingefärbten Silicat-Nanopartikeln

Typ	Feststoff- gehalt [g]	Farbstoff	H ₂ O [ml]	NH ₄ OH [ml]	EtOH [ml]	TEOS [ml]	TFPTMSi [μmol]	d [nm]
FSN75	—*	JA133-Si	84	5.5	165	12.0	517	—*
FSN76	3.02	JA133-Si	84	5.5	165	12.0	155	33-65
OFSN77	2.71	JA133-Si	31	7.0	20.0	10.0	23	63-95
KS-OFSN78	2.70	JA133-Si	31	7.0	32.0	10.0	20	130

*keine Partikelbildung

Eine Bewertung der Fluoreszenzeigenschaften sowie der Beladbarkeit mit Antikörpern wurde von Roche Diagnostics durchgeführt. So konnte mit dem Silicat-Nanopartikeln **KS-OFSN78** auf Anhieb eine untere Nachweisgrenze von < 0.1 ng/ml TnT im BIACORE® (s. Kap. 4.1.1) erzielt werden. Um einen fluoreszenzspektroskopischen Vergleich von Fluoralkylsilan-modifizierten und -unmodifizierten Partikeln (Tabelle 4.2.2.2) durchzuführen, wurden die Fluoreszenzintensitäten normiert (gelb unterlegt). Wie in Tabelle 4.2.2.2 zu erkennen, wirkt sich die Hydrophobierung positiv auf die Absorption und Fluoreszenz der Silicat-Nanopartikel aus.

Tab. 4.2.2.2: UV-VIS- und fluoreszenzspektroskopischer-Vergleich von JA133-Si eingefärbten Partikeln, mit hydrophobierten (3,3,3,-Trifluorpropyltrimethoxysilan) und nicht hydrophobierten Kern. *Quelle: Roche Diagnostics*

Partikelbezeichnung	Farbstoff[μmol/g]	Fluoralkylgehalt	Durchmesser [nm]	Abs.max [nm]	Abs @ 0,01% solids [AU]	korrigierte Absorption	Normierungsfaktor (NF)	Em. max [nm]	Em @ 0,01% solids [counts]	normierte Fluoreszenz	normierte Fluoreszenz (max)	normierte Fluoreszenz (min)	Anteil FS [cm]	Signalhöhe [cm]	Signalanteil Farbstoff
KS-OFSN71a	7,80	kein	147	620	0,1892	0,1440	1,39	638	68,6	95,3	100,2	90,6	3,50	4,60	76,1%
KS-OFSN71b	7,80	kein	156	620	0,1749	0,1236	1,62	638	62,8	101,6	105,9	97,5	4,10	5,80	70,7%
KS-OFSN73	7,86	kein	137	619	0,1263	0,0956	2,09	637	58,3	121,9	130,3	114,1	2,65	3,50	75,7%
KS-OFSN76	6,68	0,3%	43	619	0,2145	0,1998	1,00	638	153,6	153,7	162,7	145,3	3,40	3,65	93,2%
KS-OFSN77	6,68	0,2%	72	619	0,0329	0,0094	21,28	636	8,6	183,0	206,5	163,4	1,10	3,85	28,6%
LF111001SA018	8,80	kein	123	628	0,0520	0,0331	6,04	640	51,9	313,7	327,4	300,7	3,85	6,05	63,6%
korrigierte Absorption: (Abs @ 0,01% solids) x (Signalanteil Farbstoff)															
Normierungsfaktor: 0,2 / (korrigierte Absorption)															
Normierte Fluoreszenz: (em @ 0,01% solids) x Normierungsfaktor															

* LF111001SA018 = Referenzpartikel von RD

Die hydrophobierten Silicat-Nanopartikel wurden nach den Vorgaben des Leitpartikel-Typs (vgl. Kap.4.1.1) synthetisiert. Die Cokondensation von 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan zeigte mehrere Effekte (s. Tabelle 4.2.2.2):

1. Erhöhung des Farbstoffbeitrags zur Absorption auf $> 90 \%$, bei Verwendung von 0.3% (w/w) TFPTMSi (**KS-OFSN76**).
2. 0.2% (w/w) TFPTMSi (**KS-OFSN77**) führt zur höchsten, verglichen mit den anderen Silicat-Nanopartikeln, normierten Fluoreszenzintensität.

Abschließend soll erwähnt werden, dass ein Einfluß der Partikelgröße auf das Fluoreszenz(quenching)-Verhalten nicht ausgeschlossen werden kann. Die gelungene Synthese dieser neuartigen hydrophoben Silicat-Nanopartikel (**SN**), zeigt dass das Absorptionsvermögen sowie die Fluoreszenzintensitäten von Fluorophoren in **SN** durch den Einsatz von Fluororganosilanen erheblich erhöht werden kann. Dieser Partikel-Typ könnte eine Alternative zu den bisher bekannten Teilchen sein, da er die positiven Eigenschaften von Latex- und Silicat-Partikeln vereint (vgl. Kap. 4.2). So ist sehr wahrscheinlich, dass sich Moleküle, die aufgrund ihrer hydrophoben Eigenschaften nicht in polare Silicatpartikel einbaubar waren, nun eingebunden werden könnten. Untersuchungen dazu sowie weiterer Eigenschaften und Anwendungsgebiete dieser neuartigen **SN** stellen somit eine spannende Aufgabe dar.

4.2.3 Lanthanoidkomplexe mit 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion als Liganden

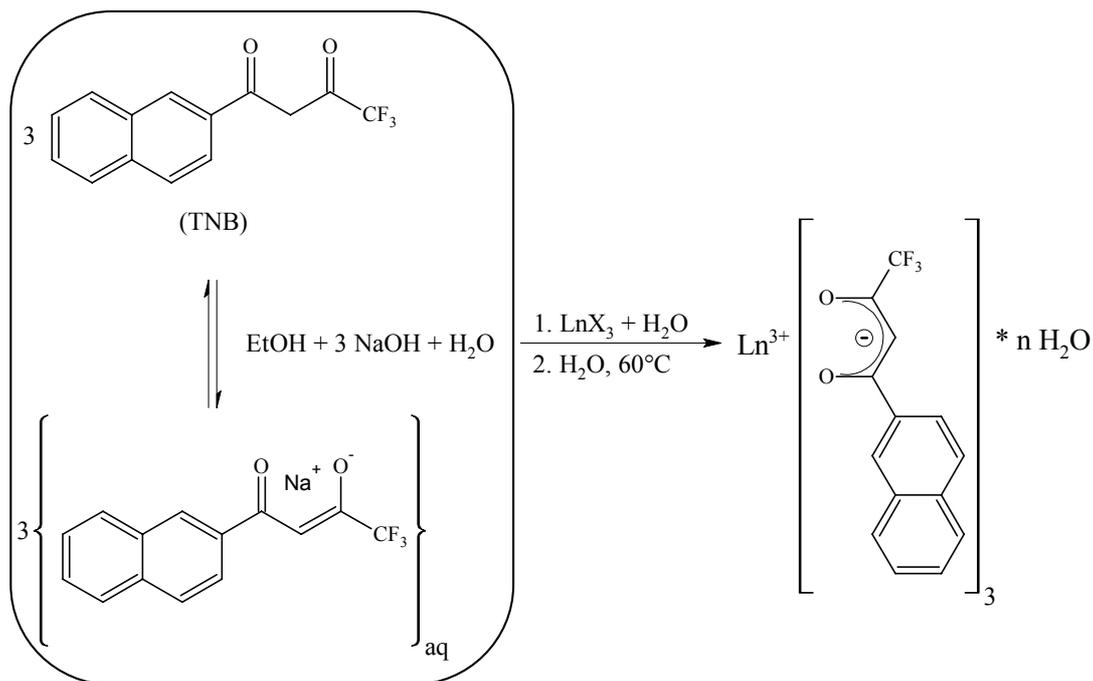
Fluoreszenzlebensdauern von $\tau > 100$ ns ermöglichen die zeitliche Diskriminierung des Rauschens und damit eine Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses und Erhöhung der Sensitivität. Dieses Prinzip findet Anwendung bei der *zeitaufgelösten Fluoreszenz Spektroskopie* (TRF=**T**ime **R**esolved **F**luorescence). Für eine langlebige Fluoreszenz von Lanthanoidkomplexen ist ein erfolgreicher Energietransfer vom 1T -Niveau des Liganden in das 1T -Niveau des Lanthanoidions (*Antenneneffekt*) erforderlich (vgl. Kap. 3.3.1). Dieser

verläuft um so effektiver, je mehr sich die Lagen der Energieniveaus ähneln. Aus diesem Grund können geeignete Liganden je nach Lanthanoid verschieden sein.^[127, 161-163]

Viele Liganden, darunter auch Kryptanden sind für Eu(III), Tb(III) und Sm(III) getestet worden.^[164] Es wurde auch versucht, einige Komplexe in Sol-Gel Materialien einzubauen, um so neuartige optische Werkstoffen zu erhalten.^[165-171]

Der Ligand 4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion (TNB) ist bisher in Verbindung mit Europium bekannt (s. Abb. 3.3.1.1, Verbindung **E**). Die Lebenszeit des Europium-TNB-Komplexes von ca. 1 ms erfüllt die Kriterien für die TRF. Um einen Vergleich der Energieübertragungseffizienz des Liganden mit anderen Lanthanoiden zu testen, wurden zunächst die entsprechenden Eu(III)-, Tb(III)-, Gd(III) sowie Er(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion-Komplexe synthetisiert. Da das spätere Ziel im Einbau der Komplexe in hydrophobisierte Nanopartikel bestand (s. Kap. 4.2.2), wurden sie als Hydrate synthetisiert und spektroskopisch charakterisiert. Dadurch sollte eventuellen fluoreszenzmindernden Effekten durch koordinierte Wassermoleküle, gleich vorgebeugt werden.^[164] Ein weiterer Grund für die Wahl des Liganden sind seine Fluoratome, welche die strahlungslose Deaktivierung durch aliphatische C-H-Schwingungen verhindern und sich so positiv auf die Fluoreszenzlebenszeit auswirken.^[164]

Auf eine wasserfreie Synthese wurde bewusst verzichtet, da die Komplexe, bei entsprechend guten Fluoreszenzeigenschaften, während der späteren Partikelsynthese Wasser ausgesetzt sind. Zur Synthese der Lanthanoid-TNB-Komplexe (Schema 4.2.3.1) wird der Ligand in Ethanol gelöst und mit einer NaOH-Lösung deprotoniert. Das jeweilige Ln-Salz wird als wässrige Lösung zugetropft. Anschließend wird Wasser zur Reaktionsmischung gegeben und diese für eine Stunde bei 60°C gerührt. Das Produkt fällt als blassgelber Feststoff aus.



Schema 4.2.3.1: Synthese von $\text{Ln}(\text{TNB})_3$ -Hydrato-Komplexen; $\text{Ln} = \text{Er, Tb, Dy}$ und Gd ; $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{NO}_3^-$.

Nach Aufreinigung bestätigen Elementar-, TGA- sowie massenspektroskopische Analysen der Produkte die erfolgreiche Synthese. Ebenso zeigen Fluoreszenzmessungen der in Dichlormethan gelösten Komplexe die jeweiligen lanthanoidspezifischen Emissionen (s. Kap. 6.2.5). In Abbildung 4.2.3.1 ist das UV-VIS- (links) und Fluoreszenzspektrum (rechts) des synthetisierten und in Dichlormethan gelösten $\text{Tb}(\text{TNB})_3$ -Komplexes gezeigt. Die Anregungswellenlänge entspricht mit 333 nm dem Absorptionsmaximum des Liganden.

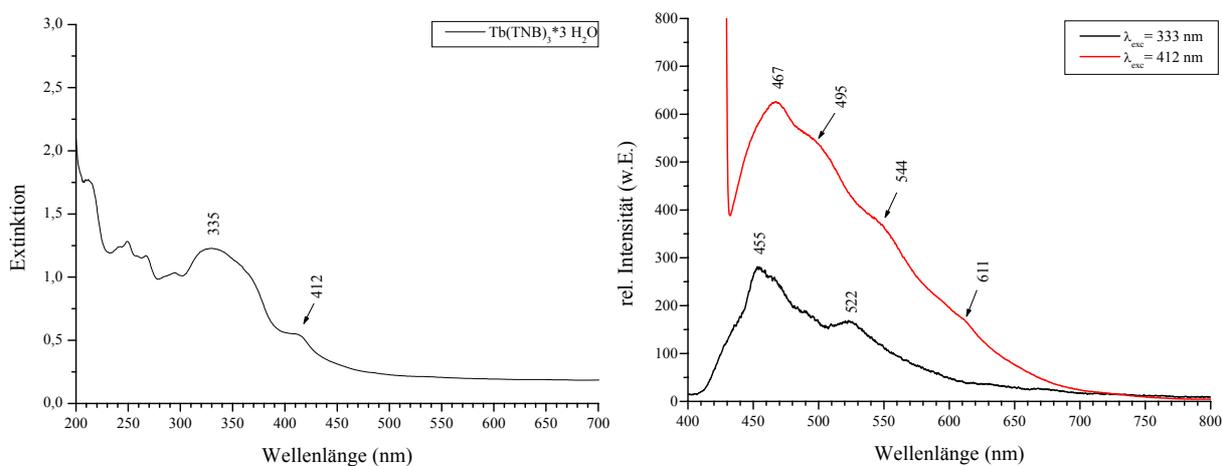
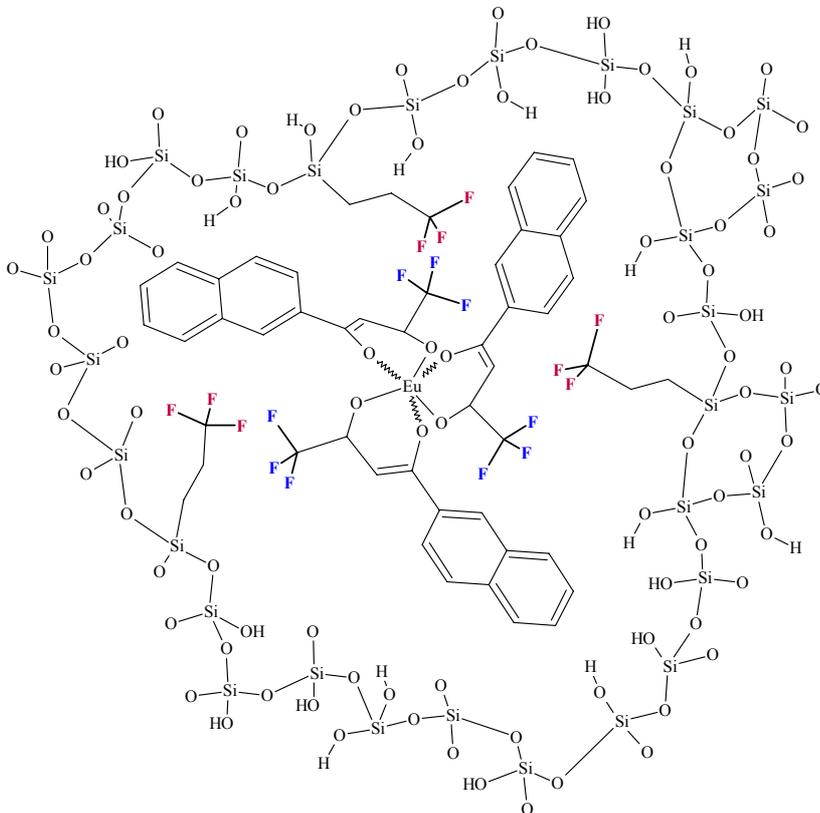
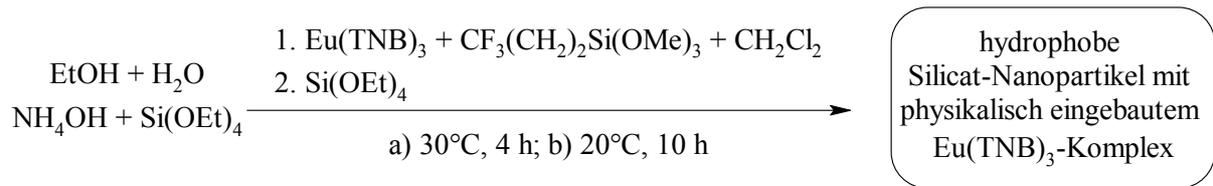


Abb.4.2.3.1: UV-VIS-Spektrum (in CH_2Cl_2 , links) mit den Absorptionen von $\text{Tb}(\text{TNB})_3 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ $\lambda_{\text{abs}} = 333, 412 \text{ nm}$ und die Fluoreszenzspektren (rechts) mit den Emissionen $\lambda_{\text{em}} = 455, 522 \text{ nm}$ (bei $\lambda_{\text{exc}} = 333 \text{ nm}$, schwarz) bzw. $\lambda_{\text{em}} = 467, 495, 544, 611 \text{ nm}$ (bei $\lambda_{\text{exc}} = 412 \text{ nm}$, rot).

Für zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen wurden die synthetisierten Lanthanoid-Komplexe aus technischen Gründen mit einer Wellenlänge von 266 nm angeregt und ihre Lebenszeit detektiert. Die Annahme, dass die Einstrahlung mit dieser Wellenlänge zum gewünschten *Antenneneffekt* führt, bestätigte sich allerdings nicht. Selbst der bereits mit einer Anregungswellenlänge von 333 nm vermessene Eu(TNB)₃-Komplex zeigte Lebenszeiten von nur etwa 50 ns (mit $\lambda_{\text{exc}} = 266$ nm). Somit werden möglicherweise andere Energieübertragungsprozesse (Ligand \leftrightarrow Lanthanoid, vgl. Schema 3.3.1.1) bei einer energiereicheren Anregungswellenlänge besprochen. Eine Überprüfung dieser These steht noch aus.

4.2.4 Synthese neuartig hydrophobierter und Lanthanoid-Komplex dotierter Silicat-Nanopartikel

Wie bei den mit Bis(trimethoxysilylethyl)benzol hydrophobierten Silicat-Nanopartikeln (s. Kap. 4.2.1) sind auch bei der Synthese von Alkylfluorsilanpartikeln die Synthesebedingungen essenziell für das Gelingen der Synthese. Durch die starke Vergelungsneigung unter stöberähnlichen Bedingungen ist zusätzlich auch die eingesetzte Menge an Fluoralkylalkoxysilan entscheidend. Schon geringe Mengen des Fluoralkylsilans sind ausreichend, um einen Einbau des hydrophoben Europiumkomplexes zu ermöglichen. So konnte parallel zu der Synthese der erwähnten Ln-Komplexe der von Roche Diagnostics bereitgestellte Eu(TNB)₃-Komplex erfolgreich physikalisch in mit 3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilan hydrophobierte Silicat-Nanopartikel eingebaut werden (Schema 4.2.4.1). Dazu wurde ein Ethanol-Wasser-Gemisch auf 30°C temperiert und anschließend Ammoniaklösung sowie die Hälfte der einzusetzenden TEOS-Menge zugegeben.



Schema.4.2.4.1: Reaktionsfolge zur Darstellung von neuartigen mit 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan hydrophobierten und dem $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplex dotierten Silicat-Nanopartikeln; darunter schematische Darstellung des eingebauten Komplexes in der hydrophobierten SiO_2 -Matrix.

Parallel wurde der $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplex in wenig Dichlormethan gelöst und im Ultraschallbad mit 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan (TFPTMSi) einige Minuten behandelt. Nach Zugabe dieser Lösung wurde die restliche TEOS-Menge zur Reaktionsmischung gegeben und bei 30°C zur Reaktion gebracht. Die so erhaltenen Partikel sind sphärisch und besitzen eine enge Größenverteilung von 130 nm bis 158 nm. In TEM-Aufnahmen sind helle Punkte (*Hot Spots*) erkennbar, die auf eine erhöhte Reflexion des Elektronenstrahls während der Abbildung zurückzuführen sind. Da dieser Effekt für nicht dotierte Silicat-Nanopartikel nicht bekannt ist und auch bei den anderen synthetisierten Farbstoff- bzw. Metall-Komplex-dotierten Teilchen nicht beobachtet wurde (vgl. Kap. 4.1), könnten die *Hot Spots* Anreicherungsstellen des $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplexes darstellen (s. Abb. 4.2.4.2).

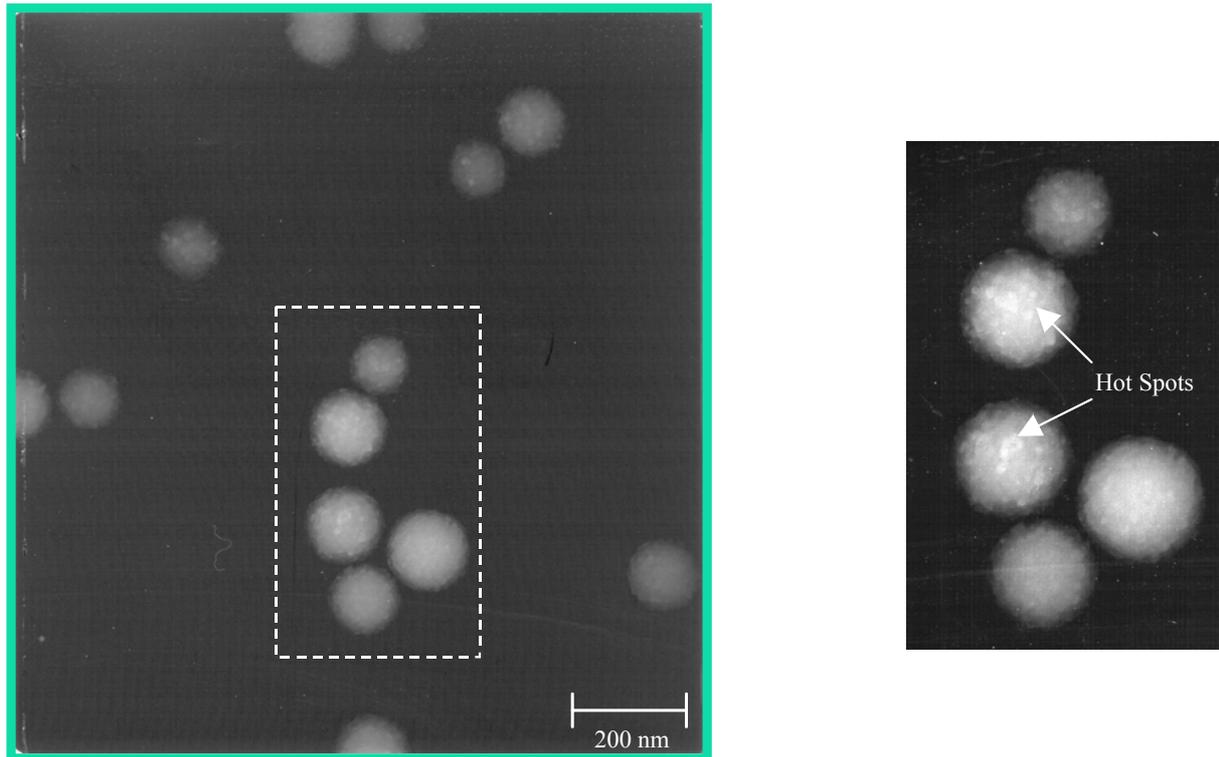


Abb. 4.2.4.2: Links: TEM-Aufnahme der $\text{Eu}(\text{TNB})_3/\text{SiO}_2$ -Partikel ($d = 130\text{-}158\text{ nm}$), Vergrößerung = 63000. Rechts: Vergrößerter Teilbereich (links weiß umrandet) mit markierten hydrophoben Domänen $d \approx 11\text{ nm}$.

Die Inhomogenität könnte auf das verwendete Fluoralkylalkoxysilan zurückzuführen sein. Da dieses nur über eine Trialkoxysilylgruppe verfügt, wird es nicht so stark wie Bis(trimethoxysilylethyl)benzol in die Partikelmatrix eingebunden (vgl. Kap. 4.2.1). Der organische Rest des Fluorsilans wird sich dann während der Partikelbildungsreaktion so orientieren, dass er eine attraktive van-der-Waals-Wechselwirkung erfährt. Diese ist durch Annäherung an andere Fluoralkylgruppen oder an den Liganden des Europium-Komplexes möglich.

Weitere Untersuchungen zur Größe der *Hot Spots* mittels Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) lieferten einen Wert von ca. 11 nm für den Durchmesser, welcher sich gut mit dem durch TEM-Messungen bestimmten Wert deckt. Heliumpyknometrische Untersuchungen der Partikel liefern eine mittlere Skelettdichte von $\rho = 2.09\text{ g/cm}^3$, was für Silicat-Nanopartikel (1.98 bis 2.10 g/cm^3) im oberen Bereich liegt.^[14-16, 18, 37, 56, 57, 59, 66] BET-Messungen lieferten einen Wert von $38\text{ m}^2/\text{g}$, der um 77 % größer als die geometrische Oberfläche ($21.3\text{ m}^2/\text{g}$) ist und auf die raue Oberfläche zurückgeführt werden kann. Die bei diesen Messungen gefundenen Porengrößen von 36 nm könnten vom entsprechenden Zwischenkornabstand rühren. Die Konzentration an $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplex in den Partikeln konnte durch RFA auf

4.9 $\mu\text{mol/g}$ SiO_2 bestimmt werden. Eine wässrige Dispersion der Partikel ist laut Zetapotentialbestimmungen ab $\text{pH} \geq 8.3$ stabil. Der Einbau des Komplexes konnte weiterhin über Festkörper MAS-NMR- (Abb. 4.2.4.3), IR- sowie Raman-Spektroskopie (Kap.6.2.6) gesichert werden.

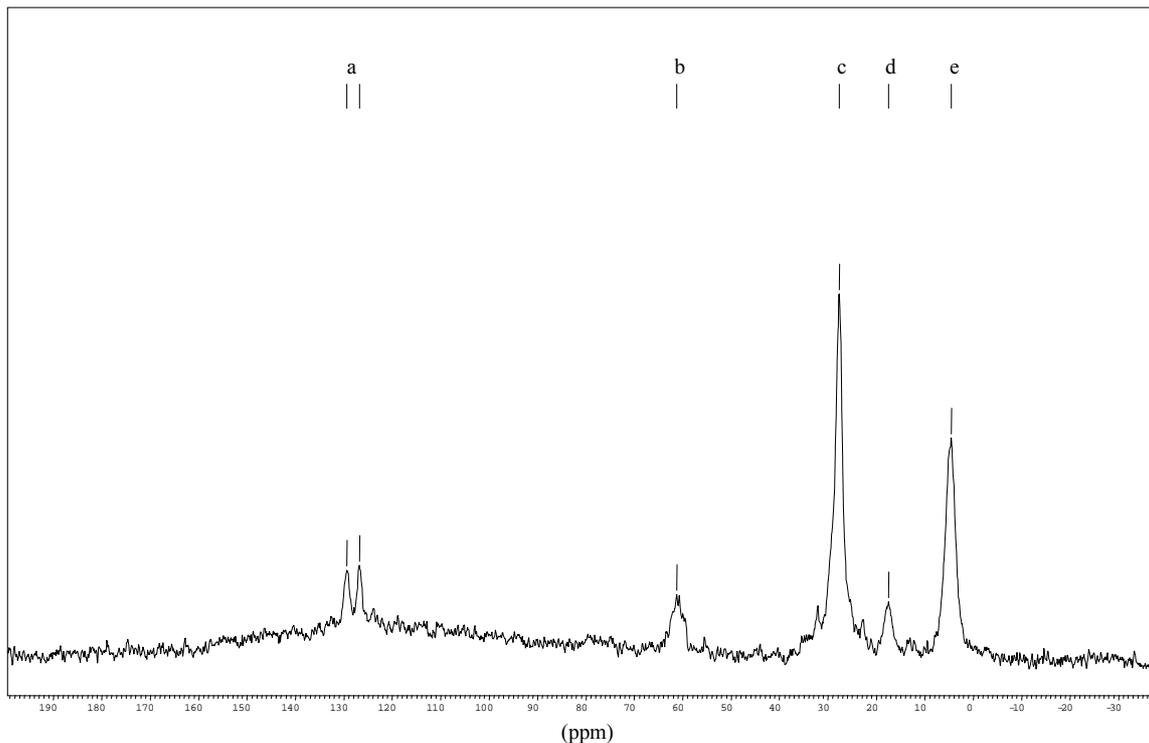


Abb. 4.2.4.3: ^{13}C - Festkörper-NMR-Spektrum (VACP/MAS) von mit TFPTMSi hydrophobierten und mit $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ dotierten Silicatpartikeln. Chemische Verschiebungen: a) $\delta = 129.4 / 126.7$, arom. C-H ; b) $\delta = 61.2$, $\text{CCH}_2\text{-O}$; c) $\delta = 27.6$, $\text{CH}_2\text{-CCH}_2\text{-CF}_3$; d) $\delta = 17.4$, $\text{CCH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$; e) $\delta = 4.5$ Si- $\text{CCH}_2\text{-CH}_2\text{-CF}_3$

Die Fluoreszenz des eingebauten Komplexes konnte anhand einer Feststoffprobe der Partikel erfolgreich nachgewiesen werden (Abb. 4.2.4.4). Die Fluoreszenzanregung erfolgte mit einer Xenonlampe (s. Kap. 6.1.1) bei 333 nm (Abb. 4.2.4.4 links). Die detektierte Fluoreszenz bei 577 nm und 612 nm (Abb. 4.2.4.4 rechts, Anregung mit Nd-YAG-Laser, $\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm) entspricht den spezifischen Übergängen $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ und $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ von $\text{Eu}(\text{III})$ -Komplexen.^[160]

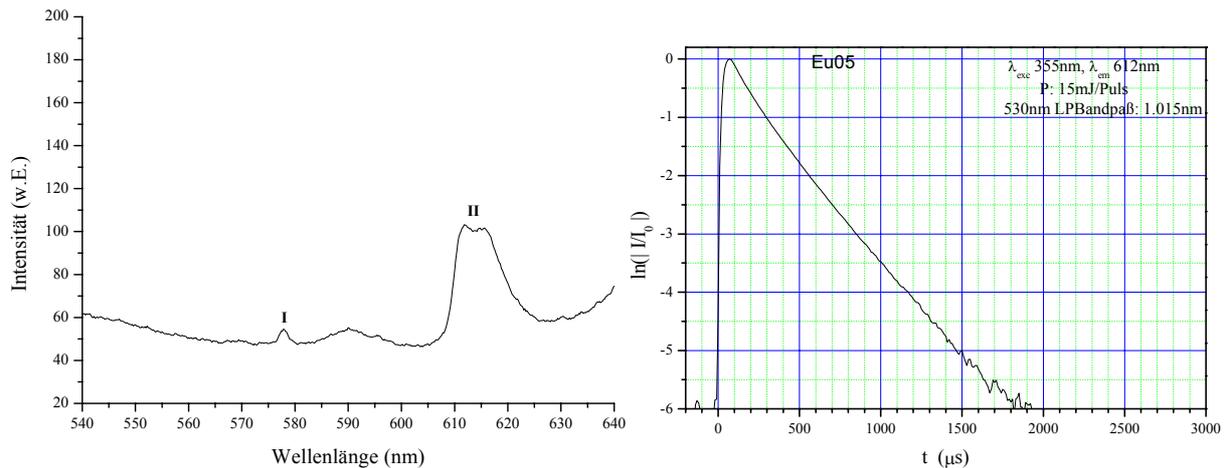


Abb. 4.2.4.4: links: Fluoreszenzspektrum von Fluororganosilan modifizierten und mit $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ dotierten Nanopartikel; $\lambda_{\text{exc}} = 333 \text{ nm}$ (Xenonlampe); $\lambda_{\text{em}} = 577 \text{ nm}$ (I); $\lambda_{\text{em}} = 612 \text{ nm}$ (II); rechts: TRF-Signal der Fluoreszenz bei $\lambda_{\text{em}} = 612 \text{ nm}$ (II) mit $\tau \approx 300 \mu\text{s}$ (Halbwertszeit)

Um die gewünschte Eigenschaft der langlebigen Fluoreszenz zu messen, wurde die Probe mit einem gepulsten, durchstimmbaren Nd-YAG-Laser angeregt (Aufbau siehe Kap. 6.1.1). Erste Messungen des reinen $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplexes in Lösung (CH_2Cl_2) lieferten Fluoreszenzlebensdauern bis zu 1 ms.

Abbildung 4.2.4.5 zeigt die konzentrationsabhängigen Fluoreszenzen des gelösten Komplexes bei einer Anregung mit 333 nm (Xenonlampe). Wie zu erkennen tritt Quenching aufgrund von Überkonzentration auf. Um diesen Effekt möglichst zu unterbinden sollten Konzentration von $< 10 \mu\text{mol/l}$ eingestellt werden.

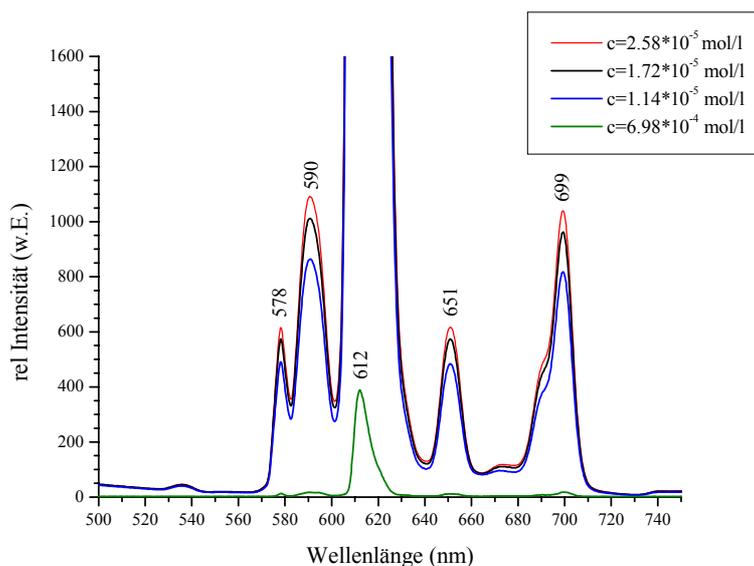


Abb. 4.2.4.5: Fluoreszenzspektren von $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ bei verschiedenen Konzentrationen in CH_2Cl_2 bei einer Anregung mit $\lambda_{\text{exc}} = 333 \text{ nm}$. Emissionen: $\lambda_{\text{em}} = 578 \text{ nm}$ ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$); 590 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$); 612 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$); 651 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$); 699 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$); Zuordnung der Übergänge nach R. Reisfeld et al.^[160]

Anschließende Messungen der mit 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan hydrophobierten und mit 4.9 $\mu\text{mol Eu}(\text{TNB})_3/\text{g SiO}_2$ dotierten Silicat-Nanopartikel zeigten die längste Abklingzeit mit 340 μs bei $\lambda_{\text{em}} = 612 \text{ nm}$ (s. Abb. 4.2.4.4). Wie in Abb. 4.2.4.6 veranschaulicht, wurden auch die anderen Emissionen bei $\lambda_{\text{em}} = 578, 590, 651, 691 \text{ nm}$ detektiert. Diese zeigten jedoch kürzere Abklingzeiten zwischen 200-280 μs . Aus diesem Grund erschien die Emission bei 612 nm als geeignet zur Untersuchung möglicher Lösprozesse aufgrund von Überkonzentration. Diese fluoreszenzmindernden Prozesse sind mit $\pm 20 \mu\text{s}$ bestimmt worden (Abb. 4.2.4.6, Eu01 und Eu02). Das Vermessen der Probe als Feststoff führte zu einer geringen Verlängerung der Abklingzeit (gegenüber der entsprechenden Dispersion in Wasser) um 30 μs auf 370 μs (Abb. 4.2.4.6, Eu05).

Somit lässt sich der $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplex physikalisch in die, mit TFPTMSi hydrophobierte Silicat-Nanopartikel, einbauen. Durch UV-VIS- sowie Fluoreszenz-Messungen der Zentrifugationsüberstände (mehrmals redispergiert und erneut zentrifugiert) konnte der blutungsstabile Einbau des Komplexes gezeigt werden.

Ein signifikanter Einbau des Komplexes konnte nur durch die Hydrophobierung mit TFPTMSi erreicht werden. Entsprechende Versuche mit Aryl- (BTMSiEB, PhTEO, PhTMO) bzw. Alkylalkoxysilanen (ETEO, ETMO) als Hydrophobierungsreagenzien in Partikeln schlugen fehl; hier fanden sich Komplex bzw. Ligand nahezu komplett im ersten Zentrifugationsüberstand, was sich UV-VIS- und fluoreszenzspektroskopisch detektieren ließ. TRF-Messungen an erhaltenen Silicat-Nanopartikel zeigten Fluoreszenzabklingzeiten von ca. 340 μs und sind damit prinzipiell für Anwendungen, bei denen langlebige Fluoreszenzen benötigt werden, geeignet (s. Kap. 3.3.1).

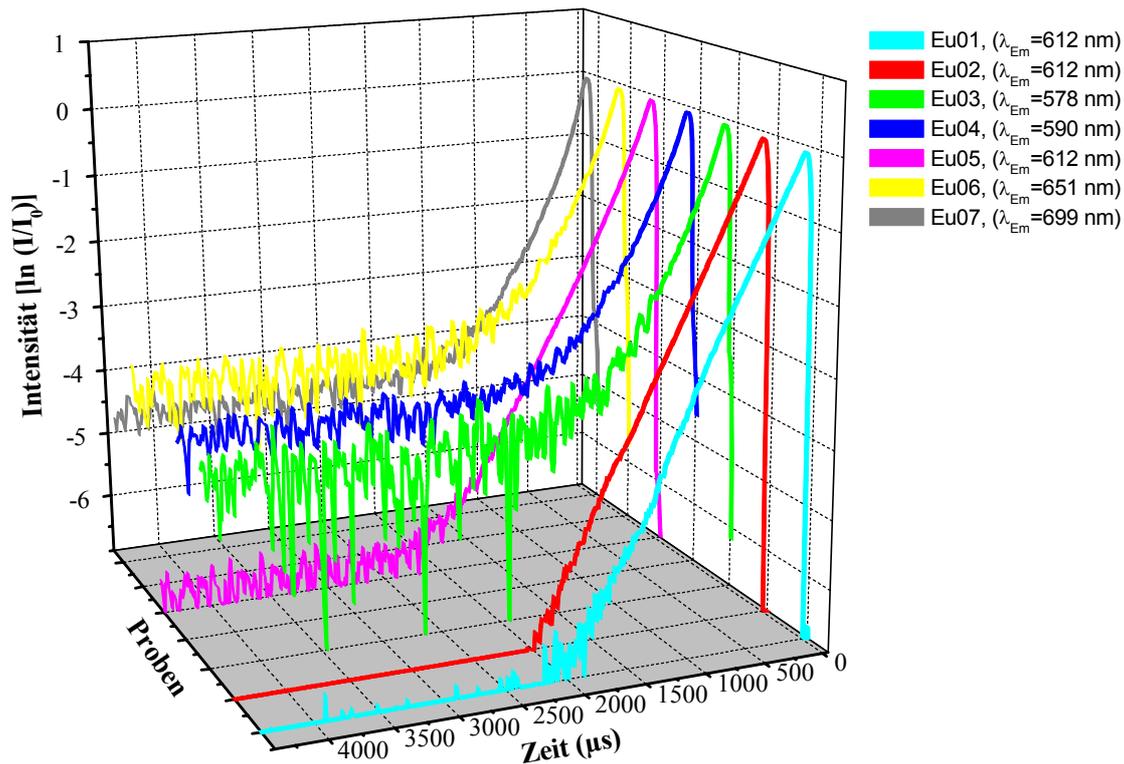


Abb. 4.2.4.6: Fluoreszenzlebensdauern bei verschiedenen Emissionen (Eu01-07) von Trifluororganotrialkoxysilan modifizierten und mit $4.9 \mu\text{mol/g}$ SiO_2 $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ dotierten Silicatpartikeln ($d_\varnothing = 144 \text{ nm}$); langlebigste Emission bei $\lambda_{\text{em}} = 612 \text{ nm}$ (rot) mit $\tau \approx 340 \mu\text{s}$; kurzlebigste bei $\lambda_{\text{em}} = 590 \text{ nm}$ (blau) mit $\tau \approx 200 \mu\text{s}$.

Zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen wurden auch an den bereits erwähnten $\text{Ln}(\text{TNB})_3$ -Komplexen durchgeführt. Die Anregungswellenlänge des eingesetzten Nd-YAG-Lasers betrug 256 nm . Die ermittelten Lebenszeiten lagen sowohl für die reinen Komplexe (gelöst in CH_2Cl_2 oder EtOH) als auch für die mit $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ dotierten und TFPTMSi hydrophobierten Partikel bei ca. 50 ns . Da dies genau der Fluoreszenzlebensdauer der eingesetzten Lanthanoidionen entspricht, kann davon ausgegangen werden, dass der Ligand nicht zur Verlängerung der Fluoreszenzlebensdauer beigetragen hat (zum Mechanismus s. Kap. 3.3.1).

Verbindungen mit langen Fluoreszenzlebenszeiten sind für die Bioanalytik sehr vorteilhaft (s. Kap. 3.3.1). Nach Wahl von 4,4,4-Trifluoro-(1-naphtoyl)-1,3-butandion (TNB) als Liganden (ein Vorteil: keine strahlungslose Deaktivierung durch C-H-Schwingungen) wurden Lanthanoid-Komplexe mit diesem synthetisiert und charakterisiert. In Lösung zeigte der von RD bereitgestellte $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ -Komplex die längsten Fluoreszenzabklingzeiten (ca. 1 ms). Deshalb wurde er physikalisch in die neuartigen, mit Fluoralkylsilan hydrophobierten, Silicat-Nanopartikel (s. Schema 4.2.4.1) eingebaut und anschließend charakterisiert. Erste

zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen der synthetisierten Teilchen zeigten Abklingzeiten von bis zu 340 μs . Somit stellt dieser neuartige Partikel-Typ eine Alternative zu herkömmlichen „Label“ im Bereich *Life Science* dar. Die mögliche Einbindung von anderen fluorierten Verbindung in diesen neuartigen Partikel-Typ ist naheliegend. Somit könnten beispielsweise auch perfluorierte Insektizide, Katalysatoren oder Anti-Tumor-Mittel eingebettet und auf ihre Eigenschaften hin getestet werden.^[156-158]

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines vom BMBF geförderten Verbundprojektes in Kooperation mit Roche Diagnostics GmbH (RD) und dem Max-Planck-Institut (MPI) für Grenzflächen- und Kolloidchemie erstellt. Das Projekt hatte die Entwicklung monodisperser Detektorreagenzien auf der Basis von Silicat-Nanopartikeln zum Ziel. Als Einsatzgebiet war die medizinisch-technische Diagnostik anvisiert worden. Es wurde ein Leitpartikeltyp mit hoher Fluoreszenz sowie einem Absorptionsbereich oberhalb von 600 nm evaluiert. Zur Anbindung der hochspezifisch wirkenden Antikörper wurde die Teilchenoberfläche mit Carboxylgruppen funktionalisiert. Die Darstellung dieser sphärischen, komplex aufgebauten Partikel (Abb. 5.1) erfolgte über eine nasschemische Synthese.

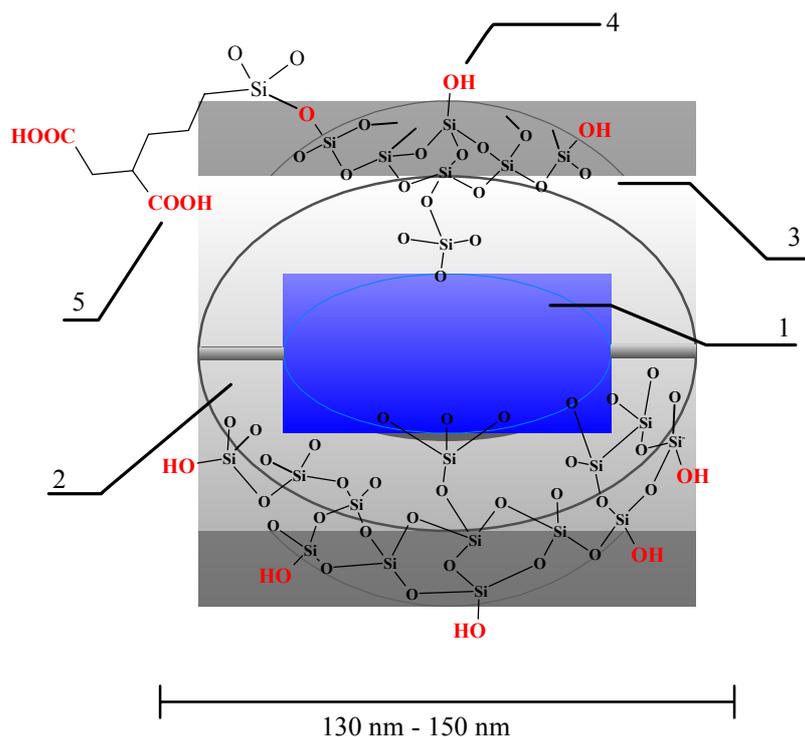


Abb. 5.1: Schematischer Aufbau des evaluierten SiO₂-Leitpartikel-Typs: **1.** Mit JA133-Si gefärbter Kern; **2.** Einstellbare Schalendicke; **3.** Durch *Seeded-Growth* aufgebrachte SiO₂-Schale; **4.** SiOH-Gruppen (ca. 4.5/nm²) über die weitere Oberflächenmodifizierung erfolgten; **5.** Aufgebrachte Carboxylgruppen (GF20) zur Konjugation mit Antikörpern.

Durch geeignete Wahl der Eduktkonzentrationen von Ammoniak, Wasser, Ethanol und Tetraethoxysilan konnten die synthetisierten Partikel den gewünschten Anforderungen - wie hohe Fluoreszenzintensität, gutes Chromatographieverhalten und spezifische Beladbarkeit mit monoklonalen Antikörpern (z.B. Troponin T) auf einer mit Carboxylgruppen modifizierten Partikeloberfläche - angepasst werden.

Auf die Partikel mit dem favorisierten Fluorophor JA133-Si musste erst eine zusätzliche Silicathülle aufkondensiert werden, damit diese im Anschluss erfolgreich mit Antikörpern beladen werden konnte. Die erhaltenen partikulären Systeme wurden sowohl qualitativ als auch quantitativ charakterisiert. Die Fluoreszenzintensität der JA133-Si dotierten Kern-Schale-Partikel konnte soweit optimiert werden, dass sich klinisch relevante (1 ng/ml TnT) und noch höhere Sensitivitäten in Prüfteststreifen mit einer unteren Nachweisgrenze (UNG) von 0.05 ng/ml TnT (bei semimaschinell getränkten Teststreifen) detektieren ließen.

Im folgenden sind die Charakteristika des Leitpartikels vom Typ **KS-OFSN** zusammengefasst:

- Ein Gesamtdurchmesser von ca. 140 nm, bei einer Schalendicke von 12 nm
- Eine JA133-Si-Konzentration von 7.8 $\mu\text{mol/g SiO}_2$
- Monolagenbelegung mit 2-(3-Triethoxysilylpropyl)-Bernsteinsäureanhydrid (ca.260-303 $\mu\text{eq CO}_2\text{H/g SiO}_2$)
- Gutes chromatographisches Laufverhalten

Abbildung 5.2 zeigt Teststreifen, die mit einer TnT-Konzentration von 10 ng TnT/ml versetzt wurden (mit Probenauftrag von 100 μg Antikörper-Partikel-Konjugat). Dabei chromatographieren die Silicat-Nanopartikel gut und liefern keinen erhöhten Fluoreszenz-Untergrund. Mit dem ebenso getesteten Fluorophor MR121-Si eingefärbte Partikelkonjugate zeigen ein ebenfalls gutes Laufverhalten, erreichten jedoch nur eine untere Nachweisgrenze von etwa 0.5 ng/ml TnT.

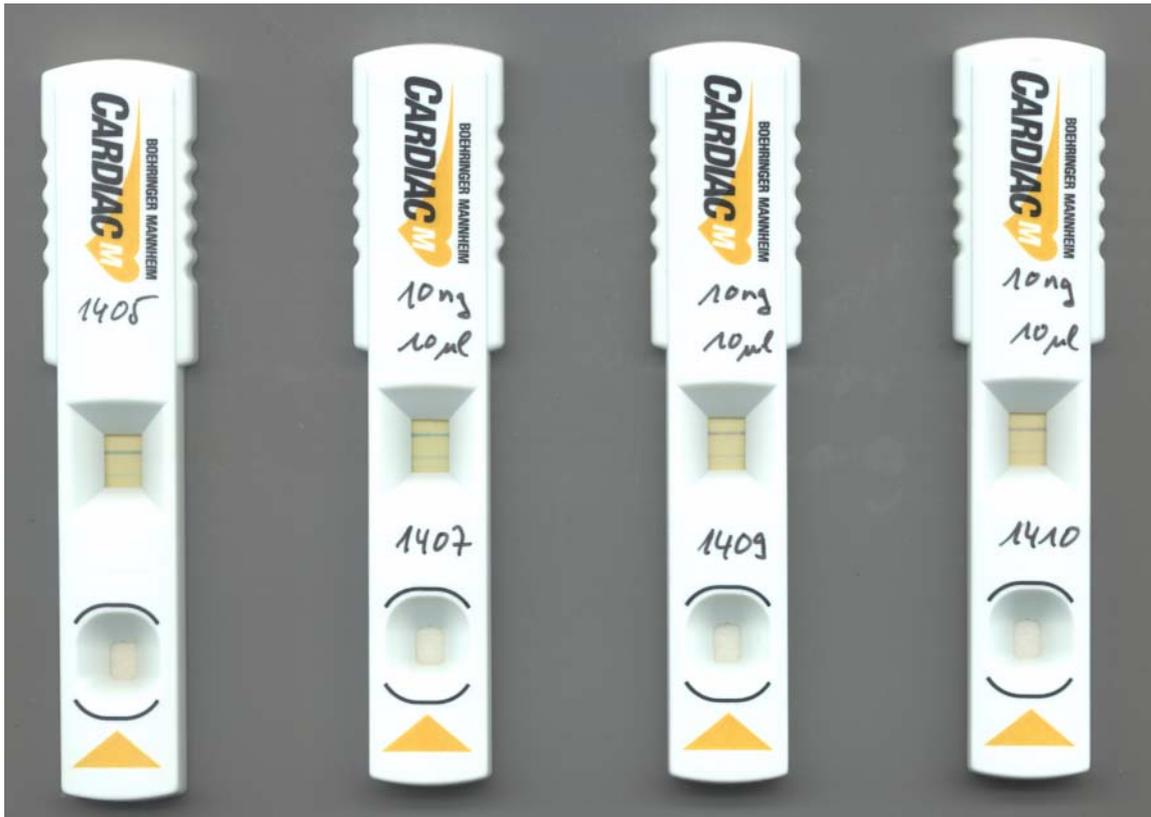


Abb. 5.2: Teststreifen mit verschiedenen Konjugationen (*Quelle: Roche Diagnostics*):
 1405: **KS-OFSN 71b**; 2mg MAK <Tn-T> im Angebot; keine EDC-Nachvernetzung
 1407: **KS-OFSN 71b**; 0.5mg MAK <Tn-T> im Angebot; keine EDC-Nachvernetzung
 1409: **KS-OFSN 71b**; 2mg MAK <Tn-T> im Angebot; 2mM EDC-Nachvernetzung
 1410: **KS-OFSN 71b**; 1mg MAK <Tn-T> im Angebot; 2mM EDC-Nachvernetzung

Weiterhin wurden neuartige Fluoralkylsilan und JA133-Si codotierte Silicat-Nanopartikel synthetisiert, die auf Anhieb eine untere Nachweisgrenze (BIACORE®) im Bereich von < 0.1 ng/ml TnT erzielten. Durch UV-VIS- und Fluoreszenz-Untersuchungen sowie Konjugations- und Prüfteststreifen-Versuche konnte von Roche Diagnostics GmbH gezeigt werden, dass die Cokondensation des Fluoralkylsilans in einer Erhöhung von Absorption und Fluoreszenz der Partikel resultiert. In Abbildung 5.3 sind zwei lyophilisierte Partikelproben mit unterschiedlichem TFPTMSi-Gehalt bei gleicher JA133-Si Konzentration zu sehen. Dabei hat die Probe links einen TFPTMSi-Gehalt von 0.3 % (w/w) bzw. die rechte einen von 0.2 % (w/w).



Abb. 5.3: Silicat-Nanopartikel mit TFPTMSi-Gehalt = 0.3 % (w/w), JA133-Si = 6.68 $\mu\text{mol/g SiO}_2$, $\varnothing \approx 43$ nm (links); Silicat-Nanopartikel mit TFPTMSi-Gehalt = 0.2 % (w/w), JA133-Si = 6.53 $\mu\text{mol/g SiO}_2$, $\varnothing \approx 72$ nm (rechts).

Weitere Untersuchungen von RD zeigten, dass eine zusätzliche Oberflächenmodifizierung mit Fluoralkylsilan zu einer signifikanten Verschlechterung der Konjugationseigenschaften mit Antikörpern führt.

Alternative Detektorreagenzien und -methoden wurden ebenfalls untersucht. So konnte der kationische Komplex Tris-(1,10-phenantrolin)ruthenium(II)-dichlorid (Ru-phen) mit einer Konzentration von 50 mg/g SiO_2 erfolgreich in monodisperse Silicat-Partikel, welche in Abbildung 5.4 gezeigt sind, eingebaut werden.

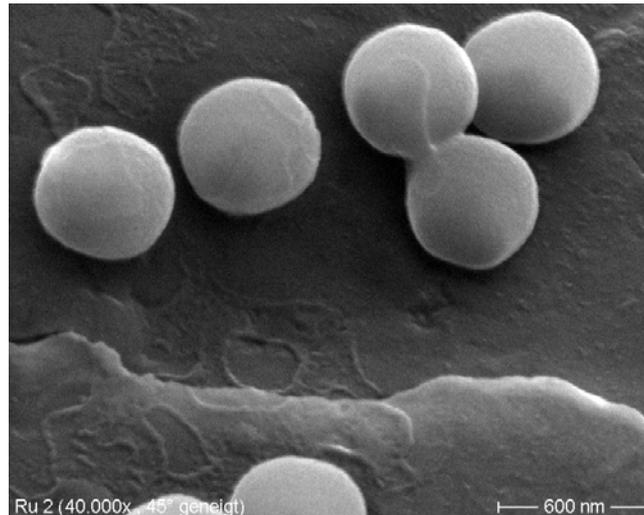


Abb. 5.4: REM-Aufnahme von Ru-phen dotierten Silicat-Nanopartikeln ($d \approx 640$ nm).

Aufgrund ihrer geringen Sauerstoffpermeabilität sind sie als impermeabler Referenzstandard in O_2 -Sensoren geeignet. Sowohl die erforderliche Einbaumenge als auch die erwünschte geringe Permeabilität konnten mit Erfolg gezeigt werden.

Eine andere untersuchte Detektionsmethode basiert auf *zeitaufgelöster Fluoreszenz* (TRF). Hierbei werden hauptsächlich Lanthanoid-Komplexe eingesetzt. Am besten untersucht sind Europium-Komplexe, welche meistens Diketone als Liganden besitzen. Bislang konnten diese neutralen Komplexe jedoch nicht in polare Silicatpartikel-Matrizes eingebaut werden. Durch Einsatz von 3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilan (TFPTMSi) gelang es erstmalig, einen Europium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion-Komplex ($Eu(TNB)_3$) in hydrophobierte Silicat-Nanopartikeln physikalisch einzubauen. Die Einbindung in die ca. 140 nm durchmessenden Nanopartikel wurde quantitativ (RFA) und qualitativ (TEM, Festkörper-NMR-Spektroskopie) belegt. In Abbildung 5.5 ist eine AFM-Aufnahme einer wässrigen Dispersion dieser Partikel zu sehen.

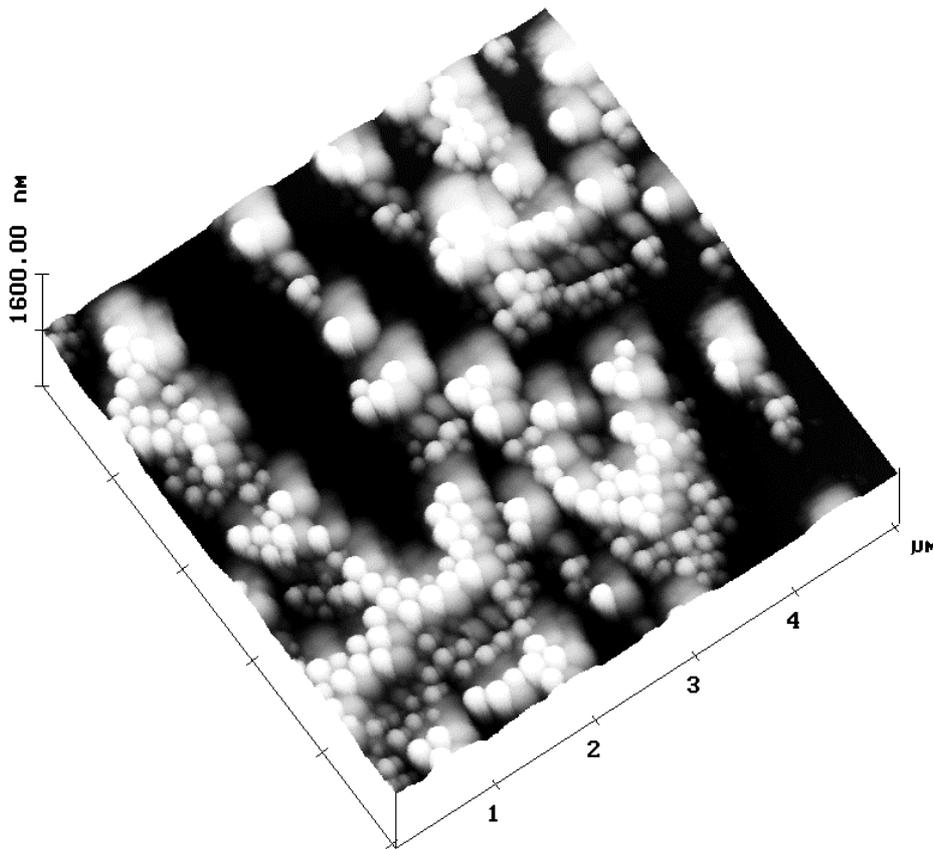


Abb. 5.5: AFM-Messung (in wässriger Dispersion) von neuartigen mit TFPTMSi hydrophobierten und mit $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ dotierten Silicat-Nanopartikeln ($d \approx 140 \text{ nm}$).

TRF-Messungen zeigten Abklingzeiten von ca. $300 \mu\text{s}$. In diesem bislang nicht verfügbaren Partikel-Typ konnten positive Eigenschaften von Latex- (hydrophober Kern) und Silicatpartikeln (nasschemisch zugänglich, diverse und leichte Oberflächenmodifizierungsmöglichkeiten) kombiniert werden.

Auch einige Porphyrinkomplexe mit langen Fluoreszenzlebensdauern sind in Silicat-Nanopartikel eingebaut worden. Der neutrale Komplex 5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxyphenyl)-porphyrin-Pd(II) (PdTPPC) konnte nur durch vorhergehende Silanisierung mit AMEO erfolgreich eingebunden werden. Die erhaltenen sphärischen Partikel weisen laut TEM-Messungen eine Größenverteilung von 200-300 nm auf. Ein weiteres, kationisches Porphyrin (5,10,15,20-Tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-Zn(II)) (ZnTMPyP) konnte ebenfalls erfolgreich in etwa 140 nm große, monodisperse Silicat-Nanopartikel

blutungsstabil eingebaut werden. Diese beiden Komplexe haben literaturbekannte Abklingzeiten,^[172] die jedoch in den Silicatpartikeln nicht bestimmt wurden.

In der Partikel-Matrix zeigt der PdTPPC-Komplex Lebenszeiten von $\tau \approx 50$ ns und der ZnTMPyP-Komplex $\tau \approx 80$ ns. Sowohl die längere Fluoreszenz, als auch der nahezu vollständige und blutungsstabile Einbau des tetrakationischen Porphyrinliganden des Zn(II)-Komplexes in Silicat-Nanopartikel weisen eine vielversprechende Route zu porphyrindotierten Partikeln auf.

5 SUMMARY

This doctoral thesis has been worked out within the frame of a project cooperation between Roche Diagnostics GmbH (RD) and the Max-Planck-Institut (MPI) of Colloids and Interfaces and was funded by the BMBF. The aim of the project was to develop monodisperse detector reagents based on nanoparticles, that can be used as biosensors for medical diagnostics and other bioanalytical applications. A particle-type with a high fluorescence intensity and an absorption range around or above 600 nm was evaluated. The particle surface was functionalized with carboxyl groups to allow for covalent attachment of specific antibodies through which the particles can bind to target molecules. The synthesis of these complex spherical particles (Fig. 5.1) was done following the wet-chemical Sol-Gel-Process. By modifying the parameters of synthesis, for example variation of the ammonia, water or tetraethoxysilane concentration, the particles could be adjusted to the desired requirements: high fluorescence quantum yields, good chromatographic behaviour, efficient conjugation of antibodies (e.g. Troponin T) to a carboxyl modified particle surface.

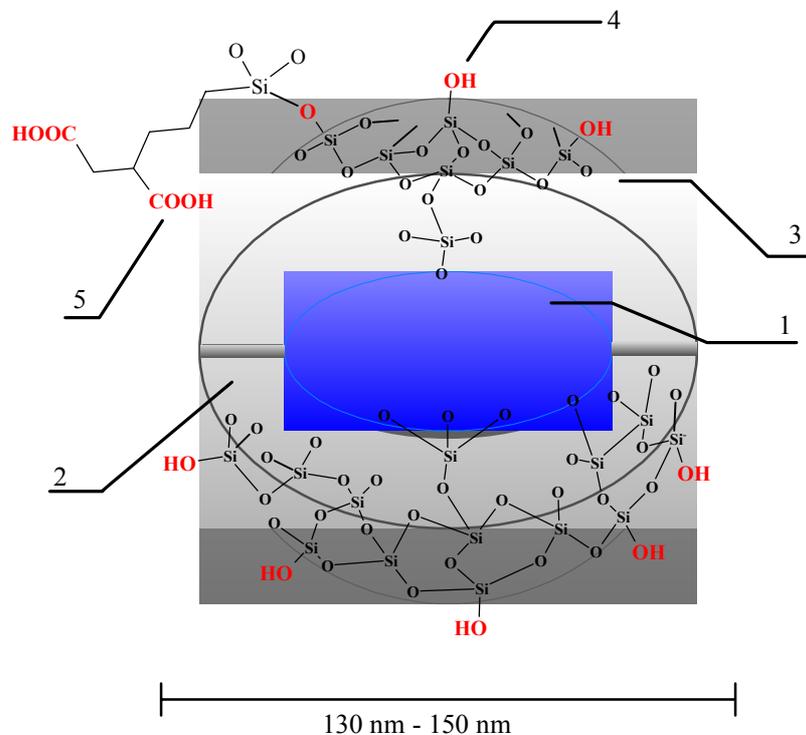


Fig. 5.1: Scheme of the synthesized SiO₂-particle-type: **1.** JA133-Si doped core; **2.** Adjustable thickness of the shell; **3.** SiO₂-shell by *Seeded-Growth-method*; **4.** SiOH-groups on the surface (ca. 4.5/nm²) for further modification; **5.** Carboxyl groups (GF20) for conjugation with an antibody.

additional silica shell in order to prepare them for loading with antibodies afterwards. The

resulting particles have been characterized qualitatively as well as quantitatively. The fluorescence intensity of the JA133-Si doped core-shell-particles could be optimized in a way that clinically relevant analyte concentrations could be detected in a chromatographic test strip format with a lower limit of detection (UNG) of 0.05 ng/ml TnT. The characteristics of the optimized particle-type **KS-OFSN** are as follows:

- Mean diameter of ca. 140 nm, with a shell-thickness of 12 nm
- JA133-Si concentration of 7.8 $\mu\text{mol/g SiO}_2$
- Monolayer with 2-(3-Triethoxysilylpropyl)-Succinicanhydride (ca.260-303 $\mu\text{eq CO}_2\text{H/g SiO}_2$)
- Good chromatographic performance, i.e. only little background fluorescence.

Figure 5.2 shows test strip biosensors which were run with a TnT concentration of 10 ng TnT/ml; 100 μg antibody-particle-conjugate were used.



Fig. 5.2: Test strips with different conjugations (source: Roche Diagnostics):
 1405: **KS-OFSN** 71b; 2mg MAK <Tn-T> offered
 1407: **KS-OFSN** 71b; 0.5mg MAK <Tn-T> offered
 1409: **KS-OFSN** 71b; 2mg MAK <Tn-T> offered; with additional antibodycrosslinking
 1410: **KS-OFSN** 71b; 1mg MAK <Tn-T> offered; with additional antibodycrosslinking

Conjugates of MR121-Si coloured particles chromatographed well, too, but only reached an UNG of approximately 0.5 ng/ml TnT.

Furthermore, novel silica nanoparticles have been synthesized by cocondensation of a fluoroalkylsilane, e.g. TFPTMSi, and JA133-Si. From the very beginning, they achieved an UNG within the range of < 0.1 ng/ml TnT in BIACORE[®] measurements. UV-VIS- and fluorescence spectroscopy as well as conjugational and biosensor tests at RD showed that the cocondensation has positive effects on the absorption and on the fluorescence of the particles. Fig. 5.3 displays two samples of particles (freeze-dried) with different concentrations of TFPTMSi and an identical concentration of JA133-Si.



Fig. 5.3: Silica-nanoparticle with a value of TFPTMSi = 0.3 % (w/w), JA133-Si = 6.68 $\mu\text{mol/g}$ SiO₂, $\varnothing \approx 43$ nm (left); silica-nanoparticle with a value of TFPTMSi = 0.2 % (w/w), JA133-Si = 6.53 $\mu\text{mol/g}$ SiO₂, $\varnothing \approx 72$ nm (right).

The sample on the left possesses a TFPTMSi concentration of 0.3% (w/w) and the sample on the right of 0.2 % (w/w). However, an additional surface modification with alkylfluorsilane leads to a significant decrease of the conjugationability with antibodies.

Alternative detection reagents and methods have also been investigated. Thus, the cationic complex Tris-(1,10-phenantroline)ruthenium(II)-dichloride with a concentration of 50 mg/g SiO₂ could successfully be integrated into monodisperse silica particles (Fig. 5.4).

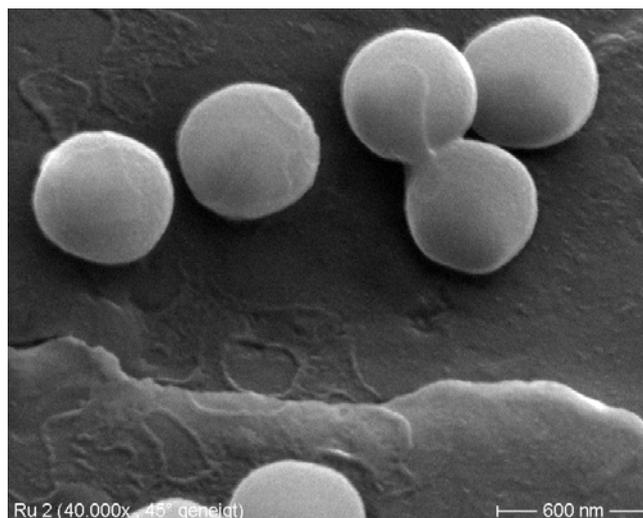


Fig. 5.4: SEM picture of Ru-phen doped silica-nanoparticles ($d \approx 640$ nm).

These particles are suitable as a standard substrate in O_2 -sensors because of their low oxygen permeability. The required physical entrapment quantity of the complex as well as the desired low permeability could be demonstrated successfully.

Time resolved fluorescence (TRF) was applied as an additional detection method. Mainly lanthanoid complexes are used within this method. Most commonly used are Eu(III)- β -diketonate complexes. Up to now, these neutral complexes could not be integrated into the polar silica particle matrix. For the first time, an Europium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion-complex ($Eu(TNB)_3$) could be embedded into silica particles hydrophobized with 3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilane (TFPTMSi). The embedment into the 140 nm diameter nanoparticles has been proved quantitatively (by RFA) as well as qualitatively (by TEM, solid state MAS-NMR-spectroscopy). Fig. 5.5 shows an AFM picture of an aqueous dispersion of these particles.

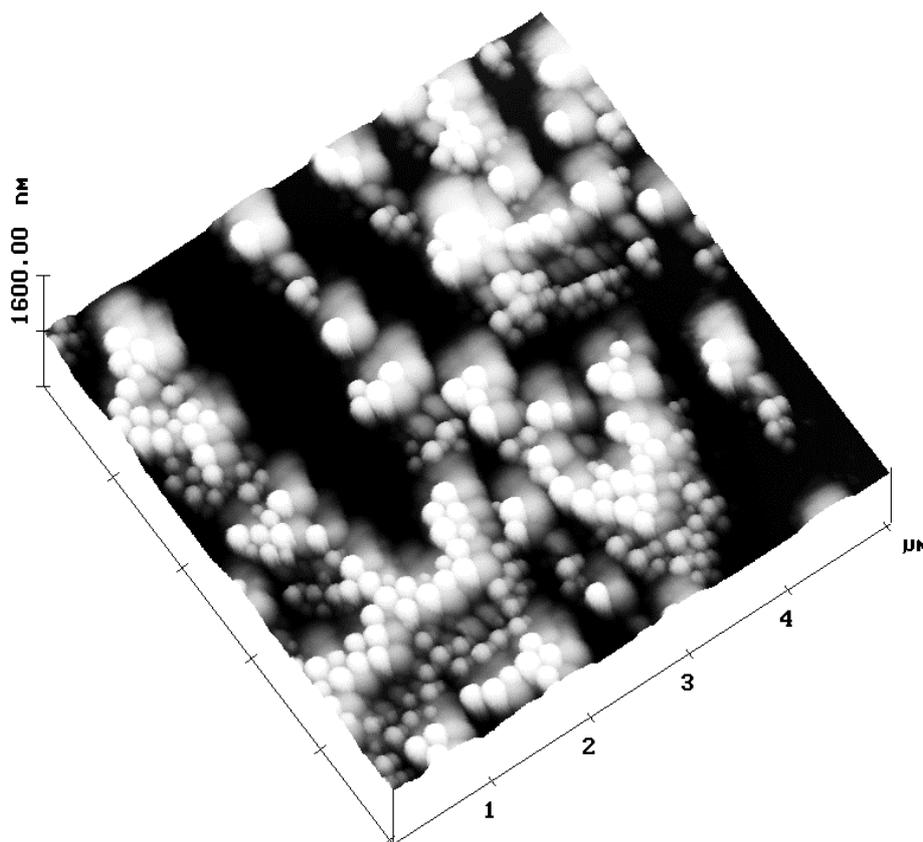


Fig. 5.5: AFM picture (aqueous dispersion) of the hydrophobized (with TFPTMSi) and $\text{Eu}(\text{TNB})_3$ doped silica-nanoparticles ($d \approx 140$ nm).

TRF measurements detected a fluorescence lifetime of approximately $300 \mu\text{s}$. In this - up to now- unique particle type the positive properties of latex particles (hydrophobic nucleus) and silica particles (wet-chemically available, easy accessibility of a wide range of surface modifications) could be combined. Further lanthanoid complexes with the TNB-ligand were synthesized and tested for their suitability as “labels”.

Some porphyrin complexes possess long fluorescence lifetimes and, therefore, have been investigated. The neutral 5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxyphenyl)-porphyrin-Pd(II) (PdTPPC) complex could only be integrated successfully into silica nanoparticles after having been silanized with AMEO. The resulting spheric particles have a particle size distribution of 200-300 nm according to TEM measurements. Another cationic porphyrin (5,10,15,20-Tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-Zn(II)) (ZnTMPyP) could also be integrated successfully and without bleeding into 140 nm sized monodisperse silica particles.

The fluorescence lifetimes of both of these complexes are known from the literature^[172] but had not been determined for silica particles so far. Here the PdTPPC complex has a lifetime of $\tau \approx 50$ ns and the ZnTMPyP complex of $\tau \approx 80$ ns. The tetra-kationic porphyrin ligand of the Zn(II)-complex was physically entrapped into silica particles nearly completely and without bleeding. This characteristic and its long fluorescence lifetime point to a novel, promising route to porphyrin doped silica nanoparticles.

6 EXPERIMENTALTEIL

6.1 Methoden und Materialien

6.1.1 Spektroskopische Methoden

IR-Spektren wurden an einem Fourier-Transformations-Einstrahl-Spektrometer Magna 750 der Firma Nicolet in einem Messbereich von $4000-400\text{ cm}^{-1}$ aufgenommen. Die spektrale Auflösung betrug 4 cm^{-1} . Die Vermessung der Substanzen erfolgte als KBr-Pressling. Die Lage der Absorptionsbanden wird in cm^{-1} angegeben. Falls nicht gesondert erwähnt handelt es sich um IR-Transmissionsspektren. Zur Detektion der diffusen Reflexion (DRIFT) wurde ein entsprechender Kollektor der Firma Spectra-Tech Corporation verwendet. Das SiO_2 (ca. 5 % Massenanteil) wurde hierzu mit KBr zermahlen. Die DRIFT-Spektren werden in Kubelka-Munk-Einheiten angegeben. Vor Beginn der Messung von Hintergrund- oder Probenspektrum ließ man einen Zeitraum von 20 Minuten verstreichen, damit sich eine konstante Atmosphäre in der Probenkammer einstellt. Während dieses Zeitraums wurde die Probenkammer mit vorgetrockneter Luft gespült. Die Anzahl der Einzelmessungen (Scans) betrug jeweils 200. Dies war ausreichend, um ein gutes Signal-zu-Rausch Verhältnis zu erhalten.

Raman-Spektren wurden an einem FT-Raman-Spektrometer Typ RFS 100 der Firma Bruker gemessen. Die Raman-Streuung wurde 180° vom einfallenden Strahl detektiert. Zur Anregung der Proben diente ein Nd-YAG-Laser der Firma Coherent mit einer Emissionswellenlänge von 1064 nm. Je nach Probe musste die Strahlstärke, die Integrationszeit sowie die Messzeit entsprechend angepasst werden. Silicat-Nanopartikel wurden als Feststoffe mit einer Laserausgangsleistung von 500 mW vermessen.

Fluoreszenzspektren von Lösungen sowie wässrigen Partikel-Dispersionen wurden mit einem Hitachi Fluoreszenz-Spektrophotometer F-4500 in einer 90° -Geometrie aufgenommen. Partikelpulver wurden mit einer Probenhalterung für Feststoffe in einer 45° -Geometrie vermessen.

UV-VIS-Spektren wurden an einem Zweistrahl-Spektrophotometer, Typ UV 2501 PC der Firma Shimadzu aufgenommen. Die Probenkonzentrationen für gelöste Substanzen betragen 10^{-4} bis 10^{-5} mol/l.

Kernresonanzspektroskopie erfolgte für flüssige Proben an AMX 400 und DRX 300 NMR-Spektrometern der Firma Bruker.

MAS-NMR Festkörperuntersuchungen wurden am Institut für Anorganische Chemie der Universität Würzburg an einem DSX 400 Gerät der Firma Bruker durchgeführt. Die Messtemperatur betrug 298 K. Alle im Folgenden aufgeführten ^{13}C -NMR-Daten sind Breitband-entkoppelt. Die Angaben der chemischen Verschiebungen δ erfolgen in ppm und beziehen sich auf TMS (^1H , ^{13}C) als externen Standard.

Zur Beschreibung der Signalformen werden folgende Abkürzungen verwendet:

s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett

Massenspektroskopische Untersuchungen (EI-MS, FAB-MS) wurden an einem Finnigan 90 MAT Massenspektrometer (EI-MS: Elektronenenergie 70 eV; FAB-MS: FAB-Gas Xenon) am Institut für Organische Chemie der Universität Würzburg durchgeführt. Die angegebenen m/z -Werte beziehen sich immer auf die Isotope mit der größten natürlichen Häufigkeit. Das Isotopenmuster der angegebenen charakteristischen Signale steht im Einklang mit deren natürlicher Isotopenverteilung, die über das Simulationsprogramm PC 8086 von Finnigan berechnet wurde.

Elektronenspray-Ionisierung (ESI) wurde am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie, HPLC-MS-Abteilung an einem Finnigan TSQ 7000 Triple Stage Quadrupol-Massenspektrometer mit Finnigan Elektrospray Ionisation-Interface durchgeführt. Alle relativen Intensitäten (I_r) der Molekülfragment-Ionen werden in Prozenten angegeben.

Zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen wurden am Lehrstuhl für Silicatchemie der Universität Würzburg durchgeführt. Zur Anregung diente ein gepulster Nd-YAG-Laser von LaVision (Repetitionrate: 10 Hz, Pulsbreite: 5 ns, Energie: 7-15 mJ nach OPO) mit nachgeschaltetem OPO-System, das Anregungswellenlängen zwischen 355 nm und 1600 nm erlaubte (s. Abb. 6.1.1.1). Bei Proben, die mit 355 nm angeregt wurden, wurde der Laserstrahl über vier dielektrische Spiegel direkt auf die Probe geleitet. Im Detektionsbereich zwischen 500 nm und 900 nm wurde ein ungekühlter InGaAs-Detektor bzw. eine CCD-Kamera verwendet. In

typischen Experimenten wurde vor dem Emissionsspalt ein Lang-Pass Kantenfilter der Firma Schott Glas angebracht. Weitere Messungen wurden am Fraunhofer-Institut für Lasertechnologie (ILT) in Aachen durchgeführt.

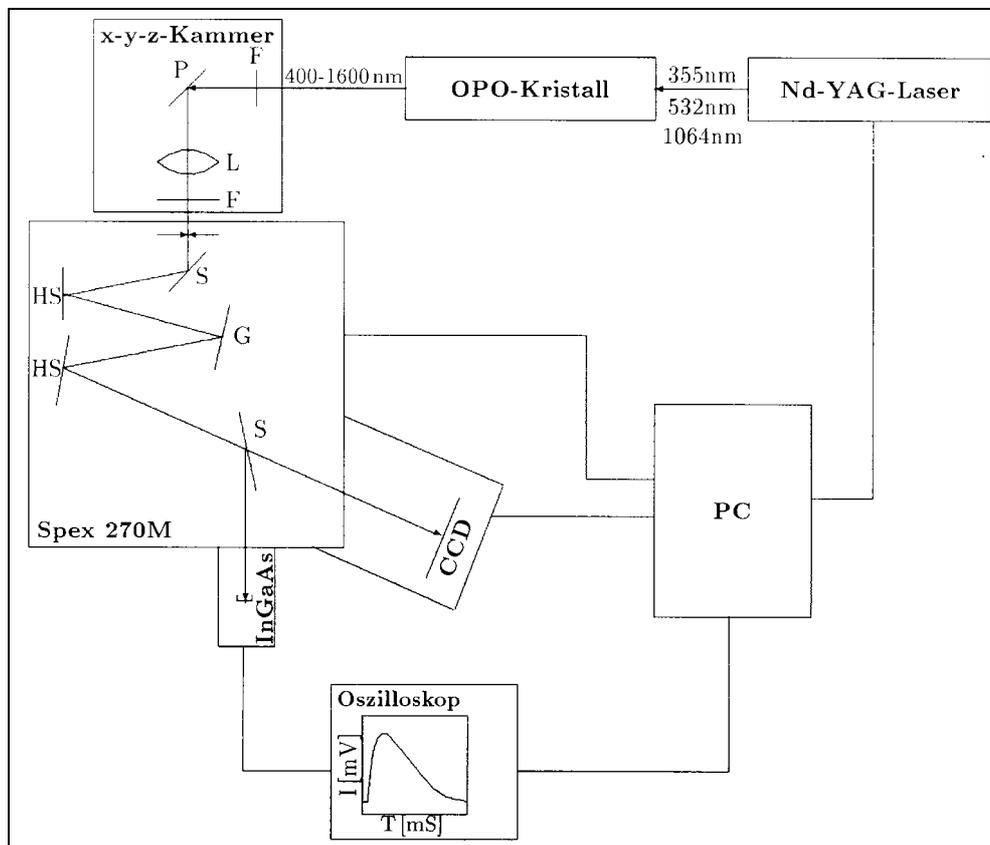


Abb. 6.1.1.1: Schematischer Aufbau der eingesetzten Fluoreszenzspektroskopie-Anlage; P: Probe, F: Filter, L: Linse, G: Gitter, D: InGaAs-Detektor, CCD-Kamera für UV/VIS-Bereich.

Photonenkorrelationsspektroskopie (Lichtstreuungsmessungen) zur Partikelgrößenbestimmung wurden mit einem "sub micron particle analyser" der Firma Malvern, Typ 4700c durchgeführt. In sämtlichen Messungen wurde ein Argon-Laser mit einer Emissionswellenlänge von 488 nm eingesetzt. Die Lichtstreuung wurde in einem Winkel von 90° detektiert. Alle Messungen wurden bei 25°C an verdünnten Dispersionen durchgeführt.

6.1.2 Sonstige Analytische Methoden

Stickstoff-Adsorptions-Isothermen (BET) wurden mit dem Sorptomat ASAP 2400 von Micromeritics ermittelt. Die Proben wurden zuerst ca. 8 h bei 110°C im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurde bei 77.15 K die Stickstoffsorption untersucht. Die spezifische Oberfläche A_{BET} und das Porenvolumen sind entsprechend der Methode von Brunauer, Emmet und Teller berechnet worden.^[184, 190] Die Adsorptionsisothermen wurden gemäß der BDDT-Klassifizierung zugeordnet.^[185] Als Wert für die spezifische Oberfläche des Stickstoffmoleküls wurden 0.162 nm^2 vorausgesetzt,^[186] wobei sich die spezifische Oberfläche auf die Masse der getrockneten Probe bezieht. Die Analyse der Porengröße wurde nach Barrett, Joyner und Halenda (BJH) berechnet.^[189]

Skelett-Dichten wurden durch Heliumpyknometrie an einem AccuPyc 1330™ Pycnometer im ISC bestimmt. Jede Probe wurde vor der Analyse mindestens 24 Stunden bei 110°C getrocknet und anschließend insgesamt fünfmal vermessen. Abschließend wurde aus den Ergebnissen der arithmetische Mittelwert gebildet.

Röntgenfluoreszenzmessungen (RFA) wurden an einem Sequenz-Röntgenspektrometer SRS 3000 der Firma Siemens durchgeführt.

Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) erfolgte bei 80 kV an einem Zeiss EM 10 Elektronenmikroskop. Die Methode wurde zur Bestimmung von Partikelgrößen und -Morphologien verwendet. Zur Probenpräparation wurde eine ca. 0.5 %ige ethanolische Dispersion auf ein mit einem Kohlenstofffilm beschichtetes Kupfernetz (100 mesh) getropft und anschließend getrocknet. Wie bereits von Van Helden et al.^[59] und Van Blaaderen et al.^[187, 94] beobachtet, schrumpfen die SiO_2 -Kugeln aufgrund der intensiven Bestrahlung um ca. 5 % des ursprünglichen Radius. Die Bestimmung der Partikelgrößen erfolgte durch manuelles Ausmessen von mindestens 20 Partikeln. Anschließend wurde der arithmetische Mittelwert gebildet und der jeweilige Vergrößerungsfaktor berücksichtigt.

Rasterelektronenmikroskopie (REM) wurde an einem Scanning Electron Microscope S800 von Hitachi durchgeführt. Die auf den Probenhalter aufgetragenen Feststoffe wurden mit

Gold beschichtet und mit einer Beschleunigungs-Spannung von 25 kV vermessen. Die Bestimmung der Partikelgrößen erfolgte analog zur Transmissionselektronenmikroskopie.

AFM (Raster-Kraftmikroskopie) wurde in Freiburg am Institut für Mikrosystemtechnik IMTEK (Abteilung: Chemistry and Physics of Interfaces) mit einem Nanoscope III (Digital Instruments, Santa-Barbara), das im Stichprobenmodus mit einer Resonanzfrequenz von ca. 360 kHz mit einem Cantilever (Federkonstante ca. 50 N/m) arbeitet, durchgeführt. Die Proben für die AFM-Experimente wurden durch Spin-Coating der wässrigen Dispersionen (konz. ca. 0.08 mg/ml) bei 2000 U/min auf ein Glimmer Substrat hergestellt.

Zetapotentiale der kolloidalen Lösungen wurden mit einem Malvern Zetamaster Particle Electrophoresis Analyser ermittelt. Der pH-Bereich wurde automatisch mit einem Mettler DL21 Titrator abgescannt. Als Basislösung diente für sämtliche Proben eine wässrige, 10^{-3} molare KCl-Lösung. Die Meßtemperatur betrug 20°C.

Konduktometrische Titrationen zur Bestimmung des Carboxyl-Belegungsgrades der Partikel wurden mit einem Microprocessor Conductivity Meter LF 535 von WTW (Wissenschaftlich Technische Werkstätten) durchgeführt. Die Aufarbeitung der angesäuerten wässrigen Dispersionen wurde durch eine Rührzelle vom Typ SC 75 der Firma Schleicher und Schuell mittels einer Ultrafiltrationsmembran (Ultran RC/100 kD) durchgeführt.

Elementaranalysen wurden sowohl am Mikroanalytischen Labor des Instituts für Anorganische Chemie der Universität Würzburg durch Verbrennungsanalyse (C, H, N, S) an einem Gerät der Firma Carlo Erba Instrumentation (Elementar Analyzer 1106) als auch am Mikroanalytischen Labor Beller in Göttingen bestimmt. Die analytischen Daten der Elemente einer Verbindung werden in Gewichtsprozent angegeben.

Schmelz- bzw. Zersetzungspunkte wurden durch Differential-Thermoanalyse (DTA) am Mikroanalytischen Labor des Instituts für Anorganische Chemie der Universität Würzburg an einem Thermoanalyser Du Pont 9000 bestimmt.

Zur Partikelabtrennung während der Waschzyklen wurde eine Ultrazentrifuge von Hermle, Typ Z 320 K verwendet.

Die Redispergierung der Nanopartikel erfolgte mit einem Ultraschallbad der Firma Bandelin vom Typ Sonorex Super RK 103 H.

Die Bestimmung von pH-Werten erfolgte mit einer Glaselektrode, InLab408 von Mettler-Toledo.

6.1.3 Ausgangsverbindungen

Die verwendeten Ausgangsprodukte waren Handelsprodukte der Firmen ABCR, Acros, Aldrich, BASF, Fluka, Merck, Porphyrin Systems, Strem und Wacker.

Falls nötig wurden die Lösungsmittel vorher nach Standardmethoden absolutiert und unter Schutzgasatmosphäre aufbewahrt.^[170, 171] Alle anderen Ausgangsverbindungen wurden ohne weitere Reinigungsschritte eingesetzt.

Die Fluorophore JA 133-NHS, MR121-NHS, Eu(TNB)₃, wurden von Roche Diagnostics GmbH zur Verfügung gestellt.

6.1.4 Vorgehensweise

Die Konzentrationen der Reagenzien wurde unter der Annahme berechnet, dass sich alle gemischten Flüssigkeitsvolumina additiv verhalten; Gemische aus Ethanol und Wasser zeigen jedoch in der Realität beim Mischen eine Volumenkontraktion. Die Annahme des additiven Verhaltens von Flüssigkeitsvolumina ist ein gängiges Verfahren in der Literatur. Die berechneten Konzentrationen können nur mit Literaturdaten verglichen werden, welche auf die gleiche Weise berechnet wurden.^[52, 79, 94, 187]

Zur Verbesserung der Monodispersität der Kolloide ist es sinnvoll, Glasgeräte mit einer keimpartikelfreien Oberfläche zu verwenden. Die Glasgeräte wurden daher vor der Synthese mit einer 2 %-igen Flusssäurelösung behandelt und anschließend mehrfach mit frischem Ethanol nachgespült.^[78]

Migrationsuntersuchungen bzw. Bestimmungen zum Farbstoffgehalt der Partikel wurden in Wasser oder Ethanol durchgeführt. Entscheidend war die Löslichkeit des Farbstoffes im jeweiligen Milieu. Um die Anzahl der zeitintensiven Waschzyklen möglichst niedrig zu halten, wurde stets das Lösungsmittel gewählt, in dem die Löslichkeit des Farbstoffes am höchsten war.

Die UV-spektroskopischen Konzentrationsuntersuchungen wurden an gepufferten Lösungen durchgeführt. Dies war notwendig, da die Absorptionsintensität pH-abhängig ist.

Zur *Separation der Partikel* vom Lösungsmittel wurden die Partikel abzentrifugiert. Die Suspensionen wurden bei maximal 3500 U/min zentrifugiert, um einer Partikelagglomeration vorzubeugen. Je größer die Partikel sind, desto höher kann die Umdrehungszahl gewählt werden. Größere Partikel sind durch die weiterreichende elektrostatische Doppelschicht stabiler gegenüber Agglomeration.^[188]

Zur *Beschleunigung* der Oberflächenmodifizierungsreaktion und zur Verbesserung des Modifizierungsgrades kann die Umsetzung der Partikel in aufkonzentrierten Suspensionen durchgeführt werden (Feststoffgehalt 6-7 %).

6.2 Versuchsdurchführung

6.2.1 Anwendungsrelevante Eigenschaften des Partikel-Typs KS-OFSN

Die Vorgehensweise für den chemischen Einbau des Fluorophors JA133-Si ist bereits in früheren Arbeiten beschrieben.^[23] Der Einbau des Fluorophors MR121-Si wurde analog durchgeführt und so der Partikel-Typ **FSN** erhalten.

Das Aufbringen der zusätzlichen Schale auf die fluorophordotierten Silicatpartikel (**FSN**) fand nach der *Seeded Growth* Methode statt (s. Kap. 3.2.2). Die erhaltenen Partikel von Kern-Schale-Typ **KS-FSN** wurden dann mit GF20 oberflächenmodifiziert. Diese finalen Partikel vom Kern-Schale Typ mit zusätzlicher Oberflächenfunktionalität **KS-OFSN** galt es zu

optimieren (vgl. Kap. 4.1). Die dabei evaluierten Synthesebedingungen sind in Tabelle 6.2.1.1 zusammengestellt.

Tabelle 6.2.1.1: Zusammenstellung der evaluierten Kenndaten zur Darstellung Fluorophor-dotierter Silicatpartikel mit Kern-Schale Aufbau und Oberflächenfunktionalisierung (KS-OFSN).

Bezeichnung	Farbstoff	Farbstoffeinbau [$\mu\text{mol/g SiO}_2$]	Oberflächen- modifizierung [$\mu\text{eq CO}_2\text{H/g}$]	\varnothing [nm]	Schalendicke [nm]
KS-OFSN56a1	JA133-Si	4.6	123	124	7
KS-OFSN56a2	JA133-Si	4.6	62	124	7
KS-OFSN56b1	JA133-Si	4.6	120	129	12
KS-OFSN56b2	JA133-Si	4.6	68	129	12
KS-OFSN56c1	JA133-Si	4.6	130	137	20
KS-OFSN56c2	JA133-Si	4.6	72	137	20
KS-OFSN71a	JA133-Si	7.8	303	147	8
KS-OFSN71b	JA133-Si	7.8	278	156	13
KS-OFSN72a	JA133-Si	9.4	289	153	10
KS-OFSN72b	JA133-Si	9.4	260	161	14
KS-OFSN73	JA133-Si	7.8	332	137	12
OFSN74	MR121-Si	3.9	403	111	-

*PLD-Methode war nicht erfolgreich, siehe auch Kap.4.1.2

Durch UV-VIS- und fluoreszenzspektroskopische Untersuchungen der in Tabelle 6.2.1.1 beschriebenen Partikel konnte eine optimale Farbstoffkonzentration für JA133-Si dotierte Silicatpartikel in Abhängigkeit des Feststoffgehaltes der Partikeldispersion gefunden werden (Abbildung 6.2.1.1).

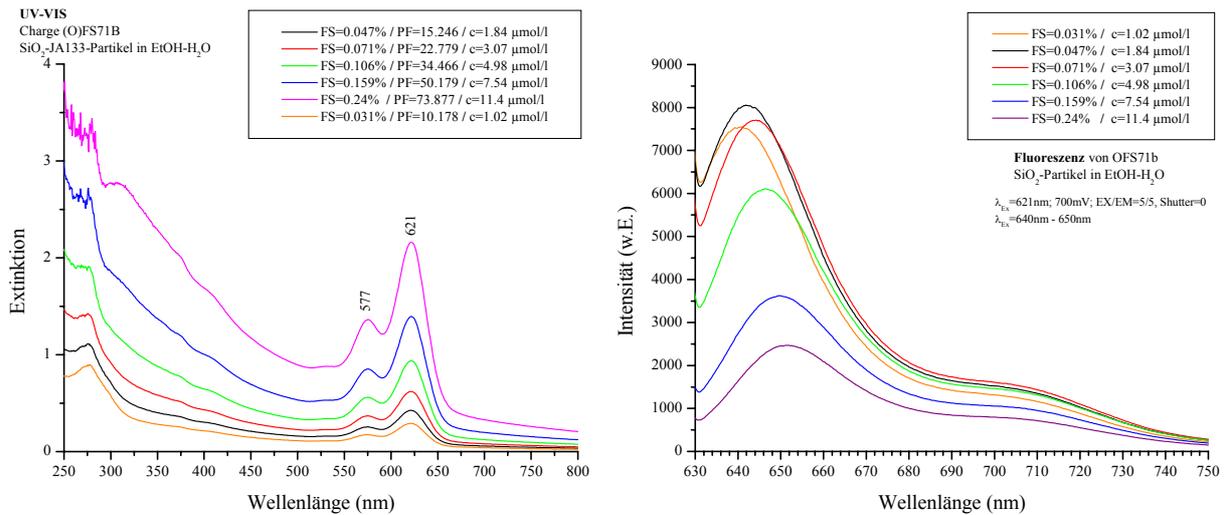


Abb. 6.2.1.1: (links) UV-VIS-Spektren von **KS-OFSN71b** bei Feststoffgehalten (FSN) der Partikel-dispersionen (in H₂O) zwischen 0.031% bis 0.24% (w/w), mit den typischen Absorptionen von JA133-Si (λ_{abs}=577, 621 nm); (rechts) Fluoreszenz-Spektren der UV-VIS-spektroskopisch vermessenen Dispersionen (λ_{exc}=621 nm, λ_{em}=646 nm)

6.2.2 Lyophilisation von Silicat-Nanopartikel

Zur Gefriertrocknung (Lyophilisation) wurden die Proben als wässrige Dispersionen mit einem Feststoffgehalt von ca. 0.5 % (w/w) erst bei -18°C eingefroren und anschließend gefriergetrocknet. Das erhaltene Pulver wurde fluoreszenzspektroskopisch untersucht. In Abbildung 6.2.2.1 sind die Fluoreszenzen von unterschiedlich dotierten (MR121-Si) Silicat-Nanopartikeln gezeigt.

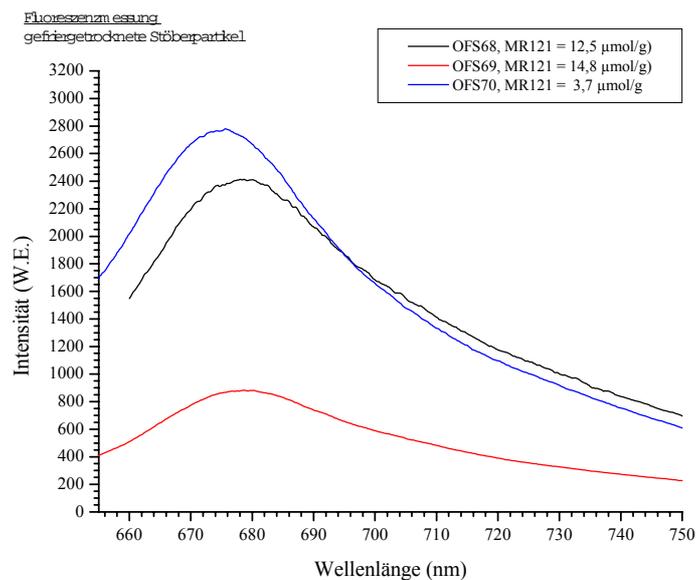


Abb. 6.2.2.1: Fluoreszenzen ($\lambda_{\text{exc}} = 650 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 676 \text{ nm}$) lyophilisierter Silicat-Nanopartikel vom Typ **OFSN**, mit verschiedenen MR121-Si-Konzentrationen.

FT-Raman (gefriergetrocknete Partikel)

FSN60: $\nu_{\text{CH}_3, \text{CH}_2} = 2950 \text{ cm}^{-1}$, 2923 cm^{-1} , 2904 cm^{-1} , 2881 cm^{-1} , 2839 cm^{-1} , $\nu_{\text{N-CH}_2} = 2723 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}} = 1737 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}_3, \text{CH}_2} = 1458 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}=\text{C}} = 1329 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom. Ring}} = 1219 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1151 \text{ cm}^{-1}$, 1116 cm^{-1} , $\nu_{\text{Piperazinring}} = 841 \text{ cm}^{-1}$, 808 cm^{-1} .

FSN68: $\nu_{\text{C=C}} = 1655 \text{ cm}^{-1}$, 1616 , $\nu_{\text{Ring, COC}} = 1516 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 1431 \text{ cm}^{-1}$, $\rho_{\text{CH}=\text{C}} = 1348 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1149 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Arom. Ring}} = 972 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 789 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{CSiO}_3} = 582 \text{ cm}^{-1}$.

FSN69: $\nu_{\text{C=C}} = 1656 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Ring, COC}} = 1518 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 1438 \text{ cm}^{-1}$, $\rho_{\text{CH}=\text{C}} = 1348 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1086 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{CSiO}_3} = 584 \text{ cm}^{-1}$.

FSN70: $\nu_{\text{C=C}} = 1656 \text{ cm}^{-1}$, 1616 , $\nu_{\text{Ring, COC}} = 1516 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 1431 \text{ cm}^{-1}$, $\rho_{\text{CH}=\text{C}} = 1348 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1147 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Arom. Ring}} = 972 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 793 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{CSiO}_3} = 582 \text{ cm}^{-1}$.

Um die Stabilität der Farbstoffe JA133-Si und MR121-Si in der Silicatmatrix zu untersuchen wurden DSC-Messungen durchgeführt. Dabei wurden die jeweiligen Partikel (**FSN**) unter Luft und unter Stickstoff erhitzt. In Tabelle 6.2.2.1 ist eine Zusammenstellung der Ergebnisse. Dabei ist **S9** ein Standardsilicatpartikel, das keine Farbstoffdotierung besitzt.

Tabelle 6.2.2.1: Zusammenstellung der Ergebnisse zur Untersuchung der Farbstoffstabilität in Silicat-Nanopartikeln.

Probe	Farbstoff [Farbe]	DSC-Messung unter Luft [°C]	DSC-Messung unter N ₂ [°C]
SN9	kein Farbstoff weiß	22 (endo)	bis 300 keine Änderung
FSN60	JA133-Si blau	20 (endo) (blau)	160 (exo) (blau)
FSN61	MR121-Si blau	24 (endo) (grau)	100 (endo) (grau)
FSN68	MR121-Si blau	24 (endo) (grau)	145 (endo) (grau)
FSN69	MR121-Si blau	28 (endo) (blau)	146 (endo) (grau)
FSN70	MR121-Si blau	33 (endo) (grau)	147 (endo) (grau)

Die Elementaranalyse sollte als eine weitere Möglichkeit zur Quantifizierung der eingebauten Farbstoffmenge untersucht werden. In Tabelle 6.2.2.2 sind die durch Doppelbestimmung erhaltenen Werte gezeigt.

Tabelle 6.2.2.2: CHN-Doppelbestimmung von farbstoffdotierten Silicat-Nanopartikeln (FSN).

Probe	C [%]	H [%]	N [%]
SN9	0.52	1.58	0.40
	0.60	1.56	0.39
FSN60	1.12	1.83	0.18
	1.09	1.81	0.17
FSN61	1.17	1.80	0.19
	1.22	1.81	0.20
FSN68	0.63	1.72	0.12
	0.66	1.70	0.12
FSN69	0.71	1.70	0.12
	0.64	1.73	0.12
FSN70	0.56	1.66	0.09
	0.56	1.70	0.10

Aufgrund des geringen Anteils an organischer Materie in den Proben kann diese Methode nicht für die quantitative Analyse des Farbstoffgehaltes verwendet werden. Bei Farbstoffen mit anderen Elementen, wie beispielsweise Schwefel, sollte es aber möglich sein, eine quantitative Aussage zu treffen.

Festkörper-NMR-Messungen von gefriergetrockneten Partikeln:

SN9

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = 17.24$ (CH₃CH₂O), 59.03 (CH₂-O).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -101.01$ (Q³), -111.01 (Q⁴).

FSN60

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 7000$ Hz):

$\delta = 17.2$ (CH₃CH₂O), 29.5 (N-CH₂CH₂), 32.1 (CH₂R₂), 42.0 (N-CH₂), 61.4 (CH₂-O), 99.2 (CH=C), 106.5, 124.3, 128.7, 133.1 (C_{Aryl}), 162.9 (R₂C=N).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -92.06$ (Q²), -101.57 (Q³), -110.04 (Q⁴).

FSN61

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -92.4$ (Q²), -101.38 (Q³), -110.71 (Q⁴).

FSN68

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 7000$ Hz):

$\delta = 6.4, 10.1$ (Si-CH₂), 17.2 (CH₃CH₂O), 21.7 (N-CH₂CH₂), 31.1 (CH₂R₂), 43.1, 50.2, 59.6 (N-CH₂), 82.4 (CH=C), 118.0, 120.6, 122.5, 124.0, 134.1 (C_{Aryl}), 145.7, 149.2 (C=C-N).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -65.53$ (T³), -91.36 (Q²), -100.81 (Q³), -110.13 (Q⁴).

FSN69

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 7000$ Hz):

$\delta = 7.3, 10.6$ (Si-CH₂), 17.7 (CH₃CH₂O), 21.5 (N-CH₂CH₂), 29.14 (CH₂R₂), 43.0, 59.2, 61.3 (N-CH₂), 99.5 (CH=C), 112.2, 119.1, 121.2, 128.1, 135.2 (C_{Aryl}), 148.9, 152.1 (C=C-N).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 7000$ Hz):

$\delta = -68.11$ (T³), -90.9 (Q²), -101.02 (Q³), -110.46 (Q⁴).

FSN70

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 7000$ Hz):

$\delta = 9.7, 11.3$ (Si-CH₂), 17.7 (CH₃CH₂O), 21.0 (N-CH₂CH₂), $29.2, 34.6$ (CH₂R₂), $43.0, 50.1, 59.8$ (N-CH₂), $117.1, 130.7, 136.9$ (C_{Aryl}), 153.7 (C=C-N).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -65.2$ (T³), -91.5 (Q²), -100.7 (Q³), -110.8 (Q⁴).

Oberflächenbestimmung nach BET:

Probe	Oberfläche (theoretisch) [m ² /g]	BET (gemessen) [m ² /g]	BJH- Desorption Σ Porenoberfläche 1.7 – 300 nm [m ² /g]	BJH- Desorption \varnothing Porendurchmesser [nm]	BJH- Desorption Σ Porenvolumen 1.7 – 300 nm [cm ³ /g]
SN9	34.9	35	37	31	0.28
OFSN73	22.2	42	38	29	0.27
OFSN74	27.7	28	33	33	0.27

Heliumpyknometrie:

Proben- bezeichnung	Skelett- Dichte [g/cm ³]	Standard- abweichung [g/cm ³]
SN9	2.05	0.0026
OFSN73	2.10	0.0009
OFSN74	2.06	0.0062

6.2.3 Synthese von Organometall-Komplex dotierten Silicatpartikeln

6.2.3.1 Darstellung von ZnTMPyP-dotierten Silicatpartikeln

In einem 500 ml Rundkolben werden 46.75 mg (52.8 μmol) 5,10,15,20-Tetrakis(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-Zn(II)-tetrachlorid eingewogen und in 150 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden unter starkem Rühren 300 ml Ethanol und 10 ml Ammoniaklösung gegeben. Nach 10 Minuten werden 10 ml TEOS zur Reaktion gegeben und für 20 Minuten gerührt. Anschließend werden weitere 11 ml TEOS zugegeben und die Reaktionsmischung für 17 Stunden bei Raumtemperatur weitergerührt. Zur Reinigung wird die Reaktionsmischung viermal zentrifugiert und der erhaltene Feststoff mehrmals in Wasser redispersiert. Dabei wird der Überstand UV-spektroskopisch vermessen, um den Anteil an nicht eingebautem Porphyrin zu ermitteln.

Ausbeute: 5.12 g (SiO_2 -Partikel)

Einbaurrate: 10.2 $\mu\text{mol/g SiO}_2$

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 436 \text{ nm} / 563 \text{ nm}$ (0.5% Dispersion in EtOH)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 654 \text{ nm}$ (0.5% Dispersion in EtOH)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{O-H}} = 3420 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=N}} = 1640 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1100 \text{ cm}^{-1}$,
 947 cm^{-1} , 802 cm^{-1} .

$^{13}\text{C-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 6500 \text{ Hz}$):

$\delta = 17.03$ ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{O}$), 29.42, 48.80 ($\text{N-}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 59.48 ($\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$), 105.26, 116.7, 121.3, 131.5, 132.9, 143.8, 149.3, 158.1 ($\underline{\text{C}}_{\text{Aryl}}$, $\underline{\text{C}}_{\text{Pyrrol}}$).

$^{29}\text{Si-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = -91.86$ (Q^2), -101.46 (Q^3), -110.94 (Q^4).

Partikelgröße:

TEM $\approx 145 \text{ nm}$

REM $\approx 141 \text{ nm}$

Oberflächenbestimmung nach BET

Probe	Oberfläche (theoretisch) [m ² /g]	BET (gemessen) [m ² /g]	BJH- Desorption ΣPorenoberfläche 1.7 – 300 nm [m ² /g]	BJH- Desorption ØPorendurchmesser [nm]	BJH- Desorption ΣPorenvolumen 1.7 – 300 nm [cm ³ /g]
Zn1 Ø≈145 nm	21	28	25	44	0.27

Heliumpyknometrie:

Probenbe- zeichnung	Skelett- Dichte [g/cm ³]	Standardab- weichung [g/cm ³]
Zn1	2.11	0.0010

Zetapotential:

ζ= -50.3 mV bei pH= 7.4.

6.2.3.2 Darstellung von PdTPPC dotierten Silicatpartikeln

In einem 10 ml Rundkolben werden 50 mg (55.85 µmol) 5,10,15,20-Tetrakis(4-carboxyphenyl)-porphyrin-Pd(II) in 5 ml Dichlormethan unter Schutzgas gelöst. Die Lösung wird für 3 Stunden mit 1 ml Thionylchlorid zur Reaktion gebracht. Anschließend wird das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abgezogen.

FT-IR-Spektroskopie (KBr): ν_{Aryl-COCl} = 1770 cm⁻¹.

¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO):

δ = 167.3 (Aryl-ClOCl).

Der Feststoff wird ohne weitere Aufreinigung in 3 ml Dioxan gelöst und mit 0.1 ml AMEO für eine Stunde zur Reaktion gebracht. Diese Reaktionsmischung wird dann zu einer auf 35°C temperierten Lösung aus 61 ml Wasser, 14 ml Ammoniaklösung und 60 ml Ethanol gegeben. Anschließend werden innerhalb von 15 Minuten 18 ml TEOS zugetropft. Die Reaktionsmischung wird für 13 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufreinigung erfolgt über mehrere Waschzyklen mit Ethanol und Wasser.

Ausbeute: 4.23 g

Einbaurate: 4.09 $\mu\text{mol/g SiO}_2$

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 412 \text{ nm} / 521 \text{ nm}$ (0.4% Dispersion in EtOH)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} =$ nicht detektierbar

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{OH}} = 3430 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{sek. Amide}} = 1640 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1080 \text{ cm}^{-1}$, 951 cm^{-1} , 800 cm^{-1} .

$^{13}\text{C-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 6500 \text{ Hz}$):

$\delta = 8.89$ (Si- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 17.27 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{OH}$), 21.43 (Si- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-N}$), 42.94 (Si- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-N}$), 58.97 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{O}$), 106.7 , 113.3 , 121.3 , 127.4 , 132.8 , 141.8 , 145.3 , 147.8 ($\underline{\text{C}}_{\text{Aryl}}$, $\underline{\text{C}}_{\text{Pyrrol}}$).

$^{29}\text{Si-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = -67.78$ (T^3), -91.78 (Q^2), -101.73 (Q^3), -110.74 (Q^4).

Partikelgröße:

TEM $\approx 185 \text{ nm} - 259 \text{ nm}$ und 370 nm

REM $\approx 191 \text{ nm} - 263 \text{ nm}$ und 370 nm

Oberflächenbestimmung nach BET

Probe	Oberfläche	BET	BJH-	BJH-	BJH-
-------	------------	-----	------	------	------

	(theoretisch) [m ² /g]	(gemessen) [m ² /g]	Desorption ΣPorenoberfläche 1.7 – 300 nm [m ² /g]	Desorption ØPorendurchmesser [nm]	Desorption ΣPorenvolumen 1.7 – 300 nm [cm ³ /g]
Pd2 Ø≈280 nm	12.3	13	9	22	0.05

Heliumpyknometrie

Probenbezeichnung	Skelett-Dichte [g/cm ³]	Standardabweichung [g/cm ³]
Pd2	2.08	0.0017

Zetapotential:

ζ= -59.6 mV bei pH= 7.6.

6.2.3.3. Darstellung von Tris-(1,10-phenantrolin)-ruthenium(II) dotierten Silicatpartikeln

In einem 100 ml Rundkolben werden 50.1 mg (70.3 μmol) Tris-(1,10-phenantrolin)-ruthenium(II)-chlorid Dihydrat in 69 ml Ethanol und 35 ml Wasser gelöst. Anschließend werden 2.3 ml Ammoniaklösung (20%) zugegeben. Zu dieser Reaktionslösung werden 5 ml TEOS gegeben und für 8 Stunden zur Reaktion gebracht. Dann wird die Reaktionsmischung drei Waschzyklen in Wasser unterzogen. Der jeweilige Überstand wird UV-VIS-absorptions-spektroskopisch vermessen.

Ausbeute: 1.41 g (SiO₂-Partikel)

Einbaureate: 49.9 μmol/g SiO₂

UV/VIS-Spektroskopie: λ_{abs}= 446 nm (0.5% Dispersion in H₂O)

Fluoreszenz-Spektroskopie: λ_{em}= 597 nm (0.5% Dispersion in H₂O)

Partikelgröße:

REM ≈ 200 nm

Sauerstoffpermeation *

pO ₂ [Torr] (getrocknetes Gas)	Normalisierte Fluoreszenzintensität
0.0	100.0
52.2	89.4
104.5	86.2
156.7	83.6
209	82
312.7	78.1

*Vermessen von Roche Diagnostics GmbH in Mannheim

6.2.3.4 Darstellung größerer Ru-dotierter Silicatpartikel

In einem 100 ml Rundkolben werden 104.6 mg (146.7 µmol) Tris-(1,10-phenantrolin)-ruthenium(II)-chlorid Dihydrat in 30 ml Ethanol und 31 ml Wasser gelöst und auf 30°C temperiert. Anschließend werden 7 ml Ammoniaklösung zugegeben. Zu dieser Reaktionslösung werden innerhalb von 10 Minuten 10 ml TEOS gegeben und für 18 Stunden zur Reaktion gebracht. Anschließend wird die Reaktionsmischung drei Waschzyklen in Wasser unterzogen. Der jeweilige Überstand wird absorptionsspektroskopisch vermessen.

Ausbeute: 2.98 g (SiO₂-Partikel)

Einbaurrate: 19.1 µmol/g SiO₂

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 446 \text{ nm}$ (0.4% Dispersion in H₂O)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 597 \text{ nm}$ (0.4% Dispersion in H₂O)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{OH}} = 3420 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1080 \text{ cm}^{-1}$, 947 cm^{-1} , 802 cm^{-1} .

FT-Raman (Feststoff): $\nu_{\text{arom. CH}} = 3079 \text{ cm}^{-1}$, 3049 cm^{-1} , $\nu_{\text{C=N}} = 1630 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=C}} = 1599 \text{ cm}^{-1}$, 1579 cm^{-1} , 1512 cm^{-1} , $\nu_{\text{arom. Ring}} = 1448 \text{ cm}^{-1}$, 1429 cm^{-1} , $\delta_{\text{arom. CH}} = 1342 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom. Ring}} = 1057 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom. CH}} = 916 \text{ cm}^{-1}$, 877 cm^{-1} .

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 6500 \text{ Hz}$):

$\delta = 16.63$ ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{O}$), 58.99 ($\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{O}$), 115.6 , 126.9 , 131.6 , 136.5 , 148.4 ($\underline{\text{C}}_{\text{Aryl}}$), 151.8 , 153.6 ($-\underline{\text{C}}=\text{N}$).

$^{29}\text{Si-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -91.28$ (Q^2), -101.3 (Q^3), -111.53 (Q^4).

Partikelgröße:

REM ≈ 640 nm

TEM ≈ 640 nm

Oberflächenbestimmung nach BET

Probe	Oberfläche (theoretisch) [m ² /g]	BET (gemessen) [m ² /g]	BJH- Desorption Σ Porenoberfläche 1.7 – 300 nm [m ² /g]	BJH- Desorption \varnothing Porendurchmesser [nm]	BJH- Desorption Σ Porenvolumen 1.7 – 300 nm [cm ³ /g]
Ru1 $\varnothing \approx 200$ nm	15.3	14	12	15	0.05
Ru2 $\varnothing \approx 640$ nm	4.8	5	2	24	0.01

Heliumpyknometrie

Proben- bezeichnung	Skelett- Dichte [g/cm ³]	Standard- abweichung [g/cm ³]
Ru1	2.10	0.0024
Ru2	2.05	0.0009

6.2.4 Farbstoffdotierte und organisch-modifizierte Silicatpartikel

6.2.4.1 Mit Bis(trimethoxysilylethyl)benzol modifizierte und mit Lumogen F Rot[®] dotierte Silicatpartikel

In einem 100 ml Rundkolben werden 8.7 mg (8.06 μmol) Lumogen Rot in 6 ml Wasser und 89 ml Ethanol gelöst. Nach Zugabe von 3 ml Ammoniaklösung werden synchron 5 ml TEOS und 0.1 ml *m,p*-Bis(trimethoxysilylethyl)benzol zugetropft. Nach einer Stunde Reaktionszeit werden weitere 20 ml Ethanol zugegeben und die Reaktionsmischung für 13 Stunden weitergerührt.

Ausbeute: 2.02 g (SiO_2 -Partikel)

Einbaurrate LFR: 2.2 $\mu\text{mol/g}$ SiO_2

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 577 \text{ nm}$ (0.4% Dispersion in Wasser)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 607 \text{ nm}$ (0.4% Dispersion in Wasser)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{OH}} = 3450 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{N-C=O}} = 1965 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{N-C=O}} = 1868 \text{ cm}^{-1}$,
 $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1100 \text{ cm}^{-1}$, 946 cm^{-1} , 800 cm^{-1} .

FT-Raman (Feststoff): $\nu_{\text{arom.CH}} = 3057 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{aliph.CH}_2,\text{CH}_3} = 2933 \text{ cm}^{-1}$, 2896 cm^{-1} , $\nu_{\text{C=C}} = 1606 \text{ cm}^{-1}$, 1552 cm^{-1} , $\delta_{\text{CH}_2,\text{CH}_3} = 1454 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}} = 1354 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom. Ring}} = 1234 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1090 \text{ cm}^{-1}$, 974 cm^{-1} , $\nu_{\text{arom. Ring}} = 999 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{arom. CH}} = 816 \text{ cm}^{-1}$.

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = 14.05$ ($\text{Si-}\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 27.6 ($\text{Si-CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 43.72 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-O}$), 60.75 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-O}$), 127.19 , 142.94 ($\underline{\text{C}}_{\text{Aryl}}$).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = -66.3$ (T^3), -92.5 (Q^2), -101.85 (Q^3), -111.08 (Q^4).

²⁹Si-NMR (MAS/quantitativ, $v_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -92.49$ (Q², 0.98%), -102.54 (Q³, 32.78%), -110.83 (Q⁴, 66.21%).

Partikelgröße:

TEM ≈ 50 nm

Oberflächenbestimmung nach BET

Probe	Oberfläche (theoretisch) [m ² /g]	BET (gemessen) [m ² /g]	BJH- Desorption Σ Porenoberfläche 1.7 – 300 nm [m ² /g]	BJH- Desorption \varnothing Porendurchmesser [nm]	BJH- Desorption Σ Porenvolumen 1.7 – 300 nm [cm ³ /g]
FSNF12a $\varnothing \approx 50$ nm	60	303	103	15	0.38

Zetapotential:

$\zeta = -41.7$ mV bei pH= 9.2.

6.2.4.2 Darstellung Fluoralkylsilan- und JA133-modifizierter Silicat-Nanopartikel

Hydrophobierte Partikel vom Typ **OFSN** (76):

Zu einer auf 35°C temperierten Lösung aus 165 ml EtOH, 84 ml H₂O und 5.5 ml NH₄OH werden 23.8 µmol JA133-Si (Silanisierung nach^[23]), dann 6 ml TEOS und 30 µl (155 µmol) 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan gegeben. Nach 5 minütigem Rühren werden die restlichen 6 ml TEOS zur Reaktionsmischung gegeben. Die Reaktion wird nach 8 h abgebrochen, die Partikel durch Zentrifugation abgetrennt und aufgereinigt (mehrmaliges Redispersieren in H₂O).

Eingesetztes Verhältnis von JA133-Si / Fluoralkylsilan = 1 : 7

Hydrophobierte Partikel vom Typ **OFSN** (77):

Zu einer auf 30 °C temperierten Lösung aus 31 ml EtOH, 20 ml H₂O und 7 ml NH₄OH werden 23.3 μmol JA133-Si (Silanisierung nach^[23]), dann 5 ml TEOS und 20 μl (119 μmol) 3,3,3-Trifluorpropyltrimethoxysilan gegeben. Nach 5 minütigem Rühren werden die restlichen 5 ml TEOS zur Reaktionsmischung gegeben. Die Reaktion wird nach 8 h abgebrochen, die Partikel durch Zentrifugation abgetrennt und aufgereinigt (mehrmaliges Redispersieren in H₂O). Eingesetztes Verhältnis von JA133-Si / Fluoralkylsilan = 1 : 5

In Tabelle 6.2.4.2.1 sind verwendete Eduktkonzentrationen sowie erhaltene Partikelgrößen zusammengefasst.

Tabelle 6.2.4.2.1: Eduktkonzentrationen zur Synthese von hydrophobierten und farbstoffdotierten Silicat-Nanopartikeln.

Charge	Feststoff- gehalt [g]	Farbstoff	H ₂ O [ml]	NH ₄ OH [ml]	EtOH [ml]	TEOS [ml]	TFPTMSi [μmol]	d [nm]
FSN75	—	JA133-Si	84.0	5.5	165.0	12.0	517	—
FSN76	3.02	JA133-Si	84.0	5.5	165.0	12.0	155	33-65
OFSN77	2.71	JA133-Si	31.0	7.0	20.0	10.0	23	63-95
OFSN78	2.70	JA133-Si	31.0	7.0	32.0	10.0	20	130

Zetapotentiale:

OFSN 77: ζ = -51.2 mV bei pH= 8.9.

OFSN 78: ζ = -56.2 mV bei pH= 7.8.

Spektroskopische Daten für FSN 76:

¹³C-NMR (VACP/MAS, ν_{rot}= 5000 Hz):

δ = 4.2 (Si-CH₂), 8.1 (Si-CH₂CH₂), 16.4 (CH₃CH₂O), 20.9, 26.7 (CH₃-Ar), 41.9 (N-CH₂CH₂), 60.3 (CH₃CH₂O), 95.4, 103.6, 110.2 (C_{Ar}yl), 115.3 (CF₃CH₂), 125.8, 128.5 (C_{Ar}yl), 142.1, 144.3 (C_{Ar}-N), 153.1, 157.7, 163.2 (-C=N), 174.3 (OC-NHR).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, ν_{rot}= 5000 Hz):

δ = -68.7 (T³), -92.7 (Q²), -102.1 (Q³), -110.9 (Q⁴).

Spektroskopische Daten für FSN 77:

¹³C-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = 3.5$ (Si-CH₂), 8.5 (Si-CH₂-CH₂), 15.8 (CH₃CH₂O), $20.2, 26.5$ (CH₃-Ar), 41.8 (N-CH₂CH₂), 58.2 (CH₃-CH₂O), $94.9, 101.1, 108.3, 113.1$ (CAr_{yl}), 118.4 (CF₃CH₂), $125.4, 128.2, 139.0$ (CAr_{yl}), $150.6, 152.2, 155.7$ (-C=N).

²⁹Si-NMR (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000$ Hz):

$\delta = -66.7$ (T³), -92.3 (Q²), -102.3 (Q³), -111.4 (Q⁴).

6.2.5 Lanthanoid-Komplexe mit 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion*6.2.5.1 Darstellung von Terbium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion*

In 15 ml Ethanol werden 800 mg (3 mmol) 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion gelöst und anschließend 3 ml einer 1 M NaOH-Lösung hinzugegeben. In einem Tropftrichter werden 265 mg (1 mmol) TbCl₃·6 H₂O in 5 ml Wasser gelöst und dann langsam zur Reaktionslösung zugegeben. Danach werden weitere 100 ml Wasser zur Reaktionsmischung gegeben und diese für eine Stunde bei 65°C gerührt. Das Produkt wird als blassgelber Feststoff abfiltriert und dreimal mit je 5 ml Wasser und Ethanol gewaschen. Anschließend wird es für 3 Stunden bei 120°C getrocknet.

Ausbeute: 0.471 g (0.467 mmol; 46.7 %)

Schmelzpunkt: 48°C (endo.); 140°C (exo.)

Elementaranalyse (C₄₂H₂₄F₉O₆Tb · 3 H₂O, 1008.5 g mol⁻¹):

	C	H
berechnet:	50.02	3.00
gefunden:	50.49	2.97

TGA

	H ₂ O
berechnet:	5.3 %
gefunden:	5.2 %

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 335 \text{ nm} / 412 \text{ nm}$ (CH₂Cl₂)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 455, 522 \text{ nm} / 467, 495, 544, 611 \text{ nm}$ (CH₂Cl₂)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{O-H}} = 3629 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom.CH}} = 3058 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}}$ (enolisierte 1,3-Diketone) = $1675, 1616 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C-F}} = 1301, 1197, 1137 \text{ cm}^{-1}$.

MS (EI, 70 eV): m/z (I_r) = 954 (70), M⁺.

6.2.5.2 Darstellung von Gadolinium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion

In 15 ml Ethanol werden 800 mg (3 mmol) 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion gelöst und anschließend 3 ml einer 1 M NaOH-Lösung hinzugegeben. In einem Tropftrichter werden 244 mg (1 mmol) GdCl₃ in 5 ml Wasser gelöst und anschließend langsam zur Reaktionslösung zugetropft. Danach werden weitere 100 ml Wasser zur Reaktionsmischung gegeben und diese für eine Stunde bei 60°C gerührt. Das Produkt wird als blassgelber Feststoff abfiltriert und dreimal mit je 5 ml Wasser und Ethanol gewaschen. Anschließend wird es für 3 Stunden bei 120°C getrocknet.

Ausbeute: 0.478 g (0.492 mmol; 49.2 %)

Schmelzpunkt: 44°C (endo.); 133°C (exo.)

Elementaranalyse (C₄₂H₂₄F₉O₆Gd * H₂O, 970.8 g mol⁻¹):

	C	H
berechnet:	51.96	2.77
gefunden:	52.43	2.70

TGA

	H ₂ O
berechnet:	1.8 %
gefunden:	1.6 %

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 333 \text{ nm} / 420 \text{ nm}$ (CH₂Cl₂)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 456 \text{ nm} / 501 \text{ nm}$ (CH₂Cl₂)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{O-H}} = 3627 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom.CH}} = 3058 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}}$ (enolisierte 1,3-Diketone) = 1675, 1614 cm^{-1} , $\nu_{\text{C-F}} = 1299, 1197, 1137 \text{ cm}^{-1}$.

MS (EI, 70 eV): m/z (I_r) = 951 (12), M⁺.

6.2.5.3 Darstellung von Dysprosium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion

In 15 ml Ethanol werden 800 mg (3 mmol) 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion gelöst und anschließend 3 ml einer 1 M NaOH-Lösung hinzugegeben. In einem Tropftrichter werden 377 mg (1 mmol) DyCl₃*6 H₂O in 5 ml Wasser gelöst und anschließend langsam zur Reaktionslösung zugegeben. Danach werden weitere 100 ml Wasser zur Reaktionsmischung gegeben und diese für eine Stunde bei 60°C gerührt. Das Produkt wird als blassgelber Feststoff abfiltriert und dreimal mit je 5 ml Wasser und Ethanol gewaschen. Anschließend wird es für 3 Stunden bei 120°C getrocknet.

Ausbeute: 0.682 g (0.673 mmol; 67.3 %)

Schmelzpunkt: 144°C (exo.)

Elementaranalyse (C₄₂H₂₄F₉O₆Dy * 3 H₂O, 1012.1 g mol⁻¹):

	C	H
berechnet:	49.84	2.99
gefunden:	49.57	2.78

TGA

H₂O

berechnet: 5.3 %
 gefunden: 2.3 %

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 325 \text{ nm} / 436 \text{ nm}$ (CH_2Cl_2)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 450 \text{ nm} / 501, 604 \text{ nm}$ (CH_2Cl_2)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{O-H}} = 3627 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom.CH}} = 3058 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}} = 1616 \text{ cm}^{-1}$,
 $\nu_{\text{C-F}} = 1301, 1199, 1137 \text{ cm}^{-1}$.

MS (EI, 70 eV): m/z (I_r) = 957 (8), M^+ .

6.2.5.4 Darstellung von Erbium(III)-tris-4,4,4-trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion

In 15 ml Ethanol werden 800 mg (3 mmol) 4,4,4-Trifluoro-(1-naphthoyl)-1,3-butandion gelöst und anschließend 3 ml einer 1 M NaOH-Lösung zugegeben. In einem Tropftrichter werden 355 mg (1 mmol) $\text{Er}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 5 ml Wasser gelöst und anschließend langsam zur Reaktionslösung zugetropft. Danach werden weitere 100 ml Wasser zur Reaktionsmischung gegeben und diese für eine Stunde bei 60°C gerührt. Das Produkt wird als blaugelber Feststoff abfiltriert und dreimal mit je 5 ml Wasser und Ethanol gewaschen. Anschließend wird es für 3 Stunden bei 120°C getrocknet.

Ausbeute: 0.433 g (0.433 mmol; 43.3 %)

Schmelzpunkt: 225°C (exo.)

Elementaranalyse ($\text{C}_{42}\text{H}_{24}\text{F}_9\text{O}_6\text{Er} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 998.9 g mol^{-1}):

	C	H
berechnet:	50.05	2.83
gefunden:	50.47	2.76

TGA

	H_2O
berechnet:	3.6 %

gefunden: 3.9 %

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 230 \text{ nm} / 333 \text{ nm} / 519 \text{ nm}$ (CH_2Cl_2)

Fluoreszenz-Spektroskopie: $\lambda_{\text{em}} = 439, 464, 492, 544, 616, 647, 823 \text{ nm} / 427, 452, 467, 481, 492, 521 \text{ nm}$, - (CH_2Cl_2)

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{O-H}} = 3629 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom.CH}} = 3058 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}} = 1616 \text{ cm}^{-1}$,
 $\nu_{\text{C-F}} = 1301, 1197, 1135 \text{ cm}^{-1}$.

MS (EI, 70 eV): m/z (I_r) = 962 (49), M^+ .

6.2.6 Darstellung von Eu(III)-tris-4,4,4-trifluoro-1-(2-naphthoyl)-1,3-butandion dotierten Silicatpartikeln

In einem 250 ml Rundkolben werden 61 ml Wasser und 40 ml Ethanol auf 30°C temperiert. Dann werden 14 ml Ammoniaklösung und 10 ml TEOS zugegeben. Parallel dazu löst man 19.4 mg (20.4 μmol) Tris-[4,4,4-Trifluoro-1-(2-naphthoyl)-1,3-butandion]-Eu(III) in 1 ml Dichlormethan und versetzt die Lösung im Ultraschallbad mit 250 μl 3,3,3-Trifluoropropyltrimethoxysilan. Nach 5 Minuten wird die Lösung zum Ansatz getropft und für weitere 5 Minuten gerührt. Anschließend werden nochmals 10 ml TEOS zugegeben und die Reaktionsmischung für 4 Stunden bei 30°C und für weitere 10 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufreinigung findet über mehrere Waschzyklen mit Ethanol und Wasser statt.

Ausbeute: 3.96 g (SiO_2 -Partikel)

Einbaurate: 4.9 $\mu\text{mol/g}$ SiO_2

UV/VIS-Spektroskopie: $\lambda_{\text{abs}} = 333 \text{ nm}$ (0.3% Dispersion in EtOH).

Fluoreszenz-Spektroskopie: λ_{em} (als Feststoff) = 577 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$),
590 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$), 613 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$).

FT-IR-Spektroskopie (KBr): $\nu_{\text{OH}} = 3430 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1100 \text{ cm}^{-1}$, 950 cm^{-1} , 800 cm^{-1} .

Mikro-Raman (Feststoff): $\nu_{\text{aliph. CH}_2} = 2942 \text{ cm}^{-1}$, 2880 cm^{-1} , $\nu_{\text{enol.OCC}} = 1607 \text{ cm}^{-1}$,
 $\nu_{\text{C=C}} = 1581 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}_2} = 1451 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom. Ring}} = 1428 \text{ cm}^{-1}$, 1404 cm^{-1} , $\delta_{\text{arom. CH}} = 1352 \text{ cm}^{-1}$,
 $\nu_{\text{CF}_3} = 1306 \text{ cm}^{-1}$, $\delta_{\text{CH}} = 1271 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{arom. Ring}} = 1221 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{Si-O-Si}} = 1075 \text{ cm}^{-1}$,
 $\nu_{\text{arom. CH}} = 839 \text{ cm}^{-1}$, 790 cm^{-1} .

RFA

berechnet Eu [%]	gefunden Eu [%]
0.07	0.05

$^{13}\text{C-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = 4.03$ (SiCH_2), 16.93 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 27.08 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$), 58.78 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 98.56 (COCF_3), 113.98 , 118.29 , 123.97 , 125.94 , 128.72 , 139.78 , 143.2 , 144.8 (C_{Aryl}).

$^{19}\text{F-NMR}$ ($\nu_{\text{rot}} = 35100 \text{ Hz}$):

$\delta = -67.81$ (CH_2CF_3), -72.12 (COCF_3).

gefundenes Verhältnis (CH_2CF_3):(COCF_3) = 4:1

eingesetztes Verhältnis (CH_2CF_3):(COCF_3) = 21:1

$^{29}\text{Si-NMR}$ (VACP/MAS, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = -68.21$ (T^3), -92.31 (Q^2), -101.98 (Q^3), -111.85 (Q^4).

$^{29}\text{Si-NMR}$ (MAS/quantitativ, $\nu_{\text{rot}} = 5000 \text{ Hz}$):

$\delta = -90.99$ (Q^2 , 2.21%), -101.05 (Q^3 , 27.24%), -110.68 (Q^4 , 70.54%).

Partikelgröße:

TEM $\approx 130 \text{ nm} - 158 \text{ nm}$

Oberflächenbestimmung nach BET

Probe	$A_{\text{geometrisch}}$	A_{BET}	BJH-Desorption	BJH-Desorption	BJH-Desorption
-------	--------------------------	------------------	----------------	----------------	----------------

	[m ² /g]	[m ² /g]	ΣPorenoberfläche 1.7 – 300 nm [m ² /g]	ØPorendurchmesser [nm]	ΣPorenvolumen 1.7 – 300 nm [cm ³ /g]
Eu3 Ø≈144 nm	21.3	38	37	36	0.33

Heliumpyknometrie

Proben- bezeichnung	Skelett- Dichte [g/cm ³]	Standard- abweichung [g/cm ³]
Eu3	2.09	0.0012

Zetapotential:

ζ= -50.8 mV bei pH= 8.3.

7 LITERATUR

- [1] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim **1995**.
- [2] C.M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4254-4287.
- [3] Z. Guo, P.J. Sadler, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1610-1630.
- [4] N. Metzler-Nolte, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1072-1076.
- [5] D. Philip, J.F. Stoddart, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1242-1286.
- [6] R.D. Badley, W.T. Ford, Frank J. McEnroe, R.A. Assink, *Langmuir* **1990**, *6*, 792-801.
- [7] R.D. Badley, W.T. Ford, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 5437-5443.
- [8] P. Tundo, P. Venturello, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 856.
- [9] U. Görl, R. Rausch, H. Esch, R. Kuhlmann, *Kautschuk, Gummi, Kunststoff* **1995**, *48*, 407.
- [10] W.P. Hsu, R. Yu, E. Matijevic, *Dyes and Pigments* **1992**, *19*, 179-201.
- [11] F.M. Winnik, B. Keoshkerian, J.R. Fuller, P.G. Hofstra, *Dyes and Pigments* **1990**, *14*, 101.
- [12] L. Lodger, E. Stellwagen, *J. Chromatogr.* **1984**, *200*, 175.
- [13] K. Nakatani, N. Miyakawa, T. Higashiguchi, S. Nakagama, US 4 566 908, **1986**.
- [14] R. Boom, C.L. Jaansen, M.M.M. Salimans, J. Noordaa, *Clinical Microbiology* **1990**, *28*, 495-503.
- [15] W. Haller in: *Solid Phase Biochemistry*, Ed.: W.H. Scouten, J. Wiley & Sons, N.Y. **1983**, S. 535.
- [16] S. Margel, I. Burdygin, V. Reznikow, B. Nitzan, O. Melamed, M. Kedem, S. Gura, G. Mandel, M. Zuberi, L. Boguslavsky, *Recent Res. Dev. Polym. Sci.* **1997**, *1*, 51-78.
- [17] G. Wess, M. Urmann, B. Sickenberger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3443-3453.
- [18] L.B. Bangs, M. Menza, *IVD Technology* **1995**, *17* (3), 18-26; **1995**, *17* (4), 20-26.
- [19] L.B. Bangs, *Pure and Appl. Chem.* **1996**, *68*, 1873-1879.
- [20] C. Grüttner, S. Rudershausen, S. E. Matthews, P. Wang, V. Böhmer, J.-F. Dozol, *European Cells and Materials* **2002**, *3*, 48-51.
- [21] C. Grüttner, S. Rudershausen, M. Frank, J. Teller, J. Westphal, *European Cells and Materials* **2002**, *3*, 81-83.
- [22] S. E. Matthews, P. Parzuchowski, A. Garcia-Carrera, C. Grüttner, J.-F. Dozol, V. Böhmer, *Chem. Commun.* **2001**, 417-418.

- [23] Ralph Schwert, Dissertation, Universität Würzburg, **2000**.
- [24] W.J. Stark, S.E. Pratsinis, *Powder Technology* **2002**, 126, 103-108.
- [25] M. Ettliger in: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Vol. A23, Silica, Kap. 6, **1993**, S. 635-642.
- [26] R. Weiss, S. Paschen, P. Schober, G. Merz, H.U. Schlimper, H. Ferch, A. Kreher, S. Habersang in: *Ullmanns Enzyklopedie der technischen Chemie*, VCH, Weinheim **1982**, 4. Aufl., Vol. 21, S. 439-476.
- [27] J. Teller, C. Cordula, S. Rudershausen, F. Westphal, EP 1 036 763 **1999**.
- [28] R.K. Iler, *The Chemistry of Silica*, J. Wiley and Sons, N.Y. **1979**, S. 414, 483, 631.
- [29] M.H.D. Duits, P.R. May, A. Vrij, G.C. Wuif, *J. Chem. Phys.* **1991**, 94, 4521-4531.
- [30] J.D.F. Ramsay, B.O. Booth, *J. Chem. Soc., Faraday. Trans. I* **1983**, 79, 173-184.
- [31] E. Wagner, H. Brünner, *Angew. Chem.* **1960**, 72, 744.
- [32] A. van Blaaderen, A. Vrij, *Adv. Chem. Ser.* **1994**, 234, 83-111.
- [33] J. Bailey, M. Mecartney, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **1990**, 153, 153.
- [34] a) F. Kedzierewicz, X. Darne, A. Etienne, J. Lemut, M. Hoffman, P. Maincent, *J. Microencapsulation* **1988**, 15 (2), 227-236. b) M. Geck, B. Deubzer, M. Schmidt, F. Baumann, EP 0 744 432 **1996**. c) Y. Moriata, I. Toray, EP 1 074 576 **2000**. d) P.Y.K. Lo, M.J. Ziemells, EP 0 267 003 **1987**.
- [35] J.L. Woodhead, *Silicates Ind.* **1972**, 37, 191.
- [36] Y. Nakahara, K. Motohashi, Y. Tanaka, K. Miyata, *J. Jpn. Soc. Color Mater.* **1978**, 51, 521.
- [37] H. Yamauchi, H. Ishikawa, S. Kondo, *Colloids Surf.* **1989**, 37, 71.
- [38] H. Yamashita, M. Demiya, H. Mori, T. Maekawa, *J. Ceram. Soc. Jpn.* **1992**, 100, 1444.
- [39] Y. Moriya, N. Nishiguchi, M. Kawakami, R. Hino, *J. Ceram. Soc. Jpn.* **1995**, 103, 570.
- [40] M.A. Butler, P.F. James, J.D. Jackson, *J. Mater. Sci.* **1996**, 31, 1675.
- [41] H. Izutsu, F. Mizukami, P. K. Nair, Y. Kiyozumi, K. Maeda, *J. Mater. Chem.* **1997**, 7, 767-771.
- [42] P.S. Singh, K. Kosuge, *Chem. Lett.* **1998**, 101-102.
- [43] M. Grün, I. Lauer, K.K. Unger, *Adv. Mater.* **1997**, 9, 254-256.
- [44] Q. Huo, J. Feng, F. Schüth, G.D. Stucky, *Chem. Mater.* **1997**, 9, 14.

- [45] C.T. Kresge, M.E. Leonowicz, W.J. Roth, C.J. Vartuli, J.S. Beck, *Nature* **1992**, 359, 710.
- [46] Z. Shan, E. Gianotti, J.C. Jansen, J.A. Peters, L. Marchese, T. Maschmeyer, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 1437-1443.
- [47] R. Simonutti, A. Comotti, S. Bracco, P. Sozzani, *Chem. Mater.* **2001**, 21, 771-777.
- [48] T. Martin, A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, D. Plee, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 2702-2704.
- [49] H. Yang, G. Vovk, N. Coomb, I. Sokolov, G. A. Ozin, *J. Mater. Chem.* **1998**, 8, 743-750.
- [50] F. Baumann, B. Deubzer, M. Geck, J. Dauth, S. Sheiko, M. Schmidt, *Adv. Mater.* **1997**, 9, 955-958.
- [51] F. Baumann, B. Deubzer, M. Geck, J. Dauth, M. Schmidt, *Macromolecules* **1997**, 30, 7568-7573.
- [52] W. Stöber, A. Fink, E.J. Bohne, *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, 26, 62-69.
- [53] N.J. Jubb, H.K. Bowen, *J. Mater. Sci.* **1987**, 22, 1963-1970.
- [54] B. Feggley Jr., E.A. Barringer, *Better Ceramics Through Chemistry*, Mat. Res. Soc. Symp. Proc., **32** Ed., C.J. Brinker, D.E. Clark, D.R. Ulrich, New York, **1984**, S. 187-197.
- [55] C. Gellermann, Dissertation, Universität Würzburg, **1999**.
- [56] G. Kolbe, Dissertation, Universität Jena, **1956**.
- [57] H.D. Dörfler, *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, VCH, Weinheim **1994**.
- [58] C.J. Brinker, G.W. Scherer, *Sol-Gel Science*, 1st ed., Academic Press, Boston, **1990**, a) S. 21, b) S. 199, c) S. 237, d) S. 241, e) S. 251, f) 270-284, g) S. 585, h) S. 620.
- [59] A.K. van Helden, J.W. Jansen, A. Vrij, *J. Colloid Interface Sci.* **1981**, 81, 354-368.
- [60] G.H. Bogush, M. A. Tracy, C.F. Zukoski, *J. Non-Cryst. Solids* **1988**, 104, 95-106.
- [61] I. Flemming, *Grenzorbitale und Reaktionen organischer Verbindungen*, VCH, Weinheim **1990**.
- [62] G.H. Bogush, C.F. Zukoski, in: *Ultrastructure Processing of Advanced Ceramics*, Ed.: J.D. Mackenzie, D.R. Ulrich, J. Wiley and Sons, **1988**, S. 477-486.
- [63] C.G. Tan, B.D. Bowen, N.J. Epstein, *J. Colloid Interface Sci.* **1987**, 118, 290-293.
- [64] H. Giesche, *J. European Ceramic Soc.* **1994**, 14, 205-214.

- [65] E. Barringer, N. Jubb, B. Fegley, R.L. Pober, H.K. Bowen in: *Ultrastructure Processing of Ceramics, Glasses and Composites*, Ed.: L.L. Hench, D.R. Ulrich, J. Wiley and Sons Interscience, N.Y. **1984**, S. 315-333.
- [66] H. Giesche, E. Matijevic, *Dyes and Pigments* **1991**, *17*, 323-340.
- [67] T. Matsoukas, E. Gulari, *J. Colloid Interface Sci.* **1988**, *124*, 252-261.
- [68] A.P. Philipse, A. Vrij, *J. Colloid Interface Sci.* **1989**, *12*, 121-136.
- [69] A.P. Philipse, A. Vrij, *J. Colloid Interface Sci.* **1987**, *87*, 5634-5642.
- [70] A.P. Philipse, *Colloid Polym. Sci.* **1988**, *266*, 1174-1180.
- [71] A.K. van Helden, A. Vrij, *J. Colloid Interface Sci.* **1980**, *76*, 418-433.
- [72] D.A.R. Jones, B. Leary, D.V. Boger, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *147*, 479-495.
- [73] M. Chen, W.B. Russel, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *141*, 564-577.
- [74] B.J. Ackerson, *J. Rheol.* **1990**, *34*, 553-590.
- [75] S. Emmett, S.D. Lubetkin, B. Vincent, *Colloids Surf.* **1989**, *42*, 139-153.
- [76] H. Giesche, Dissertation, Universität Mainz, **1987**.
- [77] J. Livage und M. Henry, in: *Ultrastructure Processing of Advanced Ceramics*, Eds. F.D. Mackenzie, D.R. Ulrich, Wiley, New York **1988**, S. 183-195.
- [78] H. Giesche, *J. European Ceramic Soc.* **1994**, *14*, 189-204.
- [79] A. van Blaaderen, A. Vrij, *J. Colloid Interface Sci.* **1993**, *156*, 1-18.
- [80] K. Unger, H. Giesche, J. Kinkel, DE 3 534 143 A1 **1985**; DE 3 616 133 **1986**; US 4 775 520 **1988**.
- [81] H.A. Ketelson, M.A. Brook, R.H. Pelton, *Polymers for Advanced Technologies* **1995**, *6*, 335-344.
- [82] C. Gellermann, W. Storch, H. Wolter, *J. Sol-Gel. Sci. Technol.* **1997**, *8*, 173-176.
- [83] C. Beck, W. Härtl, R. Hempelmann, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1380-1382.
- [84] C.H. Byers, M.T. Harris, D.F. Williams, *Ind. Eng. Chem. Res.* **1987**, *26*, 1916-1923.
- [85] M.T. Harris, R.R. Brunson, C.H. Byers, *J. Non-Cryst. Solids* **1990**, *121*, 307-403.
- [86] T. Matsoukas, E. Gulari, *J. Colloid Interface Sci.* **1989**, *132*, 13-21.
- [87] S. Sadasivan, A.K. Dubey, Y. Li, D.H. Rasmussen, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1998**, *12*, 5-14.
- [88] K. Osseo-Asare, F. J. Arriagada, *Colloids Surf.* **1990**, *50*, 321.
- [89] S. Coenen, C.G. Kruif, *J. Colloid Interface Sci.* **1988**, *124*, 104-110.
- [90] A.P. Philipse, A. Vrij, *J. Chem. Phys.* **1987**, *87*, 5634-5643.
- [91] R.A. Assink, B.D. Kay, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **1984**, *32*, 301-306.

- [92] B.D. Kay, R.A. Assink, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **1986**, 73, 157-164.
- [93] A. Labrosse, A. Burneau, *J. Non-Cryst. Solids* **1997**, 221, 107-124.
- [94] A. van Blaaderen, J. van Geest, A. Vrij, *J. Colloid Interface Sci.* **1992**, 154, 481-501.
- [95] L. Jelinek, P. Dong, C. Rojas-Pazos, H. Taibi, E. sz. Kovats, *Langmuir* **1992**, 8, 2152-2164.
- [96] A. Lecloux, J. Bronckart, F. Noville, *Colloids Surf.* **1986**, 19, 359-374.
- [97] H. Giesche, K.K. Unger, U. Müller, U. Esser, *Colloids and Surfaces* **1989**, 37, 93-113.
- [98] P.J. Davies, R. Deshpande, D. M. Smith, C.J. Brinker, R.A. Assink, *J. Non-Cryst. Solids* **1994**, 167, 295-306.
- [99] G.H. Bogush, C.J. Brinker, P.D. Majors, D.M. Smith, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **1990**, 180, 491-494.
- [100] *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 62nd ed.; CRC: Boca Raton; S. 143, Verbindung Nr. S. 111.
- [101] L.T. Zhuravlev, *Langmuir* **1987**, 3, 316-318.
- [102] L.T. Zhuravlev, *Colloids Surf. A* **1993**, 74, 71.
- [103] A. Burneau, B. Humbert, *Colloids Surf. A* **1993**, 75, 111.
- [104] E.P. Plueddeman, *Silane Coupling Agents*, 2. ed., Plenum Press, N.Y. **1992**, S. 63-70.
- [105] G.H. Bogush, C.F. Zukoski, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, 142, 1-18.
- [106] G.H. Bogush, C.F. Zukoski, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, 142, 19-34.
- [107] V.K. LaMer, R.H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 4847-4854.
- [108] T. Matsoukas, E. Gulari, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, 145, 557.
- [109] T. Nakagawa, T. Hiwatashi, *J. Non-Cryst. Solids* **2003**, 316, 228-237.
- [110] G.H. Bogush, C. Zukoski in: *The Colloid Chemistry of Graving Silica Spheres*, Ceramic Microstructures **1986**, Plenum Press, N.Y. **1987**, S. 475-483.
- [111] G.H. Bogush, L.G. Dickstein, P. Lee, C.F. Zukoski, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **1988**, 121, 57-65.
- [112] S. Kim, C.F. Zukoski, *J. Colloid Interface Sci.* **1990**, 139, 198-212.
- [113] A.C. Macrides, M. Turner, J. Slaughter, *J. Colloid Interface Sci.* **1973**, 73, 345-367.
- [114] A.E. Nielsen, *Kinetics of Precipitation*; Pergamon Press, Oxford **1964**.
- [115] P.T. Feeney, D.H. Napper, R.G. Gilbert, *Macromolecules* **1984**, 17, 2570-.
- [116] J.K. Bailey, M.L. Cartney, *Colloids Surf.* **1992**, 63, 151-161.

- [117] M.T. Harris, O.A. Basaran, C.H. Byers, in *Ceramic Transactions*, Vol. 12, ed. G.L. Messing, S.-I. Hirano, Hausner, Am. Ceram. Soc., Westerville **1990**, 119-127.
- [118] H.P. Rothbaum, A.G. Rohde *J. Colloid Interface Sci.* **1979**, *71*, 533-559.
- [119] K.D. Keefer, D.W. Schaefer, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56* (22), 2376.
- [120] D.W. Schaefer, K.D. Keefer, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* **1986**, *72*, 277-287.
- [121] D. Horn, J. Rieger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4460-4492.
- [122] a) O. Naomi, W. Yukata, M. Sumio, U. Hiroshi, M. Yoshimi, EP 767 074 **1997**; b) H.T. Brmoley, C.J. Bastian, US 4 911 830 **1990**; c) B. Schlennert, G. Lugert, US 5 591 787 **1997**.
- [123] R. Miller, C. Payne, US 3 930 063 **1975**.
- [124] J.B. Noar, L. Tadesse, K.F. Buechler, US 5 763 189 **1998**.
- [125] J.M. Lehn, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1304.
- [126] R.A. Bissel, A.P. de Silva, S.A. de Silva, H.Q.N. Gunaratne, P.L.M Lynch, G.E.M. Maguire, K.R.A.S. Sandanayake, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, *21*, 187.
- [127] A.P. de Silva, H.Q. Nimal Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A.J.M. Huxley, C.P. McCoy, J.T. Rademacher, T.E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566.
- [128] a) W.E. Moerner, M. Orrit, *Science* **1999**, *283*, 1670-1677. b) W.E. Moerner, T. Basché, *Angew. Chemie* **1993**, *105*, 537-557.
- [129] H.P. Lu, L. Xun, X.S. Xie, *Science* **1998**, *282*, 1877-1882.
- [130] T. Gensch, J. Hofkens, A. Hermann, K. Tsuda, W. Verheijen, T. Vosch, T. Christ, Th. Basché, K. Müllen, F.C. DeSchryver, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3970-3974.
- [131] X.S. Xie, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 598.
- [132] W. Tan, Z.Y. Shi, S. Smith, D. Birnbaum, R. Kopelman, *Science* **1992**, *64*, 2985.
- [133] A. Mayer, S. Neuenhofer, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1097-1126.
- [134] E. Koller, *Appl. Fluoresc. Technol.* **1989**, *1* (2), 1.
- [135] H. Lingeman, W.J.M. Underberg, A. Takdate, A. Hulshoff, *J. Liq. Chromatogr.* **1985**, *8*, 789.
- [136] J.A. Steinkamp, *Rev. Sci. Instrum.* **1984**, *55*, 1375.
- [137] L.M. Smith, J.Z. Sanders, R.J. Kaiser, P. Hughes, C. Dodd, C.R. Connell, C. Heiner, S.B.H. Kent, L.E. Hodd, *Nature* **1986**, *321*, 674.
- [138] a) E. Soini, I. Hemmilä, *Clin. Chem. Winston Salem NC* **1979**, *25*, 353; b) I. Hemmilä, *ibid.* **1985**, *31*, 359-370.
- [139] A.A. Lamola, J. Flores, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2530.

- [140] F. Watanabe, K. Miyai in: *Nonisotopic Immunoassay* (Hrsg.: T.T. Ngo), Plenum, New York **1988**, a) S.199, b) S. 202, c) S.187-197
- [141] A. Terence, *Particle Size Measurement*, Chapman Hall, 4. Aufl., **1990**, S. 483.
- [142] P.R. Griffiths, J. A. de Haseth, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, J. Wiley and Sons Interscience, New York **1986**, 196-202.
- [143] R.H. Müller; *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis*, Bd. 37, Wiss. Verl. Ges.: Stuttgart **1996**, S.100-108 und 160-176.
- [144] B. Schrader in: *Infrared and Raman Spectroscopy* **1995**, S. 214.
- [145] J.N. Hay, H.M. Raval, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3396-3403.
- [146] J. Hay, D. Porter, H. Raval, *Chem. Commun.* **1999**, 81-82.
- [147] L. Bozrget, R.J.P. Corriu, D. Leclercq, P.H. Mutin, A. Vioux, *J. Non-Cryst. Solids* **1998**, *242*, 81-91.
- [148] DE 199 49 779 A1 (IMT Mainz).
- [149] DE 197 04 875 A1.
- [150] S. Shibata, T. Yano, M. Yamane, *Proc. of SPIE (Sol-Gel Optics IV)* **1997**, *3136*, 68.
- [151] A. van Blaaderen, A. Vrij, *Langmuir* **1992**, *8*, 2921-2931.
- [152] H. Kawaguchi, *Prog. Polym. Sci.* **2000**, *25*, 1171-1210.
- [153] J. Kron, K. Rose, K.-J. Deichmann, G. Schottner, K.-H. Haas, 2. *Wörlitzer Workshop: Funktionelle Schichten – Adhäsive und antiadhäsive Oberflächen (Fördergemeinschaft „Dünne Schichten“ e.V.)*, Tagungsband **2000**.
- [154] J.F. Liebman, A. Greenberg, W.R. Dolbier Jr., in: *Fluorine-Containing Molecules*, VCH **1988**.
- [155] Y. Seimbille, J. Rousseau, F. Bénard, C. Morin, H. Ali, G. Avvakumov, G.L. Hammond, J.E. van Lier, *Seroids* **2002**, *67*, 765-775.
- [156] B.A. Bench, A. Beveridge, W.M. Sharman, G.J. Diebold, J.E. van Lier, S.M. Gorun, *Angew. Chem.* **2002**, *41*, 773-776.
- [157] R. Roesler, B.J.N. Har, W.E. Piers, *Organometallics* **2002**, *21*, 4300-4302.
- [158] B.A. Bench, W.W. Brennessel, H.-J. Lee, S.M. Gorun, *Angew. Chem.* **2002**, *41*, 776-780.
- [159] H. Kawaguchi, *Prog. Polym. Sci.* **2000**, *25*, 1171-1210.
- [160] R. Reisfeld, *J. Alloys Comp.* **2000**, *300-301*, 147-151.
- [161] D. Parker, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 3613-3628.

- [162] K. Czarnobaj, M. Elbanowski, Z. Hnatejko, A.M. Klonkowski, S. Lis, M. Pietraszkiewicz, *Spectrochimica Acta Part A* **1998**, *54*, 2183-2187.
- [163] A.M. Klonkowski, S. Lis, Z. Hnatejko, K. Czarnobaj, M. Pietraszkiewicz, M. Elbanowski, *J. Alloys Comp.* **2000**, *300-301*, 55-60.
- [164] A.P.B. Sinha, *Spectroscopy in Inorganic Chemistry*, Vol. 2; C.N.R. Rao, J.R. Ferraro, Academic Press, N.Y. **1971**, S. 255-288.
- [165] V. Bekiari, G. Pistolis, P. Lianos, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3189-3195.
- [166] H. Li, S. Inoue, K. Machida, G. Adachi, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3171-3176.
- [167] T. Saraidarov, R. Reisfeld, M. Pitraszkiewicz, *Chem. Phys. Letters* **2000**, *330*, 515-520.
- [168] R. Reisfeld, M. Zelner, A. Patra, *J. Alloys Comp.* **2000**, *300-301*, 147-151.
- [169] R. Reisfeld, *Opt. Mater.* **2001**, *16*, 1-7.
- [170] W. Bunge in: Houben Weyl, *Methoden der Organischen Chemie*, Hrsg.: E. Müller, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1959**, Band I/2, S. 765-868.
- [171] b) D.D. Perrin, W.L.F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3. Auflage, Pergamon Press, Oxford **1988**.
- [172] K. Kalyanasundaram, M. Neumann-Spallart, *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 5163-5169.
- [173] J.C. Biazotto, H.C. Sacco, K.J. Ciuffi, A.G. Ferreira, O.A. Serra, Y. Iamamoto, *J. Non-Crystalline Solids* **2000**, *273*, 186-192; *ibid.*, 100-108; *ibid.*, 150-158.
- [174] T.M. Riddick in: Zeta-Meter Manual, Zeta-Meter Inc., New York **1968**.
- [175] B.J. Holliday, C.A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2076-2098.
- [176] M.M. Collinson, B. Noack, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2002**, *23*, 215-220.
- [177] J.-L. Liang, J.-S. Huang, Z.-Y. Zhou, K.-K. Cheung, C.-M. Che, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2306-2317.
- [178] J.R. Lakowicz, Z. Murtaza, WO 00/43536 **2000**.
- [179] Y. Zhao, A. Richman, C. Storey, N.B. Radford, P. Pantano, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 3887-3893.
- [180] M. Ahmad, N. Mohammad, J. Abdullah, *J. Non-Cryst. Solids* **2001**, *290*, 86-91.
- [181] Z. Chen-Esterlit, S.F. Peteu, H.A. Clark, W. McDonald, R. Kopelman, *Advances in Fluorescence Sens Technology IV*, SPIE **1999**, *3602*, 156-163.
- [182] a) M.F. Ewards, T. Instone, *Powder Technol.* **2001**, *119*, 9-13; b) F. Fanks, *Cryo-Letters* **1990**, *11*, 93-110.
- [183] Y.N. Konan, R. Gurny, E. Allemann, *Int. J. Pharm.* **2002**, *233*, 239-252.

-
- [184] S. Brunauer, P.H. Emmet, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309.
- [185] S. Brunauer, L.S. Deming, W.S. Deming, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 1723.
- [186] S.J. Gregg, K.S.W. Sing, *Adsorption, Surface Area and Porosity*, Academic Press, London, **1982**.
- [187] A. van Blaaderen, A.P.M. Kentgens, *J. Non-Cryst. Solids* **1992**, *149*, 161-178.
- [188] G. Lagaly, O. Schulz, R. Zimehl, *Dispersionen und Emulsionen*, Steinkopff Verlag, Darmstadt, **1997**, Kap. 9.
- [189] DIN 66134: 1995-09, Mesoporenanalyse durch Stickstoffsorption nach Barrett, Joyner und Halenda.
- [190] DIN 66131: 1973-10, Bestimmung der spezifischen Oberfläche von Feststoffen durch Gasadsorption nach Brunauer, Emmett und Teller.
- [191] G.A. Crosby, R.E. Whan, J.J. Freeman, *J. Phys. Chem.* **1962**, *66*, 2493.