

Synthese und Assemblierung kolloidaler  
anorganischer Nanopartikel zur  
Untersuchung der elektronischen Kopplung  
mit Fluorophoren

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades „Doktor der Naturwissenschaften“ im  
Promotionsfach Chemie

dem Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz vorgelegt von

Anne Maier (geb. Bottin)

geboren in Lübz

Mainz, 2021

D77

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 04. Juli 2022

*Meinen Eltern*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Theoretische Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1. Plasmonische Goldnanopartikel . . . . .	5
2.1.1. Optische Eigenschaften von metallischen Nanopartikeln . . . . .	5
2.1.2. "Hot Spots": Kopplung der Partikelplasmonen zweier benachbar- ter Goldnanopartikel . . . . .	10
2.1.3. Wechselwirkungen eines Fluorophors mit dem plasmonischen Nahfeld	14
2.2. Halbleiternanokristalle . . . . .	19
2.2.1. Grundlegendes zu den physikalischen Eigenschaften von Halblei- ternanokristallen . . . . .	19
2.2.2. Synthese von Halbleiternanokristallen . . . . .	21
2.2.3. Oberflächenchemie von Halbleiternanokristallen . . . . .	23
2.2.4. Kern-Schale-Halbleiternanokristalle . . . . .	25
2.2.5. Energie- und Ladungstransfer mit Halbleiternanokristallen . . . . .	26
2.2.6. Spektroskopische Methoden für die Untersuchung von Energie- und Ladungstransfer . . . . .	29
<b>3. Experimenteller Teil</b>	<b>32</b>
3.1. Synthese und Assemblierung von Goldnanopartikeln (GNPs) . . . . .	32
3.1.1. Synthese und Charakterisierung der GNPs . . . . .	32
3.1.2. Funktionalisierung der GNPs . . . . .	36
3.1.3. Assemblierung der GNPs mit WSCP . . . . .	38
3.2. Synthese der Halbleiternanokristalle (QDs) und der Komplexe mit Pery- lendiimid bzw. Terrylendiimid . . . . .	39
3.2.1. Precursor-Lösungen . . . . .	39
3.2.2. Synthese der CdSe-Halbleiternanokristalle . . . . .	40
3.2.3. Synthese der CdSe/CdS/ZnS Kern-Schale-Halbleiternanokristalle	40
3.2.4. Synthese der CdTe/CdSe/ZnS Kern-Schale-Halbleiternanokristalle	41
3.2.5. Synthese der CdSe- und CdSe/CdS/ZnS-Perylendiimid-Komplexe	43
3.2.6. Synthese der CdTe/CdSe/ZnS-Terrylendiimid-Komplexe . . . . .	44
3.2.7. Verwendete Chemikalien . . . . .	44
3.3. Methoden . . . . .	46
3.3.1. Statische Spektroskopie . . . . .	46

3.3.2.	Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie . . . . .	46
3.3.3.	Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) . . . . .	47
<b>4.</b>	<b>Nanoantennen für die Fluoreszenzverstärkung von WSCP</b>	<b>48</b>
4.1.	WSCP und elektronische Wechselwirkungen mit dem plasmonischen Nahfeld	50
4.2.	Bindung von WSCP an citrat-stabilisierte Goldnanopartikel . . . . .	55
4.3.	Biotin-Streptavidin vermittelte Bindung von WSCP an Goldnanopartikel . . . . .	62
4.3.1.	Assemblierung Streptavidin-stabilsierter GNPs . . . . .	64
4.3.2.	Assemblierung Polyethylenglycol-stabilsierter GNPs . . . . .	83
4.4.	Untersuchung der GNP-WSCP-Aggregate mit Cryo-TEM . . . . .	93
4.5.	Anreicherung der Nanoantennen . . . . .	99
4.5.1.	Viskositätsgradientenzentrifugation . . . . .	99
4.5.2.	Abstandsabhängigkeit der Plasmonenresonanz . . . . .	108
4.5.3.	Gelelektrophorese . . . . .	113
4.5.4.	Fazit . . . . .	120
4.6.	Untersuchung der WSCP-Fluoreszenz an Goldnanoantennen . . . . .	120
4.6.1.	Überprüfung des Messprinzips . . . . .	121
4.6.2.	Polarisationsabhängigkeit des Dimerplasmons . . . . .	124
4.6.3.	Fluoreszenzverstärkung von WSCP an GNP-Dimeren . . . . .	126
4.6.4.	Fazit . . . . .	131
<b>5.</b>	<b>Elektronische Kopplung von Halbleiternanokristallen und Perylendiimid</b>	<b>133</b>
5.1.	Charakterisierung der Halbleiternanokristalle . . . . .	135
5.2.	Statische spektroskopische Untersuchungen . . . . .	138
5.3.	Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie . . . . .	144
5.4.	Transiente Absorptionsspektroskopie . . . . .	147
5.4.1.	Anregung der CdSe-Nanokristalle in den Komplexen . . . . .	147
5.4.2.	Anregung des Perylendiimids in den Komplexen . . . . .	152
5.5.	Zusammenfassung und Fazit . . . . .	155
<b>6.</b>	<b>Synthese von CdTe/CdSe/ZnS-Kern-Schale-Nanokristallen</b>	<b>159</b>
6.1.	Zweistufige Synthese der CdTe/CdSe-Struktur . . . . .	160
6.1.1.	Zweistufige Synthese der CdTe/CdSe-Struktur bei höheren Reak- tionstemperaturen . . . . .	165
6.1.2.	Einfluss des Ligandenanteils in der Reaktionslösung und des Vor- stufenvolumens auf die Synthese . . . . .	168
6.2.	Einstufige Synthese CdTe/CdSe-Struktur . . . . .	171
6.3.	Beschichtung der CdTe/CdSe-Struktur mit ZnS . . . . .	175
6.4.	Hydrophilisierung der QDs durch Ligandenaustausch mit Dihydroliponsäure	178
6.5.	Energie- und Ladungstransfer mit LHCII und Methylviologen . . . . .	178

6.6. Komplexe mit Terrylendiimid . . . . .	181
6.7. Fazit . . . . .	184
<b>7. Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>186</b>
<b>Literatur</b>	<b>193</b>
<b>A. Anhang</b>	<b>I</b>
A.1. Nanoantennen für die Fluoreszenzverstärkung von WSCP . . . . .	I
A.1.1. TEM-Aufnahmen der verwendeten GNPs . . . . .	I
A.1.2. Bindung von WSCP an citrat-stabilisierte GNPs . . . . .	VI
A.1.3. Einfluss der Biotin-Position und Verwendung von WSCP-Varianten aus virginischer Kresse . . . . .	IX
A.1.4. Viskositätsgradientenzentrifugation an citrat- und PEG-stabilisierten GNP-WSCP-Aggregaten . . . . .	XII
A.1.5. Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie . . . . .	XIII
A.1.6. Durchführung der kombinierten Rasterkraft-/Fluoreszenzmikroskopie	XVII
A.1.7. Exemplarische Fluoreszenzzeitspuren von reinem WSCP . . . . .	XIX
A.1.8. Extinktionsspektren der verwendeten WSCP-GNP-Proben . . . . .	XX
A.2. Elektronische Wechselwirkung von CdSe-QDs und PDI . . . . .	XXI
A.2.1. Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektren . . . . .	XXI
A.2.2. Transiente Absorptionsspektroskopie . . . . .	XXIV
A.3. Synthese von CdTe/CdSe/ZnS-QDs . . . . .	XXVII
<b>Danksagung</b>	<b>i</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>iii</b>



# 1. Einleitung

Der Anwendungsbereich anorganischer Nanopartikel erstreckt sich von Kosmetika und Lebensmitteln [1, 2], über den Einsatz in der Medizin [3, 4] bis hin zu optoelektronischen Anwendungen wie LEDs [5, 6] oder Solarzellen [7, 8]. Die Vielfältigkeit möglicher Anwendungen spiegelt sich auch in der Zahl wissenschaftlicher Journale, welche sich dem Themenbereich widmen, wider: Existierte 1990 ein „Nano“-Journal, stieg die Zahl bis 2012 auf 161 [4].

Anorganische Nanopartikel zeichnen sich durch ihre einzigartigen magnetischen, optischen und elektronischen Eigenschaften aus, welche sich enorm von denen des korrespondierenden makrokristallinen Materials unterscheiden können [9]. Als Beispiele sind superparamagnetische Eisenoxidnanopartikel [10] und die opto-elektronischen Eigenschaften von Halbleiternanokristallen [11–13] und von metallischen Nanopartikeln [14–16] zu nennen. Ein Vertreter der letztgenannten liefert das vielleicht eindrucklichste Beispiel für die unterschiedlichen Eigenschaften des Bulkmaterials und des entsprechenden nanoskopischen Materials: Lösungen kolloidaler Goldnanopartikel weisen eine intensive rubinrote Farbe auf – im Gegensatz zum metallisch glänzenden makroskopischen Gold. Der Zusammenhang zwischen den verschiedenen intensiven Farben kolloidaler Goldnanopartikellösungen und der Größe der Goldpartikel wurde von Michael Faraday im Jahre 1857 beschrieben [17]. Diese Abhandlung wird heute als eines der ersten Beispiele für Nanopartikel in einem wissenschaftlichen Kontext betrachtet [18]. Den Beginn moderner nanowissenschaftlicher Forschung markiert die Beschreibung der Größenabhängigkeit der elektronischen Struktur von Halbleiternanokristallen in den 1980ern [19–21].

Beide letztgenannten Arten anorganischer Nanopartikel, Halbleiternanokristalle und Goldnanopartikel, sind in verschiedenen Kontexten Thema der vorliegenden Arbeit und sollen im Folgenden kurz umrissen werden. Obwohl sich beide Materialien hinsichtlich der Art ihrer opto-elektronischen Eigenschaften unterscheiden, ist ihnen die Größenabhängigkeit dieser gemein. Die Größenabhängigkeit der optischen Eigenschaften erlaubt die flexible Anpassung von Nanopartikeln für die gewünschten Anwendungen mit Hilfe der Variation der Kristall- bzw. Partikelgrößen und -formen [22–25]. Diese Modifizierung der optischen Eigenschaften ist in makrokristallinen Systemen nicht möglich.

Befindet sich ein Goldnanopartikel in einem elektromagnetischen Feld geeigneter Wellenlänge, oszillieren die freien Elektronen des Leitungsbandes resonant mit der Frequenz des einfallenden Feldes. Diese kollektive Oszillation der Elektronen wird als Plasmon bezeichnet. Der Partikel kann als elektrischer Dipol betrachtet werden, welcher resonant

---

das einfallende Licht streut und absorbiert. Daher werden die Partikel auch als „Nanoantennen“ bezeichnet. Die beschriebenen Vorgänge sind die Ursache für die von Faraday beschriebenen Farben der kolloidalen Lösungen. Die Resonanzbedingung hängt dabei von der Größe und der Form der Partikel sowie der dielektrischen Konstante des umgebenden Mediums ab [15]. Das Plasmon führt zu großen Feldverstärkungen in der nahen Umgebung der Partikel. Zusammen mit der chemischen Inertheit und der Möglichkeit, Goldnanopartikel in verschiedenen Kristallformen und -größen zu synthetisieren [26–28] und verschiedenartig zu funktionalisieren [29, 30], begründen diese Feldverstärkungen das enorme Forschungsinteresse an plasmonischen Goldnanopartikeln. Sie finden auf vielfältigen Gebieten Anwendung: Die Abhängigkeit der Resonanzfrequenz vom umgebenden Medium ermöglicht deren Einsatz als Sensoren [31–34]. Das plasmonische Nahfeld verstärkt die elektronischen und vibronischen Übergänge von Molekülen: Goldnanoantennen können die Wirkungsquerschnitte von Ramanstreuung verstärken [35, 36], sodass sogar die Messung von Raman-Spektren einzelner Moleküle an Goldnanopartikelstrukturen möglich [37] ist. Das Plasmon kann auch die Übergangsraten und Anregungsraten von Fluorophoren so beeinflussen, dass deren Fluoreszenz verstärkt wird [38–42].

Die optischen Eigenschaften von Halbleiternanokristallen (QDs) prädestinieren diese für den Einsatz in optoelektronischen Anwendungen wie LEDs [6, 43, 44] und Solarzellen [8, 43, 45] oder als fluoreszierende Marker in biologischen Systemen [46]. Das Forschungsgebiet durchlief in den letzten 30 Jahren eine rasante Entwicklung, sodass sie mittlerweile unter dem Schlagwort „Quantum Dot Display“ Anwendung in LED-Fernsehern diverser Hersteller finden [47]. Die Entdeckung der Größenabhängigkeit der Bandlücke von QDs in den 1980er Jahren geht auf die Arbeiten von Aleksey Ekimov [48], Alexander Efros [49], Louis Brus [50] und Armin Henglein [20] zurück. Die Größenabhängigkeit der Bandlücke ist auf die räumliche Beschränkung des Exzitons (Elektron-Loch-Paar) auf die Kristallgröße und die damit verbundene Quantisierung der Energieniveaus an den Bandkanten zurückzuführen: Das Resultat sind mit Hilfe der Variation der Kristallgröße in ihrer Wellenlänge steuerbare Absorptions- und Fluoreszenzspektren. Neben der Größenabhängigkeit der Bandlücke sind zwei weitere herausragende Eigenschaften zu nennen, welche das Forschungsinteresse an nanokristallinen Halbleiterpartikeln bedingen: In ihnen können nach Absorption eines Photons mit höherer Energie als deren Bandlücke mehrere Exzitonen erzeugt werden (Multi-Exziton-Generierung) [51, 52], und Exzitonen mit höherer Energie als die Bandlücke können in Ladungstransferanwendungen genutzt werden („heiße“ Exzitonen) [53, 54]. Standen zunächst die Untersuchung der elektronischen Eigenschaften [11, 13, 19] und die Verbesserung/Vereinfachung der Synthese [12, 55–57] im Fokus, beschäftigt sich die aktuelle Forschung mit dem fundamentalen Verständnis der Wechselwirkungen von QDs mit ihrer direkten Umgebung [24, 58, 59].

Für eine weitere Optimierung der Anwendungen sowohl von plasmonischen Goldnanopartikeln als auch von Halbleiternanokristallen ist das Verständnis von deren elektronischen Wechselwirkungen mit umgebenden Molekülen essentiell. Hierzu werden möglichst einfa-

che Modellsysteme benötigt.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befasst sich mit dem Aufbau von Goldnanoantennen zur Untersuchung der Wechselwirkung des plasmonischen Nahfeldes mit Fluorophoren. Dazu werden sphärische Goldnanopartikel zu Dimeren assembliert, welche als Nanoantennen für die Fluoreszenzverstärkung von Chlorophyll *a* fungieren sollen. Dabei ist das Chlorophyll *a* in einer Proteinmatrix gebunden, dem sogenannten wasserlöslichen Chlorophyll bindenden Protein (WSCP). Dieses ist außergewöhnlich stabil [60] und schützt die vier gebundenen Chlorophylle vor äußeren Einflüssen, insbesondere Sauerstoff [61]. Mit Hilfe von in der Proteinmatrix integrierten funktionellen Einheiten dient das Protein nicht nur als Chlorophyll-Träger, sondern vermag auch als Verbindungseinheit für die Goldnanopartikel zu dienen, sowie einen ausreichend großen Abstand zwischen den Goldnanopartikeln und dem Chlorophyll *a* zu gewährleisten, um einen Energietransfer von den Chlorophyllen auf die Goldnanopartikel zu verhindern [34].

Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit den elektronischen Wechselwirkungen von QDs und einem organischen Farbstoff. Hierzu wird ein von der Arbeitsgruppe Basché entwickeltes, einfach aufzubauendes System aus einem mit Carboxylatankern versehenen Perylendiimidderivat und CdSe-basierten QDs verwendet [62]. Die hierzu vorgestellten Ergebnisse sind eine Weiterführung der Arbeiten von Ting Ren, die Energietransfer von mit Zinksulfid passivierten CdSe-Nanokristallen auf den Farbstoff untersuchte [63]. Mit dem Einsatz von QDs geeigneter elektronischer Struktur können in den Systemen QDs und Perylendiimid selektiv angeregt werden, was die Untersuchung der ablaufenden Prozesse vereinfacht.

Durch die Wahl geeigneter Halbleitermaterialien können auch Kern-Schale-Nanokristalle synthetisiert werden, welche sich durch eine räumliche Trennung der Ladungsträger (Elektron und Loch) auszeichnen. Mit der Synthese solcher Partikel, bestehend aus einem Cadmiumtellurid-Kern und Cadmiumselenid-Schalen, abschließend passiviert mit Zinksulfid beschäftigt sich der dritte Teil der Arbeit. Zum einen wurden die elektronischen Wechselwirkungen dieser mit dem Lichtsammelkomplex II (durchgeführt von Dr. Mara Werwie aus der Arbeitsgruppe Paulsen an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz) untersucht. Zum anderen wurde überprüft, ob auch ein Perylendiimidderivat, wie der Lichtsammelkomplex II, [64], als Energiedonor für die Kristalle agieren kann.

In Kapitel 2 werden die theoretischen Grundlagen zu plasmonischen Nanopartikeln und fluoreszierenden Halbleiternanopartikeln behandelt. Dabei wird zunächst auf die elektronischen Eigenschaften der plasmonischen (Gold)-nanopartikel eingegangen, im Anschluss daran werden die möglichen elektronischen Wechselwirkung des plasmonischen Nahfeldes mit Fluorophoren diskutiert. Im zweiten Abschnitt des Kapitels werden die grundlegenden physikalisch-chemischen und elektronischen Eigenschaften von Halbleiternanopartikeln zusammengefasst. Das Kapitel endet mit einem Überblick über den Energie- und Ladungstransfer mit Halbleiternanopartikeln.

Die Synthese der Nanopartikel und der Konjugate mit WSCP bzw. Perylendiimid sowie

---

die experimentellen Methoden werden in Kapitel 3 vorgestellt.

Kapitel 4 widmet sich dem Aufbau und den spektroskopischen Untersuchungen von WSCP-verbrückten Goldnanopartikel-Dimeren. Dabei werden zuerst die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Wechselwirkung der Partikelplasmonen mit dem WSCP diskutiert. Im Anschluss daran werden die verschiedenen Methoden zum Aufbau der Dimere in kolloidalen Lösungen vorgestellt. Dabei wird auch auf die Problematik der Evaluierung der Probenzusammensetzung eingegangen, bevor die Ergebnisse der Experimente zur Anreicherung der Dimere präsentiert werden. Die Extinktionsspektren von Dimerlösungen werden mit simulierten Daten verglichen. Das Kapitel schließt mit den einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen der WSCP-Fluoreszenz an Goldnanopartikel-Dimeren und dem Vergleich zu Messungen an reinem WSCP, welche von Marcus Held im Rahmen seiner Masterarbeit durchgeführt wurden.

Gegenstand des 5. Kapitels ist die elektronische Wechselwirkung von CdSe-Nanokristallen mit einem Perylendiimidderivat. Zunächst werden die hierfür synthetisierten QDs und der verwendete Farbstoff charakterisiert. Darauf folgen die Diskussion der Ergebnisse statischer Absorptions- und Fluoreszenzemissionspektroskopie, sowie die der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie. Die Resultate der von Dr. Lars Dworak (Arbeitsgruppe Prof. Wachtveitl, Goethe-Universität Frankfurt am Main) durchgeführten transienten Absorptionsspektroskopie werden im Anschluss erläutert und die ablaufenden Prozesse am Ende des Kapitels zusammengefasst und diskutiert.

Die Synthese sphärischer CdTe-Kern CdSe/ZnS-Schale-Partikel wird in Kapitel 6 vorgestellt. Zur Bindung an den Lichtsammelkomplex II und werden diese mit Hilfe eines Ligandenaustauschs in die wässrige Phase überführt. Die Untersuchung der elektronischen Wechselwirkungen in diesen Komplexen wurde von Dr. Mara Werwie (Arbeitsgruppe Prof. Paulsen, Johannes Gutenberg-Universität Mainz) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden kurz zusammengefasst. Darüber hinaus werden Komplexe mit einem Terrylendiimid-Derivat aufgebaut und überprüft, ob, in Analogie zu den Untersuchungen der Komplexe mit dem Lichtsammelkomplex [64], auch in diesen Komplexen ein Energietransfer vom Farbstoff auf die QDs stattfindet.

Die Arbeit schließt mit einer Zusammenfassung der durchgeführten Untersuchungen, wobei auch Ausblicke auf zukünftige Untersuchungen gegeben werden.

## 2. Theoretische Grundlagen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden die elektronischen Wechselwirkungen von Fluorophoren mit Goldnanopartikeln und Halbleiternanokristallen in verschiedenen Systemen untersucht. Im Folgenden werden die photophysikalischen Eigenschaften von Goldnanopartikeln und Halbleiternanokristallen erläutert und die möglichen elektronischen Wechselwirkungsmechanismen mit umgebenden Molekülen diskutiert.

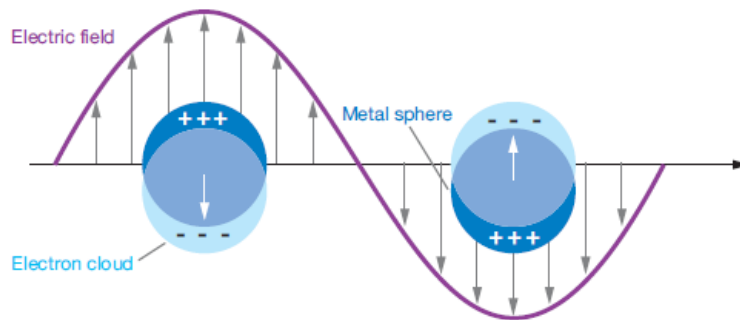
### 2.1. Plasmonische Goldnanopartikel

Befindet sich ein metallischer Nanopartikel in einem elektromagnetischen Feld geeigneter Wellenlänge kommt es zu großen Feldverstärkungen in der Umgebung des Partikels. Auf diesen Feldverstärkungen beruhen die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten metallischer Nanopartikel als Sensoren [31–34], als Verstärker von Ramanstreuung [35, 36] oder zur Fluoreszenzverstärkung [38–42].

Ein zentrales Ziel der Arbeit ist die Assemblierung von sphärischen Goldnanopartikeln (GNPs) zu Dimeren, welche als Nanoantennen für die Fluoreszenzverstärkung von Chlorophyll *a* fungieren sollen. Dazu werden im folgenden Abschnitt zunächst die grundlegenden opto-elektronischen Eigenschaften von metallischen Nanopartikeln diskutiert. Im Anschluss daran wird auf die elektronische Wechselwirkung von metallischen Nanopartikeln miteinander eingegangen, bevor die elektronische Interaktion von Fluorophoren mit metallischen Nanopartikeln beleuchtet wird.

#### 2.1.1. Optische Eigenschaften von metallischen Nanopartikeln

Ist die Größe eines metallischen Partikels kleiner als die Wellenlänge des eintreffenden elektromagnetischen Feldes, so ist dieses in der Lage, den Partikel vollständig zu durchdringen. Die Leitungsband-Elektronen des Partikels werden durch das einfallende Feld relativ zum Kristallgitter ausgelenkt. Dadurch wird der Partikel polarisiert. Die verbleibende positive Ladung wirkt als Coulomb-Anziehung auf die ausgelenkten Elektronen, so dass diese eine Rückstellkraft erfahren und kollektiv mit der Frequenz des einfallenden Feldes oszillieren [65]. Schematisch ist diese Wechselwirkung der Elektronen mit dem einfallenden elektromagnetischen Feld in Abbildung 2.1 skizziert. Die kollektive harmonische Oszillation der Elektronen wird als Partikelplasmon bezeichnet [66]. Das Plasmon selbst ist ein Quasiteilchen, welches die quantisierten Schwankungen der Ladungsträgerdichte im Festkörper



**Abbildung 2.1.:** Ein metallischer Nanopartikel im elektrischen Feld: Die Elektronen werden relativ zum Ionen-Gitter des Partikels ausgelenkt. Die positive Ladung auf der gegenüberliegenden Seite des Partikels wirkt als Rückstellkraft auf die durch das Feld ausgelenkten Elektronen. Dies führt zu einer kohärenten resonanten Oszillation des Elektronengases. Entnommen aus [68].

beschreibt. Das Plasmon ist für die Schwingungen der Leitungsbandelektronen das, was das Photon für die elektromagnetische Welle darstellt [67].

### Betrachtung der elektronischen Eigenschaften metallischer Nanopartikel im Rahmen der quasistatischen Annäherung

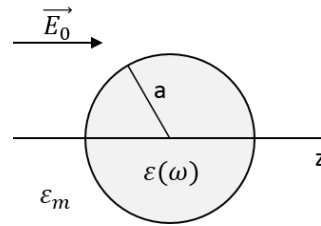
Im Folgenden soll die Resonanzfrequenz des Plasmons für metallische Partikel mit Durchmessern kleiner als die Wellenlänge des einfallenden Lichts hergeleitet werden. Hierfür genügt eine klassische Betrachtung des Systems.

Die Resonanzfrequenz des Plasmons, oder Plasmonenresonanzfrequenz, ist die Frequenz, bei der die Polarisierbarkeit des Partikels maximal wird [69]. Die Leitungsbandelektronen, bzw. das Partikelplasmon, oszillieren dann resonant mit der Frequenz des einfallenden Feldes.

Der Sachverhalt ist in Abbildung 2.2 skizziert: Ein Partikel befindet sich mit seinem Mittelpunkt am Ursprung eines homogenen elektrostatischen Feldes  $\vec{E}_0$ . Die Feldlinien sind parallel zur z-Achse ausgerichtet. Die Kugel mit der frequenzabhängigen materialspezifischen dielektrischen Funktion  $\epsilon(\omega)$  (mit  $\omega =$  Kreisfrequenz) ist von einem Medium mit der Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_m$  umgeben. Das einfallende Feld kann über das Partikelvolumen als konstant betrachtet werden, sodass zunächst eine elektrostatische Betrachtung zur Lösung des Problems genügt. Eine sehr ausführliche Diskussion und Herleitung gibt [69].

Um die Wechselwirkung des Partikels mit dem elektromagnetischen Feld zu beschreiben, ist zunächst die Kenntnis der dielektrischen Funktion des Materials erforderlich. Diese beschreibt die Durchlässigkeit des Materials für elektromagnetische Felder und wird typischerweise experimentell bestimmt<sup>1</sup>. Die dielektrische Funktion setzt sich aus einem

<sup>1</sup>Für Gold werden häufig die Daten von Johnson und Christy verwendet [70].



**Abbildung 2.2.:** Eine homogene Kugel mit dem Radius  $a$  in einem elektrostatischen Feld mit dem Feldvektor  $\vec{E}_0$  und der dielektrischen Funktion  $\epsilon(\omega)$ . Die Kugel ist von einem Medium mit der Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_m$  umgeben. Skizze nach [69].

Realteil und einem Imaginärteil zusammen und ist frequenzabhängig:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega) \quad (2.1)$$

Der Realteil  $\epsilon_1$  der dielektrischen Funktion beschreibt die Polarisierbarkeit des Materials durch das einfallende Feld. Der Imaginärteil  $i\epsilon_2$  beschreibt die Absorption des einfallenden elektromagnetischen Feldes durch das Material. Für weiterführende theoretische Betrachtungen der dielektrischen Funktion von Metallen wird an dieser Stelle auf [71] verwiesen. Im Folgenden wird der Übersichtlichkeit halber zunächst eine komplexe Dielektrizitätszahl  $\epsilon$  an Stelle der frequenzabhängigen Dielektrizitätsfunktion angenommen.

Durch das angelegte äußere Feld  $\vec{E}_0$  wird in der metallischen Kugel durch die zur Oszillation angeregten Leitungsbandelektronen ein Dipolmoment  $\vec{p}$  induziert. Dieses ist proportional zum einfallenden Feld [69]:

$$\vec{p} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_m a^3 \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \vec{E}_0. \quad (2.2)$$

Dabei sind  $\epsilon_0$  die elektrische Feldkonstante und  $a$  der Partikelradius.

Mit  $\vec{p} = \epsilon_0\epsilon_m\alpha\vec{E}_0$  ergibt sich für die Polarisierbarkeit  $\alpha$  [69]:

$$\alpha = 4\pi a^3 \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m}. \quad (2.3)$$

Wird die Polarisierbarkeit in Abhängigkeit von der Frequenz des einfallenden Feldes aufgetragen, wird ersichtlich, dass diese bei einer bestimmten Frequenz ein Maximum besitzt. Aus Gleichung 2.3 wird klar, dass dies im Falle eines Minimums für  $|\epsilon + 2\epsilon_m|$  passiert. Die Polarisierbarkeit des Partikels erfährt dann eine resonante Verstärkung. Ist der Imaginärteil von  $\epsilon(\omega)$  sehr klein oder ändert sich nur wenig, vereinfacht sich die Bedingung für die maximale Polarisierbarkeit zu:

$$\text{Re}[\epsilon(\omega)] = -2\epsilon_m. \quad (2.4)$$

Diese Gleichung wird auch als Fröhlich-Bedingung bezeichnet [69]. Es wird deutlich, dass

die Frequenz der resonanten Polarisierbarkeit eines metallischen Partikels sehr stark von der dielektrischen Umgebung des Partikels  $\epsilon_m$  abhängt. Die Resonanzfrequenz liegt für Goldnanopartikel im Bereich des sichtbaren elektromagnetischen Spektrums und begründet deren Einsatz als Sensoren [34], da sich die Resonanzfrequenz in Abhängigkeit des umgebenden Mediums ändert.

Die Resonanz von  $\alpha$  führt auch zu einer Verstärkung der internen und externen elektrischen Felder. Dies sind die eingangs erwähnten Feldverstärkungen, auf welchen die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten von Goldnanopartikeln für die Fluoreszenzverstärkung oder die Verstärkung von Raman-Streuung beruhen.

Aus den Feldgleichungen für das magnetische und das elektrische Nahfeld<sup>2</sup>, das intermediäre Feld und das Fernfeld<sup>3</sup> für oszillierende elektrische Dipole im Rahmen der quasi-statischen Näherung (die Felder sind zeitlich veränderlich, räumliche Änderungen können auf Grund der kleinen Partikelgrößen vernachlässigt werden) können dann zusammen mit dem Ergebnis der elektrostatischen Annäherung für  $\alpha$  aus Gleichung 2.3 die Absorptions- und Streuquerschnitte ( $C_{abs}$  und  $C_{sca}$ ) eines Partikels mit dem Radius  $a$  bestimmt werden [69]:

$$C_{sca} = \frac{k^4}{6\pi} |\alpha|^2 = \frac{8\pi}{3} k^4 a^6 \left| \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \right|^2 \quad (2.5a)$$

$$C_{abs} = k \operatorname{Im}[\alpha] = 4\pi k a^3 \operatorname{Im} \left[ \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \right], \quad (2.5b)$$

mit  $k = 2\pi/\lambda$ , wobei  $\lambda$  die Wellenlänge ist. Der Extinktionssquerschnitt  $C_{ext}$  ergibt sich aus der Summe von  $C_{sca}$  und  $C_{abs}$ :

$$C_{ext} = C_{sca} + C_{abs}. \quad (2.6)$$

Die resonant verstärkte Polarisierbarkeit führt also auch zu einer Verstärkung der Absorption und Streuung des Lichts durch den Partikel. Der Streuquerschnitt skaliert mit  $a^6$ , der Absorptionsquerschnitt mit  $a^3$ . Für sehr kleine Partikel mit  $a \ll \lambda$  dominiert der Absorptionsquerschnitt gegenüber dem Streuquerschnitt, für große Partikel dominiert der Streuquerschnitt.

Die Abhängigkeit der Polarisierbarkeit von der Partikelform kann ebenfalls im Rahmen der quasi-statischen Annäherung der Herleitung von  $\alpha$  gezeigt werden, in dem  $\alpha$  in ellipsoidalen Koordinaten bestimmt wird [69].

Aus der verhältnismäßig simplen Analyse der Wechselwirkungen eines Partikels mit dem elektromagnetischen Feld im Rahmen der quasi-statischen Annäherung, welche lediglich voraussetzt, dass es sich bei dem Partikel um einen metallischen Partikel handelte, folgen

---

<sup>2</sup>Das Nahfeld meint die sehr nahe Umgebung des Partikels. Der Abstand ist viel kleiner als die Wellenlänge des einfallenden Feldes.

<sup>3</sup>Das Fernfeld meint Abstände größer als die Wellenlänge des einfallenden Feldes.

bereits drei fundamentale Abhängigkeiten der Partikelplasmonenresonanz [65]:

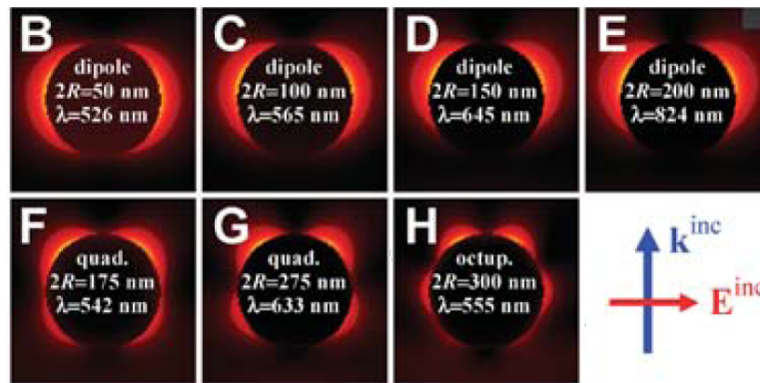
- von der dielektrischen Funktion des umgebenden Mediums,
- von der dielektrischen Funktion des Metalls und
- von der Partikelform.

### **Grenzen der quasistatischen Annäherung**

In der quasistatischen Näherung wird der Partikel als Punkt-Dipol betrachtet, welcher resonant zeitlich veränderliche elektromagnetische Felder absorbiert und streut. Streng genommen ist diese Annäherung nur für verschwindend kleine Partikelgrößen zulässig, nichtsdestotrotz beschreiben die aus der quasi-statischen Näherung erhaltenen Ergebnisse das Verhalten von Partikeln bis zu einem Durchmesser von 100 nm relativ gut [69]. Für größere Partikel haben Retardierungseffekte und höhere Moden der elektromagnetischen Felder einen zunehmenden Einfluss auf das optische Verhalten von metallischen Nanopartikeln.

Um die unterschiedlichen Farben kolloidaler Goldlösungen unterschiedlicher Partikelgröße zu erklären, entwickelte Gustav Mie 1908 eine komplette Theorie zur Streuung und Absorption von elektromagnetischer Strahlung an sphärischen Partikeln [72]. Mie löste dazu die Maxwell-Gleichungen in sphärischen Koordinaten für eine ebene elektromagnetische Welle, welche mit einem einzelnen sphärischen Partikel wechselwirkt. Für eine genaue Herleitung und Diskussion der Theorie sei an dieser Stelle auf [71, 73] verwiesen. Für kleine Partikel trägt nur die Dipolmode signifikant zum Extinktionsquerschnitt bei, wodurch die Mie-Theorie auf das Ergebnis der quasi-statischen Annäherung aus Gleichung 2.5 reduziert wird. Es sei darauf hingewiesen, dass die Partikelgröße, ab der auch höhere Moden berücksichtigt werden müssen, in der Literatur nicht einheitlich angegeben wird (100 nm in [69], 150 nm in [74], 20 nm in [75]). Für größere Partikel verläuft die kollektive Oszillation der Elektronen auf beiden Seiten des Partikels phasenverschoben, da die Ausbreitungsgeschwindigkeit der einfallenden elektromagnetischen Welle nicht unendlich hoch ist. Außerdem muss die Dämpfung des Feldes innerhalb des Partikels berücksichtigt werden, da dessen Eindringtiefe in das Material begrenzt ist. Dadurch kommt es zu einer Verringerung des Energieübertrags des einfallenden Feldes auf die Elektronen. Insgesamt führen die genannten Effekte zu einer Verschiebung der Resonanzfrequenz zu niedrigeren Energien und einer Verbreiterung der Linienbreite der Plasmonenresonanz [69].

Zur Verdeutlichung der Effekte sind in Abbildung 2.3 exemplarisch die Feldverstärkungen im Nahfeld von Partikeln mit unterschiedlichen Größen für Dipol-, Quadrupol- und Octupolmode gezeigt. Die Ausbreitung der Dipolfelder in den Abbildungen 2.3B bis E verändert sich in Abhängigkeit von der Partikelgröße deutlich. Der steigende Einfluss der Quadrupolmode ist in den Abbildungen 2.3F und G zu erkennen, auch deren Feldverteilung



**Abbildung 2.3.:** Mittels Mie-Theorie berechnete Feldverstärkungen im Nahfeld sphärischer Partikel, welche einem sich in x-Richtung ausbreitendem elektrischen Feld mit einem in y-Richtung gerichteten Wellenvektor wechselwirken. B-E: Dipolmoden für Partikel mit unterschiedlich großen Durchmessern. F-G: Quadrupol-Moden für Partikel mit großen Durchmessern H: Octupolmode.  $k^{inc}$  Wellenvektor des einfallenden Feldes,  $E^{inc}$  Feldvektor des einfallenden Feldes und  $R$  der Partikelradius. Entnommen aus [74].

ändert sich mit steigendem Partikeldurchmesser. Für sehr große Partikel mit einem Durchmesser von 300 nm ist auch die Feldstärke der Oktupolmode (Abbildung 2.3H) signifikant [74].

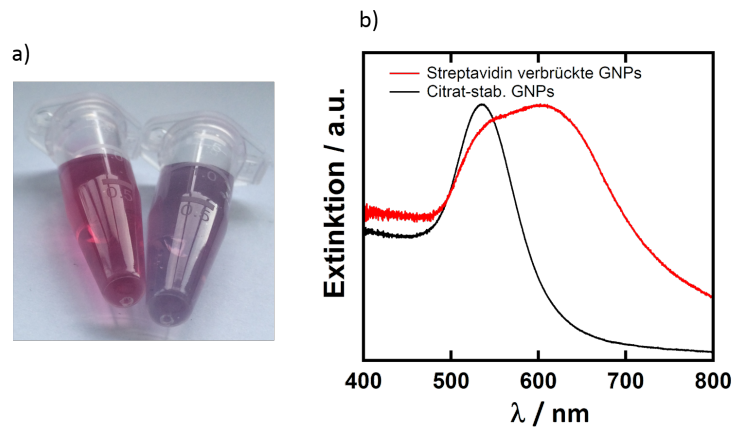
### 2.1.2. "Hot Spots": Kopplung der Partikelplasmonen zweier benachbarter Goldnanopartikel

In Kapitel 2.1.1 wurde gezeigt, dass die Polarisierbarkeit, und damit einhergehend die Extinktion eines metallischen Nanopartikels bei einer bestimmten Frequenz resonant verstärkt wird. Bei größeren Partikeln überwiegt der Streuanteil, während bei kleineren die Absorption einen größeren Anteil an der Gesamtextinktion hat. Die Resonanzfrequenz eines einzelnen Partikels ändert sich in Abhängigkeit seiner Größe, Form und Umgebung. Für eine einzelne sphärische Kugel können die Streu- und Absorptionsspektren analytisch mit Hilfe der Mie-Theorie bestimmt werden.

Befinden sich nun metallische Nanopartikel in enger Nachbarschaft zueinander, wechselwirken die elektrischen Nahfelder der Partikel. Das elektrische Feld  $\vec{E}$ , das jeder der beiden Partikel spürt, ist die Summe aus einfallendem Feld  $\vec{E}_0$  und dem Nahfeld  $\vec{E}_{NF}$  des benachbarten Partikels [16]:

$$\vec{E} = \vec{E}_0 + \vec{E}_{NF} \quad (2.7)$$

Das Resultat dieser elektromagnetischen Kopplung ist im Falle von GNPs eine Verschiebung der Resonanzfrequenz in den niederenergetischeren Bereich. Diese Verschiebung ist auf Grund der im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums liegenden Resonanzfrequenz mit bloßem Auge erkennbar, wie auf dem Foto in Abbildung 2.4a zu sehen ist. Hier wurden citrat-stabilisierte GNP mit Natriumphosphatpuffer versetzt. Die erhöhte

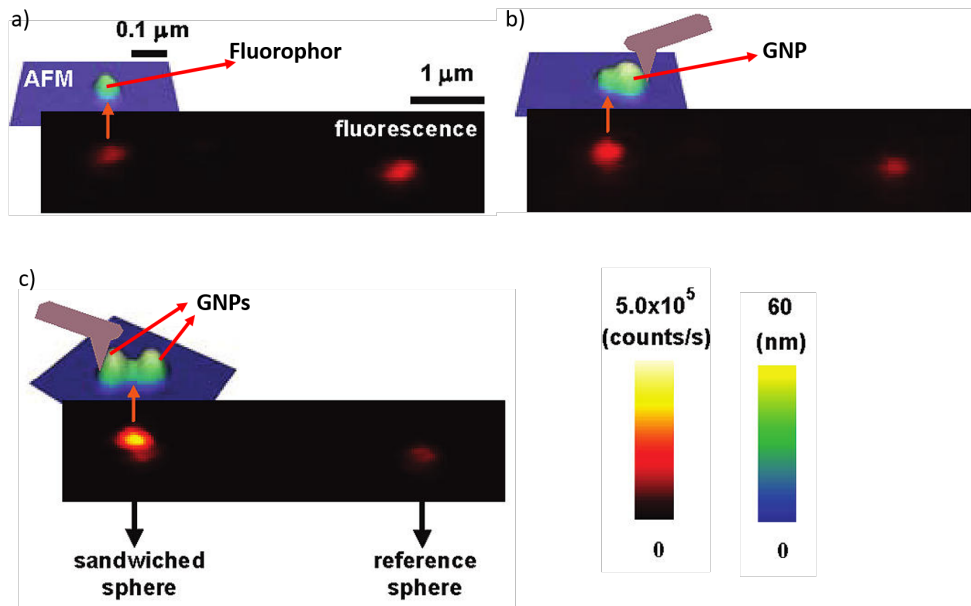


**Abbildung 2.4.:** a) Foto von Lösungen mit citrat-stabilisierten Goldnanopartikeln, links ohne und rechts mit Natriumphosphatpuffer b) Extinktionsspektren von citrat-stabilisierten Goldnanopartikeln (GNPs) und Streptavidin verbrückten Goldnanopartikeln

Salzfracht führt zu einer Reduzierung der elektrostatischen Abstoßung der Partikel [76]. Infolgedessen aggregieren die Partikel und die Lösung färbt sich von rot nach lila. Die GNPs können aber auch durch Verbrückung mit beispielsweise Proteinen zur Aggregation gebracht werden. Ein Beispiel ist in Abbildung 2.4b gezeigt: Die GNPs wurden hier mit dem Protein Streptavidin verknüpft, wodurch sich das Extinktionsmaximum auf Grund der Wechselwirkung der Partikelplasmonen gegenüber dem Spektrum der Monomerpartikel in den längerwelligen Bereich verschiebt. Das Ausmaß der Verschiebung ist dabei abhängig von der Aggregatgröße [77, 78]: Je größer die Aggregate sind, desto stärker ist die Verschiebung im Spektrum sichtbar, bzw. verfärbt sich die kolloidale Lösungen von rot über violett nach blau. Diese mit dem Auge verfolgbare Farbänderung begründet abermals den Einsatz von Goldnanopartikeln als Sensoren [29].

Im Folgenden sollen nun die photophysikalischen Eigenschaften des einfachsten GNP-Aggregats, eines aus zwei sphärischen Partikeln bestehenden GNP-Dimers, diskutiert werden. Die beschriebene Verschiebung der Plasmonenresonanz von GNPs ist nicht nur von der Aggregatgröße, sondern auch empfindlich vom Abstand der Partikeloberflächen abhängig. Dies ermöglicht den Einsatz von GNP-Dimeren als sogenannte *Plasmon-Ruler*: Je kürzer der Abstand zwischen beiden Partikeln ist, desto größer ist die Verschiebung des Plasmonenresonanzmaximums in den niederenergetischeren Bereich [79]. Die Abstandsabhängigkeit ermöglicht beispielsweise die Detektion von Konformationsänderungen von Proteinen, welche beispielsweise durch die Bindung an Moleküle hervorgerufen werden können [80]. Außerdem gestattet diese Abstandsabhängigkeit zusammen mit der Größenabhängigkeit der Resonanzfrequenz die Durchstimbarkeit der Resonanzfrequenz von GNP-Dimeren über einen relativ weiten Bereich im sichtbaren Spektrum.

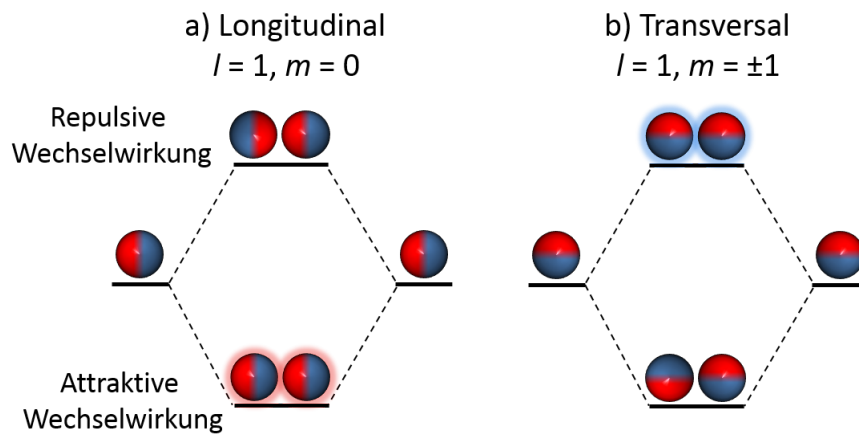
Abgesehen von der Verschiebung der Resonanzfrequenz kommt es auch zu Feldverstärkungen im Zwischenraum beider Partikel, welche über die an einem einzelnen Partikel



**Abbildung 2.5.:** Serie von rasterkraft- und fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen a) nur fluoreszierende Polystyrol-Kugel, b) fluoreszierende Polystyrol-Kugel mit einem mittels AFM-Spitze in der Nähe positioniertem GNP c) fluoreszierende Polystyrol-Kugel mit einem zweiten GNP, sodass sich diese im Zwischenraum beider GNPs befindet. Der Leuchtpunkt auf der jeweils rechten Seite der Fluoreszenzbilder stammt von einer fluoreszierenden Kugel, welche nicht mit den GNPs manipuliert wird und als Referenz dient. Entnommen und modifiziert aus [38].

vorliegenden Feldverstärkungen hinausgehen. Die Bereiche zwischen zwei Partikeln werden daher auch als *Hot Spots* bezeichnet.

Die Existenz dieser Hot-Spots kann beispielsweise an Hand der Fluoreszenzverstärkung von Fluorophoren nachgewiesen werden. Abbildung 2.5 zeigt eine Serie von rasterkraftmikroskopischen und fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen einer fluoreszierenden Polystyrol-Kugel ohne, mit einem und mit zwei GNPs [38]. Die GNPs wurden mit Hilfe des AFM-Cantilevers an der fluoreszierenden Kugel positioniert. Die Fluoreszenzintensität der Polystyrol-Kugel ist im Vergleich zur der Kugel ohne GNP um einen Faktor von 1,5 erhöht (Abbildung 2.5b). Wird ein zweiter GNP auf der gegenüberliegenden Seite bei der Kugel positioniert, so steigt der Wert auf 2,7 (Abbildung 2.5c). Mit Hilfe polarisationsaufgelöster Spektroskopie konnte in dem Experiment außerdem gezeigt werden, dass die Fluoreszenz nur verstärkt wird, wenn das GNP-Dimer mit entlang dessen Verbindungsachse polarisiertem Licht angeregt wird, das verstärkte Feld zwischen beiden GNPs also auch nur dann präsent ist. Eine nähere Diskussion bezüglich der Polarisationsabhängigkeit von gekoppelten Partikelplasmonen findet sich am Ende dieses Abschnitts.



**Abbildung 2.6.:** Schema zur Erklärung des Plasmonen-Hybridisierungsmodells. a) Das einfallende Feld ist parallel zur Dimerlängsachse ausgerichtet, die bindende Mode ist hell. Diese Mode heißt longitudinale Mode. b) Das einfallende Feld ist senkrecht zur Dimerlängsachse ausgerichtet, die anti-bindende Mode ist hell. Diese Mode heißt transversale Mode. Die beiden unterschiedlichen Farben sollen die unterschiedlichen Ladungen verdeutlichen. Skizze nach [84].

### Theoretische Betrachtung gekoppelter Partikelplasmonen

Die Feldverteilungen gekoppelter Partikelplasmonen können nicht mehr analytisch, sondern nur noch numerisch bestimmt werden. Es gibt eine Reihe von numerischen Methoden zur Berechnung der Feldverteilungen und Resonanzfrequenzen (zum Beispiel die Generalisierte Multipartikel Mie-Theorie (GMM) [81], die Diskrete Dipol-Annäherung (DDA) [79] und die Finite-Differenzen-Methode im Zeitbereich FDTD, [82]), welche aber im Rahmen dieser Arbeit nicht diskutiert werden sollen.

Eine anschauliche theoretische Beschreibung der Resonanzfrequenzen bzw. der Feldverteilungen an gekoppelten Partikelplasmonen liefert das "Plasmonen-Hybridisierungsmodell", welches an die Molekülorbital-Theorie angelehnt ist [83]. Analog der Bildung der Molekülorbitale aus den Atomorbitalen werden mittels Linearkombinationen der beteiligten Partikelplasmonen bindende und anti-bindende Dimerplasmonen gebildet, deren Energien auch abhängig vom Abstand der Partikeloberflächen sind. Ein kürzerer Abstand führt zu stärkerer Absenkung bzw. Anhebung der bindenden und anti-bindenden Moden. In Abb. 2.6 ist ein Schema zur Erläuterung gezeigt. Dabei ist  $l$  die Drehimpulsquantenzahl der Partikelplasmonen und  $m$  deren magnetische Quantenzahl.

Die Partikelplasmonen bilden entweder attraktive oder repulsive Dimerplasmonen. Es gibt zwei helle Moden: für  $m = 0$  (Abbildung 2.6a) die aus der attraktiven Wechselwirkung der Partikelplasmonen resultierende Dimermode und die für  $m = \pm 1$  (Abbildung 2.6b) resultierende Dimermode bei repulsiver Wechselwirkung beider Partikelplasmonen. Die erstgenannte kann nur mit entlang der Dimerverbindungsachse polarisiertem Licht angeregt werden, die zweite nur mit senkrecht zur Dimerverbindungsachse polarisiertem

Licht. Die mit parallel zur Dimerverbindungsachse polarisiertem Licht anregbare Dimermode heißt deshalb auch longitudinale Mode. Sie ist energetisch gegenüber dem ungekoppelten System abgesenkt. Die andere helle Mode heißt transversale Mode, sie ist gegenüber den Partikelplasmonen zu höheren Energien verschoben. In den Extinktionsspektren von Dimeren sind daher zwei Resonanzpeaks zu beobachten. Ein Peak ist zu kleineren Wellenlängen verschoben (transversale Mode), einer zu größeren Wellenlängen (longitudinale Mode)[79].

Die Kopplung der beiden Quadrupolmoden der individuellen Partikelplasmonen, welche bei großen Partikelgrößen und kleinen Partikelabständen [83, 85] beobachtet werden kann, ist nicht gezeigt. Eine genaue Herleitung zur Berechnung der Dimerplasmonenergien findet sich in [83].

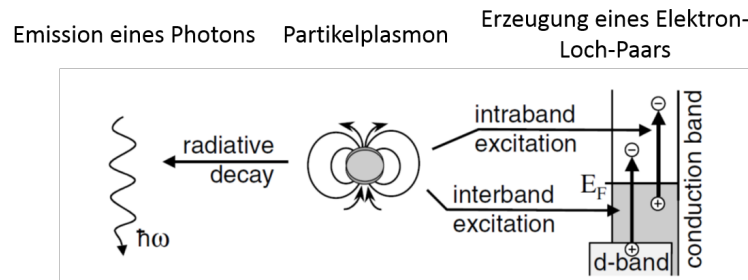
Abschließend soll nicht unerwähnt bleiben, dass alle an sphärischen Partikeln beschriebenen Effekte im Falle „kantiger“ Partikel, wie Nanostäbchen oder Nanoprismen, deutlich verstärkt auftreten. Daher eignen sich solche Partikel noch besser als Sensoren oder für oberflächenverstärkte Einzelmolekülramanmessungen (SMSERS, engl.: *Single Molecule Surface Enhanced Raman Spectroscopy*) [86]. Gegenstand der aktuellen Forschung ist deshalb auch die nasschemische Synthese solcher Strukturen [27, 28, 87].

### Dämpfung des Plasmons

Das Partikelplasmon wird durch verschiedene Prozesse gedämpft. Dabei wird zwischen dem strahlenden Zerfall, dem nicht-strahlenden Zerfall und der Dephasierung unterschieden [65]. Der strahlende Zerfall ist die Streuung des einfallenden Feldes durch das Partikelplasmon. Die Energie der Strahlung stammt aus der Energie, welche durch das einfallende Feld in das Plasmon hineingetragen wurde bzw. in ihm gespeichert ist. Zusätzlich zu diesem strahlenden Zerfall kann das Plasmon auch nicht-strahlend zerfallen: Die Interaktion des Metalls (z. B. Gold) mit einem resonanten elektromagnetischen Feld führt auch zur Bildung von Elektronen-Lochpaaren im Metall, die ihrerseits beispielsweise durch Elektron-Elektron-Streuung oder Elektron-Phononstreuung zerfallen [65]. Beide Prozesse sind in Abbildung 2.7 schematisch dargestellt. Die Dephasierung beschreibt die elastische Streuung des elektromagnetischen Feldes durch die quantisierten Zustände des Partikelplasmons. Dieser Effekt ist aber im Vergleich zu den anderen Dämpfungsmechanismen vernachlässigbar [65].

### 2.1.3. Wechselwirkungen eines Fluorophors mit dem plasmonischen Nahfeld

Die verstärkten elektrischen Felder an metallischen Nanopartikelstrukturen beeinflussen die elektronischen und vibronischen Übergänge in Molekülen. Die wohl prominenteste Anwendung ist die oberflächen-verstärkte Raman-Spektroskopie, bei welcher Verstärkungsfaktoren von bis zu  $10^{14}$  abgeschätzt wurden [89]. In der vorliegenden Arbeit soll das



**Abbildung 2.7.:** Schematische Darstellung der Möglichen Dämpfungsmechanismen eines Plasmons: Das Plasmon kann strahlend (links) oder nicht-strahlend in Form von Intra- und Interbandübergängen zerfallen (rechts). Modifiziert aus [88].

Augenmerk auf der durch Wechselwirkungen mit dem plasmonischen Nahfeld möglichen Fluoreszenzverstärkung von Fluorophoren liegen. Diese Wechselwirkungen werden im Folgenden erläutert.

Die auf ein Fluorophor wirkende Anregungsrate  $\gamma_{exc}$  ist proportional zum Betragsquadrat des Produkts aus Feldstärke des einfallenden Feldes  $\vec{E}$  und Übergangsdipolmoment  $\vec{p}$  des Fluorophors [90]:

$$\gamma_{exc} \propto |\vec{p} \cdot \vec{E}|^2. \quad (2.8)$$

Überlappt der Streuanteil der Extinktion des Partikelplasmons (vgl. Abschnitt 2.1.1) mit dem Absorptionsspektrum des Fluorophors, so wird dieses zusätzlich durch das plasmonische Feld des Partikels  $\vec{E}_P$  angeregt:

$$\gamma_{exc} \propto |\vec{p} \cdot (\vec{E} + \vec{E}_P)|^2. \quad (2.9)$$

Je größer also die Feldstärke des elektrischen Feldes des Partikelplasmons an der Position des Fluorophors ist, desto höher ist auch  $\gamma_{exc}$ . Zur erfolgreichen Verstärkung der Anregungsrate müssen auch das Übergangsdipolmoment des Fluorophors und die Feldlinien des Plasmonenfeldes günstig zueinander orientiert sein [39].

Neben der Anregungsverstärkung kann das Plasmon auch die Fluoreszenzquantenausbeute  $QY$  eines Fluorophors beeinflussen.  $QY$  gibt den Anteil der strahlenden Rate  $\gamma_r$  zur Summe aller Abklingraten eines Fluorophors an:

$$QY = \frac{\gamma_r}{\gamma_{nr} + \gamma_r}. \quad (2.10)$$

Dabei ist  $\gamma_{nr}$  die nicht-strahlende Rate.

Die Fluoreszenzemissionsrate  $\gamma_{em}$  eines Fluorophors ist das Produkt aus  $\gamma_{exc}$  und  $QY$ . Mit Gleichung 2.10 ergibt sich:

$$\gamma_{em} = \gamma_{exc} \cdot \frac{\gamma_r}{\gamma_{nr} + \gamma_r}. \quad (2.11)$$

Befindet sich das Fluorophor nun in der Nähe eines metallischen Nanopartikels, ändert sich  $\gamma_{nr}$  zu

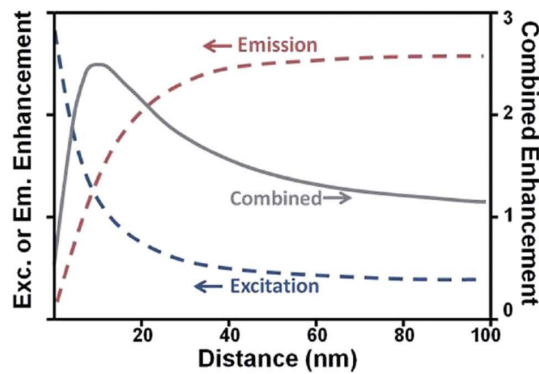
$$\gamma_{nr}^* = \gamma_{nr} + \gamma_{EET}, \quad (2.12)$$

wobei  $\gamma_{EET}$  die Energietransferrate vom Fluorophor auf den metallischen Partikel, also eine durch den Partikel hervorgerufene zusätzliche, nicht-strahlende Abklingrate, beschreibt, welche bei Abständen  $< 10$  nm beobachtet wird [34]. Die Fluoreszenz wird dann durch den Energietransfer auf das Plasmon gelöscht [40, 91, 92]. Diese Fluoreszenzlöschung ist unabhängig von der Geometrie des Partikels, da die Partikeloberfläche bei kleinen Abständen gut als zweidimensionale Fläche angenähert werden kann [90]. Für große Abstände zwischen Fluorophor und Partikel ist  $\gamma_{EET} \approx 0$  [90], und es können Verstärkungen der strahlenden Übergangsraten des Fluorophors beobachtet werden [39, 42]. Das Plasmon erhöht die lokale Dichte optischer Zustände  $\rho(\nu)$  mit der Frequenz der elektronischen Übergänge des Fluorophors  $\nu$  [34, 93], wodurch nach Fermis Goldener Regel die Rate der spontanen Emission eines Moleküls steigen muss [66]:

$$\gamma_r \propto |\vec{E} \cdot \vec{p}|^2 \rho(\nu). \quad (2.13)$$

Zusammengefasst verstärkt das plasmonische Feld die optischen Anregungsraten eines Fluorophors (siehe Gleichung 2.9) und beeinflusst dessen strahlende (durch die größere Zahl Dichte optischer Zustände) und nicht-strahlende Übergangsraten (durch Energie-transfer) [34, 93]. Die Prozesse sind abhängig von der Resonanzfrequenz des metallischen Partikels, der spektralen Lage von Fluoreszenz und Absorption des Fluorophors und dem Abstand zwischen Partikel und Fluorophor sowie der relativen Orientierung des Übergangsdipolmoments des Fluorophors zu den Feldlinien des plasmonischen Feldes [39]. Sind alle Parameter günstig aufeinander abgestimmt, kann das plasmonische Feld die Fluoreszenzquantenausbeute eines Fluorophors erhöhen. Allgemein werden verkürzte Fluoreszenzlebensdauern beobachtet, welche zum einen auf die erhöhte strahlende Relaxationsrate des Fluorophors an den Nanoantennen [39], zum anderen auf den Energietransfer [94] und die jeweils damit einhergehenden beschleunigten Entvölkerungen des angeregten Zustands zurückzuführen sind.

Anregungsverstärkung und die Verstärkung der strahlenden Übergangsraten können experimentell häufig nicht unabhängig voneinander untersucht werden, da bei Überlappung des Fluoreszenzspektrums mit der Plasmonenresonanz oft ebenfalls das Absorptionsspektrum des Fluorophors mit dieser überlappt [34]. Wird also das Fluorophor angeregt, kommt es automatisch auch zu einer Anregung des Plasmons durch das Anregungslicht. Abbildung 2.8 zeigt die abstandsabhängigen Effekte durch Überlappung der Absorption und der Fluoreszenz mit dem Plasmon. Die Summe beider Effekte zeigt dann die „kombinierte“ Emissionsverstärkung, bei einem Abstand von etwa 15 nm sollte in dem gezeigten Beispiel

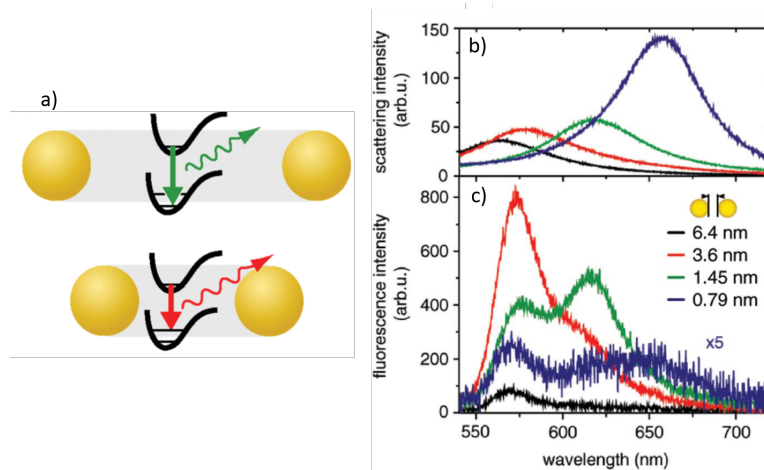


**Abbildung 2.8.:** Abstandsabhängigkeit der Anregungs- und Emissionsverstärkung eines Fluorophors an einem Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von 60 nm bei einer Anregungswellenlänge von 650 nm [90]. Die Kombination beider Kurven zeigt die tatsächlich theoretisch zu erwartende Emissionsverstärkung (Emissionsrate in Anwesenheit des Plasmons im Vergleich zur Emissionsrate in Abwesenheit des Plasmons). Entnommen aus [34].

die Helligkeit des Fluorophors also am größten sein. Es soll darauf hingewiesen werden, dass diese experimentell zu beobachtende „kombinierte“ Emissionsverstärkung keine Fluoreszenzverstärkung im Sinne der reinen Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute ist, welche zu einer erhöhten Gesamtzahl emittierter Photonen im Vergleich zur Zahl emittierter Photonen in Abwesenheit des Plasmons führt. In der Literatur wird häufig in die Fluoreszenzverstärkung auch die Anregungsverstärkung auf Grund erhöhter Feldstärke im Nahfeld des Partikels in die angegebenen Verstärkungsfaktoren einbezogen [38, 95, 96].

Um die Positionierung des Fluorophors und die Ausrichtung des plasmonischen Feldes kontrollieren zu können, eignen sich Goldnanopartikeldimere mit dem Fluorophor im Zwischenraum beider Partikel als plasmonische Nanoantennen hervorragend [39, 92]. Die Position des Fluorophors ist dann immer nah an der Stelle maximaler Feldverstärkung und die Anregungspolarisation kann bei Kenntnis der Dimerorientierung optimal eingestellt werden, sodass ein plasmonisches Feld an der Position des Fluorophors erzeugt wird (vgl. auch Abschnitt 2.1.2). Über die Wahl der Größe und Form der Nanopartikel sowie den Partikelabstand kann die energetische Lage des Plasmons auf das Fluorophor abgestimmt werden.

Das Resultat sind verstärkte Übergangsraten der Fluorophore bei genau der Frequenz des Plasmons, wie exemplarisch in Abbildung 2.9 dargestellt. In Abbildung 2.9a sind zwei Goldnanopartikeldimere, bestehend aus zwei sphärischen Goldnanopartikeln mit einem Durchmesser von 40 nm, mit unterschiedlichen Interpartikelabständen gezeigt. Ein kürzerer Abstand (Abbildung 2.9a unten) führt zu einer Verschiebung der Resonanzfrequenz zu größeren Wellenlängen, also kleineren Energien, entsprechend wird die Übergangsraten des Fluorophors bei genau dieser Energie verstärkt. In Abbildung 2.9b sind Streuspektren einzelner Dimere mit Interpartikelabständen zwischen 0,8 nm und 6,4 nm gezeigt. In Abbildung 2.9c sind die Emissionsspektren der Fluorophore (Cy3), welche an genau diesen



**Abbildung 2.9.:** a) Skizze zweier Goldnanopartikeldimere mit unterschiedlichen Interpartikelabständen. Der Durchmesser der Goldnanopartikel beträgt 40 nm. Auf Grund der Erniedrigung der Resonanzfrequenz bei Verringerung des Abstandes (unten) werden im Vergleich zum oberen Fall die Übergangsraten des niederenergetischeren Übergangs erhöht. b) Streuspektren von Goldnanopartikeldimeren mit unterschiedlichen Interpartikelabständen c) Fluoreszenzspektren von Cy3, welche im plasmonischen „Hot Spot“ im Zwischenraum der GNP-Dimere aus b) positioniert sind. [97].

Dimeren gemessen wurden, dargestellt. Da die Übergänge der Energien der Plasmonenresonanz verstärkt werden, ändern sich die Fluoreszenzemissionsspektren korrespondierend zu der in Abbildungsteil (b) gezeigten Plasmonenresonanz.

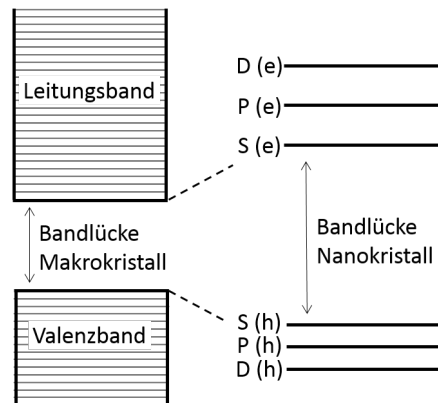
## 2.2. Halbleiternanokristalle

In den letzten zwei Dekaden sind eine Vielzahl an Übersichtsartikeln zur Synthese und Formkontrolle [24, 98–101], Oberflächenchemie [24, 102], optoelektronischen Eigenschaften [101, 103] und Energie- und Ladungstransfer [46, 104–106] in Halbleiternanokristall-basierten Systemen erschienen, sodass hier nur eine kurze Übersicht über die grundlegenden Eigenschaften von Halbleiternanokristallen und den Ladungs- und Energietransfer mit Halbleiternanokristallen gegeben werden soll. Dabei wird hauptsächlich auf die im experimentellen Teil der Arbeit eingesetzten Cadmiumselenid-basierte Nanokristalle eingegangen.

### 2.2.1. Grundlegendes zu den physikalischen Eigenschaften von Halbleiternanokristallen

Halbleiternanokristalle bestehen aus etwa 100 bis 1000 Atomen und sind nur wenige Nanometer groß. Sie sind typischerweise von einer organischen Ligandenhülle umgeben, welche die Löslichkeit der Kristalle vermittelt und die Kristalloberfläche passiviert [107]. Obwohl Nanokristalle die gleiche Einheitszelle und die gleichen Bindungslängen wie der korrespondierende Makrokristall aufweisen, zeigen sie andere elektronische Spektren, welche wiederum abhängig von der Größe des Kristalls sind [108].

Die im makrokristallinen Halbleiter vorhandene Bandlücke beschreibt die Energie, die notwendig ist, um ein Elektron vom Valenzband in das Leitungsband anzuheben. Kommen sich beide Ladungsträger im Kristall räumlich näher, können sie ein gebundenes Elektron-Loch-Paar (Exziton) bilden [19]. Dessen Wellenfunktion ist im Falle des makrokristallinen Halbleiters auf Grund der geringen Coulomb-Wechselwirkung zwischen Elektron und Loch über einen weiten Bereich delokalisiert [19]. Unterschreitet die Kristallgröße in allen drei Raumrichtungen den Bohr-Radius des Exzitons, welcher beispielsweise im Falle von CdSe bei etwa 5 nm liegt [109], ist die Wellenfunktion des Exzitons auf diese Kristallgröße begrenzt. Im Modell des „Teilchens im Kasten“ können die Kristallkanten als unendlich hohe Potentialbarrieren für die Wellenfunktion des Exzitons angesehen werden. Je kleiner die Kristallgröße (also geringer der Abstand der Kanten des Kastens voneinander) wird, desto höher die Energie des Exzitons, damit dessen Wellenfunktion den Voraussetzungen des Modells genügt und an den Potentialbarrieren den Wert null annimmt. Es ist dann nicht mehr die Stärke der Coulomb-Wechselwirkung zwischen Elektron und Loch, welche die räumliche Ausdehnung des Exzitons definiert, sondern die Größe des Kristalls. Dieser Effekt führt zur Größenabhängigkeit der Emissions- und Absorptionsspektren von Halbleiternanokristallen und wird auch als Größenquantisierungseffekt bezeichnet [24]. Eine weitere Folge der räumlichen Einschränkung der Exzitonwellenfunktion durch die geringe Kristallgröße ist die Diskretisierung der Energieniveaus an den Bandkanten. Halbleiternanokristalle werden daher auch als *Quantum Dots* (QDs) bezeichnet.



**Abbildung 2.10.:** Skizze zur Erläuterung der Vergrößerung der Bandlücke beim Übergang vom makrokristallinen (links) zum nanokristallinen Halbleiter (rechts). Der Nanokristall weist diskrete atomartige Energiezustände sowie eine größere Bandlücke als der Makrokristall auf. Für das Modell wurde angenommen, dass es sich um einen Halbleiter mit einem einzelnen parabolischem Leitungsband und einem einzelnen parabolischen Valenzband handelt. Skizze nach [103]

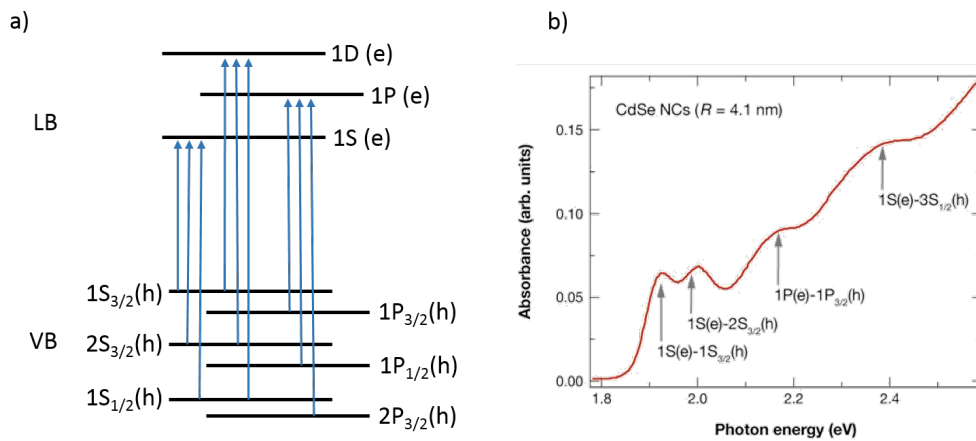
Nach [13] kann im Rahmen des effektiven Massenansatzes der Zusammenhang zwischen Kristallgröße und der Energie des ersten angeregten elektronischen Zustands folgendermaßen angenähert werden, wenn die Gitterkonstanten und Bindungslängen im Nanokristall gleich der des Makrokristalls sind:

$$E \approx E_{gap} + \frac{\hbar^2 \pi^2}{2r^2} \left[ \frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_h} \right] - \frac{1,8e^2}{\epsilon r} = E_{gap} + E_{lok} + E_{Coulomb} \quad (2.14)$$

mit dem Nanokristallradius  $r$ , der Dielektrizitätskonstante des Halbleitmaterials  $\epsilon$ , der Elementarladung  $e$  und den effektiven Massen von Elektron  $m_e$  und Loch  $m_h$ .  $E_{gap}$  ist die Energie der Bandlücke des makrokristallinen Halbleiters. Die Energie des niederenergetischsten Übergangs vergrößert sich im nanokristallinen System um den Beitrag der Lokalisierungsenergien von Elektron und Loch ( $E_{lok}$ ) sowie (geringfügiger) um den Beitrag der Coulomb-Wechselwirkung zwischen Elektron und Loch ( $E_{Coulomb}$ ). Die Lokalisierungsenergien skalieren mit  $r^{-2}$ , die Coulomb-Term mit  $r^{-1}$ .

Unter Vernachlässigung von Bandmischungseffekten erzeugt jedes Band aus dem Bulk eine unabhängige Serie von quantisierten Zuständen, wie in Abbildung 2.10 skizziert ist. Die Bezeichnung der quantisierten Zustände erfolgt dabei mit zwei Quantenzahlen:  $L$  bestimmt den Drehimpuls einer einhüllenden Wellenfunktion und wird analog zum elektronischen Bahndrehimpuls als Buchstabe angegeben (S für  $L = 0$ , P für  $L = 1$  usw.).  $n$  ist der Zustand der Zustandserie einer bestimmten Symmetrie. Die drei niedrigsten Energiezustände, wie in Abbildung 2.11 gezeigt, sind 1S, 1P und 1D [103].

Da das Valenzband in vielen Halbleitern eine komplexe Multibandstruktur aufweist, muss zur Erklärung der Valenzband-Struktur eines Halbleiternanokristalls die aus dem Confinement resultierende Mischung der Valenzbandzustände berücksichtigt werden. Es ergibt



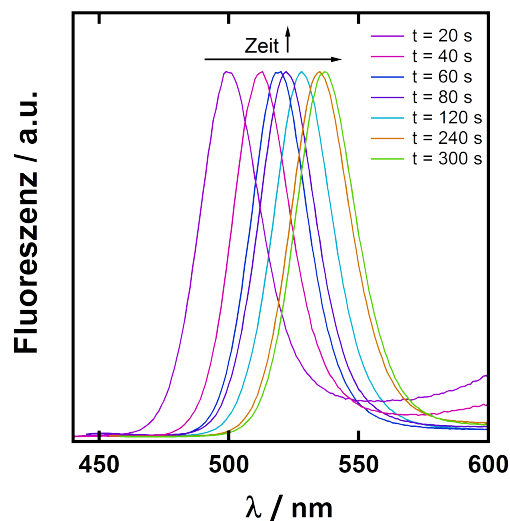
**Abbildung 2.11.:** a) Valenzband- und Leitungsbandstruktur eines QDs b) exemplarisches Absorptionsspektrum einer CdSe-QD-Lösung. Die exzitonicen Übergänge aus a) sind den einzelnen Banden im Spektrum zugeordnet. Entnommen und modifiziert aus [103]

sich die in Abbildung 2.11a gezeigte energetische Struktur des Valenzbandes [103]. Die einzelnen Lochzustände werden nach der Formel  $nL_F$  benannt, wobei  $F$  der Gesamtbahndrehimpuls ist, welcher sich aus der Summe der Bloch-Funktion des Bahndrehimpulses  $J$  und dem Bahndrehimpuls  $L$  der Einhüllenden der Lochwellenfunktion ergibt [103, 110]. Es ist möglich, wie in dem exemplarisch in Abbildung 2.11b gezeigten Absorptionsspektrum von CdSe-QDs, die einzelnen Übergänge aus Abbildung 2.11a den einzelnen Banden im Spektrum zuzuordnen. Der niederenergetischste Übergang resultiert entsprechend aus dem 1S(e)-1S<sub>3/2</sub>(h)-Übergang, welcher auch Bandkantenübergang genannt wird. Aus diesem können die Größe der QDs, und über den Extinktionskoeffizient, welcher aus dem Durchmesser bestimmt werden kann, die Konzentration einer QD-Lösung abgeschätzt werden [111].

Dieses Bandkantenexziton weist eine Feinstruktur auf, welche die Emissionseigenschaften von Halbleiternanokristallen erklärt. Für eine genauere Beschreibung und Herleitung sowie die experimentelle Untersuchung dieser sei an dieser Stelle auf die Dissertation von Anne Boos verwiesen [110]. Die Fluoreszenzemissionsspektren von QDs sind schmalbandig. Da für jede spezifische Form und Größe der Kristalle innerhalb einer Ensembleprobe auf Grund der Größenabhängigkeit der elektronischen Struktur ein Übergang mit einer bestimmten Energie vorhanden ist, gibt die Breite des Fluoreszenzpeaks beispielsweise Aufschluss über die Homogenität einer Probe. Abbildung 2.12 zeigt exemplarisch Fluoreszenzemissionsspektren von CdSe-QDs unterschiedlicher Größe.

### 2.2.2. Synthese von Halbleiternanokristallen

Die elektronischen Eigenschaften von Halbleiternanokristallen korrelieren mit ihrer Kristallgröße und -form. Entsprechend wichtig ist es, das Kristallwachstum möglichst gut kon-



**Abbildung 2.12.:** Fluoreszenzspektren von CdSe-QDs unterschiedlicher Größe. Die Größe wurde durch unterschiedliche Reaktionsdauern geändert, die Reaktionszeiten sind in der Legende angegeben.

trollieren zu können. Der Durchbruch in der kolloidalen Synthese von QDs gelang 1993 in der Arbeitsgruppe von Moungi Bawendi [55]. Durch die Zugabe von metallorganischen Vorgängerstufen in das heiße organische stabilisierende Lösungsmittel Trioctylphosphinoxid gelang eine homogene Kristallkeimerzeugung, welche durch das gleichzeitige abrupte Abkühlen der Reaktionslösung durch die Zugabe der Vorgängerstufen Dimethylcadmium und Trioctylphosphinselen, welche Raumtemperatur besaßen, sofort abgebrochen wurde. Das anschließende bei niedrigerer Temperatur erfolgende Kristallwachstum wurde so zeitlich von der Kristallkeimbildung getrennt und es wurden homogene Nanokristalle erhalten. Die Größe der Partikel kann über die Einspritztemperatur, die Wachstumstemperatur sowie die Wachstumsdauer gesteuert werden. Das Lösungsmittel dient dabei gleichzeitig als Oberflächenstabilisator, um die Aggregation der Kristalle zu verhindern. Durch die Variation der Monomerkonzentration und der Art, dem Verhältnis und der Konzentration der Liganden gelang es in der Folge, CdSe-Nanokristalle mit einer Vielzahl unterschiedlicher Morphologien, wie Stäbchen [112, 113], Pfeile, Tränen und Tetrapoden [114] und sogar Ringe [115] darzustellen.

Die Arbeiten der Arbeitsgruppe von Xiaogang Peng zeigten, dass sich das als Vorstufe eingesetzte an Luft selbst entzündende Dimethylcadmium durch Cadmiumoxid [25], Cadmiumacetat [12] oder Cadmiumcarbonat [12] ersetzt werden kann. Der Einsatz von Stearinsäure als Ligand erlaubt die Synthese von CdSe-Nanokristallen mit Durchmesser von bis zu 25 nm [12, 25]. Durch geeignete Wahl der Liganden kann außerdem das Kristallgitter von Cadmiumselenid-QDs zwischen Wurtzit-Struktur und Zinkblende-Struktur variiert werden [116].

### 2.2.3. Oberflächenchemie von Halbleiternanokristallen

Die Oberflächenchemie spielt auf Grund des großen Oberfläche-zu-Volumen Verhältnisses von QDs eine wichtige Rolle für deren photophysikalische und chemische Eigenschaften. Die Periodizität des Kristallgitters ist unterbrochen, die Oberflächenionen/-atome sind unterkoordiniert und der Kristallkern wechselwirkt mit chemisorbierten und/oder physisorbierten Molekülen der Ligandenhülle und des Lösungsmittels [117]. Die Liganden können die Löslichkeit der QDs in organischen und wässrigen Lösungsmitteln beeinflussen und müssen die Aggregation der Partikel verhindern, also ausreichend stabil an die Oberfläche binden.

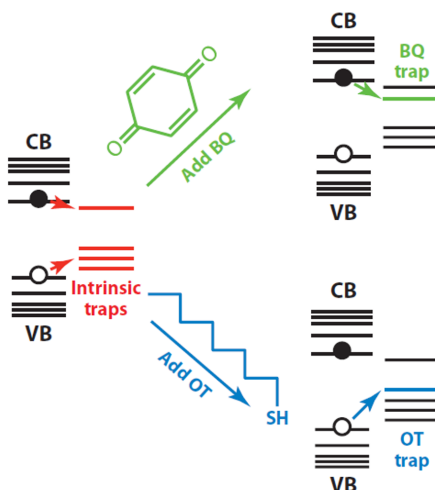
Mehrzählige Liganden binden an und passivieren die QDs auf Grund ihres chelatisierenden Effekts besser, als ein- oder zweizählige [118–120], eine höhere Kettenlänge stabilisiert besser als kürzere [121]. Die Bindungsstärke von Liganden variiert mit der funktionellen Gruppe, welche die Bindung an den QD vermittelt. Es konnte gezeigt werden, dass Hexadecylamin mit Hexanthiol deutlich schneller ausgetauscht wird, als Trioctylphosphin oder Trioctylphosphinoxid [122]. Entsprechend ist die Bindungsstärke von Thiolen an die QD-Oberfläche höher, als die von Phosphinen und Phosphinoxiden, Amine binden eher schwach an die Kristalloberfläche.

Die Arbeitsgruppe um Emily Weiss konnte nachweisen, dass Hexadecylamin bereits nach einem Aufreinigungsschritt<sup>4</sup> der QD-Lösung vollständig von der Kristalloberfläche entfernt wurde, während die als Verunreinigung im typischerweise für die Synthese eingesetztem Trioctylphosphinoxid vorhandene Octylphosphonsäure nach vier Ausfällungsschritten etwa 80% der Nanokristalloberfläche bedeckte [124]. Die starke Bindung der Octylphosphonsäure wurde auf die bereits oben angesprochene mehrzählige Bindung an die QDs zurückgeführt [124].

Die auf der Kristalloberfläche befindlichen Moleküle beeinflussen nicht nur die kolloidale Stabilität der QDs, sondern auch die elektronische Struktur der Halbleiternanokristalle: Zunächst führt die fehlende Koordinierung der an der Oberfläche befindlichen Ionen und die Gitterdefekte der QDs zur Existenz zusätzlicher Energieniveaus, welche die Rekombinationsprozesse der Elektronen und Löcher beeinflussen können. Diese sogenannten Fallenzustände können von geeigneten Liganden passiviert werden, was die Rate der strahlenden Rekombinationsprozesse erhöht, es können aber auch zusätzliche Zustände durch die Liganden geschaffen werden. Eine ausführliche Diskussion und Übersicht dieser Effekte findet sich in [117]. Exemplarisch sind in Abbildung 2.13 die unterschiedlichen Einflüsse von Benzochinon und Oktanthiol auf die elektronischen Übergänge von CdSe-QDs skizziert. Oktanthiol liegt an der QD-Oberfläche als Thiolat vor, und besitzt am Schwefelatom drei freie Elektronenpaare, von denen eines Elektronendichte zum Metallkation zur Ver-

<sup>4</sup>Die „Aufreinigung“ der QDs nach Synthese meint das Ausfällen der Kristalle aus einem unpolaren Lösungsmittel wie Toluol mit einem polaren Lösungsmittel wie beispielsweise Methanol. Die überschüssigen Liganden lösen sich in dem Lösungsmittelgemisch, die QDs nicht. Nach der Zentrifugation kann der Überstand entfernt und das Pellet mit den QDs wieder gelöst werden [123].

fügung stellen kann, während die anderen beiden gegebenenfalls als Lochfallen Zustände agieren können [117]. Das im Valenzband befindliche Loch rekombiniert dann nicht mehr strahlend mit dem Elektron, die Fluoreszenzquantenausbeute ist verringert. Benzochinon hingegen agiert als Elektronenfalle für photoangeregte CdSe-QDs [125].



**Abbildung 2.13.:** Schematische Anordnung der Energielevel eines QDs. Nach Anregung mit Photonen ausreichender Energie befinden sich das Elektron im Leitungsband und das Loch im Valenzband. In rot sind die intrinsischen Fallenzustände, welche energetisch in der Bandlücke liegen, dargestellt. Sowohl Elektron als auch Loch können auf die Fallenzustände übergehen, sodass eine strahlende Rekombination beider Ladungsträger verhindert wird. Zu der gezeigten Situation kommen nun die Einflüsse der Oberflächenliganden hinzu. Benzochinon (BQ) agiert als zusätzliche Elektronenfalle, Oktanthiol (OT) liefert auf Grund seiner freien Elektronenpaare zusätzliche Zustände für die Löcher. CB ist das Leitungsband, VB das Valenzband. Entnommen aus [117]

Alkylamine passivieren effektiv Elektronenfallenzustände, da sie die ungesättigten Bindungsstellen der  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen sättigen. Durch (partiellen) Austausch der nach der Synthese als Liganden vorhandenen Phosphine an CdSe-QDs durch Amine steigt die Fluoreszenzquantenausbeute beispielsweise von etwa 10% bis 20% auf bis zu 50% [126]. Das Entfernen von Aminen durch Ausfällen der QDs aus der Reaktionslösung führt hingegen zu einer Reduzierung der Fluoreszenzintensitäten [124]. Die beschriebenen Effekte sind auch von den relativen energetischen Lagen der HOMO (höchstes besetztes Molekülorbital) und LUMO (niedrigstes unbesetztes Molekülorbital) Energien der Liganden und der Bandkanten der QDs zueinander abhängig [127].

Liganden beeinflussen nicht nur Interbandprozesse, sondern auch Intrabandprozesse, wie beispielsweise Auger-Rekombinationsraten und Energietransfers zur Schwingungsanregung der Liganden und Phononen des Kristallgitters. Weiterführend sei hier auf [117] verwiesen.

Liganden können mit geringem synthetischen Aufwand gegeneinander ausgetauscht werden, in dem die Nanokristalllösungen in einem Überschuss des gewünschten Liganden gerührt oder erhitzt werden. Die Änderung der Oberflächenliganden bietet somit eine einfache Möglichkeit, sowohl die Löslichkeit, als auch die photophysikalischen Eigenschaften von QDs gezielt zu manipulieren, um sie für die gewünschte Anwendung anzupassen. Weiterhin können Liganden auch als zusätzliche Verbindungsstellen für die weitere Anbindung von funktionalen Einheiten dienen, beispielsweise für Biomoleküle [118, 128, 129] oder zum Aufbau von QD-Netzwerken [129–131].

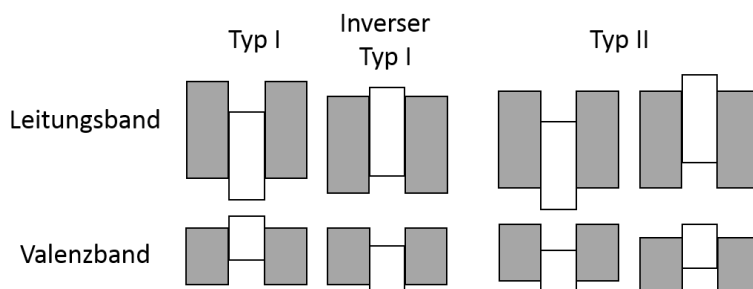
#### 2.2.4. Kern-Schale-Halbleiternanokristalle

Nicht nur durch die Änderung der Ligandenhülle können die photophysikalischen Eigenschaften von QDs beeinflusst werden, sondern auch durch das Aufwachsen von weiteren Halbleitermaterialien. Die synthetische Realisierung erfolgt typischerweise mit dem von Peng und Mitarbeitern auf die QD-Synthese übertragene SILAR-Verfahren, mit welchem gezielt Dicke und Zusammensetzung der Beschichtung eingestellt werden können [132]. Auch hierbei eröffnet sich durch die Wahl geeigneter Liganden und Ligandenzusammensetzungen in den Reaktionslösungen die Möglichkeit, verschiedene Kristallformen zu synthetisieren [133].

Je nach Wahl des Kern- und Schalenmaterials können Partikel mit unterschiedlichen Eigenschaften synthetisiert werden. Generell wird zwischen Typ I, dem inversen Typ I und Typ II Kern-Schale-QDs unterschieden [107]. Die Bandkantenanordnungen sind in Abbildung 2.14 schematisch dargestellt. Typ I QDs zeichnen sich dadurch aus, dass die Bandlücke des Schalenmaterials deutlich größer ist als die des Kernmaterials. Dies ist beispielsweise in ZnS-beschichteten CdSe-QDs der Fall. Durch die deutlich höhere Bandlücke des Schalenmaterials sind die Ladungsträger im Kern lokalisiert [56]. Nicht strahlende Rekombinationsprozesse an der Kristalloberfläche, wie sie in Abschnitt 2.2.3 beschrieben wurden, werden so vermindert und in Folge dessen die Fluoreszenzquantenausbeute erhöht.

Durch den Einsatz eines Schalenmaterials, dessen Valenzbandkante oder Leitungsbandkante in der Bandlücke des Kernmaterials liegt (Typ II), können Elektron oder Loch in dem Schalenmaterial delokalisiert sein, was zu einer räumlichen Trennung der Ladungsträger führt. Das Resultat sind verlängerte Fluoreszenzlebensdauern im Vergleich zu Typ I-Systemen. Durch Aufbringen einer zusätzlichen passivierenden Schicht auf Typ II-QDs analog der Typ I-QDs können auch hier Übergänge in Oberflächenfallenzustände reduziert werden [134].

Für den Aufbau von Kern-Schale-QDs mit guten photophysikalischen Eigenschaften ist eine gute Kristallinität der finalen QDs wichtig. Hierfür müssen auch die Gitterparameter der Kern- und Schalenmaterialien zusammenpassen, um Kristalldefekte und/ oder -versetzungen zu vermeiden, da diese ebenfalls Fallenzustände ausbilden und so zu nicht-



**Abbildung 2.14.:** Schema zur Erläuterung der verschiedenen Kern-Schale-Typen: Beim Typ I hat das Schalenmaterial eine größere Bandlücke als das Kernmaterial, wodurch der Übergang der Ladungsträger aus dem QD-Kern in die Umgebung verringert wird. Im Falle des inversen Typ I ist die Bandlücke des Schalenmaterials kleiner als die des Kernmaterials, wodurch die Ladungsträger, abhängig von der Dicke der Schale, komplett oder teilweise im Schalenmaterial lokalisiert sind. Bei Typ II Kern-Schale-Systemen liegen entweder Valenzband- oder Leitungsbandkante des Schalenmaterials in der Bandlücke des Kern-Materials, wodurch entweder Löcher oder Elektronen in das Schalenmaterial angeregt werden und aus diesem die Rekombination der Ladungsträger erfolgt.

strahlenden Rekombinationsprozessen führen können [107]. Zur Vermeidung solcher Kristalldefekte können mit Hilfe der SILAR-Methode auch gemischte Monolagen zur besseren Anpassung der Gitterkonstanten von Kern- und Schalenmaterialien auf die Kern-QDs aufgetragen werden [123].

### 2.2.5. Energie- und Ladungstransfer mit Halbleiternanokristallen

Halbleiternanokristalle eignen sich auf Grund ihrer im Vergleich zu organischen Farbstoffen hohen Photostabilität, der einfachen Synthese und der in den vorherigen Abschnitten erläuterten photophysikalischen Eigenschaften gut für Energie- und Ladungstransfer basierte Anwendungen, wie beispielsweise in der Photovoltaik [8, 135, 136] oder Sensorik [137, 138].

Der folgende Abschnitt soll einen Überblick über Energie- und Ladungstransfer mit QDs geben. Für die Grundlagen von Ladungs- und Energietransfer sei auf [139] verwiesen.

#### Energietransfer

Für viele QD-basierte Systeme wurde ein strahlungsloser Energietransfer nach dem Modell des Förster-Resonanz-Energietransfers (FRET) nachgewiesen. FRET beruht auf der Dipol-Dipol-Wechselwirkung von Donor und Akzeptor, und weist eine Donor-Akzeptor-Abstandabhängigkeit der Energietransfereffizienz ( $E$ ) von  $s^{-6}$  auf [139]:

$$E = \frac{1}{1 + (s/R_0)^6}. \quad (2.15)$$

Dabei ist  $s$  der Donor-Akzeptorabstand und  $R_0$  der Förster-Radius (Donor-Akzeptorabstand, bei dem die Energietransfereffizienz 50% beträgt).

Die QDs fungieren meist als Energiedonoren für mehrere an ihrer Oberfläche gebundene Energieakzeptoren [140–142]. Die Vorteile bei der Verwendung von QDs als Energiedonoren liegen in der Möglichkeit der selektiven Anregung der QDs auf Grund ihrer Absorption in einem weiten Wellenlängenbereich, und der Einstellbarkeit ihrer Fluoreszenzwellenlänge, sodass diese nicht mit der Akzeptorfluoreszenz oder Akzeptorabsorption überlappt [105]. Weiterhin können daraus resultierend das Überlappintegral zwischen Donor und Akzeptor und über die Steuerung der Passivierungsschicht (beispielsweise dünne vs. dicke ZnS-Schichten auf CdSe-QDs) auf den QDs der Donor-Akzeptor-Abstand variiert werden [63]. Ferner bieten QDs die Möglichkeit der Bindung multipler Akzeptorsysteme auf ihrer Oberfläche, wodurch ganze Energietransferkaskaden mit QDs als Energiesammler und Assemblierungsplattform aufgebaut werden können [143].

Die  $E$  ist in solchen Systemen auch von der Zahl der Akzeptormoleküle  $a$  pro QD-Donor abhängig, und Gleichung 2.15 wird zu [63, 105]:

$$E = \frac{a}{a + \left(\frac{s}{R_0}\right)^6}. \quad (2.16)$$

Weitere Analysen zeigen, dass zur Beschreibung der Akzeptorkonzentrationsabhängigkeit der  $E$  eine Poisson-Verteilung der Energieakzeptoren auf den QDs berücksichtigt werden muss [141, 144, 145]. Die Energietransfereffizienz lässt sich unter Berücksichtigung einer Poisson-Verteilung dann nach der Förster-Theorie mit

$$E = \sum_{a=0}^{a_{max}} \frac{x^a e^{-x}}{a!} \frac{a}{a + \left(\frac{s}{R_0}\right)^6} \quad (2.17)$$

beschreiben, wobei  $x$  die mittlere Anzahl von Akzeptormolekülen pro QD ist [140, 146].

Rylendiimidfarbstoffe sind geeignete Energieakzeptoren für QDs [147, 148]. Ein besonders einfaches und vielseitiges System zur Untersuchung des Energietransfers zwischen QDs und einem Perylendiimid (PDI) wurde von der Arbeitsgruppe Basché gefunden: Das PDI-Derivat wurde mit zwei Carboxylat-Ankern in der Imidstruktur ausgestattet, welche die direkte Bindung des Farbstoffes an die Kristalloberfläche der QDs ermöglichen [62]. Über die Variation der ZnS-Schalendicke konnte eine dem Förster-Modell entsprechende Abstandsabhängigkeit der Energietransfereffizienz von  $s^{-6}$  ermittelt werden [63]. Die Untersuchung solcher Komplexe mit Hilfe transientser Absorptionsspektroskopie ermöglichte die Bestimmung der Energietransferraten unabhängig von den komplexen QD-Relaxationsdynamiken allein aus dem Signal des Farbstoffes [141]. Die Beschleunigung der Energietransferrate mit steigender Akzeptorkonzentration auf der QD-Oberfläche konnte mit der Annahme der oben beschriebenen Poisson-Verteilung der Anzahl der Akzeptormoleküle pro QD beschrieben werden, und gehorchte dem FRET-Modell. Aus der Beschleunigung

nigung der Energieübertragung konnten auch die tatsächlichen QD-PDI-Verhältnisse ermittelt werden. Die Ermittlung der Verhältnisse stellt üblicherweise eine Herausforderung dar, da die Konzentration der eingesetzten Kern-Schale-QDs nicht aus den Absorptionsspektren extrahiert werden kann. Hervorzuheben ist, dass, im Gegensatz zu anderen Studien [62, 140], mit der gewählten Methode die Akzeptorkonzentrationsabhängigkeit des Energietransfers ohne Parameter aus der Förster-Theorie ermittelt werden konnte. Beispielsweise muss zur Beschreibung der Akzeptorkonzentrationsabhängigkeit der  $E$  mit Gleichung 2.17 der Förster-Radius  $R_0$  verwendet werden. Der Förster-Radius ist mit

$$R_0 \sim QY_D^{1/6}$$

unter anderem proportional zur Fluoreszenzquantenausbeute des Donors  $QY_D$ . Die Verwendung von  $QY_D$  ist problematisch, da durch die Bindung der Akzeptormoleküle die QD-Fluoreszenz nicht nur auf Grund des Energietransfers, sondern auch durch die Bildung neuer Fallenzustände, welche die nicht-strahlenden Rekombinationsraten des QDs erhöhen, gesenkt wird [147, 149], und so die eigentliche  $QY_D$  nicht bekannt ist.

Prinzipiell ist auch der Einsatz von QDs als Energieakzeptoren in FRET-Systemen zusammen mit organischen Farbstoffen auf Grund der hohen QD-Extinktionskoeffizienten und breiten QD-Absorptionsspektren vielversprechend. Allerdings werden die QDs wegen ihrer breiten Absorptionsspektren immer zusammen mit dem Farbstoffdonor angeregt. Da die Fluoreszenzlebensdauern der QDs im Vergleich zu den typischerweise eingesetzten Donorfarbstoffen relativ lang sind (10 ns bis 20 ns für QDs und 1 ns bis 5 ns für Farbstoffe) [146], ist die Energietransferrate von den Donorfarbstoffen auf die QD-Akzeptoren relativ gering. Daher ist ein effizienter Energietransfer von organischen Farbstoffen auf QD-Energieakzeptoren häufig nicht zu beobachten [146, 150]. Nichtsdestotrotz wurde beispielsweise von Xu et al. ein Energietransfer von 1,8-Naphthalimid auf CdSe-basierte QDs gezeigt [151]. Auch ein Energietransfer vom Lichtsammelkomplex II auf CdTe-basierte QDs des Typs II (siehe Abbildung 2.14) wurde gefunden [64].

### Ladungstransfer

QDs eignen sich aus den oben beschriebenen Gründen auch für Anwendungen, welche einen Ladungstransfer zwischen mehreren Komponenten bedingen. Neben den bereits genannten Vorteilen von QDs gegenüber organischen Farbstoffen für Energietransferanwendungen, sind im Rahmen von Ladungstransfer basierten Anwendungen auch die Generierung mehrerer Exzitonen nach Absorption eines einzelnen Photons (*Multi-Exciton generation*, MEG) [152] und der potentielle Elektronentransfer sogenannter *Hot Electrons*<sup>5</sup> [54] Eigenschaften, welche ein großes Interesse für den Einsatz von QDs hervorrufen.

Wie für den Energietransfer auch, können die Ladungstransferkinetiken mit der An-

---

<sup>5</sup>Elektronen, welche in einem Zustand oberhalb der Leitungsbandkante sind

nahme, dass die Anzahl der Adsorbate pro QD einer Poissonverteilung folgt, beschrieben werden [106].

Bisher wurde hauptsächlich von Ladungstransferuntersuchungen, welche photoangeregte QDs involvieren, berichtet. Der einfachste Ladungstransfermechanismus findet dabei ausgehend vom niederenergetischsten angeregten Zustand der QDs statt. Eine Übersicht über die Prozesse gibt [106]. Diesbezüglich wurden der Elektronentransfer vom Leitungsband der QDs auf das LUMO des Elektronenakzeptors [145, 153], der Elektronentransfer eines Elektronendonors auf das Valenzband der photoangeregten QDs [154] und der Elektronentransfer vom Leitungsband der QDs auf das HOMO des Elektronenakzeptors [155] experimentell untersucht. Mitunter konkurrieren Ladungs- und Energietransfer in QD-Farbstoffsystemen, wie beispielsweise für CdSe-QDs mit adsorbierten Rhodamin B nach Anregung der CdSe-QDs gefunden wurde [156].

Zur Ausnutzung des MEG müssen die Ladungen im QD separiert werden, bevor die strahlungslose Rekombination eines der beiden Elektronen-Lochpaare stattfindet (Auger-Rekombination) [103]. Diese Rekombination findet auf Zeitskalen von 9 ps bis 140 ps für CdSe-QDs statt [103]. Ein ultraschneller Elektronentransfer mit einer Zeitkonstante von 70 fs wurde beispielsweise für mehrfach angeregte CdSe-QDs und den koordinierten Elektronenakzeptor Methylviologen gefunden [157].

Die Nutzung von *Hot Electrons* ist hinsichtlich der effizienten Nutzung der Energie aller durch die QDs absorbierten Photonen für Anwendungen in Solarzellen interessant. Die Elektronen müssen schneller extrahiert werden, als die Relaxation der Exzitonen in den niederenergetischsten angeregten Zustand stattfindet. Typischerweise relaxieren nicht passivierte CdSe-QDs sehr schnell in den niedrigsten angeregten Zustand (0,1 ps bis 0,3 ps) [158, 159]. Die Extrahierung von *Hot Electrons* gelang für tetrapodische CdSe-Nanokristalle auf den Elektronenakzeptor Methylenblau [160] und für CdSe-Nanostäbchen auf Methylviologen mit einer Zeitkonstante von 0,5 ps [53] sowie von PbSe-QDs auf TiO<sub>2</sub> [54]. Auch über den Transfer von *Hot Holes* von sphärischen CdSe-QDs auf Thiole [161] wurde berichtet.

Ein spontaner Elektronentransfer von QDs im *Grundzustand* auf einen Elektronenakzeptor wurde für PbS-QDs gefunden [162]. Mit Hilfe von UV/Vis- und IR-Absorptionsspektroskopie sowie NMR-Spektroskopie konnte gezeigt werden, dass der Elektronentransfer auf Tetracyanoquinodimethan auf den auf den PbS-QD-Oberflächen befindlichen Schwefel zurückzuführen war.

### 2.2.6. Spektroskopische Methoden für die Untersuchung von Energie- und Ladungstransfer

Die Untersuchung von Energie- und Ladungstransfer in QD-basierten Systemen erfolgt generell mit spektroskopischen Methoden. Dabei kann aus statischen Absorptionsspektren die Donor- und Akzeptorkonzentration extrahiert werden. Aus statischen Fluores-

zenzmessungen können die Donorlöschung und die Fluoreszenzverstärkung des Akzeptors abgeschätzt werden. Vielfach wird  $E$  aus der Fluoreszenzlöschung des Donors mit

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} \quad (2.18)$$

die Energietransfereffizienz ermittelt [139, 163–165].  $F_D$  ist dabei die Fluoreszenzintensität des Donors in Abwesenheit des Akzeptors und  $F_{DA}$  die Fluoreszenzintensität des Donors in Anwesenheit des Akzeptors. Allerdings ist diese Vorgehensweise, wie in Abschnitt 2.2.5 diskutiert, problematisch, da nicht nur der Energietransfer zur Reduzierung der Fluoreszenzintensität der QD-Donoren beiträgt, sondern auch andere Prozesse wie die Bildung neuer Fallenzustände durch die Bindung der Akzeptoren zu einer verminderten Fluoreszenzintensität führen [147, 149].

Da der Energietransfer als zusätzlicher Relaxationspfad für den Energiedonor zu einer Reduzierung von dessen Fluoreszenzlebensdauer führt, kann aus den Fluoreszenzlebensdauern des Donors in Abwesenheit  $\tau_D$  und Anwesenheit des Akzeptors  $\tau_{DA}$  ebenfalls  $E$  bestimmt werden [139]:

$$E = 1 - \frac{\tau_{DA}}{\tau_D} \quad (2.19)$$

Dies ist für QDs als Energiedonoren aus den gleichen Gründen problematisch, wie im Falle der Ermittlung der  $E$  aus den Fluoreszenzintensitäten. Auch zur Untersuchung von Ladungstransfermechanismen von photoangeregten QDs ist diese Methode nicht geeignet, da schon der Fluoreszenzzerfall von reinen QDs vielfach multiexponentiell ist [57], was eine Zuordnung zusätzlicher Zerfallskanäle erschwert.

Eine sehr leistungsstarke Methode zur Untersuchung sowohl des Energietransfers als auch des Ladungstransfers in QD-basierten Systemen ist die transiente Absorptionsspektroskopie (TA). Mit einem kurzen Lichtpuls geeigneter Wellenlänge und Leistung werden die Proben in einen angeregten Zustand versetzt. Mit zeitlich verzögerten Abfragepulsen wird die Absorption des Systems während der Lebenszeit des angeregten Zustands gemessen. Die transienten Absorptionsspektren geben Aufschluss über die Dynamiken der ablaufenden Prozesse. Der große Vorteil der transienten Absorptionsspektroskopie liegt in der Möglichkeit, auch den Aufbau von nicht fluoreszierenden Spezies (beispielsweise Reaktionsprodukte nach Ladungstransferreaktionen) zu untersuchen [106]. Im Allgemeinen können folgende Signale in den Spektren detektiert werden [166]:

- Grundzustandsbleichen (GSB, engl.: *ground state bleach*): Durch den Anregungspuls befindet sich ein Teil der Moleküle im angeregten Zustand, sodass deren Grundzustand nicht mehr absorbiert. Die Absorption im Bereich des Grundzustandes verringert sich damit gegenüber der nicht angeregten Probe, daraus resultiert eine negative Absorptionsänderung.
- Absorption des angeregten Zustands (ESA, engl.: *excited state absorption*): Durch den Anregungspuls befindet sich ein Teil der Moleküle der Probe im angeregten

Zustand, von wo aus sie durch den Abfragepuls in höher angeregte Zustände übergehen können. In den Spektren werden bei den entsprechenden Wellenlängen positive Absorptionsänderungen beobachtet.

- Stimulierte Emission (SE): Durch den Anregungspuls befindet sich ein Teil der Moleküle der Probe im angeregten Zustand. Ein Photon des Abfragepulses kann die strahlende Relaxation der Moleküle in den Grundzustand induzieren. Dies äußert sich in Form einer negativen Absorptionsänderung.
- Absorption eines Photoprodukts: Ein Produkt, wie beispielsweise ein Molekül im Triplettzustand oder ein Radikalanion in Folge eines Ladungstransfers, wird als positive Absorptionsänderung detektiert.

Alle diese Signale bauen sich nach dem Anregungspuls auf bzw. zerfallen nach Anregung. Aus den Zerfalls- und Aufbaudynamiken kann die zeitliche Abfolge von Prozessen genauer aufgeklärt werden.

## 3. Experimenteller Teil

Zunächst wird die Synthese der GNPs und die Assemblierung der verschiedenen modifizierten GNPs mit dem wasserlöslichen Chlorophyll bindendem Protein (WSCP) vorgestellt. Daran schließt sich die Synthese der verschiedenen Halbleiternanokristalle und deren Komplexierung mit den organischen Farbstoffen Perylendiimid (PDI) bzw. Terrylendiimid (TDI) an. Die zur Untersuchung der verschiedenen Nanopartikel-Konjugate verwendeten Methoden bildet den Abschluss des experimentellen Teils der Arbeit.

### 3.1. Synthese und Assemblierung von Goldnanopartikeln (GNPs)

Zur Synthese und Aufbewahrung der citrat-stabilisierten GNPs wurde Reinstwasser (mq-Wasser) verwendet. Alle WSCP-Varianten wurden in 20 mM Natriumphosphatpuffer bei pH 7,8 gelöst. Alle Experimente mit Streptavidin (SA) wurden in EPPENDORF „Protein LoBind“ Gefäßen durchgeführt. Die angegebenen WSCP- und SA-Konzentrationen sind die Konzentrationen der jeweiligen Tetramere.

#### 3.1.1. Synthese und Charakterisierung der GNPs

Für die Synthese wurden alle verwendeten Glasgeräte und Rührfische über Nacht in Königswasser eingelegt und im Anschluss sorgfältig mit mq-Wasser gespült.

*Synthese citrat-stabilsierter GNPs nach Frens et al. [22, 167]* : Die Synthese der GNPs nach der Methode von Frens et al. [22, 167] wurde von Michaela Wagner aus der Arbeitsgruppe Basché am Institut für Physikalische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt. 1 ml 12,7 mM Tetrachloridogoldsäure (5 mg  $\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$  in 1 ml mq-Wasser) wurden in 49 ml mq-Wasser in einem Erlenmeyerkolben gelöst und unter Rühren zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von 38,8 mM Natriumcitratlösung färbte sich die Reaktionslösung zunächst blau, und innerhalb von etwa 3 min rot. Die Lösung wurde weitere 5 min am Siedepunkt gehalten und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Die abgekühlte Reaktionslösung wurde in sterile NALGENE®-Behälter überführt und wurden bis zur weiteren Verwendung bei 6 °C gelagert.

Das Volumen der Natriumcitratlösung bestimmt die Partikelgröße, exemplarische Volumina und resultierende Partikelgrößen sind in Tabelle 3.1 aufgeführt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden hauptsächlich mit 0,3 ml und 0,4 ml Natriumcitratlösung

synthetisierte GNPs verwendet. Der mittlere Durchmesser bei Einsatz von 0,3 ml Natriumcitratlösung lag bei 48 nm (minimaler mittlerer Durchmesser ( $43 \pm 7$ ) nm, maximaler mittlerer Durchmesser ( $52 \pm 7$ ) nm), bei Einsatz von 0,4 ml bei 43 nm (minimaler mittlerer Durchmesser ( $41 \pm 6$ ) nm, maximaler mittlerer Durchmesser ( $46 \pm 5$ ) nm). Bei einer Synthese wurden 0,35 ml Natriumcitratlösung verwendet (mittlerer Durchmesser ( $45 \pm 6$ ) nm). Im Zuge der Assemblierung citrat-stabilsierter GNPs in Abschnitt 4.2 wurde auch ein Experiment mit unter Verwendung von 0,5 ml Natriumcitratlösung hergestellten GNPs durchgeführt, der mittlere Partikeldurchmesser dieser lag bei  $36 \pm 4$  nm. Näheres bezüglich der Charakterisierung der GNPs findet sich im folgenden Abschnitt „Charakterisierung der GNP-Lösungen“.

*Synthese citrat-stabilsierter GNPs mit  $d = 29$  nm (KK)*: Die Synthese der GNPs mit einem Durchmesser von 29 nm wurde von Katja Krüger im Rahmen ihres Modulpraktikums basierend auf der in [168] beschriebenen Vorschrift durchgeführt. Es wurden 150 ml einer 2 mM Natriumcitratlösung in einem Dreihalskolben mit Temperaturfühler, Rückflusskühler und Septum vorgelegt und auf  $100^\circ\text{C}$  erhitzt. Die Lösung wurde ca. 10 min am Siedepunkt gehalten. Dann wurde 1 ml 25 mM  $\text{HAuCl}_4$ -Lösung hinzugegeben, woraufhin sich die farblose Lösung innerhalb von 10 min über blau nach rot färbte. Die Lösung wurde auf  $90^\circ\text{C}$  abgekühlt und 1 ml 25 mM  $\text{HAuCl}_4$ -Lösung zugegeben. Nach 30 Minuten wurde 1 ml 25 mM  $\text{HAuCl}_4$ -Lösung zugegeben, und erneut 30 Minuten gerührt. Der Vorgang wurde noch ein weiteres Mal wiederholt (Gesamtvolumen zugegebener  $\text{HAuCl}_4$ -Lösung 3 ml), und die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt. Die abgekühlte Reaktionslösung wurde in sterile NALGENE®-Behälter überführt und bis zur weiteren Verwendung bei  $6^\circ\text{C}$  gelagert.

Vor der weiteren Verwendung wurden die GNP-Lösungen durch Zentrifugation von den Nebenprodukten und nicht umgesetzten Reaktanden getrennt. Die GNP-Lösung wurde hierfür auf mehrere 2 ml-Eppendorfgefäße aufgeteilt, zentrifugiert, die Überstände verworfen und die Pellets in mq-Wasser suspendiert. Der Vorgang wurde wiederholt, und die vereinigten Pellets mit mq-Wasser in etwa einem Zehntel des Ursprungsvolumens verdünnt. Die für die Zentrifugation zu verwendende Geschwindigkeit hängt vom Durchmesser der GNPs ab. Zur Abschätzung der Größe wurde von den Proben vor der Aufarbeitung ein Extinktionsspektrum gemessen, und der Durchmesser mit

$$d = \frac{\ln\left(\frac{\lambda_{Res} - 512\text{nm}}{6,53}\right)}{0,0216} \quad (3.1)$$

aus dem Plasmonenresonanzmaximum  $\lambda_{Res}$  abgeschätzt [169]. Die verwendeten relativen Zentrifugalkräfte sind ebenfalls in Tabelle 3.1 aufgeführt.

**Tabelle 3.1.:** Übersicht über exemplarische im Rahmen der Arbeit verwendete GNPs.  $V$  ist das verwendete Volumen der Natriumcitratlösung,  $\lambda_{Abs}$  ist das Extinktionsmaximum,  $d$  (TEM) an Hand von TEM-Aufnahmen ermittelter mittlerer Durchmesser,  $d$  (Ext) nach Gleichung 3.1 abgeschätzter Durchmesser [169],  $\epsilon_{450}$  ist der Extinktionskoeffizient bei  $\lambda = 450$  nm aus [169] für den an Hand von TEM-Aufnahmen bestimmten Durchmesser.

$V$ / ml	$\lambda_{Ext}$ / nm	$d$ (TEM) / nm	$d$ (Ext) / nm	$\epsilon_{450}$ / l mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	rel. Zentrifugalkraft / g	
0,30	13	535	52 ± 7	58	1,57 · 10 <sup>10</sup>	2600
0,35	11	534	45 ± 6	56	7,13 · 10 <sup>9</sup>	2700
0,40	9	533	42 ± 7	54	5,74 · 10 <sup>9</sup>	2700
0,50	2	528	36 ± 4	42	3,52 · 10 <sup>9</sup>	3400
KK <sup>a</sup>		523	29 ± 5	32	1,76 · 10 <sup>9</sup>	5500

<sup>a</sup>synthetisiert nach [168]

### Charakterisierung der GNP-Lösungen

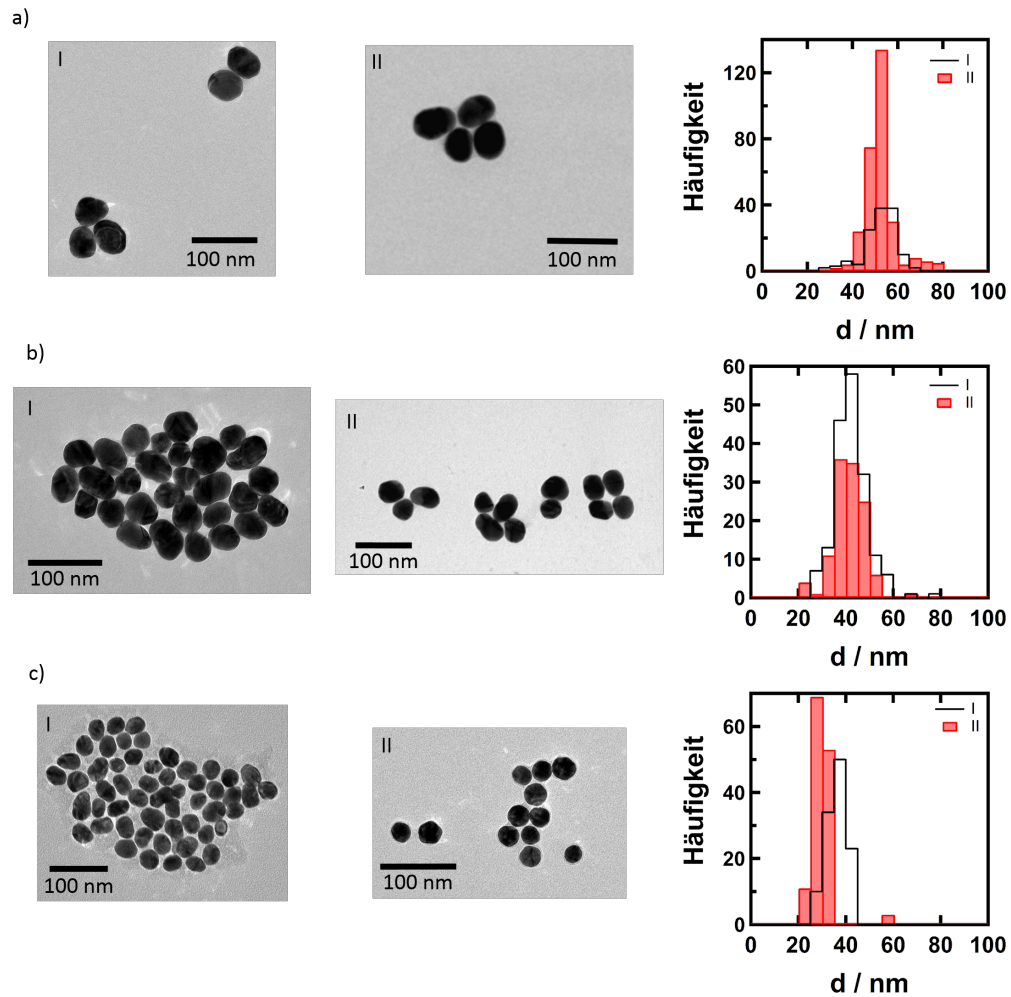
TEM-Aufnahmen und Größenverteilungen zweier mit 0,3 ml, zweier mit 0,4 ml und der mit 0,5 ml Natriumcitratlösung synthetisierten GNPs sowie der Probe KK sind in Abbildung 3.1 gezeigt, in Abbildung A.1 sind TEM-Aufnahmen und Größenverteilungen aller in der vorliegenden Arbeit eingesetzten GNPs gezeigt. Tabelle 3.1 fasst die Ergebnisse von GNP-Synthesen, welche mit verschiedenen Natriumcitratvolumina erhalten wurden, zusammen. Auch die Parameter der Probe KK sind aufgeführt.

Die Konzentration der GNP-Lösungen wurde aus den Absorbanzen der GNP-Lösungen und den mit den Durchmessern der GNPs (TEM-Aufnahmen) mit den in [169] angegebenen Extinktionskoeffizienten bei einer Wellenlänge von 450 nm mit

$$c = \frac{A_{450}}{\epsilon_{450}}$$

bestimmt. Dabei ist  $A_{450}$  die Absorbanz der Lösung bei 450 nm. Die Extinktionskoeffizienten  $\epsilon_{450}$  sind in Tabelle 3.1 sowie in den Bildunterschriften der im Anhang in Abbildung A.1 aufgelisteten TEM-Aufnahmen mit Größenverteilungen aller hier verwendeten GNPs angegeben. Beispielsweise ist für die in Tabelle 3.1 aufgeführte Probe mit 0,3 ml Natriumcitratlösung (TEM-Aufnahmen siehe Abbildung 3.1a, I) mit  $d = 52$  nm  $\epsilon_{450} = 1,12 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  [169] die Konzentration in der Reaktionslösung  $c = 2,9 \cdot 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$ . Die mit Gleichung 3.1 ermittelten Durchmesser überschätzen in allen Fällen die mit Hilfe von TEM-Aufnahmen ermittelten Durchmesser, und es ergibt sich mit dem Wert für  $\epsilon_{450}$  des überschätzten Durchmessers von 58 nm ( $\epsilon_{450} = 1,57 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) eine Partikelkonzentration  $c = 2,1 \cdot 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$ .

Exemplarisch soll an Hand dieser Probe auch der in [169] angegebene Extinktionsko-



**Abbildung 3.1.:** Exemplarische TEM-Aufnahmen. a) unter Verwendung von 0,3 ml Natriumcitrat synthetisierte GNPs:  $d(I) = 52 \pm 7$ ,  $d(II) = 52 \pm 7$  (weitere Aufnahmen siehe Abbildung A.1k und A.1l) b) unter Verwendung von 0,4 ml Natriumcitrat synthetisierte GNPs:  $d(I) = 42 \pm 7$ ,  $d(II) = 43 \pm 7$  (weitere Aufnahmen siehe Abbildung A.1h und A.1o) c) unter Verwendung von 0,4 ml Natriumcitrat synthetisierte GNPs I,  $d(I) = 36 \pm 4$ , GNPs synthetisiert nach [168] II (KK),  $d(II) = 29 \pm 5$  (weitere Aufnahmen siehe Abbildung A.1b und A.1i)

effizient auf dessen Plausibilität überprüft werden, in dem die Partikelkonzentrationen, welche mit  $\epsilon_{450}$  des an Hand des mit TEM-Aufnahmen bestimmten mittleren Partikeldurchmessers ermittelt wurde, mit den theoretisch aus der eingesetzten  $\text{HAuCl}_4$ -Menge maximal erzielbaren Konzentration verglichen wird. Das Volumen eines Partikels mit dem Durchmesser 52 nm beträgt

$$V = \frac{4}{3}\pi \cdot (26 \text{ nm})^3 = 7,36 \cdot 10^3 \text{ nm}^3.$$

Eine Einheitszelle hat ein Volumen von  $0,07 \text{ nm}^3$  [170], sodass ein Partikel aus  $\sim 1,05 \cdot 10^6$  Einheitszellen besteht. Die kubisch flächenzentrierte Elementarzelle wird von vier Goldatomen aufgebaut, sodass aus den eingesetzten  $7,65 \cdot 10^{18}$  Goldatomen (aus 5 mg  $\text{HAuCl}_4$ ) theoretisch  $1,82 \cdot 10^{12}$  Goldpartikel gebildet werden können. Dies entspricht  $3,02 \cdot 10^{-12} \text{ mol}$  Goldpartikeln. Die Konzentration der GNPs in 50 ml Reaktionslösung würde bei vollständiger Umsetzung  $6,04 \cdot 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$  betragen. Der Wert ist etwa zweimal höher als der mit  $\epsilon_{450}$  bestimmte Wert. Vor dem Hintergrund, dass die Partikelkonzentration nach der Aufarbeitung der Reaktionslösung bestimmt wurde, welche mit Partikelverlusten einhergeht, und dem in der Realität nicht vollständigen Umsatz der Reaktion, wird davon ausgegangen, dass mit den in [169] angegebenen Werten für  $\epsilon_{450}$  verlässliche Partikelkonzentrationen ermittelt werden können.

Neben den aus der Überschätzung der Partikeldurchmesser resultierenden unterschätzten Partikelkonzentrationen bei Verwendung des Extinktionsmaximums zur Bestimmung der Partikeldurchmesser ergeben sich auch Abweichungen in der tatsächlichen Gesamtpartikeloberfläche einer GNP-Lösung. Beispielsweise beträgt die Gesamtpartikeloberfläche in 1 ml der 52 nm GNP-Lösung aus Tabelle 3.1  $1,5 \cdot 10^{14} \text{ nm}^2$ . Mit dem abgeschätzten Durchmesser von 58 nm ( $c = 2,1 \cdot 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$ ) läge der Wert bei  $1,3 \cdot 10^{14} \text{ nm}^2$ . Im Rahmen der durchgeführten Experimente lag der maximal gefundene Unterschied zwischen der Gesamtpartikeloberfläche, welche aus den Extinktionsspektren abgeschätzt wurde, und der an Hand der mit TEM-Aufnahmen bestimmten Partikelgrößen bei 25%.

Während der experimentellen Arbeit erwies es sich als praktikabel, mit den aus den Extinktionsspektren mit [169] abgeschätzten Durchmessern und den resultierenden Partikeloberflächen zu arbeiten. Die Stabilisierung der GNPs mit Streptavidin bzw. Polyethylenglycolthiolen (PEGs) konnte auf Grund der verwendeten Überschüsse problemlos mit den aus den Extinktionsspektren abgeschätzten Werten durchgeführt werden. Im Ergebnisteil dieser Arbeit sind alle WSCP-GNP-Verhältnisse für die tatsächliche GNP-Konzentration, welche mit den aus den TEM-Aufnahmen ermittelten Durchmessern und mit den Werten für  $\epsilon_{450}$  aus [169] bestimmt wurden, angegeben.

#### 3.1.2. Funktionalisierung der GNPs

Für die Funktionalisierung der GNPs mit SA bzw. PEGs wurden die Partikelkonzentrationen/-oberflächen an Hand der aus den Extinktionsspektren mit [169] abgeschätzten Durchmes-

ser bestimmt (Gleichung 3.1).

### **Stabilisierung der Goldnanopartikel mit Streptavidin (SA)**

Die SA-Funktionalisierung sowie alle weiteren Schritte mit SA-funktionalisierten GNPs wurden in EPPENDORF „Protein LoBind“ Gefäßen durchgeführt. Das SA wurde in diesen Gefäßen in mq-Wasser aliquotiert und tiefgekühlt aufbewahrt.

2 ml bis 4 ml einer 0,05 nM GNP-Lösung (10 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8) wurden in 200 µl-Schritten zum gleichen Volumen einer SA-Lösung gewünschter Konzentration (10 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8) pipettiert. Nach jeder zugegebenen Volumeneinheit wurde die Lösung 10 s geschüttelt. Nach Zugabe der letzten Volumeneinheit wurde die Lösung 60 s geschüttelt und über Nacht bei 6 °C inkubiert. Für eine vollständige Passivierung werden mindestens 0,2 SA pro nm<sup>2</sup>-Partikeloberfläche benötigt (vgl. Abschnitt 4.3.1), um eine Quervernetzung der GNPs zu verhindern, wurden 0,5 SA pro nm<sup>2</sup>-Partikeloberfläche verwendet, wobei die Gesamtoberfläche der GNPs mit dem aus dem Plasmonenresonanzmaximum abgeschätzten Durchmesser (Gleichung 3.1) berechnet wurde.

Die SA-stabilisierten GNPs wurden zweimal durch Zentrifugation gereinigt. Da die elektrostatische Abstoßung zwischen den GNPs nicht so hoch ist, wie im Falle der citratstabilisierten GNPs, wurden in 10 min Intervallen die Sedimente aus den Zentrifugengefäßen entnommen, um eine Aggregation der GNPs zu vermeiden. Die vereinigten Sedimente des ersten Zentrifugationsdurchlaufs wurden mit 20 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8 auf das vorher vorliegende Volumen aufgefüllt. Nach dem zweiten Zentrifugationsdurchgang wurden die Sedimente vereinigt und mit 20 mM Natriumphosphatpuffer auf eine GNP-Konzentration von etwa 1 nM eingestellt.

### **Stabilisierung der Goldnanopartikel mit Polyethylenglycol (PEG)**

Zur Stabilisierung der GNPs mit PEG wurden Mischungen aus Thiol-PEGs mit Carboxylat-Funktionalisierung und Biotin-Funktionalisierung verwendet (siehe Tabelle 3.2). Für die Stabilisierung der GNPs mit PEG wurden 5 mM PEG-Lösungen im mq-Wasser mit dem gewünschten PEG-Verhältnis hergestellt. Pro nm<sup>2</sup> GNP-Oberfläche wurden 1400 PEG-Moleküle eingesetzt, die Gesamtoberfläche der GNPs wurde mit dem aus dem Plasmonenresonanzmaximum abgeschätzten Durchmesser nach Gleichung 3.1 berechnet. Die PEG-Lösung wurde in einer 250 mM Natriumhydrogencarbonatlösung zusammen mit mq-Wasser so verdünnt, dass nach Zugabe des GNP-Volumens die PEG-Konzentration 2 mM und die Konzentration des Natriumhydrogencarbonats 25 mM betragen. Die PEG-Lösung wurde vorgelegt, mit dem entsprechenden Volumen GNP-Lösung gemischt und über Nacht bei 6 °C inkubiert.

### **Funktionalisierung PEG-stabilerter Goldnanopartikel mit SA**

Die PEG-stabilisierten GNPs wurden dreimal zentrifugiert. Nach jedem Zentrifugationsdurchgang wurde der Überstand verworfen und die Pellets in 20 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8 gelöst. Es wurde die doppelte Stoffmenge SA der zur Stabilisierung mit PEG verwendeten Stoffmenge Biotin-PEG verwendet, um eine Vernetzung der GNPs mit SA zu vermeiden. Das SA wurde mit den GNPs in 20 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8 gemischt. Die Konzentration der PEG-GNPs in der Reaktionslösung war 1 nM.

Die PEG-stabilisierten SA-funktionalisierten GNPs wurden dreimal zentrifugiert, um überschüssiges SA zu entfernen. Nach jedem Zentrifugationsdurchgang wurde der Überstand verworfen und die Sedimente in 20 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8 gelöst. Die Konzentration der SA-PEG-GNPs wurde nach der dritten Zentrifugation auf 1 nM eingestellt.

### **3.1.3. Assemblierung der GNPs mit WSCP**

Während der Experimente wurden die GNP-Konzentration mit den aus den Extinktionsmaxima abgeschätzten Partikeldurchmessern nach Gleichung 3.1 bestimmt. Die im Ergebnisteil angegebenen Verhältnisse beziehen sich auf die *tatsächlichen* Konzentrationen, welche sich aus den an Hand von TEM-Aufnahmen ermittelten Durchmessern ergeben (siehe Abschnitt „Charakterisierung der GNP-Lösungen“).

#### **Testreaktion mit WSCP**

Es bietet sich an, vor den eigentlichen Assemblierungsreaktionen eine Testreaktion durchzuführen. Hierfür werden  $4,5 \cdot 10^{-15}$  mol GNPs in 10  $\mu$ l bis 20  $\mu$ l Puffer mit  $4,5 \cdot 10^{-14}$  mol WSCP gemischt. Bei erfolgreicher WSCP-vermittelter Assemblierung färbt sich nach etwa zwei Minuten die rote Lösung über lila nach blau-schwarz.

#### **Assemblierung citrat-stabilerter Goldnanopartikel**

Eine GNP-Lösung mit einer Konzentration von etwa 0,1 nM in 10 mM bis 20 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7,8 wurde mit dem für das gewünschte WSCP-GNP-Verhältnis benötigte Volumen einer 4 nM WSCP-Lösung gemischt. Die Lösung wurde 30 s geschüttelt und über Nacht bei 6 °C inkubiert. Bei allen Proben einer Probenreihe wurde darauf geachtet, dass das finale GNP-Puffer-Verhältnis gleich war.

#### **Assemblierung SA-stabilerter und SA-PEG-stabilerter Goldnanopartikel**

Das gewünschte Volumen der 1 nM GNP-Lösung wurde mit einem geringen Volumen (0,5  $\mu$ l bis 5,0  $\mu$ l) WSCP-Lösung mit einer für das gewünschte GNP-WSCP-Verhältnis

geeigneten Konzentration (Tetramerkonzentration 5 nM bis 50 nM) gemischt, 30 s geschüttelt und über Nacht bei 6 °C inkubiert.

### **Viskositätsgradientenzentrifugation**

Vor der Zentrifugation wurden die SA-GNPs und die SA-PEG-GNPs synthetisierten Aggregate mit einem Überschuss Biotin gemischt, um die freien Bindungsstellen des SAs zu sättigen und so eine Weiterreaktion/zusätzliche Aggregation durch den Zentrifugationsvorgang zu verhindern.

Die Saccharoselösungen wurden in der gewünschten Konzentration für die citrat-stabilisierten GNPs mit mq-Wasser und für die SA-GNPs mit 50 mM Natriumphosphatpuffer pH 8,0 hergestellt und in einem Zentrifugengefäß vorsichtig übereinander geschichtet. Auf die oberste Saccharoseschicht wurde die GNP-Probe pipettiert. Die besten Ergebnisse wurden mit einem Gradienten von je 0,3 ml 40 wt%-, 47 wt%-, 53 wt%-, 56 wt%-, 60 wt%- und 64 wt%-Saccharoselösungen bei 2350 g, 20 °C und 1 h Zentrifugationsdauer erhalten. Zu Beginn wurden die GNP-Schichten 3 min mit einer relativen Zentrifugalkraft von 600 g an der obersten Saccharoseschicht aufkonzentriert. Das Probenvolumen betrug 200 µl bis 400 µl mit einer Konzentration der GNPs von etwa 1 nM.

### **Gelelektrophorese**

Die Agarosegele wurden mit 0,5X TRIS-Borat-EDTA-Puffer (TBE-Puffer) pH 8,3 hergestellt. Die GNP-Lösungen wurden mit einem Überschuss Biotin versetzt und vor der Gelelektrophorese mittels Zentrifugation pelletiert und in einer 15 wt%-igen Saccharoselösung in 0,5X TBE-Puffer pH 8,3 suspendiert, sodass die Konzentration der GNPs etwa 2 nM war. Es wurden Spannungen von 100 V bis 170 V verwendet. Die Konzentration der Agarose-Gele betrug 0,8 wt% bis 1,3 wt%.

Zur Extrahierung der GNPs aus den Agarosegelen wurden die entsprechenden Gelstücke mit einem Skalpell ausgeschnitten und in eine mit dem zur Gelelektrophorese verwendeten Puffer befüllte Dialysemembran (ROTH ZelluTrans MWCO 12 000 - 14 000) überführt und erneut in der Elektrophoresekammer platziert. Die Proben wurden bei einer Spannung 90 V aus den Gelen extrahiert.

## **3.2. Synthese der Halbleiternanokristalle (QDs) und der Komplexe mit Perylendiimid bzw. Terrylendiimid**

### **3.2.1. Precursor-Lösungen**

*Für die Synthese der CdSe- und CdSe-Kern-Schale QDs:*

- 0,2 M Se-TOP: 79 mg Se wurde in 5 ml Trioctylphosphin (TOP) mit Argon durchströmt und im Ultraschallbad gelöst.

### 3.2. Synthese der Halbleiternanokristalle (QDs) und der Komplexe mit Perylendiimid bzw. Terrylendiimid

---

- 0,2 M Cd-Precursor: 0,641 g CdO wurden mit 6,9 ml Ölsäure und 18 ml ODE im Argongegenstrom auf 200 °C erhitzt, bis eine goldgelbe klare Lösung vorlag.
- 0,2 M Zn-Precursor: 0,407 g ZnO wurden in 6,9 ml Ölsäure und 18 ml ODE im Argongegenstrom bei 150 °C gelöst.
- 0,2 M S-Precursor: 0,160 g S wurden im Ultraschallbad in 25 ml ODE gelöst.

Für die Synthese der CdTe/CdSe/ZnS Kern-Schale-QDs:

- 0,1 M Te-TOP-ODE: 0,128 g Te wurden in 5 ml TOP und 5 ml ODE unter Argon durch leichtes Erwärmen mit dem Heizfön gelöst.
- 0,1 M Cd(OAc)<sub>2</sub>-ODE: 0,267 g Cd(OAc)<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O wurden in 4 ml TOP und 6 ml ODE im Argongegenstrom erhitzt, bis eine farblose, klare Lösung vorlag.
- 0,1 M Se-TOP-ODE: 0,079 g Se wurden mit 5 ml TOP und 5 ml ODE gemischt, mit Argon durchströmt und im Ultraschallbad gelöst.
- 0,1 M Zinkdithiocarbamat-TOP-ODE (ZDC-TOP-ODE): 0,360 g ZDC wurden mit 5 ml TOP und 5 ml ODE gemischt, mit Argon durchströmt und im Ultraschallbad gelöst.

#### 3.2.2. Synthese der CdSe-Halbleiternanokristalle

Die Synthese der CdSe-Kerne wurde analog zu der in [123] angegebenen Vorschrift durchgeführt. 50 mg CdO, 3 g Trioctylphosphinoxid (TOPO) und 220 mg Tetradecylphosphonsäure (TDPA) wurden 2 h bei 100 °C evakuiert. Die Reaktionsmischung wurde auf 350 °C erhitzt, um das Cadmiumoxid zu lösen. 2 ml der Se-TOP-Lösung wurden schnell zugespritzt. Die Wachstumstemperatur betrug 300 °C, die Wachstumsdauer 2 min. Die Reaktionsmischung wurde mit Hilfe von Druckluft schnell auf 70 °C abgekühlt. Zur Entfernung überschüssiger Liganden und nicht umgesetzter Vorstufen wurde die Reaktionsmischung mit 10 ml Toluol verdünnt und mit Ethanol/Methanol im Verhältnis von 3:1 versetzt und in ein Zentrifugengefäß überführt. Nach fünfminütiger Zentrifugation wurde der Überstand verworfen und die CdSe-QDs in 3 ml Chloroform gelöst. Die CdSe-QDs hatten Durchmesser zwischen 2,8 nm und 3,0 nm, die CdSe-Partikelkonzentration der Lösungen lagen zwischen  $2,1 \cdot 10^{-4}$  mol/l und  $3,1 \cdot 10^{-4}$  mol/l. Konzentration und Durchmesser der Partikel wurden nach [111] bestimmt. Eine TEM-Aufnahme ist in Abbildung 5.5a in Abschnitt 5.1 gezeigt.

#### 3.2.3. Synthese der CdSe/CdS/ZnS Kern-Schale-Halbleiternanokristalle

*Synthese der CdSe-Kerne:* Die Synthese der CdSe-Kerne für die beschichteten QDs erfolgte analog der CdSe-Kerne für die CdSe-PDI-Komplexe. Die Einspritztemperatur für

den Se-Precursor lag aber bei 280 °C, die Wachstumstemperatur bei 250 °C. Die Reaktionszeit betrug 1 min. Die CdSe-Kerne wurden nach der Aufarbeitung in 4 ml Toluol gelöst. Die Konzentration der CdSe-QDs betrug  $5,1 \cdot 10^{-4}$  mol/l, der Durchmesser 2,5 nm. Konzentration und Durchmesser der Partikel wurden nach [111] bestimmt.

*Berechnung der für die Beschichtung benötigten Volumina der Precursor-Lösungen:* Die theoretischen Schichtdicken für eine Monolage (ML) CdS wurde mit 0,35 nm angenommen, die für eine ML ZnS mit 0,31 nm [123]. Aus der Differenz der Volumina der CdSe-Kerne und der mit einer Monolage beschichteten Kerne wurde das Volumen der Schicht berechnet. Die theoretisch benötigten Precursor-Volumina pro ML wurden halbiert, da dies die besten Ergebnisse erzielt [123].

*Synthese der Kern-Schale QDs:* Die CdSe-Kerne wurden mit einer ML CdS und zwei (CdSe-2ZnS) bzw. fünf ML ZnS (CdSe-5ZnS) beschichtet. Für beide Kern-Schale-QDs wurden die gleichen CdSe-Kerne verwendet. Für die Beschichtung der CdSe-Kerne wurden für beide QD-Chargen  $5,1 \cdot 10^{-7}$  mol CdSe-QDs mit 3 ml ODE und 0,5 ml Oleylamin bei 100 °C im Dreihalskolben mit Temperaturfühler und Septum 3 h evakuiert. Die Kationenprecursormenge für die erste ML wurde im Argongegenstrom bei 100 °C zugespritzt. Im Anschluss wurde die Lösung auf 240 °C erhitzt, und 10 min nach Erreichen dieser Temperatur der Anionenprecursor zugegeben. Die restlichen Volumina für die einzelnen ML wurden abwechselnd in 10 min-Intervallen zugegeben. Im Anschluss wurden die QD-Lösungen wie die CdSe-Kerne aufgearbeitet und in 3 ml Chloroform gelöst. Die QD-Konzentration betrug  $1,7 \cdot 10^{-4}$  mol/l und wurde basierend auf der zur Synthese eingesetzten Stoffmenge der CdSe-QDs ermittelt. TEM-Aufnahmen der Kern-Schale-QDs sind in Abbildung 5.5b und c in Abschnitt 5.1 gezeigt, der Durchmesser der CdSe-2ZnS-QDs betrug 4,8 nm, der der CdSe-5ZnS 5,4 nm.

### 3.2.4. Synthese der CdTe/CdSe/ZnS Kern-Schale-Halbleiternanokristalle

*Synthese der CdTe-Kerne:* 26 mg CdO, 140 mg TDPA und 4 ml ODE wurden 2 h bei 100 °C evakuiert. Im Argongegenstrom wurde die Reaktionsmischung auf 300 °C erhitzt, wobei eine klare farblose Lösung entstand. 2 ml einer 0,1 M Te-TOP-ODE wurden schnell in die Reaktionslösung gespritzt. Die Wachstumstemperatur betrug 270 °C, die Reaktionsdauer 1,5 min. Die Lösung wurde mit Hilfe von Druckluft rasch auf 70 °C abgekühlt, mit etwa 10 ml Toluol verdünnt und die CdTe-Kerne durch Zugabe von Ethanol ausgefällt. Die Mischung wurde in ein Zentrifugengefäß überführt und 5 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in 3 ml Toluol gelöst. Die nach [111] abgeschätzten Partikeldurchmesser lagen zwischen 3,5 nm und 3,6 nm, die damit ermittelten Partikelkonzentrationen lagen zwischen  $1,0 \cdot 10^{-4}$  mol/l und  $1,8 \cdot 10^{-4}$  mol/l. Die mittleren Durchmesser, welche an Hand der TEM-Aufnahmen ermittelt wurden, lagen zwischen 3,6 nm und 4,4 nm, wobei die Abweichung zu den an Hand [111] bestimmten Durchmessern unter anderem auf die Qualität der TEM-Aufnahmen zurückzuführen ist. Die mittels

### 3.2. Synthese der Halbleiternanokristalle (QDs) und der Komplexe mit Perylendiimid bzw. Terrylendiimid

---

TEM-Aufnahmen bestimmten Durchmesser liegen aber im Bereich der von [111] angegebenen Ungenauigkeit von 20% bis 30%. Absorptions- und Fluoreszenzspektren sowie TEM-Aufnahmen mit den Größenverteilungen von vier exemplarischen CdTe-Kernchargen sind im Anhang in Abbildung A.18 gezeigt.

*Zweistufige Synthese auf Basis von [134]:* Die benötigten Volumina der Precursor-Lösungen wurden analog der Vorgehensweise für die CdSe/CdS/ZnS-QDs bestimmt. Dabei wurde die Schichtdicke einer Monolage CdSe als 0,35 nm angenommen. Die theoretischen bestimmten Volumina für die CdSe-Schichten wurden halbiert, die ZnS-Schichten wurden unter Verwendung von 100% des theoretisch benötigten Volumens aufgetragen.  $1,5 \cdot 10^{-7}$  mol CdTe-Kernpartikel in Toluol wurden im Dreihalskolben mit Temperaturfühler und Septum zusammen mit 3,5 ml ODE, 0,140 g TDPA und 0,5 ml TOP 1 h bei Raumtemperatur und weitere 20 min bei 100 °C evakuiert. Im Argongegenstrom wurde der Kationenprecursor bei 100 °C zugespritzt und die Reaktionslösung auf eine Temperatur von 170 °C erwärmt. Nach 30 min wurde der Anionenprecursor zugegeben. Mit Hilfe einer Spritze wurde zu verschiedenen Zeitpunkten 0,05 ml Probe entnommen und Absorptions- sowie Fluoreszenzspektren der Probe gemessen. Sobald sich innerhalb von 30 min die spektrale Position des Emissionsmaximums um weniger als 10 nm änderte, wurde die Reaktionslösung mit Hilfe von Druckluft auf 100 °C abgekühlt und erneut der Kationenprecursor zugegeben. Die Temperatur der Reaktionslösung wurde erhöht und nach 30 min der Anionenprecursor zugegeben. Es wurde weiter verfahren wie bei der ersten Schicht. Die Reaktionstemperaturen waren 190 °C und 200 °C für die zweite und dritte ML CdSe. Die Synthese kann auch bei niedrigeren Temperaturen durchgeführt werden, dann werden aber deutlich höhere Reaktionszeiten notwendig (näheres siehe Abschnitt 6.1). Zur Beschichtung mit ZnS wurde der ZDC-Precursor bei 135 °C zugespritzt. Nach 30 min wurde die Reaktionsmischung auf 200 °C erwärmt und 30 min bei dieser Temperatur belassen. Nach Abkühlen der Reaktionslösung mit Hilfe von Druckluft auf 70 °C wurde diese mit 10 ml Toluol gemischt und die QDs mit Ethanol ausgefällt. Die Mischung wurde in ein Zentrifugenglas überführt und 5 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment in 1 ml Toluol gelöst. Die Partikelkonzentration betrug unter der Annahme, dass sich die Konzentration der CdTe-Kerne durch die Beschichtung nicht ändert,  $1,5 \cdot 10^{-4}$  mol/l.

*Ligandaustausch mit Dihydroliponsäure (DHLA):* 0,5 ml der QDs wurden mit 3 ml Toluol verdünnt. 0,160 ml DHLA wurden in 10 ml Isopropanol gelöst und mit Tetramethylammoniumhydroxidpentahydrat auf einen pH-Wert von 12 eingestellt. Die QD-Lösung wurde mit dieser Lösung gemischt und 1 h gerührt. Im Anschluss wurden die QDs durch Zugabe von Ethylacetat ausgefällt und 30 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment in 0,5 ml Wasser gelöst.

*Einstufige Synthese nach [64]:* Die Einspritztemperatur der Te-Vorstufe für die CdTe-Kerne lag bei 315 °C, die Wachstumstemperatur bei 270 °C. Die Reaktionslösung wurde nach 20 s Wachstumsdauer mit Hilfe von Druckluft auf 100 °C abgekühlt. Die CdTe-Kerne

wurden nach der Synthese nicht aufgearbeitet, sondern direkt in der Reaktionslösung beschichtet. Als Vorstufen wurden eine 0,2 M Se-TOP-Lösung (0,079 g Se gelöst in 5 ml TOP) und 0,1 M Cd(OAc)<sub>2</sub>-Lösung (siehe 3.2.1) eingesetzt. Die Volumina der Kationenvorstufen waren 0,5 ml, 0,8 ml und 1,2 ml für die erste, zweite und dritte ML, die Volumina der Anionenvorstufen waren auf Grund der doppelten Konzentration halb so hoch. Anionen- und Kationenprecursor wurden für jede ML gleichzeitig bei einer Temperatur von 100 °C zugegeben, die Wachstumstemperatur für die einzelnen Schichten lag bei 235 °C. Die Reaktionsdauer pro ML betrug 30 min.

*Modifizierte einstufige Synthese auf Basis von [64]:* Die CdTe-Kerne erfolgte analog der Vorschrift in [64]. 26 mg CdO, 250 mg TDPA und 5 ml ODE wurden 2 h bei 100 °C evakuiert. Im Argongegenstrom wurde die Mischung auf 315 °C erhitzt, wobei eine klare farblose Lösung entstand. 2 ml der 0,1 M Te-TOP-ODE-Lösung wurden schnell zugespritzt, wodurch sich die Temperatur der Lösung auf 270 °C reduzierte. Nach 20 s wurde die Reaktionslösung mit Hilfe von Druckluft abgekühlt.

Die Beschichtung der CdTe-Kerne erfolgte ohne vorherige Aufarbeitung direkt in der Reaktionslösung. Vor der Beschichtung wurden Größe und Konzentration der CdTe-Kerne in der Reaktionslösung mit [111] aus dem Absorptionsspektrum bestimmt, und die pro ML benötigten Volumina der Vorstufenlösungen analog zur zweistufigen Synthese ermittelt. Für die Beschichtung wurden 50% des theoretisch benötigten Volumens eingesetzt. Zwischen Kationen- und Anionenzugabe wurde 30 min pausiert. Die Zugabe des Kationenprecursors für die erste ML erfolgte bei einer Temperatur von 100 °C, woraufhin die Reaktionslösung auf 200 °C erwärmt wurde. Die Reaktionslösung wurde für 30 min bei dieser Temperatur gehalten, dann wurde der Anionenprecursor zugespritzt. Analog zur Vorgehensweise der zweistufigen Synthese wurde in 30 min Intervallen Proben aus der Reaktionslösung entnommen und Absorptions- und Fluoreszenzspektren gemessen. Wenn sich die spektrale Position des Emissionsmaximums innerhalb von 30 min Reaktionszeit um weniger als 10 nm verschob, wurde mit der nächsten ML begonnen. Die Lösung wurde hierfür wieder auf 100 °C abgekühlt und der Kationenprecursor für die nächste ML zugegeben. Es wurde wie bei der ersten Schicht weiter verfahren. Die folgenden Schichten wurden analog aufgetragen. Die Partikel wurden analog zur zweistufigen Synthese aufgearbeitet.

### 3.2.5. Synthese der CdSe- und CdSe/CdS/ZnS-Perylendiimid-Komplexe

Die Herstellung der Komplexe erfolgte analog der in [63] beschriebenen Vorgehensweise. 0,1 ml einer  $4,5 \cdot 10^{-5}$  M QD-Lösung wurden mit 0,9 ml einer PDI-Lösung in Chloroform gemischt. Die Konzentration der Farbstoff-Lösung wurde entsprechend des gewünschten PDI-QD-Verhältnisses eingestellt. Nach der Zugabe von 100 µl einer 32 mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung wurden die Proben für vier Stunden im Ultraschallbad platziert. Die trüben Mischungen wurden zentrifugiert, der Überstand verworfen und der Niederschlag in

1 ml Chloroform gelöst. Die QD-Farbstoffkomplexe wurden erneut mit Methanol ausgefällt und zentrifugiert, um nicht gebundenen Farbstoff aus den Lösungen zu entfernen. Der Überstand wurde verworfen und die QD-Farbstoffkomplexe in Chloroform gelöst. Zu Ermittlung der tatsächlich vorliegenden QD-PDI-Verhältnisse in den Lösungen wurde aus der Absorbanz am Absorptionsmaximum des PDIs bei  $\lambda = 577$  nm mit dem Extinktionskoeffizienten des PDIs ( $37\,000\text{ l mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  [63]) die PDI-Konzentration bestimmt. Die CdSe-Konzentrationen in den Komplexen wurden aus deren niederenergetischsten exzitonischen Übergängen nach [111] ermittelt. Die Konzentrationen der Kern-Schale-QDs konnten nicht aus den Absorptionsspektren extrahiert werden, sondern wurden basierend auf der ursprünglich zur Synthese eingesetzten CdSe-Kern-Konzentration ermittelt. Dabei wurde angenommen, dass während der Beschichtung keine Verringerung der Partikelkonzentration auftrat.

### 3.2.6. Synthese der CdTe/CdSe/ZnS-Terrylendiimid-Komplexe

Die Synthese der CdTe/CdSe-ZnS-Terrylendiimid-Komplexe wurde analog zu Vorgehensweise der CdSe- bzw. Kern-Schale-QD-PDI-Komplexe durchgeführt.

### 3.2.7. Verwendete Chemikalien

**Tabelle 3.2.:** Übersicht über die verwendeten Chemikalien

Substanz	Spezifikation	Hersteller/Lieferant
Agarose ME	für Elektrophorese von Makromolekülen	Alfa Aesar
Streptavidin	affinity purified, lyophilized from 10 mM potassium phosphate, $\geq 13$ U/mg protein	Sigma Aldrich
HAuCl <sub>4</sub> x 3H <sub>2</sub> O	ACS Reagens	Sigma Aldrich
Goldnanopartikel	40 nm Durchmesser, OD1, frei von Nebenprodukten	Sigma Aldrich
Trioctylphosphin	97%	ABCR
Trioctylphosphinoxid	für Synthese	Merck
Tetradecylphosphonsäure	—	Michaela Wagner, Arbeitsgruppe Prof. Thomas Basché
Selen	99,999%	Alfa Aesar
Ölsäure	—	Fisher Chemical
Schwefel	99,98%	Aldrich
Cadmium(II)-oxid	99,5%	Sigma Aldrich
Cadmiumacetat-Dihydrat	98%	Sigma Aldrich

Tabelle 3.2.: Fortsetzung

Substanz	Spezifikation	Hersteller/Lieferant
Terrylendiimid	—	Arbeitsgruppe Prof. Klaus Müllen, Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Perylendiimid	—	Zhihong Liu, Arbeitsgruppe Prof. Klaus Müllen, Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Tellur	99,999%	Alfa Aesar
ZDC <sup>1</sup>	97%	Aldrich
Oleylamin	C18-Gehalt 80% bis 90%	Acros Organics
Octadecen	90% technisch	Acros Organics
Biotin-PEG <sup>2</sup>	97% nach HPLC, Oligomer Reinheit 95%	Iris Biotech GmbH, PEG47058
COOH-PEG <sup>3</sup>	95,2% <sup>1</sup> H-NMR, 99,3% HPLC	Iris Biotech GmbH, PEG1970
(3-Aminopropyl)triethoxysilan	99%	Sigma Aldrich
WSCP <sup>4</sup>	—	Fabian Jung, Arbeitsgruppe Prof. Harald Paulsen

<sup>1</sup>Zinkdiethyldithiocarbamat<sup>2</sup>alpha-Biotin-omega-mercaptoundeca(ethylene glycol)<sup>3</sup>15-Mercapto-4,7,10,13-tertoxa-pentadecanoic acid<sup>4</sup>Wasserlösliches Chlorophyll bindendes Protein

### 3.3. Methoden

#### 3.3.1. Statische Spektroskopie

Die statischen Fluoreszenzspektren wurden an einem Fluoromax-2 Spektrometer der Firma HORIBA JOBIN YVON aufgenommen. Die statischen Absorptionsspektren wurden an einem Omega 20 Spektrometer von BRUINS INSTRUMENTS gemessen. Für die Messungen wurden Küvetten aus Quarzglas verwendet. Alle GNP-Proben wurden in Mikroküvetten mit einem Volumen von 0,7 ml, alle QD-Proben bzw. QD-Farbstoffproben in Küvetten mit einem Volumen von 3,5 ml gemessen. Die Schichtdicke der Küvetten betrug 1 cm.

#### 3.3.2. Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie

Die zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen wurden an einem Fluorolog-3 Spektrometer (HORIBA JOBIN YVON) durchgeführt.

Die Anregung der QD-Farbstoffkomplexe erfolgte mit einem Superkontinuumfaserlaser (SC-450-PP-AOTF, FIANIUM LTD). Es wurde ein Detektor mit Einzelphotonenempfindlichkeit (PMA Hybrid 50, PICOQUANT) zusammen mit einem PicoHarp 300-Modul (PICOQUANT) verwendet. Zur Ermittlung der Fluoreszenzlebensdauern des CdSe in den Komplexen mit PDI wurden die Proben mit einer Wellenlänge von 450 nm angeregt, die Detektionswellenlänge lag bei 550 nm. Zur Anregung des PDI in den Komplexen wurde eine Wellenlänge von 577 nm, die Emissionswellenlänge lag bei 612 nm. Die Anregungswellenlänge zur Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauern der CdTe/CdSe/ZnS-QDs in Komplexen mit TDI lag bei 730 nm, die Detektionswellenlänge bei 750 nm.

Für die Messungen an CdTe-QDs bzw. CdTe/CdSe-QDs wurde eine 605er NanoLED (HORIBA Scientific) verwendet. Die Detektionswellenlänge der Emission lag beim Fluoreszenzemissionsmaximum der QDs.

Für alle Proben wurde eine Instrumentenfunktion mit einer Streuprobe aufgenommen.

Zur Ermittlung der amplitudengewichteten Fluoreszenzlebensdauern  $\tau$  wurde eine Summe aus zeitabhängigen Exponentialfunktionen  $I(t)$  als Modellfunktion verwendet [139]:

$$I(t) = \sum_i A_i \exp(-t/\tau_i).$$

Dabei sind  $A$  die Amplituden und  $\tau$  die Fluoreszenzlebensdauern der einzelnen Komponenten  $i$ . Diese wurde mit der gemessenen Instrumentenfunktion  $IRF$  gefaltet, sodass sich folgende Funktion  $I_{IRF}(t)$  zur Ermittlung der Zerfallszeiten ergibt [171]:

$$I_{IRF}(t) = \sum_i A_i \exp(-t/\tau_i) \otimes IRF(t + \Delta t) + B_{ges}.$$

Dabei ist  $B_{ges}$  das Hintergrundsignal und  $\Delta t$  die zeitliche Verschiebung der  $IRF$  zur Fluoreszenzabklingkurve. Die zur Auswertung verwendete IGOR Prozedur „convolved de-

cayfit v2“ wurde von Dr. Mathias Haase zur Verfügung gestellt.

### 3.3.3. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die TEM-Aufnahmen wurden an einem Philips EM420, einem FEI Tecnai G2 12 BioTwin, einem FEI Tecnai G2 Spirit oder einem LEO EM906 mit einer Anregungsspannung von 120 kV angefertigt.

*TEM-Probenpräparation der QDs:* 10  $\mu\text{l}$  einer  $1 \cdot 10^{-6}$  M QD-Lösung in Chloroform oder Toluol wurden auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfernetzchen getropft.

*TEM-Probenpräparation der GNPs:* 20  $\mu\text{l}$  der GNP-Lösung wurden auf ein Stück Parafilm getropft und das mit Kohlenstoff befilmte TEM-Netzchen darauf platziert. Die Adsorptionszeit der GNPs lag je nach Konzentration bei 10 min bis 20 min. Das TEM-Netzchen wurde vorsichtig vom Tropfen entfernt und mit einem fusselreien Papiertuch die noch auf dem Probenträger haftende Flüssigkeit abgesaugt.

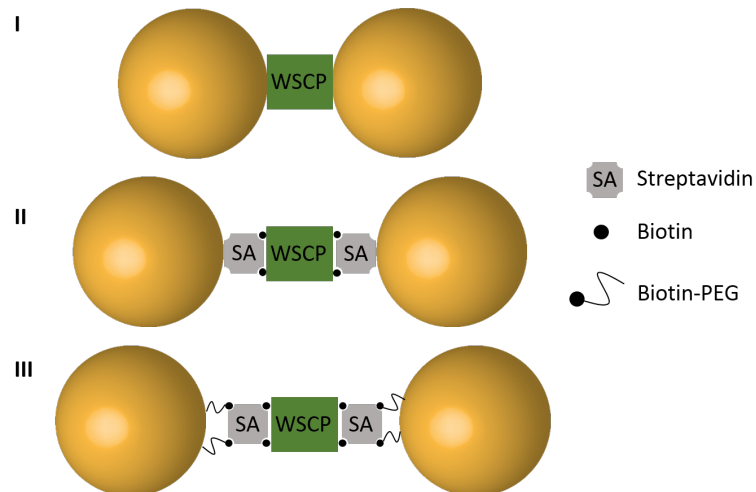
*Cryo-TEM:* Die Aufnahmen wurden an dem FEI Tecnai G2 Spirit angefertigt. Es wurden Kupfernetzchen mit einem löchrigen Kohlenstofffilm verwendet, welche 30 s in einem Plasma Cleaner behandelt wurden. Die Probenpräparation wurde in einem Vitrobot durchgeführt (20 °C, 80% bis 90 % Luftfeuchtigkeit). Es wurden 5  $\mu\text{l}$  Probenvolumen 1 s auf den Probenträger geblottet. Die Probe wurde in kondensiertem Propan schockgefrostet und bis zur Messung in flüssigem Stickstoff aufbewahrt.

## **4. Nanoantennen für die Fluoreszenzverstärkung des wasserlöslichen Chlorophyll bindenden Proteins (WSCP)**

Zentrale Zielstellung der im folgenden Kapitel diskutierten Experimente und Ergebnisse ist der Aufbau von Goldnanoantennen für die fluoreszenzspektroskopische Untersuchung des wasserlöslichen Chlorophyll bindenden Proteins (WSCP). Das WSCP für die Bindung an citrat-stabilisierte GNPs wurde von verschiedenen Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Harald Paulsen vom Institut für Allgemeine Botanik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz zur Verfügung gestellt. Verschiedene mit Biotin markierte WSCP-Mutanten wurden von Fabian Jung (Arbeitsgruppe von Prof. Harald Paulsen, Institut für Botanik, Johannes Gutenberg-Universität Mainz) für die Bindung an SA-stabilisierte und Polyethylenglykol-stabilisierte GNPs zur Verfügung gestellt.

Die Goldnanoantennen bestehen aus zwei sphärischen Goldnanopartikeln (GNP-Dimer), in deren Zwischenraum das WSCP positioniert sein soll. Im eigentlichen Sinne wird die Fluoreszenz des im WSCP gebundenen Chlorophyll *a* (Chl*a*) detektiert, der Einfachheit halber wird aber im Folgenden der Begriff des fluoreszierenden WSCPs verwendet.

In vielen Veröffentlichungen wird die Fluoreszenzverstärkung von Fluorophoren an immobilisierten Goldnanostrukturen, mit zufälliger Orientierung und Positionierung der zu untersuchenden Fluorophore [40, 42, 96, 172, 173] untersucht. Der Nachteil dieser Methode liegt in der Unkenntnis der räumlichen Orientierung und der genauen Position der Fluorophore an den Nanoantennen. Im Gegensatz dazu werden in der vorliegenden Arbeit die GNP-Dimere zunächst mit dem Fluorophor in Lösung assembliert (siehe Abschnitte 4.2 und 4.3). Nach der Assemblierung folgt die Anreicherung der Dimere in Lösung (siehe Abschnitt 4.5). Die Dimere können dann auf funktionalisierten Glassubstraten immobilisiert (einzelmolekül)-spektroskopisch untersucht werden (siehe Abschnitt 4.6). Die Vorteil gegenüber der erstgenannten Vorgehensweise begründet sich zum einen in der deutlich kostengünstigeren und weniger aufwendigen Probenpräparation, zum anderen sind durch die Verknüpfung der einzelnen Goldnanopartikel durch das Fluorophor Position und Abstand zu den GNP-Oberflächen deutlich genauer bestimmt. Weiterhin sind so auch spektroskopische Untersuchungen der Proben auf Ensemblesniveau möglich.



**Abbildung 4.1.:** Skizze zur Veranschaulichung der drei gewählten Assemblierungsrouten

Das Protein WSCP ist dabei sowohl Träger des Fluorophors (Chla) als auch verbrückende Einheit für die GNPs. Häufig werden die GNPs mit komplementären DNA-Strängen assembliert, welche ihrerseits zuvor mit Farbstoffen markiert wurden [39, 174, 175]. In der vorliegenden Arbeit werden mit Hilfe des Einsatzes des WSCPs keine künstlich aufgebauten Systeme verwendet, sondern direkt das biologisch vorkommende System untersucht. Die Nanoantennen könnten so zukünftig auch eingesetzt werden, um die Chlorophyll-Chlorophyll- und die Chlorophyll-Protein-Wechselwirkungen zu analysieren.

Im Folgenden werden zunächst die Voraussetzungen für eine erfolgreiche elektronische Wechselwirkung eines Dimerplasmons mit WSCP und in diesem Zusammenhang die das WSCP für die geplanten Untersuchungen prädestinierenden Eigenschaften diskutiert. Die Dimere wurden auf folgenden drei Wegen aufgebaut (siehe Skizze in Abbildung 4.1):

- direkte Bindung des WSCPs an citrat-stabilisierte GNPs (I, Abschnitt 4.2),
- Bindung eines biotinfunktionalisierten WSCP an mit SA stabilisierte GNPs (II, Abschnitt 4.3.1) und
- Bindung eines biotinfunktionalisierten WSCP an mit PEG-stabilisierte GNPs (III, Abschnitt 4.3.2).

Die im Rahmen der Experimente zur Stabilisierung/Funktionalisierung und Assemblierung mit WSCP verwendeten GNPs hatten Durchmesser in einem Bereich von  $(29 \pm 5)$  nm und  $(52 \pm 7)$  nm<sup>1</sup>. GNP-Chargen mit kleinen mittleren Durchmessern zwischen  $(29 \pm 5)$  nm und  $(41 \pm 6)$  nm kamen nur in Vorexperimenten zum Einsatz. In Experimenten, welche den gezielten Aufbau von Nanoantennen mit WSCP beinhalteteten, wurden GNPs mit mittleren Durchmessern zwischen  $(42 \pm 7)$  nm und  $(52 \pm 7)$  nm eingesetzt.

<sup>1</sup>Ermittelt aus TEM-Aufnahmen (siehe Abbildung A.1)

Es wurde kein unterschiedliches Verhalten der GNPs einzelner Chargen beobachtet, allerdings unterscheiden sich auf Grund der variierenden mittleren Partikelgrößen die Konzentrationen der GNP-Lösungen sowie die Gesamtpartikeloberfläche der Lösungen. Der Vollständigkeit halber sind im Anhang in Abbildung A.1 TEM-Aufnahmen aller GNPs, welche für die im folgenden vorgestellten Experimente verwendet wurden, gezeigt. Die jeweilige GNP-Charge wird im Zuge der Vorstellung der Ergebnisse genannt. An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, dass die angegebenen WSCP-GNP-Verhältnisse, die GNP-Oberflächen und die Belegungsdichte der GNPs mit SA bzw. PEG entsprechend der an Hand von TEM-Aufnahmen ermittelten Durchmesser und den daraus resultierenden GNP-Konzentrationen angegeben werden (vgl. Abschnitt 3.1.1). Im Anschluss an die Vorstellung der Ergebnisse zum Aufbau der Nanoantennen wird auf deren Anreicherung eingegangen. Abschließend werden die Ergebnisse der Experimente zur Untersuchung der WSCP-Fluoreszenz an GNP-Dimeren vorgestellt.

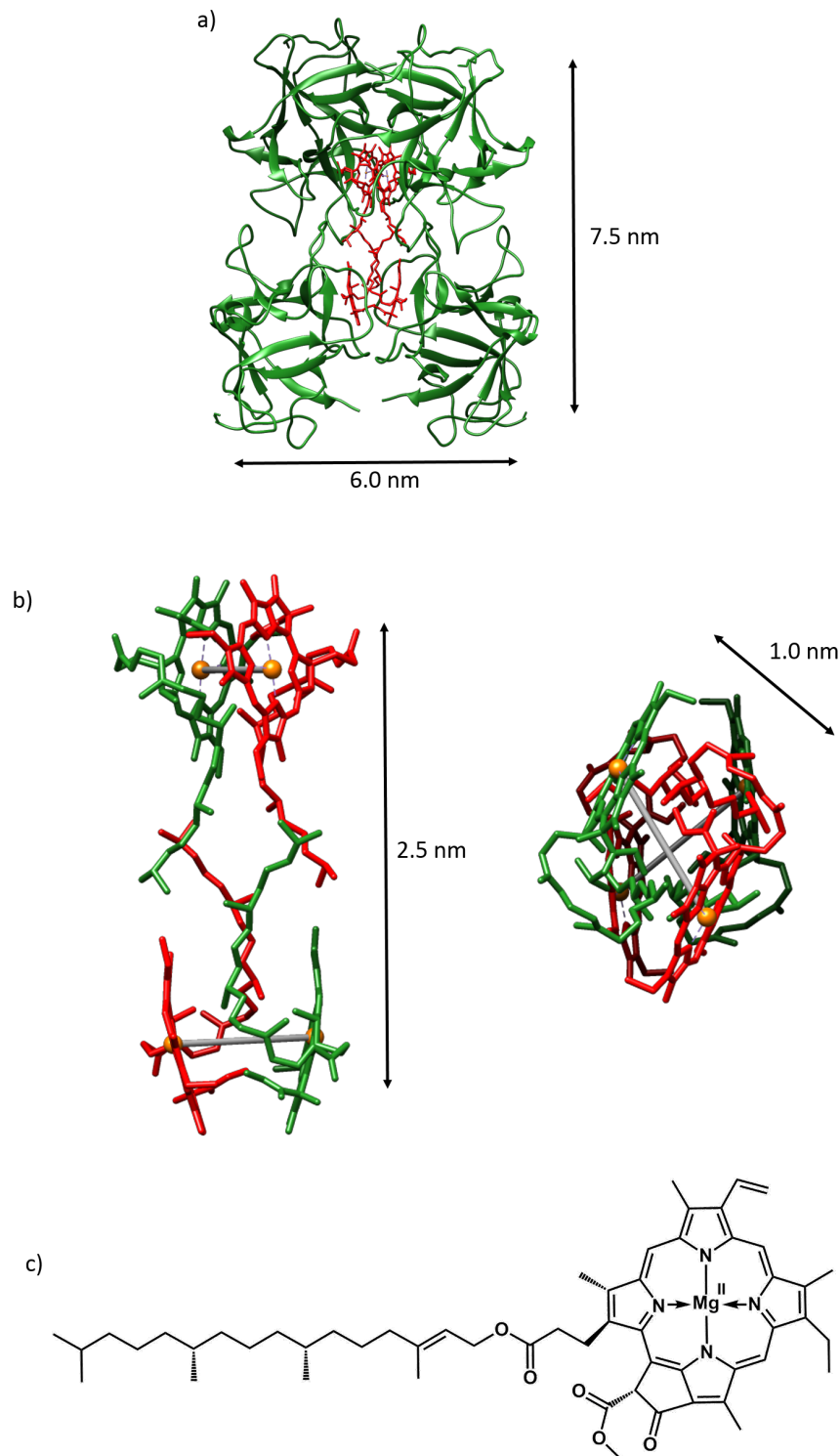
### 4.1. WSCP und die möglichen elektronischen Wechselwirkungen mit dem plasmonischen Nahfeld

Die biologische Funktion des WSCPs ist bislang nicht vollständig geklärt. Bekannt ist, dass die Produktion des WSCPs in Pflanzen stressinduziert ist, was auf eine Schutzfunktion und/oder eine Teilnahme am Degradations-/Reparaturzyklus des Photosystems hindeutet [176]. Für die durchgeführten Experimente mit Goldnanopartikeln ist die hohe Stabilität des Proteins von Vorteil. Diese äußert sich in dem Vermögen, auch extreme pH-Werte und stundenlanges Kochen zu überstehen [60, 177]. Es existieren verschiedene WSCP-Varianten, das in der vorliegende Arbeit verwendete ist die Variante aus Blumenkohl, welches den Klasse II WSCPs zuzuordnen ist [178]<sup>2</sup>.

Kürzlich konnte von Bednarczyk et al. die Kristallstruktur dieses WSCPs mit gebundenem Chlorophyll *a* aufgeklärt werden [178]. Eine mit *Chimera* erstellte Darstellung dieser ist in Abbildung 4.2a gezeigt. Die Proteineinheiten bilden zusammen mit Chlorophyll Homotetramere, wobei jedes Monomer ein Chlorophyll bindet. Diese Chlorophylle sind in Abbildung 4.2a in rot dargestellt. Jeweils zwei Chl *a* sind nah beieinander positioniert und bilden ein Chlorophyll-Dimer. Die die Magnesiumionen verbindenden imaginären Achsen beider Dimere sind um 81,6° relativ zueinander verdrillt (Abbildung 4.2b). In der tetrameren Struktur des Proteins sind die Chlorophylle im Zentrum des Tetramers positioniert. Die Proteinstruktur verschließt den Hohlraum, in dem sich die Chlorophylle befinden, fast vollständig, sodass die Chlorophylle kaum mit Lösungsmittel interagieren können. Außerdem sind die Chlorophylle so vor dem Kontakt mit Sauerstoff geschützt, welcher das

---

<sup>2</sup>WSCPs werden in zwei Klassen unterteilt: Klasse I WSCPs ändern ihre Absorption unter Bestrahlung mit Licht, während Klasse II WSCPs dies nicht tun [179]. Ein weiterer Vertreter der Klasse II WSCPs ist die Variante aus Virginischer Kresse (*Lepidium virginicum*).



**Abbildung 4.2.:** a) Mit *Chimera* erstellte Abbildung der Kristallstruktur des verwendeten WSCPs mit vier gebundenen Chl a (rot) [178]. Die Chimera-Datei der tetrameren Struktur wurde von Fabian Jung aus der Arbeitsgruppe Paulsen zur Verfügung gestellt. b) Darstellung der räumlichen Anordnung der Chlorophylle ohne Proteinmatrix, links: gleiche Ansicht wie in Abbildung a), rechts: Blick von oben auf die links dargestellte Ansicht. Die Magnesiumionen sind mit einer grauen Linie verbunden, um die Orientierung der Chlorophylle zueinander zu verdeutlichen. c) Molekülstruktur von Chl a.

Chlorophyll oxidativ zerstören kann<sup>3</sup> [61].

In Abbildung 4.2a sind auch die Abstände zwischen den N-Termini der Proteinstruktur eingezeichnet, um dessen räumliche Abmaße zu verdeutlichen. Die gesamte Struktur ist etwa 6,0 nm mal 7,5 nm groß. Wird dieses nun an die GNPs gebunden, um die Nanoantennen aufzubauen, so gewährleistet allein die Proteinmatrix, je nach Orientierung des WSCPs auf den GNPs, einen etwa 3,5 nm bis 5,0 nm großen Abstand des Chlorophylls zu den GNP-Oberflächen, wodurch der in Abschnitt 2.1.3 genannte Energietransfer vom Fluorophor (Chlorophyll) auf die GNPs reduziert bzw. verhindert wird. Zusammen mit der geringen Fluoreszenzquantenausbeute von 20% [180] und der geringen Anzahl an Chlorophyllen und deren verhältnismäßig einfacher Anordnung bietet WSCP damit hervorragende Voraussetzungen, um sowohl die Chlorophyll-Chlorophyll-Wechselwirkungen und die Chlorophyll-Protein-Wechselwirkungen zu untersuchen [176], als auch um als Modellsystem für die Untersuchung der Wechselwirkung von Fluorophoren mit Partikelplasmonen zu fungieren.

Wie in Abschnitt 2.1.1 diskutiert, ist die Plasmonenresonanzfrequenz von GNPs von ihrer Größe, Form und dielektrischen Umgebung abhängig. Weiterhin ändert sich die Plasmonenresonanz, wenn zwei einzelne GNPs räumlich so nah beieinander positioniert sind, dass deren Partikelplasmonen miteinander wechselwirken können. Es kommt auf Grund der resonanten Streuung des einfallenden Feldes durch die GNPs zu einer Feldverstärkung des einfallenden elektromagnetischen Feldes im Zwischenraum beider Partikel („Hot Spot“). Idealerweise soll sich das Verhältnis zwischen strahlender und nichtstrahlender Relaxation des WSCPs an den Nanoantennen so verändern, dass sich dessen Fluoreszenzquantenausbeute erhöht. Hierfür ist zum einen wichtig, dass die Fluorophore nicht zu nah an der Oberfläche der GNPs positioniert sind, da es sonst zu einem strahlungslosen Energietransfer vom WSCP auf die GNPs kommen kann [34]. Dies wird, wie bereits erwähnt, durch die räumliche Anordnung der Chlorophylle in der Proteinmatrix gewährleistet (siehe Abbildung 4.2a). Zum anderen müssen aber auch die spektroskopischen Eigenschaften der Nanoantennen auf die des WSCPs abgestimmt werden. Um eine möglichst hohe Zustandsdichte für die vom WSCP emittierten Photonen durch das plasmonische Nahfeld zur Verfügung stellen zu können, und in Folge dessen gegebenenfalls eine Fluoreszenzverstärkung des WSCPs zu erreichen, müssen die GNPs so gewählt werden, dass deren Plasmonenresonanz im energetischen Bereich der WSCP-Fluoreszenz liegt. Dies würde eventuell zu einer Erhöhung der strahlenden Abregungsraten des WSCPs führen, was einer Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute entsprechen würde. Die Feldstärke im Zwischenraum beider Partikel sollte darüber hinaus an der räumlichen Position des Chla möglichst hoch sein. Die spektroskopischen Eigenschaften der Nanoantennen und die Feldstärken sind wiederum abhängig von der Größe und Form der Partikel und dem Abstand zwischen den

---

<sup>3</sup>Chlorophylle können vom angeregten Singulettzustand in den Triplettzustand übergehen, welcher vom Triplett-Sauerstoff gelöscht wird und zu Bildung des oxidativen Singulett-Sauerstoffs führt, welcher wiederum Chlorophyll oxidativ zerstört [60].

Partikeln.

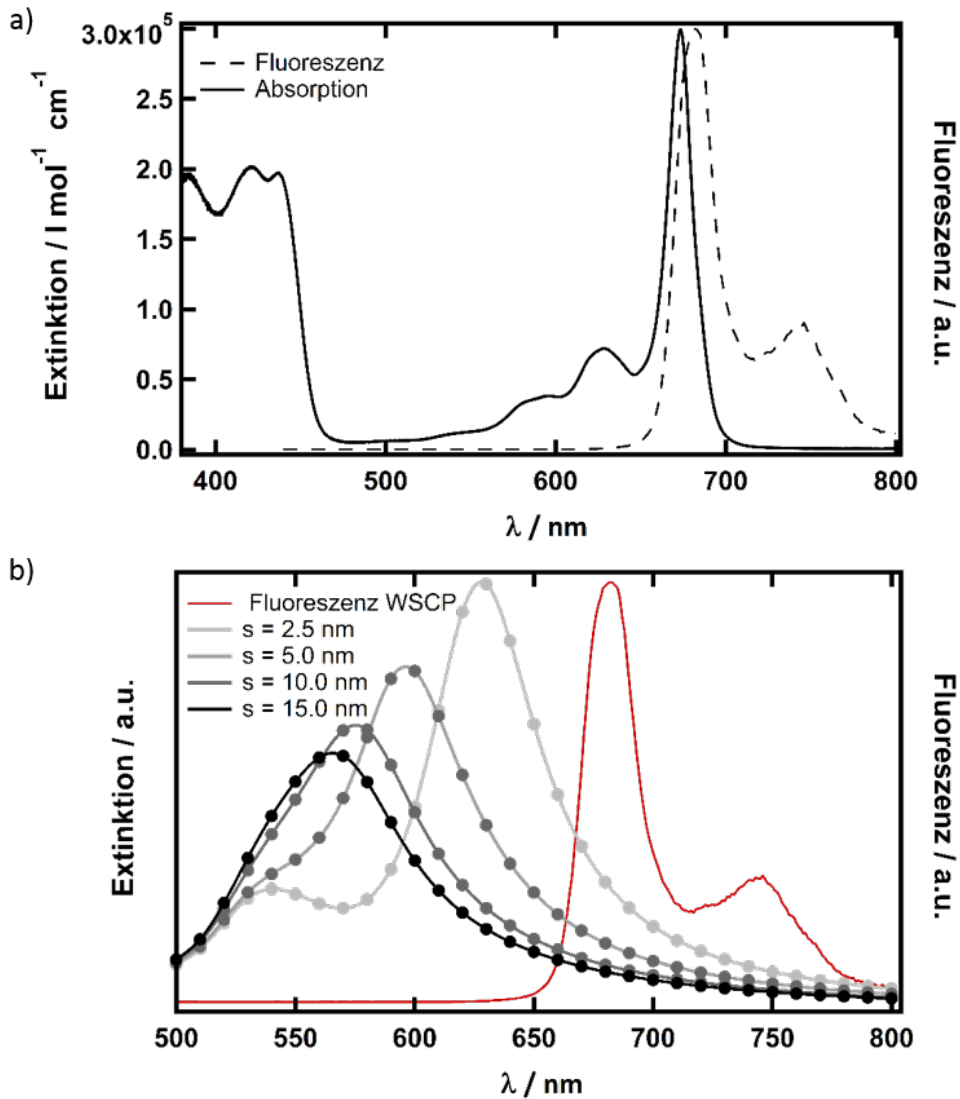
In Abhängigkeit von der Orientierung des WSCPs auf den GNPs und von der Funktionalisierung der GNP-Oberflächen für die Bindung des WSCPs können die Interpartikelabstände zwischen zwei GNPs variieren. Die Auswirkungen dieser unterschiedlichen Interpartikelabstände auf den Streuquerschnitt der Dimere mit GNPs, deren Durchmesser 50 nm beträgt, werden in Abbildung 4.3 deutlich. In Abbildungsteil (a) sind Absorptions- und Fluoreszenzspektrum des WSCPs gezeigt, in Abbildungsteil (b) sind simulierte Streuquerschnitte<sup>4</sup> von GNP-Dimeren mit einem GNP-Durchmesser von 50 nm für unterschiedliche Interpartikelabstände (Abstand der Oberflächen der GNPs voneinander) zusammen mit dem WSCP-Fluoreszenzspektrum gezeigt. Durch eine Reduktion des Interpartikelabstandes verschiebt sich der Streuquerschnitt wie in Abschnitt 2.1.1 erläutert, zu kleineren Energien. Der Überlapp mit dem WSCP-Fluoreszenzspektrum ist dann größer. Prinzipiell sind aber alle gezeigten simulierten Spektren in einem gewissen Ausmaß mit dem Fluoreszenzspektrum des WSCPs überlagert.

Für eine erfolgreiche Verstärkung der Fluoreszenz des WSCPs sollte außerdem die elektrische Feldstärke an der Position des Chlorophylls möglichst hoch sein. Wie in Abschnitt 2.1.1 erläutert, ist die Erzeugung eines verstärkten Feldes im Zwischenraum der beiden GNPs des Dimers nur möglich, wenn der elektrische Feldvektor eine Komponente entlang der Verbindungsachse des Dimers besitzt. Idealerweise ist das Licht entlang der Verbindungsachse polarisiert. Zur Abschätzung der Feldverstärkungen an 50 nm großen Monomeren und Dimeren mit unterschiedlichen Interpartikelabständen sind in Abbildung 4.4 simulierte elektrische Feldverteilungen<sup>5</sup> im Nahfeld der Nanostrukturen nach Anregung mit einer Wellenlänge von 630 nm dargestellt. Die gezeigte elektrische Feldstärke kann direkt als Verstärkungsfaktor des einfallenden elektrischen Feldes verstanden werden. Die Feldverstärkung an einem Monomer (Abbildung 4.4a) ist mit einem Faktor von fünf deutlich geringer, als an dem mit entlang der Verbindungsachse polarisiertem Licht angeregtem Dimer (Abbildung 4.4b). Das einfallende Feld wird im Zentrum der Lücke zwischen beiden GNPs, also dort, wo idealerweise die Chlorophylle positioniert sind, um einen Faktor von etwa 14 verstärkt. Wird das gleiche Dimer mit senkrecht zur Dimerverbindungsachse polarisiertem Licht angeregt, ist die Feldstärke im Zwischenraum der GNPs jedoch um einen Faktor von etwa 0,5 geringer, als die Feldstärke des einfallenden Feldes, was hinsichtlich der Untersuchung der Wechselwirkung des plasmonischen Feldes mit dem WSCP ungünstig wäre. Bei der abschließenden einzelmolekülspektroskopischen Untersuchung ist also die Kenntnis der Orientierung des Dimers relativ zur Anregungspolarisation zu beachten.

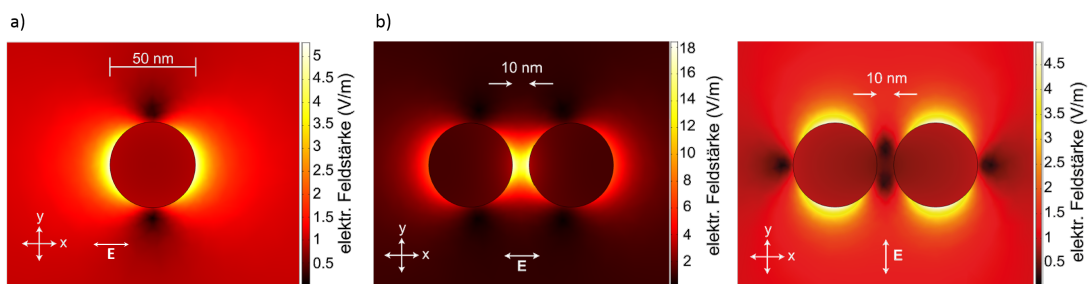
---

<sup>4</sup>Die Streuquerschnitte sind von Marcus Held in Zusammenarbeit mit Thorsten Schumacher aus der Arbeitsgruppe von Prof. Markus Lippitz an der Universität Bayreuth simuliert worden. Details zu den numerischen Simulationen nach der „Methode der finiten Elemente“ finden sich in [181].

<sup>5</sup>Die Feldverstärkungen sind von Marcus Held in Zusammenarbeit mit Thorsten Schumacher aus der Arbeitsgruppe von Prof. Markus Lippitz an der Universität Bayreuth simuliert worden. Details zu den numerischen Simulationen nach der „Methode der finiten Elemente“ finden sich in [181].



**Abbildung 4.3.:** a) Fluoreszenz- und Absorptionsspektrum des verwendeten WSCP mit Chlorophyll *a* (Lösungsmittel 20 mM Natriumphosphatpuffer) b) WSCP-Fluoreszenzspektrum und simulierte Streuquerschnitte<sup>4</sup> (Summe aus longitudinaler und transversaler Plasmonenmode) von GNP-Dimeren mit einem Partikeldurchmesser von 50 nm und verschiedenen Interpartikelabständen zur Verdeutlichung der Abhängigkeit des Überlapps von WSCP-Fluoreszenz mit dem Streuspektrum der GNP-Dimere von den Interpartikelabständen der Dimere.



**Abbildung 4.4.:** Feldverteilungen an GNPs mit einem Durchmesser von 50 nm und einer Anregungswellenlänge von  $630 \text{ nm}^5$ . a) Feldverteilung an einem GNP-Monomer nach Bestrahlung mit in x-Richtung polarisiertem Licht b) Feldverteilungen an GNP-Dimeren mit einem Abstand von 10 nm mit parallel zur Dimerverbindungsachse polarisiertem Licht (x-Richtung) und senkrecht zur Dimerlängsachse polarisiertem Licht (y-Richtung). Die gezeigten elektrischen Feldstärken können direkt als Feldverstärkung des einfallenden Feldes abgelesen werden. Für das Dimer bei Anregung mit parallel zu Verbindungsachse polarisiertem Licht ergibt sich eine maximale Feldverstärkung von etwa 14, im Falle der Anregung des Dimers mit senkrecht polarisiertem Licht wird das Feld mit einem Faktor von 0,5 abgeschwächt.

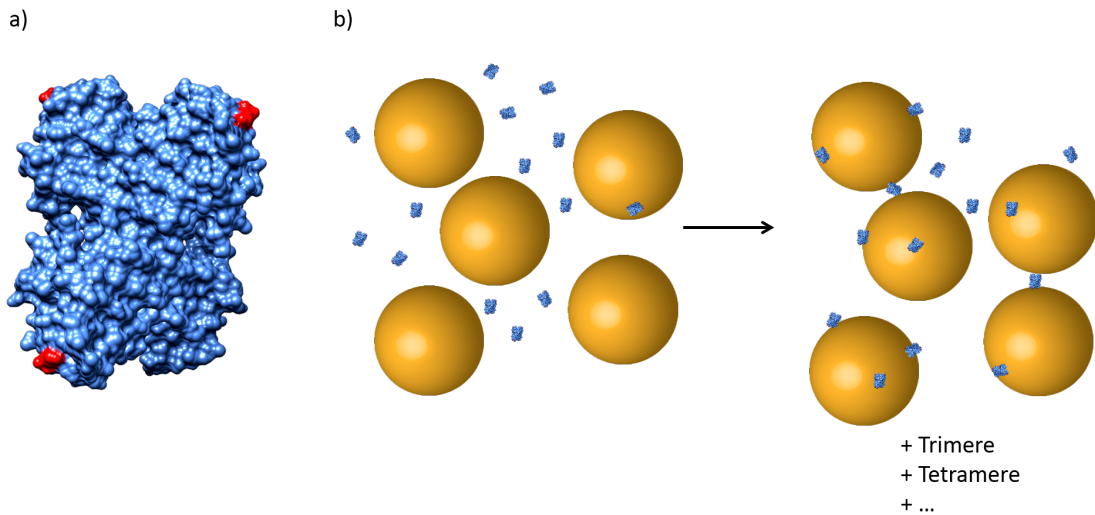
## 4.2. Bindung von WSCP an citrat-stabilisierte Goldnanopartikel

Die direkte Bindung des WSCP an die citrat-stabilisierten GNPs ist die experimentell einfachste Methode zur Darstellung von WSCP-verknüpften GNP-Dimeren. Die metallaffinen Hexahistidin-Tags ( $\text{His}_6$ -Tags) an den N-Termini des WSCP ermöglichen dabei die Bindung an die GNP-Oberfläche [182]. Für eine bessere sterische Zugänglichkeit der  $\text{His}_6$ -Tags an die GNP-Oberflächen wurden zwischen den N-Termini und den  $\text{His}_6$ -Tags Spacer aus sechs Aminosäuren eingebaut. In Abbildung 4.5a ist die mit *Chimera* erstellte Oberflächenabbildung der Kristallstruktur des WSCP gezeigt, die N-Termini sind rot markiert, um die ungefähre Positionierung der  $\text{His}_6$ -Tags zu verdeutlichen. In Abbildung 4.5b ist maßstabsgetreu für einen GNP-Durchmesser von 50 nm die prinzipielle Vorgehensweise skizziert.

Der große Vorteil dieser Vorgehensweise liegt vor allem in dem geringen apparativen und experimentellen Aufwand. Nebenprodukte der GNP-Synthese werden vor der Bindung an das WSCP durch Zentrifugation entfernt. Die GNPs werden in Puffer gelöst und durch einfaches Mischen mit einer WSCP-Lösung gewünschter Konzentration an dieses gebunden. Details sind Abschnitt 3.1 zu entnehmen.

### Extinktionsspektren zeigen erfolgreiche WSCP-vermittelte Aggregation der GNPs

Zunächst soll nochmals hervorgehoben werden, dass der Änderung der Plasmonenresonanzfrequenz kolloidaler GNP-Lösungen zwei Ursachen zu Grunde liegen können:

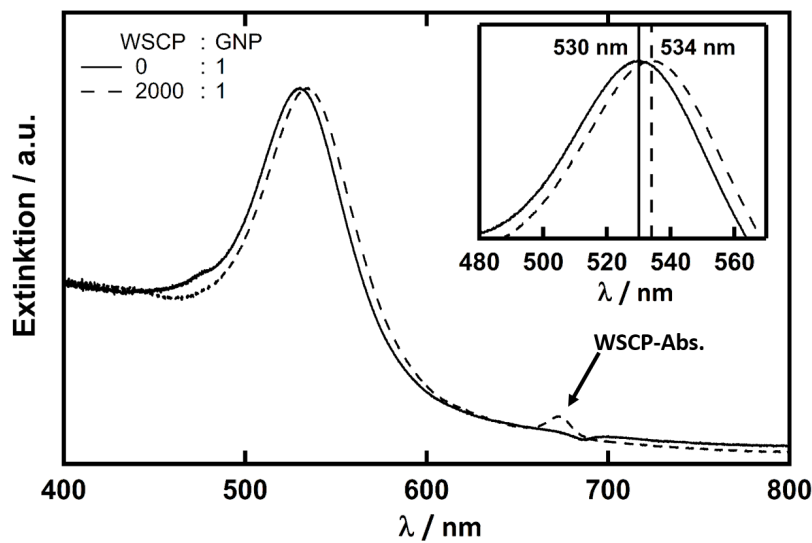


**Abbildung 4.5.:** a) Mit *Chimera* erstellte Oberflächenabbildung des WSCPs. Die N-Termini sind rot markiert. An diesen befindet sich ein Spacer aus sechs Aminosäuren, an welchem wiederum die His<sub>6</sub>-Tags gebunden sind. b) Maßstabsgetreue Skizze der WSCP-vermittelten Oligomerisierung von GNPs mit einem Durchmesser von 50 nm.

- die Änderung der direkten dielektrischen Umgebung und
- die Bildung von GNP-Aggregaten.

Werden die GNPs mit einem hohen Überschuss WSCP versetzt, kommt es zu einer signifikanten Verschiebung des Plasmonenresonanzpeaks, wie in den Extinktionsspektren von GNPs mit und ohne WSCP in Abbildung 4.6 zu erkennen ist. Im gezeigten Beispiel wurden 2000 WSCPs pro GNP eingesetzt. Der mittlere Durchmesser der GNPs betrug  $(42 \pm 13)$  nm. Pro nm<sup>2</sup> GNP-Oberfläche entspricht das 0,4 WSCPs (ein WSCP belegt 2,5 nm<sup>2</sup> Partikeloberfläche). Zusammen mit der aus Abbildung 4.2 abzuschätzenden ungefähren Größe der Kristallstruktur des WSCPs ist also davon auszugehen, dass die GNP-Oberfläche vollständig mit WSCP gesättigt ist. Dadurch wird eine starke Quervernetzung der GNPs durch das WSCP verhindert. Auf Grund der daraus resultierenden Änderung der direkten dielektrischen Umgebung der GNPs kommt es zu einer Verschiebung der Plasmonenresonanzfrequenz [76, 167], was als eindeutiger Nachweis für eine Adsorption des WSCPs auf den GNPs angesehen werden kann.

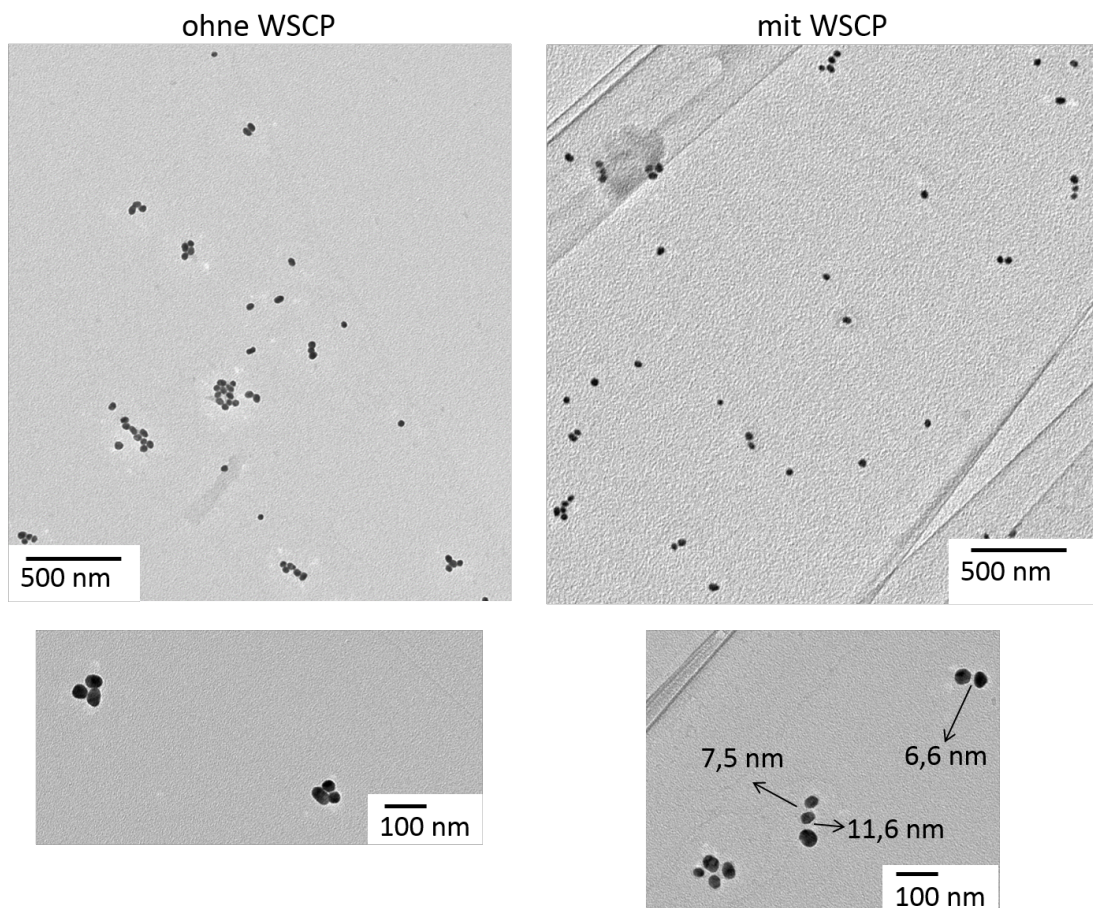
Für eine andere Probe mit 570-fachen WSCP-Überschuss wurden TEM-Aufnahmen von GNPs mit und ohne WSCP angefertigt (Extinktionsspektren siehe Abbildung A.2). Die GNPs hatten einen Durchmesser von  $(36 \pm 5)$  nm und liegen damit im gleichen Bereich wie die GNPs, welche für das eben beschriebene Experiment verwendet wurden. In Abbildung 4.7 sind TEM-Übersichtsaufnahmen und Detailaufnahmen der Probe ohne WSCP (links) und der Probe mit WSCP gezeigt (rechts). Beim Einsatz von 570 WSCPs pro GNP sind im Vergleich zum vorher vorgestellten Experiment lediglich 0,14 statt 0,4 WSCP pro



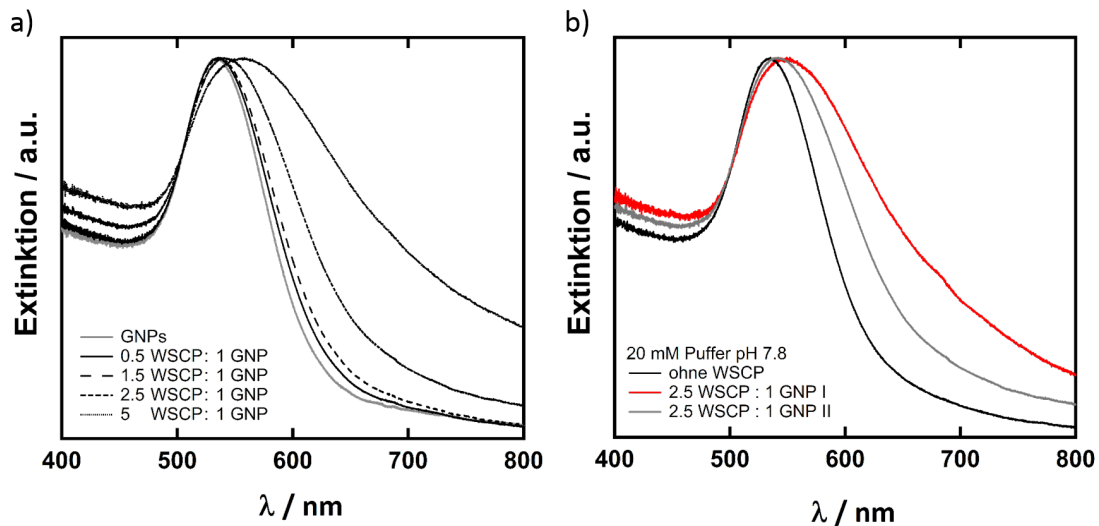
**Abbildung 4.6.:** Extinktionsspektren von citrat-stabilisierten GNPs mit und ohne WSCP. Im vergrößerten Ausschnitt ist die Verschiebung des Plasmonenresonanzmaximums deutlich erkennbar. Die GNPs ohne WSCP wurden mit der gleichen Menge Puffer versetzt wie die Probe mit WSCP ( $d_{GNPs} = (42 \pm 13) \text{ nm}$ , TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1b).

$\text{nm}^2$  (1 WSCP belegt  $7,1 \text{ nm}^2$  statt  $2,5 \text{ nm}^2$ ) Goldoberfläche vorhanden. Dadurch existieren freie GNP-Oberflächen, sodass im Gegensatz zum oben beschriebenen Experiment ein WSCP auch an zwei GNPs binden kann. Wie erwartet, sind auf den Aufnahmen der GNPs mit WSCP Aggregate zu erkennen, allerdings sind auch auf den Aufnahmen der Probe ohne WSCP GNP-Aggregate zu sehen. Dies ist auf die Art der TEM-Probenpräparation zurückzuführen. Hierfür wurden die TEM-Netzchen für einige Minuten auf Probentröpfchen platziert, um eine Adsorption der GNPs auf den Probenträgern zu ermöglichen. Nach Abnahme des Tröpfchens von den Probenträgern bleiben Flüssigkeitsreste zurück, an deren Rändern sich die GNPs anreichern und beim Trocknen aggregieren (bekannt als *Coffee Ring Effect*). Dieser Effekt ist für citrat-stabilisierte GNPs besonders ausgeprägt [183]. Art und Anzahl der Aggregate für beide Proben können entsprechend nicht als quantitativer Nachweis einer WSCP-Bindung an den GNPs herangezogen werden. Jedoch sind die Abstände zwischen den GNPs in der Probe mit WSCP gegenüber der ohne WSCP erhöht. In der Detailaufnahme der Probe mit WSCP sind beispielhaft einige Zahlenwerte für die Abstände gegeben. Diese entsprechen mit  $6,6 \text{ nm}$  bis  $11,6 \text{ nm}$  den aus der Kristallstruktur aus Abbildung 4.2a erwartbaren Abständen für ein bis zwei WSCPs zwischen den GNPs.

Zielstellung der Experimente war allerdings der Aufbau von Dimeren mit genau einem WSCP, welches die Bindung zwischen den GNPs vermittelt. Daher wurden Proben mit verschiedenen, deutlich geringeren WSCP-GNP-Verhältnissen angefertigt. Exemplarische Extinktionsspektren mit Verhältnissen von 1 WSCP bis 5 WSCPs pro GNP sind in Abbildung 4.8a gezeigt. Mit steigendem WSCP-Gehalt in den Proben verschiebt sich das



**Abbildung 4.7.:** TEM-Aufnahmen von citrat-stabilisierten GNPs mit einem Durchmesser von 40 nm ohne (links) und mit einem hohen WSCP-Überschuss (rechts). Die höheren Abstände der Probe mit WSCP sind in der Aufnahme mit höherer Vergrößerung gut zu erkennen. Die ermittelten Abstände entsprechen den theoretischen Erwartungen bei Vorlage von ein bis zwei WSCP zwischen den GNPs. ( $d_{GNPs} = (36 \pm 4) \text{ nm}$ , weitere TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1b, Extinktionsspektren beider Proben siehe Abbildung A.2)



**Abbildung 4.8.:** a) Extinktionsspektren von GNP-WSCP-Proben mit unterschiedlichen WSCP-GNP-Verhältnissen. Je mehr WSCP pro GNP vorhanden ist, desto stärker verschiebt sich das Extinktionsmaximum zu höheren Wellenlängen und desto stärker ist die Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks  
 b) Extinktionsspektren zweier GNP-WSCP-Proben mit einem WSCP-GNP-Verhältnis von 5:1. Beide Proben wurden unter den gleichen Bedingungen aus der gleichen GNP-Charge dargestellt, trotzdem ist bei Versuch I eine deutlich stärkere Aggregation vorhanden. Zum Vergleich ist das Extinktionsspektrum der GNPs in Puffer ohne WSCP-Zugabe gezeigt.

Plasmonenresonanzmaximum von 533 nm (ohne WSCP) auf 535 nm, 537 nm, 541 nm und 557 nm für die Proben mit 0,5, 1,5, 2,5 und 5 Äquivalenten WSCP. Darüber hinaus verbreitert sich auch das Plasmonenresonanzmaximum. Beide Effekte sind auf eine Aggregation der GNPs und die daraus resultierende Wechselwirkung der Partikelplasmonen zurückzuführen [167, 184, 185].

Leider schwankten die Ergebnisse der Experimente sehr stark, wie in an den exemplarischen Spektren in Abbildung 4.8b zu erkennen ist: Die beiden gezeigten Ergebnisse wurden mit GNPs der gleichen Charge, gleicher Konzentration und gleichem Lösungsmittel an zwei aufeinanderfolgenden Tagen erzielt. Bei Versuch I ist die Reaktion deutlich stärker ausgeprägt als bei Versuch II. Bei einigen Experimenten fand auch gar keine Reaktion statt, wie exemplarisch im Anhang in Abbildung A.3 gezeigt ist.

Zur Ermittlung der Ursache bzw. zur Verbesserung wurde die Reaktion bei verschiedenen pH-Werten und Salzfrachten getestet. Auf Grund der Variation des pH-Wertes ändert sich die Nettoladung des Proteins und der Protonierungsgrad der Citrationen auf der GNP-Oberfläche, eine Erhöhung der Salzfracht führt zur Verminderung der elektrostatischen Abstoßung der citrat-stabilisierten GNPs [76, 186], was eine WSCP-vermittelte Oligomerisierung der GNPs verstärken sollte.

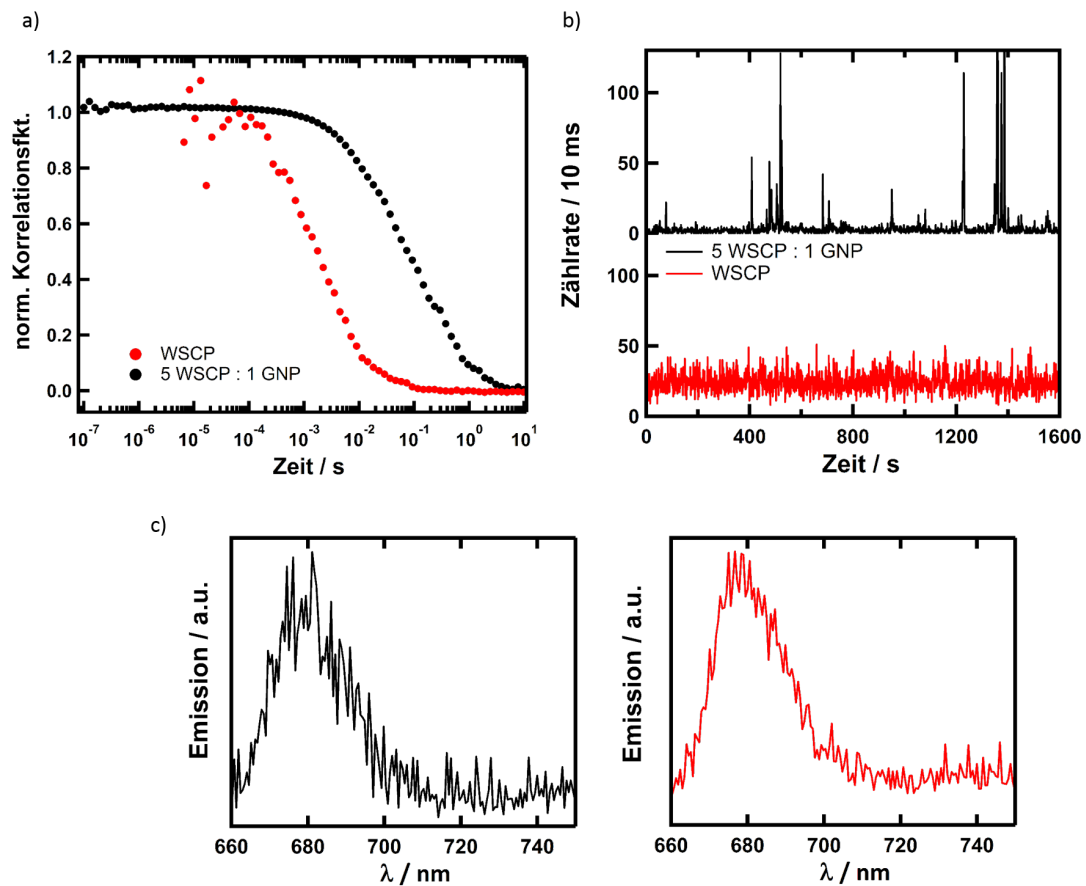
Da aber wie oben beschrieben, die Reaktion mit WSCP selbst bei Beibehaltung aller experimentellen Parameter nicht reproduzierbar war, waren im Rahmen dieser Experimente

Ursachen und Wirkung der geänderten Bedingungen nur schwer auszumachen. Daher soll hier nur kurz auf die Ergebnisse eingegangen werden: Ein Einfluss des pH-Wertes auf die GNPs ohne Zugabe von WSCP konnte nicht beobachtet werden. Die Reaktion mit WSCP lief bei pH-Werten unterhalb des isoelektrischen Punkts ( $pI$ ) des WSCPs ( $pI$  6,2; berechnet mit *ExPaSy*) etwas schwächer ab, als oberhalb. Bei pH-Werten über 6,3 konnte kein signifikanter Einfluss des pH-Wertes auf die Reaktion gefunden werden (die Extinktionsspektren sind in Abbildung A.4 im Anhang gezeigt). In Bezug auf die Salzfracht bzw. die Pufferkonzentration können folgende Beobachtungen festgehalten werden: In einigen Experimenten konnte die WSCP-vermittelte Aggregation der GNPs in 10 mM Pufferlösungen beobachtet werden (Abbildung A.5a und A.5b), während in anderen Experimenten die Reaktion erst in 20 mM Puffer stattfand (Abbildung A.5c). In einigen Fällen aggregierten die GNPs auch in 20 mM Puffer (Abbildung A.5c vs. Abbildung A.5d) ohne WSCP-Zugabe. In reinem  $mq$ -Wasser, ohne Zugabe von Salzlösungen, konnte keine Reaktion beobachtet werden. Der Einfluss der Salzfracht konnte somit im Rahmen der durchgeführten Tests nicht abschließend geklärt werden.

#### **Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie als Nachweismethode für die Bindung des WSCPs an die GNPs**

Mit Hilfe der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie kann die Diffusionsdynamik eines Fluorophors bzw. eines mit einem Fluorophor markierten Moleküls oder Partikels untersucht werden. Die Fluorophore diffundieren dabei durch ein kleines Detektionsvolumen. Die zeitliche Fluktuation des Fluoreszenzsignals, hervorgerufen durch die Diffusion des Fluorophors, wird autokorreliert [139]. Aus der Autokorrelationsfunktion lässt sich die Diffusionszeit ermitteln (eine genauere Beschreibung der Methode findet sich im Anhang A.1.5 sowie in [139]). Prinzipiell sollte die Diffusionszeit eines an GNPs gebundenen WSCPs deutlich gegenüber der Diffusionszeit eines freien WSCPs erhöht sein, da der hydrodynamische Radius eines GNPs deutlich größer ist als der des reinen WSCPs.

Die Experimente an einer reinen WSCP-Lösung und einer Probe mit einem WSCP zu GNP-Verhältnis von 5 zu 1 wurden von Marcus Held durchgeführt [187]. Abbildung 4.9a zeigt die normierten Korrelationsfunktionen der reinen WSCP-Lösung und der Probe mit den WSCP-GNP-Aggregaten. Die Korrelationsfunktion der Probe mit den WSCP-GNP-Aggregaten fluktuiert bei kleinen Zeiten sehr stark. Dies ist auf die geringe WSCP-Konzentration in der Probe zurückzuführen. In Abbildung 4.9b sind die Zeitspuren beider Proben gezeigt. Die Zeitspur der WSCP-GNP-Probe weist intensive Signalspitzen, zwischen denen die Photonenzählrate auf 0 abfällt, auf. Das Signal der Zeitspur der reinen WSCP-Lösung fällt nicht auf 0 ab, sondern liegt bei etwa 24 Photonen pro 100 ms. Ursache hierfür ist die deutlich höhere WSCP-Konzentration der reinen WSCP-Lösung im Vergleich zu GNP-WSCP-Probe. Zu jedem Zeitpunkt der Messung diffundieren WSCP-Moleküle durch das Fokusvolumen, was bei den GNP-WSCP-Aggregaten nicht der Fall



**Abbildung 4.9.:** a) Diffusionskorrelationen von reinem WSCP und an GNPs gebundenem WSCP b) Photonenzählraten des WSCP und des an GNPs gebundenem WSCP c) Exemplarische Fluoreszenzemissionsspektren, welche während der Messung aufgenommen wurden. Links: WSCP-GNP-Aggregate, rechts: WSCP. Die Integrationszeit betrug 1 s.

ist. Die intensiven Peaks stammen vermutlich von großen Aggregaten, welche zum einen mehrere WSCPs beinhalteten und zum anderen langsamer durch das Fokussvolumen diffundiert sind. In Abbildungsteil (c) sind zusätzlich Emissionsspektren der Probe gezeigt, welche dem Nachweis der WSCP-Fluoreszenz dienen. Sowohl in der Probe mit den Aggregaten als auch in der Probe mit reinem WSCP konnten zu jedem Zeitpunkt der Messung die gezeigten WSCP-Fluoreszenzemissionsspektren detektiert werden. Die Verschiebung der Korrelationskurve im Falle der GNP-WSCP-Aggregate ist damit eindeutig auf eine verlängerte Diffusionszeit des WSCPs zurückzuführen, was wiederum auf die Bindung des WSCPs an die deutlich langsamer diffundierenden GNPs bzw. GNP-Aggregate zurückzuführen ist.

### Fazit

Die direkte Anbindung des WSCP über dessen His<sub>6</sub>-Tags an citrat-stabilisierte GNPs gelang in 10 mM bis 20 mM Salzlösungen. Die Bindung des WSCPs an die GNPs konnte an Hand der WSCP-konzentrationsabhängigen Verschiebung der Plasmonenresonanzfrequenz von 533 nm (ohne WSCP) auf 557 nm (5 Äquivalente WSCP) und der Verbreiterung des Resonanzpeaks sowie mit Hilfe von FCS-Messungen eindeutig nachgewiesen werden.

Der pH-Wert in einem Bereich von 6,3 bis 8,0 hatte keinen Einfluss auf das Ausmaß der Reaktion, bei pH-Werten unterhalb des pI von WSCP (6,2) läuft die Reaktion tendenziell etwas schwächer ab.

Da die citrat-stabilisierten GNPs auf den TEM-Netzchen während der Probenpräparation aggregieren, konnte die in den Extinktionsspektren beobachtete Aggregation nicht mit Ergebnissen aus TEM-Aufnahmen korreliert werden. Die im Vergleich zu citrat-stabilisierten GNPs erhöhten Interpartikelabstände bei sehr hohen WSCP-GNP-Verhältnissen bewiesen aber zumindest qualitativ eine erfolgreiche Bindung und Verbrückung der citrat-stabilisierten GNPs mit WSCP.

Insgesamt erweist sich die Citratstabilisierung der GNPs als nicht optimal, da eine unerwünschte Aggregation während der erwünschten Assemblierung der GNPs mit WSCP nicht komplett verhindert werden kann. Dies ist auch im Hinblick auf die folgende Anreicherung der Dimere relevant: Eine Anreicherung mit Hilfe von Gelelektrophorese ist auf Grund der benötigten ionischen Lösungsmittel nicht möglich, da die Ionen die elektrostatische Abstoßung der GNPs reduzieren und die GNPs aggregieren.

### 4.3. Biotin-Streptavidin vermittelte Bindung von WSCP an Goldnanopartikel

Die im vorangestellten Abschnitt vorgestellte direkte Bindung des WSCPs an citrat-stabilisierte GNPs hat neben dem Vorteil der sehr einfachen und schnellen Assemblierung ohne zusätzliche Reagenzien den großen Nachteil der Empfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen, wie beispielsweise Verunreinigungen des Lösungsmittels oder, bedingt durch die unbekannt exakte Partikelkonzentration (vgl. Abschnitt 3.1.1), von Experiment zu Experiment variierende Salzfrachten pro GNP. Desweiteren erlaubt der Assemblierungsweg keine weitere Variation der Interpartikelabstände. Daher wurden die GNPs zunächst mit anderen Liganden passiviert und die passivierten GNPs im Anschluss mit WSCP assembliert.

Die Bindung des WSCPs an die GNPs wurde in der vorliegenden Arbeit neben der direkten Bindung des Proteins an die GNP-Oberflächen (siehe Abschnitt 4.2) auch mit Hilfe der bereits vielfach eingesetzten Biotin-Streptavidin-Bindung realisiert [188–191]. Zur Assemblierung der GNPs wurden diese zunächst auf zwei verschiedenen Wegen mit Streptavidin (SA) stabilisiert (siehe Abbildung 4.1): zum einen wurde SA direkt an die

GNPs gebunden und fungierte sowohl als passivierende Schicht für die GNPs als auch als funktionelle Einheit zur Bindung des WSCPs. Zum anderen wurden die GNPs zunächst mit einer Mischung aus Biotin- und Carboxylat-PEG-Thiolen stabilisiert. An die Biotin-PEGs wurde in einem zweiten Schritt SA gebunden. Im Anschluss wurden die mit PEG stabilisierten SA-funktionalisierten GNPs mit WSCP zur Reaktion gebracht. WSCP wurde durch Zugabe eines Überschusses von NHS-Biotin<sup>6</sup> an den primären Aminofunktionen in der Proteinstruktur mit Biotin funktionalisiert. Das Biotin-WSCP wurde von Fabian Jung (Arbeitsgruppe Prof. Harald Paulsen, Johannes Gutenberg-Universität Mainz) zur Verfügung gestellt.

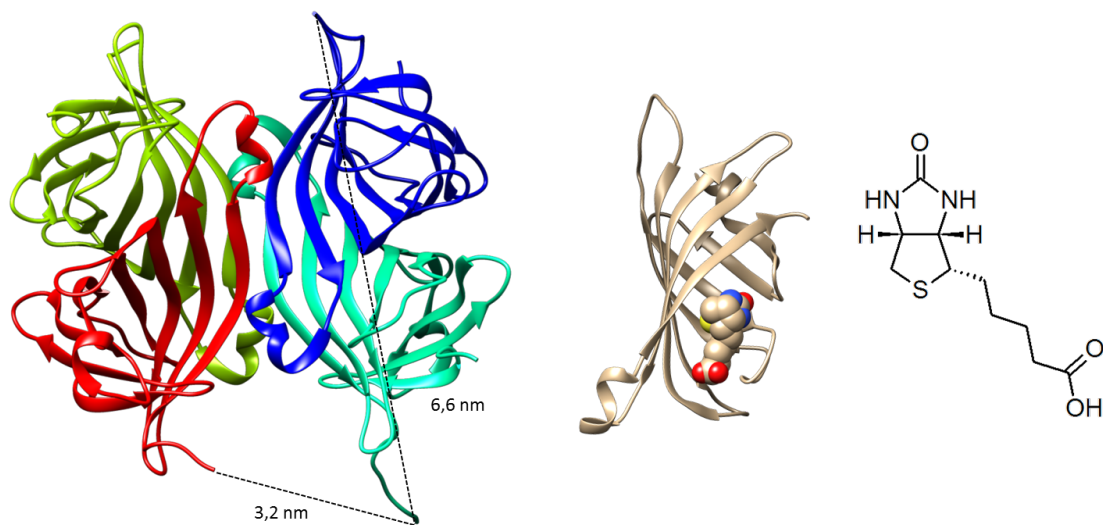
Die Streptavidin-Biotin-Bindung ist mit einer Dissoziationskonstante von nur  $1 \cdot 10^{-15}$  M eine der stärksten nicht-kovalenten Bindungen [192]. Streptavidin ist ein Homotetramer. Jedes der vier Monomere kann ein Äquivalent Biotin binden. Es wurde bereits gezeigt, dass die vier Monomereinheiten dabei thermodynamisch und kinetisch autonom reagieren [193]. Für die durchgeführten Experimente ist dies von Vorteil, da es nicht entscheidend ist, welche der vier Monomereinheiten für die Bindung an das Biotin-WSCP zur Verfügung steht, bzw. ob das SA bereits an die GNPs gebunden ist, bevor die Bindung an das WSCP erfolgt. Des Weiteren kann die Bindung von Biotin an SA in einem weiten pH-Bereich durchgeführt werden und ist ebenso auch in einem weiten pH-Bereich stabil [191].

Die Kristallstruktur des SA-Tetramers, des SA-Monomers mit einem gebundenen Biotinmolekül, sowie die Molekülstruktur des Biotins sind in Abbildung 4.10 gezeigt [192]. In der Tetramerstruktur sind Abstände eingezeichnet, an Hand derer die ungefähre Ausdehnung eines SA-Tetramers zu etwa 3 nm mal 5 nm abgeschätzt werden kann. Bei Assemblierung der GNPs unter zusätzlicher Einbringung des SAs sollten sich die Interpartikelabstände gegenüber der direkt WSCP-vermittelten Assemblierung aus Abschnitt 4.2 deutlich vergrößern. In Folge dessen ist zu erwarten, dass sich bei Bestrahlung die Feldstärke zwischen den Partikeln verringert, wie in Abschnitt 4.1 diskutiert. Außerdem sollte die stark abstandsabhängige longitudinale Plasmonenresonanz weniger stark zu niedrigeren Energien verschoben sein, da die Partikelplasmonen weniger stark miteinander wechselwirken. Daraus ergeben sich für die Wechselwirkung des Dimerplasmons mit WSCP folgende Konsequenzen: Einerseits ist ein strahlungsloser Energietransfer auf einen Goldnanopartikel weniger wahrscheinlich, da der Abstand zwischen GNP und Chlorophyll deutlich vergrößert wird. Andererseits ist die energetische Überlappung der Streufrequenz der longitudinalen Dimermode mit der Fluoreszenz des WSCPs geringer, wodurch die Anregungsrate des WSCPs nicht so stark erhöht wird und die Dichte optischer Zustände geeigneter Energie im plasmonischen Nahfeld geringer ist, sodass eine geringere Fluoreszenzverstärkung zu erwarten ist.

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse der SA-Stabilisierung und der anschließenden Assemblierung mit WSCP vorgestellt. Im Anschluss wird auf die Ergebnisse der

---

<sup>6</sup>N-Hydroxysuccinimid-Ester EZ-Link<sup>TM</sup> NHS-LC-LC-Biotin (ThermoFisher Scientific, Rockford, USA)



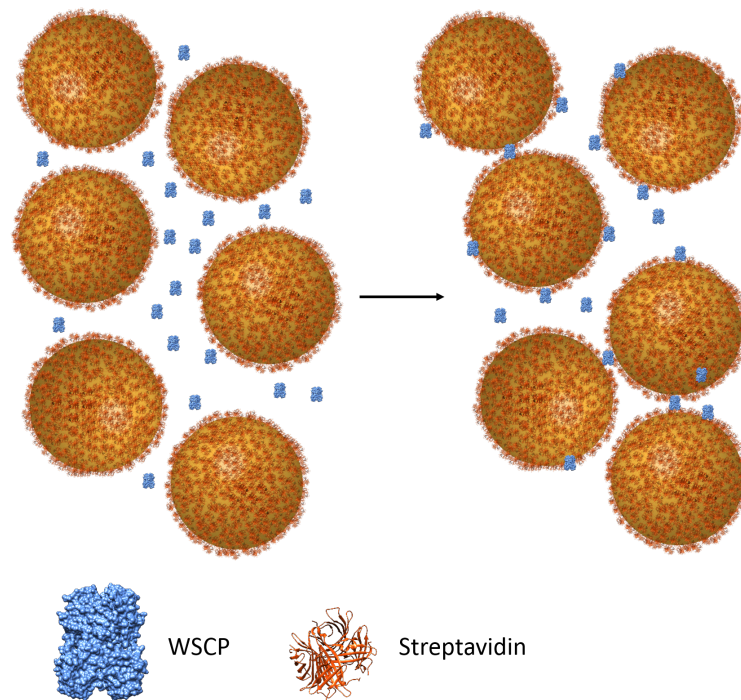
**Abbildung 4.10.:** Links: mit *Chimera* erstellte Kristallstruktur eines SA-Tetramers [192]. Die eingezeichneten Abstände sollen einen Eindruck von der räumlichen Ausdehnung des Proteins vermitteln. Mitte: SA-Monomer mit einem in Kugelform dargestellten gebundenem Biotin-Molekül [192]. Das Biotin sitzt tief in der Bindungstasche des SA-Monomers. Rechts: Molekülstruktur von Biotin.

WSCP-Bindung an PEG-stabilisierte und mit SA funktionalisierten GNPs eingegangen.

#### 4.3.1. Assemblierung Streptavidin-stablierter GNPs

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Bindung des WSCPs an SA-passivierte bzw. -funktionalisierte GNPs diskutiert. SA adsorbiert unter Beibehaltung seiner Biotin-Bindungseigenschaften irreversibel auf planaren Goldoberflächen [194, 195]. Die Zeit bis zur maximalen Belegung von Goldoberflächen wird mit 10 min bis 15 min angegeben. Da die Adsorption unabhängig vom isoelektrischen Punkt des SA ( $pI = 6,0$  [196]) in einem pH-Wertbereich von 3 bis 11 stattfindet, ist davon auszugehen, dass ionische Wechselwirkungen der Goldoberfläche mit dem Protein keine signifikante Rolle bei der Adsorption spielen sollten. Die Bindung ist entweder auf hydrophobe Wechselwirkungen zurückzuführen, oder auf die Bindung von Gold komplexierende funktionelle Gruppen (z. B. primärer Amine) [194]. SA wurde bereits zur Passivierung von GNPs eingesetzt [197–200]. SA-passivierte GNPs sind im Vergleich zu citrat-stabilisierten GNPs unempfindlicher gegenüber äußeren Einflüssen wie zum Beispiel der Salzkonzentration im Lösungsmittel [200].

Die prinzipielle Vorgehensweise ist in Abb. 4.11 skizziert. Die mit einer Monolage SA passivierten GNPs werden mit Biotin-funktionalisiertem WSCP assembliert. Dabei entstehen WSCP-GNP-Monomere, -Dimere, -Trimere, usw. Die Schwierigkeiten bestehen zunächst in der Ermittlung des notwendigen SA-GNP-Verhältnisses und der geeigneten



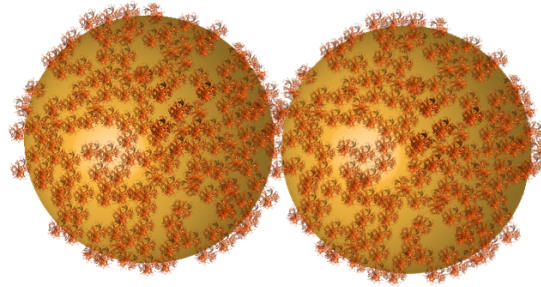
**Abbildung 4.11.:** Maßstabsgetreue Skizze zur Bindung des WSCPs an SA-GNPs; der GNP-Durchmesser beträgt 50 nm. Die SA-GNPs werden mit einer biotinylierten WSCP-Variante zur Reaktion gebracht, dabei entstehen unterschiedlich große GNP-Aggregate. Idealerweise sollte ein Dimer mit genau einem WSCP verknüpft sein.

Reaktionsbedingungen zur SA-Stabilisierung der GNPs. Ausserdem muss überschüssiges SA aus den SA-GNP-Lösungen entfernt werden. Ist freies SA in den Lösungen vorhanden, reagiert dieses mit dem WSCP, wodurch das WSCP nicht mehr für die Assemblierung der SA-GNPs zur Verfügung steht. Idealerweise verbrückt ein WSCP genau zwei GNPs.

#### Ein Streptavidintetramer passiviert etwa 4 nm<sup>2</sup> Goldnanopartikeloberfläche

Zunächst muss ermittelt werden, wieviele SA-Tetramere pro nm<sup>2</sup> GNP-Oberfläche notwendig sind, damit die GNPs von einer vollständigen Monolage des Proteins bedeckt sind. Reicht die SA-Menge nicht aus, so kann ein SA, wie in Abbildung 4.12 skizziert, auch zwei GNPs miteinander verbinden. Weiterhin muss sichergestellt sein, dass die vollständige Passivierung der GNP-Oberfläche zeitlich schneller abläuft, als die Quervernetzung mehrerer Partikel. In der Literatur variieren die Angaben, wieviel nm<sup>2</sup> GNP-Oberfläche ein SA besetzt, in einem Bereich von 2 nm<sup>2</sup> [200] bis 40 nm<sup>2</sup> [197]. Aus der in Abbildung 4.10 gezeigten Kristallstruktur des SA wäre, je nach Orientierung des SAs auf den GNP-Oberflächen, von einer SA-Belegung von 3 nm<sup>2</sup> bis etwa 20 nm<sup>2</sup> auszugehen.

Abbildung 4.13a zeigt Extinktionsspektren von Goldnanopartikeln mit einem mittleren Durchmesser von  $(43 \pm 7)$  nm, welche nach der in Abschnitt 3.1 angegebenen Vorschrift



**Abbildung 4.12.:** Maßstabsgetreue Skizze zweier Goldnanopartikel ( $d = 50 \text{ nm}$ ), welche auf Grund der unvollständigen SA-Belegung mit SA vernetzt werden.

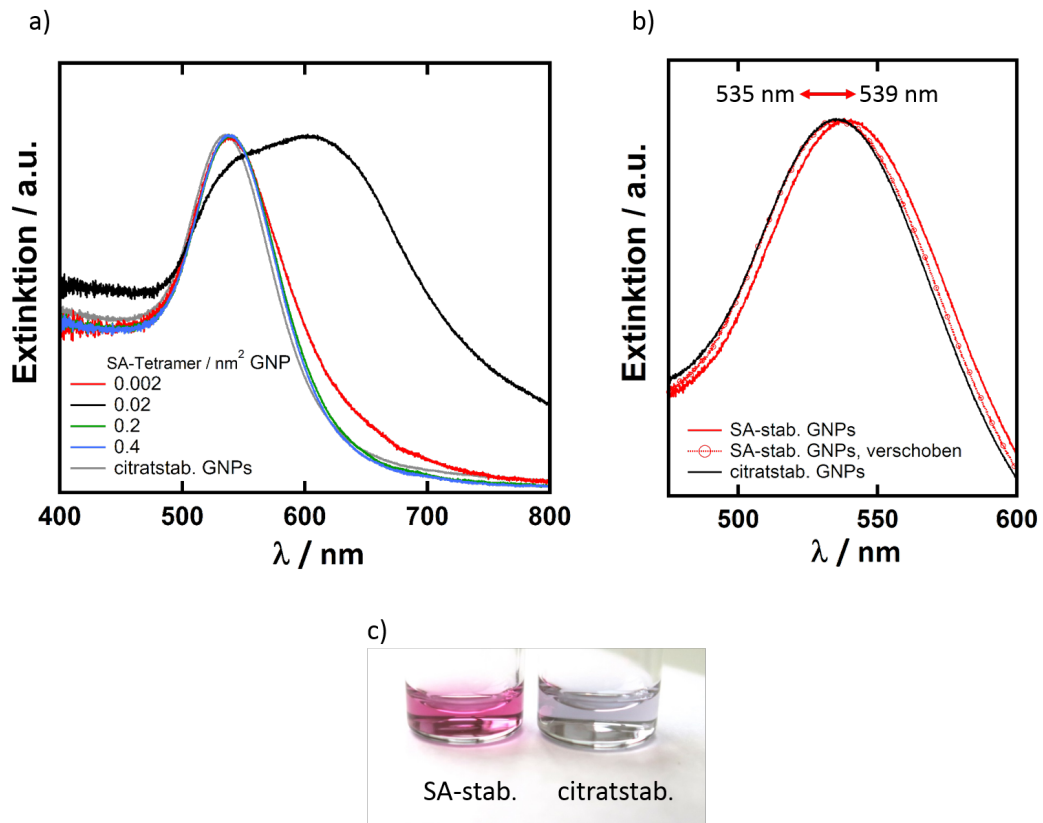
**Tabelle 4.1.:** Übersicht zur Ermittlung des notwendigen Verhältnisses von SA zu GNP-Oberfläche zur vollständigen Passivierung der GNP-Oberfläche mit SA

SA / $\text{nm}^2$	SA:GNP	$\lambda_{max}$	Ursache Verschiebung von $\lambda_{max}$
0	0:1	535 nm	—
0,002	12:1	540 nm	leichte Aggregation
0,02	122:1	608 nm	starke Aggregation
0,2	1216:1	539 nm	vollständige Passivierung, Änderung der dielektrischen Umgebung
0,4	2433:1	539 nm	vollständige Passivierung, Änderung der dielektrischen Umgebung

mit unterschiedlichen Mengen SA inkubiert wurden<sup>7</sup>. Dabei wurden 0,002 SA (1 SA pro  $484 \text{ nm}^2$ , 1 GNP: 12 SA), 0,02 SA (1 SA pro  $48 \text{ nm}^2$ , 1 GNP: 122 SA) und 0,2 SA (1 SA pro  $4,8 \text{ nm}^2$ , 1 GNP: 1216 SA) sowie 0,4 SA (1 SA pro  $2,4 \text{ nm}^2$ , 1 GNP: 2433 SA) pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche eingesetzt. In Tabelle 4.1 sind die SA-GNP -Verhältnisse und die daraus resultierenden Belegungsdichten zusammengefasst.

Bei Verwendung von 0,002 SA pro  $\text{nm}^2$  (rote Kurve in Abbildung 4.13a) aggregieren die Partikel geringfügig, was an der leicht erhöhten Absorption bei Wellenlängen größer als 600 nm gegenüber der Extinktion citrat-stabilsierter GNPs erkennbar ist (graue Kurve in Abbildung 4.13a). Bei Verwendung von 0,02 SA pro  $\text{nm}^2$  kommt es zu einer stärkeren Aggregation der Partikel (schwarze Kurve in Abbildung 4.13): Das Resonanzmaximum liegt bei einer deutlich höheren Wellenlänge, die Extinktion ist über einen weiten Wellenlängenbereich erhöht. Bei beiden Proben ist diese Aggregation auf die in Abbildung 4.12 skizzierte Vernetzung mehrerer Partikel durch das SA zurückzuführen. Die beiden Spektren der Varianten 0,2 SA und 0,4 SA pro  $\text{nm}^2$  verschieben sich, wie aus der Literatur für vollständige Belegungen von Goldnanopartikeln mit Proteinmonolagen bekannt [76, 167], um etwa 4 nm zu höheren Wellenlängen. Wie in Abbildung 4.13b erkennbar, ändern

<sup>7</sup>Eine TEM-Aufnahme dieser GNPs ist in Abbildung A.1c gezeigt.



**Abbildung 4.13.:** a) Extinktionsspektren zur Ermittlung der benötigten SA-Menge pro nm<sup>2</sup> Partikeloberfläche. Bei wenig SA (0,002) aggregieren die Partikel leicht (rote Kurve). Wird mehr SA hinzugegeben, ist eine deutlich stärkere Aggregation zu beobachten (schwarze Kurve). b) Ist die SA-Menge ausreichend, um die Partikel mit einer kompletten Monolage zu bedecken, kommt es lediglich zu einer Verschiebung der Plasmonenresonanzfrequenz. Dabei ändert sich die Form des Spektrums nicht. Das Spektrum kann durch Verschieben entlang der x-Achse von 539 nm im Maximum auf 535 nm im Maximum mit dem Spektrum der citrat-stabilisierten Partikel zur Deckung gebracht werden. c) Foto von SA- (links) und citrat-stabilisierten (rechts) GNPs nach Zugabe von Natriumphosphatpuffer (pH 7,8). Die Pufferkonzentration betrug etwa 30 mM. Die Aggregation der citrat-stabilisierten Partikel ist deutlich an der Entfärbung der Lösung zu erkennen.

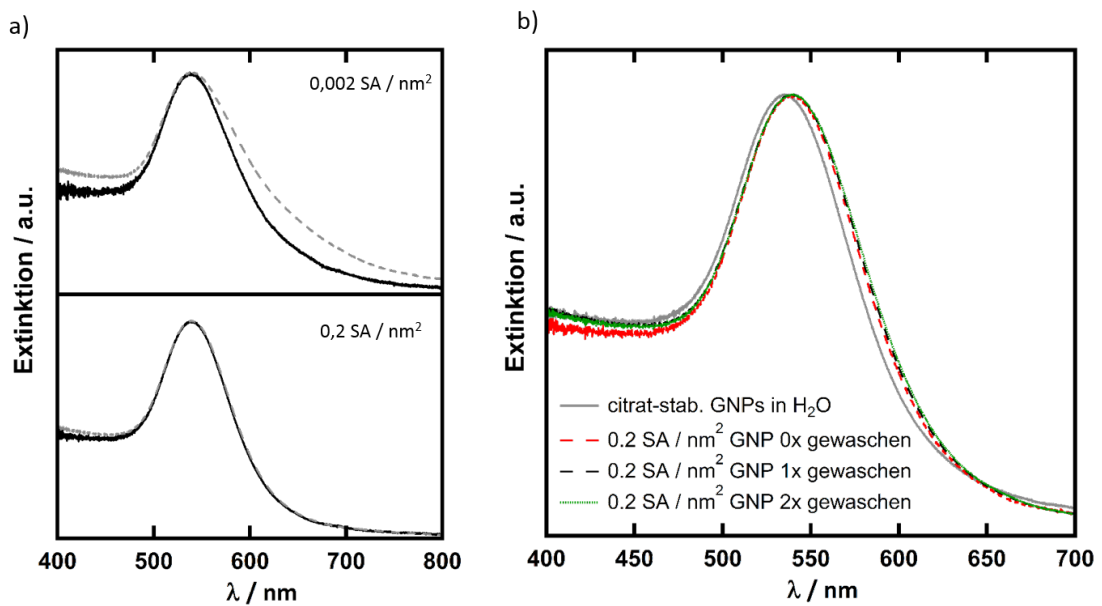
sich dabei weder die Form noch die Breite des Peaks signifikant, sodass das Spektrum der SA-stabilisierten Partikel durch Verschiebung entlang der x-Achse deckungsgleich mit dem Spektrum der citrat-stabilisierten Partikel übereinandergelegt werden kann. Die Verschiebung des Resonanzpeaks unter Beibehaltung seiner Form ist nicht auf eine Aggregation der GNPs sondern auf die in Kapitel 2.1.1 erläuterte Abhängigkeit der Resonanzfrequenz von der direkten dielektrischen Umgebung der Partikel zurückzuführen.

Zur Überprüfung der vollständigen Passivierung kann außerdem ein Fällungstest durchgeführt werden, in dem den GNP-Lösungen Salzlösungen zugegeben werden. Citratstabilisierte GNPs aggregieren, wie in Abschnitt 2.1.2 gezeigt, in Pufferlösungen auf Grund der Reduzierung der elektrostatischen Abstoßung. In Abbildung 4.13c ist ein Foto eines solchen Tests gezeigt. In beiden Gefäßen betrug die Natriumphosphatpufferkonzentration 30 mM (pH 7,8). Es ist deutlich zu erkennen, dass die mit SA passivierten Partikel nicht aggregieren, die citrat-stabilisierten Partikel hingegen sogar so stark aggregiert sind, dass die Lösung fast farblos ist.

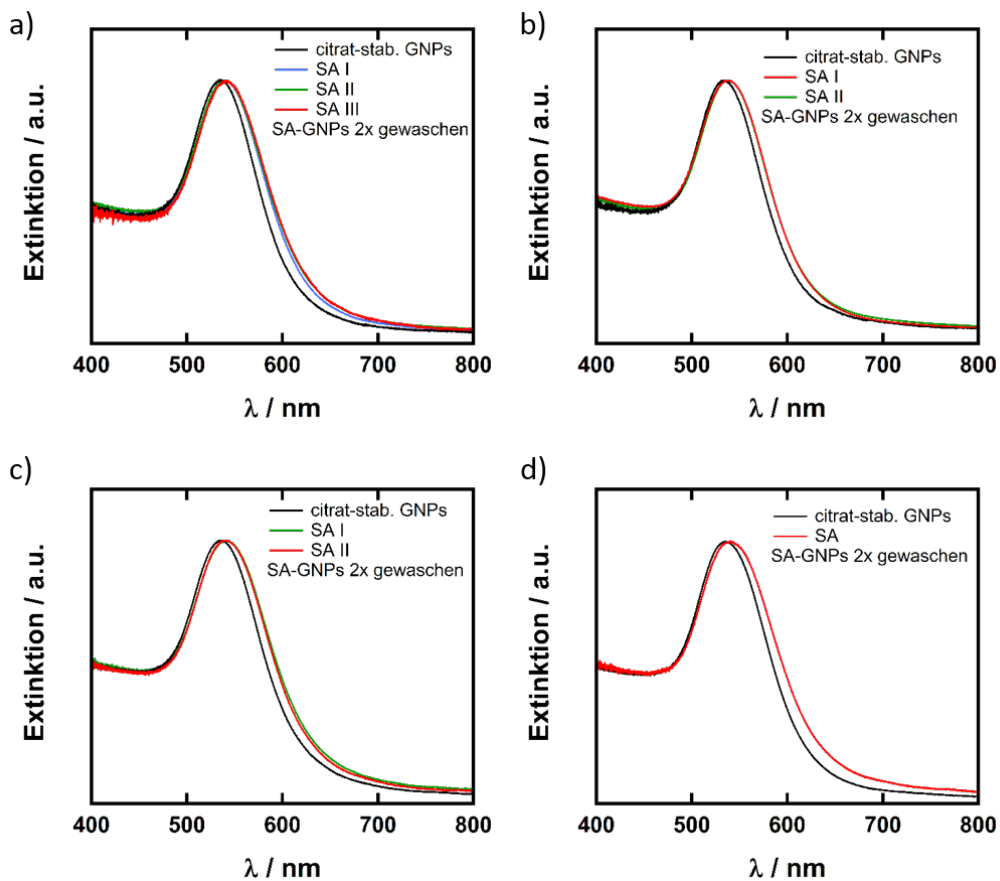
#### **Überschüssiges SA kann mit Zentrifugation entfernt werden**

Da bei der WSCP-vermittelten Assemblierung der SA-GNPs freies SA stören würde, muss sichergestellt sein, dass die Proben auch Zentrifugationsschritte zur Entfernung von überschüssigem SA überstehen. Die SA-GNPs sedimentieren während der Zentrifugation, überschüssiges SA befindet sich im Überstand und kann mit diesem abpipettiert werden. Die Extinktionsspektren der Proben sollten sich in Folge der Zentrifugation nicht ändern, sonst muss davon ausgegangen werden, dass sich in Folge der Zentrifugation Aggregate bilden (Verschiebung des Resonanzmaximums zu höheren Wellenlängen), oder sich SA von der GNP-Oberfläche löst (Verschiebung zu niedrigeren Wellenlängen).

Die Extinktionsspektren der Proben im Anschluss an einen solchen Waschschrift sind in Abbildung 4.14a zusammengefasst. Die Spektren nach einmaliger Zentrifugation und Suspendierung für die verschiedenen SA-Belegungsdichten sind gezeigt, wobei auf die Darstellung der Probe mit 0,4 SA pro nm<sup>2</sup> GNP-Oberfläche aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet wurde. Diese verhielt sich wie die Probe mit 0,2 SA pro nm<sup>2</sup>. Für die Probe mit 0,002 SA pro nm<sup>2</sup> Partikeloberfläche nimmt die Aggregation wie zu erwarten leicht zu, da die Partikel auf Grund des Zentrifugationsvorgangs in größerer Nähe zueinander gebracht werden und so eine weitere Vernetzung durch das SA begünstigt wird. Die Probe mit 0,02 SA pro nm<sup>2</sup> war nach der Zentrifugation so stark aggregiert, dass nicht alle GNPs in Lösung gebracht werden konnten. Deshalb konnte kein Extinktionsspektrum der vollständigen Probe aufgenommen werden und das Extinktionsspektrum ist in der Abbildung nicht dargestellt. Ist die Oberfläche der Partikel hingegen vollständig passiviert, wie es für die Probe mit 0,2 SA pro nm<sup>2</sup> der Fall ist, sind, wie in Abbildungsteil (b) außerdem gezeigt, die Spektren auch nach zwei Waschschriften deckungsgleich mit denen der nicht gewaschenen Proben.



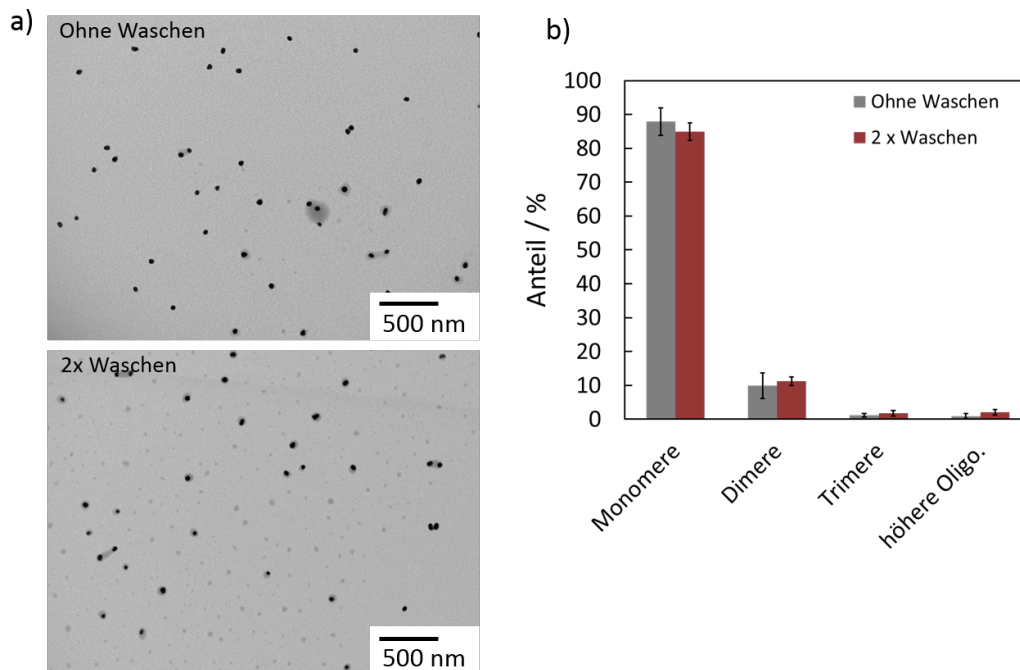
**Abbildung 4.14.:** a) Extinktionsspektren von SA-funktionalisierten GNPs vor (durchgezogene schwarze Linien) und nach einmaligem Zentrifugieren und Resuspendieren (graue gestrichelte Linien). Die Probe mit sehr wenig SA (obere Spektren) aggregiert durch die Zentrifugation stärker. Die Probe mit 0,03 SA pro nm<sup>2</sup> war so stark aggregiert, dass nicht alle GNP-Aggregate in Lösung gebracht werden konnten. Daher ist diese Probe hier nicht aufgeführt. Die Probe mit einer kompletten Monolage SA (unteres Spektrum) zeigt keinerlei spektrale Veränderung. b) Auch nach zweimaliger Zentrifugation ändert sich das Spektrum nicht, wenn die GNPs vollständig passiviert sind.



**Abbildung 4.15.:** Extinktionsspektren von citrat-stabilisierten und zweimal gewaschenen SA-stabilisierten GNPs unterschiedlicher Chargen mit leicht variierenden mittleren Durchmessern: a) ( $43 \pm 7$ ) nm, b) ( $46 \pm 4$ ) nm, c) ( $47 \pm 7$ ) nm, d) ( $53 \pm 7$ ) nm. Im Fall der in a) bis c) eingesetzten GNPs sind Spektren von SA-stabilisierten GNPs mehrerer Versuchsansätze gezeigt.

Da die Bestimmung der Gesamtpartikeloberfläche einer GNP-Lösung auf Grund der ungenauen Bestimmung der mittleren Partikelgrößen und der Partikelkonzentration fehlerbehaftet ist (vgl. Abschnitt 3.1.1), wurden die Experimente zur Stabilisierung der GNPs mit SA immer mit einem SA-Überschuss von 0,5 SA-Tetrameren pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche durchgeführt.

Die in Abbildung 4.15 gezeigten Extinktionsspektren von citrat-stabilisierten und zweimal gewaschenen SA-stabilisierten GNPs (mit 0,5 SA pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche) beweisen die gute Reproduzierbarkeit der Stabilisierung der GNPs mit SA. Die GNPs der Abbildungen 4.15a bis d stammen dabei aus unterschiedlichen GNP-Synthesansätzen und haben daher leicht variierende mittlere Durchmesser ( a) ( $43 \pm 7$ ) nm, b) ( $46 \pm 4$ ) nm, c) ( $47 \pm 7$ ) nm, d) ( $53 \pm 7$ ) nm.). Die GNPs der Abbildungen a bis c wurden in mehreren Versuchen mit SA stabilisiert. In allen Experimenten verschob sich das Plasmonenresonanzmaximum unter Beibehaltung von Form und Breite des Plasmonenresonanzpeaks um 4 nm bis 5 nm.



**Abbildung 4.16.:** a) Exemplarische TEM-Aufnahmen von SA-stabilisierten GNPs ohne und nach zweimaligem Waschen (Extinktionsspektren siehe Abbildung 4.15b). b) Histogramm mit Standardabweichungen aus drei verschiedenen SA-GNP-Ansätzen, welche über einen Zeitraum von sechs Monaten synthetisiert wurden. Für jeden der drei Ansätze wurden insgesamt über 600 Partikel ausgezählt. Pro TEM-Probe wurden mindestens 194 Partikel gezählt. Die mittlere Durchmesser der GNPs waren  $(43 \pm 7)$  nm und  $(46 \pm 4)$  nm.

Mit Hilfe von TEM-Aufnahmen wurde zusätzlich überprüft, ob SA-GNP-Monomere vorliegen. Hierzu wurden von nicht zentrifugierten, einmal zentrifugierten und zweimal zentrifugierten SA-GNPs TEM-Aufnahmen angefertigt. Die SA-Beschichtung ermöglicht eine einfachere TEM-Probenpräparation als für die citrat-stabilisierten GNPs, da die Partikel schneller auf den TEM-Netzchen adsorbieren und so Trocknungsartefakte vermindert werden. In Abbildung 4.16 sind exemplarische TEM-Aufnahmen von SA-GNPs, welche nicht gewaschen wurden, und SA-GNPs, welche zweimal gewaschen wurden, gezeigt. Es ist zu erkennen, dass, wie anhand der Spektren erwartet, die meisten Partikel als Monomere vorliegen. Für das ebenfalls dargestellte Histogramm wurden TEM-Aufnahmen aus drei über einen Versuchszeitraum von sechs Monaten durchgeführten verschiedenen Versuchen ausgewertet. Dabei wurden sowohl GNPs einer anderen Charge als auch SA einer anderen Charge verwendet. Von jeder Probe wurden mindestens 194 Partikel bzw. Aggregate gezählt. In allen Proben waren hauptsächlich Monomere vorhanden, durch das zweimalige Zentrifugieren änderte sich die Zusammensetzung nur geringfügig. Dies spricht auch für eine gute Reproduzierbarkeit der gewählten Route zur Passivierung der GNPs mit SA.

Abschließend ist festzuhalten, dass GNPs mit nominell  $0,2$  SA pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche passiviert werden können. Diese Passivierung ist auch nach zweimaliger Zentrifugation

intakt. Ein SA belegt etwa  $2,4 \text{ nm}^2$  bis  $4,8 \text{ nm}^2$  Partikeloberfläche, was in etwa der in [200] gefundenen Belegung entspricht, und gut zu der aus der Kristallstruktur abgeschätzten Größe eines SA-Tetramers passt (siehe Abbildung 4.10).

#### Versuche zur Optimierung der SA-Stabilisierung

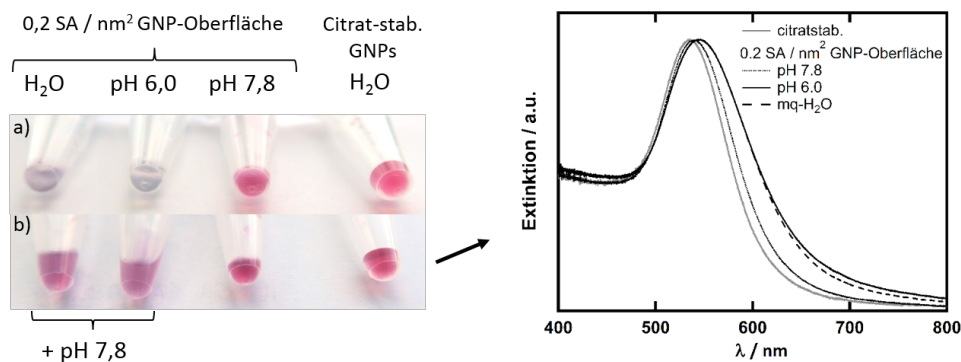
Es wurde gezeigt, dass  $0,2 \text{ SA pro nm}^2$  Partikeloberfläche ausreichen, um eine vollständige Passivierung der Partikel zu gewährleisten, welche auch nach zweimaligem Waschen noch intakt ist. Die oben diskutierten Versuche wurden bei pH 7,8 durchgeführt. Bei diesem pH-Wert liegen sowohl SA als auch die Citratreste auf den GNPs negativ geladen vor, wodurch die Bindung des SAs an die GNPs eventuell erschwert wird. Daher sollen im folgenden Abschnitt kurz die Ergebnisse von Versuchen bei geänderten pH-Werten vorgestellt werden.

Zunächst wurde getestet, ob die Bindung auch in mq-Wasser oder in Natriumphosphatpuffer bei pH = 6 (entspricht etwa dem pI des SA [196]) möglich ist. Folgende Überlegungen wurden angestellt:

- **Bindung in mq-Wasser, pH < 6,0:** Die citrat-stabilisierten GNPs sind empfindlich gegenüber Salzlösungen, da die elektrostatische Abstoßung der Partikel nicht mehr ausreichend hoch ist, um diese stabil in Lösung zu halten und die Partikel aggregieren, eventuell schon vor der Passivierung mit SA. Dieses Problem könnte umgangen werden, wenn die Reaktion auch in mq-Wasser funktioniert.
- **Bindung am iP des SA bei pH 6:** Da beide Bindungspartner bei diesem pH-Wert nicht so stark negativ geladen sein sollten wie bei einem pH von 7,8, läuft die Bindung des SAs eventuell schneller ab. Möglicherweise wird dann weniger SA zur Passivierung notwendig. Von Herstellern citrat-stabilsierter Partikel wird empfohlen, Proteine im Bereich ihres pIs an die GNPs zu binden [201]. Auch in [198] wurde die Bindung von SA an GNPs am isoelektrischen Punkt des SA durchgeführt.

In Abbildung 4.17a ist ein Foto mit SA-GNP-Mischungen in mq-Wasser, in Natriumphosphatpuffer bei pH 6,0 und 7,8 sowie mit citrat-stabilisierten GNPs in mq-Wasser gezeigt. Die Aggregation der Partikel in mq-Wasser und in Puffer bei pH 6,0 ist deutlich an Hand der bläulich-gräulichen Farbe zu erkennen. Die Suspension bei pH 7,8 erscheint leicht dunkler gefärbt als die Probe mit den citrat-stabilisierten Partikeln, was auf die oben diskutierte Verschiebung des Extinktionsspektrums auf Grund der veränderten dielektrischen Umgebung durch die Belegung der Partikel mit SA zurückzuführen ist. Da die Partikel auch in mq-Wasser nach Zugabe von SA aggregieren, ist die Salzfracht bei pH 6,0 nicht für die Aggregation der GNPs verantwortlich, sondern die Wechselwirkung der GNPs mit SA. Dies steht auch im Einklang mit den in [194] gemachten Beobachtungen, dass SA an planaren GNPs in einem weiten pH-Wertbereich adsorbiert. Werden die Lösungen mit Puffer mit pH 7,8 so aufgefüllt, dass der finale pH-Wert größer als 7,4 ist, färben

sich die beiden zuvor bläulichen Lösungen wieder rötlich, was auf eine Desaggregation der GNPs hindeutet. Auch die Extinktionsspektren dieser Lösungen, gezeigt in Abbildung 4.17b, lassen an Hand der leichten Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks nur auf eine moderate Aggregation schließen. Auf Grund der gemachten Beobachtungen ist davon auszugehen, dass bei den niedrigen pH-Werten die negative Nettoladung des SAs nicht ausreicht, um die Partikel stabil in Lösung zu halten. Ist das Protein nach der Erhöhung des pH-Werts nach außen wieder negativer geladen, nimmt die elektrostatische Abstoßung zu und die Partikel sind zu einem Großteil suspendiert.

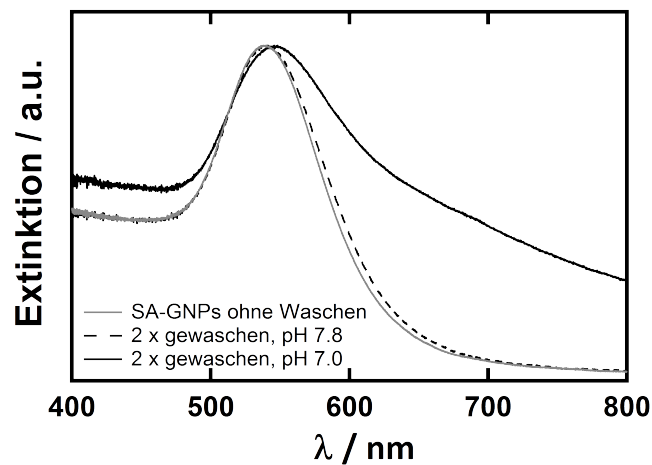


**Abbildung 4.17.:** Links: a) Fotos von GNPs mit SA bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen. b) Nach Zugabe von Puffer mit pH 7,8 zu den Proben in mq-Wasser und pH 6,0 desaggregieren die Partikel fast vollständig, zu erkennen an der Färbung von grau-blau nach rötlich-pink (siehe Pfeile). Rechts: Extinktionsspektren der Proben aus dem unteren Foto. Auch die Spektren deuten auf eine nur noch geringe Aggregation der Partikel hin. ( $d_{GNPs} = (43 \pm 7)$  nm, TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1c)

Für die geplante Verbrückung der SA-stabilisierten GNPs ist dieses Ergebnis aus den eingangs genannten elektrostatischen Gründen ungünstig. Daher wurde versucht, zumindest die bereits stabilisierten GNPs in Puffer mit einem geringeren pH-Wert von 7 zu überführen.

Die Extinktionsspektren der Lösungen bei pH 7,8 und pH 7,0 sind in Abbildung 4.18 gezeigt. Die Probe „0x gewaschen“ bezeichnet dabei die SA-stabilisierten GNPs in 10 mM Puffer bei pH 7,8 ohne Zentrifugation. Die Probe wurde nach dem ersten Zentrifugationsvorgang in 20 mM Puffer bei pH 7,8 suspendiert und erneut zentrifugiert. Die zweimal zentrifugierten SA-GNPs wurden dann auf zwei Probengefäße aufgeteilt. Eine Hälfte der Probe wurde in 20 mM Natriumphosphatpuffer mit pH 7,0, die andere Hälfte in 20 mM Natriumphosphatpuffer mit pH 7,8 suspendiert. Während die Probe bei pH 7,8 auch nach zwei Waschschrritten immer noch ein fast deckungsgleiches Spektrum mit der Probe ohne Waschschrtritt zeigt, aggregieren die Partikel bei pH 7,0 (erkennbar an der Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks). Zusammen mit der Beobachtung, dass auch bei Versuchen, die Partikel nach dem Zentrifugieren in mq-Wasser zu lösen, die GNPs aggregierten, lässt sich schlussfolgern, dass die Aggregation hier durch den pH-Wert hervorgerufen wird,

und nicht auf eventuelle Verunreinigungen des Puffers oder Ähnliches zurückzuführen ist.



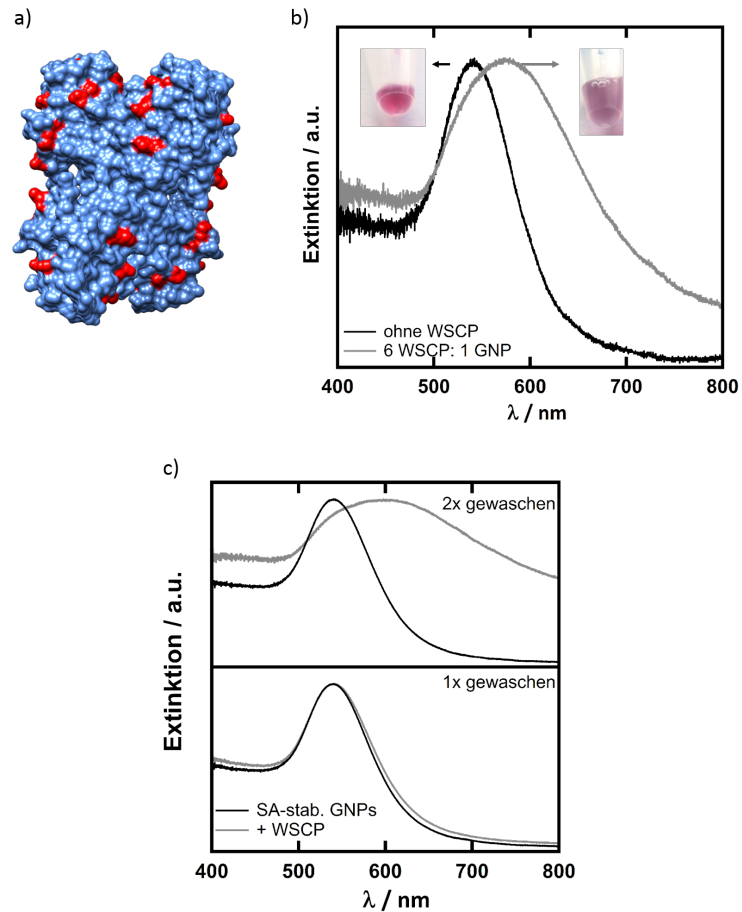
**Abbildung 4.18.:** Extinktionsspektren von SA-GNP-Lösungen. Die Partikel wurden nach dem jeweiligen Waschschrift in den entsprechenden Puffern suspendiert. Bei pH 7,8 ändert sich die Extinktion der Lösungen gegenüber denen der SA-GNPs ohne Waschschrift nur sehr geringfügig, bei pH 7,0 aggregieren die SA-GNPs. ( $d_{GNPs} = (43 \pm 7)$  nm, TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1c)

Zusammenfassend lassen sich folgende Ergebnisse festhalten: Die GNPs lassen sich nur bei pH-Werten um 8,0 mit SA passivieren, und die so erhaltenen SA-stabilisierten GNPs sind auch nur in diesem pH-Bereich stabil. Ist der pH-Wert niedriger, bindet SA offenbar an die GNP-Oberfläche, allerdings werden die Partikel auf Grund der zu geringen negativen Nettoladung des Proteins nicht stabil in Lösung gehalten. Die Bindung des SAs auch bei niedrigeren pH-Werten ist an Hand der Reversibilität der Aggregation zu erkennen.

#### Assemblierung SA-stabilerter GNPs mit WSCP

Zur Bindung des WSCPs an die SA-stabilisierten GNPs wurde das WSCP mit einem Biotin-NHS-Ester umgesetzt, welcher prinzipiell alle primären Aminofunktionen in der Proteinstruktur mit Biotin-Gruppen versieht [202]. Dabei ist das Biotin in der finalen Proteinstruktur durch einen etwa 3 nm langen Spacer von der eigentlichen Proteinstruktur getrennt [180]. Es konnte nicht genau ermittelt werden, wie viele Biotinfunktionen in der finalen Struktur vorhanden waren. Um eine prinzipielle Vorstellung der Bindungsstellen zu geben, ist in Abbildung 4.19a ein mit *Chimera* erstelltes Oberflächenbild des WSCPs gezeigt, in welchem alle Lysine rot markiert wurden. Prinzipiell sollte das WSCP also in allen erdenklichen Orientierungen an die GNPs binden können.

Wird ein Überschuss dieser WSCP-Variante zu SA-stabilisierten GNPs gegeben, so findet innerhalb von ein bis zwei Minuten ein deutlicher Farbumschlag von rot nach blau-lila statt, wie in Abbildung 4.19b auf den Fotos erkennbar ist. Die GNPs hatten einen



**Abbildung 4.19.:** a) Mit *Chimera* erstelltes Oberflächenbild der Kristallstruktur des WSCPs. Die Lysine sind zur Abschätzung der Positionierungen des Biotins rot markiert. b) Extinktionsspektren von SA-GNPs mit (graues Spektrum) und ohne WSCP (schwarzes Spektrum). Auf Grund der Aggregation der GNPs nach WSCP-Zugabe verschiebt sich das Extinktionsmaximum zu höheren Wellenlängen und der Peak verbreitert sich. Zusätzlich sind die Fotos der beiden Lösungen gezeigt. ( $d_G NPs = (48 \pm 7)$  nm, TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1f) c) Extinktionsspektren von Proben ohne (schwarze Kurven) und mit WSCP (graue Kurven) nach einmaligem und zweimaligem Waschen der Proben zur Entfernung überschüssigen SAs vor Zugabe des WSCPs. Nach einmaligen Waschen findet nur eine sehr geringfügige Reaktion statt. Zur ausreichenden Entfernung des freien SA müssen die Proben zweimal gewaschen werden.

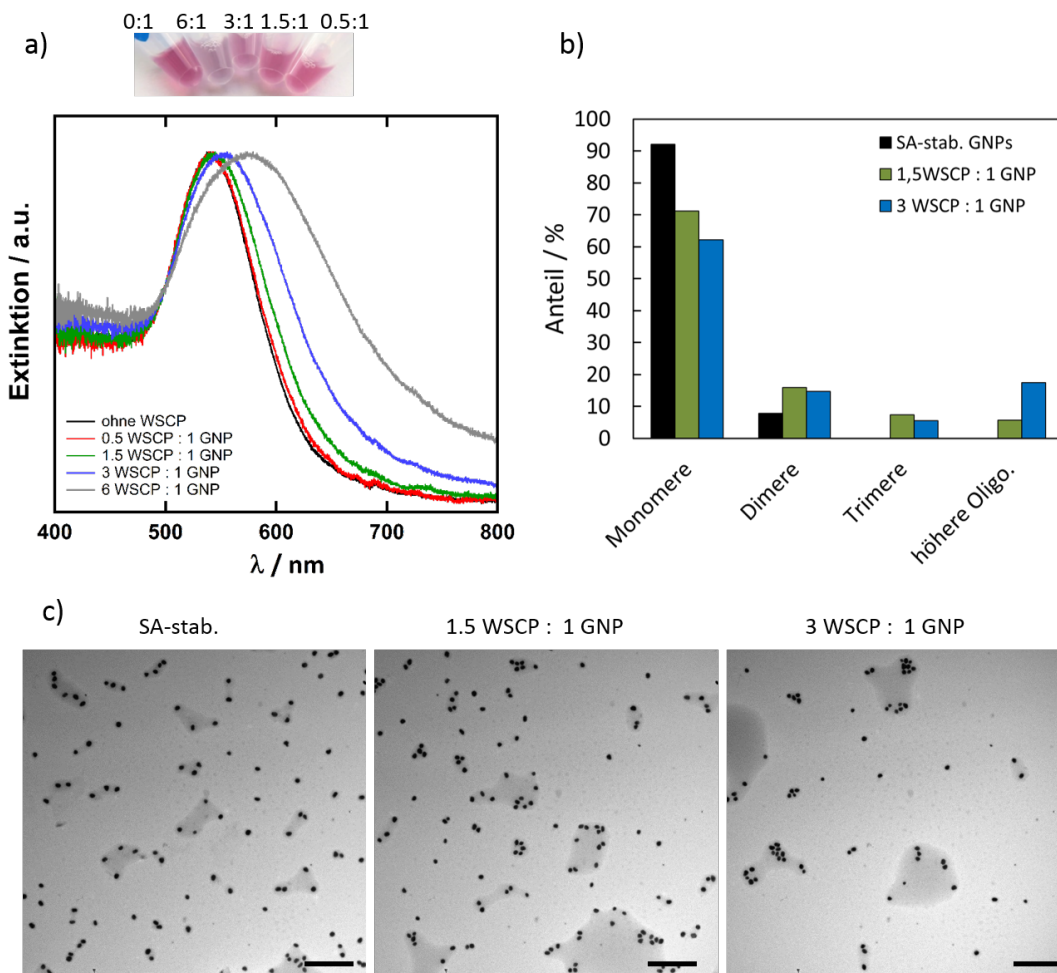
mittleren Durchmesser von  $(48 \pm 7)$  nm). Der Farbumschlag ist auf die Aggregation der Partikel auf Grund der Vernetzung mit WSCP zurückzuführen. Entsprechend verschiebt sich auch das Plasmonenresonanzmaximum deutlich zu größeren Wellenlängen (von 540 nm auf 574 nm) und das Spektrum ist stark verbreitert, wie ebenfalls in Abbildung 4.19b zu sehen ist. Das Ausmaß der Verschiebung ist deutlich stärker als bei Verschiebungen des Plasmonenresonanzpeaks, welche nur aus der Änderung der dielektrischen Funktion der Umgebung der Partikel resultieren, wie beispielsweise bei der SA-Passivierung der Partikel in Abbildung 4.15 gezeigt ist.

In Abbildung 4.19c sind außerdem Extinktionsspektren von SA-stabilisierten GNPs mit und ohne WSCP dargestellt. Die unteren beiden Spektren stammen von Proben, welche nur einem Zentrifugationsschritt unterworfen wurden: Durch die Zugabe von WSCP ist nur eine minimale Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks erkennbar. Werden die SA-stabilisierten GNPs hingegen vor der Zugabe zweimal gewaschen (obere Spektren in Abbildung 4.19c), findet wie erwartet eine deutliche Aggregation (erkennbar an der deutlichen Verbreiterung und Verschiebung des Spektrums) statt. Entsprechend wurden alle weiteren diskutierten Experimente an zweimal gewaschenen SA-stabilisierten GNPs durchgeführt.

Anzahl und Größe der gebildeten Aggregate sind vom Verhältnis des WSCPs zu den GNPs abhängig. Da die Plasmonenresonanzfrequenz abhängig von der Größe eines GNP-Aggregats ist, kann das Ausmaß einer Reaktion mit WSCP an Hand der Verbreiterung und Verschiebung des Plasmonenresonanzpeaks verfolgt werden. Abbildung 4.20a zeigt die Extinktionsspektren von SA-stabilisierten GNPs und den gleichen GNPs mit unterschiedlichen WSCP-Mengen. Zusätzlich ist ein Foto der Lösungen abgebildet.

Wie erwartet, verbreitert sich der Peak bei Erhöhung der WSCP-Konzentration. Wird WSCP in einem Verhältnis 0,5 WSCP : 1 GNP eingesetzt, ist an Hand der Spektren keine Reaktion erkennbar. Dies ist vor dem Hintergrund, dass das letztendliche Ziel dieser Arbeit die Synthese von GNP-Dimeren, welche genau durch ein WSCP verbunden sind, ungünstig. Ursächlich hierfür könnten noch Reste an freiem SA in der Lösung sein. Auch die im vorherigen Abschnitt diskutierten ungünstigen elektrostatischen Gegebenheiten könnten zu diesem Ergebnis führen: Die Experimente müssen bei einem leicht basischen pH-Wert durchgeführt werden, da sonst die elektrostatische Abstoßung zwischen den SA-stabilisierten GNPs nicht ausreicht, um die GNPs stabil in Lösung zu halten. Auf Grund der Abstoßung ist dann aber auch die Aggregation zweier GNPs erschwert.

Von den Proben mit WSCP-GNP-Verhältnissen von 1,5:1 und 3:1 sowie den SA-stabilisierten GNPs ohne WSCP wurden TEM-Aufnahmen angefertigt. Ein Histogramm mit den Probenzusammensetzungen ist in Abbildung 4.20b dargestellt. Hierfür wurden pro Probe mindestens 140 Partikel ausgezählt. Exemplarische TEM-Aufnahmen sind in Abbildung 4.20c gezeigt. Die Entscheidung über die Zugehörigkeit eines Partikels zu einem Aggregat gestaltet sich schwierig. Im Prinzip können in den GNP-WSCP-Proben zwischen zwei GNPs zwei SA und ein WSCP positioniert sein, welche ihrerseits in unterschiedlichen Konformationen und Orientierungen vorliegen können, sodass schon theoretisch die Abstände



**Abbildung 4.20.:** a) Foto und Extinktionsspektren von Proben mit unterschiedlichen WSCP-Gehalten. Je mehr WSCP zu den GNP-Lösungen gegeben wird, desto ausgeprägter ist die Verschiebung und Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks. b) aus TEM-Aufnahmen erstelltes Histogramm der Probenzusammensetzung der Proben mit 1,5 WSCP pro GNP und 3 WSCP pro GNP. Pro Probe wurden mindestens 140 Partikel gezählt. c) Exemplarische TEM-Aufnahmen von den SA-stabilisierten GNPs, der Probe mit 1.5 WSCP pro GNP und der Probe mit 3 WSCP pro GNP. Der Maßstabsbalken ist in allen Abbildungen 500 nm.

zwischen zwei GNPs stark differieren. Daher wurde die Zusammensetzung der Proben mit WSCP eher pessimistisch ausgewertet: Der durch ein SA mögliche maximale Abstand wurde mit 10 nm angenommen. Dieser wurde als der maximale Abstand nicht nur für die Probe ohne WSCP sondern auch für die anderen beiden gezeigten Proben 1,5:1 und 3:1 als Kriterium für die Vorlage eines einzelnen Partikels oder eines zu einem Aggregat gehörenden Partikels verwendet, obwohl theoretisch aus den Kristallstrukturen auch Abstände von bis zu  $\sim 30$  nm plausibel wären ( $2 \times 10$  nm (SA) +  $1 \times 10$  nm (WSCP)). Die TEM-Aufnahmen zeigen eine kontinuierliche Abnahme des Monomeranteils mit steigendem WSCP-Gehalt. Der Dimeranteil verdoppelt sich zwar von der Probe ohne WSCP zur Probe mit 1,5 WSCP pro GNP, steigt dann aber nicht mehr weiter. Bei höheren WSCP-Anteilen nimmt lediglich der Anteil der Aggregate, welche aus mehr als drei Partikeln bestehen, signifikant zu.

Mit Hilfe der TEM-Proben wurde auch versucht, die Zusammensetzung der Aggregate in den Lösungen mit den spektralen Eigenschaften zu korrelieren. Von diversen Versuchen wurden hierfür TEM-Aufnahmen von Proben mit unterschiedlichen WSCP:GNP-Verhältnissen angefertigt. Allgemein gestaltete sich die Auswertung solcher TEM-Aufnahmen eher schwierig, da nicht nur die unterschiedlichen Konformationen der Proteine die Entscheidung über eine Zugehörigkeit eines GNPs zu einem Aggregat erschweren, sondern auch die in Abschnitt 4.2 bereits diskutierten, im Falle der SA-stabilisierten GNPs zwar geringer ausgeprägten, aber immer noch vorhandenen, Artefakte aus der TEM-Probenpräparation (*Coffee Ring Effect* [183]). Beispiele hierfür sind in Abschnitt 4.4 bei der Diskussion von Cryo-TEM-Experimenten aufgeführt. Insgesamt war aber bei allen untersuchten Proben der Monomeranteil wie in dem vorgestellten Beispiel deutlich überwiegend. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen in [190] und [203]. In [203] wurden SA-verbrückte GNPs synthetisiert, die Anzahl der SAs für die Verbrückung zweier GNPs spielte für die durchgeführten Experimente keine Rolle. Trotzdem war dort bei 150 SA pro GNP, bei denen eine maximale Aggregation in den Extinktionsspektren erkennbar war, ebenfalls immer der Monomeranteil überwiegend und der Anteil der Aggregate insgesamt lag nur bei 20%. Es muss davon ausgegangen werden, dass mit der gewählten Route auch unter der Berücksichtigung, dass eventuell nicht alle Dimere bei der Auswertung der Aufnahmen aus den oben genannten Gründen erfasst wurden, nur wenige WSCP-verbrückte Dimere erhalten werden können. Die maximale Anzahl an Dimeren, welche im Rahmen der vorliegenden Arbeit in einer Probe mit SA-stabilisierten WSCP-assemblierten GNPs gefunden wurde, lag bei 30%.

Ein deutlicherer Nachweis der Bindung des WSCPs an die SA-GNPs kann, analog zu den citrat-stabilisierten GNPs, mit Hilfe von Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie erbracht werden. Für die hier vorgestellten Proben wurden diese Messungen erst im Anschluss an die Anreicherung der Dimere durchgeführt und werden in Abschnitt 4.5.1 besprochen.

### Reaktivität, Reproduzierbarkeit und Stabilität

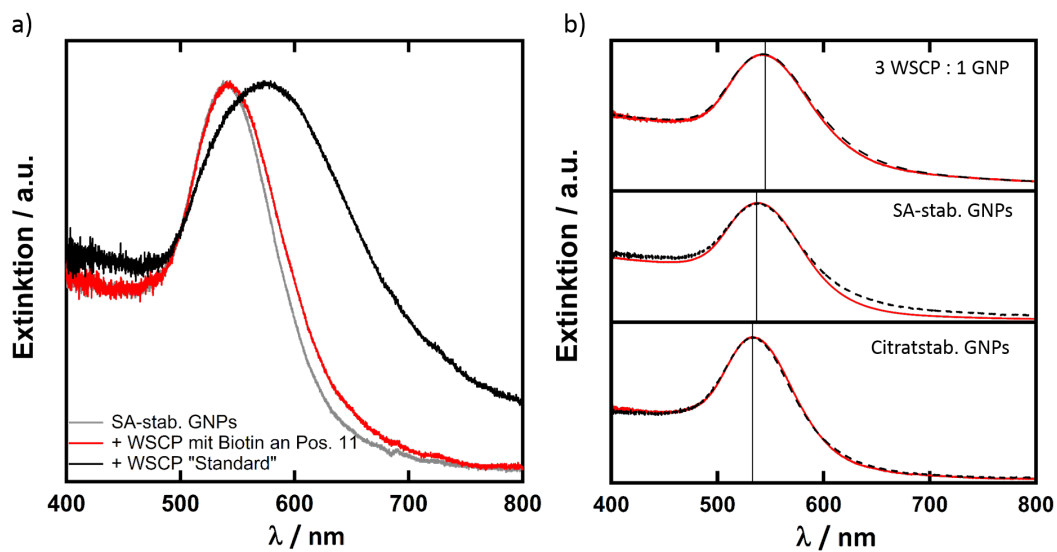
Die Assemblierung wurde auch mit einer weiteren WSCP-Variante getestet, bei welcher nur an vier Positionen der Proteinstruktur Biotine gebunden waren (11B-WSCP). Pro Proteinmonomer lag nur ein Biotin vor, und zwar an der 11. Position vom N-Terminus aus gezählt (vgl. 4.19a). Position und Anzahl der Biotine waren damit deutlich besser definiert, als in der WSCP-Variante, welche für die vorgestellten Experimente verwendet wurde („WSCP-Standard“). Die Biotine liegen im Falle von 11B-WSCP aber eher innen in der Proteinstruktur. Abbildung 4.21a zeigt die Extinktionsspektren von SA-stabilisierten GNPs, welche jeweils mit 6 WSCP pro GNP assembliert wurden. Die Probe mit der 11B-WSCP-Variante reagiert nur minimal. Aus diesem Ergebnis können folgende Schlussfolgerungen festgehalten werden:

- Die His<sub>6</sub>-Tags an den N-Termini sind bei beiden WSCP-Varianten vorhanden. Trotzdem findet nur bei der Variante mit sehr vielen Biotinen in der Struktur eine starke Reaktion statt. Diese kann nicht auf die His<sub>6</sub>-Tags zurückgeführt werden. Die Reaktion der SA-stabilisierten GNPs mit dem WSCP basiert also eindeutig auf der Biotin-Streptavidin-Bindung.
- Sind die Biotineinheiten eher innen in der Struktur positioniert, findet nur eine geringfügige Reaktion statt. Dieselbe Beobachtung wurde auch für WSCP-Varianten aus virginischer Kresse gemacht<sup>8</sup>. Die Ergebnisse sind im Anhang A.6 zusammengefasst. Die Position der Biotinfunktionen in der Proteinstruktur sollte daher für zukünftige Experimente berücksichtigt werden.

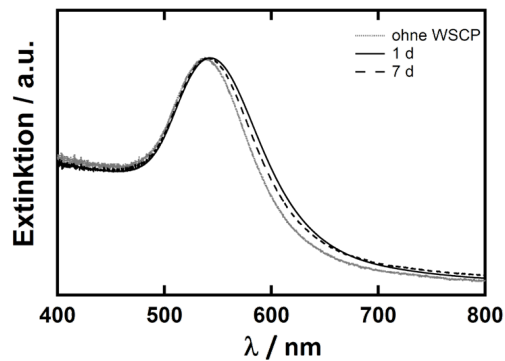
In Bezug auf die Reproduzierbarkeit der gewählten Route zum Aufbau WSCP-verknüpfter SA-stabilerter GNPs ist zu bedenken, dass die tatsächliche Konzentration SA-stabilerter GNPs nach den Waschschriften vor der Assemblierung mit WSCP in jedem Versuch etwas unterschiedlich ist. Des Weiteren sind mittlere Größe sowie Größen- und Formverteilung der GNPs aus unterschiedlichen Synthesen nicht identisch, weswegen die Reproduzierbarkeit der Assemblierung nicht quantitativ untersucht werden konnte. Nichtsdestotrotz sind in Abbildung 4.21b Extinktionsspektren von GNPs mit einem mittleren Durchmesser von (46 ± 4) nm aus verschiedenen Chargen gezeigt, welche beide nach der gleichen Synthesevorschrift synthetisiert wurden. Zwischen beiden GNP-Synthesen lag ein Zeitraum von fünf Monaten. Beide GNP-Chargen wurden in der gleichen Art und Weise mit SA stabilisiert und im Anschluss mit einem fünffachen Überschuss WSCP umgesetzt. Die beinahe vollständige Deckungsgleichheit der jeweiligen citrat-stabilisierten GNPs, der SA-stabilisierten GNPs und der WSCP-verknüpften GNPs zeigt die prinzipiell gute Reproduzierbarkeit der gewählten Route zur Assemblierung der GNPs.

---

<sup>8</sup>Die gezeigten Ergebnisse dieser Arbeit sind mit der WSCP-Variante aus Blumenkohl erzielt worden. Siehe hierzu auch Abschnitt 4.1.



**Abbildung 4.21.:** a) Extinktionsspektren von SA-stabilisierten GNPs und WSCP-GNP-Mischungen. „WSCP mit Biotin an Pos. 11“ ist eine WSCP-Variante, welche nur an vier Positionen Biotin besaß, und zwar jeweils an Position 11 von den N-Termini aus gezählt. WSCP „Standard“ ist die WSCP-Variante, welche für alle anderen Experimente mit SA-funktionalisierten GNPs verwendet wurde. b) Extinktionsspektren von Proben, welche ausgehend von unterschiedlichen Chargen citratstabilisierter GNPs, die allerdings mit der gleichen Syntheseroute dargestellt wurden (rote und schwarze Kurven), erhalten wurden. Unten: citratstabilisierte GNPs, mitte: SA-stabilisierte GNPs, oben: mit fünffachem Überschuss WSCP versetzte SA-stabilisierte GNPs. Die Kurven sind beinahe deckungsgleich, was eine gute Reproduzierbarkeit der gewählten Route zur Verbrückung der GNPs zeigt.



**Abbildung 4.22.:** Extinktionsspektren von SA-GNPs mit fünffachem WSCP-Überschuss nach einem Tag (1 d) und nach sieben Tagen (7 d) Lagerung (dunkel, 6°C). Zusätzlich ist das Spektrum der SA-stabilisierten GNPs gezeigt.

Allerdings sei angemerkt, dass auch deutlich stärkere Reaktionen und in einigen Experimenten auch gar keine Reaktion mit WSCP nachgewiesen werden konnte. Die deutlich stärkeren Reaktionen sind auf die unterschiedlichen GNP-Konzentrationen nach der SA-Passivierung auf Grund der zur Anbindung des WSCP notwendigen Zentrifugationschritte zurückzuführen. Weshalb in einigen Experimenten auch bei sehr hohen WSCP-Überschüssen keine Reaktion stattfand, konnte nicht geklärt werden. Im Prinzip genügt bei der gefundenen Route aber eine Testreaktion mit 10 bis 20 fachem WSCP-Überschuss (siehe Abschnitt 3.1), um festzustellen, ob das WSCP an die vorliegenden SA-stabilisierten GNPs bindet: nach etwa ein bis zwei Minuten sollte ein deutlicher Farbumschlag auftreten.

Die Untersuchung der Lagerungsfähigkeit der assemblierten GNPs lag nicht im Fokus dieser Arbeit, wurde aber an einigen Proben trotzdem überprüft. Eine „Auflösung“ der Aggregate kann in den Extinktionsspektren an Hand der Verschiebung des Maximums zu kürzeren Wellenlängen verfolgt werden. In Abbildung 4.22 sind Extinktionsspektren von WSCP-GNP-Lösungen nach einem Tag und nach sieben Tagen Lagerungszeit (dunkel, 6 °C) zusammen mit dem Extinktionsspektrum der SA-stabilisierten GNPs gezeigt. Nach sieben Tagen hat sich das Extinktionsmaximum erkennbar zu kleineren Wellenlängen verschoben, womit davon ausgegangen werden muss, dass die Proben nicht lagerungsfähig sind und immer so frisch wie möglich weiterverarbeitet bzw. spektroskopisch untersucht werden sollten.

### Fazit

Es wurden erfolgreich SA-stabilisierte GNPs präpariert und mit Biotin funktionalisiertem WSCP assembliert. SA fungiert dabei sowohl als passivierender und stabilisierender Ligand für die GNPs als auch als Bindungsanker für die Biotin-WSCPs.

Für die SA-Stabilisierung der GNPs müssen pH-Werte oberhalb des pI des SAs verwendet werden, da sonst die elektrostatische Abstoßung zwischen den GNPs nicht aus-

reicht, um diese in der Lösung zu stabilisieren. Ein SA-Tetramer belegt etwa  $3 \text{ nm}^2$  GNP-Oberfläche, was im Einklang mit der aus der Kristallstruktur abgeschätzten Größe eines SA-Tetramers ist. Die erfolgreiche SA-Passivierung bzw. -funktionalisierung kann in den Extinktionsspektren an Hand einer Verschiebung des Resonanzmaximums ohne Verbreiterung des Peaks gegenüber dem Extinktionsspektrum der citratstabilisierten GNPs verfolgt werden. Die SA-Überschüsse können mit Hilfe von Zentrifugation entfernt werden.

Zur Assemblierung der SA-GNPs mit WSCP können verschiedene WSCP-Varianten eingesetzt werden, so lange sichergestellt ist, dass die Biotinfunktionen des WSCPs für das auf der GNP-Oberfläche befindliche SA sterisch zugänglich sind.

Allerdings ist der auf TEM-Aufnahmen gefundene Dimeranteil mit maximal 30% relativ gering. Daher wurden in einem weiteren Ansatz auch PEG-stabilisierte GNPs verwendet und mit WSCP verbrückt. Die Ergebnisse dieser Experimente werden im folgenden Abschnitt 4.3.2 diskutiert.

### 4.3.2. Assemblierung Polyethylenglycol-stabilsierter GNPs

Auf Grund der in Abschnitt 4.3.1 diskutierten geringen Dimeranteile in den Proben mit SA-stabilisierten und im Anschluss mit WSCP verbrückten GNPs und der Instabilität der Aggregate wurden auch Polyethylenglycol-stabilisierte GNPs (PEG-GNPs) mit WSCP verknüpft. Die eingesetzten PEGs besitzen eine Thiofunktion, welche die Bindung an die GNP-Oberflächen vermittelt. Die resultierende Schwefel-Gold-Bindung kann einen kovalenten Charakter annehmen<sup>9</sup> und soll so zu noch stabileren GNPs als die SA-Stabilisierung führen.

Der Einsatz von PEGs für die Passivierung und Funktionalisierung von GNPs wird auf Grund der Vielzahl für die gewünschte Anwendung anpassbaren Parameter intensiv genutzt [80, 190, 206]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit war besonders die Möglichkeit der Steuerung der Bindungsstellen für das WSCP über die Wahl geeigneter PEG-Mischungen aus PEGs mit einer funktionellen Einheit, welche die Bindung an das WSCP vermittelt, und einem weiteren, lediglich stabilisierendem PEG, interessant. Weiterhin wären für den Aufbau von GNP-Dimeren mit WSCP folgende Vorteile zu nennen:

- Wahl unterschiedlicher Kettenlängen zur Variation des Abstands zwischen WSCP und GNP-Oberfläche,
- Einsatz unterschiedlich funktionalisierter PEGs zu Erhöhung bzw. Erniedrigung der Oberflächenladung und
- höhere Flexibilität bei der Wahl der GNP-Partikelform, da auch die üblicherweise CTAB<sup>10</sup>-stabilisierten Goldnanostäbchen oder -prismen mit PEG passiviert werden können [207, 208].

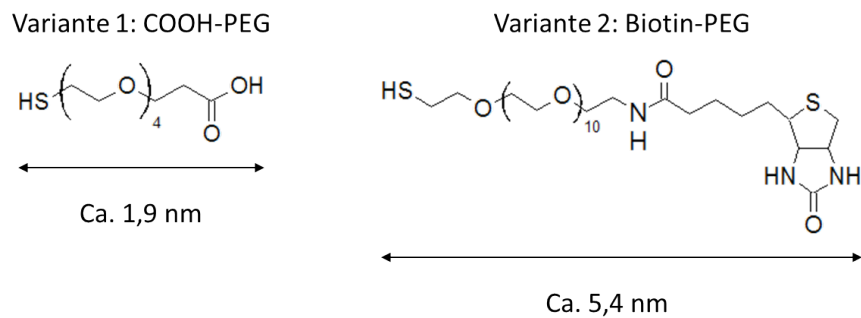
In der vorliegenden Arbeit wurden die in Abbildung 4.23 gezeigten bifunktionalen PEGs verwendet. Beide PEG-Varianten haben eine relativ kurze Kettenlänge, um den Abstand zwischen GNP-Oberfläche und Chlorophyll für die anschließende spektroskopische Untersuchung der Fluoreszenz nicht zu stark zu vergrößern. Wie in Abschnitt 4.1 an Hand von Abbildung 4.3 diskutiert, würden sich bei größeren Interpartikelabständen für die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Partikelgrößen geringere Überlappungen der Plasmonenresonanz mit dem Fluoreszenzspektrum des WSCPs ergeben.

Neben den angesprochenen Thiofunktionen zur Vermittlung der Bindung an die GNP-Oberfläche sind beide PEGs mit einer zweiten funktionellen Einheit versehen: Variante 1 besitzt eine Carboxylatfunktion. Diese ist bei dem zur Bindung des PEGs an die GNPs sowie bei den weiteren Reaktionsschritten notwendigen leicht basischen pH-Wert deprotoniert, so dass die GNPs eine negative Oberflächenladung haben. Dies könnte zwar die

---

<sup>9</sup>Die Natur der Schwefel-Gold-Bindung ist nicht vollständig aufgeklärt. Einen Übersichtsartikel gibt [204]. In [205] wird eine pH-Wert-Abhängigkeit des Bindungscharakters beschrieben.

<sup>10</sup>Cetyltrimethylammoniumbromid



**Abbildung 4.23.:** Molekülstrukturen und mit *ChemSketch* ermittelte ungefähre Längen der beiden eingesetzten PEG-Varianten bei Annahme einer linearen Konformation

Assemblierung der GNPs mit WSCP auf Grund der resultierenden elektrostatischen Abstößung erschweren. Allerdings sollen die Dimere im Anschluss auch mit Hilfe von Gelelektrophorese angereichert werden, wofür eine ausreichend hohe Laufgeschwindigkeit sichergestellt sein muss. Alternativ wären auch Methoxy-Reste an Stelle der Carboxylat-Funktionen denkbar gewesen. Für diese wurde jedoch berichtet, dass mittels Gelelektrophorese keine Trennung der unterschiedlich großen GNP-Aggregate stattfand [190].

Variante 2 besitzt eine Biotinfunktion, welche die Funktionalisierung der GNPs mit SA erlaubt. An das SA soll im Anschluss das mit Biotin-Funktionen versehene WSCP gebunden werden. Das Biotin-PEG hat eine deutlich größere Kettenlänge als das COOH-PEG, um eine sterisch einfache Bindung des SAs bzw. des WSCPs zu ermöglichen.

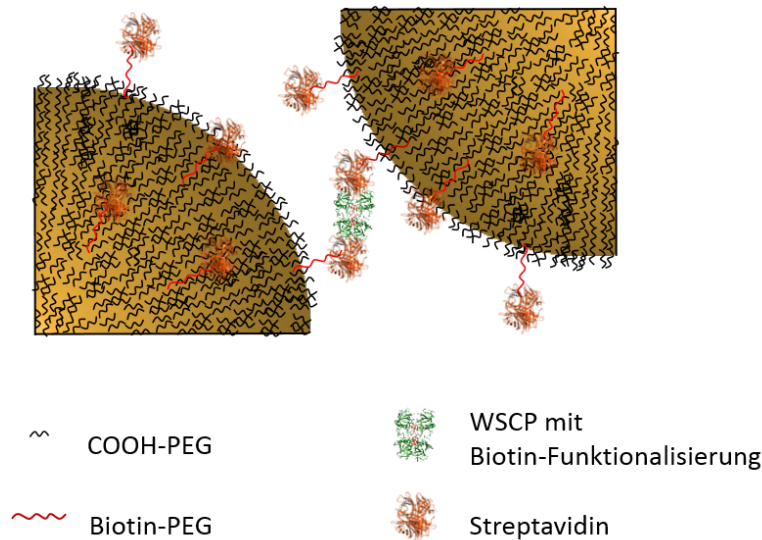
Insgesamt wird folgendermaßen vorgegangen:

1. Funktionalisierung citrat-stabilsierter GNPs mit den PEGs
2. Funktionalisierung der Biotin-PEGs auf den GNPs mit SA
3. Verknüpfung der SA-PEG-GNPs mit WSCP.

Die finale Bindung zweier GNPs ist maßstabsgetreu in Abbildung 4.24 skizziert.

### Funktionalisierung der GNPs mit PEG

Die Vorversuche zur PEG-Funktionalisierung der citrat-stabilisierten GNPs (PEGylierung) wurden von Katja Krüger im Rahmen eines Modulpraktikums durchgeführt. Die Funktionalisierung der GNPs erfolgte nach der in Abschnitt 3.1 beschriebenen Methode auf Basis von [209] in 25 mM Natriumhydrogencarbonatlösungen. Es wurde auch versucht, die GNPs in mq-Wasser zu PEGylieren [190, 210, 211], dabei aggregierten die Partikel jedoch. Bei den gewählten basischen pH-Werten ist das Schwefelatom deprotoniert, wodurch sich eine stabile Thiol-Gold-Bindung kovalenten Charakters ausbilden soll [205].



**Abbildung 4.24.:** Maßstabsgetreue Skizze zweier mit WSCP assemblierter PEG-stabilsierter GNPs mit einem Durchmesser von 50 nm: SA wird an die auf den GNPs befindlichen Biotin-PEGs gebunden. Das SA kann dann mit den Biotin-Einheiten des WSCP reagieren.

Für relativ kleine Partikelgrößen von etwa 30 nm erwies sich ein Überschuss von 160 PEGs pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche als ausreichend, um auch nach den notwendigen weiteren Prozeduren zur Assemblierung der GNPs deren Stabilität in Lösung zu gewährleisten. Für größere Partikel mit Durchmessern von  $(41 \pm 6)$  nm bis  $(52 \pm 7)$  nm wurde mit etwa 850 PEGs pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche ein deutlich höherer PEG-Überschuss benötigt<sup>11</sup>. In der Literatur werden typischerweise 33 [209] bis 85 [80] PEG-Moleküle pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche verwendet. Allerdings wurden dort die GNPs entweder zusammen mit Ethanol PEGyliert oder die Citratgruppen gegen BSPP<sup>12</sup> ausgetauscht. Wahrscheinlich bildete sich in beiden Beispielen durch die zusätzlichen Reagenzien auch mit geringeren PEG-Überschüssen ausreichend schnell die Schwefel-Gold-Bindung aus. In den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Experimenten wurden weder zusätzliche Reagenzien noch ein vorheriger Ligandenaustausch der Citrathülle durchgeführt, um Aggregationen der GNPs, welche nicht auf einer Bindung des WSCPs beruhen, zu vermeiden. Nichtzuletzt ist die PEG-Belegungsdichte auf GNP-Partikeln höher, je kürzer die PEG-Kettenlänge ist [210]. Dementsprechend wird von den hier gewählten kurzen PEGs ein höherer Überschuss benötigt, um die GNP-Oberfläche vollständig zu passivieren.

Abbildung 4.25a zeigt die typischen Spektren von citrat-stabilisierten GNPs und den zu-

<sup>11</sup>Während der experimentellen Arbeit wurden die Partikeldurchmesser aus dem Plasmonenresonanzmaximum abgeschätzt, woraus sich Abweichungen in der Partikelkonzentration und damit in der Gesamtpartikeloberfläche ergaben (siehe Abschnitt 3.1.1). Der hier genannte Wert bezieht sich auf die Partikelkonzentrationen und Gesamtoberflächen der Partikellösungen, welche sich aus den an Hand von TEM-Aufnahmen ermittelten mittleren Partikeldurchmessern ergeben.

<sup>12</sup>Die Citrathülle der GNPs wird gegen Bis(*p*-sulfonatophenyl)phenylphosphin (BSPP) ausgetauscht, welches die GNPs besser stabilisiert [212].

gehörigen PEG-stabilisierten GNPs, welche mit unterschiedlichen COOH-PEG zu Biotin-PEG Verhältnissen (PEG-Verhältnisse) funktionalisiert wurden. Außerdem wurden unterschiedliche Partikelgrößen eingesetzt. Die Resonanzpeaks verbreitern sich nur sehr geringfügig, sodass davon auszugehen ist, dass sich die Probenzusammensetzung durch die PEGylierung nicht ändert. Die Verbreiterung ist vermutlich auf eine minimale Aggregation der GNPs zurückzuführen. Die in Abbildung 4.25b gezeigte repräsentative TEM-Aufnahme von PEG-stabilisierten GNPs mit einem Durchmesser von 29 nm zeigt hauptsächlich Monomere: Auf der TEM-Probe sind von 120 ausgezählten Partikeln 80% Monomere, 14% Dimere und lediglich 6% höhere Oligomere.

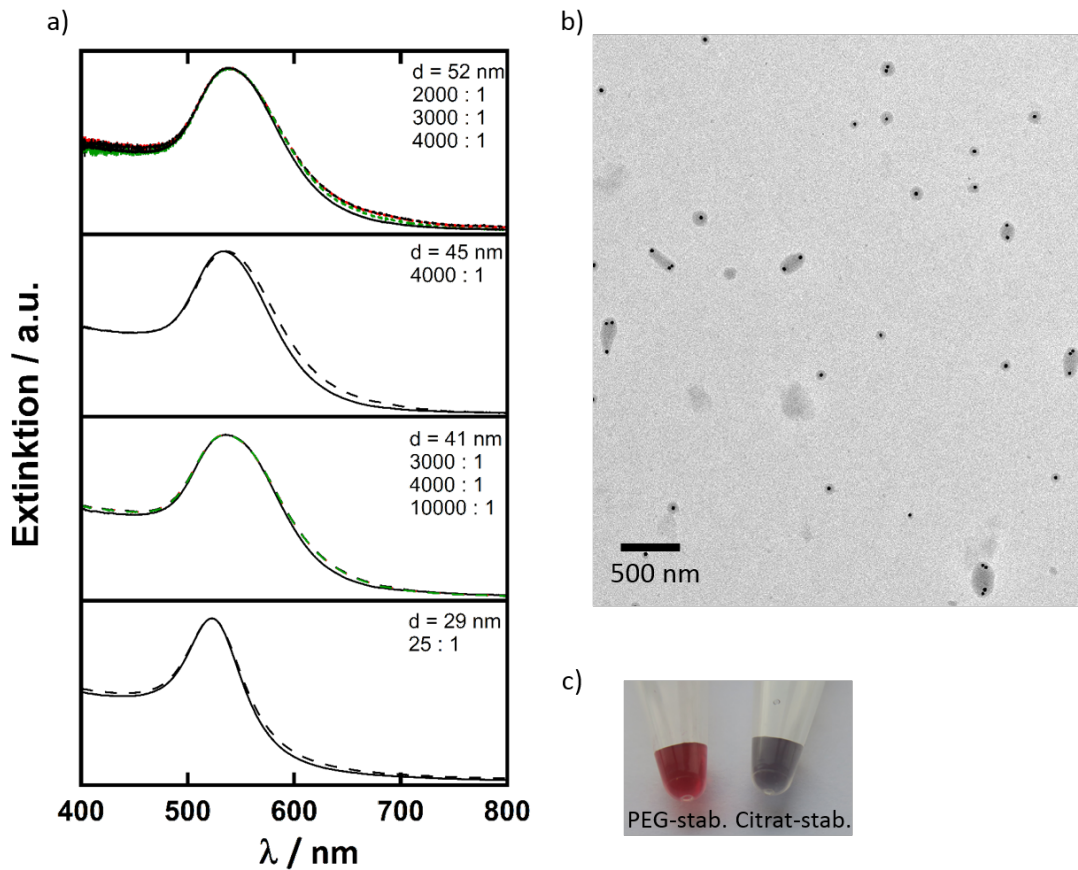
Es ist zu erkennen, dass hier, im Gegensatz zur Passivierung der GNPs mit SA (Abschnitt 4.3.1), keine Verschiebung des Plasmonenresonanzpeaks stattfindet. Offenbar ändert sich durch die Funktionalisierung der GNPs mit PEG die dielektrische Umgebung nicht so stark, wie im Falle der SA-Funktionalisierung.

Die erfolgreiche PEG-Stabilisierung kann analog zur SA-Passivierung durch die Zugabe von konzentrierten Salzlösungen zu den GNP-Lösungen überprüft werden. Abbildung 4.25c zeigt ein Foto mit GNP-Lösungen, zu denen 0,2 M Natriumphosphatpuffer gegeben wurde: Die PEG-stabilisierten GNPs links zeigen keine Reaktion, die citrat-stabilisierten GNPs aggregieren, erkennbar an dem deutlichen Farbumschlag nach lila-blau.

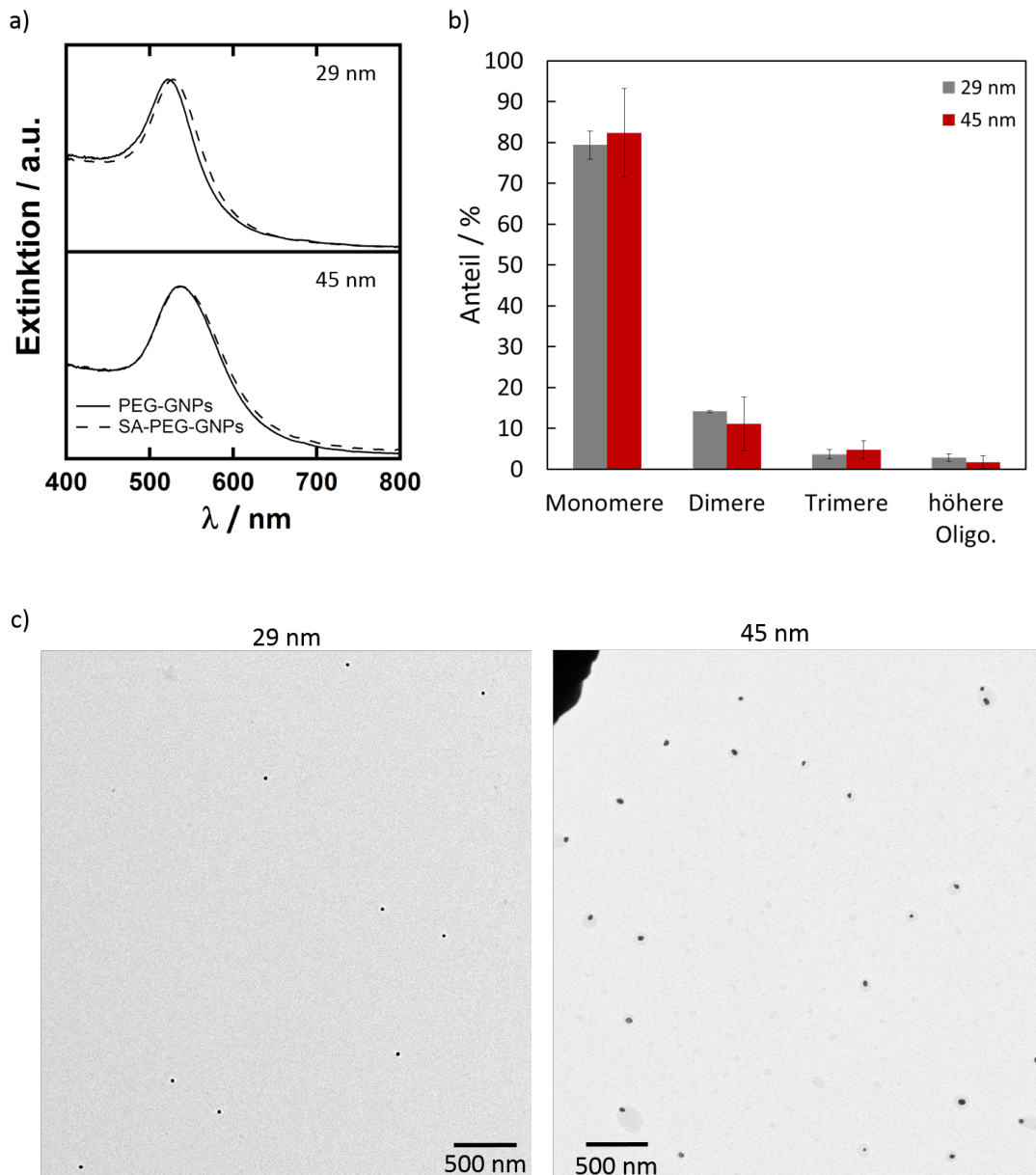
#### **Funktionalisierung der PEG-GNPs mit SA**

Nach Entfernung des überschüssigen PEGs durch dreimaliges Zentrifugieren und Resuspendieren der Proben in Puffer (20 mM Natriumphosphatpuffer, pH 7,8), müssen die Biotinreste auf der GNP-Oberfläche mit SA gesättigt werden. Dabei wurde doppelt so viel SA im Vergleich zu der zu Beginn zu den GNPs gegebenen Stoffmenge Biotin-PEG verwendet. Die Ergebnisse der im Anschluss an die SA-Funktionalisierung zur Entfernung des überschüssigen SA abermals dreimal gewaschenen SA-PEG-GNPs sind in Abbildung 4.26 zusammengefasst. Große GNPs zeigen bei Verwendung von einem PEG-Verhältnis von 4000:1 (COOH-PEG:Biotin-PEG) eine minimale Verschiebung des Plasmonenresonanzpeaks zu höheren Wellenlängen (untere Spektren in Abbildung 4.26a), während die SA-Bindung an Partikel mit einem Durchmesser von 29 nm und einem PEG-Verhältnis von 100:1 zu einer Verschiebung des Resonanzpeaks um etwa 6 nm führt (obere Spektren). Diese Verschiebung entspricht etwa der, welche auch bei direkter Passivierung der GNPs mit SA beobachtet wurde (4 nm bis 5 nm).

In [210] wurde die Belegungsdichte mit dem hier verwendeten COOH-PEG auf 5 PEGs pro  $\text{nm}^2$  bestimmt. Mit diesem Wert wurde die Anzahl der Biotin-PEGs auf den GNPs abgeschätzt. Für die 29 nm GNPs mit einem PEG-Verhältnis von 100:1 beträgt die Anzahl der Biotin-PEGs und damit der SA-Einheiten auf einem GNP etwa 132. Es ergibt sich so ein Wert von einem SA pro  $20 \text{ nm}^2$  Partikeloberfläche. Im Zusammenhang mit den ungefähren Ausdehnungen eines SA (siehe Abbildung 4.10) von  $18 \text{ nm}^2$  liegt also eine fast



**Abbildung 4.25.:** a) Extinktionsspektren von citrat-stabilisierten GNPs (durchgezogene Linien) und den dazugehörigen PEG-stabilisierten GNPs (gestrichelte Linien). Die PEG-Verhältnisse sind nach dem Schema COOH-PEG:Biotin-PEG angegeben. Die PEG-Stabilisierung kann mit unterschiedlich großen GNPs und verschiedenen Biotin-PEG zu COOH-PEG Verhältnissen durchgeführt werden, ohne dass es zu nennenswerten, auf Aggregation hindeutende Verbreiterungen der Plasmonenresonanzpeaks kommt. b) TEM-Aufnahme der PEG-GNPs aus dem unteren Extinktionsspektrum aus a). Die Probe bestand aus 80% Monomeren, 14% Dimeren und 6% größeren Aggregaten. c) Foto von GNP-Lösungen nach Zugabe von 0,2 M Natriumphosphatpuffer.



**Abbildung 4.26.:** a) Extinktionsspektren von PEG-GNPs mit und ohne SA mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern. Im Falle der 29 nm großen GNPs (PEG-Verhältnis 100 COOH-PEG:1 Biotin-PEG) wurde eine Belegung von einem SA pro  $20 \text{ nm}^2$  abgeschätzt. Die 45 nm großen GNPs haben nur etwa 8 SA pro Partikel (PEG-Verhältnis 4000 COOH-PEG:1 Biotin-PEG, entspricht einem SA pro  $795 \text{ nm}^2$  GNP-Oberfläche). b) Histogramm mit den aus TEM-Aufnahmen ermittelten Probenzusammensetzungen. Pro Probe wurden mindestens 100 Partikel gezählt. Für die GNPs mit einem Durchmesser von 29 nm wurden zwei Proben mit PEG-Verhältnissen von 50:1 und 100:1 ausgewertet, für die 45 nm großen GNPs drei Proben mit PEG-Verhältnissen von 10 000:1 (1 Probe) und 4000:1 (2 Proben). c) exemplarische TEM-Aufnahmen von den in a) gezeigten Proben mit SA-Sättigung nach dreimaligem Waschen zur Entfernung überschüssigen SAs.

vollständige Belegung der Partikel mit SA vor, was zur Verschiebung der Plasmonenresonanz führt. Bei Verwendung von einem PEG-Verhältnis von 4000:1 für die 45 nm großen Partikel ergibt sich mit der gleichen Berechnung nur eine mittlere SA-Anzahl von 8 pro GNP, dadurch ist hier keine Verschiebung des Plasmonenresonanzmaximums vorhanden.

Desweiteren ist in Abbildung 4.26b ein Histogramm der Zusammensetzung von SA-PEG-GNP-Proben mit kleineren (29 nm) und größeren (45 nm) Partikeldurchmessern gezeigt. Hierfür wurden zu Ermittlung der Probenzusammensetzungen der großen GNPs drei Proben mit unterschiedlichen PEG-Verhältnissen (eine Probe mit 10 000:1 und zwei Proben mit 4000:1) und für die der 29 nm GNPs zwei Proben (je eine Probe mit 50:1 und eine mit 100:1) ausgewertet. Es wurden für jede Probe mindestens 100 Partikel gezählt. Repräsentative TEM-Aufnahmen sind in Abbildungsteil (c) gezeigt. Insgesamt ist der Monomeranteil im Mittel mit etwa 80% geringer als der Wert für die nur SA-stabilisierten GNPs (91%). Dies ist vermutlich auf die vorher durchgeführten insgesamt sechs Waschschritte und die auch bei Verwendung von PEG-stabilisierten GNPs vorhandene generelle Problematik der TEM-Probenpräparation (siehe Abschnitte 4.3.1 und 4.4) zurückzuführen.

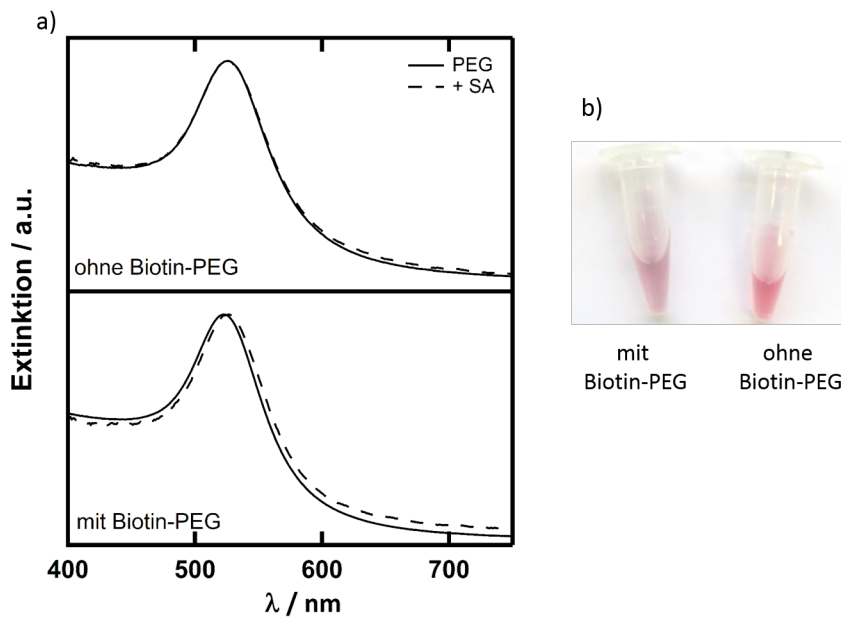
#### **SA bindet spezifisch an die Biotin-PEGs**

Die Bindung des SAs an die Biotin-PEGs auf der GNP-Oberfläche kann genutzt werden, um zu überprüfen, ob die SA-Bindung wie gewünscht an die Biotin-PEGs erfolgt, eventuell freie Flächen der GNPs belegt werden oder SA unspezifisch an die PEG-Hülle adsorbiert.

In Abbildung 4.27a sind Extinktionsspektren von 29 nm großen PEG-GNPs mit und ohne SA dargestellt. Werden die GNPs ausschließlich mit COOH-PEGs stabilisiert (oberes Spektrum), findet zusammen mit SA keine Verschiebung der Plasmonenresonanz statt. Ist Biotin-PEG vorhanden (25:1), verschiebt sich, wie oben erläutert, der Plasmonenresonanzpeak zu höheren Wellenlängen.

Eindrucksvoller ist die Existenz von Biotin-PEG in der PEG-Hülle auf dem Foto in Abbildung 4.27b zu sehen: Es sind PEG-GNP-Lösungen mit Biotin-PEG (links) und ohne Biotin-PEG (rechts), welche mit einem *Unterschuss* SA im Vergleich zu Biotin-PEG versetzt wurden, gezeigt. Die Probe mit Biotin-PEG zeigt einen deutlichen Farbumschlag von rot nach lila-blau. Die GNPs sind also durch die Zugabe des SAs aggregiert, während in der Probe ohne Biotin-PEG keine Reaktion zu beobachten ist. Dies ist ein eindeutiger Nachweis, dass das SA nicht unspezifisch an die PEG-Hülle adsorbiert, sondern direkt an die Biotin-PEGs bindet. In Folge dessen werden die GNPs bei Zugabe des SA-Unterschusses assembliert, was an Hand des Farbumschlags verfolgt werden kann.

Damit bleibt festzuhalten, dass erfolgreich mit PEG stabilisierte SA-funktionalisierte GNPs mit verschiedenen PEG-Verhältnissen präpariert werden können. Die verschiedenen PEG-Verhältnisse ermöglichen die Präparation von GNPs mit einer unterschiedlichen Anzahl von SA-Funktionalisierungen pro GNP, da das SA nur an die Biotinfunktionen der



**Abbildung 4.27.:** a) Extinktionsspektren von PEG-stabilisierten GNPs ( $d_{GNPs} = (29 \pm 5)$  nm) mit (25:1) und ohne Biotin-PEG vor und nach der Funktionalisierung mit SA. b) Foto mit GNPs mit und ohne Biotin-PEG nach Zugabe eines SA-Unterschusses.

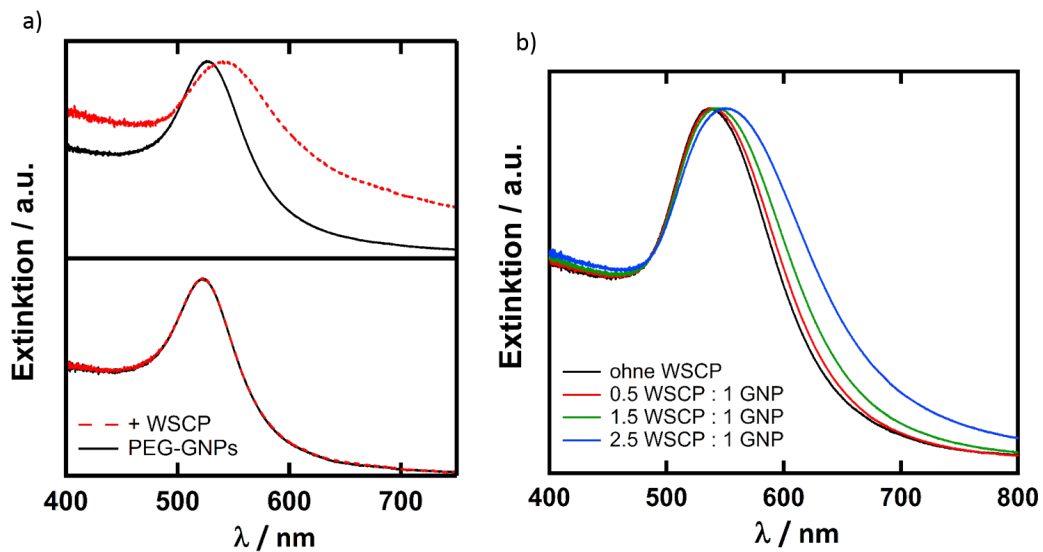
PEGs bindet.

### Bindung von WSCP an SA-PEG-GNPs

Die mit SA funktionalisierten PEG-GNPs wurden mit der gleichen Biotin-WSCP-Variante zur Reaktion gebracht wie die SA-GNPs in Abschnitt 4.3.1. Um nachzuweisen, dass das WSCP mit seinen Biotin-Funktionen an die SAs auf den PEG-GNPs bindet, wurden die gleichen PEGylierten GNPs mit und ohne SA mit WSCP gemischt. In Abbildung 4.28a sind die entsprechenden Extinktionsspektren dargestellt. Die Verschiebung der Plasmonenresonanz ist deutlich vorhanden, wenn SA an den GNPs gebunden ist (obere Spektren), während ohne SA keinerlei Reaktion zu beobachten ist (untere Spektren). Damit ist auszuschließen, dass das WSCP unspezifisch an freie GNP-Oberflächen oder die PEG-Hülle bindet. Die Bindung des WSCP erfolgt eindeutig auf Grund der SA-Biotin-Bindung.

Abbildung 4.28b zeigt Extinktionsspektren von SA-PEG-GNPs, welche mit unterschiedlichen Mengen WSCP gemischt wurden. Die zunehmende Verschiebung und Verbreiterung der Plasmonenresonanz mit steigendem WSCP-Gehalt ist deutlich zu erkennen. Der Plasmonenresonanzpeak verschiebt sich mit steigender WSCP-Menge von 537 nm (ohne WSCP) auf 539 nm (0,5 WSCP), 542 nm (1,5 WSCP) und 552 nm (2,5 WSCP). WSCP bindet demnach an die SA-Funktionen auf der GNP-Oberfläche und führt wie erwartet in Abhängigkeit von seiner Konzentration zu einer Aggregation der GNPs.

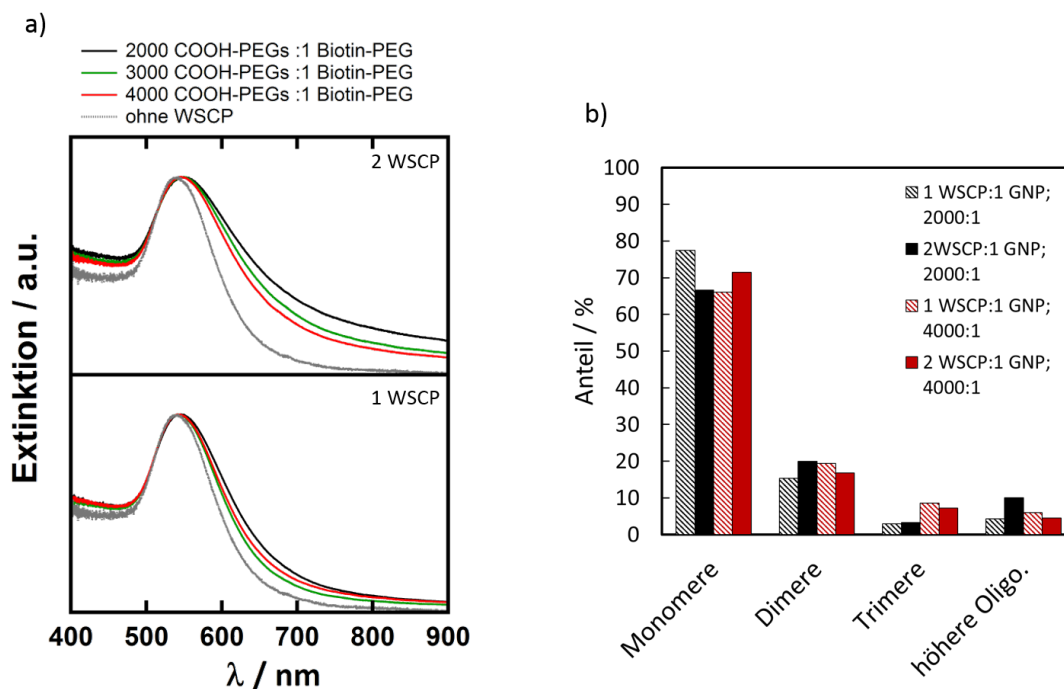
Um den Einfluss der Bindungsstellenanzahl auf der GNP-Oberfläche auf die WSCP-



**Abbildung 4.28.:** a) Extinktionsspektren von PEG-GNPs mit und ohne WSCP ( $d = 29$  nm). Unten: ohne vorherige SA-Funktionalisierung; Es findet keine Reaktion statt. Oben: Mit SA-Funktionalisierung; Nach Zugabe des WSCPs ist eine deutliche Verbreiterung und Verschiebung des Plasmonenresonanzpeaks auf Grund der WSCP-vermittelten Aggregation der GNPs vorhanden. b) SA-PEG-GNPs (PEG-Verhältnis 400:1,  $d_{GNPs} = (42 \pm 7)$  nm) mit unterschiedlich hohen WSCP-GNP-Verhältnissen.

vermittelte Aggregation zu untersuchen, wurden GNPs mit unterschiedlichen COOH-PEG zu Biotin-PEG-Verhältnissen passiviert. Die PEG-Verhältnisse haben keinen Einfluss auf die Zusammensetzung der Proben vor WSCP-Zugabe, wie in Abbildung 4.26 gezeigt wurde. In Abbildung 4.29a sind die Extinktionsspektren für GNPs, welche mit unterschiedlichen PEG-Verhältnissen funktionalisiert wurden und mit unterschiedlichen Mengen WSCP zur Reaktion gebracht wurden, dargestellt. Mit der in [210] ermittelten Anzahl von etwa 5 PEGs pro  $\text{nm}^2$  Partikeloberfläche ergeben sich für die gezeigten Proben mit GNPs mit einem Durchmesser von etwa 52 nm 21 (PEG-Verhältnis 2000:1), 14 (PEG-Verhältnis 3000:1) und 10 (PEG-Verhältnis 4000:1) Biotin-PEGs pro GNP. Der Einfluss der Biotin-PEG-Belegung auf das Aggregationsverhalten der GNPs ist in den Spektren mit 1:1 und 2:1 WSCP-GNP-Verhältnissen zu erkennen: Je mehr Biotin-PEG auf der Oberfläche der GNPs vorhanden ist, desto stärker ist die Verschiebung und Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks, wobei insgesamt festzuhalten ist, dass die spektralen Unterschiede gering sind.

Die Ergebnisse der Analyse der TEM-Proben sind in den in Abbildung 4.29b gezeigten Histogrammen zusammengefasst. Die theoretische und an Hand der Spektren zu erwartende Tendenz ist: Je mehr Biotin-PEG und/oder je mehr WSCP in den Proben, desto höher die Anzahl und Größe der Aggregate. Dies ist aber nicht der Fall. Den größten Anteil in allen Proben bilden die Monomere. Die ermittelten Zusammensetzungen der beiden Proben mit einem PEG-Verhältnis von 4000:1 verhalten sich genau umgekehrt zu der



**Abbildung 4.29.:** a) Extinktionsspektren von mit WSCP verknüpften GNPs ( $d_{GNPs} = (52 \pm 7)$  nm) mit unterschiedlichen PEG-Verhältnissen, b) Histogramm der aus TEM-Aufnahmen ermittelten Probenzusammensetzungen. Es wurden jeweils mindestens 170 Partikel gezählt.

aus den Extinktionsspektren zu erwartenden Zusammensetzung: Die Probe mit 2 WSCP pro GNP hat einen deutlichen gegenüber der Probe mit 1 WSCP pro GNP verbreiterten Plasmonenresonanzpeak, was auf eine stärkere Aggregation hinweist. An Hand der TEM-Aufnahmen wurde aber ein größerer Aggregateanteil in der Probe mit 1 WSCP pro GNP gefunden. Gleiches gilt für den Vergleich zwischen den Proben mit PEG-Verhältnissen von 2000:1 und 4000:1: Der Aggregateanteil sollte in den Proben mit Verhältnissen von 2000:1 höher sein als in den Proben mit 4000:1, so wie es auch an Hand der Extinktionsspektren zu erkennen ist. Dies weist abermals darauf hin, dass die Analyse der Probenzusammensetzungen mittels TEM problematisch ist (vgl. auch Abschnitte 4.2 und 4.3.1).

### Fazit

Die auf der SA-Biotin-Bindung basierende Assemblierung der GNPs ist auch mit der Verwendung PEG-stabilsierter GNPs möglich. Dabei konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass sowohl die SA-Bindung an die Biotin-PEGs als auch die Bindung des mit Biotin-Funktionen ausgestatteten WSCPs an SA spezifisch abläuft. Daher konnte mit Hilfe der Variation des Biotin-PEG zu COOH-PEG Verhältnisses die Zahl der Bindungsstellen für das WSCP auf den GNPs modifiziert werden. Je weniger Biotin-PEG und damit WSCP-Bindungsstellen vorhanden sind, desto geringer ist die Aggregation der GNPs. Dies kann-

te nur an Hand der Extinktionsspektren verfolgt werden, die TEM-Aufnahmen führten zu widersprüchlichen Ergebnissen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die TEM-Aufnahmen nicht den tatsächlichen Zustand der Proben in Lösung widerspiegeln, wie bereits für die Experimente mit citrat-stabilisierten und SA-stabilisierten GNPs angemerkt wurde (vgl. Abschnitte 4.2 und 4.3.1). Zur weiterführenden Untersuchung wurden Cryo-TEM-Experimente durchgeführt, deren Ergebnisse im folgenden Abschnitt 4.4 vorgestellt werden.

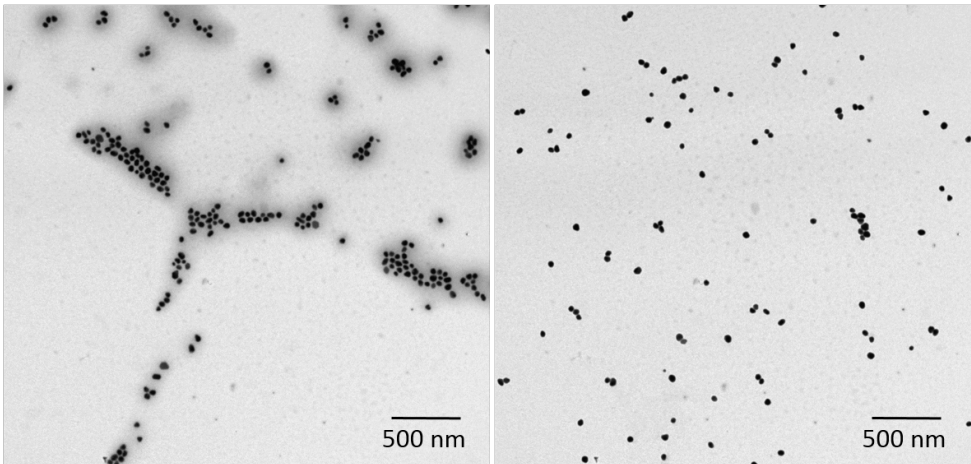
#### 4.4. Untersuchung der GNP-WSCP-Aggregate mit Cryo-TEM

Die Ermittlung der Probenzusammensetzungen mit Hilfe von TEM-Aufnahmen erwies sich über alle Varianten der WSCP-Bindung an die GNPs hinweg als schwierig. Zur Veranschaulichung dieser Problematik sind in Abbildung 4.30 exemplarische TEM-Aufnahmen gezeigt. In Abbildung 4.30a sind Aufnahmen SA-stabilerter GNPs, in Abbildung 4.30b einer PEG-GNP-Probe ohne SA und ohne WSCP dargestellt, in Abbildung 4.30c von SA-PEG-GNPs mit einem dreifachen WSCP-Überschuss. Alle gezeigten Aufnahmen der jeweiligen Proben stammen von den gleichen TEM-Netzchen. Es ist nicht ersichtlich, ob und, gegebenenfalls, welche der beiden jeweils gezeigten Probenregionen die tatsächliche Probenzusammensetzung widerspiegelt. Zur Aufklärung wurden von Proben mit SA-PEG-GNPs ohne und mit 3,5 Äquivalenten WSCP Cryo-TEM-Aufnahmen angefertigt.

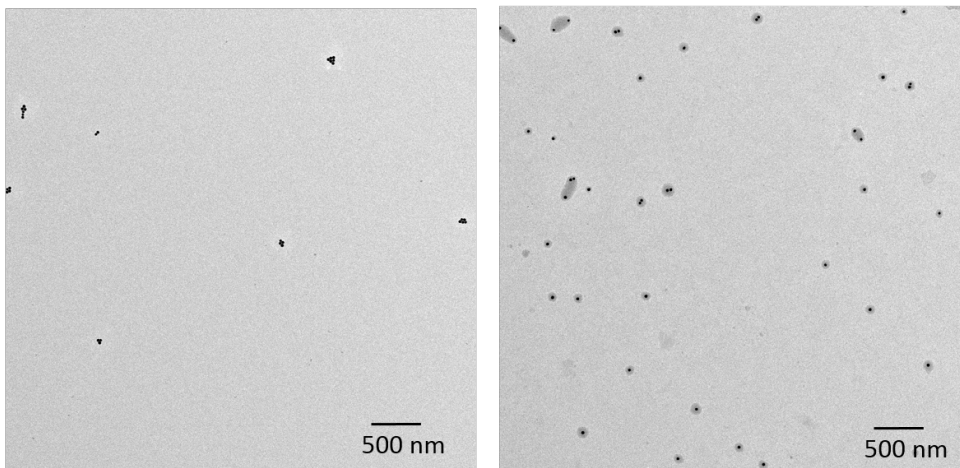
Der große Vorteil der Anfertigung von Cryo-TEM-Aufnahmen begründet sich in dem Festhalten des Probenzustands in Lösung während der Probenpräparation: Die Probe wird in flüssigem Propan schockgefrostet, sodass keine Trocknungsartefakte auf den TEM-Proben vorhanden sind. Dadurch kann zum einen die Probenzusammensetzung verlässlicher untersucht werden, zum anderen verändern sich die Proteinstrukturen durch das nicht vorhandene Eintrocknen der Probe nicht, und an Hand der mittleren Abstände zwischen zwei Partikeln kann überprüft werden, ob WSCP an den GNPs gebunden ist.

Die Extinktionsspektren der untersuchten Proben sind in Abbildung 4.31a gezeigt. Dabei verändert sich die Extinktion bei der Funktionalisierung mit 1000 COOH-PEG zu einem Biotin-PEG nur sehr geringfügig, wie in Abschnitt 4.3.2 bereits diskutiert wurde. Das Extinktionsspektrum der Probe nach Anbindung des SAs und anschließender Aufreinigung mit Zentrifugation ist leicht gegenüber dem der PEG-GNPs verbreitert, was auf eine minimale Aggregation der GNPs hindeutet. Die Zugabe des WSCPs führt zu einer deutlichen Verschiebung und Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks, was die erfolgreiche Reaktion der GNPs mit WSCP bestätigt (rote Kurve). Von beiden Proben wurden Cryo-TEM-Proben präpariert und untersucht.

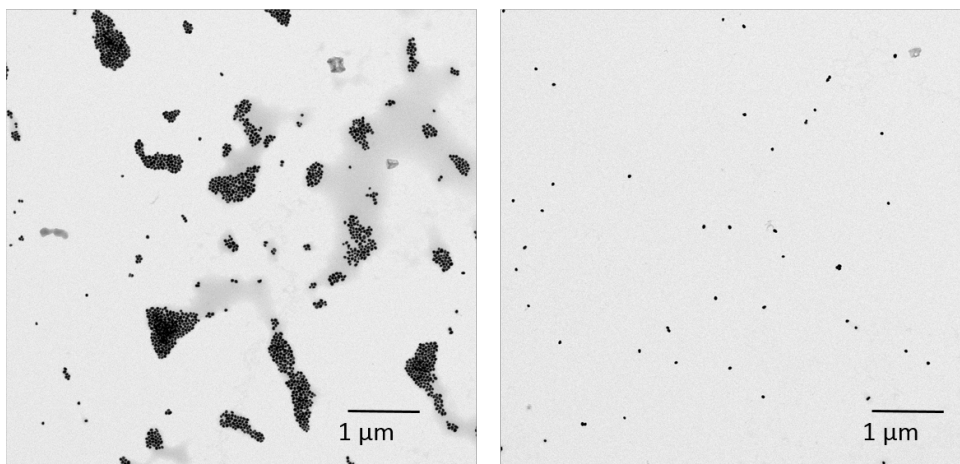
a) SA-stabilisierte GNPs



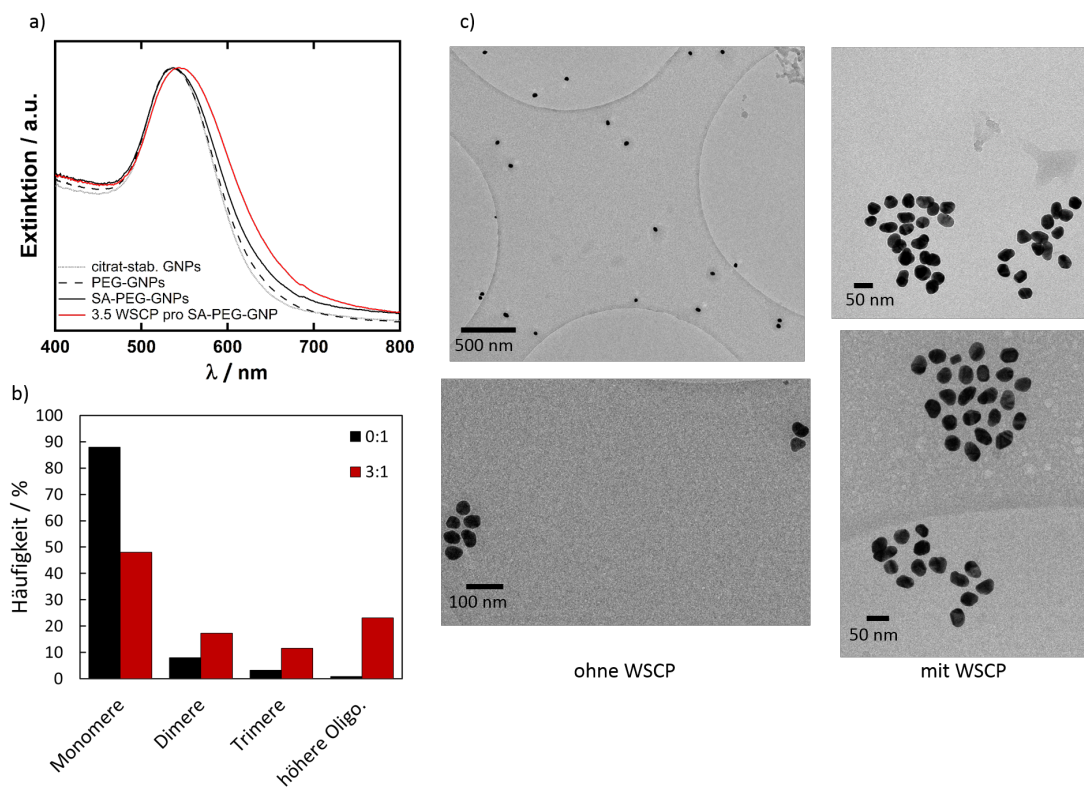
b) PEG-stabilisierte GNPs



c) SA-PEG-GNPs, 3 WSCP:1GNP



**Abbildung 4.30.:** TEM-Aufnahmen von drei Proben zur Verdeutlichung der Problematik der verlässlichen Ermittlung der Probenzusammensetzung. Beide jeweils gezeigten Aufnahmen stammen von verschiedenen Regionen der gleichen TEM-Probe: a) einmal zentrifugierte SA-stabilisierte GNPs, b) PEG-GNPs ohne SA und ohne WSCP, b) WSCP-verknüpfte SA-PEG-GNPs.



**Abbildung 4.31.:** a) Extinktionsspektren der Proben, welche mittels Cryo-TEM untersucht wurden (mit SA-funktionalisierte GNPs und mit 3,5 WSCP pro GNP assemblierte GNPs). Zusätzlich sind die Spektren der citrat-stabilisierten und PEG-stabilisierten GNPs (1000 COOH-PEG:1 Biotin-PEG) gezeigt. Die GNPs hatten einen mittleren Durchmesser von  $(41 \pm 6)$  nm. b) Histogramm der aus den Cryo-TEM-Aufnahmen ermittelten Probenzusammensetzungen. Es wurden mindestens 50 Partikel gezählt. c) Repräsentative TEM-Aufnahmen. Links: ohne WSCP, rechts: mit WSCP. Das Aggregat in der Aufnahme unten links der Probe ohne WSCP ist das einzige große Aggregat, welches in dieser Probe gefunden wurde.

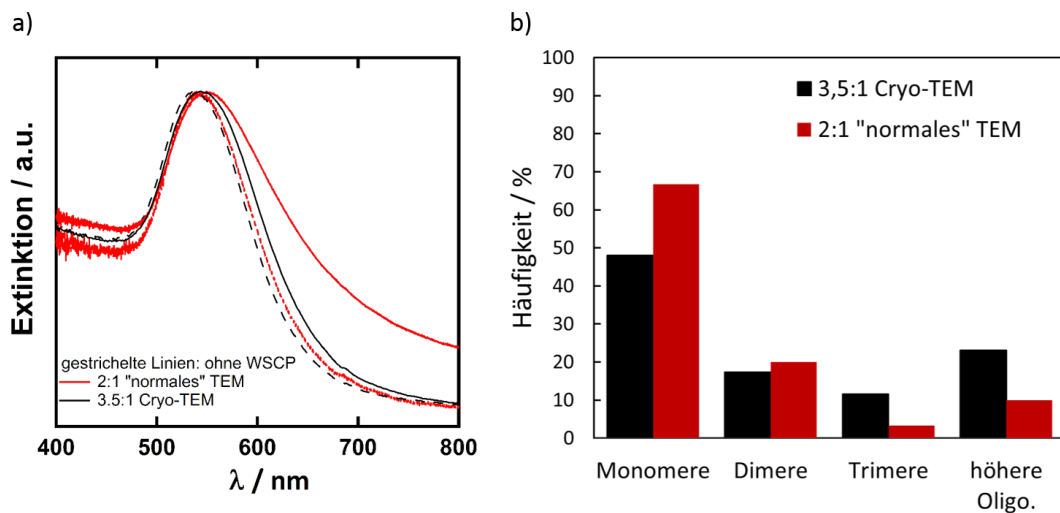
##### **Untersuchung der Probenzusammensetzung**

In Abbildung 4.31b ist das Histogramm der Probenzusammensetzung dargestellt, in Abbildung 4.31c sind repräsentative TEM-Aufnahmen der Probe mit (links) und der Probe ohne (rechts) WSCP gezeigt. Das in Abbildungsteil (c) gezeigte Aggregat der Probe ohne WSCP ist das einzige höhere Oligomer, welches auf der untersuchten Probenfläche gefunden wurde.

Die Zusammensetzungen beider Proben unterscheiden sich deutlich voneinander. Die Probe ohne WSCP besteht mit 89% fast ausschließlich aus Monomeren, es wurde unter 125 ausgezählten Partikeln lediglich ein größeres Aggregat gefunden (welches in Abbildung 4.31c gezeigt ist). Auf Grund der Reaktion der GNPs mit WSCP nimmt der Monomeranteil von 89% drastisch auf 48% ab, der Dimeranteil steigt von 8% auf 17%. Es sind deutlich mehr Aggregate vorhanden. Die mit Cryo-TEM-Aufnahmen ermittelte Veränderung der Probenzusammensetzung bestätigt die Änderung der Extinktionsspektren auf Grund der Reaktion mit WSCP.

Die in den vorherigen Abschnitten getätigte Aussage, dass sich in Proben der verschiedenen, stabilisierten GNPs ohne WSCP hauptsächlich Monomere befinden, können mit den Ergebnissen der Cryo-TEM Aufnahmen bestätigt werden. Es ist somit definitiv davon auszugehen, dass bei Vorliegen eines GNP-Extinktionsspektrums ohne/mit minimaler Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks gegenüber dem Extinktionsspektrum der ursprünglichen, citrat-stabilisierten GNPs hauptsächlich Monomere in den Proben vorliegen.

Im Rahmen der Arbeit wurde versucht, einen Bezug zwischen Verschiebung des Resonanzmaximums und Zusammensetzung der Proben mit TEM-Aufnahmen herzustellen. Dies gestaltete sich aus den einleitend genannten Gründen als schwierig. Daher sollen hier die Ergebnisse der Cryo-TEM-Aufnahmen mit Ergebnissen „normaler“ TEM-Untersuchungen verglichen werden. Das Extinktionsspektrum der in Abbildung 4.29 gezeigten Probe mit einem PEG-Verhältnis von 2000 COOH-PEGs:1 Biotin-PEG und einem WSCP-GNP-Verhältnis von 2:1 (die in dem Experiment erhaltenen TEM-Ergebnisse waren widersprüchlich zu den Extinktionsspektren) ist nochmals in Abbildung 4.32 zusammen mit der im Rahmen der Cryo-TEM-Experimente untersuchten Probe mit 3,5-fachem WSCP-Überschuss aufgetragen. Die beiden Extinktionsspektren der Proben ohne WSCP unterscheiden sich kaum, die Spektren der Proben mit WSCP zeigen eine deutlich stärkere Aggregation der Probe 2:1 aus dem früheren Experiment (rote Kurve). Die aus den jeweiligen TEM-Experimenten ermittelten Probenzusammensetzungen sind nochmals im Histogramm in Abbildung 4.32b zusammengefasst. Die ermittelten Zusammensetzungen unterscheiden sich deutlich. Anhand der Extinktionsspektren wäre für die Probe mit 2 WSCP pro GNP ein deutlich höherer Aggregate-Anteil zu erwarten als bei der Probe mit 3,5 WSCP pro GNP. Dies wird an Hand der beiden Ergebnisse der TEM-Aufnahmen nicht bestätigt, der Monomeranteil in den Proben wird überschätzt, der Aggregatanteil unterschätzt.

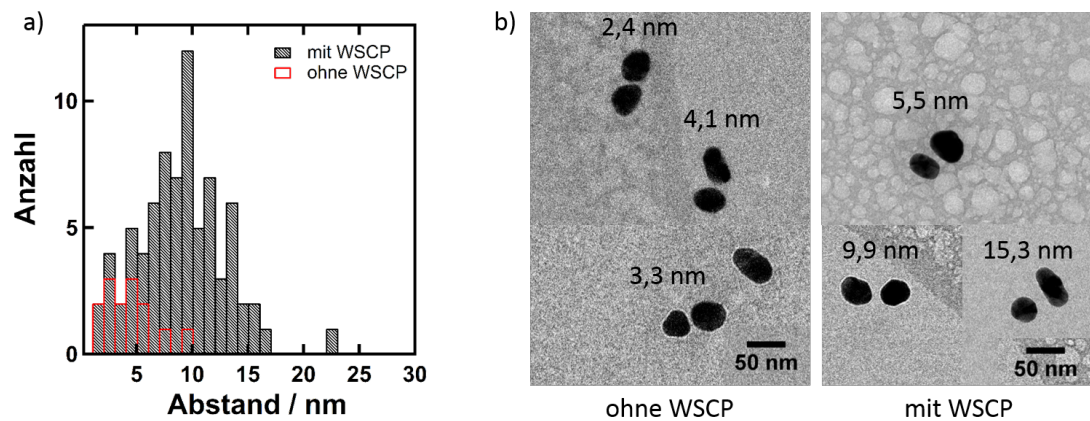


**Abbildung 4.32.:** a) Extinktionsspektren zweier WSCP-PEG-GNP-Proben. Die Aggregation der gezeigten 2:1 Probe erscheint deutlich stärker, entsprechend sollten hier mehr Aggregate vorhanden sein als in der Probe 3,5:1. b) Zusammensetzungen der Probe 3,5:1, ermittelt aus Cryo-TEM-Aufnahmen, und der Probe 2:1, ermittelt aus „normalen“ TEM-Aufnahmen. Es wurden mindestens 50 Partikel gezählt. Die ermittelte Zusammensetzung korreliert nicht mit der aus dem Extinktionsspektrum erwarteten stärkeren Aggregation der Probe 2:1.

### Untersuchung der Interpartikelabstände

Aus den Cryo-TEM-Aufnahmen der Probe mit und der Probe ohne WSCP wurden die Interpartikelabstände ermittelt. Da die Probe ohne WSCP nur wenige Aggregate enthielt, konnten für diese nur wenige Abstände ermittelt werden. Die Ergebnisse sind im Histogramm in Abbildung 4.33a zusammengefasst, TEM-Aufnahmen von Dimeren mit den jeweils bestimmten Abständen beider Proben sind in Abbildung 4.33b gezeigt. Es ist eine deutliche Zunahme des mittleren Interpartikelabstands der Probe ohne WSCP mit 3,8 nm auf 9,0 nm der Probe mit WSCP zu erkennen. Der gefundene mittlere Abstand der Probe ohne WSCP entspricht damit in etwa dem aus der mit *Chimera* erstellten Kristallstruktur des SA zu erwartendem minimalen Abstand von etwa 3 nm. Die gefundenen Aggregate in dieser Probe sind demnach häufig mit SA verknüpft.

Der mittlere Interpartikelabstand erhöht sich durch die Bindung des WSCPs an die GNPs um etwa 5 nm. Der bei Vorlage von zwei SA und einem WSCP theoretisch zu erwartende minimale Abstand zwischen zwei GNPs liegt bei 12 nm ( $2 \times 3 \text{ nm (SA)} + 6 \text{ nm (WSCP)}$ ). Die theoretische Vergrößerung des mittleren Abstands liegt dann bei 9 nm und ist damit etwas höher als die gefundene Abstandsvergrößerung. In der Probe liegen allerdings auch SA-verknüpfte GNPs vor, was zu einer Unterschätzung des mittleren Abstands der WSCP-verknüpften GNPs führt. Das vollständige zwei Partikel verknüpfende Konstrukt aus zwei Biotin-PEGs, zwei SA und einem WSCP ist außerdem in seiner



**Abbildung 4.33.:** a) Histogramm der Interpartikelabstände der Proben mit und ohne WSCP aus Abbildung 4.31. Die mittlere Interpartikelabstand der Probe ohne WSCP beträgt 3,8 nm, der der Probe mit WSCP 9,0 nm. b) TEM-Aufnahmen einiger repräsentativer Dimere mit den zugehörigen Interpartikelabständen.

Gesamtkonformation sehr flexibel und die Proteine müssen nicht zwingend in der Konformation der Kristallstrukturen vorliegen. Außerdem befinden sich die GNPs in einer etwa 100 nm dicken Eisschicht, in welcher sie in der z-Ebene diagonal positioniert sein können. Ersteres führt zu der ebenfalls im Histogramm zu sehenden auffällig breiten Verteilung der Interpartikelabstände, letzteres ebenfalls zu einer Unterschätzung der gemessenen Abstände.

### Fazit

Mit Hilfe von Cryo-TEM-Aufnahmen lassen sich die tatsächlichen Probenzusammensetzungen ermitteln, da der Zustand der Probe in Lösung durch das Einfrieren festgehalten wird. Die in den vorherigen Kapiteln getätigten Aussagen, dass in den Proben ohne WSCP, bzw. ohne signifikante Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks gegenüber denen der citrat-stabilisierten GNPs, hauptsächlich Monomere vorhanden sind, können bestätigt werden.

Die Vergrößerung des mittleren Abstands zwischen den Partikeln in der Probe mit WSCP weist eindeutig die Vernetzung der GNPs durch das WSCP nach. Bei Bindung an WSCP entstehen auch Dimere, allerdings machen Monomere und höhere Oligomere höhere Anteile in der untersuchten Probe aus. Die Cryo-TEM-Aufnahmen unterstützen die These, dass auf Grund verschiedener Artefakte auf „normalen“ TEM-Proben die gefundenen Probenzusammensetzungen nicht immer zu den Ergebnissen der Extinktionsspektren verschiedener Proben korrelieren (vgl. Abschnitt 4.3.1).

## 4.5. Anreicherung der Nanoantennen

In den vorherigen Kapiteln wurde gezeigt, dass die WSCP-vermittelte Assemblierung von GNPs auf drei verschiedenen Wegen verwirklicht werden kann: Zum einen können citrat-stabilisierte GNPs über die Bindung an die metallaffinen His<sub>6</sub>-Tags des WSCPs assembliert werden. Zum anderen können die GNPs mit Hilfe der SA-Biotin-Bindung verknüpft werden. Dafür können sowohl SA-stabilisierte GNPs als auch PEG-stabilisierte GNPs eingesetzt werden. Die auf TEM-Proben gefundenen Dimeranteile lagen jedoch bei maximal 30% (SA-stabilisierte GNPs, siehe Abschnitt 4.3.1).

In einem zweiten Schritt sollen deshalb die Dimere in den Lösungen angereichert werden, um für die anschließenden einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen eine möglichst hohe Dimerbelegung der Proben zu gewährleisten. Es wurde bereits gezeigt, dass stabilisierte GNPs mittels Größenausschlusschromatographie [190, 213], Gelelektrophorese [39, 80] und verschiedenen zentrifugationsbasierten Methoden [190, 213–217] nach Aggregatgröße getrennt werden können. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden vor allem die Zentrifugation und Gelelektrophorese eingesetzt. Dabei wurde die Trennung mit Hilfe von Zentrifugation hauptsächlich an citrat-stabilisierten und SA-stabilisierten WSCP-GNP-Aggregaten untersucht. Für die citrat-stabilisierten WSCP verbrückten Aggregate konnte keine Gelelektrophorese durchgeführt werden, da hierfür zur Gewährleistung der Leitfähigkeit Pufferlösungen eingesetzt werden müssen, in denen die GNPs sofort aggregierten. Gelelektrophorese wurde also nur an SA-stabilisierten und PEG-stabilisierten WSCP-GNP-Aggregaten durchgeführt. Eine Trennung mittels Größenausschlusschromatographie wurde ebenfalls getestet, erzielte aber keine Verbesserungen gegenüber den anderen beiden Methoden und soll daher nicht Gegenstand der folgenden Diskussion sein.

### 4.5.1. Viskositätsgradientenzentrifugation

Die Auftrennung der Aggregate mittels Zentrifugation beruht auf den unterschiedlichen Sedimentationsgeschwindigkeiten unterschiedlich großer oder unterschiedlich dichter Partikel. Die stationäre Sedimentationsrate  $v$  eines Partikels mit dem Durchmesser  $d$  wird mit der Stokes-Gleichung beschrieben:

$$v = \frac{d^2(\rho_p - \rho_l) \cdot g}{18\eta}. \quad (4.1)$$

Dabei sind  $\rho_l$  und  $\rho_p$  die Dichte des umgebenden Mediums und des Partikels.  $g$  ist die Erdbeschleunigung und  $\eta$  die Viskosität des umgebenden Mediums. Partikel mit einem größeren Durchmesser und/oder einer höheren Dichte sedimentieren also schneller als kleinere Partikel bzw. Partikel mit einer geringeren Dichte.

Prinzipiell wird in drei Varianten unterschieden: Bei der differentiellen Zentrifugation wird schrittweise die Zentrifugalkraft erhöht, je nach Dichte und Größe der Partikel sedi-

**Tabelle 4.2.:** Berechnete zurückgelegte Strecken während einer 30-minütigen Zentrifugation bei 1000 g von GNP-Monomeren mit einem mittleren Durchmesser von 45 nm und von den mit der typischen Größenverteilung der GNPs möglichen Dimeren

Typ	d bzw. $d_{eq}^{13}$ / nm	Strecke / cm
Monomer	38	0,3
Monomer	45	0,5
Monomer	52	0,6
Dimer aus zwei 38 nm Monomeren	49	0,6
Dimer aus zwei 45 nm Monomeren	57	0,8
Dimer aus zwei 52 nm Monomeren	66	1,0
Dimer aus einem 38 nm und einem 52 nm Monomer	48	0,5

mentieren die Partikel bei unterschiedlichen Zentrifugalkräften. Diese Variante wurde für GNPs schon mehrfach publiziert, um gezielt Dimere und Trimere anzureichern [190, 213] und unterschiedliche Partikelgrößen voneinander zu trennen [214]. Eine andere Möglichkeit besteht im Aufbau eines Viskositäts- und/oder Dichtegradienten im Zentrifugengefäß. Die Probe wird auf der Schicht mit der geringsten Dichte/Viskosität platziert. Ähnlich große Partikel sammeln sich in Bändern, dabei sedimentieren große Partikel schneller als kleine. Eine isopyknische Zentrifugation, bei der das Medium die gleiche Dichte aufweist, wie die anzureichernden Partikel, ist für GNPs auf Grund ihrer hohen Dichte nicht möglich. In den meisten Veröffentlichungen wird eine Dichte- bzw. Viskositätsgradientenzentrifugation zur Trennung unterschiedlicher GNP-Partikelgrößen bzw. -formen und unterschiedlich großer GNP-Aggregate verwendet [214–219]. In der vorliegenden Arbeit wurden zur Trennung Saccharoselösungen eingesetzt, da diese für alle Varianten der GNPs verwendet werden können. Für die Trennung der SA-stabilisierten bzw. der PEG-SA-stabilisierten GNPs musste hierbei darauf geachtet werden, dass die Lösungen stets einen pH-Wert größer als 7,0 besaßen, da die GNPs sonst auf Grund fehlender elektrostatischer Abstoßung aggregierten (vgl. Abschnitt 4.3.1).

Da GNPs mit  $19\,300\text{ kg m}^{-3}$  eine hohe Dichte besitzen, besteht die größte Schwierigkeit darin, das fluide Medium für die Zentrifugation so zu wählen, dass die verschieden großen Partikel eine ausreichend hohe Sedimentationsgeschwindigkeitsdifferenz besitzen. Zusätzlich stellt die typische Größenverteilung der GNPs ein Problem dar. Zur Veranschaulichung dieser Problematik sind in Tabelle 4.2 exemplarisch für eine typische Größenverteilung der GNPs einer Probe mit einem mittlerem GNP-Durchmesser von  $45\text{ nm} \pm 7\text{ nm}$  die zurückgelegten Strecken bei einer Zentrifugation in 50 wt%-iger Saccharoselösung bei 1000 g nach 30 min zusammengefasst. Die Strecken für die verschiedenen Dimere, welche in einer solchen Probe vorliegen können, wurden mit deren äquivalenten Durchmessern<sup>13</sup>

<sup>13</sup>Der äquivalente Durchmesser ist der Durchmesser eines Monomers mit dem gleichen Volumen wie das Dimer.

bestimmt. Die exemplarisch gewählten Parameter würden für diese GNPs nicht zu einer gezielten Anreicherung von Dimeren führen. Beispielsweise legen sowohl Monomere mit einem Durchmesser von 45 nm und 52 nm und Dimere, welche aus zwei kleinen Monomeren mit einem Durchmesser von 38 nm Monomeren sowie Dimere, welche aus einem großen und einem kleinen Monomer bestehen, in dieser Zeit die gleiche Strecke zurück. Eine gezielte Anreicherung von Dimeren in einem Medium homogener Dichte bzw. Viskosität ist de facto unmöglich, da sich Monomere und Dimere relativ homogen im Medium verteilen würden, und entsprechend auch „gleichzeitig“ (bei gleicher Zentrifugalkraft) den Boden des Zentrifugengefäßes erreichen würden.

Zur Erhöhung der Trennleistung ist es sinnvoll, einen Gradienten einzustellen [214, 219]. Die Geschwindigkeitsunterschiede für einen Partikel in unterschiedlich dichten bzw. viskosen Medien können aus Gleichung 4.1 mit

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{\rho_P - \rho_{I1}}{\rho_P - \rho_{I2}}$$

und

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{\eta_2}{\eta_1}$$

abgeschätzt werden. Mit Werten von typischerweise eingesetzten Saccharosekonzentrationen von 30 wt% und 60 wt% [220] ergeben sich folgende Geschwindigkeitsunterschiede:

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{19\,300 \text{ kg m}^{-3} - 1130 \text{ kg m}^{-3}}{19\,300 \text{ kg m}^{-3} - 1290 \text{ kg m}^{-3}} = 1,009$$

und

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{59 \cdot 10^{-3} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}}{3,2 \cdot 10^{-3} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}} = 1,8.$$

Die Dichte des flüssigen Mediums hat also kaum einen Einfluss auf die Sedimentationsgeschwindigkeit eines Goldpartikels. Der in einigen Veröffentlichungen verwendete Begriff des „Dichtegradienten“ im Zuge der Separation von GNPs unterschiedlicher Größe, Form oder Aggregatgröße [218, 221], ist daher eher irreführend, da die Trennleistung nur auf die unterschiedlichen Viskositäten des flüssigen Mediums zurückzuführen sein kann.

Nach [219] führen abrupte Änderungen der Viskosität zu einer besseren Trennleistung, da beispielsweise die Monomere an der Schicht der höheren Viskosität gegenüber den Dimeren und anderen größeren Aggregaten abgebremst werden können.

Die Durchführung der im Folgenden diskutierten Experimente ist in Abschnitt 3.1 beschrieben.

## Ergebnisse

Es wurde eine Probe SA-stabilerter GNPs mit einem mittleren Durchmesser von (52 ± 7) nm präpariert. Die GNPs wurden mit fünf Äquivalenten WSCP zur Aggregation

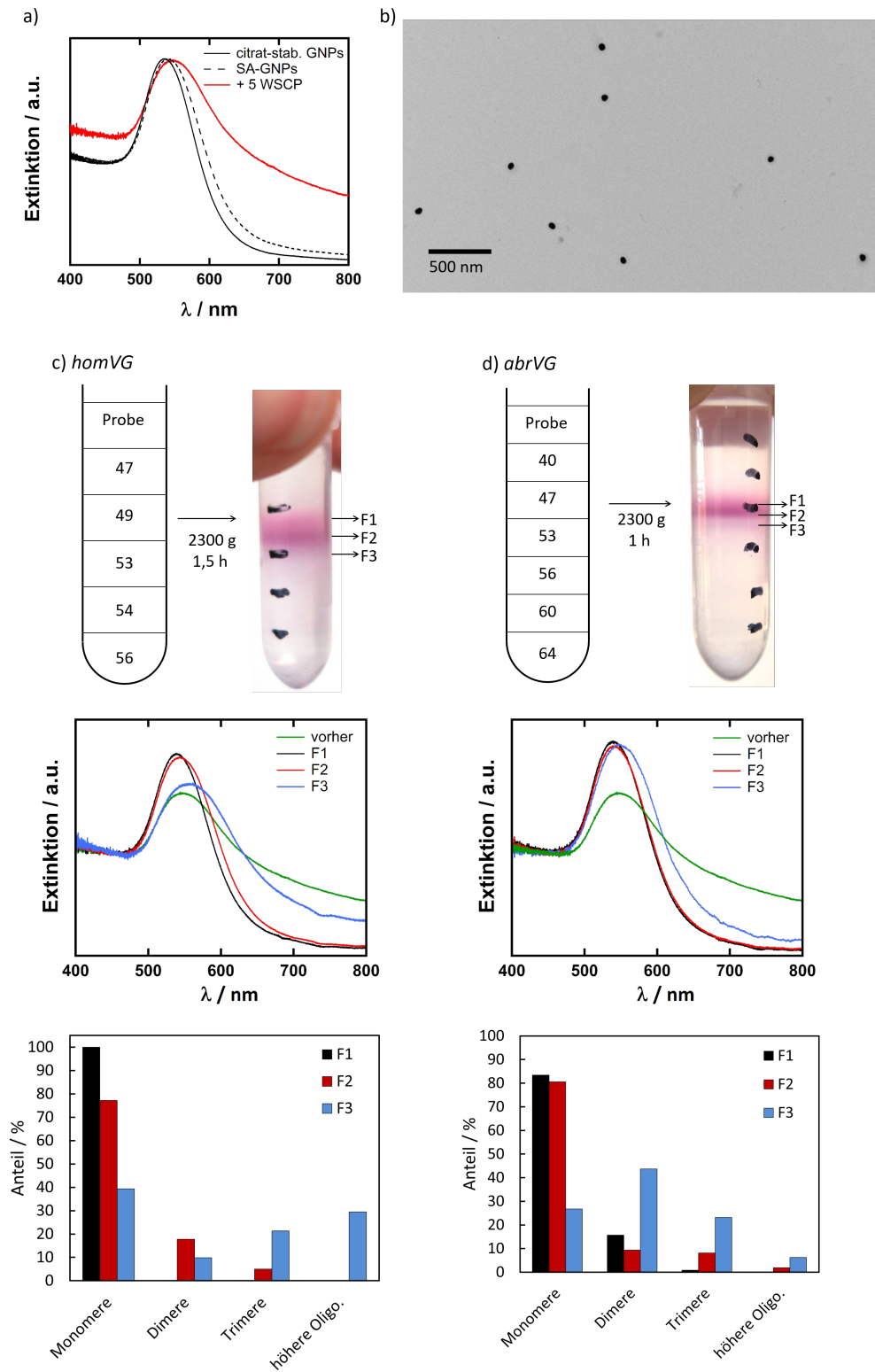
gebracht. Die Spektren der citrat-stabilisierten, SA-stabilisierten und der WSCP-GNP-Aggregate sind in Abbildung 4.34a gezeigt. Eine TEM-Aufnahme der Partikel findet sich in Abbildung 4.34b sowie Abbildung A.11.

In Abbildung 4.34c und d sind die Ergebnisse nach der Zentrifugation der SA-stabilisierten WSCP-verbrückten GNP-Aggregate zusammengefasst. Die beiden gezeigten Beispiele unterscheiden sich in der Art der eingesetzten Gradienten: In Beispiel in 4.34c wurde der Viskositätgradienten möglichst kontinuierlich eingestellt (*homVG*), während in Beispiel in 4.34d die Viskosität abrupt geändert wurde (*abrVG*). In den beiden gezeigten Fotos sind die deutlich unterschiedlichen Trennleistungen zu erkennen. Für das in Abbildung 4.34d gezeigte Beispiel der abrupten Änderung der Viskosität ist eine klar abgetrennte zweite Bande unterhalb der oberen Bande zu erkennen, während im Beispiel *homVG* (Abbildung 4.34c) nur eine breite Bande erkennbar ist, dessen Farbe sich von oben nach unten von rot nach blau ändert.

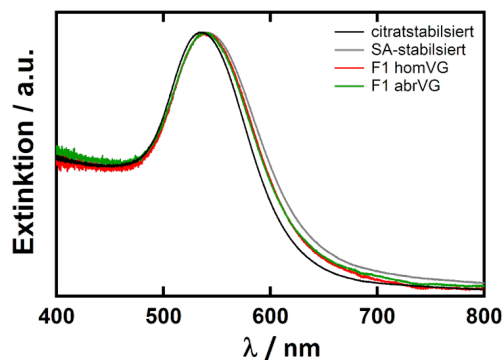
Nach Entnahme der einzelnen in den Fotos mit Pfeilen markierten Bereichen wurden von diesen die gezeigten Extinktionsspektren aufgenommen und TEM-Aufnahmen angefertigt. Die Ergebnisse nach Auszählung von jeweils mindestens 54 Aggregaten pro Fraktion sind in den beiden Histogrammen zusammengefasst. In beiden Beispielen konnten in den Fraktionen F1 die Monomere sehr gut angereichert werden (100% und 80%), was auch die Extinktionsspektren beider Fraktionen beweisen. In Abbildung 4.35 sind für einen einfacheren Vergleich die Extinktionsspektren beider Fraktionen F1 zusammen mit den Spektren der citrat-stabilisierten GNPs und der SA-stabilisierten GNPs gezeigt. Beide Spektren sind im Vergleich zu dem der citrat-stabilisierten GNPs zu höheren Wellenlängen verschoben, sodass davon auszugehen ist, dass die SA-Passivierung noch intakt ist. Sie zeigen aber keinerlei Anzeichen für eine Aggregation. Es ist nicht davon auszugehen, dass die SA-Passivierung durch die Zentrifugation beschädigt wird.

Bei genauerer Betrachtung der aus den TEM-Aufnahmen ermittelten Zusammensetzungen der Fraktionen F3 in Abbildung 4.34 fällt auf, dass nur bei Verwendung von einem Viskositätsgradienten mit abrupter Änderung (Beispiel *d*) der Viskosität eine Anreicherung von Dimeren stattfindet, die von *homVG* entnommene Fraktion F3 besteht hingegen aus allen möglichen Aggregatgrößen. Exemplarische TEM-Aufnahmen der Dimerfraktion von *abrVG* mit einem Dimeranteil von 44% sind in Abbildung 4.36 gezeigt.

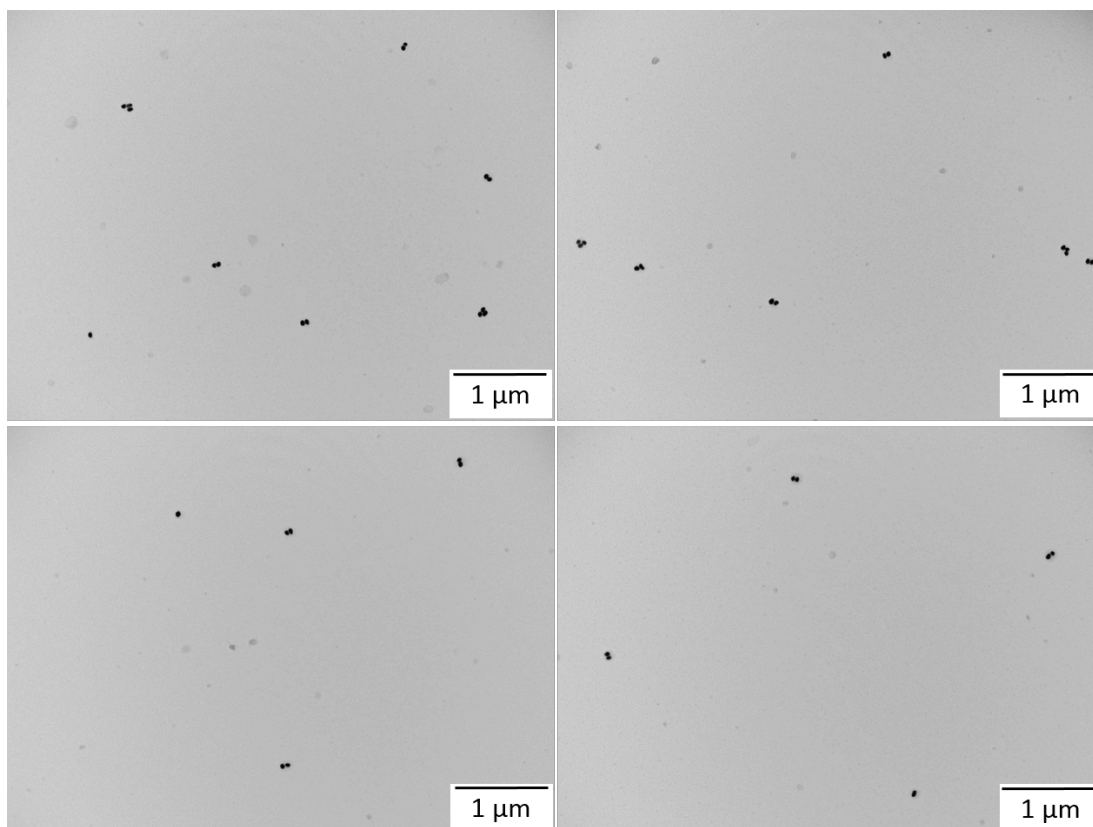
Diese unterschiedliche Anreicherung der Dimere ist auf die Sedimentationsgeschwindigkeitsunterschiede der GNPs in den beiden Gradienten zurückzuführen, welche in Abbildung 4.37 mit Hilfe der Auftragung der Sedimentationsgeschwindigkeiten für die Monomere bei der gewählten Zentrifugalbeschleunigung von 2300 g für die jeweiligen Saccharoseschichten verdeutlicht werden sollen. Die Geschwindigkeiten ändern sich für Beispiel *d* deutlich stärker von der obersten (1) zur untersten Schicht (5). Die abrupte Änderung der Sedimentationsgeschwindigkeit bremst offenbar die Monomere an einer Schichtgrenze zu einer Schicht mit deutlich höherer Viskosität ab, während die Dimere etwas schneller über die Schichtgrenze hinweg in die Schicht höherer Viskosität diffundieren können. Gleichzeitig



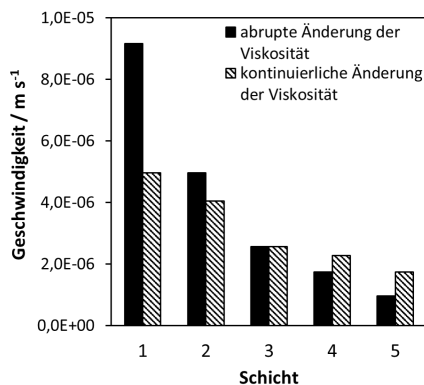
**Abbildung 4.34.:** a) Extinktionsspektren der citrat-stabilisierten und der korrespondierenden SA- und WSCP-GNPs. b) Exemplarische TEM-Aufnahme der GNPs. c) und d) Zusammenfassung der Ergebnisse zur Anreicherung von Dimeren (SA-GNPs) mittels Viskositätsgradientenzentrifugation. In den Skizzen links neben den Fotos nach der Zentrifugation sind die wt% der Schichten eingetragen. Für die gezeigten Histogramme wurden pro Probe mindestens 54 Partikel gezählt.



**Abbildung 4.35.:** Extinktionsspektren der beiden Fraktionen F1 der Experimente aus Abbildung 4.34, der SA-stabilisierten GNPs sowie der citrat-stabilisierten GNPs. Die Spektren der Fraktionen F1 sind fast deckungsgleich mit dem Spektrum der SA-stabilisierten GNPs und im Vergleich zum Spektrum der citrat-stabilisierten GNPs deutlich zu größeren Wellenlängen verschoben. Daher ist davon auszugehen, dass die SA-Stabilisierung der GNPs durch die Zentrifugation nicht zerstört wird.



**Abbildung 4.36.:** Exemplarische TEM-Aufnahmen der Fraktion F3 aus Abbildung 4.34d (*abrVG*)



**Abbildung 4.37.:** Geschwindigkeit eines 50 nm großen GNPs bei der in den in Abbildung 4.34 gezeigten Experimenten verwendeten Zentrifugalbeschleunigung für die jeweiligen Saccharoseschichten (1 = oben, 5 = unten)

muss allerdings sichergestellt sein, dass sich die größeren Aggregate zu Beginn der Zentrifugation deutlich schneller durch die oberen Schichten bewegen können, um diese von den Monomeren und Dimeren abtrennen zu können. Daraus resultiert eine mit dem Auge erkennbare Trennung beider Banden.

Abschließend soll festgehalten werden, dass in allen durchgeführten Experimenten eine Verringerung des Monomeranteils von den oberen zu den unteren Fraktionen vorhanden war. Der maximale erzielte Dimeranteil lag bei 44%, im Vergleich zu dem vor der Trennung erzielten maximalen Anteil von 30%. Die Anreicherung gelingt nur unter Einhaltung folgender Parameter:

- möglichst geringe Größenverteilung der GNPs, durch Wahl geeigneterer Syntheserouten zur Darstellung großer, sphärischer GNPs ,
- experimentell sorgfältige Präparation des Gradienten im Zentrifugengefäß, um die abrupte Änderung der Viskosität zu gewährleisten,
- Verdoppelung der Viskosität von einer Schicht zur nächsten und
- Viskosität der Startschicht sollte ausreichend hoch sein (mindestens 40 wt% Saccharose,  $\eta = 6,2 \cdot 10^{-3} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).

Prinzipiell kann die Methode auch genutzt werden, um PEG-stabilisierte WSCP-GNP-Dimere anzureichern, allerdings lag das Augenmerk im Rahmen dieser Arbeit auf der Anreicherung PEG-stabilsierter GNPs mittels Gelelektrophorese (siehe Abschnitt 4.5.3), sodass die Ergebnisse hier nicht gesondert diskutiert werden. Ein exemplarisches Experiment mit PEG-stabilisierten GNPs ist im Anhang zusammengefasst.

### **Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie an mit Hilfe von VGZ aufgetrennten Proben**

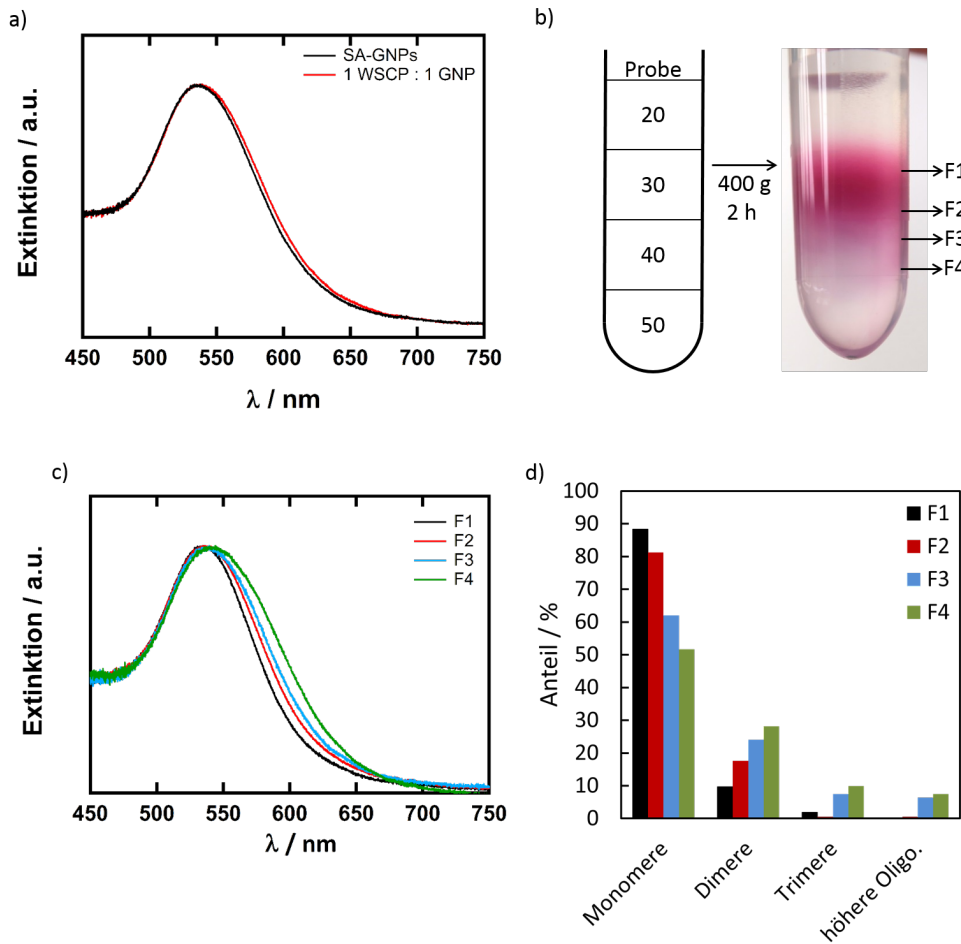
An einer weiteren Probe mit WSCP-assemblierten SA-stabilisierten GNPs wurden nach der Auftrennung mit Hilfe von VGZ zusätzlich Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie durchgeführt, um zu überprüfen, ob das WSCP auch nach den Zentrifugationsvorgängen an den GNPs gebunden ist. Die GNPs hatten einen mittleren Durchmesser von  $(46 \pm 5)$  nm (TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1m) und wurden mit einem Äquivalent WSCP zur Reaktion gebracht. Die Extinktionsspektren sind in Abbildung 4.38a gezeigt.

Ein Foto des Zentrifugegefäßes zusammen mit den markierten Positionen, an welchen die vier Fraktionen entnommen wurden ist in Abbildung 4.38b dargestellt, die Extinktionsspektren sind in Abbildung 4.38c gezeigt, die an Hand von TEM-Aufnahmen ermittelte Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen ist in Abbildungsteil (d) zu sehen. Für die Extinktionsspektren und die TEM-Proben wurde die Saccharose aus den Lösungen mittels Zentrifugation entfernt und die GNPs in Puffer pH 7,8 gelöst. Insgesamt nimmt der Monomeranteil von F1 nach F4 von 88% auf 52% ab, der Gesamtaggregateanteil steigt von 12% auf 46%. Für die FCS-Messungen wurden die Fraktionen F1 bis F3 verwendet. An Hand der Spektren kann auf Grund der geringen Dimeranteile in den Fraktionen nicht eindeutig nachgewiesen werden, dass die GNPs auch nach der Zentrifugation noch mit WSCP verknüpft sind, bzw. WSCP an den GNPs vorliegt. Die zum Nachweis des WSCPs durchgeführten FCS-Messungen wurden von Marcus Held im Rahmen seiner Masterarbeit durchgeführt [187].

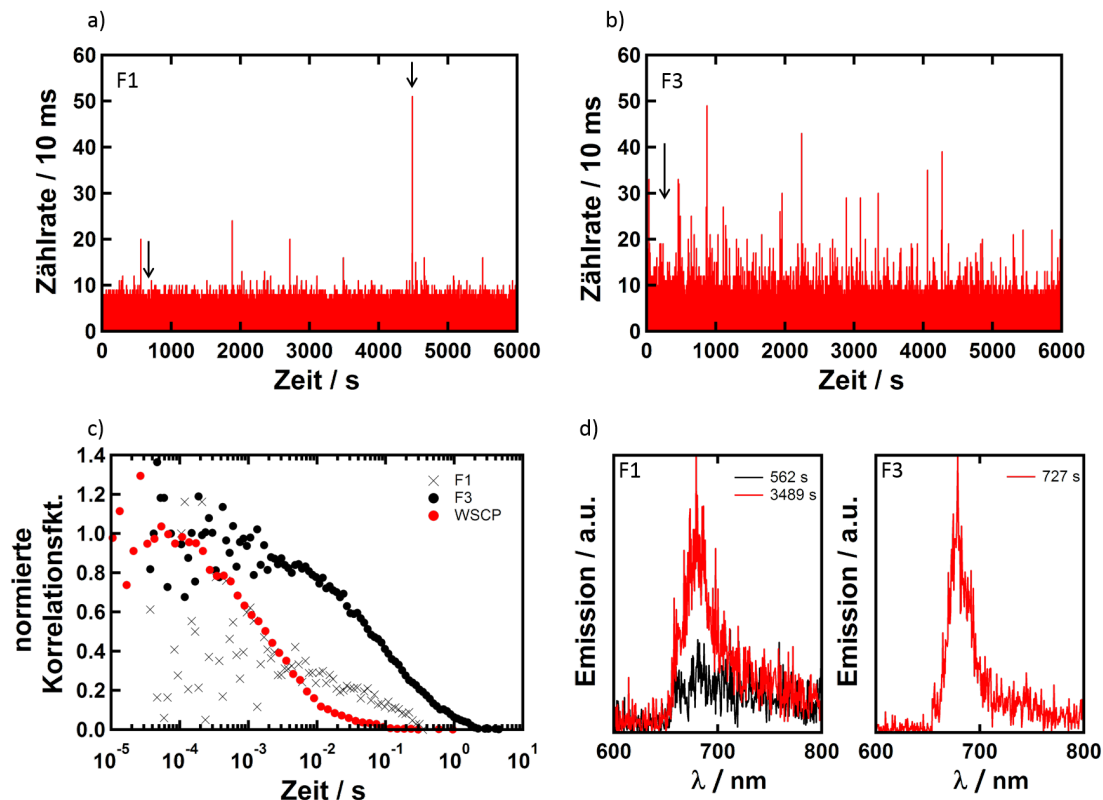
Die Ergebnisse der FCS-Messungen der Fraktionen F1 und F3 sind in Abbildung 4.39 zusammengefasst. Die Zeitspuren beider Fraktionen F1 (Abbildung 4.39a) und F3 (Abbildung 4.39b) unterscheiden sich entsprechend den ermittelten Probenzusammensetzungen deutlich voneinander: Die Anzahl intensiver Peaks ist bei F1 deutlich geringer als bei F3. Auf die Darstellung der Ergebnisse der Fraktion F2 wurde hier verzichtet, diese verhielt sich den Extinktionsspektren und Probenzusammensetzungen entsprechend: Die Fluoreszenzintensität der Zeitspur war höher als bei F1, aber geringer als bei F3.

Die Fluoreszenzkorrelationsfunktionen beider Fraktionen und des reinen WSCPs sind in Abbildung 4.39c dargestellt. F1 zeigt eine sehr geringe Signalintensität und -häufigkeit, sodass die Korrelationsfunktion innerhalb des Messzeitraumes nicht vollständig ausgebildet wurde, tendenziell ist sie gegenüber dem reinen WSCP zu längeren Diffusionszeiten verschoben. Die Korrelationsfunktion von F3 ist gegenüber der des reinen WSCPs und leicht gegenüber der von F1 zu längeren Diffusionszeiten verschoben.

Zusätzlich sind in Abbildung 4.39d Fluoreszenzemissionsspektren zu den mit Pfeilen in den Zeitspuren in Abbildung 4.39a markierten Zeitpunkten gezeigt. Für die Fraktion F1 ist zu den Zeitpunkten, an denen kein intensiver Peak in den Zeitspuren vorhanden ist, keine eindeutig zuzuordnende WSCP-Fluoreszenz vorhanden. Ist in der Zeitspur ein intensiver Peak vorhanden, ist auch das WSCP-Spektrum sehr intensiv. Im Falle von F3 ist über den gesamten Messzeitraum intensive WSCP-Fluoreszenz beobachtbar.



**Abbildung 4.38.:** Ergebnisse der Viskositätsgradientenzentrifugation der für die FCS-Messung verwendeten Probe: a) Extinktionsspektren der SA-GNPs und der mit WSCP assemblierten SA-GNPs. b) Skizze des Zentrifugegefäßes (die wt% der Saccharoselösungen sind angegeben) und Foto des Gefäßes nach der Zentrifugation. c) Extinktionsspektren der vier Fraktionen nach Entfernung der Saccharose aus den Lösungen durch Zentrifugation. d) Aus TEM-Proben ermittelte Zusammensetzung der drei Fraktionen nach Entfernung der Saccharose aus den Lösungen. Für jeden Probe wurden mindestens 170 Partikel gezählt.



**Abbildung 4.39.:** Ergebnisse der Untersuchungen der Proben aus Abbildung 4.38. a) Zeitspur der Fraktion F1 b) Zeitspur der Fraktion F3 c) Korrelationsfunktionen der Fraktionen F1 und F3, sowie einer reinen WSCP-Lösung d) Exemplarische Spektren für die in a) und b) mit Pfeilen markierten Zeitpunkte zur Überprüfung, dass es sich bei den ausgewerteten Signalen um WSCP-Fluoreszenz handelt. Die Integrationszeit betrug 1 s.

Aus diesen Versuchen lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen: In der Fraktion F1 mit sehr wenigen Aggregaten sind nur wenige intensive Peaks in der Zeitspur vorhanden. Entweder ist die WSCP-Konzentration in der Probe sehr gering (es existieren keine WSCP-GNP-Monomere), oder das an Monomere gebundene WSCP fluoresziert nur schwach. Im Falle der Fraktion F3, in welcher deutlich mehr Aggregate vorhanden sind, sind Signalfrequenz und mittlere Signalintensität höher. Die Diffusionszeit des WSCPs in der Fraktion F3 ist gegenüber der einer reinen WSCP-Lösung deutlich höher. Das WSCP muss also auch nach der VGZ an den GNPs gebunden sein, eine Ablösung des WSCPs von den GNPs durch die Zentrifugation in einem Saccharosegradienten findet nicht statt.

#### 4.5.2. Abstandsabhängigkeit der Plasmonenresonanz

Im Rahmen der durchgeführten Experimente zur Dimeranreicherung mittels VGZ gelang auch eine Anreicherung von citrat-stabilisierten WSCP-verknüpften GNP-Dimeren. Die Ergebnisse des Experiments sind im Anhang in Abbildung A.8 zusammengefasst. Die longitudinale Plasmonenresonanzfrequenz von GNP-Dimeren ist, wie in Abschnitt 2.1.2 erläut-

tert, abstandsabhängig. Interessant ist nun ein Vergleich der Plasmonenresonanzfrequenz einer Dimerfraktion mit SA-stabilisierten GNPs, welche theoretisch einen deutlich größeren Interpartikelabstand besitzen, mit denen der citrat-stabilisierten GNPs, sowie ein Vergleich beider Plasmonenresonanzen mit simulierten Daten. Eine Abschätzung, inwiefern in einer Fraktion viele intakte Dimere enthalten sind, wäre experimentell vor dem Hintergrund der aufwendigen TEM-Messungen und -Analysen hilfreich.

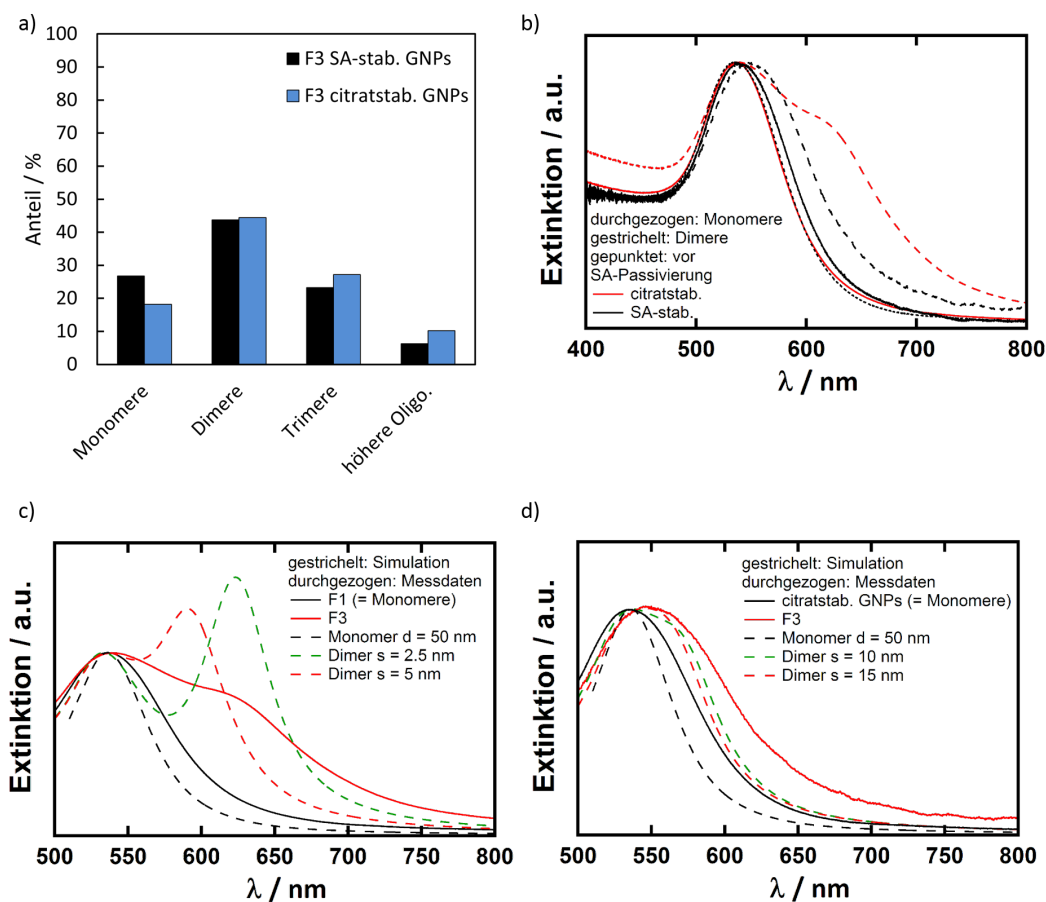
Der mittlere Durchmesser der für die direkte Assemblierung eingesetzten GNPs betrug  $(45 \pm 11)$  nm, der der SA-stabilisierten GNPs  $(52 \pm 7)$  nm. Das Experiment, welches zu der untersuchten Dimerfraktion der SA-stabilisierten GNPs führte, wurde in Abschnitt 4.5.1 diskutiert (Extinktionsspektren sind in Abbildung 4.34 gezeigt). Die Extinktionsspektren der citrat-stabilisierten GNPs sowie der einzelnen Fraktionen sind in den Abbildungen A.8a und b dargestellt.

In Abbildung 4.40a sind die aus TEM-Aufnahmen bestimmten Zusammensetzungen der Dimerfraktionen der citrat- und SA-stabilisierten GNPs gezeigt. Unter der Annahme, dass die TEM-Aufnahmen in etwa die Zusammensetzungen der Proben widerspiegeln<sup>14</sup>, sollten beide Fraktionen eine sehr ähnliche Zusammensetzung aufweisen. In Abbildung 4.40b sind die Extinktionsspektren beider Dimerfraktionen dargestellt. Zusätzlich sind auch die Extinktionsspektren der Monomerfraktionen F1 beider Experimente gezeigt, die citrat-stabilisierten GNPs des SA-Experiments sind ebenfalls dargestellt, da die Beschichtung der GNPs mit SA eine Verschiebung der Plasmonenresonanz zu höheren Wellenlängen zur Folge hat (vgl. Abschnitt 4.3.1). Die an Hand von TEM-Aufnahmen ermittelten leichten Größenunterschiede der GNPs beider Experimente haben keinen Einfluss auf die Lage und Breite der Plasmonenresonanzpeaks (rote durchgezogene Linie und schwarze gestrichelte Linie).

Die Extinktionsspektren der beiden Dimerfraktionen in Abbildung 4.40b unterscheiden sich zum einen jeweils deutlich von den Spektren der Monomerfraktionen, zum anderen unterscheiden sich beide Spektren der Dimerfraktionen voneinander: Das Spektrum der citrat-stabilisierten GNPs weist ein zweites Extinktionsmaximum auf, das Maximum bei kürzeren Wellenlängen liegt bei der gleichen Frequenz wie das Maximum der Monomerfraktion. Dagegen ist das Extinktionsspektrum der Dimerfraktion der SA-stabilisierten GNPs gegenüber dem Monomerspektrum lediglich deutlich verbreitert und um etwa 10 nm zu höheren Wellenlängen verschoben. Da beide Proben eine sehr ähnliche Zusammensetzung und fast identische Monomerspektren besitzen, können die Unterschiede der Dimerspektren nur auf die unterschiedlichen Interpartikelabstände zurückzuführen sein.

---

<sup>14</sup>In den Abschnitten 4.3.1, 4.3.2 und 4.4 wurde erläutert, dass die aus den TEM-Aufnahmen ermittelte Zusammensetzung häufig nicht mit den aus den Extinktionsspektren erwartbaren Zusammensetzungen korreliert. Bei beiden vorgestellten Proben waren aber hauptsächlich Dimere vorhanden, sodass davon ausgegangen wird, dass diese sich nicht auf Grund der Probenpräparation gebildet haben.



**Abbildung 4.40.:** a) Histogramm mit den aus TEM-Aufnahmen bestimmten Probenzusammensetzungen der beiden diskutierten Dimerfraktionen. b) Extinktionsspektren der beiden Monomer- und Dimerfraktionen. Für das Experiment mit SA-stabilisierten GNPs ist zusätzlich das Spektrum der citrat-stabilisierten GNPs aufgetragen. c) Vergleich der simulierten Monomer- und Dimer-spektren mit den gemessenen Extinktionsspektren der citrat-stabilisierten GNPs. d) Vergleich der simulierten Monomer- und Dimerspektren mit den gemessenen Extinktionsspektren der SA-stabilisierten GNPs. Das gemessene Monomerspektrum ist in diesem Fall das der ursprünglichen citrat-stabilisierten GNPs.

**Tabelle 4.3.:** Übersicht über die Interpartikelabstände der citrat-stabilisierten und SA-stabilisierten GNP-Dimere und die für die Simulationen verwendeten Abstände

	citrat-stabilisierte Dimere	SA-stabilisierte Dimere
theoretischer Abstand Kristallstruktur / nm	6-8	12-15
korrespondierender Abstand Simulation / nm	5	15
Abstand TEM-Aufnahmen / nm	$\leq 2$	9
korrespondierender Abstand Simulation / nm	2,5	10

### Vergleich der gemessenen Extinktionsspektren mit simulierten Spektren

Die Monomer- bzw. für die SA-stabilisierten GNPs deren citrat-stabilisierte Ausgangspartikel und die Dimerspektren beider Varianten wurden mit simulierten Daten verglichen. Die Simulationen wurden von Marcus Held im Rahmen seiner Masterarbeit in Zusammenarbeit mit Thorsten Schumacher (Arbeitsgruppe Prof. Markus Lippitz, Universität Bayreuth) durchgeführt und freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die Simulationen wurden für die aus den Kristallstrukturen abgeschätzten Interpartikelabstände  $s$  und unter Berücksichtigung der an Hand der TEM-Aufnahmen für beide Assemblierungsvarianten erhaltenen Abstände durchgeführt. Es standen simulierte Spektren für Interpartikelabstände von 2,5 nm, 5 nm, 7,5 nm, 10 nm und 15 nm zur Verfügung. Insgesamt sind die Abstände auf den TEM-Aufnahmen kleiner als aus den Kristallstrukturen zu erwarten ist. Im Falle der citrat-stabilisierten GNPs sind hier Abstände von 2,5 nm (kleinster Abstand, für den eine Simulation durchgeführt wurde) und 5,0 nm (theoretische Größe des WSCPs) verwendet worden. Da die Dicke der PEG-Monolage für PEGs mit 20 Ethylenglykoleinheiten lediglich 3,5 nm beträgt [222], und die PEGs, welche in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, wesentlich kürzer sind (elf Einheiten im Fall des Biotin-PEGs und vier im Fall des COOH-PEGs), wird angenommen, dass der Interpartikelabstand nur geringfügig durch die PEG-Monolagen beeinflusst wird. Daher wurde der für PEG-stabilisierte GNPs an Hand der Cryo-TEM-Aufnahmen ermittelte mittlere Abstand etwa 9 nm (siehe Abschnitt 4.4) auch für die hier untersuchten SA-stabilisierten GNP-Dimere als plausibel angenommen. Aus den Kristallstrukturen von WSCP und SA ergibt sich ein theoretischer Interpartikelabstand von 15 nm. Die Daten der SA-stabilisierten GNP-Dimere wurden entsprechend mit dem simulierten Datensatz für einen Interpartikelabstand von 10 nm und 15 nm verglichen. Zum besseren Verständnis fasst Tabelle 4.3 die Werte nochmals zusammen.

Die simulierten und experimentellen Spektren der Monomer- und Dimerfraktionen der citrat-stabilisierten GNPs sind in Abbildung 4.40c gezeigt, die der SA-stabilisierten GNPs in Abbildung 4.40d. Im Fall der SA-stabilisierten GNPs wurde an Stelle des Monomerspektrums das Spektrum der ursprünglichen citrat-stabilisierten GNPs (gestrichelte schwarze

Kurve in Abbildung 4.40b) für den Vergleich mit dem simulierten Spektren herangezogen, da sich durch die SA-Monolage der Plasmonenresonanzpeak verschiebt (vgl. Abschnitt 4.3.1), was bei den Simulationen nicht berücksichtigt wurde.

Der Vergleich der simulierten Monomerspektren mit den experimentellen Monomerspektren zeigt zunächst, dass die Spektren der gemessenen Fraktionen deutlich verbreitert sind (schwarze durchgezogene Linien und schwarze gestrichelte Linien). Dies ist auf die in der Realität vorhandene Polydispersität der Partikelgröße und -form zurückzuführen.

Die simulierten Dimerspektren wurden wie folgt erhalten: Es wurde angenommen, dass die Fraktionen nur aus Monomeren und Dimeren bestehen (die Trimere wurden also vernachlässigt) und daraus die relativen Monomer- und Dimeranteile beider Dimerproben bestimmt. Es ergibt sich für die citrat-stabilisierten GNPs ein Verhältnis von 29% Monomeren zu 70% Dimeren, und für die SA-stabilisierten GNPs ein Verhältnis von 38% Monomeren zu 62% Dimeren. Die simulierten Monomer- und Dimerspektren wurden für die gezeigten Spektren diesen Anteilen entsprechend gewichtet und addiert.

Die Diskussion der Dimerspektren kann auf Grund der Polydispersität der Proben und der daraus resultierenden bereits relativ starken Abweichung der GNP-Monomerlösungen gegenüber den simulierten Spektren nur qualitativ erfolgen. Zunächst sollen die Ergebnisse der citrat-stabilisierten GNPs betrachtet werden.

Auf Grund der starken Wechselwirkung der Partikelplasmonen bei kurzen Interpartikelabständen liegt die longitudinale Dimermode bei relativ hohen Wellenlängen, wodurch in den Spektren zwei deutlich voneinander separierte Resonanzpeaks zu erkennen sind: einer bei 537 nm und einer bei 590 nm ( $s = 2,5$  nm) bzw. 625 nm ( $s = 5$  nm). Gemessene Spektren und simulierte Dimerspektren zeigen keine Verschiebung der transversalen Plasmonenmode bei 537 nm. Das höherwellige Extinktionsmaximum des gemessenen Spektrums kann der longitudinalen Dimermode mit einem Interpartikelabstand von 2,5 nm zugeordnet werden. Zwar stimmt das Intensitätsverhältnis der beiden Peaks des gemessenen Dimerspektrums nicht mit dem des simulierten Spektrums für  $s = 2,5$  nm überein, aber die spektrale Lage beider Plasmonenresonanzpeaks korrespondiert gut mit der simulierten. Im Wellenlängenbereich zwischen 570 nm und 600 nm, also genau in dem Bereich, in dem die longitudinale Dimermode mit  $s = 5$  nm ihr Maximum hat, ist die Extinktion der Probe deutlich höher als die des simulierten Spektrums von  $s = 2,5$  nm. Dies deutet darauf hin, dass in der Probe auch Dimere mit größeren Interpartikelabständen von etwa 5 nm vorhanden sind. Werden die ungefähre Ausdehnung, die vielfältigen Möglichkeiten der Orientierung eines WSCP-Tetramers zwischen zwei GNPs und der in den Simulationen nicht einbezogene erhebliche Anteil höherer Oligomere in der Lösung berücksichtigt, passen die gemessenen Daten qualitativ erstaunlich gut zu den theoretisch erwarteten.

Im Falle der SA-stabilisierten GNPs können nur die Unterschiede zwischen Monomer- und Dimerspektrum mit den entsprechenden Unterschieden der simulierten Spektren verglichen werden, da die dielektrische Umgebung der GNPs durch die Beschichtung mit SA geändert wurde. Die spektralen Positionen der simulierten Spektren für  $s = 10$  nm und

$s = 15$  nm unterscheiden sich kaum (Abbildung 4.40d). Bei einem Abstand von 10 nm hat das Extinktionsspektrum eine deutlich definiertere Struktur, vergrößert sich der Interpartikelabstand auf 15 nm ist das Dimerspektrum nicht mehr strukturiert und weist nur noch eine breite Bande auf. Das gleiche ist auch für das gemessene Monomerspektrum und das gemessene Dimerspektrum zu erkennen: Das Dimerspektrum ist wie oben bereits beschrieben, gegenüber dem Monomerspektrum verbreitert und zu höheren Wellenlängen verschoben. Die gemessenen Daten lassen sich also qualitativ mit den simulierten Spektren beschreiben.

Unter der Berücksichtigung, dass die in beiden Dimerfraktionen (citrat- und SA-stabilisierte GNPs) vorhandenen Anteile höherer Oligomere sowie die Polydispersität der GNPs für die Simulationen nicht berücksichtigt wurden, beschreiben die simulierten Daten qualitativ gut die Positionen der Extinktionsmaxima der Monomer- und Dimerfraktionen.

### 4.5.3. Gelelektrophorese

Die Trennung mit Hilfe der Viskositätsgradienten führte zwar zu einer Anreicherung der Dimere, allerdings waren die gefundenen Dimeranteile von bis zu 44% nicht optimal. Als weitere Methode wurde daher eine gelelektrophoretische Anreicherung der Dimere getestet. Diese wurde an Proben mit SA- und PEG-stabilisierten GNPs durchgeführt.

Die Gelelektrophorese wurde bereits zur Trennung verschiedener GNP-Partikelgrößen- und -formen [223, 224], zur Anreicherung monofunktionalisierter GNPs [39, 225], aber auch zur Trennung von unterschiedlich großen GNP-Aggregaten [226] bzw. zur gezielten Anreicherung von GNP-Dimeren [39, 80, 92] eingesetzt. Sie basiert auf der unterschiedlichen Mobilität verschieden großer und/oder geladener Partikel bzw. Aggregate im elektrischen Feld. Kleine Partikel mit einer hohen Oberflächenladung bewegen sich schneller im Gel als große Partikel mit kleiner Oberflächenladung.

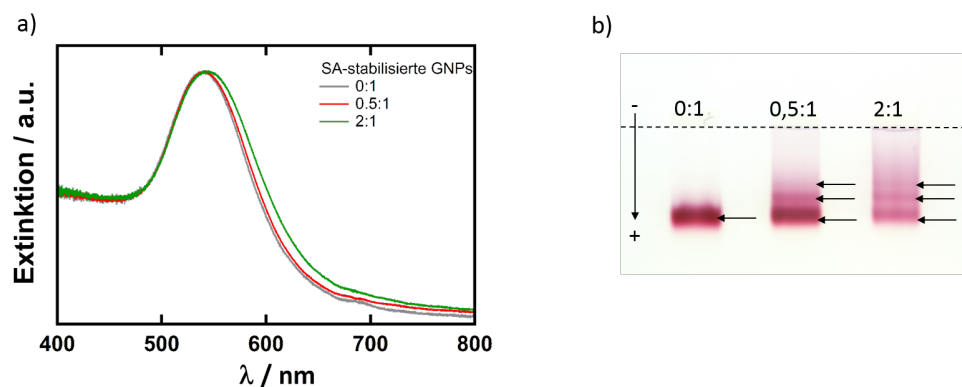
Die Trennung mit Hilfe der Gelelektrophorese kann auf Grund der nötigen Salzfrachten im Lösungsmittel zur Sicherstellung der Leitfähigkeit nur mit SA- und PEG-stabilisierten GNPs durchgeführt werden. Die SA- und PEG-stabilisierten GNPs verhielten sich dabei gleich.

Die Durchführung der hier vorgestellten Versuche ist in Abschnitt 3.1 erläutert. Die Trennung der Proben funktionierte bei 100 V bis 150 V und 0,8 wt%igen bis 1,3 wt%igen Agargel mit Puffern mit leicht basischen pH-Werten am besten. Der Puffer muss einen leicht basischen pH-Wert haben, um eine negativ geladene GNP-Ligandenhülle und somit eine ausreichende Stabilität und eine ausreichende Mobilität der GNPs im Gel zu gewährleisten. Es stellte sich während der Experimente außerdem heraus, dass die Aggregate in den GNP-Lösungen nicht zu groß bzw. die GNP-Lösung nicht zu hoch konzentriert sein darf, da sonst die Poren des Gels beim Einlaufen der Proben aus den Taschen in das Gel verstopfen können. Eine weitere Schwierigkeit bestand in der Einstellung einer geeigneten Konzentration der Agarosegele. Bei zu hohen Konzentrationen kann es zu den bereits

erwähnten Verstopfungen der Poren kommen, oder die Mobilität der GNPs war zu gering, sodass keine effiziente Trennung der Proben zu beobachten war. Im Prinzip muss für jede Probe getestet werden, welche Gelkonzentration bei welcher Spannung funktioniert.

### Analytische Gelelektrophorese

Abbildung 4.41a zeigt Extinktionsspektren von SA-stabilisierten GNPs und zwei Proben mit WSCP-verbrückten SA-stabilisierten GNPs. Diese hatten WSCP-GNP-Verhältnisse von 0,5:1 und 2:1, der mittlere Durchmesser der GNPs betrug  $(47 \pm 7)$  nm (TEM-Aufnahme der GNPs siehe Abbildung A.1e). Es ist davon auszugehen, dass in der Probe mit einem Verhältnis von 2:1 mehr und größere Aggregate vorhanden sind als in der Probe mit einem Verhältnis von 0,5:1. Dies spiegelt sich auch in den Extinktionsspektren wider. Ein Foto dieser Proben nach einer Gelelektrophorese ist in Abbildung 4.41b gezeigt. Die Probe ohne WSCP sollte nur wenige Aggregate beinhalten (vgl. Abschnitt 4.3.1),



**Abbildung 4.41.:** a) Extinktionsspektren der Proben vor und b) Foto des Gels nach durchgeführter Gelelektrophorese. Der Pfeil links zeigt die Laufrichtung der Proben an, die anderen Pfeile verdeutlichen die Positionen der entstandenen Banden. Die Unterschiede der drei Proben sind deutlich zu erkennen. Für die SA-stabilisierten GNPs ohne WSCP ist nur eine Bande erkennbar. Für die Probe mit einem WSCP-GNP-Verhältnis von 0,5:1 sind 3 Banden zu erkennen, der Bereich „hinter“ der dritten Bande ist fast farblos, während der gleiche Bereich im Falle der Probe 2:1 lila-blau gefärbt ist. Dies ist auf die auch an Hand der Extinktionsspektren zu erkennenden höheren Zahl größerer Aggregate in dieser Probe zurückzuführen. (Einstellungen: 1,3 wt% Agarosegelkonzentration, 0,5 X TBE pH 8,3, 100 V, 15 min.)

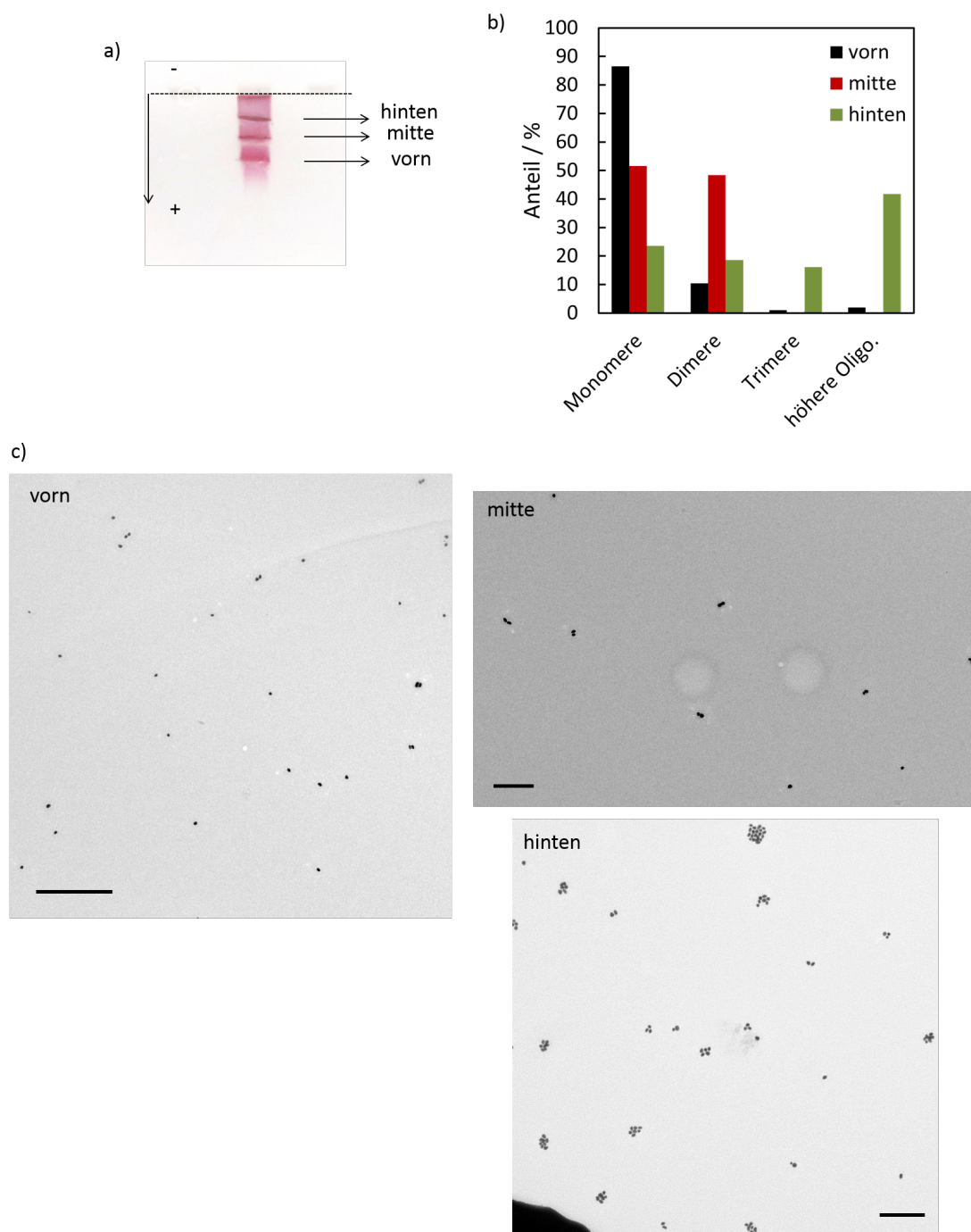
entsprechend ist nach der Gelelektrophorese auch nur eine Bande vorhanden. Die Probe 0,5:1 hat zwei intensive Banden, eine dritte Bande ist nur ganz schwach zu erkennen. Hinter dieser dritten Bande ist das Gel fast farblos. Die zwei ersten Banden sind für die Probe 2:1 im Gegensatz dazu weniger intensiv, die dritte Bande ist aber stärker ausgeprägt. Der Bereich hinter der dritten Bande, welcher bei der Probe 0,5:1 fast farblos ist, ist lila-blau gefärbt. In der Probe sind also deutlich mehr größere Aggregate und weniger Monomere vorhanden als in der Probe mit einem WSCP-GNP-Verhältnis von 0,5:1.

In einem weiteren Versuch (Abbildung 4.42) wurde überprüft, ob so erhaltene Banden auch auf die Anreicherung unterschiedlich großer Aggregate zurückzuführen sind. Hierfür wurden PEG-stabilisierte GNPs mit einem mittleren Partikeldurchmesser von  $(42 \pm 7)$  nm mit zwei Äquivalenten WSCP umgesetzt (PEG-Verhältnis 1 Biotin-PEG:1000 COOH-PEG). Das Gel wurde an den entsprechenden Stellen mit einem Skalpell eingeschnitten und in die entstandenen Taschen TEM-Netzchen platziert. Durch erneutes Anlegen der Spannung für etwa 1 min liefen die GNPs aus dem Gel und wurden direkt auf den TEM-Netzchen immobilisiert. Ein Foto des Agarosegels mit den eingesetzten TEM-Netzchen ist in Abbildung 4.42a gezeigt. Auf diesem sind die unterschiedlichen Farben, hervorgerufen durch die unterschiedlichen Aggregatgrößen, sehr gut zu erkennen. Außerdem ist in Abbildung 4.42b das Histogramm der Probenzusammensetzung gezeigt. In Abbildung 4.42c sind exemplarische TEM-Aufnahmen der drei Banden dargestellt.

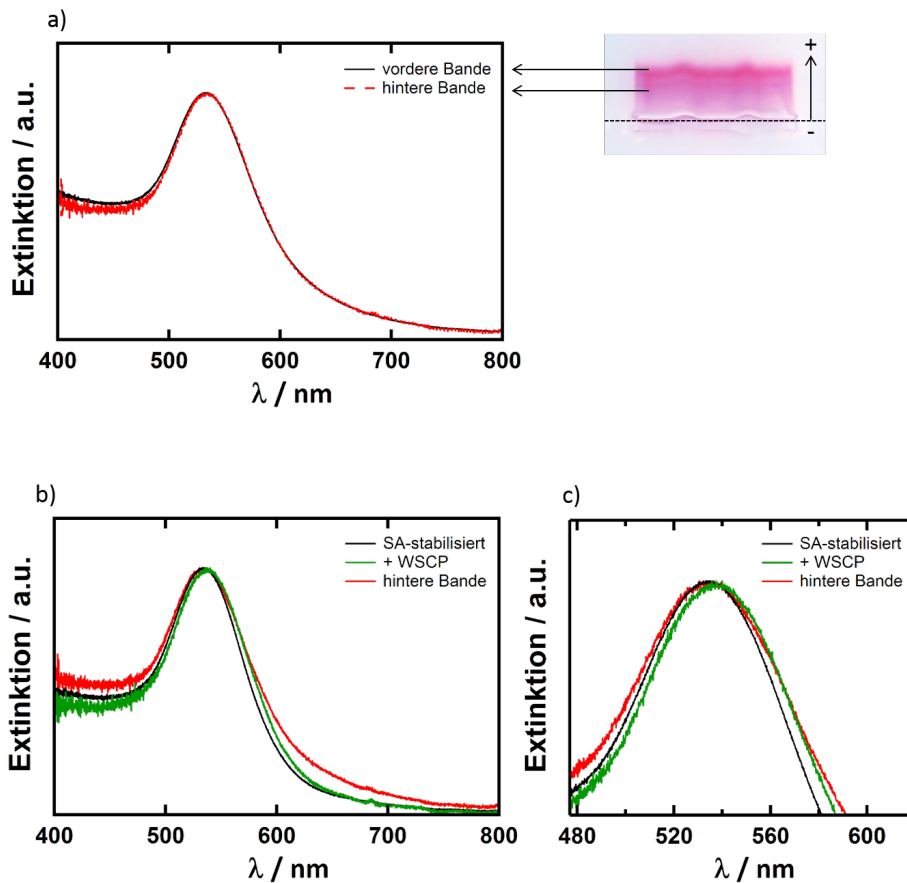
In der vorderen Bande sind mit über 85% fast ausschließlich Monomere vorhanden, in der mittleren Bande etwa 50% Monomere und 50% Dimere. Der Dimeranteil ist somit der höchste, welcher im Rahmen aller durchgeführten Experimente zur Anreicherung von Dimeren erzielt wurde. In der hinteren Bande befinden sich lediglich 20 % Monomere, 20% Dimere und insgesamt über 50% Trimere und größere Aggregate. Der in dieser Bande gefundene Monomeranteil ist der geringste, welcher im Rahmen aller Experimente erreicht wurde. Folglich ist die Trennleistung der Gelelektrophorese deutlich besser, als die der VGZ.

#### **Präparative Gelelektrophorese**

Für die geplanten einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen der Dimere müssen die Proben aus den Agarosegelen extrahiert werden. Hierzu wurden die entsprechenden Gelstücke ausgeschnitten und in Dialysemembranen zusammen mit Puffer erneut in der Elektrophoresekammer platziert. Durch erneutes Anlegen einer Spannung liefen die GNPs aus dem Gel in den Puffer und konnten im Anschluss mit einer Pipette entnommen werden. Abbildung 4.43 zeigt ein Beispiel für die Extinktionsspektren der so erhaltenen GNP-Lösungen mit SA-stabilisierten GNPs mit einem mittleren Durchmesser von  $(48 \pm 7)$  nm (TEM-Aufnahme der GNPs siehe Abbildung A.1f), welche zuvor mit 1,5 Äquivalenten WSCP assembliert wurden. Die Extinktionsspektren in Abbildung 4.43a zeigen, dass Probenzusammensetzungen der aus der vorderen und hinteren Bande extrahierten GNPs beinahe deckungsgleich sind. Die Aggregate in der hinteren Bande konnten demzufolge auf diese Weise nicht aus dem Gel extrahiert werden. Um die Ursachen hierfür abzuschätzen, wurde das Extinktionsspektrum der hinteren Bande nochmals zusammen mit den Extinktionsspektren der SA-stabilisierten GNPs und dem der WSCP verbrückten SA-stabilisierten GNPs vor der Gelelektrophorese aufgetragen (Abbildungen 4.43b und c). Im vergrößerten Ausschnitt in Abbildung 4.43c ist gut zu erkennen, dass das Plasmonenresonanzmaximum der aus der hinteren Bande extrahierten GNPs dem der SA-stabilisierten



**Abbildung 4.42.:** Ergebnisse der Auftrennung von PEG-stabilisierten WSCP-verbrückten GNP-Aggregaten. Das PEG-Verhältnis war 1 Biotin-PEG:1000 COOH-PEG. a)Foto des Gels nach dem Einsetzen der TEM-Netzchen b) Histogramm mit den aus TEM-Aufnahmen ermittelten Probenzusammensetzungen. Pro Probe wurden mindestens 180 Partikel gezählt. Der Maßstabsbalken beträgt 1  $\mu\text{m}$  in allen Aufnahmen. c) exemplarische TEM-Aufnahmen der drei Bänder (Einstellungen: 0,8 wt% Agarosegelkonzentration, 0,5 X TBE pH 8,3, 150 V, 15 min.)



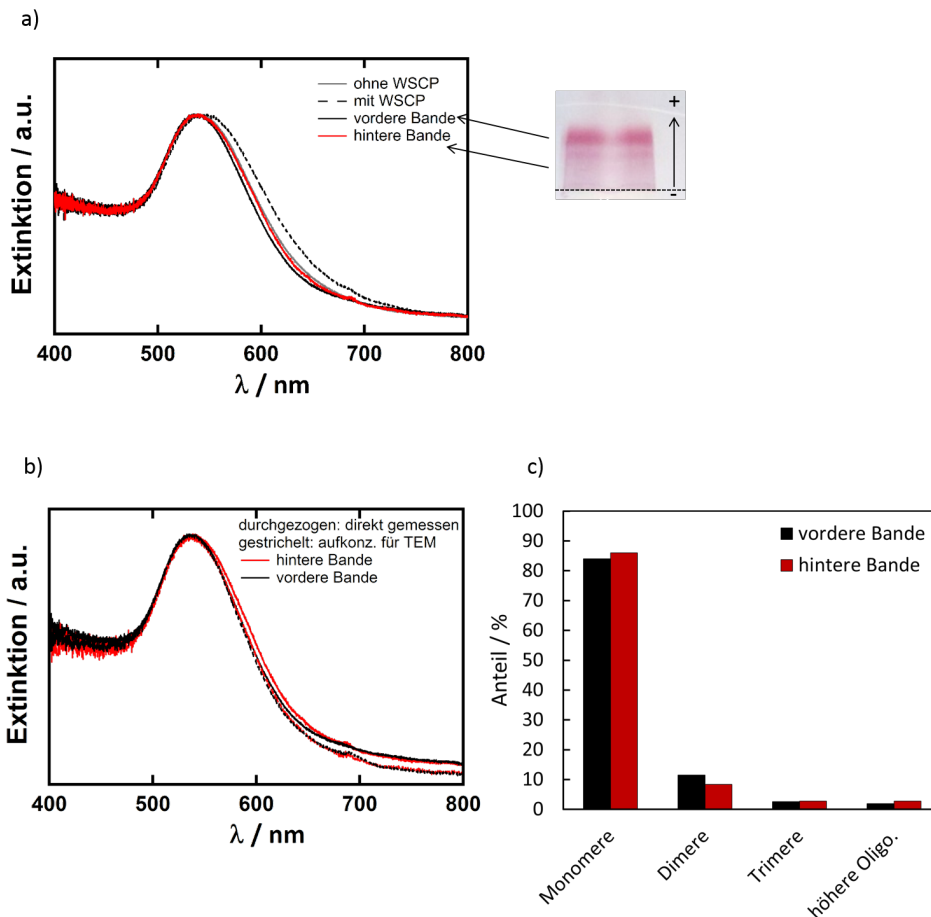
**Abbildung 4.43.:** Ergebnis der präparativen Gelelektrophorese von SA-stabilisierten WSCP-verbrückten GNPs (1,5 WSCP pro GNP) a) Spektren der aus der vorderen und hinteren Bande nach der Gelelektrophorese extrahierten GNP-Lösungen und b) Vergleich des Spektrums der GNPs aus der hinteren Bande mit den Spektren der SA-stabilisierten und der mit WSCP aggregierten SA-stabilisierten GNPs. c) Vergrößerter Ausschnitt von b). ( $d_G \text{ NPs}$ ) =  $(47 \pm 7)$  nm, TEM-Aufnahme der GNPs siehe Abbildung A.1e)

GNPs entspricht, gleichzeitig ist die Absorbanz bei 630 nm bis 700 nm etwas erhöht. Wären die GNP-Aggregate noch intakt, sollten sich ähnliche Extinktionsspektren wie nach der Trennung mittels Viskositätsgradientenzentrifugation ergeben (siehe Abbildung 4.35). Die vorliegenden Spektren sehen aber deutlich anders aus, sodass davon auszugehen ist, dass eine Desaggregation stattgefunden hat. Dafür können zwei Ursachen in Betracht gezogen werden: Entweder löst sich die SA-Passivierungsschicht von der GNP-Oberfläche, oder die Biotin-SA-Bindung ist nicht stabil genug.

Um zu überprüfen, welche Ursache die Auflösung der Aggregate durch den Extrahierungsvorgang hat, wurde das Experiment mit PEG-stabilisierten GNPs mit einem mittleren Durchmesser von  $(42 \pm 7)$  nm wiederholt (TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1h). Das PEG-Verhältnis betrug 1 Biotin-PEG:1000 COOH-PEG, und die Partikel wurden mit 0,5 Äquivalenten WSCP assembliert. Die Extinktionsspektren der erhaltenen GNP-Lösungen sind in Abbildung 4.44a gezeigt. Es zeigt sich das gleiche Bild wie für die SA-stabilisierten GNPs aus Abbildung 4.43. Die Extinktionsspektren der aus den beiden Banden extrahierten GNPs sind fast deckungsgleich. Beide Extinktionsspektren sind gegenüber dem vor der Gelelektrophorese aufgenommenem Spektrum zu kürzeren Wellenlängen verschoben, und fast deckungsgleich mit dem Extinktionsspektrum der SA-funktionalisierten PEG-stabilisierten GNPs ohne WSCP. Die vor der Gelelektrophorese vorhandenen Aggregate liegen nach der Extrahierung der Proben aus dem Gel nicht mehr vor. Zur zusätzlichen Überprüfung dieser Tatsache sind die Proben für die Anfertigung von TEM-Aufnahmen mittels Zentrifugation konzentriert worden. Die Extinktionsspektren der konzentrierten Proben sind in Abbildung 4.44b als gestrichelte Linien dargestellt. Die Extinktionsspektren vor und nach dieser Zentrifugation sind fast deckungsgleich. Entsprechend sind auch die aus den TEM-Aufnahmen ermittelten Zusammensetzungen in Abbildung 4.44c beider Banden nahezu gleich.

Die Zersetzung der Aggregate während der Extrahierung der Proben aus den Agarosegelen findet sowohl bei SA- als auch bei PEG-stabilisierten GNPs statt. Damit ist die Ursache der Auflösung auf eine nicht ausreichend stabile Biotin-SA-Bindung an den GNPs zurückzuführen, und nicht auf die Ablösung des SAs von den GNP-Oberflächen. Dies korreliert auch zu den Kräften, welche zum Brechen der unterschiedlichen Bindungen in dem System benötigt werden: Zum Brechen einer Thiol-Gold-Bindung werden etwa 0,6 nN benötigt [205], während für eine SA-Biotin-Bindung nur 0,25 nN benötigt werden [227, 228]. Die Biotin-SA-Bindung ist damit deutlich schwächer als die Schwefel-Gold-Bindung. Vermutlich ist die SA-Biotin-Bindung an beiden GNP-Varianten sogar noch schwächer, da das Biotin aus sterischen Gründen nicht vollständig in die Bindungstasche des SAs passt.

Die Instabilität der Aggregate ist demnach der Instabilität der Biotin-SA-Bindung geschuldet, welche für die auftretenden Spannungsspitzen beim Übertritt vom Gel in den Puffer und die daraus resultierenden auf die GNPs wirkenden Kräfte zu schwach ist.



**Abbildung 4.44.:** a) Extinktionsspektren von PEG-stabilisierten GNPs (PEG-Verhältnis 1 Biotin-PEG:1000 COOH-PEG), der mit 0,5 Äquivalenten WSCP assemblierten GNPs und Spektren der GNPs nach der Extrahierung aus dem Agarosegel. b) Vergleich der Extinktionsspektren der aus den Gelen extrahierten GNPs vor und nach der Zentrifugation zur Aufkonzentrierung der Proben zur Anfertigung der TEM-Proben. c) Ergebnis der Analyse der TEM-Aufnahmen beider extrahierter Proben. Pro Probe wurden mindestens 140 Partikel gezählt. ( $d_{GNPs} = (42 \pm 7)$  nm, TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1h)

#### 4.5.4. Fazit

Mit Hilfe von Saccharosegradienten konnten Dimere bis zu einem Anteil von 44% angereichert werden. Die Entfernung von Dimeren aus den GNP-WSCP-Aggregatlösungen ist reproduzierbar möglich. In den einzelnen Fraktionen konnte mittels Fluoreszenzkorrelationspektroskopie das Vorliegen von an GNPs gebundenem WSCP nachgewiesen werden. Ein Vergleich der Extinktionsspektren der Dimerfraktionen WSCP-verknüpfter citrat-stabilsierter GNPs und WSCP-verknüpfter SA-stabilsierter GNPs zeigte die theoretisch erwarteten unterschiedlichen longitudinalen Plasmonenresonanzfrequenzen (vgl. Abschnitt 2.1.2). Die Monomer- und Dimerfraktionen beider GNP-Varianten können qualitativ gut mit simulierten Spektren beschrieben werden.

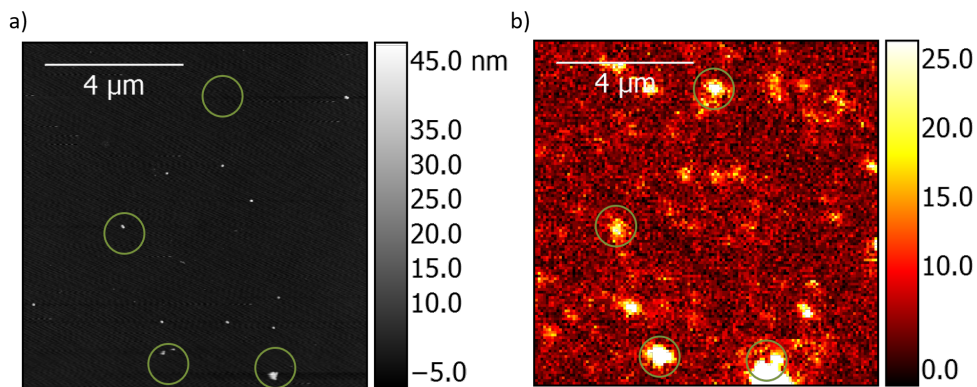
Die Trennung mittels Gelelektrophorese führte gegenüber den Experimenten mit Viskositätsgradientenzentrifugation zu einer verbesserten Anreicherung der Dimere, konnte aber nicht erfolgreich präparativ durchgeführt werden. Bei der Extrahierung der Proben aus den Gelstücken zersetzen sich die Aggregate, sodass nur noch Monomere in den Proben vorhanden waren. Die Zersetzung der Aggregate wurde auf die unzureichende Stabilität der SA-Biotin-Bindung zurückgeführt.

Die Gelelektrophorese erlaubt prinzipiell nicht nur eine Anreicherung von Dimeren, sondern auch eine Anreicherung von mono-, di- usw. funktionalisierten GNPs [39]. Die Methode ist daher sehr vielversprechend für in Zukunft durchzuführende Experimente, da auch monofunktionalisierte GNPs angereichert und im Anschluss weiter umgesetzt werden könnten. Weiterführende Experimente sollten aber nicht auf Basis der SA-Biotin-Bindung durchgeführt werden. Denkbar wäre beispielsweise, WSCP mit Thiol-Gruppen auszustatten, die direkt an die GNP-Oberfläche binden können. Zur Auftrennung mittels Gelelektrophorese wäre eine anschließende Passivierung der GNP-Oberfläche mit Rinderalbumin (BSA, engl. *bovine serum albumin*) [198, 229] oder PEG-Derivaten [39] denkbar.

## 4.6. Untersuchung der WSCP-Fluoreszenz an Goldnanoantennen

Zur Untersuchung der WSCP-Fluoreszenz an den GNPs wurde ein kombinierter Versuchsaufbau verwendet, welcher es erlaubt, sowohl simultane rasterkraftmikroskopische (*Atomic Force Microscopy*, AFM) und einzelmolekülmikroskopische Messungen an den Proben durchzuführen, als auch Fluoreszenzspektren einzelner Moleküle zu messen (*Single Molecule Spectroscopy*, SMS). Alle im folgenden vorgestellten Experimente wurden von Marcus Held im Rahmen seiner Masterarbeit durchgeführt [187].

Der verwendete Versuchsaufbau bietet mehrere Vorteile: Zum einen können die Lage, Orientierung und geometrischen Ausmaße der GNPs ermittelt werden. Gleichzeitig können Fluoreszenzspektren und Intensitätszeitspuren der an bzw. zwischen den GNPs befindlichen einzelnen WSCPs gemessen werden. An Hand der spektralen Lage des Fluo-



**Abbildung 4.45.:** Exemplarische a) rasterkraftmikroskopische und b) fluoreszenzmikroskopische Übersichtsaufnahmen einer Einzelmolekülprobe zur Veranschaulichung der Vorgehensweise zur Kolokalisierung der GNPs mit fluoreszenten Spots. Die WSCP-verbrückten GNPs wurden auf mit APTES funktionalisierten Gläschen immobilisiert (siehe Abschnitt A.1.6).

reszenzspektrums kann überprüft werden, ob es sich bei einem auf dem Fluoreszenzbild gefundenen Spot um WSCP-Fluoreszenz handelt. Dies ist insbesondere vor dem Hintergrund wichtig, dass auch reine GNPs ohne WSCP in einem ähnlichen Wellenlängenbereich photolumineszieren [230]. Zum anderen können aus den Emissionszeitspuren die vom WSCP emittierten Photonen pro Zeiteinheit ermittelt werden, an Hand derer überprüft werden kann, ob eine Fluoreszenzverstärkung und/ oder eine verstärkte Anregung des WSCPs durch das Dimerfeld auftritt.

Im folgenden werden Ergebnisse der Untersuchungen an citrat-stabilisierten, SA-stabilisierten und PEG-stabilisierten WSCP-verknüpften GNP-Dimeren vorgestellt. Details zu den Proben, wie WSCP-GNP-Verhältnisse und mittlere Partikelgröße der GNPs, werden an den entsprechenden Stellen genannt.

#### 4.6.1. Überprüfung des Messprinzips

Zur Überprüfung des Messprinzips wurde eine Probe mit WSCP-verbrückten SA-stabilisierten GNPs verwendet. Untersucht wurde die Dimerfraktion der mittels VGZ aufgetrennten Probe aus Abbildung 4.34d (siehe Abschnitt 4.5.1, S. 103). Die SA-stabilisierten GNPs mit einem mittleren Durchmesser von  $(52 \pm 7)$  nm wurden vor der Auftrennung mit fünf Äquivalenten WSCP umgesetzt. Eine TEM-Aufnahme der GNPs ist in Abbildung 4.34b gezeigt. Die GNP-Strukturen wurden mittels „Dropcasting“ auf silanierten Glassubstraten immobilisiert. Die genaue Vorgehensweise sowie der Versuchsaufbau sind in Abschnitt A.1.6 beschrieben, eine ausführliche Beschreibung findet sich in der Masterarbeit von Marcus Held [187].

Zur Veranschaulichung der Vorgehensweise sind in Abbildung 4.45 exemplarisch ein Fluoreszenzbild und ein von der gleichen Region aufgenommenes AFM-Bild gezeigt. Diese dienen der Kolokalisierung der Fluoreszenzspots mit den auf der AFM-Aufnahme abge-

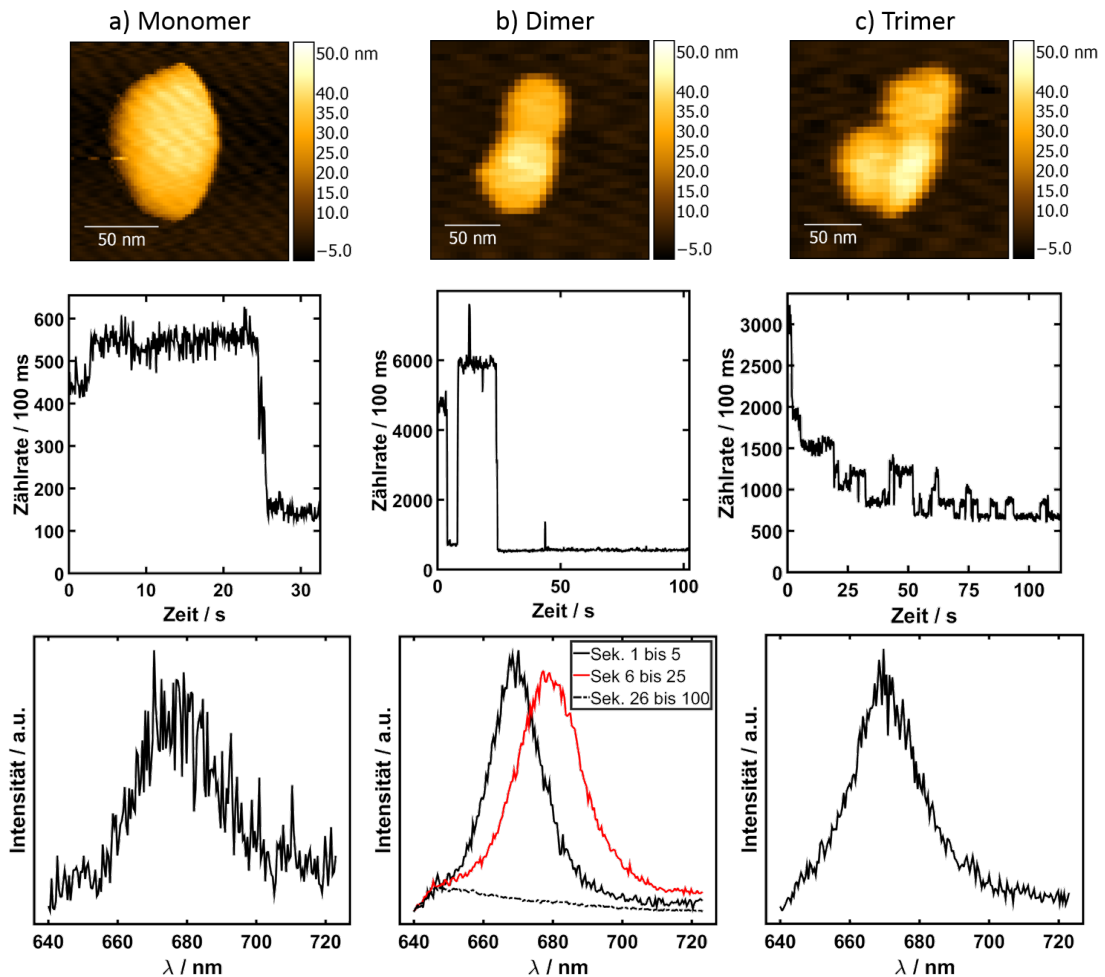
bildeten Partikeln. Zu Beginn wurden das AFM-Höhenbild und das Fluoreszenzbild kolo-kalisiert (Abbildung 4.45). Konnte dabei ein fluoreszenter Spot auf dem Fluoreszenzbild einem GNP auf dem AFM-Höhenbild zugeordnet werden, wurde dieser Partikel mit höherer Auflösung erneut rasterkraftmikroskopisch untersucht und eine Fluoreszenzzeitspur sowie eine Serie von Fluoreszenzspektren aufgenommen.

In Abbildung 4.46 sind exemplarisch die AFM-Höhenbilder, Fluoreszenzzeitspuren und die Fluoreszenzspektren eines Monomers, Dimers und eines Trimers dargestellt. Für alle drei gezeigten Strukturen können eindeutige WSCP-Fluoreszenzspektren gemessen werden. Auffällig bei den gezeigten Beispielen ist zunächst die deutlich höhere Photonenzählrate im Falle des Dimers gegenüber dem Monomer und dem Trimer, sowie die deutlich höhere Anzahl an Stufen in der Zeitspur des Trimers. Eine tiefer gehende Analyse der Dimere soll in den folgenden Abschnitten durchgeführt werden. Das Auftreten der deutlich höheren Anzahl an Zuständen im Falle des Trimers deutet auf das Vorliegen mehrerer WSCPs im Laserfokus hin, sodass davon auszugehen ist, dass die GNPs des Trimers mit mehreren WSCPs verknüpft sind. In Abbildung 4.46b (Dimer) ist in den gezeigten Spektren zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Messung zu erkennen, dass nach dem Auszustand nach etwa 5 s eine spektrale Verschiebung des WSCP-Spektrums erfolgt. Es sei darauf hingewiesen, dass Blinken, mit oder ohne spektrale Verschiebung der Fluoreszenz auch bei Messungen von reinem WSCP auftritt. Auch stufenweises Bleichen, oder Zeitspuren mit nur einer Stufe bis zum irreversiblen Bleichen wurden sowohl bei reinem WSCP, als auch bei WSCP-GNP-Aggregaten beobachtet. Exemplarische Zeitspuren und Spektren von Messungen von reinem WSCP sind im Anhang A.1.8 in Abbildung A.12 dargestellt.

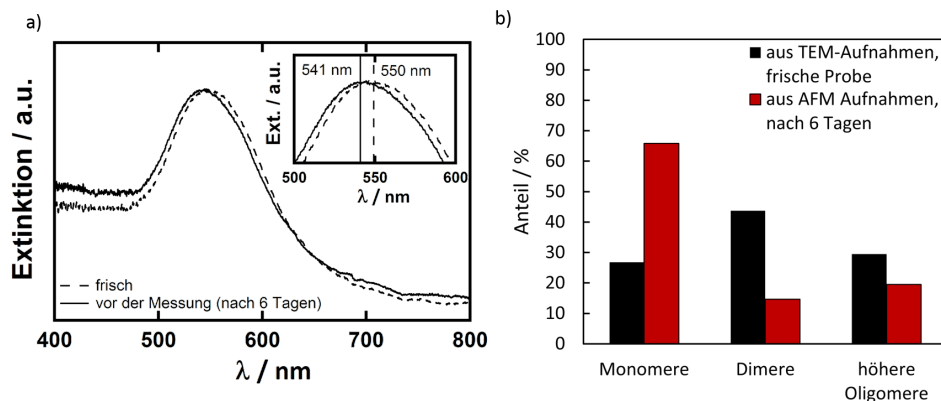
#### **Geringe Dimeranteile auf den AFM-Höhenbildern**

Die auf den AFM-Aufnahmen gefundenen Dimeranteile lagen bei allen Proben unter denen mittels TEM-Aufnahmen ermittelten. Zum einen ist dies auf eine Zersetzung der Dimere während der Lagerung zurückzuführen, wie es beispielsweise bei der in Abbildung 4.46 vorgestellten Probe. Die Extinktionsspektren und die aus TEM- und AFM-Aufnahmen ermittelten Zusammensetzungen sind in Abbildung 4.47 gezeigt. Anhand der Extinktionsspektren der frischen GNP-Lösung und der sechs Tage alten Lösung ist eine Verschiebung des Extinktionsmaximums um 9 nm zu kürzeren Wellenlängen zu beobachten. Dies ist im Zusammenhang mit der aus den AFM-Aufnahmen ermittelten Zusammensetzung auf die Desaggregation der Dimere und anderer Aggregaten zurückzuführen, welche auch in nicht aufgetrennten Proben beobachtet wurde (vgl. Abschnitt 4.3.1).

Die Diskrepanz zwischen Dimeranteilen, welche mittels TEM-Aufnahmen bestimmt wurden, und denen, die auf den AFM-Aufnahmen ermittelt wurden, war allerdings bei allen Messreihen vorhanden, auch wenn die Proben direkt nach der Präparation untersucht wurden. Zusätzlich werden mit „normalen“ TEM-Aufnahmen die Aggregateanteile eher unterschätzt (siehe Abschnitt 4.4, S. 96). Es scheinen also zusätzliche, die Dimeranteile



**Abbildung 4.46.:** Exemplarische AFM-Bilder, Fluoreszenzzeitspuren und Fluoreszenzemissionsspektren eines a) SA-GNP-Monomers, b) SA-GNP-Dimers und c) SA-GNP-Trimers aus der in Abschnitt 4.5.1, S. 103, Abbildung 4.34d vorgestellten Dimerfraktion. Die Spektren in a) und c) wurden mit einer Integrationszeit von 5 s von Sekunde 0 bis 5 aufgenommen. An Hand der Fluoreszenzspektren kann eindeutig bestimmt werden, ob es sich bei den detektierten Photonen um WSCP-Fluoreszenz handelt. Die Anregungsleistung betrug  $72 \text{ W/cm}^2$ .



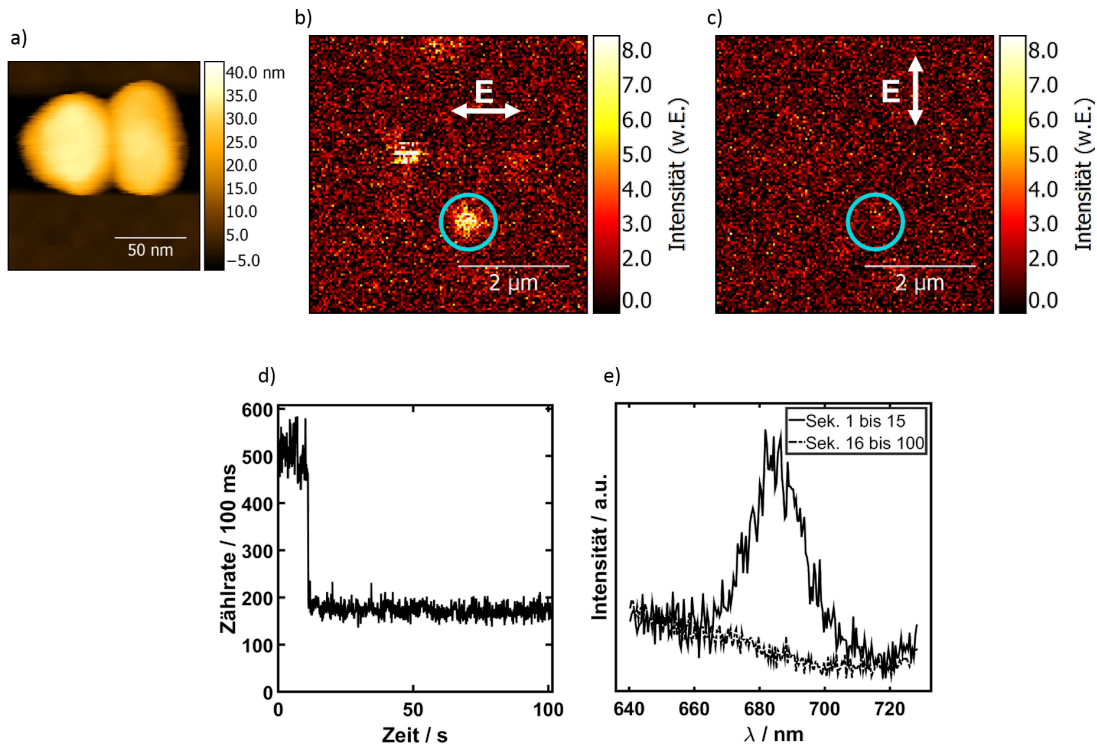
**Abbildung 4.47.:** a) Extinktionsspektren der Dimerfraktion direkt nach der Anreicherung der Dimere mit Viskositätsgradientenzentrifugation und nach sechstägiger Lagerung (dunkel, 6 °C) direkt vor der einzelmolekülspektroskopischen Messung b) Histogramm der Probenzusammensetzungen, welche an Hand von TEM-Aufnahmen der frisch angereicherten Probe und an Hand von AFM-Aufnahmen der sechs Tage alten Probe ermittelt wurden.

auf den Proben verringernde, Effekte vorhanden zu sein (beispielsweise eine Zersetzung der (nicht vollständig) auf den Probeträgern immobilisierten Dimere durch das Waschen der Gläschen mit mq-Wasser).

#### 4.6.2. Polarisationsabhängigkeit des Dimerplasmons

Wie eingangs erwähnt, ist die Ausbildung eines verstärkten Feldes im Zwischenraum zweier GNPs von der Anregungspolarisation relativ zur Dimerorientierung abhängig: Ein verstärktes Feld im Zwischenraum der Dimere (an der Position des WSCPs) tritt nur bei attraktiver Wechselwirkung beider Partikelplasmonen auf, welche wiederum nur bei einer zur Dimerverbindungsachse parallelen Polarisation des einfallenden Feldes gewährleistet ist (vgl. Abschnitt 2.1.2). Diese Polarisationsabhängigkeit soll im folgenden experimentell überprüft werden.

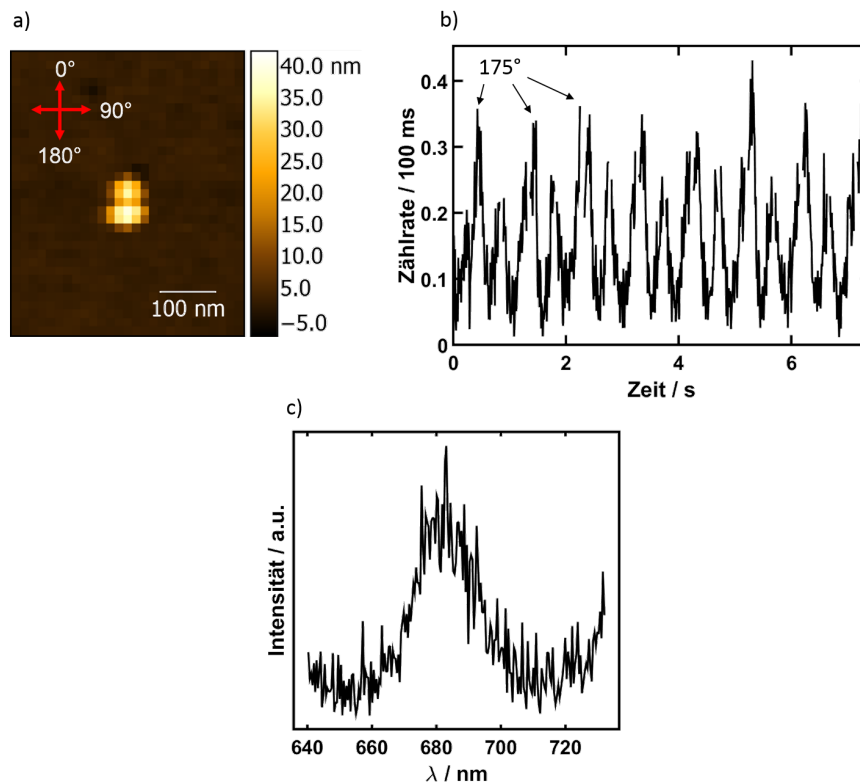
Exemplarisch ist hierfür in Abbildung 4.48 das Ergebnis einer Messung mit linear polarisierter Anregung an einem mit PEG-stabilisiertem WSCP-GNP-Dimer gezeigt. Die GNPs hatten einen mittleren Durchmesser von  $(52 \pm 7)$  nm, wurden mit einem PEG-Verhältnis von 4000 COOH-PEG:1 Biotin-PEG stabilisiert und mit zwei Äquivalenten WSCP assembliert. An Hand des in Abbildungsteil (a) gezeigten AFM-Höhenbilds kann die räumliche Orientierung des Dimers abgelesen werden. In Abbildung 4.48b ist das Fluoreszenzbild bei parallel zur Dimerverbindungsachse polarisierter Anregung und in Abbildung 4.48c bei senkrecht zur Dimerverbindungsachse polarisierter Anregung gezeigt. Der bei parallel polarisierter Anregung helle Spot erscheint bei senkrecht polarisierter Anregung auf Grund der repulsiven Wechselwirkung der beiden Partikelplasmonen dunkel, da kein verstärktes Feld im Zwischenraum beider Partikel resultiert (vgl. Abbildung 4.4). Wie erwartet, ist bei Anregung des GNP-Dimers mit einer Anregungspolarisation senkrecht zur Dimerver-



**Abbildung 4.48.:** Ergebnisse der Messung eines Dimers mit PEG-stabilisierten GNPs bei gezielter Variation der Polarisation des Anregungslichts. a) AFM-Aufnahme zur Ermittlung der Orientierung des Dimers, b) Fluoreszenz-Bild, aufgenommen unter Anregung mit parallel zur Längsachse des Dimers polarisiertem Licht c) Fluoreszenz-Bild, aufgenommen unter Anregung mit senkrecht zur Dimerverbindungsachse polarisiertem Licht. d) Fluoreszenzzeitspur und e) Fluoreszenzemissionsspektrum des Dimers nach Anregung mit parallel zur Dimerlängsachse polarisiertem Licht. Das gezeigte Spektrum ist eindeutig der WSCP-Fluoreszenz zuzuordnen. Die Anregungsleistung betrug  $22 \text{ W/cm}^2$ .

bindungsachse die Fluoreszenz aus (markiert mit blauem Kreis). Die in Abbildungsteil (d) gezeigte Fluoreszenzzeitspur und das Fluoreszenzspektrum in Abbildungsteil (e), welche mit parallel zur Dimerverbindungsachse eingestellter Anregungspolarisation gemessen wurden, zeigen eindeutig, dass die detektierten Photonen bei Anregung der longitudinalen Plasmonmode vom WSCP stammen.

Noch eindeutiger kann diese Tatsache mit einer Messung eines Dimers unter kontinuierlicher Änderung der Anregungspolarisation nachgewiesen werden. In Abbildung 4.49 sind die Ergebnisse einer solchen Messung zusammengefasst. Es handelte sich hier um ein Dimer mit citrat-stabilisierten GNPs (mittlerer Durchmesser  $(45 \pm 6) \text{ nm}$ ), welche mit  $1,5$  Äquivalenten WSCP assembliert wurden (siehe Abschnitt 4.2). Die Orientierung des Dimers kann abermals an Hand der AFM-Abbildung in Abbildungsteil (a) abgelesen werden. Bei Anregung des Dimers und kontinuierlicher Änderung der Anregungspolarisation wird die in Abbildungsteil (b) gezeigte Zeitspur erhalten. Der Polarisationswinkel, bei



**Abbildung 4.49.:** Ergebnisse einer Messung mit kontinuierlich durchgestimmter oszillierender Anregungspolarisation eines Dimers mit citratstabilisierten GNPs. a) AFM-Aufnahme zur Ermittlung der Orientierung des Dimers. b) Fluoreszenzzeitspur: Die detektierte Photonenzahl wird maximal, wenn die Polarisation des Anregungslichts bei  $175^\circ$  liegt, also parallel zur Dimerlängsachse ist. Das in c) gezeigte Fluoreszenzemissionsspektrum dient dem Nachweis, dass WSCP-Fluoreszenz detektiert wurde. Die Anregungsleistung betrug  $22 \text{ W/cm}^2$ .

dem die Photonenzählrate maximal ist, liegt bei  $175^\circ$ <sup>15</sup>. Ein Vergleich der Orientierung des Dimers mit dem ermittelten Winkel zeigt, dass die maximale Fluoreszenzintensität immer dann gemessen wird, wenn das Dimerplasmon mit entlang der Verbindungsachse polarisiertem Licht angeregt wird. Auch hier kann durch Messen der Fluoreszenzspektren (Abbildungsteil (c)) nachgewiesen werden, dass die detektierten Photonen vom WSCP stammen. Da WSCP offenbar nur angeregt wird, wenn auch die longitudinale Plasmonenmode angeregt wird, zeigt diese Messung auch, dass sich das WSCP im Hot Spot, also genau zwischen beiden GNPs, befindet.

### 4.6.3. Fluoreszenzverstärkung von WSCP an GNP-Dimeren

Ursprünglich sollten die Messungen mit zirkular polarisiertem Anregungslicht durchgeführt werden, um für jedes Dimer unabhängig von seiner Orientierung auf der Probenfläche die

<sup>15</sup>Der Polarisationswinkel kann durch Anpassen einer  $\cos^2$ -Funktion an die Zeitspur und der korrespondierenden Stellung des  $\lambda/2$ -Plättchens ermittelt werden, Details siehe Masterarbeit von Marcus Held [187].

gleiche, die longitudinale Plasmonmode anregende Anregungsleistung zu gewährleisten. Auf Grund des verwendeten Versuchsaufbaus war dies nicht möglich. Im Fall der SA-stabilisierten GNPs können für die Auswertung nur die Gesamtzahl emittierter Photonen berücksichtigt werden, da das zum Messzeitpunkt vorhandene Kontrastverhältnis nicht bekannt ist.

PEG-stabilisierte Dimere und das reine WSCP wurden mit elliptisch polarisiertem Licht angeregt, welches ein Kontrastverhältnis von 3 (senkrechte Polarisation ( $0^\circ$  bzw.  $180^\circ$ )) zu 1 (waagerechte Polarisation,  $90^\circ$  bzw.  $170^\circ$ ) hatte (siehe Abbildung 4.49a). Auf Grund der Kenntnis des Kontrastverhältnisses konnten für PEG-stabilisierte Dimere neben der Summe der bis zum irreversiblen Photobleichen emittierte Photonen auch die maximale Zahl emittierter Photonen pro Zeiteinheit sowie der Zeitpunkt des irreversiblen Photobleichens zur Auswertung herangezogen werden. Trotzdem stellt die elliptische Polarisation, zusammen mit der geringen Statistik gemessener Dimere, für die Auswertung ein Problem dar, da die Feldverstärkung bzw. die Erzeugung eines Dipolfeldes im Zwischenraum beider GNPs stark von der Anregungspolarisation abhängig ist und unter Umständen das einfallende Feld durch die Wechselwirkung der Partikelplasmonen sogar abgeschwächt werden kann (vgl. Abschnitt 4.1 Abbildung 4.4). Zusätzlich soll nochmals darauf hingewiesen werden, dass die Feldverstärkungen und die Lage der Plasmonenresonanz eines Dimers größen- und abstandsabhängig sind (siehe Abschnitt 2.1.2), und die genaue Orientierung und Position des WSCPs nicht bekannt sind. Aus diesen Gründen folgt hier nur eine qualitative Betrachtung der Ergebnisse.

Zunächst sollen für das an PEG-stabilisierte GNPs gebundene WSCP die Bleichzeitpunkte und maximalen Photonenzählraten mit denen des reinen WSCPs verglichen werden. Für die Experimente wurden zwei verschiedenen Proben mit PEG-stabilisierten GNPs verwendet. Die Extinktionsspektren der GNPs, der SA-PEG-GNPs und der mit WSCP assemblierten GNPs sind in Anhang in Abbildung A.13a und b gezeigt. Die mittleren Durchmesser der GNPs betragen  $(52 \pm 7)$  nm (a)<sup>16</sup> und  $(42 \pm 7)$  nm (b)<sup>17</sup>. Die Proben wurden mit 2 bzw. 1,5 Äquivalenten WSCP umgesetzt. Sowohl die leicht unterschiedlichen mittleren Partikelgrößen und PEG-Verhältnisse (400/4000 COOH-PEG:1 Biotin-PEG) als auch die unterschiedlichen WSCP-GNP-Verhältnisse hatten keinen Einfluss auf die durchgeführten Messungen bzw. Ergebnisse.

Im Histogramm in Abbildung 4.50a sind die für die WSCP-Referenzmessung und die Dimere mit PEG-stabilisierten GNPs ermittelten maximalen, um die Hintergrundzählraten bereinigten<sup>18</sup>, detektierten Photonenzählraten dargestellt. Das Histogramm in Abbildung 4.50b zeigt die Bleichzeitpunkte<sup>19</sup> für die gleichen Messungen. Die für die Dimere

---

<sup>16</sup>TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1k

<sup>17</sup>TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1h

<sup>18</sup>Das Untergrundsignal wurde zur Ermittlung der tatsächlich auf die WSCP-Fluoreszenz zurückzuführenden Werte vom Gesamtsignal subtrahiert.

<sup>19</sup>Zeitpunkt, an dem ein Sprung in der Zeitspur vorhanden ist und kein WSCP-Fluoreszenzspektrum mehr detektiert wird.

aufgetragenen Werte wurden für die oben beschriebene elliptische Anregungspolarisation folgendermaßen korrigiert: Mit Hilfe eines Polarisationsfilters, welcher hinter dem  $\lambda/4$ -Plättchen platziert wurde, wurde in  $10^\circ$ -Schritten die resultierende Leistung gemessen. Die Korrekturfaktoren wurden durch Division der gemessenen Leistung durch die maximale Leistung bestimmt. Die Orientierung der Dimere wurde aus den AFM-Aufnahmen ermittelt. Eine senkrechte Ausrichtung des Dimers entsprach dabei einem Winkel von  $0^\circ$  und einem Korrekturfaktor von 1, eine waagerechte Ausrichtung einem Winkel von  $90^\circ$  und einem Korrekturfaktor von 0,32 (siehe auch Abbildung 4.49). Die ermittelten maximalen Photonenzählraten wurden durch diese Werte dividiert, die ermittelten Bleichzeitpunkte mit diesen Werten multipliziert. Nur so ist eine Vergleichbarkeit der gemessenen Werte gewährleistet, da das resultierende, die longitudinale Plasmonmode anregende Feld maßgeblich für die auf das WSCP wirkende Anregungsleistung ist. Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass nicht nur die für jedes Dimer entsprechend seiner Orientierung individuelle Anregungsleistung variiert, sondern auch das Dipolfeld im Zwischenraum der GNPs abschwächende Feld (vgl. Abbildung 4.4b) mit senkrechter Polarisation zur Dimerverbindungsachse für jedes Dimer unterschiedlich ist, was nicht berücksichtigt werden kann.

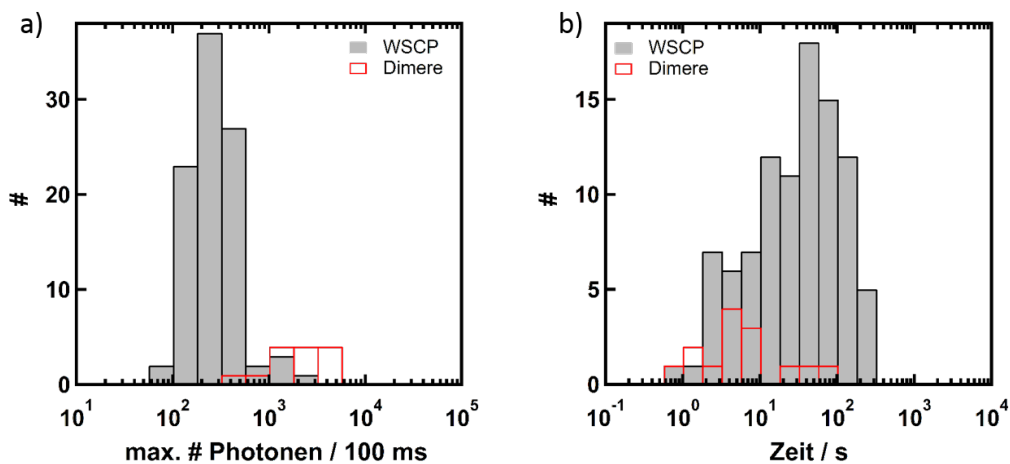
Nichtsdestotrotz wird deutlich, dass die mittlere maximale Photonenzählrate für die Dimere um etwa eine Größenordnung höher ist (184 für WSCP, 1672 für WSCP an Dimeren), gleichzeitig reduziert sich der mittlere Bleichzeitpunkt des WSCPs (39,9 s für reines WSCP, 11,1 s für WSCP an GNP-Dimeren). Die maximale Anzahl emittierter Photonen der Dimere im Vergleich zu denen des reinen WSCPs ist um den Faktor 9,1 erhöht, die mittlere Zeit bis zum Bleichen des WSCPs um den Faktor 3,6 verkürzt. Die Werte sind in Tabelle 4.4 zusammengefasst. Unter Einbeziehung der sehr geringen Gesamtzahl untersuchter Dimere passen beide Werte relativ gut zueinander, da auch theoretisch eine erhöhte Anregungsrate in einer im gleichen Maße erhöhten Emissionsrate resultieren sollte, d.h. eine Verdopplung der Anregungsleistung sollte in einer Verdopplung sowohl der maximalen Photonenzählrate als auch einer Halbierung der Lebensdauer des Fluorophors resultieren. Es bleibt festzuhalten, dass das WSCP durch das durch die Nanoantenne verstärkte Feld einer stärkeren Anregungsrate ausgesetzt ist.

Die theoretische Anregungsverstärkung kann aus der Feldverstärkung abgeschätzt werden. Diese beträgt bei einem Interpartikelabstand von 10 nm  $14^{20}$ . Daraus resultiert eine auf das Fluorophor wirkende Anregungsverstärkung von  $14^2 = 196$  (vgl. Gleichung 2.9). Die aus den Bleichzeitpunkten und den maximalen Photonenzählraten abzuschätzende Anregungsverstärkung von 3,6 bis 9,1 ist deutlich geringer, als die theoretisch erwartete. Als Ursachen hierfür kommen in Frage:

- Sättigung der WSCP-Emission durch eine wahrscheinlich real viel stärker erhöhte

---

<sup>20</sup>Der Abstand wurde aus den Cryo-TEM-Aufnahmen in Abschnitt 4.4 und aus den AFM-Höhenbildern bestimmt.

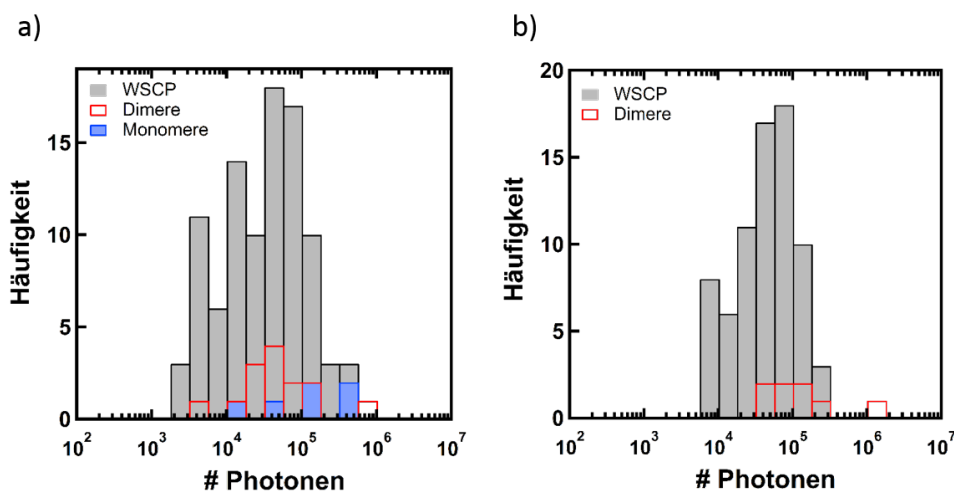


**Abbildung 4.50.:** Histogramme mit a) der maximal gemessenen Photonenzählrate und b) der Dauer bis zum Bleichen der WSCP-Fluoreszenz von PEG-stabilisierten WSCP-verknüpften GNP-Dimeren zusammen mit den Werten von reinem WSCP. Die Werte der PEG-Dimere wurden wegen der elliptischen Polarisation des Anregungslichts so korrigiert, dass die Anregungsleistung für alle Dimere parallel zur Dimerverbindungsachse gleich war. Es sind nur die Photonenzählraten verwendet worden, bei denen anhand der Spektren sichergestellt werden konnte, dass die Photonen vom WSCP stammten.

Anregungsrate,

- ungünstige Positionierung des WSCPs, entweder nicht im Bereich der maximalen Feldverstärkung oder zu nah an den GNP-Oberflächen, sodass ein Energietransfer auf die GNPs stattfinden kann, welcher die Fluoreszenz des WSCP löscht,
- ungünstige Orientierung des Übergangsdipolmoments beider Chla-Dimere im WSCP relativ zu den Dipolfeldlinien des Dimers und
- eine auf Grund des immer auf das Dimer auftreffenden senkrecht zur Dimerlängsachse polarisierten Feldvektors verminderte Feldstärke, wie in Abbildung 4.4 dargestellt (siehe S. 55).

Abschließend soll überprüft werden, ob sich, abgesehen von der nachgewiesenen Verstärkung der Anregung des WSCPs durch das Dimerfeld, gegebenenfalls auch die Summe der vom an die GNPs gebundenen WSCP emittierten Photonen im Vergleich zu denen des reinen WSCPs erhöht hat. Dies wäre ein Nachweis für eine Verstärkung der strahlenden Abregungsraten, und würde zu der (gewünschten) Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute und in einer „tatsächlichen“ Fluoreszenzverstärkung resultieren. Die entsprechenden Histogramme sind in Abbildung 4.51 gezeigt. Da die Gesamtzahl detektierter Photonen bis zum Bleichen eines Fluorophors im linearen Bereich unabhängig von der Anregungsleistung ist, konnten hierfür auch die mit einer nicht optimalen Justage des Set-Ups durchgeführten Messungen an SA-GNPs ausgewertet werden. Die Ergebnisse der SA-stabilisierten GNPs



**Abbildung 4.51.:** Histogramme der Gesamtzahl emittierter Photonen für a) SA-stabilisierte WSCP-verknüpfte Dimere, SA-stabilisierte GNP-Monomere mit angebondenem WSCP und reinem WSCP b) PEG-stabilisierten WSCP-verknüpften GNP-Dimeren und der entsprechenden WSCP-Referenz. Die beiden Histogramme der WSCP-Referenzen unterscheiden sich, da bei beiden Messungen ein anderer Versuchsaufbau verwendet wurde (Details siehe [187].)

sind in Abbildungsteil (a) zusammengefasst, die der PEG-stabilisierten GNPs in Abbildungsteil (b). Die in beiden Abbildungen gezeigten Daten des reinen WSCPs stammen aus den mit den jeweiligen Versuchsaufbauten durchgeführten Referenzmessungen. Die Daten der SA-stabilisierten GNPs stammen aus drei Proben, welche jeweils ausgehend von den gleichen citrat-stabilisierten GNPs erhalten wurden. Zum einen kam die bereits oben erwähnte Dimerfraktion aus Abschnitt 4.5.1 (Abbildung 4.34d, S. 103) zum Einsatz. Von diesen GNPs wurden zwei weitere Proben mit 2 Äquivalenten WSCP präpariert und ebenfalls mittels VGZ aufgetrennt. Die Extinktionsspektren dieser sind im Anhang in Abbildung A.13c gezeigt.

Die mittleren detektierten Photonenzahlen bis zum Bleichen des WSCPs sind in Tabelle 4.4 aufgeführt. Die mittleren Photonensummen SA-stabilsierter Dimere ( $12,2 \cdot 10^4$ ) und Monomere ( $14,8 \cdot 10^4$ ) sind 2,6 bzw. 3,2 mal höher als die des reinen WSCPs ( $4,7 \cdot 10^4$ ). Auch die für die PEG-Dimere im Mittel detektierte Gesamtphotonenzahl liegt über der des reinen WSCPs, allerdings ist der Unterschied mit einem Faktor von 1,6 deutlich kleiner als im Falle der Messreihe mit SA-stabilisierten GNPs ( $4,5 \cdot 10^4$  vs.  $7,0 \cdot 10^4$ ). Offenbar gibt es also eine Beeinflussung der WSCP-Fluoreszenz nicht nur durch die aus dem verstärkten Feld resultierende erhöhte Anregungsrate, sondern darüber hinaus auch eine erhöhte strahlende Rekombinationsrate. Die unterschiedlichen Werte könnten mit den im Mittel etwas geringeren Partikelabständen bei SA-stabilisierten GNPs im Vergleich zu den PEG-stabilisierten GNPs zurückzuführen sein. Dadurch ist der Überlapp zwischen Plasmonenresonanz und WSCP-Fluoreszenz für die SA-stabilisierten GNPs etwas höher, was zu den etwas größeren Zahlen emittierter Photonen führt.

**Tabelle 4.4.:** Zusammenfassung der spektroskopischen Einzelmoleküluntersuchung des an GNPs gebundenen WSCPs und der Referenzmessungen mit reinem WSCP.

	SA-GNPs			PEG-GNPs	
	WSCP-Ref.	Dimere	Monomere	WSCP-Ref.	Dimere
emittierte Photonen / $10^4$	4,7	12,2	14,8	4,5	7,0
Bleichzeitpunkt / s	—	—	—	39,9	11,1
max. Zählrate / 100 ms	—	—	—	184	1672

Erstaunlicherweise ist die Summe emittierter Photonen von an SA-stabilisierten Monomeren gebundenem WSCP am höchsten. Allerdings sind nur sechs Monomere gemessen worden, von denen bei drei Partikeln nicht eindeutig zugeordnet werden konnte, ob es sich um elongierte Monomere oder Dimere mit sehr kleinem Interpartikelabstand handelte, sodass für eindeutige Aussagen bezüglich einer Fluoreszenzverstärkung an Monomeren weitere Messungen durchgeführt werden müssen.

#### 4.6.4. Fazit

Neben der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie als Methode auf Ensemblesniveau eignet sich die kombinierte konfokale Fluoreszenzmikroskopie und Rasterkraftmikroskopie hervorragend zur Überprüfung der Präparationsmethoden. WSCP-Fluoreszenzspektren konnten an GNP-Dimeren aller drei vorgestellten Präparationsmethoden und auch nach einer Aufreinigung der Proben mit Viskositätsgradientenzentrifugation gemessen werden.

Weiterhin können die Wechselwirkungen zwischen Goldnanoantennen und WSCP untersucht werden. Mit Messung unter Variation der Anregungspolarisation konnte das Vorliegen des WSCPs im Zwischenraum beider Partikel gezeigt werden. Wurde das Plasmon mit senkrecht zur Dimerverbindungsachse polarisiertem Anregungslicht bestrahlt, konnte keine WSCP-Fluoreszenz detektiert werden. Das Feld wurde nur, wie theoretisch vorhergesagt, bei einer parallel zur Dimerverbindungsachse ausgerichteten Anregungspolarisation verstärkt. Für PEG-stabilisierte GNP-Dimere konnte eine Anregungsverstärkung des WSCPs, welche aus der Feldverstärkung im Zwischenraum beider GNPs resultiert, um einen Faktor von 3,6 bis 9,1 nachgewiesen werden. Die gefundenen Verstärkungsfaktoren liegen deutlich unter der aus den Simulationen erwarteten Anregungsverstärkung von 196.

Für weitere Untersuchungen bezüglich der durch das Dimerplasmon veränderten, auf das WSCP wirkenden Anregungsleistungen wäre es sinnvoll, die WSCP-Sättigungsleistung zu ermitteln sowie die Polarisation des Anregungslichts immer auf die Orientierung des Dimers abzustimmen. Die WSCP-verbrückten Dimere könnten auch mit geringerer Laserleistung angeregt werden, um die Prozesse bis zum Photobleichen des WSCPs genauer analysieren zu können. Eventuell wäre es dann auch möglich, das WSCP dem Verhalten bestimmter Typen des reinen WSCPs zuzuordnen (siehe Anhang A.1.8, Abbildung A.12).

Auch spektrale Sprünge und damit einhergehende Änderungen des Überlapps zwischen longitudinaler Plasmonenresonanz und WSCP-Fluoreszenz könnten dann besser detektiert und analysiert werden.

Die Summe emittierter Photonen des WSCPs ist an GNPs höher, als die des reinen WSCPs. Dies ist ein erster Hinweis auf eine positive Beeinflussung der strahlenden Rekombinationsprozesse des WSCPs. Für eine endgültige Aussage hierzu muss aber die Statistik WSCP-verbrückter Dimere vergrößert werden. SA-stabilisierte GNPs führen zu einer etwas größeren WSCP-Fluoreszenzverstärkung als PEG-stabilisierte GNPs. Dies erscheint vor dem Hintergrund der abstandsabhängigen Überlappung von WSCP-Fluoreszenzspektrum und GNP-Plasmonenresonanz plausibel: Der Interpartikelabstand zwischen zwei SA-stabilisierten GNPs sollte tendenziell kleiner sein, als bei PEG-stabilisierten GNPs, wodurch sich der Überlapp vergrößert. In diesem Zusammenhang sind weitere Experimente mit größeren GNPs und/oder kleineren Partikelabständen durchzuführen. Beides führt zu einer Verschiebung der Plasmonenresonanz in den längerwelligen Bereich und somit zu einem größeren Überlapp mit der WSCP-Fluoreszenz (Vgl. Abschnitt 4.2). Alternativ wäre auch der Einsatz von Chlorophyll *b* an Stelle des Chlorophyll *a* denkbar, da dieses bei kürzeren Wellenlängen fluoresziert und so stärker mit der Plasmonenresonanz überlappen würde.

## 5. Elektronische Kopplung von Halbleiternanokristallen und Perylendiimid

Wie in Abschnitt 2.2.5 diskutiert, eignen sich QDs auf Grund ihrer über die Partikelgröße, -form und -passivierung steuerbaren opto-elektronischen Eigenschaften hervorragend für den Einsatz in Energie- und Ladungstransfer involvierenden Anwendungen, wie Solarzellen [45, 136, 231] oder LEDs [6, 138]. Für den erfolgreichen Einsatz von QDs ist ein fundamentales Verständnis der elektronischen Wechselwirkungen mit ihrer direkten Umgebung bzw. mit den auf ihrer Oberfläche koordinierten Molekülen erforderlich.

Komplexe aus CdSe-basierten Kern-Schale QDs mit PDI wurden bereits ausführlich von Dr. Ting Ren im Rahmen ihrer Promotion im Hinblick auf Energietransferprozesse untersucht. Die hier vorgestellten Experimente sind eine Fortführung der Arbeiten von Dr. Ting Ren [63]. Durch Einstellen der Dicke der ZnS-Passivierungsschicht konnte gezeigt werden, dass der Energietransfer zwischen QDs, welche als Energiedonoren agieren, und PDI (Energieakzeptor) eine Abstandsabhängigkeit entsprechend der Förster-Theorie von  $1/s^{-6}$  aufweist (siehe Abschnitt 2.2.5) [63, 139]. Zentraler Gegenstand der durchgeführten Experimente der vorliegenden Arbeit ist die Analyse der elektronischen Wechselwirkungen von unpassivierten CdSe-QDs mit PDI.

Das verwendete PDI-Derivat ist mit zwei Carboxylat-Funktionen dekoriert, welche die Bindung an die Kristalloberflächen ermöglichen. Die Absorptions- und Fluoreszenzspektren von diesem PDI sind in Abbildung 5.1 gezeigt. Die Fluoreszenzquantenausbeute beträgt 95%<sup>1</sup>. Die Bindung des PDIs an die QDs erfolgt durch einfaches Mischen von Farbstoff- und QD-Lösung [63], wie im Reaktionsschema in Abbildung 5.2 gezeigt. Durch anschließendes Ausfällen der mit PDI funktionalisierten QDs und Zentrifugieren kann das im Anschluss im Überstand befindliche, nicht an der QD-Oberfläche gebundene PDI aus den Lösungen entfernt werden. Die spektral dem PDI zuzuordnende Absorption und Fluoreszenz der Komplexlösungen stammt also ausschließlich von an den QDs gebundenem PDI.

Mit dem Einsatz geeigneter QDs ist es möglich, je nach Wahl der Anregungswellenlänge selektiv die QDs (390 nm) oder das PDI (z. B. 570 nm) in den QD-PDI-Komplexen anzuregen. Zur Illustration sind in Abbildung 5.3 das Absorptionsspektrum des PDIs und ein

---

<sup>1</sup>Bestimmt mit dem Referenzfarbstoff ATTO520.

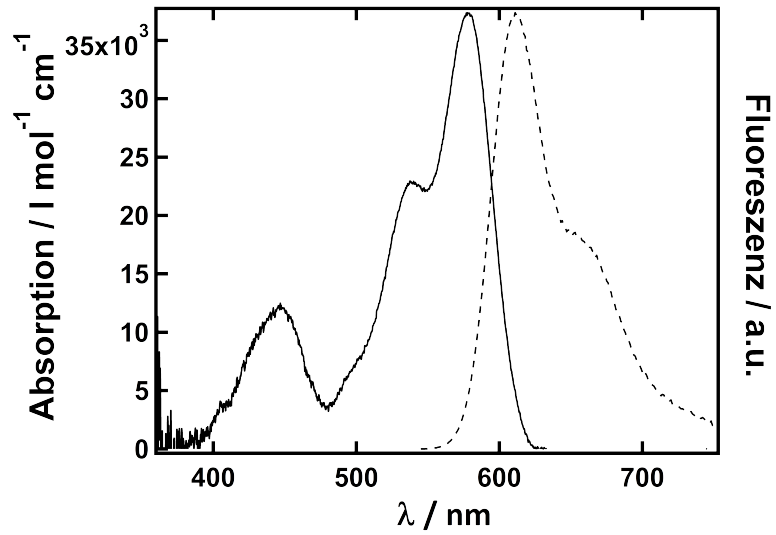


Abbildung 5.1.: Absorptions- und Fluoreszenzemissionsspektrum des verwendeten PDIs

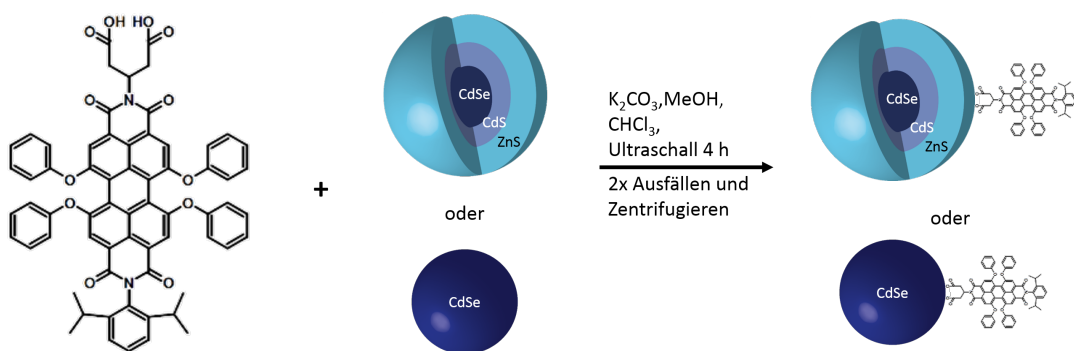
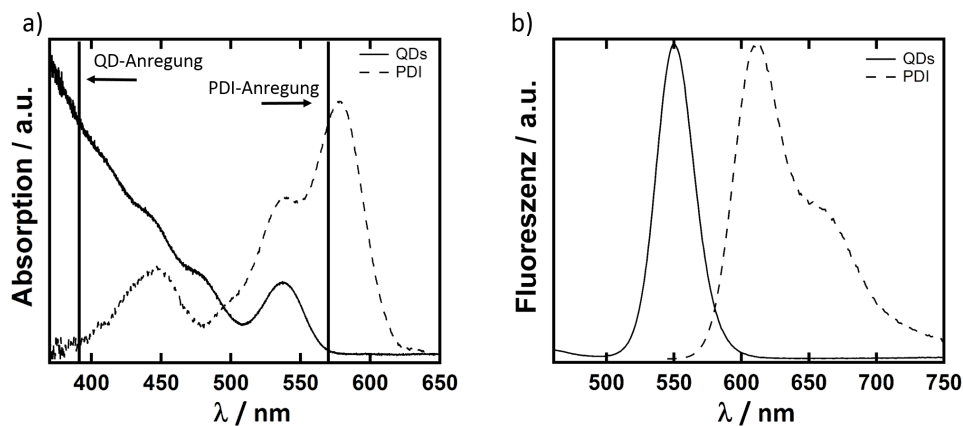


Abbildung 5.2.: Illustration zum Aufbau der PDI-QD-Komplexe. Die genaue Beschreibung der Synthese findet sich in Abschnitt 3.2.



**Abbildung 5.3.:** a) Absorptionsspektren und b) Fluoreszenzemissionsspektren des verwendeten PDIs und von exemplarischen QDs (CdSe-QDs mit 1 ML CdS und 2 ML ZnS).

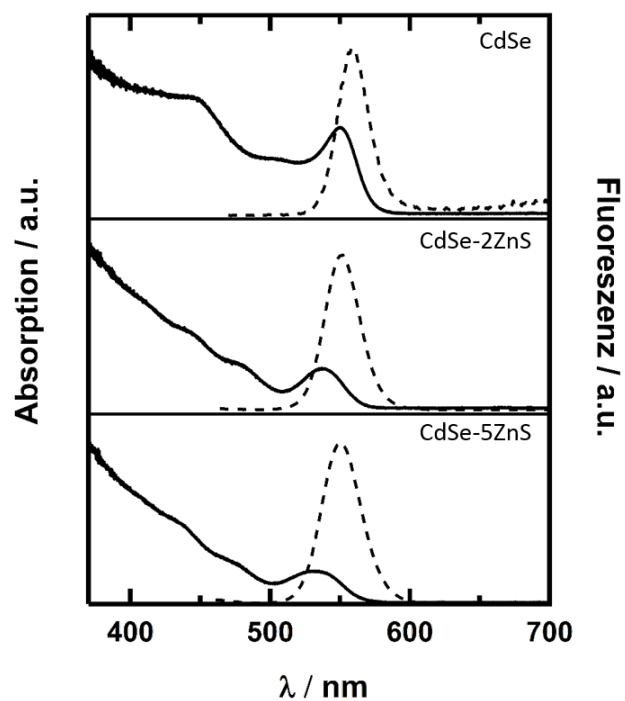
exemplarisches Absorptionsspektrum einer QD-Lösung gezeigt. Nach selektiver Anregung der QDs kann der Energietransfer auf das PDI analysiert werden. Mögliche Wechselwirkungen zwischen den QDs im Grundzustand und dem angeregten PDI können nach selektiver Anregung des PDIs untersucht werden.

## 5.1. Charakterisierung der Halbleiternanokristalle

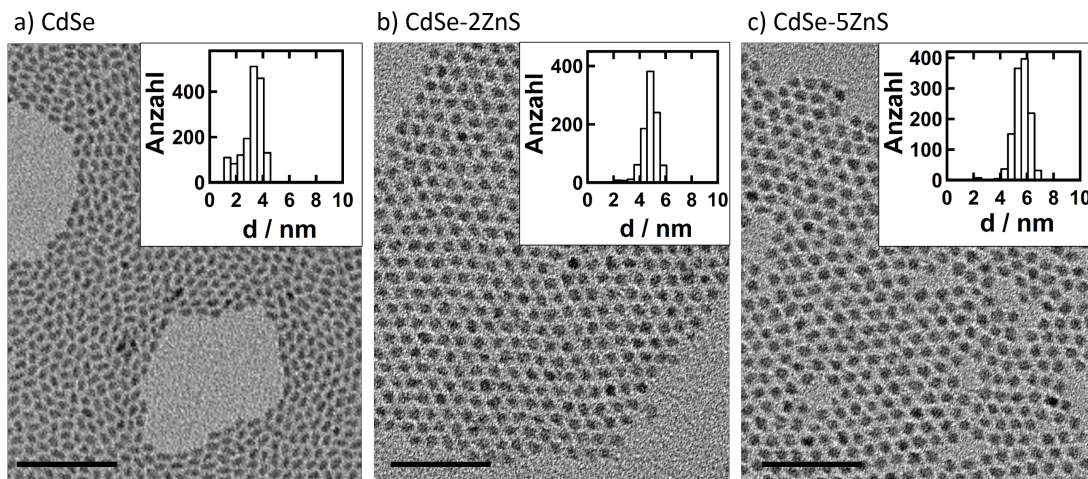
Neben mehreren Chargen unpassivierter CdSe-Kerne wurden für die Untersuchung des Einflusses der ZnS-Passivierungsschicht auf die elektronischen Wechselwirkungen zwischen CdSe-QDs und PDI auch CdSe-basierte QDs mit einer Monolage (ML) CdS und zwei (CdSe-2ZnS) bzw. fünf ML ZnS (CdSe-5ZnS), synthetisiert. Die Spektren der beiden passivierten QDs und einer exemplarischen CdSe-QD-Charge sind in Abbildung 5.4 dargestellt.

Die QDs wurden gezielt so synthetisiert, dass

- die Fluoreszenzemissionsmaxima aller QD-Varianten bei der gleichen Wellenlänge liegen,
- die Fluoreszenzspektren der QDs für einen effizienten Energietransfer auf die an ihrer Oberfläche gebundenen PDIs möglichst stark mit der Absorption des PDIs überlappen,
- die Absorption der QDs nicht mit der Fluoreszenz des PDIs überlappt, um einen Energietransfer vom PDI auf die QDs zu unterbinden und
- die Fluoreszenzspektren der QDs und des PDIs nicht überlappen, um die QD- und PDI-Beiträge zur gesamten Fluoreszenzintensität der Komplexe möglichst einfach extrahieren zu können.



**Abbildung 5.4.:** Absorptions- und Fluoreszenzspektren der CdSe-QDs, der CdSe-QDs mit 1 ML CdS und 2 ML ZnS (CdSe-2ZnS) und der CdSe-QDs mit 1 ML CdS und 5 ML ZnS (CdSe-5ZnS). CdSe-2ZnS und CdSe-5ZnS wurden ausgehend von den gleichen CdSe-Kernen synthetisiert. Die  $QY_{Fl}$  sind in Tabelle 5.1 angegeben.



**Abbildung 5.5.:** Exemplarische TEM-Aufnahmen von a) CdSe, b) CdSe-2ZnS und c) CdSe-5ZnS mit den zugehörigen Histogrammen der Größenverteilungen. Die ermittelten mittleren Durchmesser betragen 3,3 nm für CdSe, 4,8 nm für CdSe-2ZnS und 5,4 nm für CdSe-5ZnS.

**Tabelle 5.1.:** Charakterisierung der QDs

Typ	$\lambda_{Abs}$	$\lambda_{FI}$	d / nm	$QY_{FI}$ / %, vorher <sup>a</sup>	$QY_{FI}$ / %, nachher <sup>b</sup>
CdSe	547 nm	557 nm	3,3	11	2
CdSe-2ZnS	540 nm	556 nm	4,8	68	14
CdSe-5ZnS	540 nm	555 nm	5,4	59	46

<sup>a</sup>nach der QD-Synthese

<sup>b</sup>nach der Prozedur zur Synthese der Komplexe. Die Prozedur wurde ohne PDI durchgeführt.

Exemplarische TEM-Aufnahmen der drei QD-Varianten sind in Abbildung 5.5 zusammen mit den Histogrammen der Größenverteilungen gezeigt. Die CdSe-QDs weisen eine leicht elongierte Form auf und haben einen mittleren Durchmesser von 3,3 nm. CdSe-2ZnS und CdSe-5ZnS wurden ausgehend von der gleichen CdSe-Kern-Charge synthetisiert. Die CdSe-2ZnS-QDs besitzen einen Durchmesser von 4,8 nm. Die mit nominell fünf ML ZnS beschichteten CdSe-5ZnS-QDs sollten theoretisch einen 1,8 nm größeren Durchmesser haben als die CdSe-2ZnS-QDs<sup>2</sup>. Da der Durchmesser aber nur bei 5,4 nm liegt, ist davon auszugehen, dass die tatsächlich vorliegende ZnS-Schichtdicke geringer ist. Es liegen eher drei bis vier ML ZnS vor, als fünf. Die Abnahme der Intensität des niederenergetischsten Übergangs im Verhältnis zu den höherenergetischen zusammen mit der spektralen Verbreiterung des niederenergetischsten Übergangs sowie der leichten Ver-

<sup>2</sup>Eine ZnS-Monolage hat eine Dicke von 0,31 nm (der Abstand zwischen Ebenen entlang der [002]-Achse im Bulk-ZnS), was zu einer Erhöhung des Durchmessers um etwa 0,6 nm pro ZnS-Monolage führt [56].

ringerung der Fluoreszenzquantenausbeute<sup>3</sup> (siehe Abbildung 5.4d) unterstreichen, dass die ZnS-Schicht dicker als in den CdSe-2ZnS-QDs ist. In Tabelle 5.1 sind die Parameter der verschiedenen QDs zusammengefasst. Zur Charakterisierung der Proben wurden auch die Fluoreszenzquantenausbeuten  $QY_{FI}$  der QDs nach der Synthese und nach der Prozedur zur Herstellung der Komplexe (ohne PDI) bestimmt. Es sei darauf hingewiesen, dass sich die  $QY_{FI}$  in Folge der Prozedur in allen drei Fällen reduziert, da durch die Prozesse passivierende Liganden von der Oberfläche der QDs entfernt werden, und so nicht strahlende Übergänge auf Oberflächenfallenzustände gefördert werden. Auffällig ist, dass die  $QY_{FI}$  der CdSe-2ZnS-QDs deutlich stärker abnimmt (68% auf 14%), als die der CdSe-5ZnS-QDs (59% auf 46%), was abermals auf eine dickere und damit besser passivierende ZnS-Schicht auf diesen QDs hindeutet.

## 5.2. Statische spektroskopische Untersuchungen

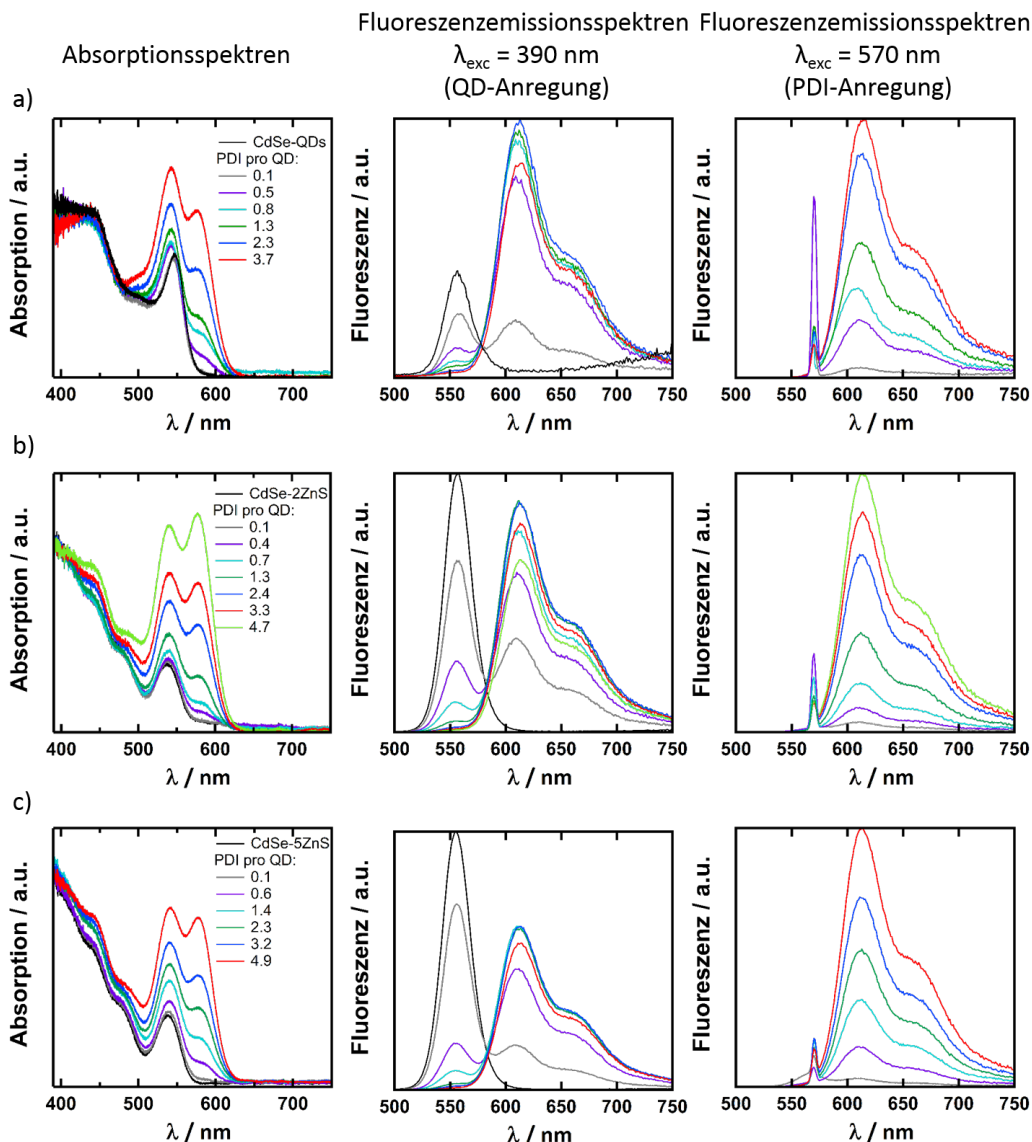
Nach der in Abschnitt 3.2 beschriebenen Vorgehensweise wurden PDI-QD-Komplexe mit verschiedenen PDI-QD-Verhältnissen synthetisiert. Von diesen wurden Absorptionsspektren und Fluoreszenzemissionsspektren nach Anregung der QDs und des PDIs aufgenommen, welche in Abbildung 5.6 dargestellt sind. Es wurden Proben mit nominell 0 PDI bis etwa 5 PDI pro QD hergestellt. Zur Bestimmung der in der Abbildung angegebenen PDI-QD-Verhältnisse wurde folgendermaßen vorgegangen: An Hand der Absorptionsspektren der finalen QD-PDI-Lösungen wurde die genaue PDI-Konzentration mit dem Extinktionskoeffizienten von PDI berechnet. Die finale CdSe-Konzentration wurde aus der Intensität des ersten exzitonischen Übergangs mit der für CdSe gegebenen Formel aus [111] berechnet. Dies war für die Kern-Schale-Partikel nicht möglich. Hier wurde davon ausgegangen, dass die Konzentration der QDs gleich der zur Beschichtung eingesetzten CdSe-QDs ist.

Der steigende PDI-Gehalt in den Proben ist an der steigenden Absorbanz im Bereich des Absorptionsmaximums des PDI bei etwa 570 nm deutlich bei allen drei QD-Varianten zu erkennen. Nach selektiver Anregung der QDs mit einer Wellenlänge von 390 nm ist bei allen QD-Varianten eine zunehmende Löschung der QD-Fluoreszenz mit steigendem Farbstoffgehalt bei gleichzeitiger Zunahme der PDI-Fluoreszenzintensität zu erkennen. Auffällig ist zunächst, dass die PDI-Fluoreszenzintensität bei allen QD-Proben mit den größten PDI-QD-Verhältnissen geringer ist als die der Proben mit den nächstkleineren Verhältnissen. Wird mit einer Wellenlänge von 570 nm selektiv PDI in den Komplexen angeregt, steigt die Fluoreszenzintensität mit steigender PDI-Konzentration.

Zur genaueren Analyse wurden die PDI-Fluoreszenzintensitäten aus den Spektren ermittelt und in den Abbildungen 5.7a und b in Abhängigkeit von der PDI-Konzentration aufgetragen. Zum Vergleich sind auch die Werte einer reinen PDI-Lösung gezeigt. Es sind,

---

<sup>3</sup>Die Verringerung der Fluoreszenzquantenausbeute bei Passivierung von CdSe-QDs mit Wurtz-Struktur mit ZnS-Schichten des Zinkblende-Strukturtyps wird auf Gitterverzerrungen/-versetzungen/-fehlstellen auf Grund der unterschiedlichen Gitterparameter zurückgeführt [56].



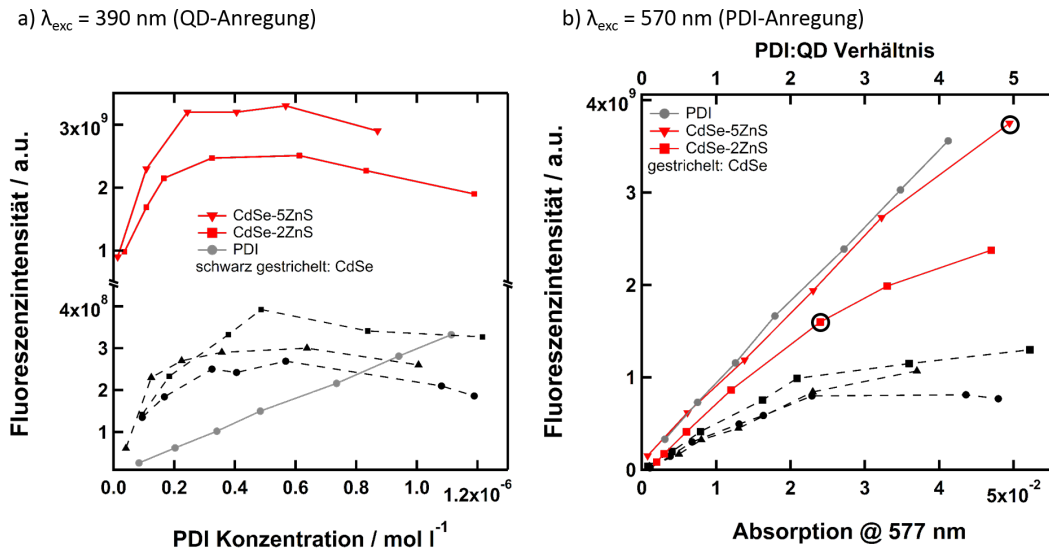
**Abbildung 5.6.:** Absorptions- und Fluoreszenzspektren der a) CdSe-PDI-Komplexe, b) CdSe-2ZnS-PDI-Komplexe und c) der CdSe-5ZnS-PDI-Komplexe. In der linken Spalte sind die Absorptionsspektren gezeigt, in der mittleren Spalte die Fluoreszenzspektren nach QD-Anregung mit einer Wellenlänge von 390 nm und in der rechten Spalte die Fluoreszenzspektren nach PDI-Anregung mit einer Wellenlänge von 570 nm. Alle Spektren wurden in Chloroform gemessen.

abgesehen von der CdSe-Charge aus Abbildung 5.6a, auch die Werte zweier zusätzlicher CdSe-Chargen gezeigt.

In Abbildung 5.7a sind die Fluoreszenzemissionsintensitäten nach Anregung mit 390 nm dargestellt. Die Daten wurden für die unterschiedlichen optischen Dichten der Lösungen korrigiert. Auf Grund des Energietransfers von den QDs auf die an ihrer Oberfläche gebundenen PDIs sind die Fluoreszenzintensitäten bei beiden Kern-Schale-QDs bei geringen PDI-Konzentrationen mehr als zehnmal größer als im Falle von reinem PDI, wobei die der CdSe-5ZnS-QDs etwas höher sind, als die der CdSe-2ZnS-QDs. Dies ist auf die deutlich höhere Fluoreszenzquantenausbeute der CdSe-5ZnS-QDs (46%) im Vergleich zu der der CdSe-2ZnS-QDs (11%) zurückzuführen, welche den erhöhten Donor-Akzeptor-Abstand (hervorgerufen durch die größere Anzahl von ZnS-Schichten) kompensiert. Bei hohen PDI-Gehalten (letzter Datenpunkt der CdSe-5ZnS-Komplexe und die drei letzten Punkte der CdSe-2ZnS-Komplexe) nimmt die Fluoreszenzintensität allerdings ab.

Auch die PDI-Fluoreszenzintensitäten der Komplexe mit CdSe-QDs sind bei geringen PDI-Konzentrationen (entspricht gleichzeitig geringen PDI-QD-Verhältnissen) höher, als die des reinen PDIs, was ebenfalls auf den Energietransfer von den angeregten QDs auf die an ihrer Oberfläche gebundenen PDIs zurückzuführen ist [63]. Die Fluoreszenzintensitäten des PDIs sind in diesen Komplexen insgesamt deutlich geringer als bei den Kern-Schale-QDs, da die Fluoreszenzquantenausbeuten der CdSe-Kerne nur zwischen 2% und 5% lagen. Die leicht variierenden Intensitäten für die drei gezeigten CdSe-PDI-Komplexe sind wahrscheinlich auf unterschiedliche Energietransfereffizienzen, resultierend aus den etwas unterschiedlichen Fluoreszenzquantenausbeuten der einzelnen CdSe-Chargen zurückzuführen und sollen nicht Gegenstand weiterer Diskussionen im Rahmen dieser Arbeit sein. Viel interessanter ist die Tatsache, dass, nach der zu erwartenden Stagnation der Fluoreszenzintensitätszunahme des PDIs auf Grund der vollständigen Löschung der CdSe-Fluoreszenz (vgl. Abbildung 5.6a), bei höheren PDI-Konzentrationen die Fluoreszenzintensität des PDIs an den CdSe-QDs geringer ist, als die von reinen PDI-Lösungen.

Unter der Annahme, dass die PDI-Fluoreszenz nicht von den im Grundzustand befindlichen QDs beeinflusst wird, werden bei selektiver Anregung des PDIs (Anregungswellenlänge 570 nm) in den Komplexen die gleichen Fluoreszenzintensitäten wie bei reinen PDI-Lösungen erwartet. Die entsprechenden Intensitäten sind in Abbildung 5.7b in Abhängigkeit der PDI-Konzentration aufgetragen. Die PDI-Fluoreszenzintensitäten aller Komplexe mit nicht passivierten CdSe-QDs sind aber deutlich geringer und folgen keinem linearen Verlauf. Die Proben mit CdSe-2ZnS-QDs zeigen bei geringen PDI-Gehalten eine etwas geringere Fluoreszenzintensität als reines PDI und die CdSe-5ZnS-QD-PDI-Komplexe, weichen aber ab dem PDI-QD-Verhältnis von 2,3:1 stark vom linearen Verlauf des reinen PDIs ab (der Datenpunkt der Probe mit 2,3 PDI pro QD ist mit einem Kreis markiert). Wahrscheinlich trägt die Ursache dieser reduzierten Fluoreszenzintensitäten nach selektiver Anregung des PDIs auch zu den im Vergleich zu der Probenreihe mit CdSe-5ZnS-QDs geringeren Fluoreszenzintensitäten nach Anregung der QDs (siehe Abbildung 5.7a) bei.



**Abbildung 5.7.:** Zusammenfassung der PDI-Fluoreszenzintensitäten der statischen Messungen. a) Darstellung der Fluoreszenzintensitäten nach QD-Anregung. Die Werte der QD-PDI-Lösungen wurden auf eine gleiche Absorbanz der Proben bei  $\lambda_{Exc}$  normiert. b) Ergebnisse nach Anregung mit 570 nm.

Im Fall der mit 5 ML ZnS passivierten QDs weicht lediglich die Probe mit dem höchsten PDI-QD-Verhältnis (ebenfalls markiert) vom linearen Verlauf ab. Offenbar werden die spektralen Eigenschaften des PDIs von den QDs beeinflusst, wobei die Beeinflussung im Fall der CdSe-QDs am ausgeprägtesten ist.

### Die Fluoreszenzlöschung des PDIs ist nicht auf eine Wechselwirkung der PDI-Moleküle zurückzuführen

Die Veränderung spektraler Eigenschaften von organischen Chromophoren sind im Allgemeinen auf die Wechselwirkung der  $\pi$ -Systeme und/oder auf C-H-Wechselwirkungen zurückzuführen [232]. Je nach Art der Wechselwirkung werden Verschiebungen der Absorptionsspektren zu kürzeren Wellenlängen, begleitet von einer Reduzierung der Fluoreszenzintensität ( $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen), oder Verschiebungen der Absorptionsspektren zu größeren Wellenlängen unter Beibehaltung der Fluoreszenzintensität beobachtet [233]. In den vorgestellten Untersuchungen der QD-PDI-Komplexe ist die Fluoreszenzlöschung des PDIs abhängig von der Art der eingesetzten QDs und von den PDI-Konzentrationen auf den QDs (siehe Abbildung 5.7b). Die QDs besitzen aber nicht nur unterschiedliche elektronische Strukturen, sondern auch verschieden große Oberflächen, welche bei gleichen PDI-Konzentrationen pro QD zu unterschiedlichen intermolekularen Abständen zwischen den PDIs führen. Daher wäre es denkbar, dass die Reduzierung der PDI-Fluoreszenz an den CdSe-QDs, welche im Vergleich zu den Kern-Schale-QDs eine geringere Oberfläche pro Partikel aufweisen, aus einer Wechselwirkung der PDI-Moleküle untereinander auf der

Partikeloberfläche resultiert. Dieser Aspekt soll im Folgenden kurz diskutiert werden.

Molekülstrukturen des in der vorliegenden Arbeit verwendeten und zweier weiterer PDI-Derivate (PDI II und PDI III) mit ähnlicher Molekülstruktur<sup>4</sup> sind in Abbildung 5.8a dargestellt. Für Struktur II wurde in [233] eine relativ kleine Aggregationszahl von 1,4 ermittelt, was bedeutet, dass die PDI-Moleküle hauptsächlich als Dimere und Monomere vorliegen. Für die Struktur III, welche zusätzlich Diisopropylphenylsubstituenten in der Imidstruktur besitzt, konnte gar keine Aggregation beobachtet werden. In Abbildung 5.8b sind die Absorptionsspektren von Lösungen des unterschiedlich stark aggregierten PDI-Derivats II gezeigt [233]. In Folge der Aggregation kommt es zu einem Verlust der Feinstruktur des Absorptionsspektrums, und zu signifikanten Änderungen der Intensitätsverhältnisse der einzelnen Banden.

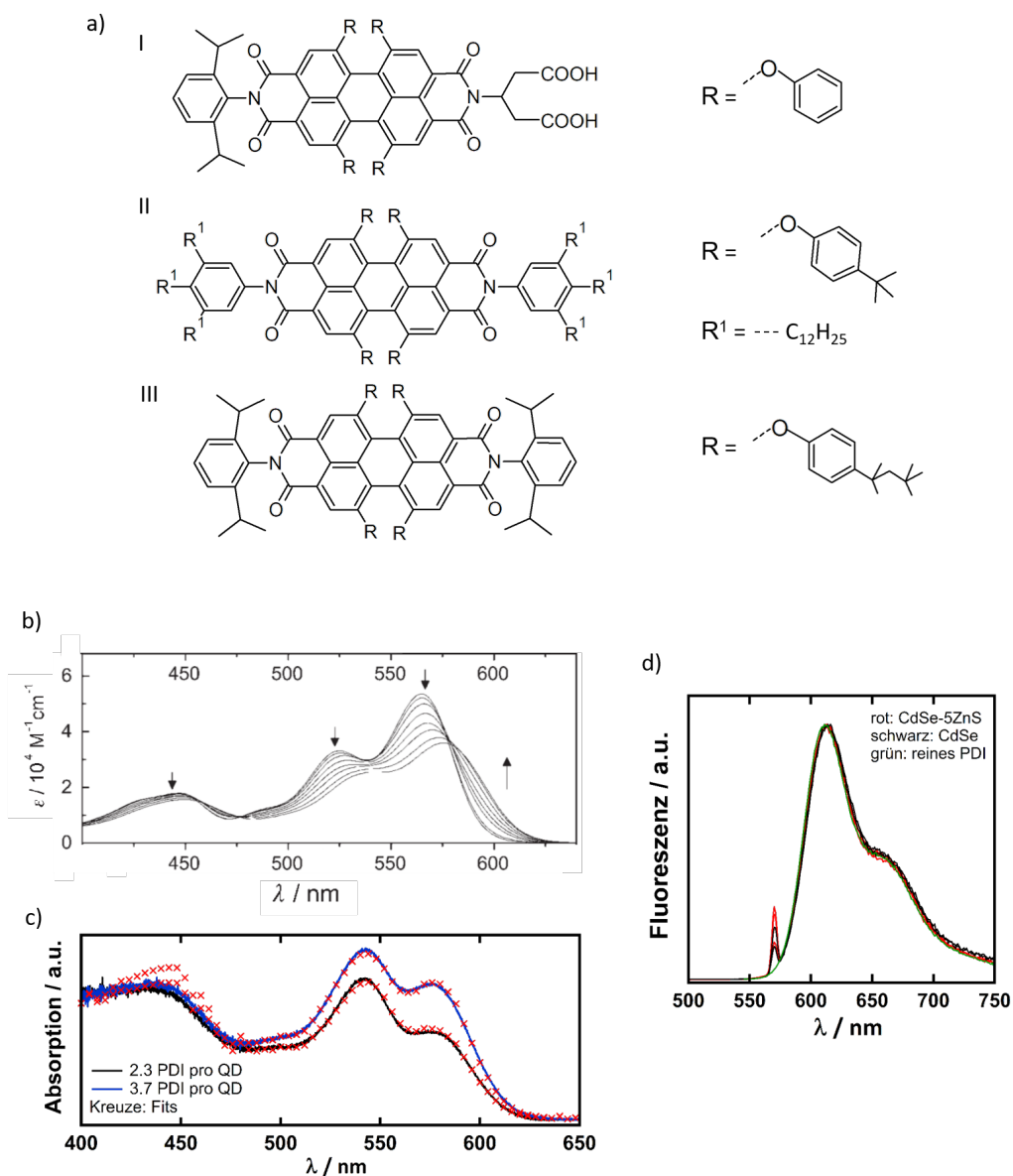
Sind die PDIs auf der QD-Oberfläche nicht aggregiert, sollte sich das gemessene Absorptionsspektrum der Komplexe aus den Beiträgen der reinen PDI- und der QD-Absorptionsspektren nachbilden lassen. Dies wurde für die Komplexlösungen mit PDI-Gehalten von 2,3 und 3,7 pro QD in Abbildung 5.8c durchgeführt. Für die Probe mit 2,3 PDI pro QD lässt sich das Spektrum der Komplexlösung sehr gut durch Addition der Spektren der einzelnen Komponenten darstellen. Im Fall der Probe mit 3,7 PDI ist nur bei einer Wellenlänge von etwa 450 nm eine Abweichung des berechneten Spektrums vom gemessenen Spektrum zu erkennen. Sollte dies von PDI-Aggregaten herrühren, müssten auch im restlichen untersuchten Wellenlängenbereich signifikante Diskrepanzen vorhanden sein (siehe Abbildung 5.8b). Insbesondere die zur Änderung bei 450 nm korrespondierende Abweichung bei etwa 600 nm fehlt aber. Es wird daher davon ausgegangen, dass die gefundene Abweichung nicht aus einer Aggregation des PDIs resultiert. Eventuell führt eine durch den Komplexierungsprozess mit PDI hervorgerufene Änderung der QD-Absorption zu dem beobachteten Unterschied.

Darüber hinaus wurden bei dem in [233] diskutierten PDI-Derivat II, im Gegensatz zu den bei den Komplexen gemachten Beobachtungen, keine reduzierten Fluoreszenzintensitäten gefunden. Allerdings kommt es in Folge der Aggregation zu einer Verschiebung des Emissionsmaximums um 31 nm zu höheren Wellenlängen, unter Beibehaltung der Intensitätsverhältnisse beider Fluoreszenzbanden. Zur Überprüfung wurden die Fluoreszenzemissionsspektren von reinem PDI und CdSe-PDI- sowie CdSe-5ZnS-PDI-Komplexen mit den jeweils beiden höchsten PDI-Gehalten im Maximum normiert und zusammen aufgetragen (Abbildung 5.8c). Spektrale Verschiebungen sind nicht vorhanden.

Des Weiteren wurden unter der Annahme, dass die PDI-Moleküle auf Grund der durch die Substituenten hervorgerufenen Verdrillung auf den QD-Oberflächen den größtmöglichen Abstand zueinander einnehmen, die Abstände zwischen den PDI-Schwerpunkten für unterschiedliche Belegungsdichten bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.2 aufgeführt. Selbst bei einer Belegung mit sechs PDI-Molekülen pro QD hätten die PDI-Kerne

---

<sup>4</sup>An Stelle der in den Bay-Positionen vorliegenden Phenoxy-Substituenten lagen *tert*-Butyl-Phenoxy-Substituenten (PDI II) bzw. *tert*-Octylphenoxy-Substituenten (PDI III) vor.



**Abbildung 5.8.:** a) Molekülstruktur des in der vorliegenden Arbeit verwendeten PDIs (I) und der PDIs aus [233] (II und III). b) Absorptionsspektren von II in verschiedenen Konzentrationen in Methylcyclohexan (Konzentrationsbereich von  $2.2 \cdot 10^{-6}$  M bis  $1.2 \cdot 10^{-2}$  M). Entnommen aus [233]. c) Absorptionsspektren der CdSe-PDI-Komplexe (durchgezogene Linien) und die zugehörigen, aus den Summen der Einzelspektren beider Komponenten erstellten Anpassungen (Kreuze). d) Auf das Fluoreszenzmaximum normierte Spektren von reinem PDI und CdSe-PDI- sowie CdSe-5ZnS-PDI-Komplexen mit den jeweils beiden höchsten PDI-Gehalten. Die Peaks bei 570 nm sind auf gestreutes Anregungslicht zurückzuführen.

**Tabelle 5.2.:** Erwartete PDI-PDI-Abstände bei verschiedenen PDI-Belegungen der CdSe-QDs. Berechnet wurden die Abstände zwischen den PDI-Schwerpunkten. Der Durchmesser der CdSe-QDs betrug 3,3 nm, die „Länge“ eines PDI-Moleküls wurde als 2 nm angenommen [63].

PDI-Anzahl (geometrische Anordnung)	PDI-Abstände
2 (Antipoden)	5,3 nm
3 (gleichseitiges Dreieck)	4,7 nm
4 (Tetraeder)	4,3 nm
5 (trigonale Bipyramide)	4,7 nm <sup>a</sup> /3,8 nm <sup>b</sup>
6 (Oktaeder)	3,8 nm

<sup>a</sup>vertikaler Abstand

<sup>b</sup>horizontaler Abstand

einen 3,8 nm großen Abstand zueinander. Der Wert ist fast zehnmal größer als die ermittelten  $\pi$ - $\pi$ -Stapelungsabstände des PDI-Derivats II aus [233], dessen Absorptionsspektren in Abbildung 5.8a gezeigt sind. Zusammen mit den fehlenden, auf Aggregation hindeutenden spektralen Änderungen erscheint eine Aggregation der PDI-Moleküle auf den CdSe-QD-Oberflächen als Ursache für die reduzierten Fluoreszenzintensitäten eher unwahrscheinlich.

### 5.3. Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie

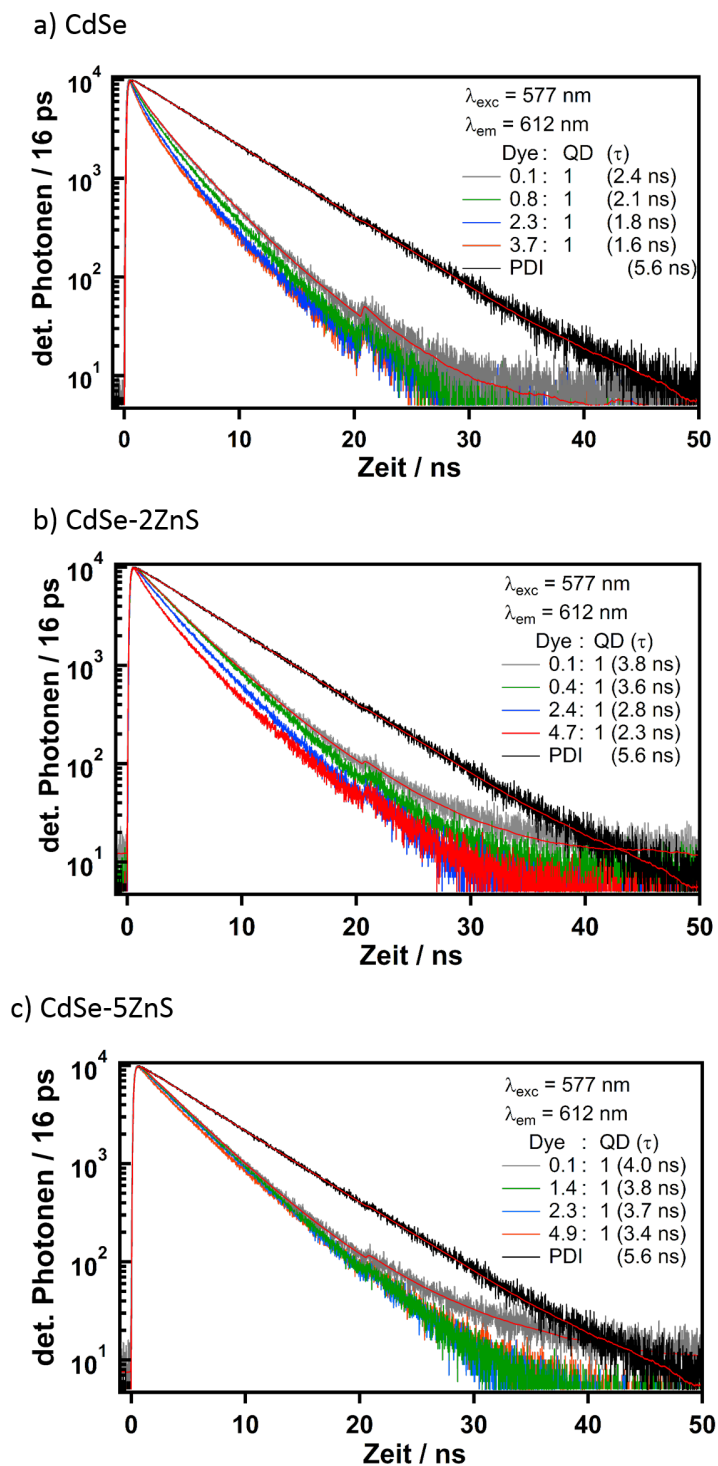
Zur genaueren Untersuchung des zu Grunde liegenden Mechanismus für die in Abschnitt 5.2 diskutierte PDI-Fluoreszenzlöschung an CdSe-QDs wurde von den in Abbildung 5.6 gezeigten Proben Fluoreszenzzerfallskurven gemessen. Im Falle der Kern-Schale-QDs wurden nur Experimente mit selektiver Anregung des PDIs durchgeführt, da der Energietransfer in solchen Systemen bereits ausführlich in [62] diskutiert wurde.

Die Zerfallskurven der CdSe-PDI-Komplexe nach Anregung mit 450 nm (QD-Anregung) und bei einer Detektionswellenlänge von 550 nm (Fluoreszenzmissionsmaximum der QDs) sind im Anhang in Abbildung A.14 gezeigt. Die Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauern ist in Abschnitt 3.3.2 auf Seite 46 beschrieben. Die Fluoreszenzlebensdauern verkürzen sich von 2,5 ns für reine CdSe-QDs auf 0,2 ns für die Probe mit 3,7 PDI pro CdSe-QD. Die Beschleunigung des Zerfalls ist auf die erhöhte Akzeptorkonzentration zurückzuführen, kann aber zusätzlich von einer erhöhten Anzahl von Fallenzuständen auf der QD-Oberfläche in Folge des Ligandenaustauschs/der Prozesse zur Anbindung des PDIs hervorgerufen werden (siehe Abschnitt 2.2.5). Da bereits die Fluoreszenzzerfallskurve der reinen QD-Lösung mit vier Zerfallskomponenten angepasst werden musste, war es aber nicht möglich, etwaige, beispielsweise durch den Energietransfer hervorgerufene, zusätzlich auftretende Relaxationsprozesse zu analysieren.

Interessanter ist die Fragestellung, ob und wie die Fluoreszenzlebensdauer des PDIs von den verschiedenen im elektronischen Grundzustand vorliegenden QDs beeinflusst wird. Hierzu wurde in den QD-PDI-Komplexen selektiv PDI mit einer Wellenlänge von 577 nm angeregt. Die Detektionswellenlänge der Emission lag bei 612 nm (Fluoreszenzemissionsmaximum des PDI). Die gemessenen Fluoreszenzzerfallskurven sind in Abbildung 5.9 zusammengestellt. Zur besseren Übersichtlichkeit sind nicht alle Proben dargestellt, die fehlenden Kurven sind in Abbildung A.15 gezeigt. Eine übersichtliche Zusammenfassung der mittleren amplitudengewichteten Zerfallszeiten  $\tau$  gibt Tabelle 5.3. Die Anpassung der Daten erfolgte wie in Abschnitt 3.3.2 beschrieben.

Der Fluoreszenzzerfall des reinen PDIs ist biexponentiell, mit einer schnellen Zerfallskomponente von 0,2 ns (Amplitude 0,06) und einer langen Komponente von 6,0 ns (Amplitude 0,94). Die längere Komponente ist typisch für PDI, die kürzere Komponente resultiert aus der Änderung der Konformation des Chromophors, welche von unterschiedlichen Orientierungen der Phenoxy-Substituenten stammen [234]. Die mittlere amplitudengewichtete Fluoreszenzlebensdauer des reinen PDIs beträgt 5,6 ns.

Die mittleren Fluoreszenzlebensdauern des an den QDs gebundenen PDIs sind in allen Komplexen kürzer als die des reinen PDIs. Am kürzesten sind die PDI-Fluoreszenzlebensdauern im Fall der Bindung an die CdSe-QDs, am längsten im Fall der CdSe-5ZnS-QD-PDI-Komplexe. Es fällt auf, dass bei den CdSe-PDI-Komplexen keine der Zerfallskurven zufriedenstellend mit zwei Komponenten angepasst werden konnte. Bei Komplexen mit CdSe-2ZnS-QDs konnten die Proben bis zu einem PDI-QD-Verhältnis von 1,3:1 mit zwei Komponenten zufriedenstellend angepasst werden, bei Komplexen mit CdSe-5ZnS-QDs war dies bis zu einem PDI-QD-Verhältnis von 3,2:1 der Fall. Dies entspricht auch genau den Proben in Abbildung 5.7b, ab denen die Fluoreszenzintensitäten des PDIs in den Komplexen deutlich gegenüber denen des reinen PDIs vermindert sind. Die jeweiligen Datenpunkte der Proben, ab welchen die Zerfallskurven mit drei Komponenten angepasst werden mussten, sind dort mit einem Kreis markiert. Offenbar existiert bei Proben mit diesen Zusammensetzungen ein zusätzlicher Zerfallskanal des angeregten PDIs, welcher aus einer Wechselwirkung mit den QDs im Grundzustand verursacht wird und von der Art der QDs beeinflusst wird. Da bereits die Fluoreszenzzerfallskurve des reinen PDIs mit zwei Komponenten angepasst werden musste, konnte keine weitere Analyse an Hand der einzelnen Zerfallszeiten und Amplituden durchgeführt werden. Die Zerfallszeiten und Amplituden der einzelnen Komponenten sind im Anhang A.2 in den Tabellen A.2, A.3 und A.4 zusammengefasst.



**Abbildung 5.9.:** Fluoreszenzabklingkurven der a) CdSe-PDI-Komplexe, b) CdSe-2ZnS-PDI-Komplexe und c) CdSe-5ZnS-PDI-Komplexe. Zusätzlich ist jeweils die Zerfallskurve des reinen PDIs gezeigt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nicht alle Proben dargestellt, die fehlenden Zerfallskurven sind im Anhang in Abbildung A.15 gezeigt. Für die Zerfallskurven des reinen PDIs und die Komplexe mit den jeweils gezeigten niedrigsten PDI-Gehalten sind außerdem exemplarisch die zur Bestimmung von  $\tau$  angepassten Fitfunktionen aufgetragen. Die Anregungswellenlänge lag bei 577 nm, die Detektionswellenlänge der Emission bei 612 nm.

**Tabelle 5.3.:** Mittlere amplitudengewichtete Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau$  der QD-PDI-Komplexe. Für reines PDI kann die Zerfallskurve mit zwei Komponenten angepasst werden, die amplitudengewichtete Fluoreszenzzerfallszeit liegt bei 5,6 ns. Die mit \* markierten Proben konnten nur mit drei Komponenten zufriedenstellend angepasst werden. Die Anregungswellenlänge lag bei 577 nm, die Emissionswellenlänge bei 612 nm.

CdSe-PDI		CdSe-2ZnS-PDI		CdSe-5ZnS-PDI	
PDI:QD	$\tau$ /ns	PDI:QD	$\tau$ /ns	PDI:QD	$\tau$ /ns
0,1:1	2,4*	0,1:1	3,8	0,1:1	4,0
0,5:1	2,3*	0,4:1	3,6	0,6:1	3,9
0,8:1	2,1*	0,7:1	3,4		
1,3:1	2,0*	1,3:1	3,3	1,4:1	3,8
2,3:1	1,8*	2,4:1	2,8*	2,3:1	3,7
3,7:1	1,6*	3,3:1	2,6*	3,2:1	3,6
		4,7:1	2,3*	4,9:1	3,4*

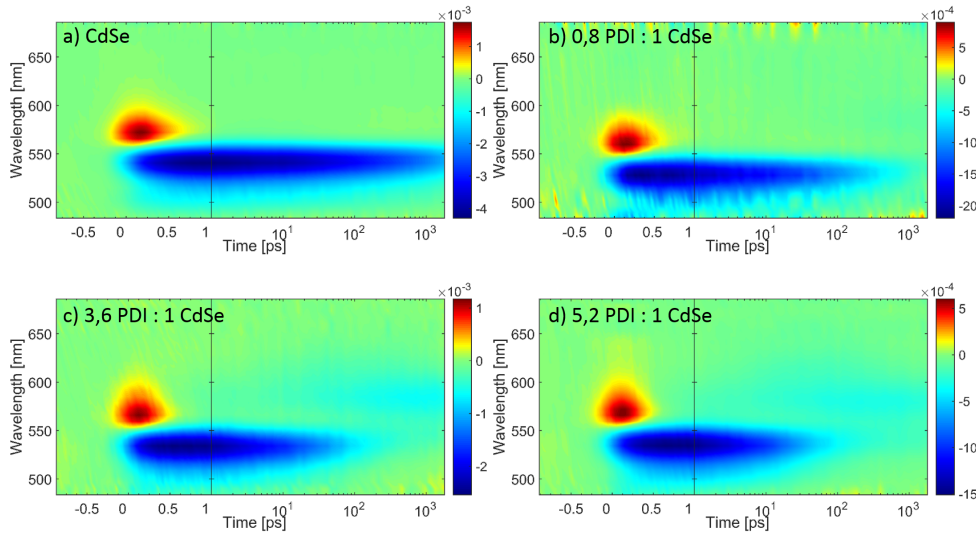
## 5.4. Transiente Absorptionsspektroskopie

Eine genauere Untersuchung des Energietransfers sowie der der PDI-Fluoreszenzlöschung zu Grunde liegenden Prozesse wurde mit femtosekundenaufgelöster transientser Absorptionsspektroskopie durchgeführt. Die Messung der Proben und die Analyse der Daten wurden von Dr. Lars Dworak aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Josef Wachtveitl (Goethe-Universität Frankfurt am Main) durchgeführt. Im Folgenden werden die wesentlichen Ergebnisse der Experimente zusammengefasst.

Für die Experimente wurden CdSe-PDI-Komplexe mit PDI-QD-Verhältnissen von 0,1:1, 0,4:1, 0,8:1, 1,6:1, 3,6:1 und 5,2:1 hergestellt, die Ensemblespektren sind im Anhang in Abbildung A.16) gezeigt. Zur Untersuchung des Energietransfers wurden selektiv die CdSe-QDs angeregt (388 nm), zur Untersuchung der Fluoreszenzlöschung des PDIs wurde selektiv PDI angeregt (590 nm). Die aus den statischen Spektren ermittelten Fluoreszenzemissionintensitäten des PDIs nach selektiver Anregung des PDIs und der CdSe-QDs sind in Abbildung 5.7 als schwarze Vierecke dargestellt.

### 5.4.1. Anregung der CdSe-Nanokristalle in den Komplexen

In Abbildung 5.10 sind die 2D-Plots (zeit- und wellenlängenabhängige Darstellung der Absorptionsänderungen) der CdSe-QDs ohne PDI, mit 0,8 PDI sowie der Proben mit 3,6 und 5,2 PDI pro QD dargestellt. Eine detailliertere Darstellung bieten die Spektren bei festen Verzögerungszeiten, welche im Anhang A.2 in Abbildung A.17 gezeigt sind. Bei allen Proben ist bei sehr kurzen Verzögerungszeiten (0,1 ps) ein Bleichen der exzitonischen Übergänge der QDs bei etwa 530 nm und eine induzierte Absorption bei 575 nm bis 600

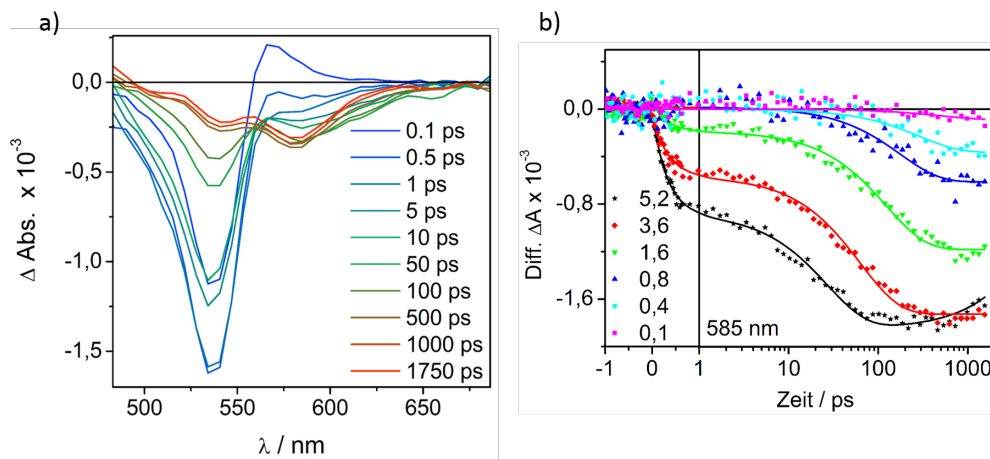


**Abbildung 5.10.:** 2D-Plots der Proben nach Anregung mit 388 nm. Positive Absorptionsänderungen sind in rot dargestellt, negative in blau. Die Abbildungen wurden von Dr. Lars Dworak zur Verfügung gestellt.

nm vorhanden. Bei späteren Verzögerungszeiten (ab etwa 10 ps) treten bei den Proben mit PDI negative Absorptionsänderungen bei 550 nm bis 650 nm auf, welche bei den reinen QDs nicht vorhanden sind. Die Amplituden und die zeitliche Entwicklung dieser negativen Absorptionsänderungen hängen von der PDI-Konzentration ab.

In Abbildung 5.11a sind die Spektren bei festen Verzögerungszeiten der Probe mit dem höchsten PDI-QD-Verhältnis von 5,2:1 gezeigt. Auffällig ist, dass die spektralen Charakteristika des PDIs (negative Absorptionsänderungen zwischen 550 nm und 650 nm) bei dieser Probe schon auf der sub-Pikosekundenskala vorhanden sind (siehe Abbildung 5.11a). Diese können aber nicht ausschließlich von einer direkten Photoanregung des PDIs stammen, da zum einen bei der gewählten Anregungswellenlänge von 388 nm PDI kaum absorbiert. Zum anderen fehlen die charakteristischen PDI-Signale im Spektrum bei einer festen Verzögerungszeit von 0,1 ps, also unmittelbar nach Photoanregung. (Es ist naheliegend, dass ein sehr schneller Energietransfer von den QDs auf das PDI ursächlich für die dem angeregten PDI zuzuordnenden Signale ist). Außerdem treten bei langen Verzögerungszeiten und großen Wellenlängen (ab 600 nm) Zerfallskinetiken auf, welche bei niedrigeren PDI-Gehalten nicht vorhanden sind (vgl. Abbildungen A.17b und c). Die genaue Diskussion des hierfür zu Grunde liegenden Mechanismus erfolgt in Abschnitt 5.4.2 bei der Diskussion der Ergebnisse nach direkter Anregung des PDIs.

Die in Tabelle 5.4 zusammengefassten Energietransferzeiten wurden durch Anpassen von exponentiellen Zerfallsfunktionen an die Einzeltransienten bei einer Abtastwellenlänge von 585 nm nach Subtraktion des QD-Beitrages ermittelt (Abbildung 5.11b). Die Proben können in zwei Klassen eingeteilt werden: Bei niedrigen PDI-Gehalten von 0,1 bis 0,8 PDI pro CdSe-QD bleicht das Signal langsam und kann mit einer Exponentialfunktion



**Abbildung 5.11.:** a) Spektren der Probe 5,2 PDI pro CdSe bei fester Verzögerungszeit. b) Einzeltransienten bei einer Abtastwellenlänge von 585 nm nach Subtraktion des QD-Beitrags (kurzlebige positive Absorptionsänderung siehe Abbildung 5.10) angepasst. Die erhaltenen Energietransferzeiten sind zusammen mit den jeweiligen Amplituden in Tabelle 5.4 zusammengefasst. Anregungswellenlänge: 390 nm. Die Abbildungen wurden von Dr. Lars Dworak zur Verfügung gestellt.

zufriedenstellend angepasst werden. Die Einzeltransienten der Proben mit höheren PDI-Konzentrationen müssen mit biexponentiellen Zerfallsfunktionen angepasst werden. Die langsamen Komponenten beschleunigen sich mit steigender Akzeptorkonzentration, und zwar von 0,5 ns für die Probe mit 0,1 PDI auf 27,0 ps für die Probe mit 5,2 PDI pro QD.

Die Proben mit den beiden höchsten PDI-Gehalten zeigen innerhalb der ersten Pikosekunde nach Anregung einen sehr schnellen Zerfall des negativen Signals, dessen Amplitude von 21% für die Probe mit 1,6 PDI pro QD auf 47% für die Probe mit 5,2 PDI pro QD ansteigt. Die Zeitkonstante verkürzt sich von 0,33 ps (1,6:1 und 3,6:1) auf 0,30 ps (5,2:1), und liegt im Bereich der Zeitauflösung des Experiments (0,25 ps). Die schnelle Energietransferzeit liegt im Bereich der ermittelten Intrabandrelaxationszeit der CdSe-QDs von 0,30 ps<sup>5</sup>. Intrabandrelaxation und Energietransfer aus dem P-Zustand der QDs laufen also auf ähnlich Zeitskalen ab und stehen in Konkurrenz zueinander. Demnach läuft der Energietransfer unter Beteiligung von heißen Exzitonen der QDs ab. Bislang gibt es keine Publikation, welche über einen heiße Exzitonen involvierenden Energietransfer berichtet. Typische ultraschnelle Energietransferprozesse wurden in Lichtsammelkomplexen gefunden [236], in nanostrukturierten künstlichen Systemen wurde über einen ultraschnellen Energietransfer von CdSe-Nanoschichten auf Platinnanopartikel berichtet [237].

In einer früheren Untersuchung von QD-PDI-Komplexen mit QDs bestehend aus einem CdSe-Kern, einer ML CdS und drei ML ZnS (KS-QDs), wurden ebenfalls zwei Energietransferzeiten ermittelt [141]. Die Energietransferzeiten der Proben mit ähnlichen

<sup>5</sup>Die Intrabandrelaxationszeit wurde aus der kurzlebigen positiven Absorptionsänderung bei einer Wellenlänge von 585 nm ermittelt und liegt im Bereich von Literaturwerten [159, 235].

**Tabelle 5.4.:** Zeitkonstanten  $\tau$  und Zerfallsamplituden  $a$ , welche aus der Fitanalyse der Einzeltransienten aus Abbildung 5.11b erhalten wurden

PDI:QD	$\tau_{EET,schnell}$ /ps	$a_{schnell}$ / %	$\tau_{EET,langsam}$ /ps	$a_{langsam}$ / %
0,1:1	—	—	500,0	100
0,4:1	—	—	290,0	100
0,8:1	—	—	180,0	100
1,6:1	0,33	21	120,0	79
3,6:1	0,33	30	63,0	70
5,2:1	0,30	47	27,0	53

**Tabelle 5.5.:** Parameter zur Abschätzung der Plausibilität der Beschleunigung der Energietransferzeiten von CdSe-QDs und CdSe/1 ML CdS/3ML ZnS-QDs (KS-QDs) im Rahmen des Förster-Modells

	CdSe-QDs (diese Arbeit)	KS-QDs
$\tau_{IB}$	300 fs	350 fs <sup>a</sup>
$\tau_{FI}$	2,5 ns <sup>b</sup>	2,6 ns <sup>c</sup>
$QY_{FI}$	5%	36% <sup>c</sup>
d	2,8 nm	5,0 nm <sup>c</sup>
s	2,4 nm	3,5 nm <sup>c</sup>
$J / 10^{15} \text{ nm}^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	2,3	2,5 <sup>c</sup>
$\tau_{EET,schnell}$	0,33 ps	3,7 ps <sup>d</sup>
$\tau_{EET,langsam}$	120 ps	162 ps <sup>d</sup>

<sup>a</sup>bestimmt aus den in [141] erhobenen Datensätzen<sup>b</sup>CdSe-QDs aus Abschnitt 5.2<sup>c</sup>QD1 aus Tabelle 6.4 in [63]<sup>d</sup>aus [141]

PDI-QD-Verhältnissen (1,6:1 für CdSe und 1,7:1 für KS-QDs) sind bei den KS-QD-PDI-Komplexen mit 3,7 ps und 162 ps deutlich langsamer als bei den Komplexen mit CdSe-QDs (0,33 ps und 120 ps für die Probe mit 1,6 PDI pro QD).

Für den langsamen Energietransfer kann im Rahmen des Förster-Modells abgeschätzt werden, inwiefern die Beschleunigung im Einklang mit den unterschiedlichen Donor-Akzeptor-Abständen beider Systeme ist. Die Energietransferrate  $k_E(r)$  ist nach Förster [139]:

$$k_E(r) = \frac{QY_D \kappa^2}{\tau_D s^6} \left( \frac{9000 \ln(10)}{128 \pi^5 N n^4} \right) J. \quad (5.1)$$

Dabei ist  $\kappa$  der Orientierungsfaktor, welcher die relative Orientierung der Übergangsdipole von Donor und Akzeptor im Raum angibt.  $N_A$  ist die Avogadro-Konstante,  $n$  der Brechungsindex des Lösungsmittels,  $J$  das Überlappintegral nach Förster und  $s$  der Donor-Akzeptor-Abstand.  $QY_D$  ist die Quantenausbeute des Donors in Abwesenheit des Akzeptors und  $\tau_D$  die Lebensdauer des Donors in Abwesenheit des Akzeptors. In Tabelle 5.5 sind die für Gleichung 5.1 benötigten Werte zusammengefasst. Dabei wurden für die Kern-Schale-Partikel die Transferzeiten aus [141] entnommen. Alle anderen Werte der KS-QDs stammen aus der Dissertation von Ting Ren von QDs mit der gleichen Zusammensetzung [63].

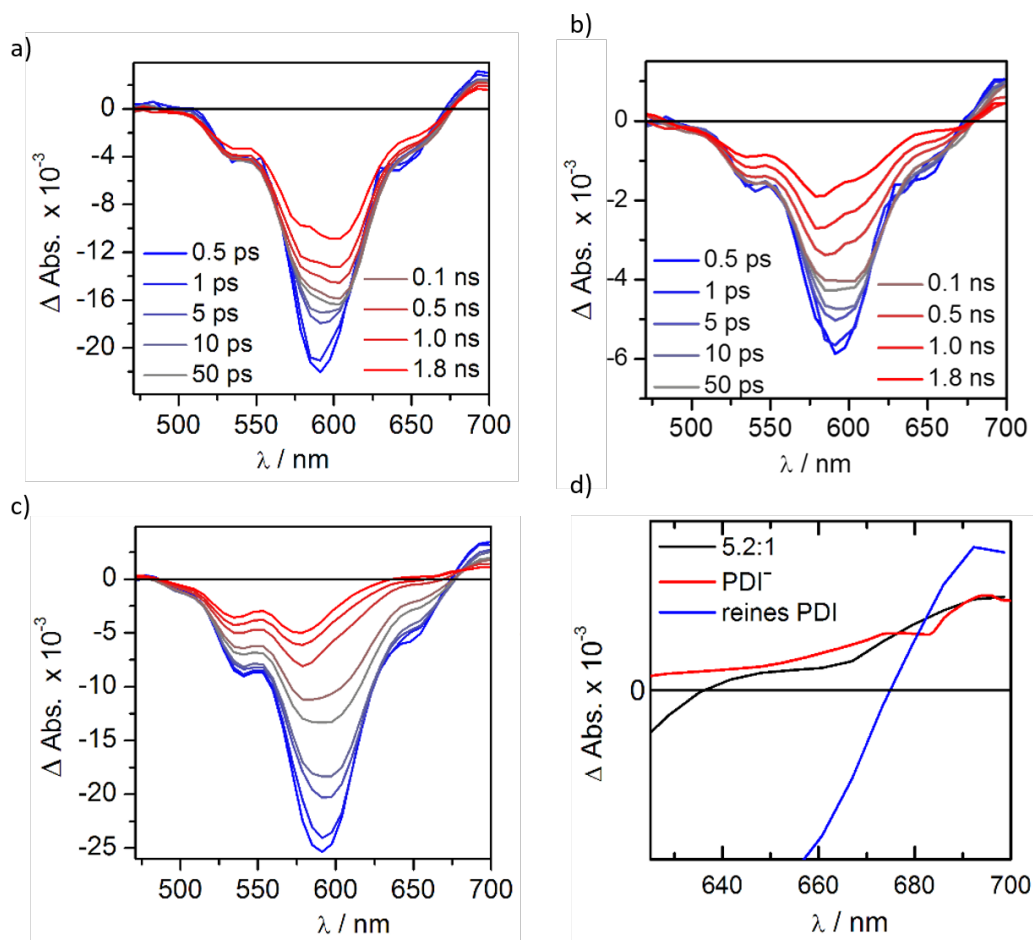
Die langsame Energietransferzeit beschleunigt sich im Fall der CdSe-QDs gegenüber den KS-QDs um einen Faktor von

$$\frac{k_{E,CdSe}}{k_{E,KS}} = \frac{1/120 \text{ ps}}{1/162 \text{ ps}} = 1,4.$$

Mit den Werten für  $QY_{FI}$ ,  $\tau_{FI}$ ,  $J$  und  $s$  aus Tabelle 5.5 ergibt sich:

$$\begin{aligned} & \frac{QY_{FI,CdSe}}{QY_{FI,KS}} \cdot \frac{\tau_{FI,KS}}{\tau_{FI,CdSe}} \cdot \frac{J_{CdSe}}{J_{KS}} \cdot \left( \frac{s_{KS}}{s_{CdSe}} \right)^6 \\ &= \frac{0,05}{0,36} \cdot \frac{2,6 \text{ ns}}{2,5 \text{ ns}} \cdot \frac{2,3 \cdot 10^{15} \text{ nm}^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}}{2,5 \cdot 10^{15} \text{ nm}^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}} \cdot \left( \frac{3,5 \text{ nm}}{2,4 \text{ nm}} \right)^6 \\ &= 1,3. \end{aligned}$$

Die Förster-Theorie sagt also eine Beschleunigung des Energietransfers um einen Faktor von 1,3 voraus, gemessen wurde eine Beschleunigung von 1.4. Demnach ist die gefundene Beschleunigung des Energietransfers im Rahmen der Förster-Theorie plausibel und kann auf den kürzeren Donor-Akzeptor-Abstand der CdSe-PDI-Komplexe zurückgeführt werden. Des weiteren deuten die Ergebnisse darauf hin, dass auch der Energietransfer von KS-QDs auf PDI wie in [141] unter Beteiligung heißer Exzitonen stattfindet, was bisher nicht in Betracht gezogen wurde.



**Abbildung 5.12.:** Transiente Absorptionsspektren nach Anregung der Proben mit 590 nm a) reines PDI b) CdSe-PDI-Komplexe mit 0,8 PDI pro CdSe c) CdSe-PDI-Komplexe mit 5,2 PDI pro CdSe. d) Vergrößerter Ausschnitt der Spektren nach 1,8 ns zusammen mit dem Absorptionsspektrum des PDI-Radikalanions ( $\text{PDI}^-$ , aus [171]). Die Abbildungen wurden von Dr. Lars Dworak zur Verfügung gestellt.

#### 5.4.2. Anregung des Perylendiimids in den Komplexen

Zur Untersuchung der beobachteten reduzierten Fluoreszenzintensitäten des PDIs bei hohen PDI-QD-Verhältnissen wurden transiente Absorptionsspektren nach selektiver Anregung des PDIs (Anregungswellenlänge 590 nm) aufgenommen. Für die Proben bis zu einem PDI-Gehalt von 0,8 pro CdSe-QD konnten auf Grund der geringen PDI-Konzentrationen keine verlässlich auswertbaren transienten Absorptionsspektren gemessen werden. Die transienten Spektren bei festen Verzögerungszeiten für reines PDI sowie die Proben mit einem PDI-QD-Verhältnis von 0,8:1 und 5,2:1 sind in den Abbildungen 5.12a bis c dargestellt. Die negativen Absorptionsänderungen des PDIs resultieren aus dem Grundzustandsbleichen und der stimulierten Emission. Der positive Beitrag bei Wellenlängen über 675 nm wird durch Absorption aus dem angeregten Zustand hervor-

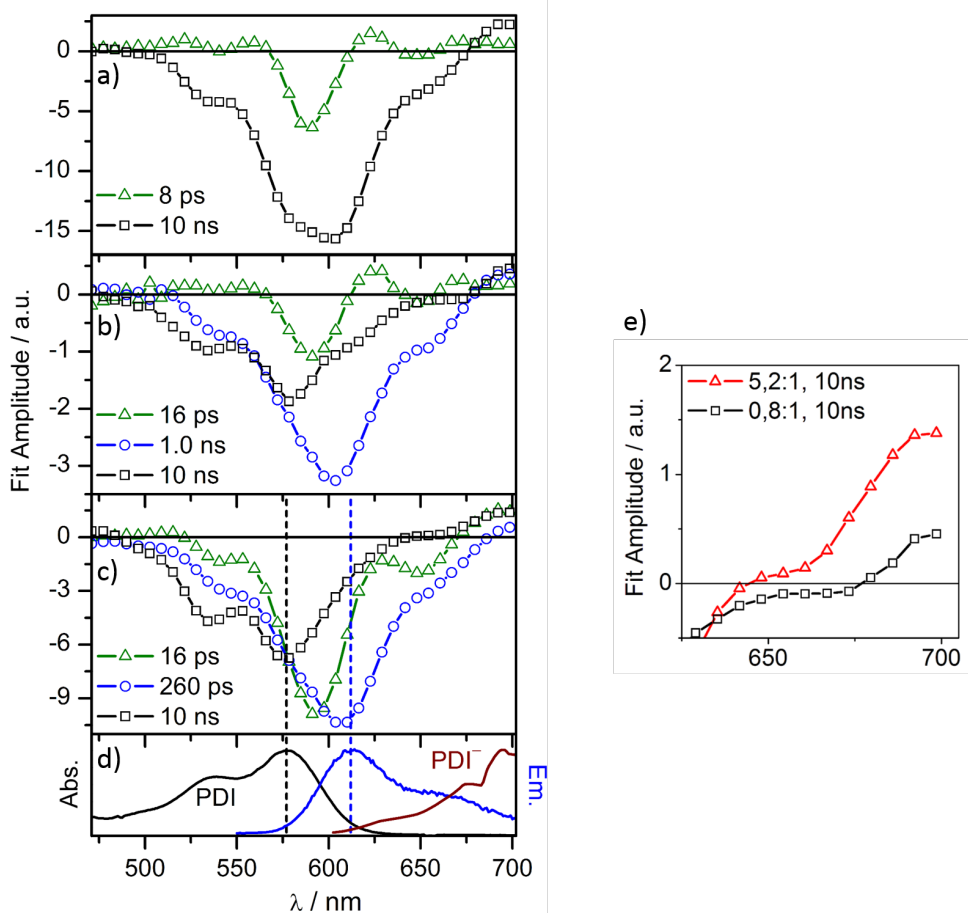
rufen. Deutlich sind die Unterschiede des Zerfalls des PDI-Signals zwischen der Messung an reinem PDI und dem PDI auf CdSe-QDs zu erkennen. Die negativen Absorptionsänderungen bilden sich für PDI-CdSe deutlich schneller zurück als bei reinem PDI. Bei der Probe mit 5,2 PDI ist bei der langen Verzögerungszeit von 1,8 ns fast keine stimulierte Emission bei 575 nm bis 675 nm mehr vorhanden, das Signal des Grundzustandsbleichens bei kürzeren Wellenlängen ist aber präsent. Die stimulierte Emission zerfällt also, ohne dass sich der Grundzustand des PDIs mit der gleichen Zeitkonstante zurückbildet. Dieses Verhalten ist typisch für Elektronentransferreaktionen [238, 239]. In der Tat ist im vergrößerten Ausschnitt in Abbildung 5.12d zu erkennen, dass bei der Probe 5,2:1 bei langen Verzögerungszeiten ein positives Absorptionssignal zwischen 635 nm und 675 nm vorhanden ist, welches für reines PDI und die Probe mit 0,8 PDI nicht detektiert wurde. Da das Signal der stimulierten Emission bei dieser Verzögerungszeit bereits abgeklungen ist, ist nicht davon auszugehen, dass es sich bei diesem positiven Beitrag um eine Absorption des angeregten Zustands des PDIs handelt. Der Beitrag stimmt gut mit dem Absorptionsspektrum des PDI-Radikalanions überein, wie in Abbildung 5.12d zu sehen ist.

Zur weiteren Untersuchung der PDI-Abklingdynamik wurde eine globale Fitanalyse der transienten Daten durchgeführt<sup>6</sup>. Die zerfallsassoziierten Spektren sind in Abbildung 5.13 gezeigt. Für das reine PDI (Abbildung 5.13a) werden zur Beschreibung der Daten drei Zeitkonstanten benötigt, für die beiden gezeigten Komplexe vier. Die für die Betrachtung des Einflusses der QDs auf das Abklingverhalten des PDIs relevanten Komponenten sind die mit einer Zeitkonstante von 10 ns (maximale Verzögerungszeit, Vierecke) und die für die Komplexe gefundene zusätzliche Zerfallskomponente (Kreise). Die Komponente mit einer Zeitkonstante von 10 ns trägt im Fall des reinen PDIs zum Zerfall aller transienten Absorptionssignale bei und beschreibt die Relaxation in den Grundzustand. Die für die PDI-CdSe-Komplexe gefundene zusätzliche Zerfallskomponente beschleunigt sich von 1 ns bei der Probe mit 0,8 PDI pro CdSe (Abbildung 5.13b) auf 0,26 ns bei der Probe mit 5,2 PDI pro CdSe (Abbildung 5.13c). Die maximalen negativen Amplituden dieser zerfallsassoziierten Spektren stimmen für beide Proben spektral gut mit dem Fluoreszenzmaximum des PDIs überein (blau gestrichelte Linie sind in Abbildung 5.13c und d zur Verdeutlichung eingezeichnet). Die Komponente trägt also zum Zerfall der stimulierten Emission des PDIs bei, und der Zerfall der stimulierten Emission beschleunigt sich mit steigendem PDI-Gehalt.

Im Gegensatz dazu enthält die Komponente bei maximaler Verzögerungszeit (10 ns) bei beiden CdSe-PDI-Proben kaum Beiträge an der spektralen Position der PDI-Fluoreszenz und stimmt spektral stark mit der Grundzustandsabsorption des PDIs überein (schwarze gestrichelte Linie). Zusätzlich treten für diese Komponente (10 ns) bei der Probe mit 5,2 PDI pro CdSe-QD bei Wellenlängen größer als 650 nm zusätzliche positive Amplituden auf (siehe vergrößerter Ausschnitt in Abbildung 5.13e). Diese können spektral dem PDI-

---

<sup>6</sup>Für generelle Informationen zu zerfallsassoziierten Spektren siehe Anhang A.2.2. Genauere Erläuterungen zur Vorgehensweise finden sich in [240].



**Abbildung 5.13.:** Zerfallsassoziierte Spektren des a) PDIs, der Probe mit b) 0,8 PDI und der Probe mit c) 5,2 PDI. d) Absorptionsspektrum (schwarz) und Fluoreszenzspektrum (blau) des PDIs und Absorptionsspektrum des PDI-Radikalanions (braun). e) Vergrößerter Ausschnitt der 10 ns-Komponenten der Proben mit 0,8 und 5,2 PDI. Die Abbildungen wurden von Dr. Lars Dworak zur Verfügung gestellt.

Radikalanion zugeordnet werden, welches offenbar das Resultat eines Elektronentransfers von den CdSe-QDs auf das angeregte PDI ist.

Dieser Ladungstransfer ist abhängig von der Konzentration des PDIs auf den CdSe-QDs (Beschleunigung des Zerfalls der stimulierten Emission und Nachweis des PDI-Radikalanions erst für das hohe PDI-QD-Verhältnis). Die Anregungspulsenergien wurden so gering gewählt, dass die Anregung mehrerer PDIs pro QD ausgeschlossen werden kann. Daher ist die Anzahl der für einen Elektronentransfer zur Verfügung stehenden angeregten PDIs unabhängig von der PDI-Konzentration, und es sollte keine Konzentrationsabhängigkeit des Ladungstransfers vorhanden sein. Die zu beobachtende Konzentrationsabhängigkeit kann aber auf Grund der in Abschnitt 5.2 diskutierten fehlenden spektralen Hinweise auf eine Aggregation auch nicht auf eine Beeinflussung der PDIs untereinander zurückzuführen sein. Eine Möglichkeit der Erklärung wäre die zunehmende Besetzung von elektronenreichen Kristallfacetten der CdSe-QDs bei steigenden PDI-QD-Verhältnissen, sodass der Elektronentransfer begünstigt wird.

Analoge Messungen wurden auch an den CdSe-5ZnS-PDI-Komplexen aus Abbildung 5.6 durchgeführt. Hier wurde aber bei steigendem PDI-Gehalt nur eine Zunahme der Zerfallsamplituden des PDIs im gesamten Spektralbereich und nicht nur im Bereich der stimulierten Emission gefunden. Der Zerfall der stimulierten Emission beschleunigte sich nicht in Abhängigkeit von der PDI-Konzentration. Über den gesamten untersuchten Zeitbereich dominierte das Signal des photoangeregten PDIs, und es wurde kein Photoprodukt beobachtet [241].

## 5.5. Zusammenfassung und Fazit

Es wurden QD-PDI-Komplexe nach [63] dargestellt und mit Hilfe von statischer und zeitaufgelöster Fluoreszenzmissions- und Absorptionsspektroskopie untersucht. Dabei wurden reine CdSe-QDs und mit zwei und fünf Monolagen ZnS passivierte QDs eingesetzt. Im Fokus der Untersuchungen der elektronischen Wechselwirkungen standen dabei die Komplexe mit unpassivierten CdSe-Kernen.

Für alle drei QD-Varianten konnte an Hand der statischen Fluoreszenzmissionsspektren nach Photoanregung der QDs in den Komplexen ein Energietransfer von den QDs auf das an deren Oberfläche gebundene PDI nachgewiesen werden. Die Analyse der transienten Absorptionsspektren von CdSe-PDI-QDs zeigte, dass bei hohen PDI-Gehalten in den Komplexen zwei Energietransferwege vorhanden sind. Die Energietransferzeiten beschleunigen sich mit steigendem PDI-Gehalt. Neben der langsamen Energietransferzeit wurde eine zusätzliche ultraschnelle Energietransferkomponente gefunden, welche mit etwa 300 fs im Bereich der zeitlichen Auflösung des Versuchsaufbau war und im Bereich der Intranbandrelaxationszeit vom  $1P(e)$ - in den  $1S(e)$ -Zustand liegt. Daraus ist zu schließen, dass die schnelle Energietransferkomponente einem heißen Exzitonen involvierenden Energietransfer aus dem  $1P(e)$ -Zustand der CdSe-QDs zuzuordnen ist. Der Anteil der schnellen Energie-

transferkomponente steigt mit zunehmender PDI-Belegungsdichte, der Prozess weist eine Effizienz von bis zu 47% auf. Auch in Komplexen mit ZnS-passivierten CdSe-QDs wurden zwei Energietransferzeiten gefunden [141], welche aber deutlich länger sind, als die in den Komplexen mit CdSe ermittelten Werte. Es konnte gezeigt werden, dass die deutlich schnellere Energietransferzeit für CdSe-QDs im Vergleich zu den ZnS-passivierten QDs im Rahmen der Förster-Theorie plausibel für die unterschiedlichen Donor-Akzeptorabstände in beiden Systemen ist. Die in [141] ermittelte kürzere Energietransferkomponente von Komplexen mit passivierten CdSe-QDs könnte demnach ebenfalls einem Energietransfer aus einem höher angeregten Zustand der QDs zuzuordnen sein.

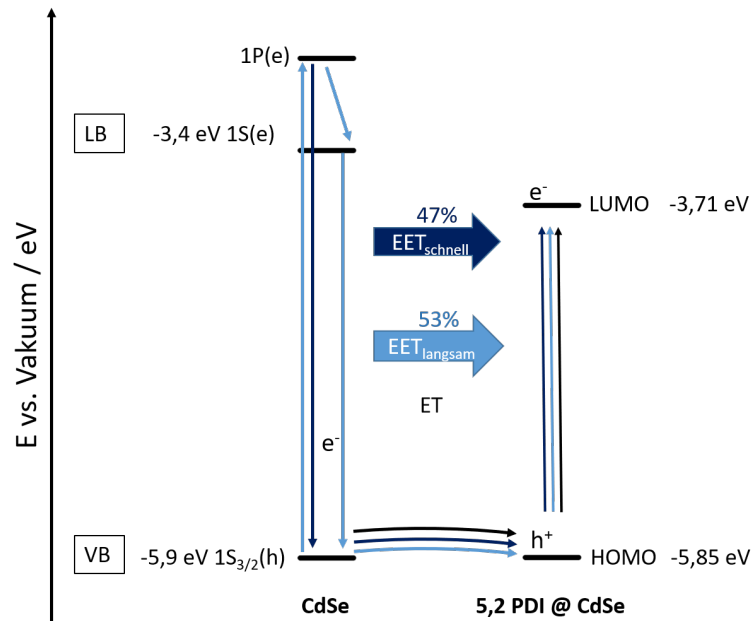
Die Analyse der Fluoreszenzemissionsspektren offenbarte neben dem Energietransfer auch eine reduzierte Fluoreszenzintensität des an QDs gebundenen PDIs. Damit einhergehend verkürzte sich dessen Fluoreszenzlebensdauer und es wurde eine zusätzliche Fluoreszenzzerfallskomponente gefunden. Die Löschung der PDI-Fluoreszenz, die Verkürzung der Fluoreszenzlebensdauer und das Auftreten einer zusätzlichen Zerfallskomponente waren abhängig von der Art der QDs und der Anzahl an PDI-Molekülen auf der QD-Oberfläche. Da die Effekte bei selektiver Anregung des PDIs auftraten, ist davon auszugehen, dass der Prozess zur Reduzierung der PDI-Fluoreszenz die QDs im Grundzustand impliziert. Eine eventuelle Aggregation des PDIs auf den QD-Oberflächen als Erklärung für die allgemeine Reduzierung der Fluoreszenzintensitäten und -lebensdauern wurde an Hand der statischen Absorptions- und Fluoreszenzemissionsspektren diskutiert und erscheint unwahrscheinlich.

Die Untersuchung von CdSe-PDI-Komplexen mit Hilfe transients Absorptionsspektroskopie nach Anregung des PDIs offenbarte einen Zerfall der stimulierten Emission des PDIs, ohne dass sich dessen Grundzustandsabsorption mit der gleichen zeitlichen Komponente aufbaute. Es muss also ein weiterer Relaxationspfad des angeregten Zustandes vorgelegen haben. Die zusätzliche positive Absorptionsänderung im Bereich von 650 nm bis 675 nm passt spektral zur Absorption des PDI-Radikalanions. Daraus lässt sich schließen, dass ein Elektronentransfer von den QDs aus dem Grundzustand auf das angeregte PDI stattfand.

Zusammenfassend lässt sich das in Abbildung 5.14 gezeigte Schema für die elektro-nischen Wechselwirkungen zwischen CdSe-QDs und dem Farbstoff PDI erstellen. Die Valenzband- und die Leitungsbandkantenenergien der CdSe-QDs (entnommen aus [242]) sowie die HOMO- und LUMO-Energien des PDI-Derivats (aus [243]<sup>7</sup>) sind angegeben. Die Prozesse nach selektiver Anregung der CdSe-QDs sind mit hell- und dunkelblauen Pfeilen und die Prozesse nach selektiver Anregung des PDIs mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet. PDI wäre auf Grund seiner HOMO/LUMO-Energien ein Elektronenakzeptor sowohl für einen Elektronentransfer der CdSe-QDs im angeregten Zustand auf das LUMO des PDIs, als auch für einen Elektronentransfer aus dem Grundzustand der CdSe-QDs auf das HOMO des angeregten PDIs. Da das PDI-Radikalanion erst nach dem Zerfall der

---

<sup>7</sup>Berechnet aus dem Reduktionspotential  $E_{Red} = -1,10\text{ eV}$  für die mit *3e* bezeichnete Verbindung mit  $E_{LUMO} = -4,80\text{ eV} - E_{Red1}$  und  $E_{HOMO} = E_{LUMO} - E_{Gap}$  [244].



**Abbildung 5.14.:** Energieniveauschema des untersuchten PDI-CdSe-Systems. Die Prozesse nach Anregung der QDs sind mit blauen Pfeilen, die nach Anregung des PDIs mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet. Nach Anregung der QDs transferieren diese ihre Energie aus einem höherenergetischen Leitungsbandniveau mit einer sehr schnellen Energietransferzeit (dunkelblaue Pfeile), oder durchlaufen eine Intradbandrelaxation mit anschließendem Energietransfer mit langsamerer Transferzeit (hellblaue Pfeile). Das entweder durch den Energietransfer vom QD oder durch die direkte Anregung im elektronisch angeregten Zustand befindliche PDI kann als Elektronenakzeptor für die im Grundzustand vorliegenden CdSe-QDs fungieren.

stimulierten Emission des PDIs detektiert wurde und die Löschung des PDIs auch nach selektiver Anregung des PDIs beobachtet wurde, muss der Elektronentransfer zur Bildung des PDI-Radikalanions aus dem Grundzustand der CdSe-QDs erfolgt sein. Folgende Prozesse können zum Elektronentransfer führen: Nach Anregung der QDs transferieren diese ihre Energie mit einer sehr schnellen Komponente aus dem P-Zustand (dunkelblaue Pfeile) und einer langsamen Energietransferkomponente nach Intrabandrelaxation (hellblaue Pfeile) auf das PDI. Die QDs relaxieren in den Grundzustand, das PDI befindet sich nun im angeregten Zustand, welcher natürlich auch durch die selektive Anregung des PDI erreicht werden kann. Auf Grund der energetisch günstigen Lage des HOMOs des PDIs findet ein Elektronentransfer von den CdSe-QDs auf das angeregte PDI statt, wodurch sich das beobachtete Radikalanion bildet.

Die gefundene PDI-Konzentrationsabhängigkeit des Ladungstransferprozesses könnte auf die PDI-Belegung Se-reicher Kristallfacetten der CdSe-QDs zurückzuführen sein. Zur Überprüfung dieser Vermutung wären Untersuchungen an PDI-CdSe-Komplexen mit Se-reichen QDs [245] denkbar.

Das gewählte System aus einem Carboxylat-funktionalisiertem PDI und CdSe-basierten QDs ermöglicht somit zahlreiche Untersuchungen verschiedener elektronischer Wechselwirkungen mit sehr einfach einzustellenden Parametern: Durch die Steuerung der spektralen Lage der QDs können die Überlappintegrale und damit die Energietransfereffizienzen variiert werden. Über die Dicke der ZnS-Passivierungsschicht auf CdSe-QDs können unter Beibehaltung der Überlappintegrale die Donor-Akzeptorabstände und damit der Energietransfer abstandsabhängig untersucht werden [63]. Die Abhängigkeit der Energietransfer rate von der Akzeptorkonzentration kann genutzt werden, um die tatsächlichen Donor-Akzeptor-Verhältnisse zu bestimmen und erlaubt so die Konzentrationsbestimmung von QDs [141]. Ultraschnelle Energietransferprozesse und Ladungstransferprozesse können mit dem Einsatz unpassivierter CdSe-QDs untersucht werden. Dabei kann die Akzeptorkonzentrationsabhängigkeit analog zu den Experimenten mit passivierten CdSe-QDs ermittelt werden. Mit der Einführung von ZnS-Passivierungsschichten auf den CdSe-QDs könnte auch die Abhängigkeit beider Prozesse von der ZnS-Schichtdicke studiert werden.

## 6. Synthese von CdTe/CdSe/ZnS-Kern-Schale-Nanokristallen

In diesem Abschnitt wird die Synthese von sphärischen QDs bestehend aus einem CdTe-Kern, CdSe-Monolagen und abschließenden ZnS-Monolagen vorgestellt. Die innere CdTe/CdSe-Struktur zeichnet sich durch eine räumliche Trennung der Ladungsträger aus (Typ II-QDs, siehe Abschnitt 2.2.4). Dabei sind die Löcher im CdTe-Kern und die Elektronen in der CdSe-Schale lokalisiert. Die zusätzliche ZnS-Schicht passiviert, analog zu den CdSe-basierten TypI-QDs, die innere CdTe/CdSe-Struktur. Die QDs sollen in Komplexen mit dem Lichtsammelkomplex II (LHCII) eingesetzt werden, um die elektronischen Wechselwirkungen zwischen LHCII und QDs über den bereits analysierten Energietransfer vom LHCII auf die QDs hinaus [64] in weiteren Experimenten zu untersuchen. Hierfür werden die QDs mit Hilfe eines Ligandenaustauschs mit dem bidentaten Liganden Dihydroliponsäure (DHLLA) in die wässrige Phase überführt. Ferner soll überprüft werden, ob die gleichen TypII-QDs auch mit dem Farbstoff Terrylendiimid (TDI) als Energieakzeptor agieren können. Die QDs sollten sowohl für die Experimente mit dem LHCII als auch für die Tests mit TDI eine Fluoreszenzemissionswellenlänge von ungefähr 750 nm aufweisen.

Die Synthese der CdTe/CdSe/ZnS-QDs erfolgte unter Verwendung der SILAR-Methode [132]. Im Rahmen der durchgeführten Syntheseversuche wurde ein, teilweise vollständiges, Auflösen der CdTe-Kerne während der Erwärmung für die Beschichtung mit der ersten Monolage CdSe beobachtet. Die Kombination dieses Prozesses mit langen Reaktionszeiten von mehreren Stunden für das Aufwachsen der CdSe-Schichten macht die Synthese von definierten CdTe/CdSe-Strukturen synthetisch anspruchsvoller als die der in Abschnitt 5 vorgestellten CdSe/CdS-Strukturen. Basierend auf den Untersuchungen von Zhang et al. [134] wird im Folgenden eine zweistufige Synthese mit sich bei niedrigen Temperaturen zersetzenden Vorstufen vorgestellt. Außerdem wird eine Eintopf-Synthese ohne Aufreinigung der CdTe-Kerne vor der Beschichtung präsentiert, wodurch die Ligandendichte auf der CdTe-Kernoberfläche maximal erhalten bleibt. Beides, niedrige Reaktionstemperaturen und hohe Ligandendichte, dient der Reduzierung des Auflösungsprozesses der CdTe-Kerne.

## 6.1. Zweistufige Synthese der CdTe/CdSe-Struktur

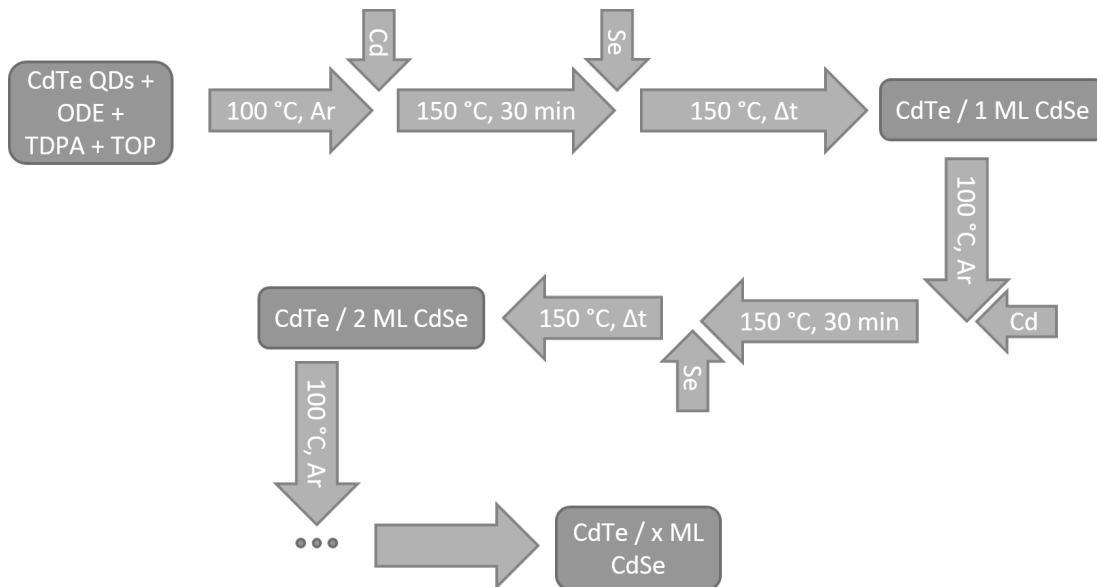
Die Synthese der CdTe/CdSe-QDs mit Aufarbeitung der CdTe-Kerne<sup>1</sup> vor der Beschichtung wurde nach einer abgewandelten Vorschrift aus [134] durchgeführt. Dazu wurden im ersten Schritt die CdTe-Kerne synthetisiert, wobei reproduzierbar sphärische Kristalle mit homogener Größenverteilung erhalten wurden. Die Ergebnisse der Kernsynthese werden daher nicht gesondert diskutiert. TEM-Aufnahmen und Absorptions- und Fluoreszenz-emissionsspektren von CdTe-Kernen aus mehreren Versuchen sind im Anhang in Abbildung A.18 dargestellt. Da die CdTe-Kerne nach der Aufreinigung trotz Lagerung im Dunklen bei 6 °C bereits innerhalb eines Tages aggregierten, erfolgte die Beschichtung unmittelbar nach der Kernsynthese.

Für die Beschichtung der CdTe-Kerne wurden die Vorstufen Cadmiumacetat ( $\text{Cd}(\text{OAc})_2$ ), gelöst in einer Mischung aus Trioctylphosphin und Octadecen, und Selen gelöst in Trioctylphosphin (Se-TOP) eingesetzt, welche sich bereits bei niedrigen Temperaturen zersetzen [134]. Der stark koordinierende Ligand Tetradecylphosphonsäure (TDPA) wurde zur Unterdrückung der Aggregation der CdTe-Kerne verwendet [124, 134]. Das zusätzlich eingesetzte „Thermische Zyklieren“ wurde von Blackman et al. für die Synthese von CdSe-Kern/CdTe-Schale-QDs eingeführt [246]. Dabei werden die Vorstufen bei deutlich niedrigerer Temperatur als der eigentlichen Wachstumstemperatur zugegeben. Dieses Vorgehen soll die Monomerkonzentration in der Reaktionslösung gering halten und so ein ungleichmäßiges Kristallwachstum auf den Kernen unterdrücken. Die Monomere haben bei den geringen Temperaturen ausreichend Zeit, gleichmäßig auf der Oberfläche des Kernkristalls zu adsorbieren, bevor bei der höheren Temperatur das eigentliche Aufwachsen des Schalenmaterials stattfindet. Da mit dieser Methode erfolgreich sphärische CdTe/CdSe-QDs in einer Eintopf-Reaktion synthetisiert werden konnten [64], wurde diese Strategie auf die hier vorgestellte Synthese mit Aufarbeitung der CdTe-Kerne übertragen.

Das Beschichtungsverfahren ist in Abbildung 6.1 schematisch dargestellt: Die CdTe-Kerne werden zusammen mit den Liganden (TDPA und TOP) im nicht koordinierenden Lösungsmittel Oktadecen vorgelegt, evakuiert und auf 100 °C erhitzt. Im Argongestrom wird bei 100 °C die Cd-Vorstufenlösung zugegeben und die Reaktionslösung wird auf die Wachstumstemperatur (150 °C) erwärmt. Nach 30 Minuten wird die Se-Vorstufenlösung zugegeben und die Mischung bei 150 °C gerührt, bis sich Absorptions- und Fluoreszenzspektren der QD-Lösung nicht mehr ändern (Verschiebung des Fluoreszenz-emissionsmaximums über einen Zeitraum von 30 Minuten kleiner als 10 nm). Die Lösung wird, im Gegensatz zur Vorschrift aus [134], zur Beschichtung mit der nächsten Monolage auf 100 °C abgekühlt („Thermisches Zyklieren“, s.o.), die Cd-Vorstufenlösung zugegeben und wieder auf die Wachstumstemperatur erhitzt. Nach 30 Minuten wird erneut die Se-Vorstufenlösung zugegeben und wie bei der vorherigen Schicht weiterverfah-

---

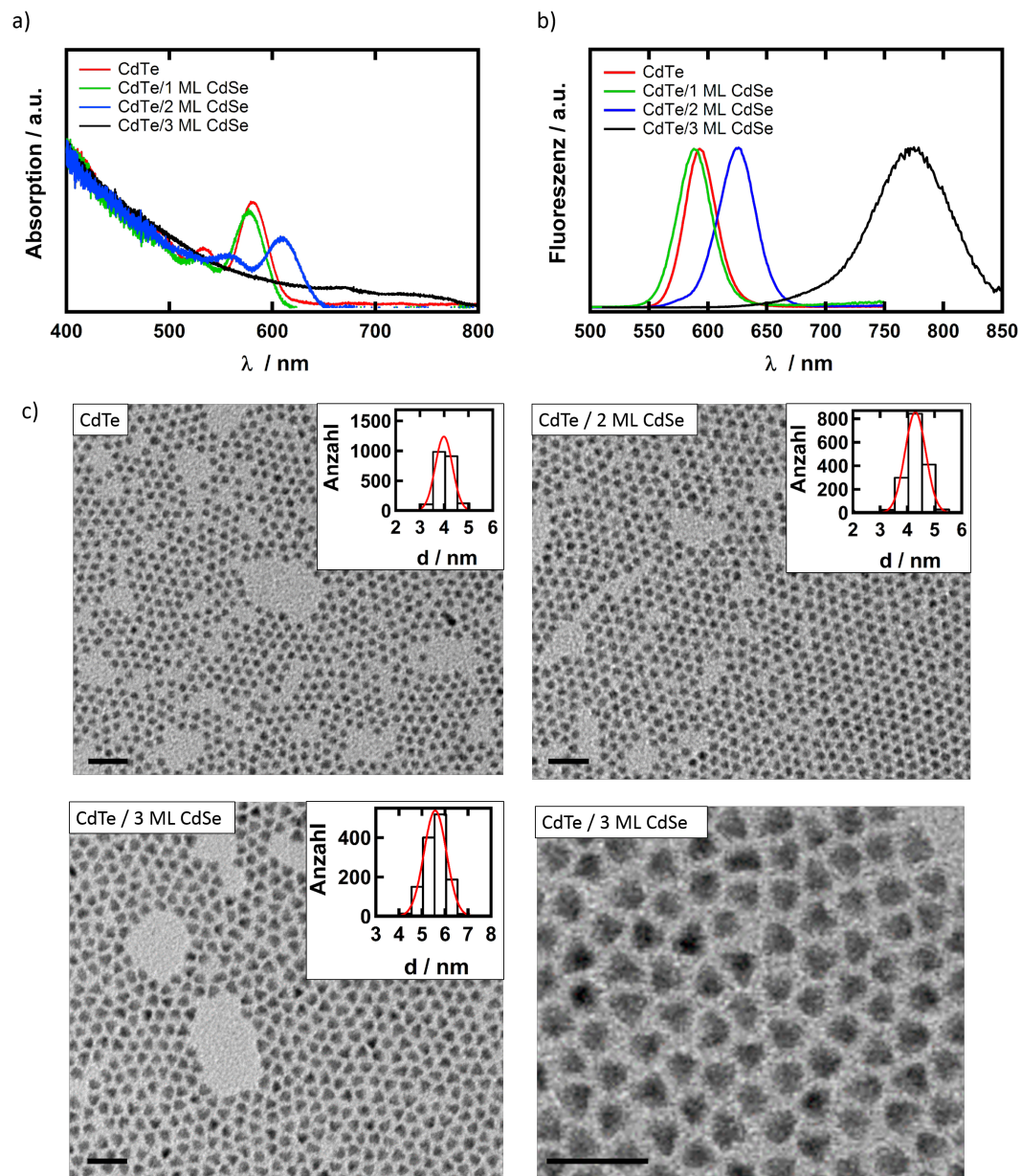
<sup>1</sup>Ausfällen der CdTe-Kerne aus der Reaktionslösung mit Ethanol und Suspendieren des Niederschlags in Toluol



**Abbildung 6.1.:** Schema zu Illustration des Synthesewegs der CdTe/CdSe QDs.

ren. Die Prozedur wird so lange wiederholt, bis die gewünschte Anzahl CdSe-Monolagen aufgewachsen sind.

Die Ergebnisse einer so durchgeführten Synthese sind in Abbildung 6.2 zusammengefasst. Die Absorptionsspektren sind in Abbildung 6.2a, die Fluoreszenzemissionsspektren in Abbildung 6.2b gezeigt. Die Spektren der QDs mit einer ML CdSe sind um 5 nm ( $\lambda_{FI}$  von 593 nm auf 588 nm,  $\lambda_{Abs}$  von 581 nm auf 576 nm) zu kürzeren Wellenlängen gegenüber denen der CdTe-Kerne verschoben. Dies deutet auf eine Verkleinerung des Durchmessers der CdTe-Kerne während der Beschichtung mit der ersten ML CdSe hin. Die Spektren der QDs nach einer weiteren Injektion der Vorstufenlösung sind um 38 nm ( $\lambda_{FI}$ ) bzw. 33 nm ( $\lambda_{Abs}$ ) zu größeren Wellenlängen verschoben. Die starke Verschiebung der Spektren zu niedrigeren Energien weist auf eine erfolgreiche Beschichtung der CdTe-Kerne mit CdSe hin, da die Übergangsenergie des Elektrons in das Schalenmaterial geringer ist, als die Übergangsenergie in das 1 S(e)-Niveau des CdTe-Kerns. Zwar werden von Zhang et al. für die ersten beiden Monolagen deutlich stärkere Verschiebungen gefunden, allerdings werden dort keine Angaben über die genauen Mengen der zugegebenen Vorstufen und Reaktionszeiten gemacht, sodass ein Vergleich schwierig ist. Eine kurze Diskussion bezüglich des Einflusses der Vorstufenmengen pro Injektion findet sich im weiteren Verlauf dieses Abschnitts. Das Zugeben weiterer Vorstufenlösung führt zu QD-Spektren mit noch stärkerer Verschiebung der Absorptions- und Fluoreszenzmaxima auf 745 nm bzw. 776 nm. Ursache für die mit über 130 nm starke Verschiebung der Absorptions- und Emissionsmaxima nach Zugabe der Vorstufen für die dritte Monolage ist vermutlich die Umsetzung zuvor nicht abreagierter Vorstufen während des langen Reaktionszeitraumes von 12 h. Die lange Reaktionsdauer ließ sich nicht vermeiden, da die sehr niedrigen Reaktionsgeschwindigkeiten das Aufwachsen der dritten ML über Nacht erzwangen.



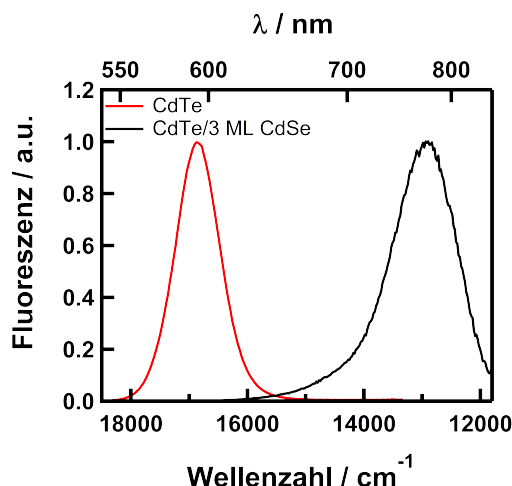
**Abbildung 6.2.:** a) Absorptions- und b) Fluoreszenzemissionsspektren von CdTe-QDs und der mit einer, zwei und drei ML CdSe beschichteten QDs. c) TEM-Aufnahmen mit Histogrammen der Größenverteilung der CdTe Kerne ( $d = (4,0 \pm 0,4)$  nm), der QDs mit zwei Monolagen CdSe ( $d = (4,3 \pm 0,4)$  nm) und der QDs mit 3 ML CdSe ( $d = (5,5 \pm 0,5)$  nm). Der Maßstabsbalken beträgt in allen Aufnahmen 20 nm.

**Tabelle 6.1.:** Vergleich der  $QY_{Fl}$ ,  $\tau$  und  $\tau_{1/e}$  der synthetisierten QDs aus Abbildung 6.2 mit den Werten aus [134].

Probe	$QY_{Fl}$ / %		$\tau_{1/e}$ / ns		$\tau$ / ns
	diese Arbeit	[134]	diese Arbeit	[134]	diese Arbeit
CdTe-Kerne	21	24	17	15	21
CdTe/ 1 ML CdSe	10	94	-	-	-
CdTe/ 2 ML CdSe	35	82	19	28	22
CdTe/ 3 ML CdSe	65	70	50	-	51
CdTe / 4 ML CdSe	-	46	-	45	-

TEM-Aufnahmen der CdTe-Kerne, der QDs mit zwei ML CdSe und der mit drei ML CdSe sind in Abbildung 6.2c gezeigt. Der aus den TEM-Aufnahmen ermittelte mittlere Durchmesser der CdTe-Kerne beträgt  $(4,0 \pm 0,4)$  nm. Nach Zugabe der Vorstufen für zwei Monolagen CdSe steigt der Durchmesser auf  $(4,3 \pm 0,4)$  nm. Theoretisch sollte der Durchmesser der CdTe-Kerne – unter der Annahme, dass die Dicke einer CdSe-Monolage 0,35 nm beträgt [134] – bei 5,4 nm liegen. Die Unterschreitung des theoretischen Durchmessers bestätigt das in den Spektren zu beobachtende Auflösen der CdTe-Kerne während des ersten Beschichtungszyklus. Die weitere Zugabe der Vorstufen und die folgende lange Reaktionszeit (12 h) führt zu QDs mit einem deutlich größeren mittleren Durchmesser von  $(5,5 \pm 0,5)$  nm. Die Erhöhung des Durchmessers um weitere 1,2 nm entspricht theoretisch ungefähr zwei ML CdSe. Die im Rahmen der Diskussion der Spektren getätigte Vermutung, dass durch den langen Reaktionszeitraum in der Lösung zuvor nicht umgesetzte Monomere abreagiert sind, kann damit bestätigt werden. Die vergrößerte Aufnahme dieser Probe (Abbildung 6.2c) verdeutlicht die annähernd sphärische Form und die hohe Homogenität der erhaltenen QDs. Die Halbwertsbreiten<sup>2</sup> der Fluoreszenzemissionsspektren in Abbildung 6.2b nehmen von 22 nm der CdTe-Kerne auf 59 nm der QDs mit drei ML CdSe zu, was mehr als einer Verdopplung der Halbwertsbreite entspricht. Der Anstieg der Werte lässt die Vermutung zu, dass die Größen- und/oder Formverteilung der QDs bei Beschichtung mit CdSe deutlich breiter wird. Die Standardabweichungen der aus den TEM-Aufnahmen bestimmten Durchmesser liegen aber bei allen drei untersuchten Proben bei etwa 10% und die TEM-Aufnahmen zeigen auch für die Probe mit drei ML CdSe eine homogene Partikelform. Die wellenlängenskalierte Auswertung der Halbwertsbreiten erweist sich auf Grund der stark unterschiedlichen Emissionsmaxima der Proben als irreführend. Die Spektren der CdTe-QDs und der QDs mit drei ML CdSe wurden daher in Abbildung 6.3 zusätzlich in Abhängigkeit von der Wellenzahl aufgetragen. Die

<sup>2</sup>Die wellenlängenskalierten Halbwertsbreiten der Fluoreszenzemissionsspektren werden häufig zur Beurteilung der Homogenität von QD-Lösungen herangezogen [132, 134], da eine geringe Homogenität von QD-Lösungen auf Grund der Größenabhängigkeit der Bandlücke von Halbleiternanokristallen in einer größeren Halbwertsbreite resultiert.



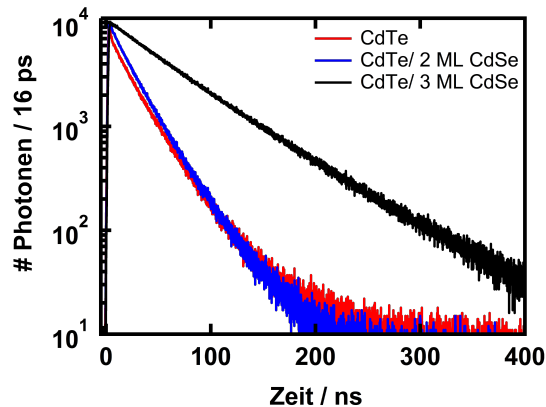
**Abbildung 6.3.:** Wellenzahlskalierte Fluoreszenzemissionsspektren der CdTe-Kerne und CdTe/3 ML CdSe-QDs aus Abbildung 6.2.

gefundenen Halbwertsbreiten der Spektren liegen bei  $659\text{ cm}^{-1}$  für CdTe und  $983\text{ cm}^{-1}$  für CdTe/3 ML CdSe. Diese Zunahme liegt mit etwa 50% in einem plausibleren Bereich unter Berücksichtigung der Ergebnisse der TEM-Aufnahmen.

Zur Beurteilung der Qualität der QDs wurden auch die  $QY_{FI}$  bestimmt. Diese sind in Tabelle 6.1 zusammengefasst. Die Quantenausbeute sinkt von 23% (CdTe-Kerne) auf 10% bei den QDs mit einer ML CdSe und steigt mit weiterer CdSe-Beschichtung auf 35% (2 ML CdSe) und 65% (3 ML CdSe). Die  $QY_{FI}$  der CdTe/3 ML QDs liegt damit im ähnlichen Bereich wie von Zhang et al. (70%) beschrieben [134].

TypII-QDs haben auf Grund des geringen Überlapps von Elektron- und Lochwellenfunktion relativ lange Fluoreszenzlebensdauern von über 40 ns [134, 247, 248]. Zur weiteren Überprüfung der Vorlage einer TypII-Struktur wurden deshalb auch die Fluoreszenzlebensdauern der CdTe-Kerne und der mit zwei und drei Monolagen CdSe beschichteten QDs bestimmt. Die Fluoreszenzzerfallskurven der CdTe-Kerne, der QDs mit zwei ML CdSe und der mit drei ML CdSe sind in Abbildung 6.4 gezeigt. Aus diesen Zerfallskurven wurden durch Anpassung von exponentiellen Zerfallsfunktionen die amplitudengewichteten Fluoreszenzlebensdauern  $\tau$  bestimmt. Zusätzlich wurden für einen Vergleich mit den Werten von Zhang et al. die Lebensdauern  $\tau_{1/e}$  ermittelt<sup>3</sup>. Die Werte sind in Tabelle 6.1 zusammengefasst. Die mittleren Fluoreszenzlebensdauern der CdTe-Kerne und der QDs mit zwei ML CdSe sind sich mit 21 ns und 22 ns sehr ähnlich. Bei weiterer Beschichtung mit CdSe erhöht sich der Wert drastisch auf 51 ns. Ein Vergleich der hier ermittelten  $\tau_{1/e}$  mit den Literaturwerten aus [134] zeigt eine gute Übereinstimmung der gefundenen Werte von CdTe-QDs (17 ns und 15 ns), wohingegen der Wert von CdTe/ 2 ML CdSe-QDs kürzer ist als bei Zhang et al. (19 ns und 28 ns). Dies ist vermutlich auf die oben bereits diskutier-

<sup>3</sup>Die Anpassung der Zerfallskurve erfolgt zwischen dem Zeitpunkt 0 und dem Zeitpunkt, an dem die Intensität auf  $1/e$  der maximalen Intensität abgefallen ist.



**Abbildung 6.4.:** Fluoreszenzzerfallskurven der CdTe-Kerne, der CdTe/2 ML CdSe- und CdTe/3 ML CdSe-QDs. Die Fluoreszenzlebensdauer steigt mit steigender CdSe-Schichtdicke von 17 ns (CdTe-Kerne) auf 51 ns (CdTe/ 3ML CdSe). Die Detektionswellenlänge der Emission wurde entsprechend der Emissionsmaxima der Proben eingestellt. Die Anregungswellenlänge lag bei 605 nm.

te nicht vollständige Umsetzung der Vorstufen während der Beschichtung mit den ersten beiden ML CdSe zurückzuführen, sodass die QDs der vorliegenden Arbeit eine geringere CdSe-Schichtdicke besitzen als die in [134]. Mit weiterer Beschichtung erhöht sich  $\tau_{1/e}$  auf 51 ns, und liegt im Bereich des in [134] genannten für CdTe/4 ML CdSe-QDs (45 ns)<sup>4</sup>. Insgesamt ist auf Grund der drastischen Erhöhung der der Fluoreszenzlebensdauern davon auszugehen, dass durch das Aufwachsen der CdSe-Schichten eine TypII-Struktur ausgebildet wurde.

### 6.1.1. Zweistufige Synthese der CdTe/CdSe-Struktur bei höheren Reaktionstemperaturen

Die im vorherigen Abschnitt beschriebene Synthese bei einer Wachstumstemperatur von 150 °C erfordert sehr lange Reaktionszeiten: Zusammen mit der notwendigen Evakuierungsdauer von 2 h vor der Beschichtung und der 30 minütigen Reaktionszeit nach Zugabe der Cd-Vorstufe (vor der Zugabe der Se-TOP-Lösung) betrug diese bereits 8 h für CdTe/2 ML CdSe-QDs, wobei die Zeiten zum Erhitzen und Abkühlen der Reaktionslösung nicht berücksichtigt sind. Wegen der oben erläuterten Instabilität der CdTe-Kerne sollten diese direkt nach ihrer Synthese beschichtet werden. Dies führt zwangsweise zu einer Durchführung der Reaktion über Nacht, was die Reaktionskontrolle erschwert.

Bei Reaktionstemperaturen von 170 °C für die erste ML CdSe, 190 °C für die zweite und 200 °C für die dritte ML CdSe wurden die besten Ergebnisse erzielt. Die Synthesedauer für CdTe/ 3 ML CdSe betrug so lediglich 6,5 h. Tabelle 6.2 gibt einen Überblick über die Reaktionstemperaturen, die Reaktionszeiten und die Ergebnisse der Synthese bei höheren

<sup>4</sup>Von Zhang et al. wird kein Wert für CdTe/3 ML CdSe-QDs angegeben. Der Wert für CdTe/4 ML CdSe-QDs (45 ns) wird daher zum Vergleich herangezogen.

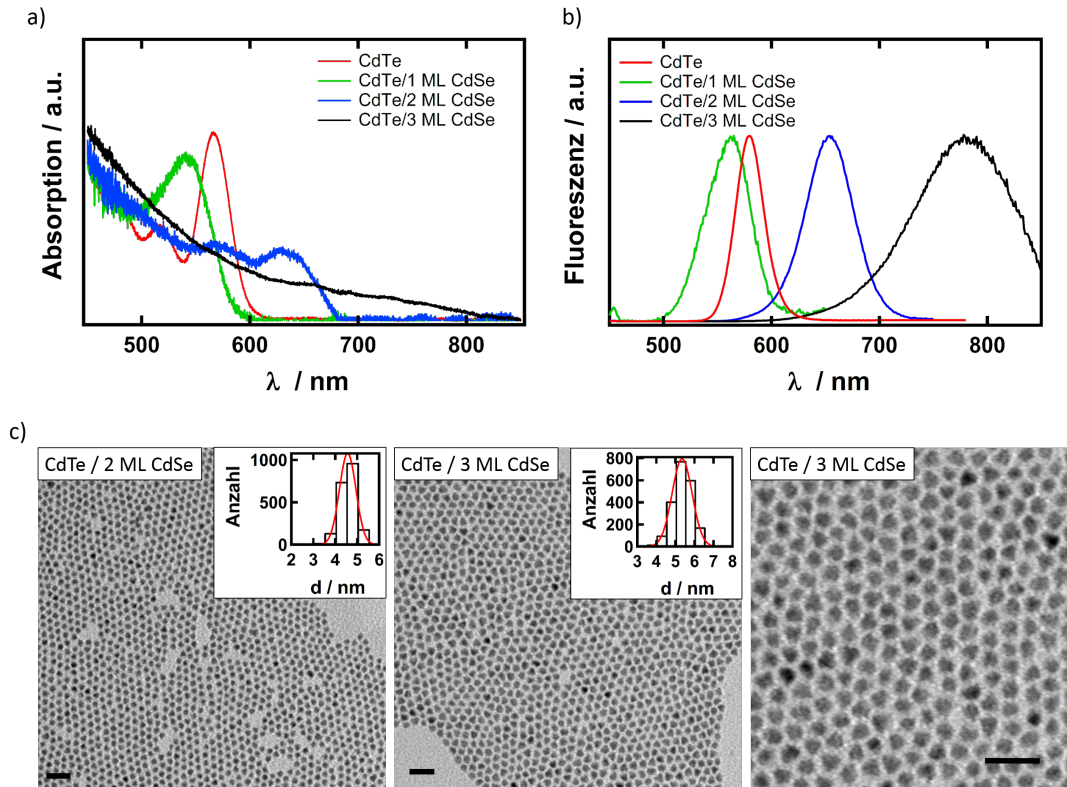
**Tabelle 6.2.:** Synthesetemperaturen  $T$ , Synthesenzeiten  $t$ , Fluoreszenzemissionsmaxima  $\lambda_{FI}$  und Fluoreszenzquantenausbeuten  $QY_{FI}$  der Synthese bei höheren Temperaturen (I) im Vergleich zu den Ergebnissen der Synthese bei 150 °C (II, grau hinterlegt). Die Spektren und TEM-Aufnahmen der Proben von I sind in Abbildung 6.5 gezeigt.

Probe	$T / ^\circ\text{C}$		$t / \text{min}$		$\lambda_{FI} / \text{nm}$		$QY_{FI} / \%$	
	I	II	I	II	I	II	I	II
CdTe-Kern	-	-	-	-	580	593	13	21
CdTe/ 1 ML CdSe	170	150	30	120	565	588	3	10
CdTe/ 2 ML CdSe	190	150	90	180	654	625	55	35
CdTe/ 3 ML CdSe	200	150	90	720	775	775	71	65

Temperaturen (I) im Vergleich zu der bei 150 °C durchgeführten Synthese (II).

Die Absorptions- und Fluoreszenzmissionsspektren der bei höherer Temperatur synthetisierten QDs sind in Abbildung 6.5a und b dargestellt, die Fluoreszenzmissionsmaxima der Proben sind in Tabelle 6.2 aufgeführt. Wie im Experiment bei 150 °C kam es auch hier zu einer Auflösung der CdTe-Kerne während der Beschichtung mit der ersten ML CdSe, welche in einer Verschiebung der Spektren zu kürzeren Wellenlängen resultiert. Die Spektren der QDs mit zwei ML sind zu größeren Wellenlängen verschoben, die Verschiebung ist mit 89 nm wesentlich stärker ausgeprägt als im Falle der besprochenen Synthese bei 150 °C (38 nm), obwohl die Wachstumszeit statt 3 h nach Zugabe der Se-Vorstufenlösung nur 1,5 h betrug. Dies unterstreicht den großen Effekt, welchen die Erhöhung der Synthesetemperatur auf die Wachstumsgeschwindigkeit hat: Die Vorstufen wurden zu einem größeren Teil umgesetzt, gleichzeitig kann die Synthesedauer etwa halbiert werden. Die Zugabe weiterer Vorstufenlösung führt zu einer weiteren Verschiebung des Fluoreszenzmissionsmaximums auf 775 nm, welches dem der bei 150 °C erhaltenen QDs mit drei ML CdSe entspricht.

Zur Überprüfung der Qualität der bei höherer Temperatur synthetisierten CdTe/3 ML CdSe QDs wurden die  $QY_{FI}$  bestimmt und TEM-Aufnahmen angefertigt. Die  $QY_{FI}$  sind ebenfalls in Tabelle 6.2 aufgeführt, die TEM-Aufnahmen sind in Abbildung 6.5c gezeigt. Die  $QY_{FI}$  steigt von 3% der QDs mit einer ML CdSe auf 55% (CdTe/2 ML CdSe) und 71% (CdTe/3 ML CdSe). Damit ist die  $QY_{FI}$  ähnlich der bei niedrigerer Synthesetemperatur dargestellten QDs (65%). Die QDs mit zwei ML CdSe haben einen mittleren Durchmesser von  $(4,5 \pm 0,5)$  nm, der Durchmesser der mit drei ML CdSe beschichteten QDs steigt um 0,8 nm auf  $(5,3 \pm 0,6)$  nm, was innerhalb der Standardabweichung der theoretisch zu erwartenden Zunahme von 0,7 nm liegt. Außerdem unterscheidet sich die finale Größe der QDs damit nur geringfügig von den bei 150 °C synthetisierten QDs ( $(5,5 \pm 0,5)$  nm). Die Morphologie der QDs beider Experimente ist vergleichbar.



**Abbildung 6.5.:** a) Absorptions- und b) Fluoreszenzemissionsspektren der bei höheren Synthesetemperaturen dargestellten QDs. c) Exemplarische TEM-Aufnahmen der CdTe/2 ML CdSe und CdTe/3 ML CdSe-QDs mit den zugehörigen Histogrammen der Größenverteilungen. Die Durchmesser betragen  $(4,5 \pm 0,5)$  nm für die CdTe/2 ML CdSe und  $(5,3 \pm 0,6)$  nm für die CdTe/3 ML CdSe. Der Maßstabsbalken beträgt in allen Aufnahmen 20 nm.

Im Rahmen der durchgeführten Versuche mit der vorgestellten Syntheseroute konnten erfolgreich CdTe/CdSe-QDs mit  $QY_{FI}$  von über 90% synthetisiert werden, was den gefundenen  $QY_{FI}$  von Zhong et al. entspricht (Spektren und TEM-Aufnahme siehe Anhang Abbildung A.19).

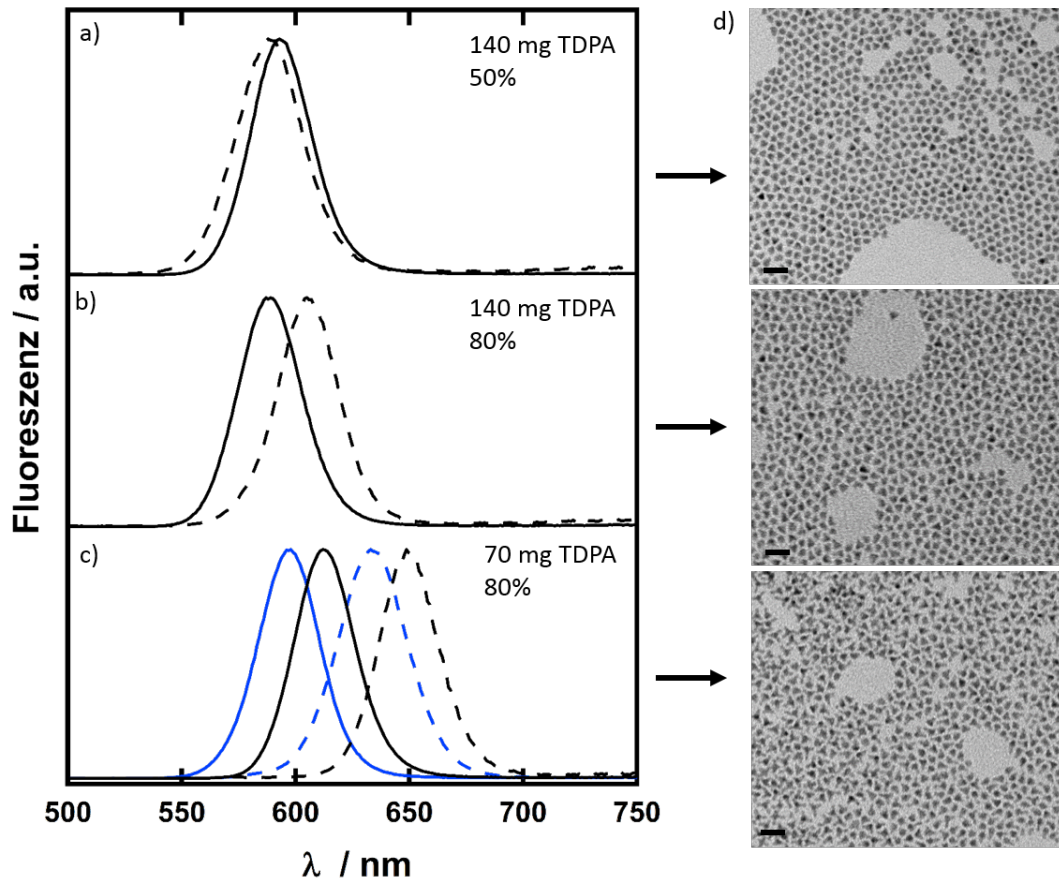
Die bei den erhöhten Reaktionstemperaturen erhaltenen CdTe/3 ML CdSe-QDs haben die gleiche Qualität in Bezug auf  $\lambda_{FI}$ ,  $QY_{FI}$  und Größen- und Formverteilung wie die bei 150 °C synthetisierten. Die Durchführung der Synthese bei höheren Wachstumstemperaturen vereinfacht die Synthese erheblich, da so auch mehr als drei ML CdSe unter Kontrolle der Fluoreszenzmissions- und Absorptionsspektren auf die CdTe-Kerne aufgebracht werden können. Eine Reaktionsführung über Nacht kann vermieden werden.

### 6.1.2. Einfluss des Ligandenanteils in der Reaktionslösung und des Vorstufenvolumens auf die Synthese

Wie in den beiden vorangestellten Abschnitten diskutiert, ist das größte Problem bei der Beschichtung von CdTe-Kernen deren Instabilität, welche eine direkte Weiterverarbeitung erfordert und, auf Grund der Verkleinerung der CdTe-Kernkristallgröße während des ersten Beschichtungsschrittes, zu undefinierten Kern-Schale-Strukturen führt. Dieser Auflösungsprozess wird durch die relativ langen Reaktionszeiten zum vollständigen Aufwachsen der CdSe-Monolagen gefördert. Sind die Kerne mit einer ML CdSe beschichtet, wurde in keinem Experiment eine weitere Auflösung beobachtet. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird von der Menge der zugegebenen Vorstufen beeinflusst. Daher wurden Versuche mit 80% statt 50% des theoretisch aus dem Partikelvolumen bestimmten Vorstufenmenge durchgeführt. Darüber hinaus hat auch das Stoffmengenverhältnis von TDPA zu CdTe-Kernen einen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit und die Morphologie der CdTe/CdSe-QDs. Daher soll hier auch der Einfluss der TDPA-Menge kurz diskutiert werden.

Abbildung 6.6a zeigt die Fluoreszenzmissionsspektren von CdTe-Kernen (durchgezogene Linien) und den korrespondieren bei verschiedenen Synthesebedingungen erhaltenen QDs mit einer ML CdSe (gestrichelte Linien). Alle Spektren der CdTe/CdSe-QDs wurden nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden bei einer Reaktionstemperatur von 150 °C aufgenommen.

Bei Verwendung von 80% des theoretischen Volumens (Abbildung 6.6b) ist im Gegensatz zur Verwendung von 50% (Abbildung 6.6a) eine deutlich Verschiebung des Fluoreszenzmissionsmaximums um 16 nm zu größeren Wellenlängen zu beobachten. Die Erhöhung des Vorstufenvolumens führt den Erwartungen entsprechend also zu einer Erhöhung der Wachstumsgeschwindigkeit auf den CdTe-Kernen. Zwar lässt diese Beobachtung keine definitive Aussage über eine Reduzierung der Kern-Auflösung zu, da aber durch die erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit der für die Auflösung zu Verfügung stehende Zeitraum reduziert wird, ist davon auszugehen, dass die Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit den Auflösungsprozess verkürzt, und die sich der Kerndurchmesser daher in geringerem



**Abbildung 6.6.:** a) bis c) Fluoreszenzmissionsspektren von CdTe-Kernen (durchgezogene Linien) und den zugehörigen CdTe/ 1 ML CdSe-QDs (gestrichelte Linien), welche bei unterschiedlichen TDPA- und Vorstufenmengen (angegeben in % des theoretisch benötigten Volumens für eine komplette Monolage) erhalten wurden. Für die Experimente mit 50% des theoretischen Volumens und 70 mg TDPA ist ein Beispiel mit kleineren CdTe-Kernen in blau dargestellt. d) Exemplarische TEM-Aufnahmen der unter verschiedenen Bedingungen synthetisierten CdTe/CdSe-QDs. Die Aufnahmen stammen von den QDs, deren Spektren in a) bis c) in schwarz dargestellt sind, nachdem weitere Vorstufenvolumina zugegeben wurden (siehe Text). Der Maßstabsbalken beträgt in allen Aufnahmen 20 nm.

Umfang reduziert.

In Abbildung 6.6c sind die Fluoreszenzspektren von zwei Experimenten, welche mit 80% des theoretischen Vorstufenvolumens, aber halbiertem TDPA zu CdTe-Kern Verhältnis (70 mg statt 140 mg unter Beibehaltung der CdTe-Kernkonzentration) im Vergleich zu den in der Mitte der Abbildung gezeigten QDs synthetisiert wurden, dargestellt. In blau sind die Spektren von Proben gezeigt, welche einen ähnlichen Kerndurchmesser wie die in Abbildungsteil (a) und (b) gezeigten QDs (3,5 nm, bestimmt nach [111]) aufweisen. Die Kerndurchmesser der QDs, deren Spektren in schwarz dargestellt sind, haben einen ungefähr 0,2 nm größeren Durchmesser (3,7 nm, bestimmt nach [111]). Bei beiden Proben führt die Halbierung der TDPA-Menge zu einer erhöhten Reaktionsgeschwindigkeit, wie an der Verschiebung des Fluoreszenzemissionsmaximums um 37 nm zu größeren Wellenlängen zu erkennen ist. Im Gegensatz dazu verschiebt sich bei doppelter TDPA-Menge und gleichen Vorstufenvolumina das Maximum nur um 16 nm (6.6b). In diesem Zusammenhang sei außerdem darauf hingewiesen, dass bei Verwendung des in [134] angegebenen TDPA zu CdTe-QD Stoffmengenverhältnisses, welches um einen Faktor von 1000 geringer war, ein vollständiges Auflösen der CdTe-Kerne während des Heizprozesses für das Beschichten mit der ersten ML CdSe beobachtet wurde.

Auf den ersten Blick erscheint die Erhöhung der Vorstufenmenge und Reduzierung des TDPA-Anteils in der Reaktionslösung sinnvoll, um die Reaktionsgeschwindigkeit zu erhöhen und so die Auflösungsprozesse der CdTe-Kerne zu reduzieren. Abbildung 6.6d zeigt TEM-Aufnahmen der Proben, deren Spektren in Abbildung 6.6a bis c gezeigt sind, nach der Injizierung von weiteren Vorstufenvolumina. Das zugegebene Gesamtvolumen der Vorstufen ist bei den gezeigten Proben ähnlich: Bei beiden Experimenten mit 80% des theoretischen Vorstufenvolumens sind die QDs nach zweimaliger (insgesamt jeweils 0,84 ml Kationen- und Anionenvorstufenlösung), bei dem Experiment mit 50% des theoretischen Volumens nach dreimaliger Zugabe (insgesamt jeweils 0,95 ml Kationen- und Anionenvorstufenlösung) der Vorstufen gezeigt. Alle Proben haben das gewünschte Fluoreszenzemissionsmaximum von  $\geq 750$  nm. Die Morphologien der Partikel unterscheiden sich deutlich: Bei Verwendung von 80% des theoretischen Vorstufenvolumens und 70 mg TDPA sind die Partikel nicht sphärisch, es sind viele Tetrapoden vorhanden. Die Verdopplung der TDPA-Menge führt zu einer deutlich weniger elongierten und homogeneren Partikelform. Die besten Resultate hinsichtlich der Morphologie werden aber bei Verwendung von nur 50% des theoretischen Vorstufenvolumens erzielt.

Für die Folgeexperimente mit den QDs wurden die Synthesen im Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich einer möglichst einheitlichen sphärischen Morphologie optimiert, der Auflösungsprozess wurde dabei in Kauf genommen. Entsprechend wurde immer mit 50% des theoretischen Vorstufenvolumens gearbeitet und 140 mg TDPA verwendet. Bestandteil zukünftiger Experimente sollte weiterhin die Optimierung der Synthese hinsichtlich der gezielten Verminderung des Auflösungsprozesses sein.

## 6.2. Einstufige Synthese CdTe/CdSe-Struktur

Eine alternative Möglichkeit zur Unterdrückung der Kernauflösung bietet eine Eintopfsynthese, bei welche die Kerne ohne Aufarbeitung direkt in der Syntheselösung beschichtet werden. Neben der ausbleibenden Entfernung von stabilisierenden Oberflächenliganden von den CdTe-Kernen wird auch der Syntheseaufwand reduziert.

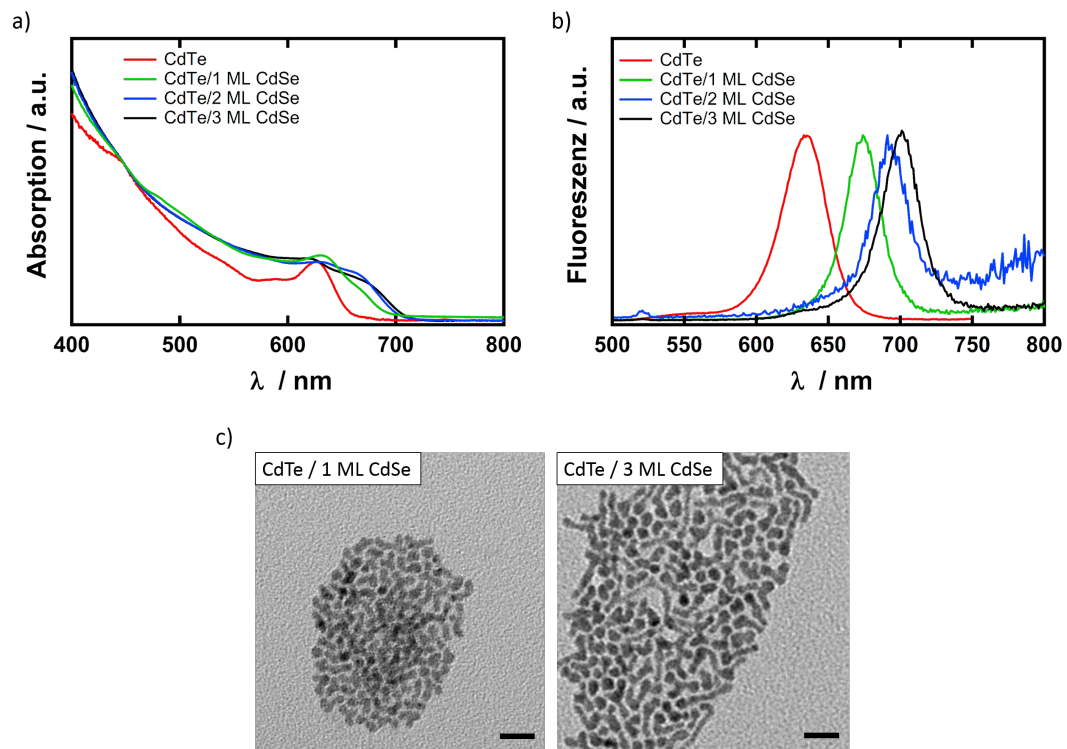
Die Synthese wurde zunächst nach [64] durchgeführt. Dabei wurde statt des dort verwendeten Cd-Myristats das bereits bei der zweistufigen Synthese eingesetzte  $\text{Cd}(\text{OAc})_2$  als Vorstufe verwendet, da dieses eine niedrige Zersetzungstemperatur hat [134]. Die Synthese wurde ebenfalls in Octadecen, mit TDPA als stark koordinierenden Liganden und mit „Thermischen Zyklieren“ durchgeführt. Die Volumina der zugegebenen Vorstufen und die Reaktionstemperaturen entsprachen exakt denen aus [64].

Die Ergebnisse einer solchen Synthese sind in Abbildung 6.7 zusammengefasst. Wie erwartet, verschieben sich Absorptions- und Fluoreszenzemissionsmaxima bei steigender Beschichtung mit CdSe zu größeren Wellenlängen. Im Gegensatz zu den vorgestellten Experimenten mit aufgearbeiteten CdTe-Kernen verschieben sich die Absorptions- und Fluoreszenzemissionsmaxima nach Beschichtung mit einer ML CdSe nicht zu kleineren Wellenlängen, sodass, wie eingangs erwähnt, der Auflösungsprozess ausbleibt. Die Maxima verschieben sich in Folge der Beschichtung insgesamt in deutlich geringerem Ausmaß als in den Experimenten mit vorheriger Aufreinigung (siehe Abbildung 6.2 und Abbildung 6.5). Die Halbwertsbreite der QDs mit drei ML CdSe ist mit 34 nm relativ gering. Die in Abbildung 6.7c gezeigten TEM-Aufnahmen der Partikel mit einer und drei ML CdSe offenbaren allerdings eine unregelmäßige Partikelform, sodass die Synthese mit den in [64] vorgeschlagenen Parametern nicht sinnvoll erscheint.

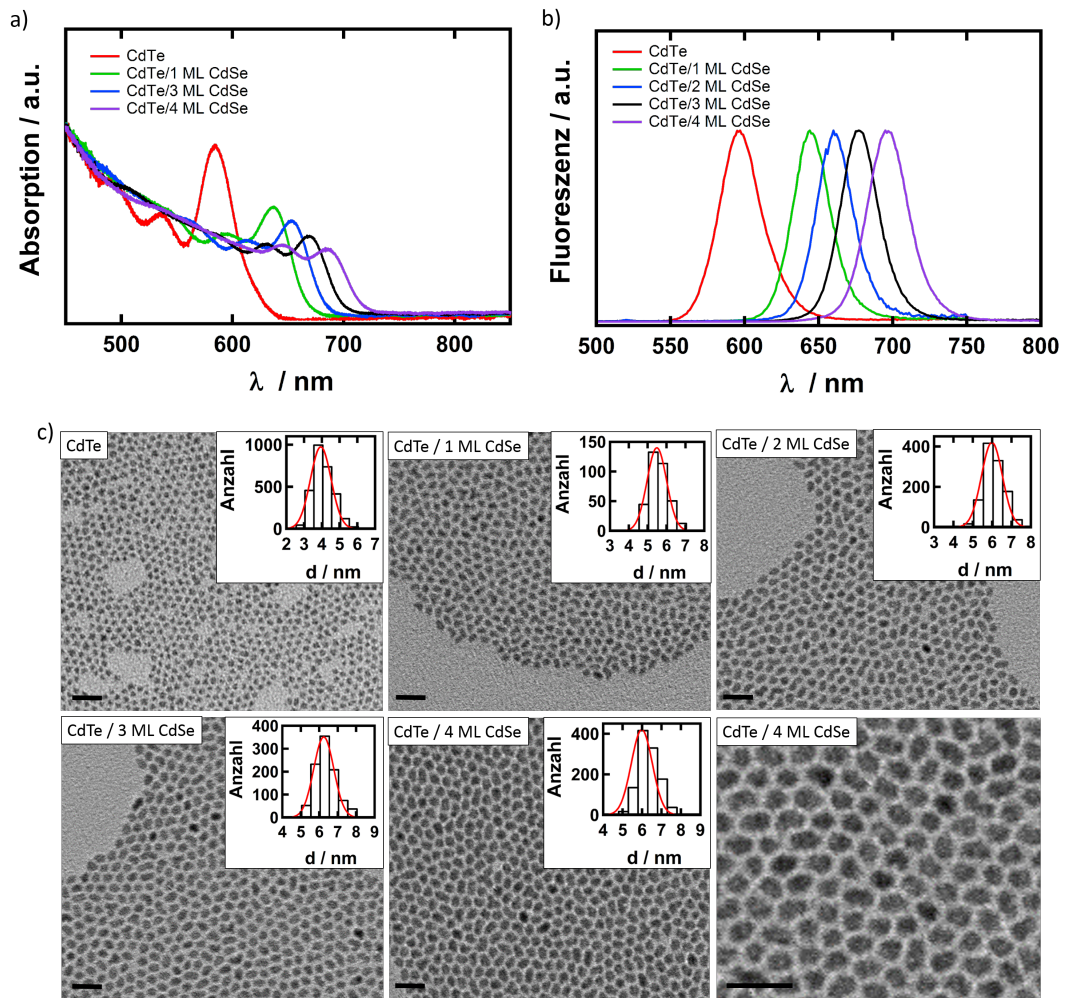
Eine erfolgreiche Methode zur Darstellung homogener sphärischer CdTe/CdSe-QDs ohne Aufreinigung der CdTe-Kerne beinhaltete folgende Änderungen der Syntheseparameter:

- Reduzierung des Vorstufenvolumens auf 50% des theoretisch benötigten Volumens für eine Monolage,
- Zugabe der Cd- und Se-Vorstufen mit 30 Minuten Pause,
- Zugabe weiterer Vorstufenlösung erst, wenn die Absorptions- und Fluoreszenzemissionsmaxima der Proben konstant bleiben,
- Halbierung der Se-Konzentration der Se-Vorstufenlösung und
- Erhöhung der Wachstumstemperatur auf 200 °C, 220 °C und 230 °C (im Vergleich zu 180 °C, 190 °C und 200 °C) für die erste, zweite und alle weiteren Monolagen.

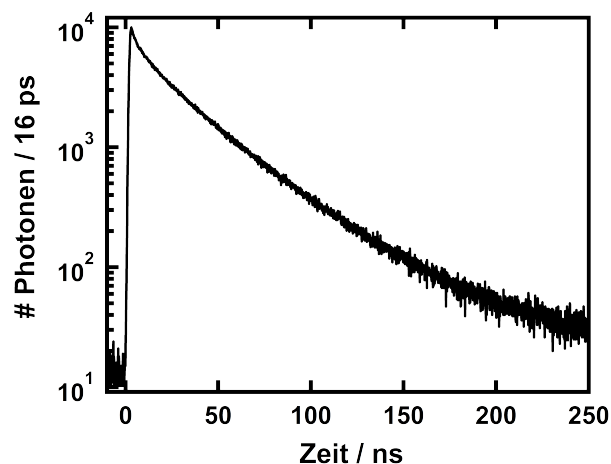
Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.8 und Tabelle 6.3 zusammengefasst. Mit steigender CdSe-Schichtdicke verschieben sich die Fluoreszenzemissions- und Absorptionsmaxima zu



**Abbildung 6.7.:** Ergebnisse der CdTe/CdSe-QD-Synthese ohne Aufarbeitung der CdTe-Kerne nach [64]. a) Absorptions- und b) Fluoreszenzemissionsspektren. c) Exemplarische TEM-Aufnahmen. Der Maßstabsbalken beträgt 20 nm.



**Abbildung 6.8.:** Ergebnisse der modifizierten Eintopfsynthese: a) Absorptions- und b) Fluoreszenzemissionsspektren. c) Exemplarische TEM-Aufnahmen mit den Histogrammen der Größenverteilungen. Durchmesser siehe Tabelle 6.3. Der Maßstabsbalken beträgt in allen Aufnahmen 20 nm.



**Abbildung 6.9.:** Fluoreszenzabklingkurve der CdTe/4 ML CdSe-QDs, welche mit der modifizierten Entopfsynthese erhalten wurden. Die mittlere amplitudengewichtete Fluoreszenzlebensdauer beträgt 22 ns.

größeren Wellenlängen, wobei die Verschiebung nach der ersten Vorstufenzugabe (eine ML CdSe) mit 47 nm am stärksten ist. Bei Zugabe der Vorstufen für die weiteren ML verschieben sich die Spektren lediglich um 17 nm (zweite und dritte ML) und 20 nm (vierte ML). TEM-Aufnahmen der einzelnen Proben sind in Abbildung 6.8c gezeigt. Der Durchmesser der QDs nimmt mit steigender Zugabe der Vorstufen zu, wobei die Zunahme nach Zugabe der Vorstufen für die erste Monolage mit 1,5 nm deutlich über der theoretisch erwarteten von 0,7 nm liegt, und die weiteren Zunahmen geringer sind als die theoretisch erwartet. Die große Zunahme der mittleren Partikelgröße zu Beginn der Reaktion ist eventuell auf die Umsetzung von Cd- und Te-Vorstufen der Kernsynthese zurückzuführen. Die Form der QDs ist auch nach viermaliger Zugabe der Vorstufenlösungen sphärisch und homogen. Die  $QY_{FI}$  sind in Tabelle 6.3 zusammengefasst. Wie im Fall der zweistufigen Synthese nimmt die  $QY_{FI}$  zu Beginn der CdSe-Beschichtung ab (hier von 9% auf 3%) und bei weiterer Beschichtung zu, wobei die  $QY_{FI}$  der QDs mit drei ML CdSe nur 11% beträgt (vgl. 65%). Die Fluoreszenzlebensdauer der QDs mit vier ML CdSe (Zerfallskurve siehe Abbildung 6.9) ist mit 22 ns deutlich kurzlebiger als die der CdTe/3 ML CdSe der Synthese mit Aufreinigung der CdTe-Kerne (51 ns).

Sowohl die  $QY_{FI}$  als auch die Fluoreszenzlebensdauer der mit vier Monolagen beschichteten CdTe-QDs liegen im Bereich der bei der zweistufigen Synthese ermittelten  $QY_{FI}$  für QDs mit zwei ML CdSe. Das Absorptionsspektrum der CdTe/4 ML CdSe ist ähnlich strukturiert wie das von Zhong et al. publizierte von CdTe/2 ML CdSe [134] und dem hier präsentierten Absorptionsspektrum von QDs mit zwei ML CdSe (siehe Abbildung 6.5a). Nach bisherigem Kenntnisstand muss davon ausgegangen werden, dass die Schichtdicke des CdSe auf den CdTe-QDs geringer ist als in den zuvor diskutierten Experimenten der zweistufigen Synthese. Da die Kontrolle über die Kern-Schale-Struktur durch die vorhandenen Cd- und Te-Vorstufen aus der Kernsynthese deutlich schwieriger

**Tabelle 6.3.:**  $QY_{FI}$ ,  $\lambda_{FI}$  und mittlere Durchmesser  $d$  der mittels Eintopfsynthese erhaltenen QDs.

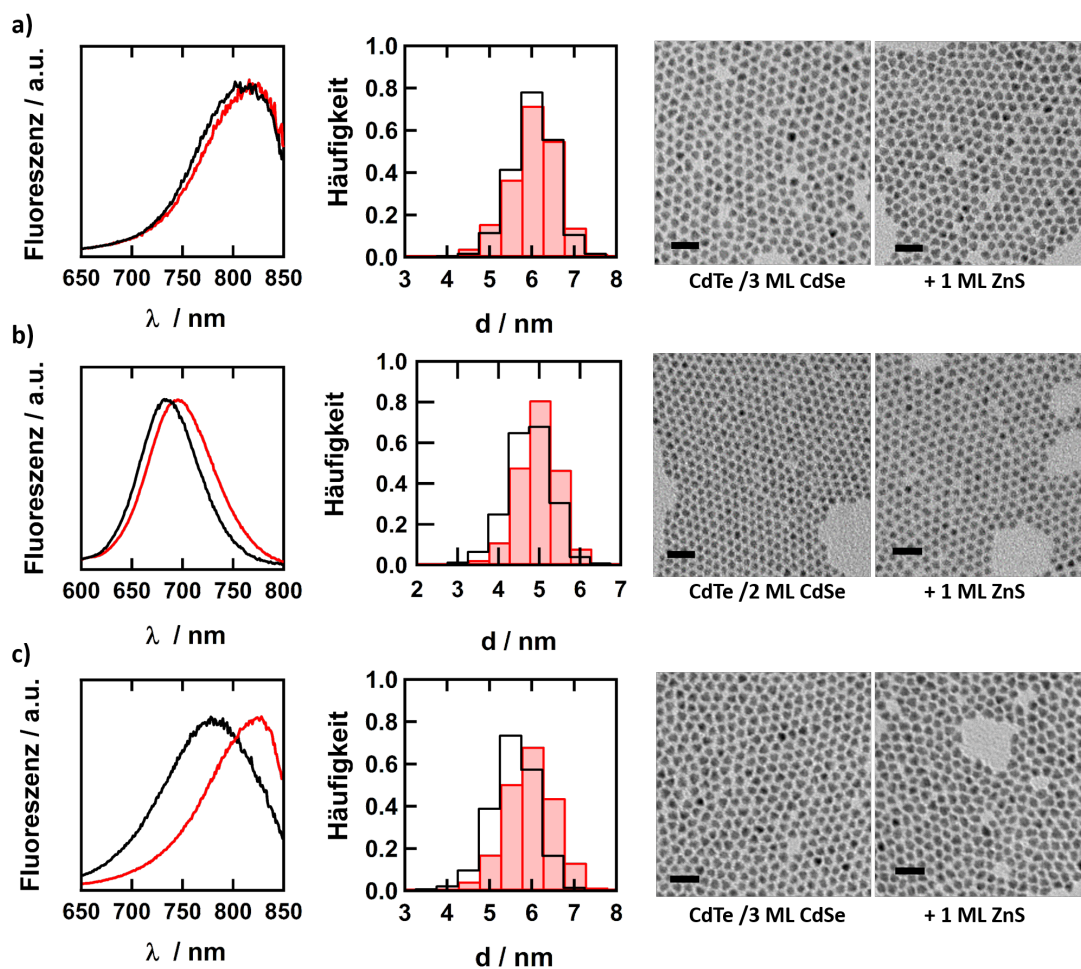
Probe	$QY_{FI}$ / %	$\lambda_{FI}$ / nm	$d$ / nm
CdTe-Kern	9	596	$4,0 \pm 0,6$
CdTe/1 ML CdSe	3	643	$5,5 \pm 0,5$
CdTe/2 ML CdSe	2	660	$6,0 \pm 0,6$
CdTe/3 ML CdSe	11	677	$6,3 \pm 0,6$
CdTe/4 ML CdSe	29	697	$6,5 \pm 0,6$

zu bewerkstelligen ist als in der zweistufigen Synthese, wurde dieser Ansatz der Synthese für in Folgeexperimenten verwendete QDs nicht weiter verfolgt.

### 6.3. Beschichtung der CdTe/CdSe-Struktur mit ZnS

Die CdTe/CdSe-Strukturen wurden zur Passivierung mit ZnS-Schalen beschichtet. Die zunächst durchgeführten Versuche mit den auch für die TypI-QDs aus Abschnitt 5 verwendeten S- und Zn-Vorstufen schlugen fehl: Die Fluoreszenzspektren, Größenverteilungen und exemplarische TEM-Aufnahmen der QDs vor und nach der Zugabe der Zn- und S-Vorstufen und 30-minütiger Reaktionszeit sind in Abbildung 6.10a gezeigt. Die Fluoreszenzspektren der QDs unterscheiden sich nur sehr geringfügig und die Histogramme der Partikelgrößenverteilung beider Proben überlagern sich vollständig, sodass nicht davon auszugehen ist, dass eine ZnS-Schicht aufgetragen wurde.

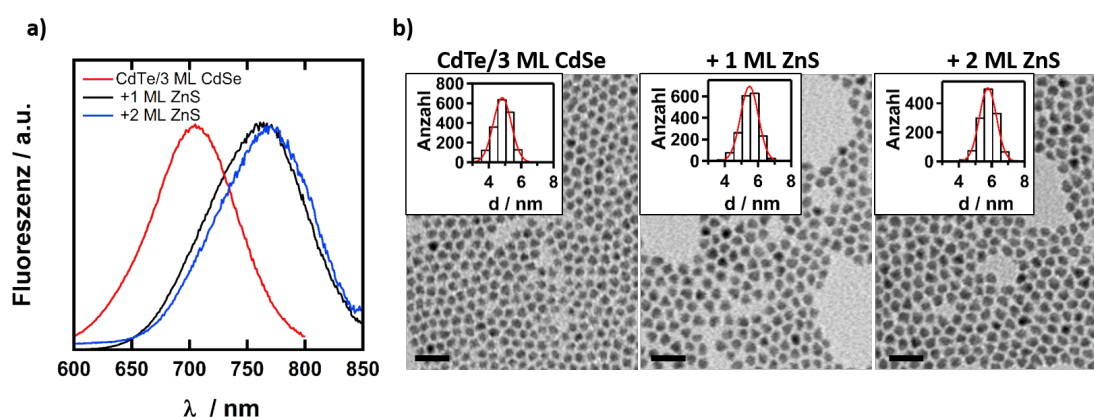
In weiteren Versuchen wurde zur Beschichtung Zinkdiethyldithiocarbamat (ZDC) verwendet, welches sowohl Zn- als auch S-Lieferant ist [134]. Die Ergebnisse der Versuche mit 50% des theoretischen Volumens ZDC sind in Abbildung 6.10b, die mit 100% des theoretischen Volumens in Abbildung 6.10c zusammengefasst. Im Gegensatz zu dem in Abbildungsteil (a) gezeigten Ergebnissen unter Verwendung der „traditionellen“ S- und Zn-Vorstufen ist in Beispiel (b) eine signifikante Verschiebung des PL-Emissionsmaximums von 684 nm auf 696 nm sowie eine Vergrößerung des mittleren Durchmessers der QDs von 4,5 nm auf 4,7 nm vorhanden. Beides spricht für eine erfolgte Reaktion auf der QD-Oberfläche. Die Zunahme des Durchmessers liegt allerdings deutlich unter der erwarteten für eine Monolage ZnS (0,6 nm). Die Verwendung von 100% des theoretischen Volumens bei identischer Reaktionszeit und -temperatur führt zu einer Zunahme des Durchmessers um 0,4 nm, und liegt damit näher am theoretisch erwarteten Wert von 0,6 nm. Die Analyse der TEM-Aufnahmen zeigt, dass sich auch bei Verwendung von 100% des theoretischen Volumens die Größenverteilung und die Partikelmorphologie nicht verschlechtert. Im diskutierten Beispiel nimmt die  $QY_{FI}$  durch die Beschichtung mit ZnS von 71% auf 38% ab. Die Verschiebung des Emissionsmaximums zu größeren Wellenlängen um 45 nm (siehe



**Abbildung 6.10.:** Fluoreszenzemissionsspektren, exemplarische TEM-Aufnahmen und Histogramme der Größenverteilungen der CdTe/CdSe-QDs und der mit ZnS-beschichteten QDs: a) ZnS-Beschichtung mit den Vorstufen, welche auch für Typ-I-QDs verwendet wurden. b) ZnS-Beschichtung mit ZDC, 50% des theoretisch benötigten Volumens c) ZnS-Beschichtung mit ZDC, 100% des theoretisch benötigten Volumens. Die Ergebnisse der CdTe/CdSe-QDs sind in schwarz, die der CdTe/CdSe/ZnS-QDs in rot dargestellt. Der Maßstabsbalken beträgt in allen TEM-Aufnahmen 20 nm.

**Tabelle 6.4.:**  $d$ ,  $QY_{FI}$  und  $\lambda_{FI}$  der in Abbildung 6.10 gezeigten Proben.

		50%, S-ODE/Zn(OAc) <sub>2</sub>	50% ZDC	100% ZDC
$d/\text{nm}$	ohne ZnS	$5,8 \pm 0,5$	$4,5 \pm 0,5$	$5,3 \pm 0,6$
	mit ZnS	$5,8 \pm 0,6$	$4,7 \pm 0,5$	$5,7 \pm 0,6$
$QY_{FI}/\%$	ohne ZnS	65	67	71
	mit ZnS	61	70	38
$\lambda_{FI}$	ohne ZnS	812 nm	684 nm	780 nm
	mit ZnS	816 nm	696 nm	825 nm



**Abbildung 6.11.:** a) Fluoreszenzemissionsspektren von CdTe/3 ML CdSe-QDs und der mit einer und zwei ML ZnS beschichteten QDs. b) Exemplarische TEM-Aufnahmen der in a) gezeigten Proben. Der Maßstabsbalken beträgt in allen Aufnahmen 20 nm. Die mittleren Durchmesser sind  $(4,8 \pm 0,7)$  nm,  $(5,4 \pm 0,6)$  nm und  $(5,8 \pm 0,6)$  nm für die QDs ohne, mit einer und mit zwei ML ZnS.

Abbildungsteil (c)) ist ebenfalls deutlich ausgeprägter. Tabelle 6.4 fasst die Ergebnisse der verschiedenen Experimente für eine bessere Übersichtlichkeit nochmals zusammen.

Auf Grund der relativen Lagen der Bandkanten von ZnS und CdSe sollten eigentlich keine Ladungsträger in die ZnS-Schale übergehen [107] und die Übergangsenergien sollten sich demzufolge nicht ändern. Die relativ starken Verschiebungen der Fluoreszenzemissions- und Absorptionsmaxima, welche durch die Beschichtung mit ZnS hervorgerufen werden, deuten aber auf eine Beteiligung der Energieniveaus der ZnS-Schale an den elektronischen Übergängen in den QDs hin. Dies konnte durch die Beschichtung mit einer weiteren ML ZnS unterdrückt werden, wie die Ergebnisse in Abbildung 6.11 zeigen: Es sind Fluoreszenzemissionsspektren und exemplarische TEM-Aufnahmen von CdTe/3 ML CdSe-QDs, CdTe/3 ML CdSe mit einer und CdTe/3 ML CdSe mit zwei ML ZnS dargestellt. Die zusätzliche ZnS-Schicht führt nur zu einer sehr geringfügigen Verschiebung des Fluoreszenzmaximus, gleichzeitig nimmt der mittlere Durchmesser um 0,4 nm zu, sodass davon

auszugehen ist, dass auch die zweite ML ZnS erfolgreich aufgewachsen wurde. Die Partikel sind auch nach Aufbringen von zwei ML ZnS sphärisch und haben eine homogene Größenverteilung ( $(5,7 \pm 0,5)$  nm).

#### **6.4. Hydrophilisierung der QDs durch Ligandenaustausch mit Dihydroliponsäure**

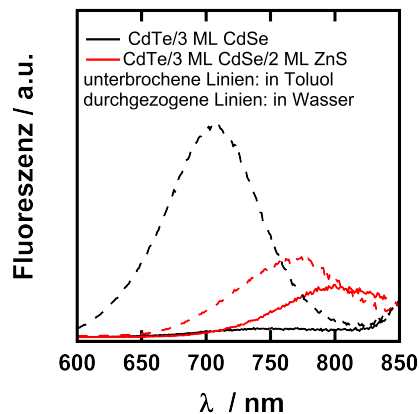
Die Wasserlöslichkeit der QDs wurde durch einen Ligandenaustausch mit dem bidentaten Liganden Dihydroliponsäure (DHHLA) vermittelt, welcher mit den beiden Thiofunktionen an die QD-Oberfläche koordiniert [249].

Die in Abbildung 6.11 gezeigten QDs mit drei ML CdSe sowie die mit 2 ML ZnS wurden mit DHHLA in die wässrige Phase überführt. Die Spektren der QDs mit den ursprünglichen Liganden in Toluol und den mit DHHLA modifizierten in Wasser gelösten QDs sind in Abbildung 6.12 gezeigt. Alle Proben hatten die gleiche optische Dichte bei der gewählten Anregungswellenlänge (479 nm). Der Einfluss der ZnS-Schale auf das optische Verhalten ist deutlich erkennbar: Während die Fluoreszenz der CdTe/3 ML CdSe fast vollständig gelöscht wird, beträgt die Fluoreszenzintensität der QDs mit zwei ML ZnS in Wasser immer noch 53% der ursprünglichen Intensität. Außerdem findet durch den Phasentransfer eine Verschiebung des Emissionsmaximums von 762 nm auf 804 nm statt. Diese spektrale Verschiebung zu niedrigeren Energien wurde bei allen Experimenten beobachtet, war allerdings nicht Gegenstand weiterer Untersuchungen. Vermutlich ist diese auf eine Beteiligung von freien Elektronenpaaren der Thiofunktionen des neuen Liganden DHHLA an den Rekombinationsprozessen zurückzuführen, was auch zu der Reduzierung der  $QY_{FI}$  korrespondiert (vgl. Abschnitt 2.2.4). Nichtsdestotrotz steigert die ZnS-Beschichtung die Fluoreszenzintensität der in Wasser gelösten QDs erheblich gegenüber denen ohne ZnS-Beschichtung.

#### **6.5. Energie- und Ladungstransfer mit LHCII und Methylviologen**

Die im folgenden vorgestellten Experimente wurden von Dr. Mara Werwie in der Arbeitsgruppe Paulsen am Institut für Allgemeine Botanik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt. Zur Untersuchung der ablaufenden Prozesse wurde auch transiente Absorptionsspektroskopie eingesetzt, welche von Dr. Lars Dworak in der Arbeitsgruppe Wachtveitl (Goethe-Universität Frankfurt am Main) realisiert wurde.

Der Lichtsammelkomplex II (LHCII) ist ein trimeres Protein [64], jedes seiner drei Monomere bindet 14 Chlorophylle [250]. Der LHCII ist der Hauptbestandteil des Antennenkomplexes des Photosystems II und ist in seiner biologischen Funktion für die Absorption des einfallenden Lichts zuständig [64]. Obwohl berichtet wird, dass QDs nicht als Energie-



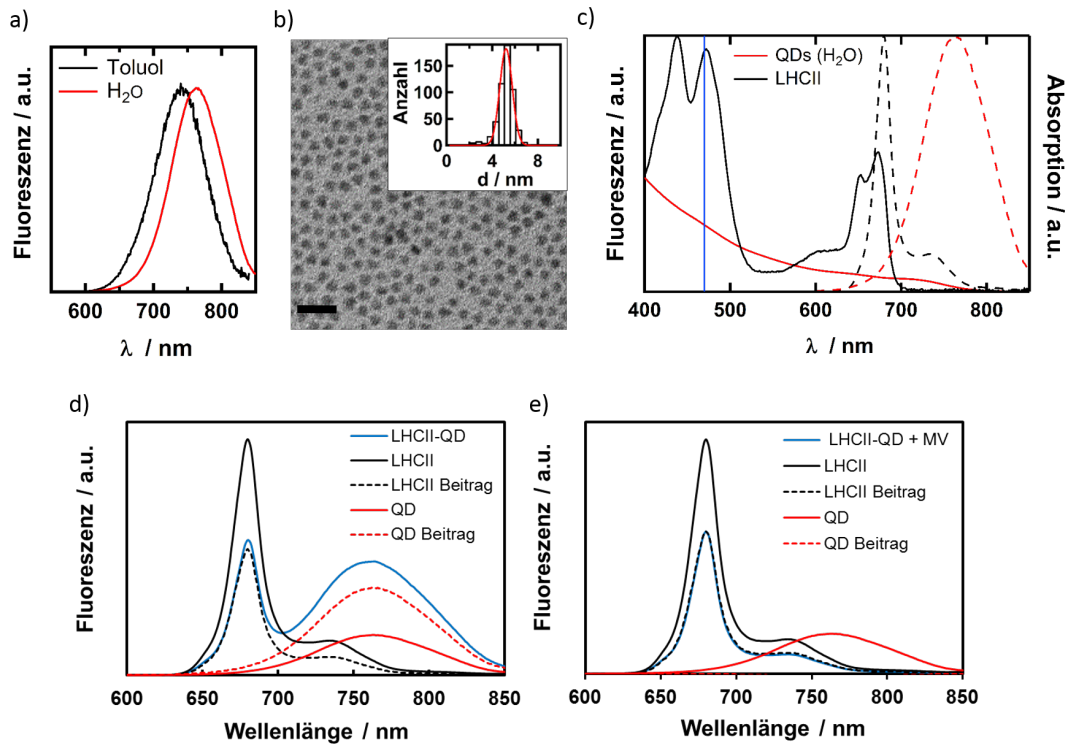
**Abbildung 6.12.:** Fluoreszenzmissionsspektren von CdTe/3 ML CdSe (schwarze Spektren) und CdTe/3 ML CdSe/2 ML ZnS (rote Spektren) in Toluol (gestrichelte Linien) und Wasser (durchgezogene Linien). Die Proben hatten die gleiche optische Dichte bei  $\lambda_{exc} = 479$  nm.

akzeptoren mit organischen Farbstoffen als Donoren agieren können (vgl. Abschnitt 2.2.5) [150], konnte gezeigt werden, dass LHCII als Lichtsammler für die QDs dienen kann [64]. Der LHCII wird dabei über elektrostatische Interaktionen sowie über die Koordinierung der His<sub>6</sub>-Tags an die Zn<sup>2+</sup>-Ionen an die QDs gebunden [251].

Aufbauend auf diesen Untersuchungen wurde mit den hier synthetisierten QDs untersucht, ob und inwiefern der LHCII in Komplexen mit QDs entsprechend seiner biologischen Funktion in Pflanzen agiert. Die „Reaktionszentren“, in denen die Ladungstrennung stattfindet, sind hier die QDs. Die Ladungstrennung wurde mit Hilfe des Elektronenakzeptors Methylviologen (MV) detektiert, welcher sein Absorptionsverhalten durch die Aufnahme von Elektronen (Reduktion) drastisch ändert. Die Ergebnisse der Untersuchung des Energietransfers und der durch den LHCII hervorgerufenen verstärkten Ladungstrennung in den QDs an QD-LHCII-Komplexen sollen im Folgenden kurz vorgestellt werden.

Die Fluoreszenzmissionsspektren der verwendeten CdTe/CdSe/ZnS-QDs in Toluol und in Wasser sowie eine exemplarische TEM-Aufnahme sind in Abbildung 6.13a und b gezeigt. Der mittlere Durchmesser der QDs betrug  $(5,3 \pm 0,7)$  nm. Analog zu den oben vorgestellten Experimenten findet auch hier auf Grund des Ligandenaustauschs eine Verschiebung des Fluoreszenzmissionsmaximums von 740 nm auf 763 nm statt. In Abbildung 6.13c sind die Absorptions- und Fluoreszenzmissionsspektren der QDs und des LHCII gezeigt. Die QDs wurden so synthetisiert, dass deren Absorptionsspektrum gut mit dem Fluoreszenzspektrum des LHCII überlappt, um einen möglichst effizienten Energietransfer zu ermöglichen. Die gewählte Anregungswellenlänge von 470 nm ist in Abbildung 6.13c mit einer blauen Linie markiert.

Alle Experimente wurden mit equimolaren Verhältnissen von LHCII-Trimeren und QDs durchgeführt. Die Fluoreszenzmissionsspektren von LHCII, QDs und den QD-LHCII-Komplexen nach Anregung mit 470 nm sind in Abbildung 6.13d dargestellt. Durch die



**Abbildung 6.13.:** Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung der elektronischen Wechselwirkung von wasserlöslichen CdTe/3 ML CdSe/ 1 ML ZnS mit dem LHCII. a) Fluoreszenzemissionsspektren der QDs in Toluol und in Wasser. b) Exemplarische TEM-Aufnahme der QDs. Der mittlere Durchmesser beträgt  $(5,3 \pm 0,7)$  nm. Der Maßstabsbalken beträgt 20 nm. c) Absorptions- und Fluoreszenzemissionsspektren der QDs und des LHCII. Die Anregungswellenlänge ist mit einer blauen Linie markiert. d) Fluoreszenzemissionsspektren des LHCII, der QDs und des 1:1 QD-LHCII-Komplexes (ein LHCII-Trimer pro QD). Außerdem sind noch die aus dem Spektrum des Komplexes extrahierten Beiträge der QDs und des LHCII gezeigt. Die Fluoreszenz des LHCII wird durch die Bindung an die QDs gelöscht, die der QDs verstärkt. e) Fluoreszenzemissionsspektren des Komplexes in Anwesenheit des Elektronenakzeptors MV. Die QD-Fluoreszenz wird auf Grund des Ladungstransfers auf das MV komplett gelöscht.

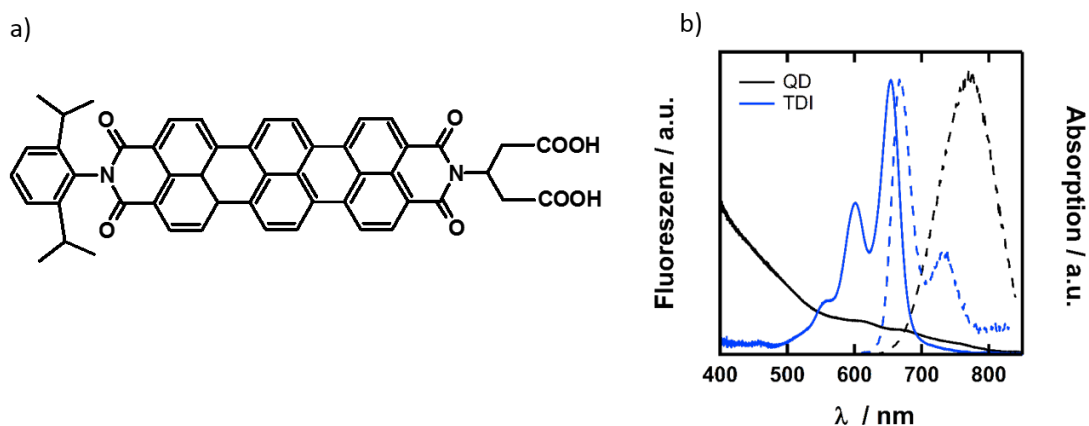
Bindung des LHCII an die QDs wird dessen Fluoreszenzintensität um etwa 50% verringert, gleichzeitig wird die der QDs verstärkt. Zur Verdeutlichung sind die individuellen Beiträge der QD-Fluoreszenz und der LHCII-Fluoreszenz zur Gesamtintensität des LHCII-QD-Spektrums dargestellt (gestrichelte Linien). Die geringere Fluoreszenzintensität des LHCII gegenüber der des reinen LHCII und die gesteigerte Intensität der QDs gegenüber der der reinen QD-Lösung sind klar erkennbar. Es findet demnach ein elektronischer Energietransfer vom LHCII auf die QDs statt, wie bereits in [64] ausführlich diskutiert.

Darüber hinaus wurden auch Proben mit zusätzlichem MV präpariert. Da reduziertes MV durch Sauerstoff reoxidiert wird, wurde den Proben ein Enzymmix (Glukose-Oxidase und Catalase) zugegeben, welcher den Sauerstoff aus den Proben verbraucht. Die Fluoreszenzemissionsspektren dieser Proben sind in Abbildung 6.13e gezeigt. Zusätzlich sind abermals die aus dem Spektrum der LHCII-QD-MV-Mischung extrahierten Beiträge der QDs und des LHCII dargestellt. Die Fluoreszenzintensität des LHCII wird auch in Anwesenheit des MV reduziert, die Fluoreszenz der QDs wird, im Gegensatz zum Experiment ohne MV, komplett gelöscht. Da die Löschung des LHCII im gleichen Umfang wie beim Experiment ohne MV stattfindet, ist davon auszugehen, dass der elektronische Energietransfer vom LHCII auf die QDs auch in Anwesenheit von MV passiert. Im QD rekombinieren Elektron und Loch allerdings nicht strahlend, sondern es findet ein Elektronentransfer von den QDs auf das MV statt, welcher mit femtosekundenaufgelöster transientser Absorptionsspektroskopie von QD-Lösungen und QD-Lösungen mit zusätzlichem MV nachweisbar ist [252].

Darüber hinaus konnte in einer Experimentalreihe mit LHCII-MV, QD-MV und LHCII-QD-MV-Lösungen gezeigt werden, dass der Anteil an reduziertem MV höher ist, wenn LHCII und QDs vorlagen, als die Summe von durch die Einzelkomponenten (LHCII und QDs) reduziertem MV. Demnach ist in der Tat durch den LHCII eine verstärkte Ladungstrennung in den QDs nachweisbar. Diese wird durch die erhöhte Anregung der QDs durch den elektronischen Energietransfer vom LHCII auf die QDs ermöglicht. Der LHCII agiert also im „künstlichen“ System der Komplexe mit QDs entsprechend seiner biologischen Funktion und verstärkt die Ladungstrennung in den QDs.

## 6.6. Komplexe mit Terrylendiimid

Analog zu den in Abschnitt 5 beschriebenen Experimenten mit TypI-QDs und PDI werden im folgenden Komplexe aus einem mit zwei Carboxyl-Funktionen ausgestattetem Terrylendiimid-Derivat (TDI, Molekülstruktur siehe Abbildung 6.14a) und CdTe/CdSe/ZnS-QDs untersucht. Dabei soll überprüft werden, ob die QDs auch als Energieakzeptoren mit TDI fungieren können. Die QDs wurden zur Optimierung des Energietransfers so synthetisiert, dass der Überlapp zwischen QD-Absorption und TDI-Fluoreszenz groß ist, gleichzeitig wurde der Überlapp zwischen QD-Fluoreszenz und TDI-Absorption möglichst gering gehalten, um einen Energietransfer von den QDs auf TDI zu vermeiden. Die Spek-



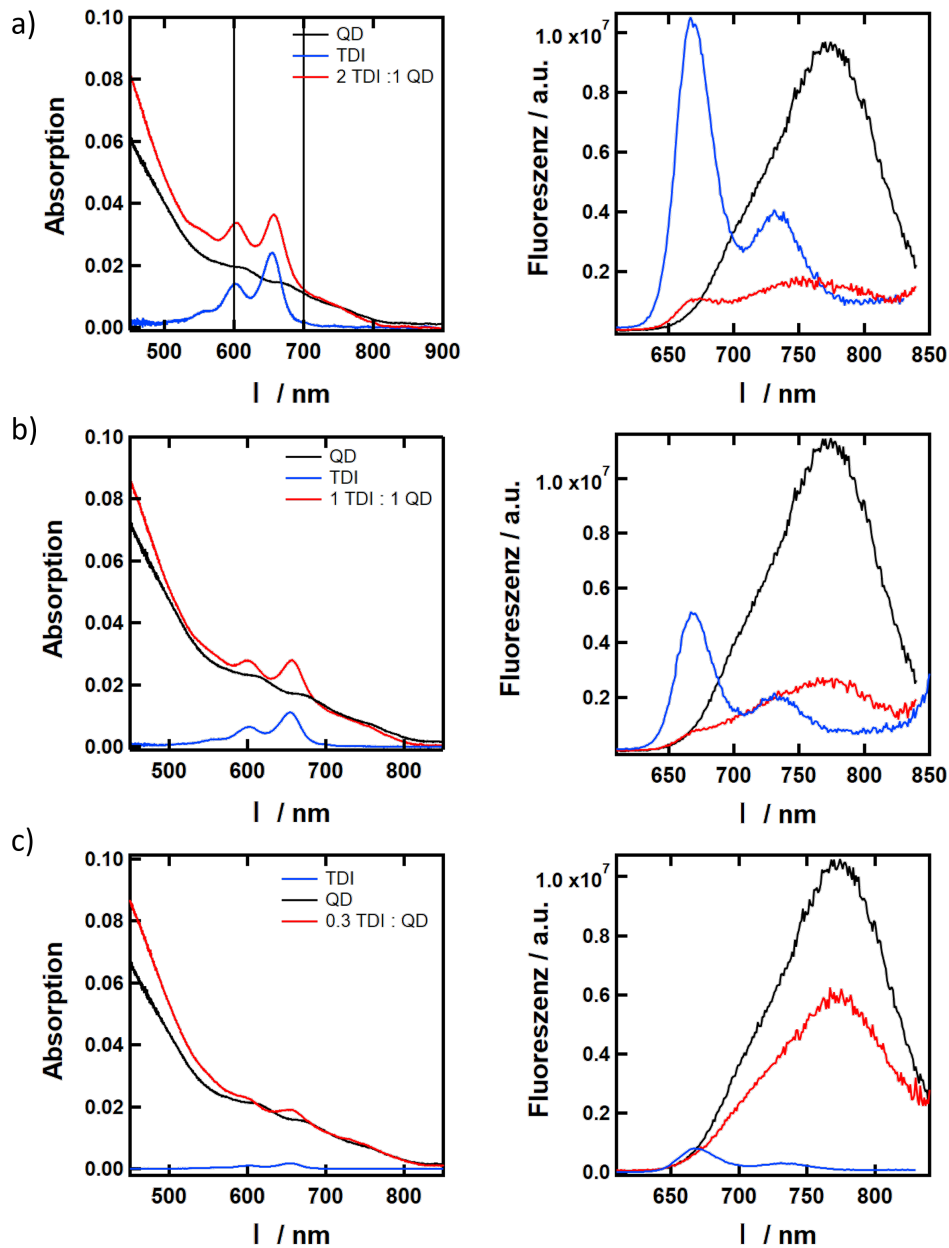
**Abbildung 6.14.:** a) Molekülstruktur des verwendeten TDI. Die beiden Carboxylatfunktionen vermitteln die Bindung an die QDs. b) Fluoreszenzemissions- (gestrichelte Linien) und Absorptionsspektren (durchgezogene Linien) des TDI und der verwendeten CdTe/2 ML CdSe/2 ML ZnS-QDs.

tren des TDI und der eingesetzten CdTe/3 ML CdSe/2 ML ZnS-QDs sind in Abbildung 6.14b dargestellt. TEM-Aufnahmen der QDs sind in Abbildung 6.11b gezeigt.

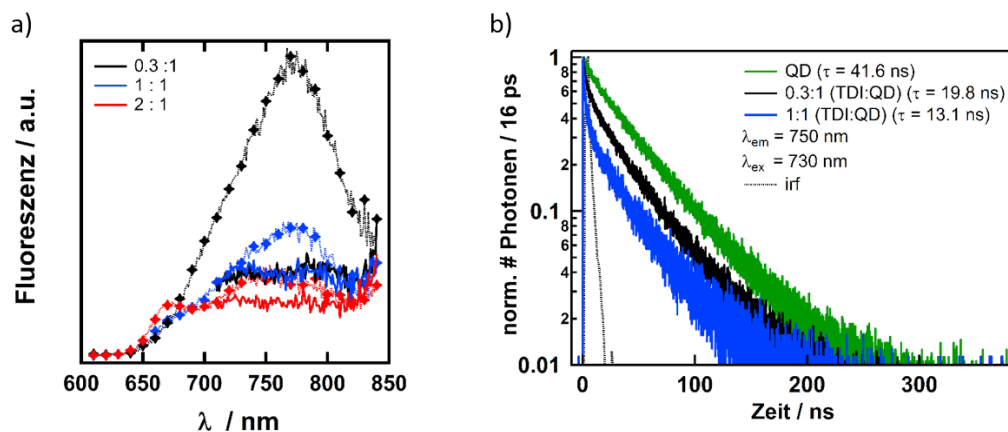
Die Absorptions- und Emissionsspektren der QDs, des TDI und der QD-TDI-Komplexe mit nominellen TDI zu QD-Verhältnissen von 0,3:1, 1:1 und 2:1 sind in Abbildung 6.15a bis c dargestellt. Alle Proben wurden mit einer Wellenlänge von 600 nm angeregt, bei der sowohl TDI als auch QDs absorbieren. Die TDI-Fluoreszenz bei 670 nm wird durch die Bindung an die CdTe/CdSe/ZnS-QDs gelöscht. Der Effekt verstärkt sich mit steigendem Akzeptor-(QD)-Gehalt in den Proben (von (a) nach (c) in Abbildung 6.15). Eine TDI-Restfluoreszenz ist in der Probe mit 2 TDI pro QD deutlich zu erkennen. Allerdings ist im Gegenzug keine Zunahme der QD-Fluoreszenz bei etwa 770 nm mit steigendem Donorgehalt zu beobachten. Stattdessen wird die QD-Fluoreszenz mit steigendem TDI-Gehalt in den Proben immer stärker gelöscht, bei 2 TDI pro QD ist fast keine Fluoreszenz der QDs mehr detektierbar.

Zur weiteren Analyse dieser Beobachtungen wurden die Komplexe auch mit einer Wellenlänge von 700 nm angeregt, bei der nur die QDs absorbieren, nicht aber das TDI. Die Spektren der Komplexe nach Anregung mit 600 nm und 700 nm sind in Abbildung 6.16a zusammengefasst. Nach Anregung mit 700 nm ist nur noch eine geringe Restfluoreszenz der Komplexe vorhanden, sodass die Signaturen der einzelnen Komponenten nicht mehr zuzuordnen sind.

Von den Komplexen mit 0,3 und 1 TDI pro QD gelang trotz der geringen Fluoreszenzintensitäten die Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauern bei selektiver Anregung der QDs mit einer Wellenlänge von 730 nm. Die Detektionswellenlänge der Emission lag bei 750 nm (Fluoreszenzemissionsmaximum der QDs). Die Zerfallskurven sind in Abbildung 6.16b dargestellt. Die mittleren amplitudengewichteten Fluoreszenzlebensdauern verkürzen sich von 41,5 ns für die QDs ohne TDI auf 19,8 ns für die QDs mit 0,3 TDI und 13,1 ns für



**Abbildung 6.15.:** Absorptions- und Fluoreszenzemissionsspektren der QD-TDI-Komplexe mit a) 2 TDI, b) 1 TDI und c) 0,3 TDI pro QD. Zur besseren Übersichtlichkeit sind jeweils die Spektren der reinen QDs und der reinen TDI-Lösung gezeigt. Die Spektren der reinen QDs wurden auf die in den Mischungen vorliegenden Konzentrationen korrigiert. Die schwarzen Linien in Abbildungsteil a) kennzeichnen die beiden Anregungswellenlängen von 600 nm und 700 nm. Die Anregungswellenlänge für die Fluoreszenzemissionsspektren in dieser Abbildung war 600 nm. Die Farbskala ist für die Absorptions- und Fluoreszenzemissionsspektren gleich.



**Abbildung 6.16.:** a) Fluoreszenzemissionsspektren der Komplexe nach Anregung mit 600 nm (TDL und QDs werden angeregt, gepunktete Linien) und 700 nm (selektive QD-Anregung, durchgezogene Linien). b) Fluoreszenzzerfallskurven der Komplexe mit 0,3 und 1 TDL pro QD. Die Anregungswellenlänge wurde mit 730 nm so gewählt, dass ausschließlich die QDs angeregt werden.

die QDs mit 1,0 TDL. Darüber hinaus konnten die Zerfallskurven der QD-TDL-Komplexe nur mit drei Zerfallszeiten zufriedenstellend angepasst werden, wohingegen die der QDs ohne TDL mit zwei Komponenten angepasst werden konnte. In Gegenwart des TDLs auf der QD-Oberfläche zerfällt der angeregte Zustand der QDs also über einen zusätzlichen Zerfallskanal.

Bei simultaner Anregung der QDs und des TDLs in den Lösungen wird die Fluoreszenz beider Komponenten reduziert. Es konnte kein Energietransfer von TDL auf die QDs detektiert werden. Auch bei selektiver Anregung der QDs ist ihre Fluoreszenzintensität deutlich geringer als die der reinen QDs ohne TDL. In Gegenwart des TDLs ist ein zusätzlicher Zerfallskanal der QD-Fluoreszenz vorhanden, sodass davon auszugehen ist, dass für die Löschung beider Komponenten ein den TDL-Grundzustand beteiligender Mechanismus vorliegt. Die zur Fluoreszenzlöschung beider Komponenten beitragenden einzelnen Prozesse wurden im Rahmen der durchgeführten Experimente nicht genauer analysiert. In Analogie zu den in Abschnitt QD-PDI untersuchten CdSe-PDI-Komplexen wäre dies auch hier mit Hilfe transientser Absorptionsspektroskopie möglich. Ein Einsatz von TDL als Energiedonor für TypII-QDs ist nach dem jetzigen Kenntnisstand nicht sinnvoll.

## 6.7. Fazit

Die Synthese von sphärischen CdTe/CdSe/ZnS-QDs gelang mit Modifikationen nach der Synthesevorschrift aus [134]. Die Synthesedauer konnte durch einfaches Erhöhen der Reaktionstemperaturen erheblich verkürzt werden. Die Verringerung der TDPA-Menge und Erhöhung der Vorstufenvolumina reduzierten zwar die beobachtete CdTe-Auflösung zu Beginn der Beschichtung, führten allerdings zu Kern-Schale-Partikeln mit unregelmäßiger

Morphologie. Die mit DHLA hydrophilisierten QDs konnten erfolgreich als Energieakzeptoren mit LHCII eingesetzt werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der LHCII die Ladungstrennung in den QDs verstärkt. TDI funktioniert nicht als Energiedonor für CdTe/CdSe/ZnS-QDs, die Fluoreszenz beider beteiligten Komponenten wurde in Folge der Komplexierung gelöscht.

## 7. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die elektronische Wechselwirkung von anorganischen Nanopartikeln und organischen Fluorophoren in verschiedenen Systemen untersucht. Zunächst wurden Goldnanopartikel (GNP) mit dem wasserlöslichen Chlorophyll bindendem Protein (WSCP) zu Dimeren assembliert. Außerdem wurden Komplexe aus fluoreszierenden CdSe-Halbleiternanokristallen (QDs) und einem mit Carboxylatankern dekorierten Perylendiimidderivat (PDI) aufgebaut. Im letzten Teil der Arbeit wurde die Synthese von sphärischen CdTe/CdSe/ZnS-QDs vorgestellt, welche in Komplexen mit dem Lichtsammelkomplex II (LHCII) sowie mit einem Terrylendiimidderivat (TDI) verwendet wurden.

Die Assemblierung von GNP-Dimeren konnte auf drei Wegen realisiert werden. WSCP adsorbierte zum einen direkt an die citrat-stabilisierten GNPs. Außerdem wurden Streptavidin-stabilisierte GNPs (SA-GNPs) mit einer mit Biotineinheiten funktionalisierten WSCP-Variante assembliert. Streptavidin agierte dabei sowohl als Stabilisator für die GNPs als auch als Funktionalisierung zur Bindung des WSCPs. Die Streptavidin-Biotin-Bindung wurde auch für die Bindung des WSCPs an Polyethylenglykol stabilisierte GNPs (PEG-GNPs) genutzt.

Während die Variante der direkten Bindung des WSCPs, wahrscheinlich unterstützt durch die metallaffinen Hexahistidin-Tags an den N-Termini des Proteins, an die citrat-stabilisierten GNPs die einfachste und schnellste Methode zum Aufbau WSCP-verbrückter GNPs darstellt, ist sie gleichzeitig auch die am wenigsten reproduzierbare aller Methoden. Problematisch ist, dass einerseits eine gewissen Salzfracht in den Lösungen vorhanden sein muss, um eine Aggregation der GNPs zu induzieren. Andererseits aggregieren citrat-stabilisierte GNPs bei zu hohen Salzfrachten auch ohne WSCP. Die individuell notwendige Salzkonzentration konnte nicht quantifiziert werden.

Die WSCP-vermittelte Aggregation SA-stabilsierter GNPs ist deutlich besser kontrollierbar, die mit TEM-Aufnahmen ermittelten Dimeranteile waren aber mit maximal 30% relativ gering. Um die Dimerausbeuten zu erhöhen, wurde versucht, die Anzahl der WSCP-Bindungsstellen an den GNPs mit Hilfe verschiedener PEG-Derivate einzustellen. Erwartungsgemäß aggregierten die GNPs weniger, wenn eine geringere Anzahl an Bindungsstellen auf den GNPs vorlag. Eine Erhöhung der Dimerausbeute konnte aber nicht beobachtet werden.

Der Aufbau von GNP-Aggregaten konnte an Hand der Verbreiterung und Verschiebung des Plasmonenresonanzpeaks in Extinktionsspektren nachgewiesen werden. Als weitere Methode für den Nachweis der WSCP-Bindung erwies sich die Fluoreszenzkorrelations-

spektroskopie als geeignet. Die Diffusionszeit des WSCPs war auf Grund der Bindung an die GNPs deutlich gegenüber der des reinen WSCPs erhöht. Bei allen drei GNP-Varianten konnte außerdem einzelmolekülspektroskopisch die Chlorophyll-Emission des WSCPs an GNP-Dimeren nachgewiesen werden.

Da beobachtet wurde, dass sich auf TEM-Proben die Probenzusammensetzungen in verschiedenen Regionen mitunter stark voneinander unterschieden, wurden von zwei Proben mit PEG-stabilisierten GNPs mit und ohne WSCP Cryo-TEM-Aufnahmen angefertigt. Die Proben werden dabei schockgefrostet, sodass der Zustand der Probe in Lösung festgehalten und abgebildet werden kann. Mit Hilfe dieser Aufnahmen konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass sich die Anzahl der Aggregate in den Proben durch die Bindung des WSCPs an die GNPs erhöht. Außerdem wurde eine Vergrößerung des mittleren Interpartikelabstands von 3,8 nm (ohne WSCP) auf 9,0 nm (mit WSCP) gefunden. Die Zunahme des Abstands beweist das Vorliegen von WSCP im Zwischenraum der GNPs. Der gefundene Abstand von 9,0 nm ist außerdem im Einklang mit dem an Hand von AFM-Höhenbildern ermittelten mittleren Abstand PEG-stabilsierter GNP-WSCP-Dimere.

Die Dimere können in den Lösungen mit Viskositätsgradientenzentrifugation angereichert werden. Als fluides Medium können Saccharoselösungen unterschiedlicher Konzentration verwendet werden. Der Dimeranteil konnte auf bis zu 44% erhöht werden. Fluoreszenzkorrelationspektroskopische Messungen zeigten, dass auch nach der Zentrifugation WSCP an den GNPs gebunden vorlag. Je nach Oberflächenpassivierung der eingesetzten GNPs unterschieden sich den theoretischen Erwartungen und Berechnungen entsprechend die Extinktionsspektren der Dimerfraktionen von den Spektren der Monomerfraktionen: Für die direkte Bindung des WSCPs an citrat-stabilisierte GNPs waren zwei auf Ensembleebene spektral voneinander unterscheidbare Resonanzpeaks vorhanden. Bei Erhöhung des Interpartikelabstands durch die SA-Stabilisierung der GNPs erhöht sich die longitudinale Resonanzfrequenz der Dimere, sodass nur ein breiter Peak in dem Spektrum der Dimerfraktion zu beobachten war.

Gelelektrophoretisch gelang die Trennung SA- und PEG-stabilsierter GNP-WSCP-Aggregate, wobei maximal 50% Dimere angereichert werden konnten. Generell ist die Trennleistung der Gelelektrophorese höher als die der Viskositätsgradientenzentrifugation, was die Gelelektrophorese zu einer vielversprechenden Methode zur Anreicherung der Dimere macht. Allerdings zersetzten sich bei der Extrahierung der Proben aus den Agargelgelen sowohl die Aggregate mit SA-stabilisierten als auch die mit PEG-stabilisierten GNPs, woraus geschlossen wurde, dass die SA-Biotin-Bindung an den GNPs nicht stabil genug für die Methode ist.

Das spektroskopische Verhalten des WSCPs im plasmonischen Feld zwischen zwei GNPs wurde an einem kombinierten Einzelmolekül-/Rasterkraftmikroskop untersucht<sup>1</sup>. Dabei dienten die rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen der Ermittlung des Oligomerisierungs-

---

<sup>1</sup>Die Experimente wurden von Marcus Held im Rahmen seiner Masterarbeit durchgeführt.

---

grads, der Ermittlung der Partikel bzw. Aggregatgrößen und der relativen Orientierung der Dimere zur Anregungspolarisation. Es konnte eindeutig gezeigt werden, dass ein verstärktes Feld nur bei einer parallel zu Dimerverbindungsachse eingestellten Anregungspolarisation existiert, und dass auch nur dann WSCP-Fluoreszenz detektierbar ist.

Weiterhin konnte eine auf das plasmonische Feld zurückzuführende Anregungsverstärkung des WSCPs nachgewiesen werden. Diese war mit einem Faktor von 3,6 (bestimmt aus der Verkürzung des Bleichzeitpunkts) bis 9,1 (bestimmt aus der maximal gemessenen Photonenzahl pro 100 ms) geringer, als die aus der simulierten Feldverstärkung zu erwartende Anregungsverstärkung von 196. Die Ursachen hierfür sind vielfältig: Beispielsweise müssen die Chlorophylle nicht unbedingt an der Stelle maximaler Feldverstärkung positioniert gewesen sein. Desweiteren kann die Orientierung des Übergangsdipolmoments des Chlorophylls relativ zu den Feldlinien ungünstig und darüber hinaus in jedem Dimer unterschiedlich gewesen sein. Es wäre auch denkbar, dass bei den durch das plasmonische Feld hervorgerufenen hohen Feldstärken bereits eine Sättigung des WSCPs eingetreten war. Die Sättigungsleistung für WSCP bzw. Chlorophyll *a* ist nicht bekannt, und sollte im Hinblick auf weitere Untersuchungen ermittelt werden.

Ein Vergleich der mittleren Gesamtzahl detektierter Photonen von WSCP an Dimeren mit der von reinem WSCP zur Abschätzung von der durch das Plasmon hervorgerufenen Verstärkung strahlender Übergänge wurde durchgeführt. Dabei wurde für die SA-stabilisierten GNPs eine Erhöhung der Gesamtzahl detektierter Photonen von  $4,7 \times 10^4$  (reines WSCP) auf  $12,2 \times 10^4$  (Dimere) bzw.  $14,8 \times 10^4$  (Monomere) bestimmt. Für PEG-stabilisierte Dimere erhöhte sich die Zahl von  $4,5 \times 10^4$  (WSCP) auf  $7,0 \times 10^4$  (Dimere). Die größte Verstärkung wurde scheinbar für die Monomere mit SA-stabilisierten GNPs gefunden, allerdings wurden insgesamt nur sechs Monomere gemessen, von denen bei drei Strukturen auf Grund mangelnder Auflösung nicht eindeutig zuzuordnen ist, ob es sich um elongierte Monomere oder Dimere mit einem sehr kleinen Interpartikelabstand handelt. Daher kann für diese Gruppe keine abschließende Beurteilung erfolgen. Für die beiden untersuchten Dimervarianten ist festzuhalten, dass durch die Bindung des WSCPs an die Goldnanoantennen die Zahl emittierter Photonen zunimmt. Die mit 62% stärkere Zunahme der Gesamtzahl detektierter Photonen bei Verwendung SA-stabilsierter GNPs gegenüber den PEG-Dimeren mit einer Zunahme von 42% korreliert mit den theoretischen Erwartungen: Die SA-stabilisierten GNP-Dimere haben einen etwas geringeren Interpartikelabstand und damit einen etwas größeren Überlapp mit der WSCP-Fluoreszenz als die PEG-stabilisierten Dimere, was in einer größeren Fluoreszenzverstärkung resultiert.

Auf Grund der Flexibilität bietet die PEG-Stabilisierung der GNPs für zukünftige Experimente die meisten Möglichkeiten. Es könnten GNPs mit anderen Partikelformen (Stäbchen, Prismen) funktionalisiert werden und die Methode erlaubt durch den Einsatz von PEGs unterschiedlicher Kettenlängen eine Variation der Interpartikelabstände. Der Einsatz von Thiol-funktionalisierten WSCPs für die Bindung an die GNPs mittels der stabilen Schwefel-Gold-Bindung und die anschließende Passivierung der Strukturen mit PEG für

die Anreicherung mit Hilfe von präparativer Gelelektrophorese ist Gegenstand aktueller Untersuchungen.

Zur Verbesserung der Fluoreszenzverstärkung wären Strukturen mit geringerem Interpartikelabstand (beispielsweise mit Hilfe der genannten direkten Thiol-vermittelten Bindung des WSCPs an die GNPs) oder mit größeren GNPs notwendig. Weiterhin bietet sich WSCP an, um die Beeinflussung der spontanen Emissionrate durch das Plasmon zu untersuchen: Möglich wäre die Anregung des WSCPs mit einer kürzeren Wellenlänge (400 nm bis 440 nm), sodass das WSCP, nicht aber das Partikelplasmon angeregt wird. Erhöht bzw. verringert sich die Fluoreszenzintensität gegenüber reinem WSCP, so wäre dies nur auf die Verstärkung bzw. Löschung der spontanen Emission des WSCPs zurückzuführen.

Der zweite Themenblock dieser Arbeit widmete sich der Untersuchung der elektronischen Wechselwirkungen zwischen einem Perylendiimid-Derivat und CdSe-QDs. Hierfür wurden unpassivierte CdSe-QDs, CdSe-QDs mit einer Passivierungsschicht aus einer Monolage CdS und zwei Monolagen ZnS bzw. fünf Monolagen ZnS synthetisiert. Dabei wurde zur besseren Vergleichbarkeit darauf geachtet, dass die Lage der Fluoreszenzemissionsmaxima und Absorptionsmaxima aller drei QD-Varianten gleich waren. Mit den gewählten spektroskopischen Eigenschaften der QDs war es möglich, sowohl die QDs als auch den Farbstoff in den Komplexen selektiv anzuregen.

Nach Anregung der QDs wurde in den statischen Fluoreszenzemissionsspektren der erwartete, und für passivierte CdSe-QDs bereits intensiv untersuchte, Energietransfer von den QDs auf PDI beobachtet: Die Emissionsintensität der QDs nahm mit steigender Konzentration des PDIs ab, die des PDIs zu. Gleichzeitig wurde, insbesondere bei Verwendung der CdSe-QDs als Energiedonoren, eine Reduzierung der PDI-Fluoreszenz bei hohen PDI-QD-Verhältnissen gefunden. Der Energietransfer von unpassivierten CdSe-QDs auf das PDI sowie die Reduzierung der PDI-Fluoreszenz waren Gegenstand der weiteren experimentellen Untersuchungen.

Der Energietransfer von den CdSe-QDs auf das PDI wurde mit Hilfe transients Absorptionsspektroskopie genauer analysiert<sup>2</sup>. Für geringe PDI-QD-Verhältnisse bis einschließlich 0,8 PDI pro QD wurde eine Energietransferkomponente gefunden, welche sich von 500 ps für 0,1 PDI pro QD auf 180 ps für 0,8 PDI pro QD beschleunigte. Für höhere PDI-Gehalte wurde eine zusätzliche Transferzeit gefunden, welche mit 0,3 ps an der zeitlichen Auflösungsgrenze des verwendeten Messaufbaus lag und der Intrabandrelaxationszeit von CdSe-QDs entspricht. Der Energietransfer findet demnach nicht nur aus dem 1S(e)-Niveau statt, sondern auch vom 1P(e)-Zustand und involviert somit heiße Exzitonen der QDs. Die Intrabandrelaxation und der heiße Exzitonen involvierende Energietransfer auf das PDI stehen in Konkurrenz zueinander, wobei die Wahrscheinlichkeit des Energietransfers aus dem 1P(e)-Zustand mit steigender PDI-Konzentration auf der CdSe-Oberfläche zunimmt und bei der Probe mit dem größten PDI-QD-Verhältnis einen Anteil von 47% des

---

<sup>2</sup>Die Experimente und die Datenanalyse wurden von Dr. Lars Dworak (Arbeitsgruppe Prof. Wachtsveitl, Goethe-Universität Frankfurt am Main) durchgeführt.

---

gesamten Energietransfers ausmacht. Nach bisherigem Kenntnisstand wurde noch nicht von einem solchen, heißen Exzitonen involvierendem, Energietransfer berichtet.

Die Reduzierung der PDI-Fluoreszenz wurde auch beobachtet, wenn selektiv das PDI in den QD-Farbstoffkomplexen angeregt wurde, wobei die Reduzierung der Fluoreszenz abhängig von der Passivierung der CdSe-QDs war. Unpassivierte CdSe-QDs zeigten bereits bei geringen PDI-QD-Verhältnissen eine starke Reduzierung der PDI-Fluoreszenzintensität. Bei Verwendung von mit fünf Monolagen ZnS passivierten QDs nahm die Fluoreszenzintensität erst bei einem Verhältnis von 4,9 PDI pro QD gegenüber der Intensität von reinem PDI ab. Die Fluoreszenzlöschung ging mit einer Beschleunigung des Zerfalls der Fluoreszenz des an QDs gebundenen PDIs einher, welche ebenfalls von der Passivierung der CdSe-QDs abhing. Der Zerfall der PDI-Fluoreszenz beschleunigte sich mit steigendem PDI-QD-Verhältnis im Fall der CdSe-QDs von 5,6 ns für reines PDI auf 2,4 ns für die Probe mit 0,1 PDI pro QD und weiter auf 1,6 ns für die Probe mit 3,7 PDI pro QD. Bei mit fünf Monolagen passivierten QDs beschleunigte sich der Zerfall nicht so drastisch: Die Fluoreszenzlebensdauer nahm von 4,0 ns (0,1 PDI pro QD) auf 3,4 ns (4,9 PDI pro QD) ab.

Mit Hilfe transienter Absorptionsspektroskopie<sup>3</sup> konnte die Reduzierung der Fluoreszenz des PDIs an CdSe-QDs auf einen Elektronentransfer von den im Grundzustand befindlichen CdSe-QDs auf das angeregte PDI zurückgeführt werden. Dabei konnte für die Probe mit dem höchsten PDI-CdSe-Verhältnis eine positive Absorptionsänderung gefunden werden, welche spektral dem PDI-Radikalanion zuzuordnen ist. Der Ladungstransfer beschleunigte sich von 1 ns für die Probe mit 0,8 PDI pro QD auf 0,26 ns für die Probe mit 5,2 PDI pro QD. Die Ursache für diese Beschleunigung konnte noch nicht gefunden werden. An Hand der Ensemblespektren ist eine Aggregatbildung der PDIs auf der QD-Oberfläche nicht nachweisbar. Denkbar wäre bei hohen PDI-QD-Verhältnissen die Besetzung von Kristallfacetten, welche elektronenreich sind, so dass der Elektronentransfer vereinfacht wird.

Insgesamt können die Prozesse in CdSe-PDI-Komplexen folgendermaßen zusammengefasst werden: Nach Anregung der QDs findet ein Energietransfer auf das PDI statt. Dieser beschleunigt sich mit steigender Akzeptorkonzentration. Bei hohen PDI-QD-Verhältnissen tritt eine zusätzliche sehr schnelle Energietransferkomponente auf, welche auf den Energietransfer von heißen Exzitonen zurückzuführen ist, und deren Beitrag zum gesamten Energietransfer mit steigender Akzeptorkonzentration zunimmt. Befindet sich das PDI im angeregten Zustand, findet ein Elektronentransfer von den CdSe-QDs im Grundzustand auf das HOMO des PDIs statt.

Interessant im Hinblick auf weitere Experimente wäre die Untersuchung von CdSe-QDs, welche mit unterschiedlich dicken Passivierungsschichten ausgestattet sind. Eventuell ließe sich eine Schichtdicke bestimmen, ab welcher der Ladungstransfer (fast) vollstän-

---

<sup>3</sup>Die Experimente sowie die Datenanalyse wurden von Dr. Lars Dworak durchgeführt.

dig unterbunden wird. Zur genaueren Analyse der Abhängigkeit des Elektronentransfers von der PDI-Belegungsdichte wären auch Experimente mit besonders Selen-reichen (bzw. Schwefel-reichen) oder Cadmium-reichen (bzw. Zink-reichen) QDs interessant.

Im letzten Teil der Arbeit wurde die Synthese von sphärischen CdTe/CdSe/ZnS-QDs präsentiert. Die Synthese gelang nach der Vorschrift von Zhang et al. [134], wobei das angegebene Verhältnis von TDPA-Liganden zu CdTe-Kernen um einen Faktor von etwa 1000 angehoben werden musste. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die Durchführung der Synthese bei höheren Temperaturen eine erhebliche Verkürzung der Synthesedauer ermöglichte, ohne dass Qualitätsverluste im Hinblick auf Partikelform und Fluoreszenzquantenausbeute zu beobachten waren. Das Vorliegen einer TypII-Struktur konnte mit den gefundenen langen Fluoreszenzlebensdauern von bis zu 51 ns belegt werden. ZnS-Schalen konnten nur erfolgreich mit der Vorstufe Zinkdithiodicarbamat aufgetragen werden, mit dem Einsatz der Vorstufen Schwefel und ZnO, welche erfolgreich für die Synthese der CdSe/CdS/ZnS-QDs verwendet wurden, konnte unter den verwendeten Synthesebedingungen keine ZnS-Schale auf die CdTe/CdSe-Strukturen aufgewachsen werden. Der Einfluss der ZnS-Schale auf die photophysikalischen Eigenschaften der QDs wurde nach dem Ligandenaustausch mit Dihydroliponsäure (DHLS) und Überführung der QDs in die wässrige Phase deutlich: Ohne die ZnS-Schicht war die Reduzierung der QY in Folge der Überführung in die wässrige Phase deutlich größer, als mit den passivierenden ZnS-Schichten. Die wasserlöslichen CdTe/CdSe/ZnS-QDs konnten erfolgreich an den LHCII gebunden werden<sup>4</sup>. Die spektroskopischen Untersuchungen dieser Komplexe, ebenfalls durchgeführt von Dr. Mara Werwie, zeigten einen Energietransfer vom LHCII auf die QDs<sup>4</sup>. In Proben mit zusätzlichem Methylviologen konnte außerdem nachgewiesen werden, dass die Ladungstrennung in den QDs durch den LHCII auf Grund des Energietransfers verstärkt wird.

Darüber hinaus wurden mit den QDs Komplexe mit TDI aufgebaut, um zu untersuchen, inwiefern auch TDI als Energiedonor fungieren kann. In Folge der Bindung des TDI wurde aber nicht nur eine reduzierte Fluoreszenzintensität des potentiellen Energiedonors, sondern auch eine Löschung der QD-Fluoreszenz beobachtet, welche auch bei selektiver Anregung der QDs präsent war. Zusätzlich wurde nach selektiver Anregung der QDs ein beschleunigter Zerfall der Fluoreszenz sowie eine zusätzliche Fluoreszenzzerfallskomponente gefunden, wenn TDI anwesend war. Die Löschung und die Beschleunigung des Fluoreszenzzerfalls verstärkten sich mit steigendem TDI-Gehalt. TDI ist als Energiedonor für die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten CdTe/CdSe/ZnS-QDs nicht geeignet. Die Fluoreszenzlöschung der QDs nach deren selektiver Anregung und die Beschleunigung des Fluoreszenzzerfalls sprechen für eine Beteiligung des im Grundzustand vorliegenden TDI am für die Fluoreszenzlöschung zu Grunde liegenden Mechanismus, dessen Aufklä-

---

<sup>4</sup>Die Experimente zur Bindung an den LHCII und die spektroskopischen Untersuchungen der Komplexe wurden von Dr. Mara Werwie (Arbeitsgruppe Prof. Paulsen, Johannes Gutenberg-Universität Mainz) durchgeführt.

---

rung in Analogie zu den Untersuchungen der CdSe-PDI-Komplexe mit Hilfe transienter Absorptionsspektroskopie denkbar wäre.

Die Arbeit zeigt den breiten Einsatzbereich anorganischer Nanopartikel und leistet einen Beitrag zum Verständnis der elektronischen Wechselwirkungen mit in ihrer direkten Umgebung positionierten Molekülen. Auf Grund des einfachen Aufbaus der untersuchten Systeme bieten diese die Möglichkeit weiterer Untersuchungen im Hinblick auf die Wechselwirkung von Plasmonen mit Fluorophoren und der Elektronen- und Ladungstransfermechanismen organischer Farbstoffe mit QDs. Ersteres ist hinsichtlich der Beeinflussung spontaner Emissionsraten von Fluorophoren von generellem Interesse, letzteres im Hinblick auf den Einsatz von QDs in optoelektronischen Anwendungen.

## Literatur

- [1] M. Kohlhuber, *Nanomaterialien in Lebensmitteln und Verbraucherprodukten, Anwendungsbereiche, Analytik, rechtliche Rahmenbedingungen*, Stand: September 2012, Bayer. Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Erlangen, **2012**.
- [2] J. Athinarayanan, V. S. Periasamy, M. A. Alsaif, A. A. Al-Warthan, A. A. Alshatwi, „Presence of nanosilica (E551) in commercial food products: TNF-mediated oxidative stress and altered cell cycle progression in human lung fibroblast cells“, *Cell Biology and Toxicology* **2014**, *30*, 89–100.
- [3] V. Mamaeva, C. Sahlgren, M. Linden, „Mesoporous silica nanoparticles in medicine—recent advances“, *Advanced drug delivery reviews* **2013**, *65*, Journal Article Review, 689–702.
- [4] S. E. Lohse, C. J. Murphy, „Applications of colloidal inorganic nanoparticles: from medicine to energy“, *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 15607–15620.
- [5] M.-K. Kwon, J.-Y. Kim, B.-H. Kim, I.-K. Park, C.-Y. Cho, C. C. Byeon, S.-J. Park, „Surface-Plasmon-Enhanced Light-Emitting Diodes“, *Advanced Materials* **2008**, *20*, 1253–1257.
- [6] J. M. Caruge, J. E. Halpert, V. Wood, V. Bulović, M. G. Bawendi, „Colloidal quantum-dot light-emitting diodes with metal-oxide charge transport layers“, *Nature Photonics* **2008**, *2*, 247–250.
- [7] O. Chen, H. Wei, A. Maurice, M. Bawendi, P. Reiss, „Pure colors from core–shell quantum dots“, *MRS Bulletin* **2013**, *38*, 696–702.
- [8] E. H. Sargent, „Colloidal quantum dot solar cells“, *Nature Photonics* **2012**, *6*, 133–135.
- [9] D. V. Talapin, J.-S. Lee, M. V. Kovalenko, E. V. Shevchenko, „Prospects of colloidal nanocrystals for electronic and optoelectronic applications“, *Chemical reviews* **2010**, *110*, Journal Article, 389–458.
- [10] D. K. Kim, Y. Zhang, W. Voit, K. V. Rao, M. Muhammed, „Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles“, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2001**, *225*, 30–36.

- [11] A. P. Alivisatos, „Semiconductor Clusters, Nanocrystals and Quantum Dots“, *Science* **1996**, *271*, 933–937.
- [12] L. Qu, Z. A. Peng, X. Peng, „Alternative Routes toward High Quality CdSe Nanocrystals“, *Nano Letters* **2001**, *1*, 333–337.
- [13] L. Brus, „Electronic wave functions in semiconductor clusters: experiment and theory“, *The Journal of Physical Chemistry* **1986**, *90*, 2555–2560.
- [14] C. Sönnichsen, T. Franzl, T. Wilk, G. v. Plessen, J. Feldmann, „Plasmon resonances in large noble-metal clusters“, *New Journal of Physics* **2002**, *4*, 93.1–93.8.
- [15] S. Eustis, M. A. El-Sayed, „Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes“, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 209–217.
- [16] P. K. Jain, M. A. El-Sayed, „Plasmonic coupling in noble metal nanostructures“, *Chemical Physics Letters* **2010**, *487*, 153–164.
- [17] Michael Faraday, „The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light“, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1857**, *147*, 145–181.
- [18] M. V. Kovalenko, L. Manna, A. Cabot, Z. Hens, D. V. Talapin, C. R. Kagan, V. I. Klimov, A. L. Rogach, P. Reiss, D. J. Milliron, P. Guyot-Sionnest, G. Konstantatos, W. J. Parak, T. Hyeon, B. A. Korgel, C. B. Murray, W. Heiss, „Prospects of nanoscience with nanocrystals“, *ACS Nano* **2015**, *9*, 1012–1057.
- [19] L. E. Brus, „Electron–electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state“, *The Journal of Chemical Physics* **1984**, *80*, 4403.
- [20] H. Weller, U. Koch, M. Gutierrez, A. Henglein, „Photochemistry of Colloidal Metal Sulfides. 7. Absorption and Fluorescence of Extremely Small ZnS Particles (The World of the Neglected Dimensions)“, *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1984**, *88*, 649–656.
- [21] A. Fojtik, H. Weller, U. Koch, A. Henglein, „Photo-Chemistry of Colloidal Metal Sulfides 8. Photo-Physics of Extremely Small CdS Particles, Q-State CdS and Magic Agglomeration Numbers“, *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1984**, *88*, 969–977.
- [22] G. Frens, „Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Solutions“, *Nature Physical Science* **1973**, *241*, 20–22.
- [23] J. Rodríguez-Fernández, J. Pérez-Juste, F. J. García de Abajo, L. M. Liz-Marzán, „Seeded Growth of Submicron Au Colloids with Quadrupole Plasmon Resonance Modes“, *Langmuir* **2006**, *22*, 7007–7010.

- [24] J. Chang, E. R. Waclawik, „Colloidal semiconductor nanocrystals: controlled synthesis and surface chemistry in organic media“, *RSC Advances* **2014**, *4*, 23505.
- [25] Z. A. Peng, X. Peng, „Formation of High-Quality CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals Using CdO as Precursor“, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 183–184.
- [26] J. E. Millstone, G. S. Métraux, C. A. Mirkin, „Controlling the Edge Length of Gold Nanoprisms via a Seed-Mediated Approach“, *Advanced Functional Materials* **2006**, *16*.
- [27] T. H. Ha, H.-J. Koo, B. H. Chung, „Shape-Controlled Syntheses of Gold Nanoprisms and Nanorods Influenced by Specific Adsorption of Halide Ions“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111*, 1123–1130.
- [28] J. Zhang, C. Xi, C. Feng, H. Xia, D. Wang, X. Tao, „High Yield Seedless Synthesis of High-Quality Gold Nanocrystals with Various Shapes“, *Langmuir* **2014**, 2480–2489.
- [29] K. Saha, S. S. Agasti, C. Kim, X. Li, V. M. Rotello, „Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing“, *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 2739–2779.
- [30] G. Zhang, „Functional gold nanoparticles for sensing applications“, *Nanotechnology Reviews* **2013**, *2*, 269–288.
- [31] S. Andreescu, L. A. Luck, „Studies of the binding and signaling of surface-immobilized periplasmic glucose receptors on gold nanoparticles: A glucose biosensor application“, *Analytical Biochemistry* **2008**, *375*, 282–290.
- [32] L. A. Luck, M. J. Moravan, J. E. Garland, B. Salopek-Sondi, D. Roy, „Chemisorptions of bacterial receptors for hydrophobic amino acids and sugars on gold for biosensor applications: a surface plasmon resonance study of genetically engineered proteins“, *Biosensors and Bioelectronics* **2003**, *19*, 249–259.
- [33] C.-S. Tsai, T.-B. Yu, C.-T. Chen, „Gold nanoparticle-based competitive colorimetric assay for detection of protein–protein interactions“, *Chemical Communications* **2005**, 4273.
- [34] M. Li, S. K. Cushing, N. Wu, „Plasmon-enhanced optical sensors: a review“, *The Analyst* **2015**, *140*, 386–406.
- [35] H. M. Lee, S. M. Jin, H. M. Kim, Y. D. Suh, „Single-molecule surface-enhanced Raman spectroscopy: a perspective on the current status“, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15*, 5276.

- [36] K. L. Wustholz, A.-I. Henry, J. M. McMahon, R. G. Freeman, N. Valley, M. E. Piotti, M. J. Natan, G. C. Schatz, R. P. van Duyne, „Structure–Activity Relationships in Gold Nanoparticle Dimers and Trimers for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy“, *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 10903–10910.
- [37] D.-K. Lim, K.-S. Jeon, H. M. Kim, J.-M. Nam, Y. D. Suh, „Nanogap-engineerable Raman-active nanodumbbells for single-molecule detection“, *Nature Materials* **2010**, *9*, 60–67.
- [38] A. Bek, R. Jansen, M. Ringler, S. Mayilo, T. A. Klar, J. Feldmann, „Fluorescence enhancement in hot spots of AFM-designed gold nanoparticle sandwiches“, *Nano Letters* **2008**, *8*, 485–490.
- [39] S. Bidault, A. Devilez, V. Maillard, L. Lermusiaux, J.-M. Guigner, N. Bonod, J. Wenger, „Picosecond Lifetimes with High Quantum Yields from Single-Photon-Emitting Colloidal Nanostructures at Room Temperature“, *ACS Nano* **2016**.
- [40] B. Fu, J. D. Flynn, B. P. Isaacoff, D. J. Rowland, J. S. Biteen, „Super-Resolving the Distance-Dependent Plasmon-Enhanced Fluorescence of Single Dye and Fluorescent Protein Molecules“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2015**, *119*, 19350–19358.
- [41] H. Yuan, S. Khatua, P. Zijlstra, M. Yorulmaz, M. Orrit, „Thousand-fold enhancement of single-molecule fluorescence near a single gold nanorod“, *Angewandte Chemie (International Ed.)* **2013**, *52*, 1217–1221.
- [42] A. Kinkhabwala, Z. Yu, S. Fan, Y. Avlasevich, K. Müllen, W. E. Moerner, „Large single-molecule fluorescence enhancements produced by a bowtie nanoantenna“, *Nature Photonics* **2009**, *3*, 654–657.
- [43] C. R. Kagan, E. Lifshitz, E. H. Sargent, D. V. Talapin, „Building devices from colloidal quantum dots“, *Science* **2016**, *353*, aac5523 1–9.
- [44] X. Dai, Z. Zhang, Y. Jin, Y. Niu, H. Cao, X. Liang, L. Chen, J. Wang, X. Peng, „Solution-processed, high-performance light-emitting diodes based on quantum dots“, *Nature* **2014**, *515*, 96–99.
- [45] J. Albero, P. Riente, J. N. Clifford, M. A. Pericàs, E. Palomares, „Improving CdSe Quantum Dot/Polymer Solar Cell Efficiency Through the Covalent Functionalization of Quantum Dots: Implications in the Device Recombination Kinetics“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2013**, *117*, 13374–13381.
- [46] I. L. Medintz, H. Mattoussi, „Quantum dot-based resonance energy transfer and its growing application in biology“, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2008**, *11*, 17.
- [47] K. Bourzac, „Quantum dots go on display“, *Nature* **2013**, *493*, 283.

- [48] A. I. Ekimov, Al. L. Efros, A. A. Onushchenko, „Quantum Size Effects in Semiconductor Microcrystals“, *Solid State Communications* **1985**, *56*, 921–924.
- [49] A. L. Efros, A. L. Efros, „Interband absorption of light in a semiconductor sphere“, *Sov. Phys. Semicond.* **1982**, *16*.
- [50] R. Rossetti, S. Nakahara, L. E. Brus, „Quantum size effects in the redox potentials, resonance Raman spectra, and electronic spectra of CdS crystallites in aqueous solution“, *The Journal of Chemical Physics* **1983**, *79*, 1086.
- [51] A. J. Nozik, „Multiple exciton generation in semiconductor quantum dots“, *Chemical Physics Letters* **2008**, *457*, 3–11.
- [52] F. A. Damtie, K. J. Karki, T. Pullerits, A. Wacker, „Optimization schemes for efficient multiple exciton generation and extraction in colloidal quantum dots“, *The Journal of Chemical Physics* **2016**, *145*, 64703.
- [53] Z.-J. Jiang, D. F. Kelley, „Hot and Relaxed Electron Transfer from the CdSe Core and Core/Shell Nanorods“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 4594–4602.
- [54] William A. Tisdale, Kenrick J. Williams, Brooke A. Timp, David J. Norris, Eray S. Aydil, X.-Y. Zhu, „Hot-Electron Transfer from Semiconductor Nanocrystals“, *Science* **2010**, *328*, 1543–1547.
- [55] C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, „Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites“, *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 8706–8715.
- [56] B. O. Dabbousi, J. Rodriguez-Viejo, F. V. Mikulec, J. R. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. F. Jensen, M. G. Bawendi, „(CdSe)ZnS Core–Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites“, *The Journal of Physical Chemistry B* **1997**, *101*, 9463–9475.
- [57] M. A. Hines, P. Guyot-Sionnest, „Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals“, *The Journal of Physical Chemistry* **1996**, *100*, 468–471.
- [58] M. T. Frederick, E. A. Weiss, „Relaxation of Exciton Confinement in CdSe Quantum Dots by Modification with a Conjugated Dithiocarbamate Ligand“, *ACS Nano* **2010**, *4*, 3195–3200.
- [59] M. T. Frederick, V. A. Amin, N. K. Swenson, A. Y. Ho, E. A. Weiss, „Control of Exciton Confinement in Quantum Dot–Organic Complexes through Energetic Alignment of Interfacial Orbitals“, *Nano Letters* **2013**, *13*, 287–292.
- [60] K. Schmidt, C. Fufezan, A. Krieger-Liszkay, H. Satoh, H. Paulsen, „Recombinant Water-Soluble Chlorophyll Protein from *Brassica oleracea* Var. *Botrys* Binds Various Chlorophyll Derivatives †“, *Biochemistry* **2003**, *42*, 7427–7433.

- [61] D. Horigome, H. Satoh, N. Itoh, K. Mitsunaga, I. Oonishi, A. Nakagawa, A. Uchida, „Structural Mechanism and Photoprotective Function of Water-soluble Chlorophyll-binding Protein“, *Journal of Biological Chemistry* **2006**, *282*, 6525–6531.
- [62] T. Ren, P. K. Mandal, W. Erker, Z. Liu, Y. Avlasevich, L. Puhl, K. Müllen, T. Basché, „A Simple and Versatile Route to Stable Quantum Dot–Dye Hybrids in Nonaqueous and Aqueous Solutions“, *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 17242–17243.
- [63] Ting Ren, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, **2010**.
- [64] M. Werwie, X. Xu, M. Haase, T. Basché, H. Paulsen, „Bio serves nano: biological light-harvesting complex as energy donor for semiconductor quantum dots“, *Langmuir* **2012**, *28*, 5810–5818.
- [65] M. L. Brongersma, P. G. Kik, *Surface Plasmon Nanophotonics*, Springer, Dordrecht, **2007**.
- [66] L. Novotny, B. Hecht, *Principles of Nano-Optics*, Cambridge University Press, New York, **2006**.
- [67] <http://www.horiba.com/uk/scientific/products/surface-plasmon-resonance-imaging-spri/faqs/what-is-a-plasmon/>.
- [68] K. A. Willets, R. P. van Duyne, „Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing“, *Annual Review of Physical Chemistry* **2007**, *58*, 267–297.
- [69] S. A. MAIER, *Plasmonics: Fundamentals and Applications*, Springer, New York, **2007**.
- [70] P. B. Johnson, R.W. Christy, „Optical Constants of the noble metals“, *Physical Review B* **1972**, *6*, 4370–4379.
- [71] M. V. Uwe Kreibig, *Optical Properties of Metal Clusters*, 1. Aufl., Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, **1995**.
- [72] G. Mie, „Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen“, *Annalen der Physik* **1908**, *4*, 377–445.
- [73] C. F. Bohren, D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2004**.
- [74] V. Myroshnychenko, J. Rodríguez-Fernández, I. Pastoriza-Santos, A. M. Funston, C. Novo, P. Mulvaney, L. M. Liz-Marzán, F. J. García de Abajo, „Modelling the optical response of gold nanoparticles“, *Chemical Society Reviews* **2008**, *37*, 1792.
- [75] S. Link, M. A. El-Sayed, „Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals“, *Int. Reviews in Physical Chemistry* **2000**, *19*, 409–453.

- [76] R. Lévy, N. T. K. Thanh, R. C. Doty, I. Hussain, R. J. Nichols, D. J. Schiffrin, M. Brust, D. G. Fernig, „Rational and Combinatorial Design of Peptide Capping Ligands for Gold Nanoparticles“, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 10076–10084.
- [77] J. J. Storhoff, A. A. Lazarides, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, G. C. Schatz, „What Controls the Optical Properties of DNA-Linked Gold Nanoparticle Assemblies?“, *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 4640–4650.
- [78] M. Li, S. Johnson, H. Guo, E. Dujardin, S. Mann, „A Generalized Mechanism for Ligand-Induced Dipolar Assembly of Plasmonic Gold Nanoparticle Chain Networks“, *Advanced Functional Materials* **2011**, *21*, 851–859.
- [79] P. K. Jain, W. Huang, M. A. El-Sayed, „On the Universal Scaling Behavior of the Distance Decay of Plasmon Coupling in Metal Nanoparticle Pairs: A Plasmon Ruler Equation“, *Nano Letters* **2007**, *7*, 2080–2088.
- [80] S. E. Lee, Q. Chen, R. Bhat, S. Petkiewicz, J. M. Smith, V. E. Ferry, A. L. Correia, A. P. Alivisatos, M. J. Bissell, „Reversible Aptamer-Au Plasmon Rulers for Secreted Single Molecules“, *Nano Letters* **2015**, *15*, 4564–4570.
- [81] A. I. Dolinnyi, „Nanometric Rulers Based on Plasmon Coupling in Pairs of Gold Nanoparticles“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2015**, *119*, 4990–5001.
- [82] J. M. McMahon, A.-I. Henry, K. L. Wustholz, M. J. Natan, R. G. Freeman, R. P. van Duyne, G. C. Schatz, „Gold nanoparticle dimer plasmonics: finite element method calculations of the electromagnetic enhancement to surface-enhanced Raman spectroscopy“, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009**, *394*, 1819–1825.
- [83] P. Nordlander, C. Oubre, E. Prodan, K. Li, M. I. Stockman, „Plasmon Hybridization in Nanoparticle Dimers“, *Nano Letters* **2004**, *4*, 899–903.
- [84] N. Zohar, L. Chuntonov, G. Haran, „The simplest plasmonic molecules, Metal nanoparticle dimers and trimers“, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2014**, *21*, 26–39.
- [85] H. Xu, E. J. Bjerneld, M. Käll, L. Börjesson, „Spectroscopy of Single Hemoglobin Molecules by Surface Enhanced Raman Scattering“, *Physical Review Letters* **1999**, *83*, 4357–4360.
- [86] A. B. Zrimsek, A.-I. Henry, R. P. van Duyne, „Single Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy without Nanogaps“, *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2013**, *4*, 3206–3210.
- [87] J. E. Millstone, S. J. Hurst, G. S. Métraux, J. I. Cutler, C. A. Mirkin, „Colloidal Gold and Silver Triangular Nanoprisms“, *Small* **2009**, *5*, 646–664.

- [88] C. Sönnichsen, T. Franzl, T. Wilk, G. v. Plessen, J. Feldmann, O. Wilson, P. Mulvaney, „Drastic Reduction of Plasmon Damping in Gold Nanorods“, *Physical Review Letters* **2002**, *88*, 077402 1–4.
- [89] S. Nie, S. R. Emory, „Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering“, *Science* **1997**, *275*, 1102–1106.
- [90] P. Bharadwaj, L. Novotny, „Spectral dependence of single molecule fluorescence enhancement“, *Optics Express* **2007**, *15*, 14266–14274.
- [91] P. Anger, P. Bharadwaj, L. Novotny, „Enhancement and Quenching of Single-Molecule Fluorescence“, *Physical Review Letters* **2006**, *96*, 113002 1–4.
- [92] S. Pal, P. Dutta, H. Wang, Z. Deng, S. Zou, H. Yan, Y. Liu, „Quantum Efficiency Modification of Organic Fluorophores Using Gold Nanoparticles on DNA Origami Scaffolds“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2013**, *117*, 12735–12744.
- [93] J. A. Schuller, E. S. Barnard, W. Cai, Y. C. Jun, J. S. White, M. L. Brongersma, „Plasmonics for extreme light concentration and manipulation“, *Nature Materials* **2010**, *9*, Journal Article, 193–204.
- [94] T. Sen, A. Patra, „Resonance Energy Transfer from Rhodamine 6G to Gold Nanoparticles by Steady-State and Time-Resolved Spectroscopy“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2008**, *112*, 3216–3222.
- [95] T. Zhang, N. Gao, S. Li, M. J. Lang, Q. H. Xu, „Single-Particle Spectroscopic Study on Fluorescence Enhancement by Plasmon Coupled Gold Nanorod Dimers Assembled on DNA Origami“, *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2015**, *6*, 2043–2049.
- [96] Ł. Bujak, N. Czechowski, D. Piatkowski, R. Litvin, S. Mackowski, T. H. P. Brotosudarmo, R. J. Cogdell, S. Pichler, W. Heiss, „Fluorescence enhancement of light-harvesting complex 2 from purple bacteria coupled to spherical gold nanoparticles“, *Applied Physics Letters* **2011**, *99*, 173701 1–3.
- [97] M. Ringler, A. Schwemer, M. Wunderlich, A. Nichtl, K. Kürzinger, T. A. Klar, J. Feldmann, „Shaping Emission Spectra of Fluorescent Molecules with Single Plasmonic Nanoresonators“, *Physical Review Letters* **2008**, *100*, DOI 10.1103/PhysRevLett.100.203002.
- [98] Y.-w. Jun, J.-s. Choi, J. Cheon, „Formkontrolle von Halbleiter- und Metalloxid-Nanokristallen durch nichthydrolytische Kolloidverfahren“, *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 3492–3517.
- [99] S. Kumar, T. Nann, „Shape Control of II–VI Semiconductor Nanomaterials“, *Small* **2006**, *2*, 316–329.
- [100] Y. Yin, A. P. Alivisatos, „Colloidal nanocrystal synthesis and the organic–inorganic interface“, *Nature* **2005**, *437*, 664–670.

- [101] C. d. M. Donegá, „Synthesis and properties of colloidal heteronanocrystals“, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1512–1546.
- [102] A. J. Morris-Cohen, M. Malicki, M. D. Peterson, J. W. J. Slavin, E. A. Weiss, „Chemical, Structural, and Quantitative Analysis of the Ligand Shells of Colloidal Quantum Dots“, *Chemistry of Materials* **2013**, *25*, 1155–1165.
- [103] V. I. Klimov, „Spectral and dynamical properties of multiexcitons in semiconductor nanocrystals“, *Annual Review of Physical Chemistry* **2007**, *58*, 635–673.
- [104] W. R. Algar, A. J. Tavares, U. J. Krull, „Beyond labels: A review of the application of quantum dots as integrated components of assays, bioprobes, and biosensors utilizing optical transduction“, *Analytica Chimica Acta* **2010**, *673*, 1–25.
- [105] A. R. Clapp, I. L. Medintz, H. Mattoussi, „Förster Resonance Energy Transfer Investigations Using Quantum-Dot Fluorophores“, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 47–57.
- [106] H. Zhu, Y. Yang, K. Wu, T. Lian, „Charge Transfer Dynamics from Photoexcited Semiconductor Quantum Dots“, *Annual Review of Physical Chemistry* **2016**, *67*, 259–281.
- [107] P. Reiss, M. Protière, L. Li, „Core/Shell Semiconductor Nanocrystals“, *Small* **2009**, *5*, 154–168.
- [108] A. P. Alivisatos, „Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals“, *J. Phys. Chem* **1996**, *100*, 1326–13239.
- [109] A. L. Rogach, *Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots, Synthesis, Assembly, Spectroscopy and Applications*, 1. Aufl., Springer-Verlag, Wien, **2008**.
- [110] Anne-Kathrin Boos, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, **2014**.
- [111] W. W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, „Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals“, *Chemistry of Materials* **2003**, *15*, 2854–2860.
- [112] Z. A. Peng, X. Peng, „Mechanisms of the Shape Evolution of CdSe Nanocrystals“, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 1389–1395.
- [113] X. Peng, L. Manna, W. Yang, J. Wickham, E. Scher, A. Kadavanich, A. P. Alivisatos, „Shape control of CdSe nanocrystals“, *Nature* **2000**, *404*, 59–61.
- [114] L. Manna, E. C. Scher, A. P. Alivisatos, „Synthesis of Soluble and Processable Rod-, Arrow-, Teardrop-, and Tetrapod-Shaped CdSe Nanocrystals“, *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 12700–12706.
- [115] I. Fedin, D. V. Talapin, „Colloidal CdSe Quantum Rings“, *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 9771–9774.

- [116] Y. Gao, X. Peng, „Crystal Structure Control of CdSe Nanocrystals in Growth and Nucleation: Dominating Effects of Surface versus Interior Structure“, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 6724–6732.
- [117] M. D. Peterson, L. C. Cass, R. D. Harris, K. Edme, K. Sung, E. A. Weiss, „The Role of Ligands in Determining the Exciton Relaxation Dynamics in Semiconductor Quantum Dots“, *Annual Review of Physical Chemistry* **2014**, *65*, 317–339.
- [118] K. Susumu, H. T. Uyeda, I. L. Medintz, T. Pons, J. B. Delehanty, H. Mattoussi, „Enhancing the Stability and Biological Functionalities of Quantum Dots via Compact Multifunctional Ligands“, *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 13987–13996.
- [119] N. Zhan, G. Palui, M. Safi, X. Ji, H. Mattoussi, „Multidentate Zwitterionic Ligands Provide Compact and Highly Biocompatible Quantum Dots“, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 13786–13795.
- [120] E. Giovanelli, E. Muro, G. Sitbon, M. Hanafi, T. Pons, B. Dubertret, N. Lequeux, „Highly Enhanced Affinity of Multidentate versus Bidentate Zwitterionic Ligands for Long-Term Quantum Dot Bioimaging“, *Langmuir* **2012**, *28*, 15177–15184.
- [121] J. Aldana, Y. A. Wang, X. Peng, „Photochemical Instability of CdSe Nanocrystals Coated by Hydrophilic Thiols“, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 8844–8850.
- [122] R. Koole, P. Schapotschnikow, C. d. Mello Donegá, T. J. H. Vlught, A. Meijerink, „Time-Dependent Photoluminescence Spectroscopy as a Tool to Measure the Ligand Exchange Kinetics on a Quantum Dot Surface“, *ACS Nano* **2008**, *2*, 1703–1714.
- [123] R. Xie, U. Kolb, J. Li, T. Basché, A. Mews, „Synthesis and characterization of highly luminescent CdSe-core CdS/Zn<sub>0.5</sub>Cd<sub>0.5</sub>S/ZnS multishell nanocrystals“, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 7480–7488.
- [124] A. J. Morris-Cohen, M. D. Donakowski, K. E. Knowles, E. A. Weiss, „The Effect of a Common Purification Procedure on the Chemical Composition of the Surfaces of CdSe Quantum Dots Synthesized with Trioctylphosphine Oxide“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114*, 897–906.
- [125] E. A. McArthur, A. J. Morris-Cohen, K. E. Knowles, E. A. Weiss, „Charge Carrier Resolved Relaxation of the First Excitonic State in CdSe Quantum Dots Probed with Near-Infrared Transient Absorption Spectroscopy †“, *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 14514–14520.

- [126] D. V. Talapin, A. L. Rogach, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, „Highly Luminescent Monodisperse CdSe and CdSe/ZnS Nanocrystals Synthesized in a Hexadecylamine – Trioctylphosphine Oxide – Trioctylphosphine Mixture“, *Nano Letters* **2001**, *1*, 207–211.
- [127] S. F. Wuister, C. d. Mello Donegá, A. Meijerink, „Influence of Thiol Capping on the Exciton Luminescence and Decay Kinetics of CdTe and CdSe Quantum Dots“, *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 17393–17397.
- [128] S. Pathak, S.-K. Choi, N. Arnheim, M. E. Thompson, „Hydroxylated Quantum Dots as Luminescent Probes for in Situ Hybridization“, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 4103–4104.
- [129] S. M. Goodman, A. Siu, V. Singh, P. Nagpal, „Long-range energy transfer in self-assembled quantum dot-DNA cascades“, *Nanoscale* **2015**, *7*, 18435–18440.
- [130] P. Yang, C. L. Li, N. Murase, „Highly photoluminescent multilayer QD-glass films prepared by LbL self-assembly“, *Langmuir* **2005**, *21*, 8913–8917.
- [131] S. Stöttinger, G. Hinze, G. Diezemann, I. Oesterling, K. Müllen, T. Basché, „Impact of local compressive stress on the optical transitions of single organic dye molecules“, *Nature Nanotechnology* **2014**, *9*, 182–186.
- [132] J. J. Li, Y. A. Wang, W. Guo, J. C. Keay, T. D. Mishima, M. B. Johnson, X. Peng, „Large-Scale Synthesis of Nearly Monodisperse CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals Using Air-Stable Reagents via Successive Ion Layer Adsorption and Reaction“, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 12567–12575.
- [133] R. Xie, U. Kolb, T. Basché, „Design and Synthesis of Colloidal Nanocrystal Heterostructures with Tetrapod Morphology“, *Small* **2006**, *2*, 1454–1457.
- [134] W. Zhang, G. Chen, J. Wang, B.-C. Ye, X. Zhong, „Design and synthesis of highly luminescent near-infrared-emitting water-soluble CdTe/CdSe/ZnS core/shell/shell quantum dots“, *Inorganic Chemistry* **2009**, *48*, 9723–9731.
- [135] P. Brown, P. V. Kamat, „Quantum dot solar cells. Electrophoretic deposition of CdSe-C60 composite films and capture of photogenerated electrons with nC60 cluster shell“, *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 8890–8891.
- [136] A. Nozik, „Quantum dot solar cells“, *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* **2002**, *14*, 115–120.
- [137] I. L. Medintz, A. R. Clapp, H. Mattoussi, E. R. Goldman, B. Fisher, J. M. Mauro, „Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors“, *Nature Materials* **2003**, *2*, 630–638.
- [138] S. Coe-Sullivan, „Optoelectronics, Quantum dot developments“, *Nature Photonics* **2009**, *3*, 315–316.

- [139] Joseph R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3. Aufl., Springer, **2006**.
- [140] P. T. Snee, C. M. Tyrakowski, L. E. Page, A. Iovic, A. M. Jawaid, „Quantifying Quantum Dots through Förster Resonant Energy Transfer“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 19578–19582.
- [141] L. Dworak, V. V. Matylitsky, T. Ren, T. Basché, J. Wachtveitl, „Acceptor Concentration Dependence of Förster Resonance Energy Transfer Dynamics in Dye–Quantum Dot Complexes“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2014**, *118*, 4396–4402.
- [142] S. Halivni, A. Sitt, I. Hadar, U. Banin, „Effect of Nanoparticle Dimensionality on Fluorescence Resonance Energy Transfer in Nanoparticle–Dye Conjugated Systems“, *ACS Nano* **2012**, *6*, 2758–2765.
- [143] A. Samanta, S. A. Walper, K. Susumu, C. L. Dwyer, I. L. Medintz, „An enzymatically-sensitized sequential and concentric energy transfer relay self-assembled around semiconductor quantum dots“, *Nanoscale* **2015**, *7*, 7603–7614.
- [144] T. Pons, I. L. Medintz, X. Wang, D. S. English, H. Mattoussi, „Solution-Phase Single Quantum Dot Fluorescence Resonance Energy Transfer“, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 15324–15331.
- [145] A. J. Morris-Cohen, M. T. Frederick, L. C. Cass, E. A. Weiss, „Simultaneous determination of the adsorption constant and the photoinduced electron transfer rate for a CdS quantum dot-viologen complex“, *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 10146–10154.
- [146] X. Ji, W. Wang, H. Mattoussi, „Controlling the spectroscopic properties of quantum dots via energy transfer and charge transfer interactions: Concepts and applications“, *Nano Today* **2016**, *11*, 98–121.
- [147] D. Kowerko, J. Schuster, N. Amecke, M. Abdel-Mottaleb, R. Dobrawa, F. Würthner, C. v. Borczyskowski, „FRET and ligand related NON-FRET processes in single quantum dot-perylene bisimide assemblies“, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, *12*, 4112–4123.
- [148] F. Gerlach, D. Täuber, C. v. Borczyskowski, „Correlated blinking via time dependent energy transfer in single CdSe quantum dot-dye nanoassemblies“, *Chemical Physics Letters* **2013**, *572*, 90–95.
- [149] T. Blaudeck, E. I. Zenkevich, M. Abdel-Mottaleb, K. Szwaykowska, D. Kowerko, F. Cichos, C. v. Borczyskowski, „Formation Principles and Ligand Dynamics of Nanoassemblies of CdSe Quantum Dots and Functionalised Dye Molecules“, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 959–972.

- [150] A. R. Clapp, I. L. Medintz, B. R. Fisher, G. P. Anderson, H. Mattoussi, „Can Luminescent Quantum Dots Be Efficient Energy Acceptors with Organic Dye Donors?“, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 1242–1250.
- [151] H. Xu, X. Huang, W. Zhang, G. Chen, W. Zhu, X. Zhong, „Quantum Dots Acting as Energy Acceptors with Organic Dyes as Donors in Solution“, *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 3167–3171.
- [152] R. D. Schaller, V. I. Klimov, „High efficiency carrier multiplication in PbSe nanocrystals: implications for solar energy conversion“, *Physical Review Letters* **2004**, *92*, 186601 1–4.
- [153] C. He, D. J. Weinberg, A. B. Nepomnyashchii, S. Lian, E. A. Weiss, „Control of the Redox Activity of PbS Quantum Dots by Tuning Electrostatic Interactions at the Quantum Dot/Solvent Interface“, *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 8847–8854.
- [154] X. Ji, G. Palui, T. Avellini, H. B. Na, C. Yi, K. L. Knappenberger, H. Mattoussi, „On the pH-Dependent Quenching of Quantum Dot Photoluminescence by Redox Active Dopamine“, *Journal of the American Chemical Society* **2012**, 6006–6017.
- [155] J. Huang, K. L. Mulfort, P. Du, L. X. Chen, „Photodriven Charge Separation Dynamics in CdSe/ZnS Core/Shell Quantum Dot/Cobaloxime Hybrid for Efficient Hydrogen Production“, *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 16472–16475.
- [156] A. Boulesbaa, Z. Huang, D. Wu, T. Lian, „Competition between Energy and Electron Transfer from CdSe QDs to Adsorbed Rhodamine B“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114*, 962–969.
- [157] V. V. Matylitsky, L. Dworak, V. V. Breus, T. Basché, J. Wachtveitl, „Ultrafast Charge Separation in Multiexcited CdSe Quantum Dots Mediated by Adsorbed Electron Acceptors“, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 2424–2425.
- [158] V. I. Klimov, D. W. McBranch, C. A. Leatherdale, M. G. Bawendi, „Electron and hole relaxation pathways in semiconductor quantum dots“, *Physical Review B* **1999**, *60*, 13740–13749.
- [159] S. L. Sewall, R. R. Cooney, K. E. H. Anderson, E. A. Dias, P. Kambhampati, „State-to-state exciton dynamics in semiconductor quantum dots“, *Physical Review B* **2006**, *74*.
- [160] P. Jing, W. Ji, X. Yuan, S. Qu, R. Xie, M. Ikezawa, J. Zhao, H. Li, Y. Masumoto, „Ultrafast Carrier Dynamics and Hot Electron Extraction in Tetrapod-Shaped CdSe Nanocrystals“, *ACS applied materials & interfaces* **2015**, *7*, 7938–7944.

- [161] P. Singhal, P. V. Ghorpade, G. S. Shankarling, N. Singhal, S. K. Jha, R. M. Tripathi, H. N. Ghosh, „Exciton delocalization and hot hole extraction in CdSe QDs and CdSe/ZnS type 1 core shell QDs sensitized with newly synthesized thiols“, *Nanoscale* **2016**, *8*, 1823–1833.
- [162] K. E. Knowles, M. Malicki, R. Parameswaran, L. C. Cass, E. A. Weiss, „Spontaneous multielectron transfer from the surfaces of PbS quantum dots to tetracyanoquinodimethane“, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 7264–7271.
- [163] S. Dayal, C. Burda, „Surface Effects on Quantum Dot-Based Energy Transfer“, *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 7977–7981.
- [164] D. Geißler, S. Linden, K. Liermann, K. D. Wegner, L. J. Charbonnière, N. Hildebrandt, „Lanthanides and Quantum Dots as Förster Resonance Energy Transfer Agents for Diagnostics and Cellular Imaging“, *Inorganic Chemistry* **2014**, *53*, 1824–1838.
- [165] M. Hardzei, M. Artemyev, M. Molinari, M. Troyon, A. Sukhanova, I. Nabiev, „Comparative Efficiency of Energy Transfer from CdSe-ZnS Quantum Dots or Nanorods to Organic Dye Molecules“, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 330–335.
- [166] R. Berera, R. van Grondelle, J. T. M. Kennis, „Ultrafast transient absorption spectroscopy: principles and application to photosynthetic systems“, *Photosynthesis research* **2009**, *101*, 105–118.
- [167] S. Kumar, J. Aaron, K. Sokolov, „Directional conjugation of antibodies to nanoparticles for synthesis of multiplexed optical contrast agents with both delivery and targeting moieties“, *Nature Protocols* **2008**, *3*, 314–320.
- [168] N. G. Bastus, J. Comenge, V. Puentes, „Kinetically controlled seeded growth synthesis of citrate-stabilized gold nanoparticles of up to 200 nm: size focusing versus Ostwald ripening“, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **2011**, *27*, 11098–11105.
- [169] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, D. G. Fernig, „Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV–Vis Spectra“, *Analytical Chemistry* **2007**, *79*, 4215–4221.
- [170] W. P. Davey, „Precision Measurements of the Lattice Constants of Twelve Common Metals“, *Phys. Rev.* **1925**, *25*, 753.
- [171] M. Haase, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, **2010**.
- [172] D. Punj, M. Mivelle, S. B. Moparthi, T. S. van Zanten, H. Rigneault, N. F. van Hulst, M. F. Garcia-Parajo, J. Wenger, „A plasmonic 'antenna-in-box' platform for enhanced single-molecule analysis at micromolar concentrations“, *Nature nanotechnology* **2013**, *8*, 512–516.

- [173] E. Wientjes, J. Renger, R. Cogdell, N. F. van Hulst, „Pushing the Photon Limit: Nanoantennas Increase Maximal Photon Stream and Total Photon Number“, *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2016**, *7*, 1604–1609.
- [174] S. Bidault, A. Devilez, P. Ghenuche, B. Stout, N. Bonod, J. Wenger, „Competition between Förster Resonance Energy Transfer and Donor Photodynamics in Plasmonic Dimer Nanoantennas“, *ACS Photonics* **2016**, *3*, 895–903.
- [175] M. P. Busson, B. Rolly, B. Stout, N. Bonod, J. Wenger, S. Bidault, „Photonic engineering of hybrid metal-organic chromophores“, *Angewandte Chemie (International Ed.)* **2012**, *51*, 11083–11087.
- [176] G. Renger, J. Pieper, C. Theiss, I. Trostmann, H. Paulsen, T. Renger, H. Eichler, F.-J. Schmitt, „Water soluble chlorophyll binding protein of higher plants: A most suitable model system for basic analyses of pigment–pigment and pigment–protein interactions in chlorophyll protein complexes“, *Journal of Plant Physiology* **2011**, *168*, 1462–1472.
- [177] Inga Bektas, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, **2010**.
- [178] D. Bednarczyk, O. Dym, V. Prabakar, Y. Peleg, D. H. Pike, D. Noy, „Fine Tuning of Chlorophyll Spectra by Protein-Induced Ring Deformation“, *Angewandte Chemie (International Ed.)* **2016**, *55*, 6901–6905.
- [179] H. Satoh, A. Uchida, K. Nakayama, M. Okada, „Water-Soluble Chlorophyll Protein in Brassicaceae Plants is a Stress-Induced Chlorophyll-Binding Protein“, *Plant Cell Physiol.* **2001**, *9*, 906–911.
- [180] Fabian Jung, Persönliche Mitteilung, Mainz.
- [181] T. Schumacher, Dissertation, Universität Bayreuth, Bayreuth, **2014**.
- [182] F. Aldeek, M. Safi, N. Zhan, G. Palui, H. Mattoussi, „Understanding the Self-Assembly of Proteins onto Gold Nanoparticles and Quantum Dots Driven by Metal-Histidine Coordination“, *ACS Nano* **2013**, 10197–10210.
- [183] B. Michen, C. Geers, D. Vanhecke, C. Endes, B. Rothen-Rutishauser, S. Balog, A. Petri-Fink, „Avoiding drying-artifacts in transmission electron microscopy: Characterizing the size and colloidal state of nanoparticles“, *Scientific Reports* **2015**, *5*, 9793.
- [184] V. Chegel, O. Rachkov, A. Lopatynskyi, S. Ishihara, I. Yanchuk, Y. Nemoto, J. P. Hill, K. Ariga, „Gold Nanoparticles Aggregation: Drastic Effect of Cooperative Functionalities in a Single Molecular Conjugate“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2012**, *116*, 2683–2690.
- [185] T. Kim, K. Lee, M.-s. Gong, S.-W. Joo, „Control of Gold Nanoparticle Aggregates by Manipulation of Interparticle Interaction“, *Langmuir* **2005**, *21*, 9524–9528.

- [186] H. Xie, A. G. Tkachenko, W. R. Glomm, J. A. Ryan, M. K. Brennaman, J. M. Papanikolas, S. Franzen, D. L. Feldheim, „Critical flocculation concentrations, binding isotherms, and ligand exchange properties of peptide-modified gold nanoparticles studied by UV-visible, fluorescence, and time-correlated single photon counting spectroscopies“, *Analytical Chemistry* **2003**, *75*, 5797–5805.
- [187] M. Held, Masterarbeit, Universität Heidelberg, Heidelberg, **2016**.
- [188] M. Ringler, T. A. Klar, A. Schwemer, A. S. Susa, J. Stehr, G. Raschke, S. Funk, M. Borowski, A. Nichtl, K. Kürzinger, R. T. Phillips, J. Feldmann, „Moving Nanoparticles with Raman Scattering“, *Nano Letters* **2007**, *7*, 2753–2757.
- [189] X. Zhou, Y. Wang, L. Zhong, S. Bao, Y. Han, L. Ren, Q. Zhang, „Rational design of oriented assembly of gold nanospheres with nanorods by biotin-streptavidin connectors“, *Nanoscale* **2012**, *4*, 6256–6259.
- [190] V. B. Zon, M. Sachsenhauser, U. Rant, „Preparation of gold nanoparticle dimers via streptavidin-induced interlinking“, *Journal of Nanoparticle Research* **2013**, *15*.
- [191] S. Mann, W. Shenton, M. Li, S. Connolly, D. Fitzmaurice, „Biologically Programmed Nanoparticle Assembly“, *Advanced Materials* **2000**, *12*, 147–150.
- [192] P. C. Weber, D. H. Ohlendorf, J. J. Wendoloski, F. R. Salemme, „Structural Origins of High-Affinity Biotin Binding to Streptavidin“, *Science* **1989**, *243*, 85–88.
- [193] L. Deng, E. N. Kitova, J. S. Klassen, „Dissociation kinetics of the streptavidin-biotin interaction measured using direct electrospray ionization mass spectrometry analysis“, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2013**, *24*, 49–56.
- [194] R. C. Ebersole, J. A. Miller, J. R. Moran, M. D. Ward, „Spontaneously Formed Functionally Active Avidin Monolayers on Metal Surfaces: A Strategy for Immobilizing Biological Reagents and Design of Piezoelectric Biosensors“, *Journal of the American Chemical Society* **1990**, *112*, 3239–3241.
- [195] P. M. Wolny, J. P. Spatz, R. P. Richter, „On the adsorption behavior of biotin-binding proteins on gold and silica“, *Langmuir* **2010**, *26*, 1029–1034.
- [196] Product Information STREPTAVIDIN from *Streptomyces avidinii*, Sigma-Aldrich, Inc.
- [197] M. Geneviève, C. Vieu, R. Carles, A. Zwick, G. Brière, L. Salomé, E. Trévisiol, „Biofunctionalization of gold nanoparticles and their spectral properties“, *Microelectronic Engineering* **2007**, *84*, 1710–1713.
- [198] Y. Niu, Y. Zhao, A. Fan, „Conformational Switching Immobilized Hairpin DNA Probes Following Subsequent Expanding of Gold Nanoparticles Enables Visual Detecting Sequence-specific DNA“, *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 7500–7506.

- [199] P. Wang, Y. Song, Y. Zhao, A. Fan, „Hydroxylamine amplified gold nanoparticle-based aptameric system for the highly selective and sensitive detection of platelet-derived growth factor“, *Talanta* **2013**, *103*, 392–397.
- [200] S. Lim, O. K. Koo, Y. S. You, Y. E. Lee, M.-S. Kim, P.-S. Chang, D. H. Kang, J.-H. Yu, Y. J. Choi, S. Gunasekaran, „Enhancing nanoparticle-based visible detection by controlling the extent of aggregation“, *Scientific Reports* **2012**, *2*, 456.
- [201] B. Olander, Adsorption of Proteins to Gold Nanoparticles- Tech Note 102, (Hrsg.: Cytodiagnosics Inc.), **2016**.
- [202] Thermo Scientific, Instructions EZ-Link NHS-Biotin Reagents, **2016**.
- [203] M. Ringler, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, **2008**.
- [204] H. Hakkinen, „The gold-sulfur interface at the nanoscale“, *Nature chemistry* **2012**, *4*, 443–455.
- [205] Y. Xue, X. Li, H. Li, W. Zhang, „Quantifying thiol-gold interactions towards the efficient strength control“, *Nature communications* **2014**, *5*, 1–9.
- [206] W.-S. Cho, M. Cho, J. Jeong, M. Choi, B. S. Han, H.-S. Shin, J. Hong, B. H. Chung, J. Jeong, M.-H. Cho, „Size-dependent tissue kinetics of PEG-coated gold nanoparticles“, *Toxicology and Applied Pharmacology* **2010**, *245*, 116–123.
- [207] H. Chen, L. Shao, Q. Li, J. Wang, „Gold nanorods and their plasmonic properties“, *Chemical Society Reviews* **2013**, *42*, 2679–2724.
- [208] B. Thierry, J. Ng, T. Krieg, H. J. Griesser, „A robust procedure for the functionalization of gold nanorods and noble metal nanoparticles“, *Chemical Communications* **2009**, 1724–1726.
- [209] L. Maus, O. Dick, H. Bading, J. P. Spatz, R. Fiammengo, „Conjugation of peptides to the passivation shell of gold nanoparticles for targeting of cell-surface receptors“, *ACS Nano* **2010**, *4*, 6617–6628.
- [210] H. Hinterwirth, S. Kappel, T. Waitz, T. Prohaska, W. Lindner, M. Lammerhofer, „Quantifying thiol ligand density of self-assembled monolayers on gold nanoparticles by inductively coupled plasma-mass spectrometry“, *ACS Nano* **2013**, *7*, 1129–1136.
- [211] K. Rahme, L. Chen, R. G. Hobbs, M. A. Morris, C. O’Driscoll, J. D. Holmes, „PEGylated gold nanoparticles, Polymer quantification as a function of PEG lengths and nanoparticle dimensions“, *RSC Advances* **2013**, *3*, 6085–6094.
- [212] A. Kuzyk, R. Schreiber, Z. Fan, G. Pardatscher, E.-M. Roller, A. Hogege, F. C. Simmel, A. O. Govorov, T. Liedl, „DNA-based self-assembly of chiral plasmonic nanostructures with tailored optical response“, *Nature* **2012**, *483*, 311–314.

- [213] J. P. Novak, C. Nickerson, S. Franzen, D. L. Feldheim, „Purification of Molecularly Bridged Metal Nanoparticle Arrays by Centrifugation and Size Exclusion Chromatography“, *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 5758–5761.
- [214] F. Bonaccorso, M. Zerbetto, A. C. Ferrari, V. Amendola, „Sorting Nanoparticles by Centrifugal Fields in Clean Media“, *The Journal of Physical Chemistry C* **2013**, *117*, 13217–13229.
- [215] B. Xiong, J. Cheng, Y. Qiao, R. Zhou, Y. He, E. S. Yeung, „Separation of nanorods by density gradient centrifugation“, *Journal of Chromatography A* **2011**, *1218*, 3823–3829.
- [216] G. Chen, Y. Wang, L. H. Tan, M. Yang, L. S. Tan, Y. Chen, H. Chen, „High-Purity Separation of Gold Nanoparticle Dimers and Trimers“, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 4218–4219.
- [217] W. Wu, J. Huang, L. Wu, D. Sun, L. Lin, Y. Zhou, H. Wang, Q. Li, „Two-step size- and shape-separation of biosynthesized gold nanoparticles“, *Separation and Purification Technology* **2013**, *106*, 117–122.
- [218] S. Li, Z. Chang, J. Liu, L. Bai, L. Luo, X. Sun, „Separation of gold nanorods using density gradient ultracentrifugation“, *Nano Research* **2011**, *4*, 723–728.
- [219] P. Qiu, C. Mao, „Viscosity gradient as a novel mechanism for the centrifugation-based separation of nanoparticles“, *Advanced Materials* **2011**, *23*, 4880–4885.
- [220] Mosen Asadi, *Beet-Sugar Handbook*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, **2005**.
- [221] S. Pandey, M. Thakur, R. Shah, G. Oza, A. Mewada, M. Sharon, „A comparative study of economical separation and aggregation properties of biologically capped and thiol functionalized gold nanoparticles: Selecting the eco-friendly trojan horses for biological applications“, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2013**, *109*, 25–31.
- [222] Y. Liu, M. K. Shipton, J. Ryan, E. D. Kaufman, S. Franzen, D. L. Feldheim, „Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers“, *Analytical chemistry* **2007**, *79*, 2221–2229.
- [223] M. Hanauer, S. Pierrat, I. Zins, A. Lotz, C. Sonnichsen, „Separation of nanoparticles by gel electrophoresis according to size and shape“, *Nano letters* **2007**, *7*, Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't, 2881–2885.
- [224] X. Xu, K. K. Caswell, E. Tucker, S. Kabisatpathy, K. L. Brodhacker, W. A. Scrivens, „Size and shape separation of gold nanoparticles with preparative gel electrophoresis“, *Journal of Chromatography A* **2007**, *1167*, 35–41.

- [225] R. A. Sperling, T. Pellegrino, J. K. Li, W. H. Chang, W. J. Parak, „Electrophoretic Separation of Nanoparticles with a Discrete Number of Functional Groups“, *Advanced Functional Materials* **2006**, *16*, 943–948.
- [226] J.-Y. Kim, H.-B. Kim, D.-J. Jang, „Electrophoretic separation of gold nanoparticles according to bifunctional molecules-induced charge and size“, *Electrophoresis* **2013**, *34*, 911–916.
- [227] H. Grubmueller, B. Heymann, P. Tavan, „Ligand Binding: Molecular Mechanics Calculation of the Streptavidin-Biotin Rupture Force“, *Science* **1996**, *271*, 997–999.
- [228] V. T. Moy, E.-L. Florin, H. E. Gaub, „Intermolecular Forces and Energies Between Ligands and Receptors“, *Science* **1994**, *266*, 257–259.
- [229] S. H. Brewer, W. R. Glomm, M. C. Johnson, M. K. Knag, S. Franzen, „Probing BSA Binding to Citrate-Coated Gold Nanoparticles and Surfaces“, *Langmuir* **2005**, *21*, 9303–9307.
- [230] D. Huang, C. P. Byers, L.-Y. Wang, A. Hoggard, B. Hoener, S. Dominguez-Medina, S. Chen, W.-S. Chang, C. F. Landes, S. Link, „Photoluminescence of a Plasmonic Molecule“, *ACS Nano* **2015**, *9*, 7072–7079.
- [231] S. Buhbut, S. Itzhakov, E. Tauber, M. Shalom, I. Hod, T. Geiger, Y. Garini, D. Oron, A. Zaban, „Built-in Quantum Dot Antennas in Dye-Sensitized Solar Cells“, *ACS Nano* **2010**, *4*, 1293–1298.
- [232] G. Pescitelli, L. Di Bari, N. Berova, „Application of electronic circular dichroism in the study of supramolecular systems“, *Chemical Society Reviews* **2014**, *43*, 5211–5233.
- [233] Z. Chen, U. Baumeister, C. Tschierske, F. Würthner, „Effect of core twisting on self-assembly and optical properties of perylene bisimide dyes in solution and columnar liquid crystalline phases“, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse Germany)* **2007**, *13*, 450–465.
- [234] E. Fron, G. Schweitzer, P. Osswald, F. Würthner, P. Marsal, D. Beljonne, K. Müllen, F. C. d. Schryver, M. van der Auweraer, „Photophysical study of bay substituted perylenediimides“, *Photochemical & Photobiological Sciences* **2008**, *7*, 1509–1521.
- [235] Victor I. Klimov, Duncan W. McBranch, „Femtosecond 1P-to-1S Electron Relaxation in Strongly Confined Semiconductor Nanocrystals“, *Physical Review Letters* **1998**, *80*, 4028–4031.
- [236] R. van Grondelle, V. I. Novoderezhkin, „Energy transfer in photosynthesis: experimental insights and quantitative models“, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2006**, *8*, 793–807.

- [237] K. Wu, Q. Li, Y. Du, Z. Chen, T. Lian, „Ultrafast exciton quenching by energy and electron transfer in colloidal CdSe nanosheet–Pt heterostructures“, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 1049–1054.
- [238] L. Dworak, V. V. Matylitsky, J. Wachtveitl, „Ultrafast photoinduced processes in alizarin-sensitized metal oxide mesoporous films“, *European Journal of Chemical Physics and Physical Chemistry* **2009**, *10*, 384–391.
- [239] R. Huber, S. Spörlein, J. E. Moser, M. Grätzel, J. Wachtveitl, „The Role of Surface States in the Ultrafast Photoinduced Electron Transfer from Sensitizing Dye Molecules to Semiconductor Colloids“, *The Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104*, 8995–9003.
- [240] C. Slavov, H. Hartmann, J. Wachtveitl, „Implementation and evaluation of data analysis strategies for time-resolved optical spectroscopy“, *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 2328–2336.
- [241] Lars Dworak, Transiente Absorptionsspektroskopie der CdSe-5ZnS-PDI-Komplexe nach selektiver Anregung des PDIs, Persönliche Mitteilung.
- [242] D. Spittel, J. Poppe, C. Meerbach, C. Ziegler, S. G. Hickey, A. Eychmueller, „Absolute Energy Level Positions in CdSe Nanostructures from Potential-Modulated Absorption Spectroscopy (EMAS)“, *ACS Nano* **2017**, *12*, 12174–12184.
- [243] F. Würthner, C. Thalacker, S. Diele, C. Tschierske, „Fluorescent J-type Aggregates and Thermotropic Columnar Mesophases of Perylene Bisimide Dyes“, *Chemistry* **2001**, *7*, 2245–2253.
- [244] G. Battagliarin, Y. Zhao, C. Li, K. Mullen, „Efficient tuning of LUMO levels of 2,5,8,11-substituted perylenediimides via copper catalyzed reactions“, *Organic Letters* **2011**, *13*, 3399–3401.
- [245] J. Jasieniak, P. Mulvaney, „From Cd-rich to se-rich—the manipulation of CdSe nanocrystal surface stoichiometry“, *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 2841–2848.
- [246] B. Blackman, D. M. Battaglia, T. D. Mishima, M. B. Johnson, X. Peng, „Control of the Morphology of Complex Semiconductor Nanocrystals with a Type II Heterojunction, Dots vs Peanuts, by Thermal Cycling“, *Chemistry of Materials* **2007**, *19*, 3815–3821.
- [247] S. Kim, B. Fisher, H.-J. Eisler, M. Bawendi, „Type-II quantum dots: CdTe/CdSe (core/shell) and CdSe/ZnTe (core/shell) heterostructures“, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 11466–11467.

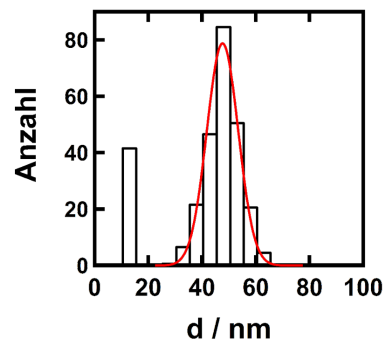
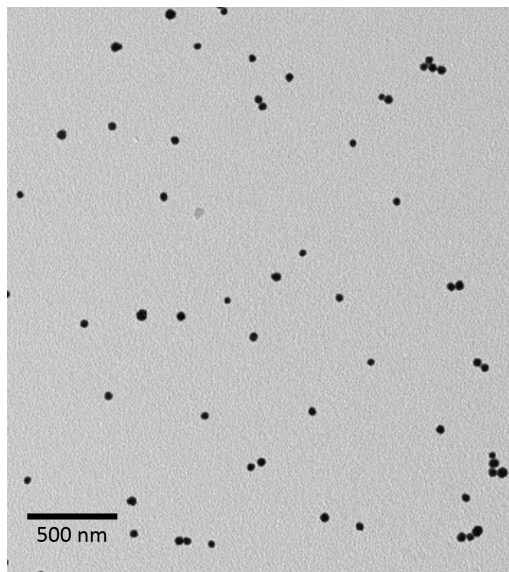
- [248] D. Dorfs, T. Franzl, R. Osovsky, M. Brumer, E. Lifshitz, T. A. Klar, A. Eychmüller, „Type-I and type-II nanoscale heterostructures based on CdTe nanocrystals: a comparative study“, *Small (Weinheim an der Bergstrasse Germany)* **2008**, *4*, 1148–1152.
- [249] H. Mattoussi, J. M. Mauro, E. R. Goldman, G. P. Anderson, V. C. Sundar, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, „Self-Assembly of CdSe–ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein“, *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 12142–12150.
- [250] V. H. R. Schmid, „Light-harvesting complexes of vascular plants“, *Cellular and molecular life sciences : CMLS* **2008**, *65*, 3619–3639.
- [251] M. Werwie, N. Fehr, X. Xu, T. Basche, H. Paulsen, „Comparison of quantum dot-binding protein tags: affinity determination by ultracentrifugation and FRET“, *Biochimica et biophysica acta* **2014**, *1840*, 1651–1656.
- [252] M. Werwie, L. Dworak, A. Bottin, L. Mayer, T. Basche, J. Wachtveitl, H. Paulsen, „Light-harvesting chlorophyll protein (LHCII) drives electron transfer in semiconductor nanocrystals“, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **2014**, *1859*, 174–181.
- [253] T. Fischer, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, **2012**.
- [254] C. Slavov, N. Bellakbil, J. Wahl, K. Mayer, K. Ruck-Braun, I. Burghardt, J. Wachtveitl, M. Braun, „Ultrafast coherent oscillations reveal a reactive mode in the ring-opening reaction of fulgides“, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, *17*, 14045–14053.
- [255] T. Wilhelm, J. Piel, E. Riedle, „Sub-20-fs pulses tunable across the visible from a blue-pumped single-pass noncollinear parametric converter“, *Optics Letters* **1997**, *22*, 1494–1496.
- [256] M. T. Trinh, A. J. Houtepen, J. M. Schins, T. Hanrath, J. Piris, W. Knulst, Goossens, Albert P L M, L. D. A. Siebbeles, „In spite of recent doubts carrier multiplication does occur in PbSe nanocrystals“, *Nano Letters* **2008**, *8*, 1713–1718.



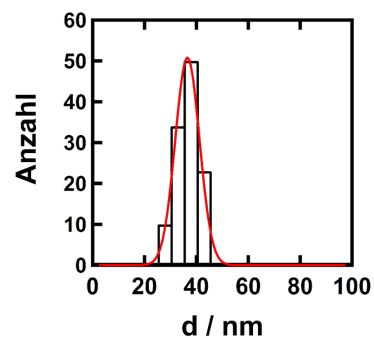
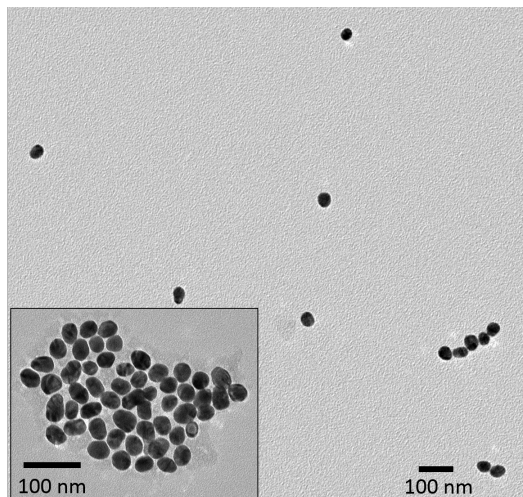
# A. Anhang

## A.1. Nanoantennen für die Fluoreszenzverstärkung von WSCP

### A.1.1. TEM-Aufnahmen der verwendeten GNPs

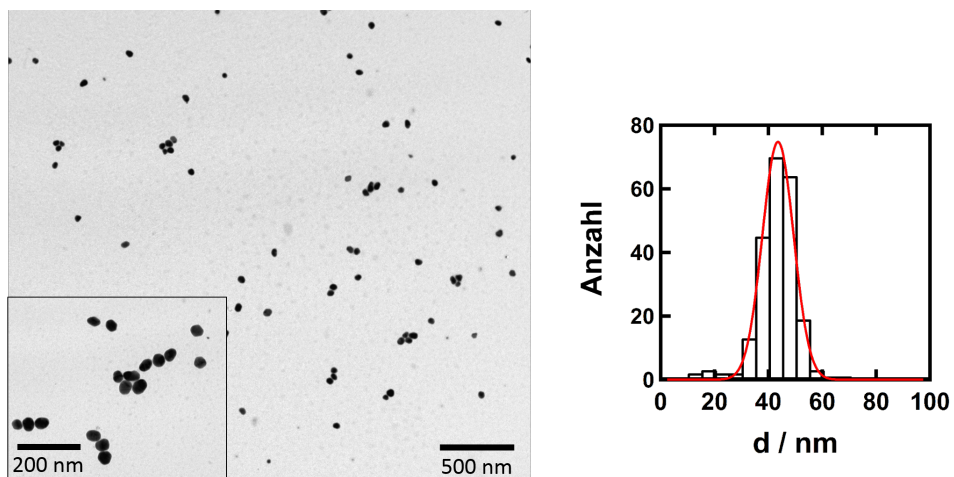


(a)  $d = (42 \pm 13)\text{nm}$ ,  $\epsilon = 5,74 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

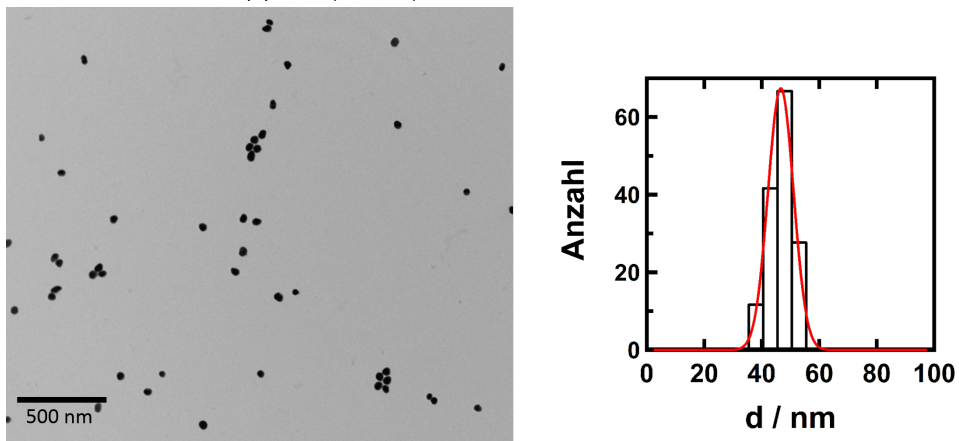


(b)  $d = (36 \pm 4) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 3,52 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

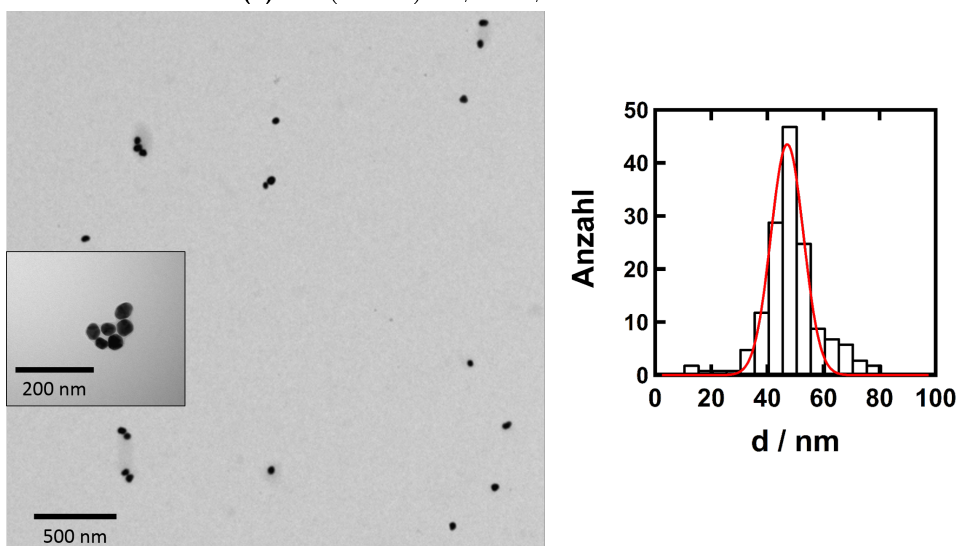
**Abbildung A.1.:** Exemplarische TEM-Aufnahmen der in der vorliegenden Arbeit eingesetzten GNPs mit den zugehörigen Größenverteilungen



(c)  $d = (43 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 6,18 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

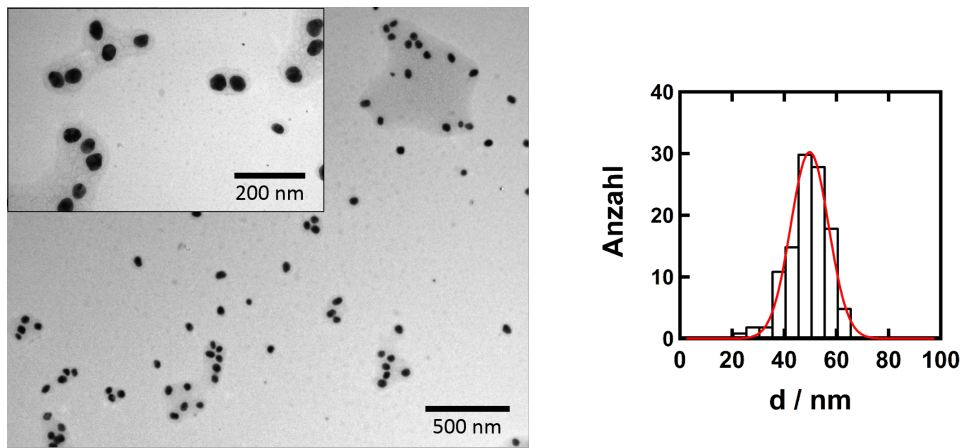


(d)  $d = (46 \pm 4) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 7,65 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

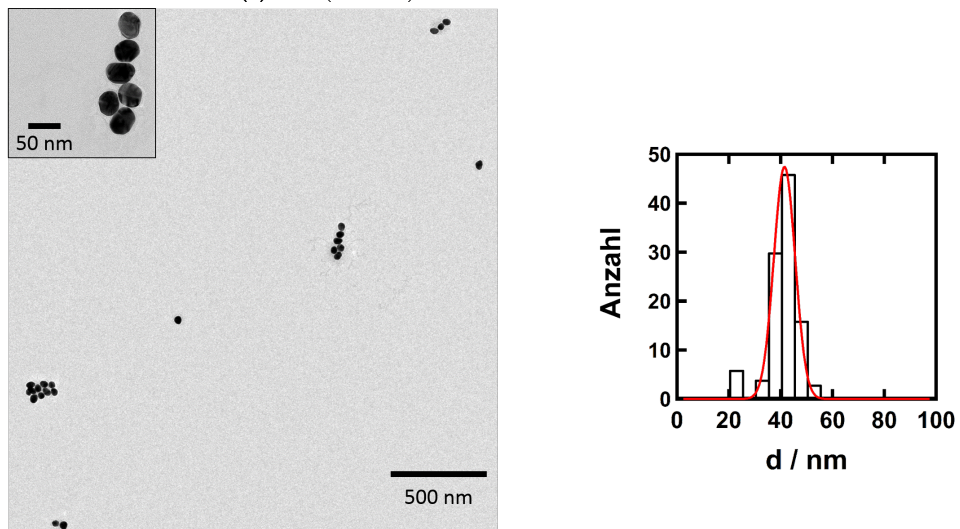


(e)  $d = (47 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 8,18 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

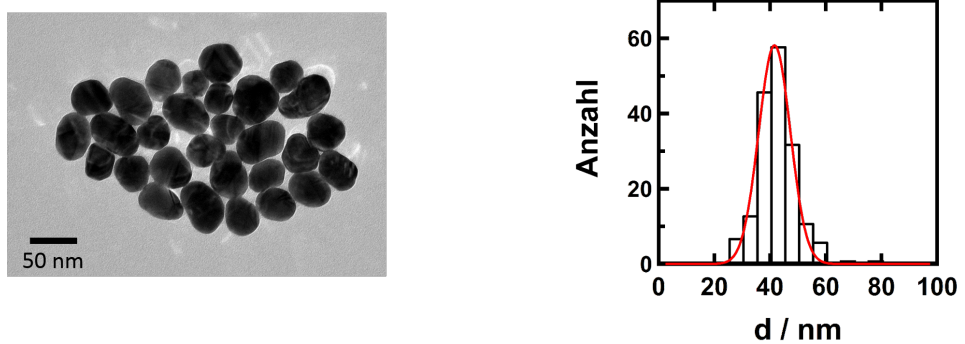
Abbildung A.1.: Fortsetzung



(f)  $d = (48 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 8,74 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

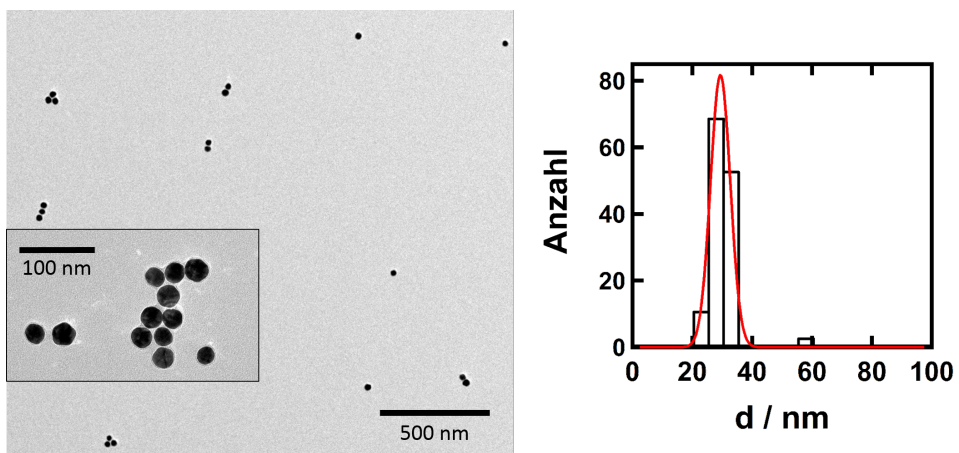


(g)  $d = (41 \pm 6) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 5,32 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

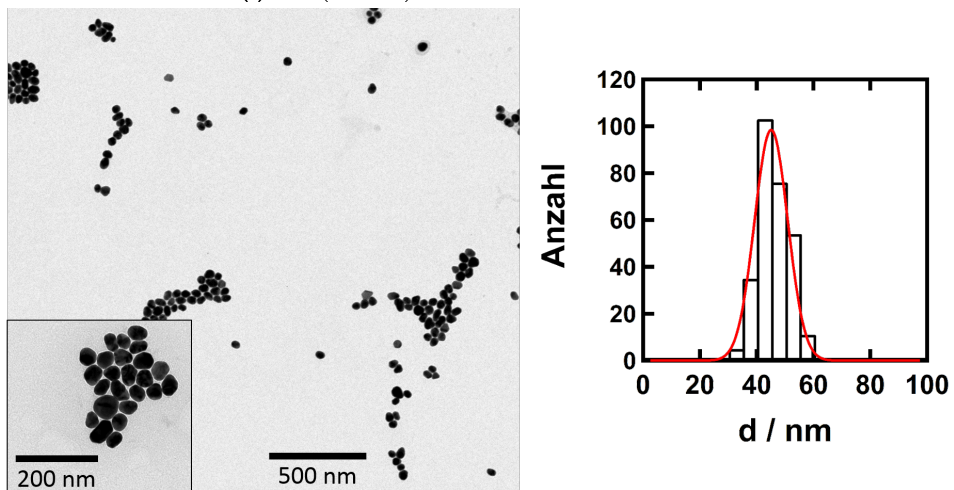


(h)  $d = (42 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 5,74 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

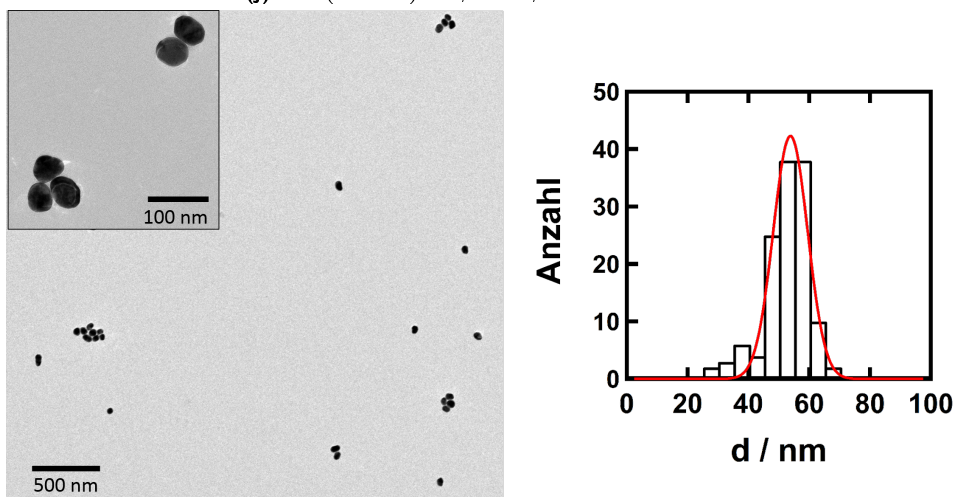
Abbildung A.1.: Fortsetzung



(i)  $d = (29 \pm 5) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 1,76 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

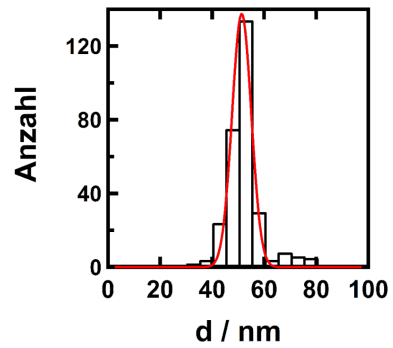
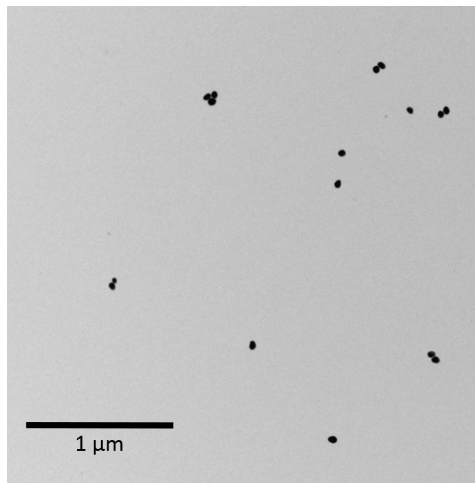


(j)  $d = (45 \pm 6) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 7,13 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

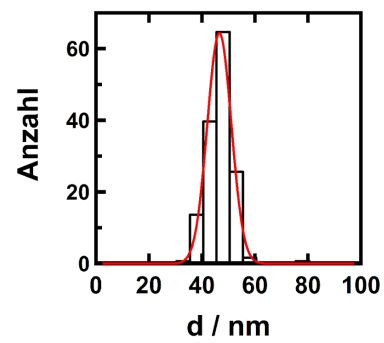
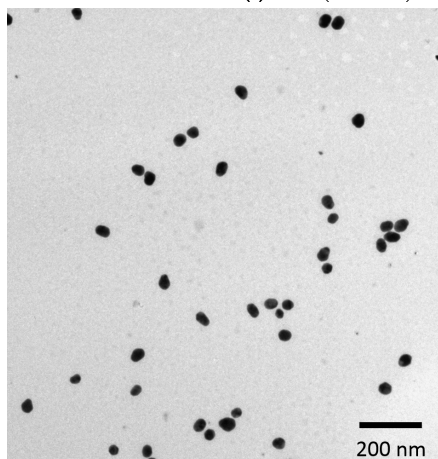


(k)  $d = (52 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 1,12 \cdot 10^{10} \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

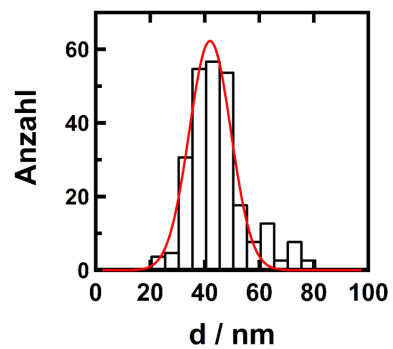
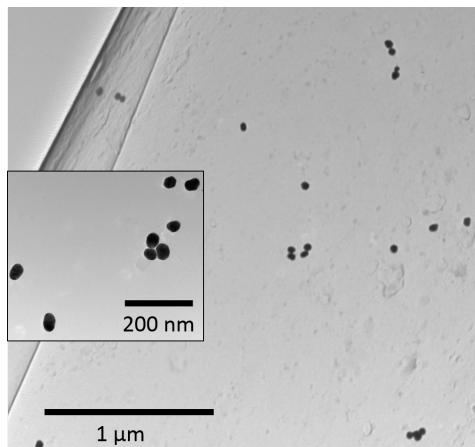
Abbildung A.1.: Fortsetzung



(l)  $d = (52 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 1,12 \cdot 10^{10} \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

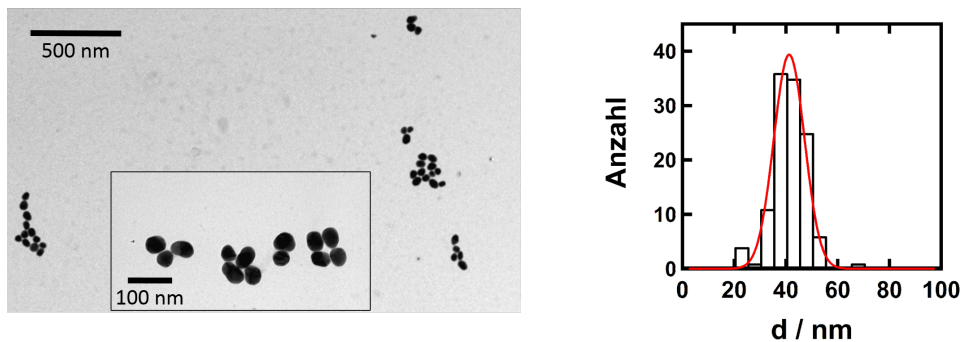


(m)  $d = (46 \pm 5) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 7,65 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$



(n)  $d = (45 \pm 11) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 7,13 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

**Abbildung A.1.:** Fortsetzung



(o)  $d = (43 \pm 7) \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 6,18 \cdot 10^9 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Abbildung A.1.: Fortsetzung

### A.1.2. Bindung von WSCP an citrat-stabilisierte GNPs

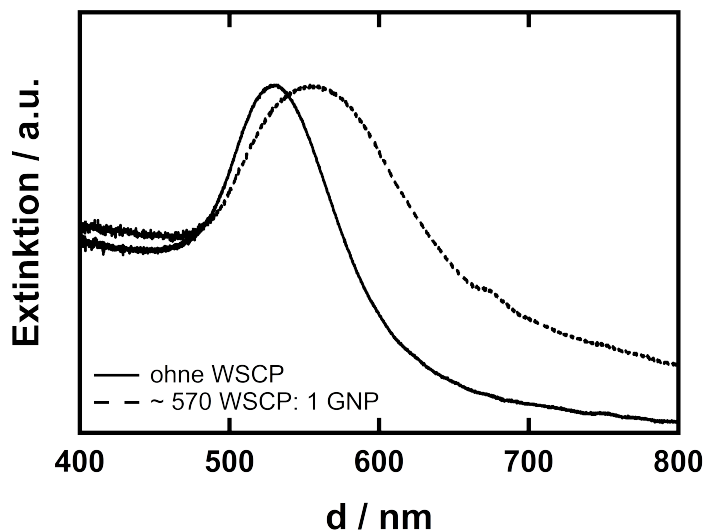
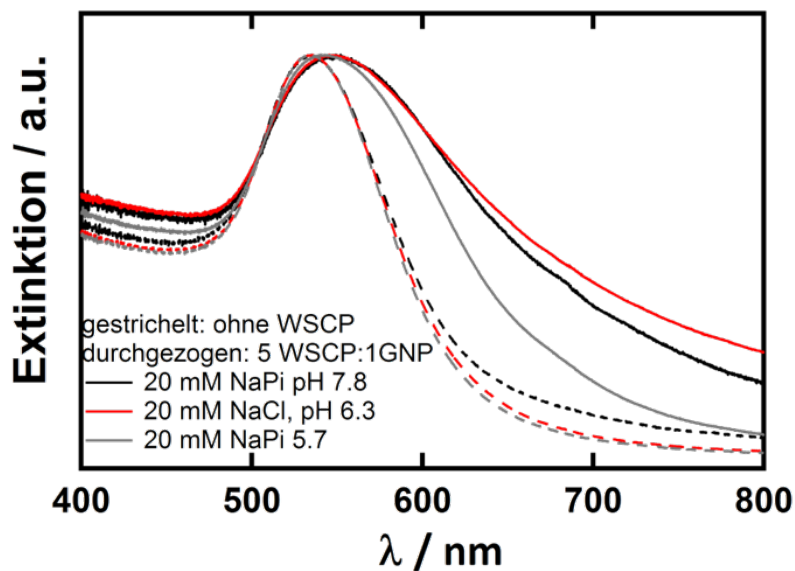


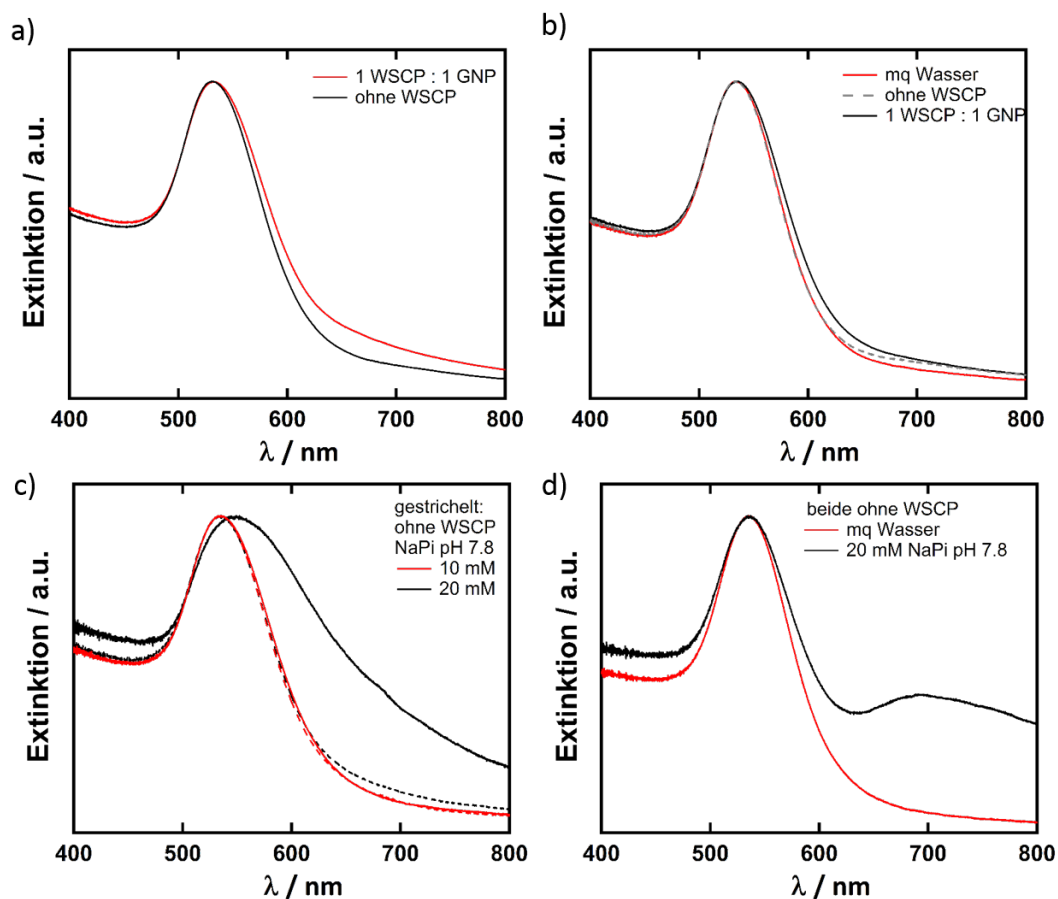
Abbildung A.2.: Extinktionsspektren von citrat-stabilisierten GNPs mit und ohne WSCP. Die erfolgreiche Verbrückung der GNPs durch WSCP ist an Hand der Verschiebung und Verbreiterung des Plasmonenresonanzpeaks erkennbar. ( $d_{GNPs} = (36 \pm 5) \text{ nm}$ , TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1b).



**Abbildung A.3.:** Exemplarische Extinktionsspektren von GNP-WSCP-Proben (12 WSCP pro GNP) und den zugehörigen Referenzproben. Obwohl beide Reaktionen mit der gleichen Charge GNPs, unter gleichen Bedingungen durchgeführt wurden, fand bei I keine Reaktion und bei II eine deutliche Reaktion statt. ( $d_{GNPs}=(45 \text{ pm } 6) \text{ nm}$ , TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1j)



**Abbildung A.4.:** Die Reaktion bei pH = 6,3 führt zu einem ähnlichen Ergebnis wie bei pH = 7,8. Unterhalb des pIs von WSCP bei pH = 5,7 ist die Reaktion schwächer ( $d_{GNPs}=(43 \text{ pm } 7) \text{ nm}$ , TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1o).



**Abbildung A.5.:** a) und b) Extinktionsspektren von Versuchen in 10 mM Puffer bei pH 7,8. In beiden Beispielen findet eine Aggregation der GNPs nach WSCP-Zugabe statt. Für beide Experimente wurde die gleiche GNP-Lösung verwendet ( $d_{GNPs} = 49$  nm, abgeschätzt mit [169]). c) Extinktionsspektren von Versuchen in 10 mM und 20 mM Puffer bei pH 7,8: In 10 mM Puffer fand hier im Gegensatz zu den in a) und b) gezeigten Spektren keine Reaktion statt ( $d_{GNPs} = 43$  nm, TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1o). d) Extinktionsspektren von GNPs in Wasser und 20 mM Puffer bei pH 7,8. Die GNPs aggregieren hier schon im Puffer ohne Zugabe von WSCP, im Gegensatz zu den GNPs aus c) (schwarze gestrichelte Linie) ( $d_{GNPs} = 43$  nm, TEM-Aufnahme siehe Abbildung A.1c).

### A.1.3. Einfluss der Biotin-Position und Verwendung von WSCP-Varianten aus virginischer Kresse

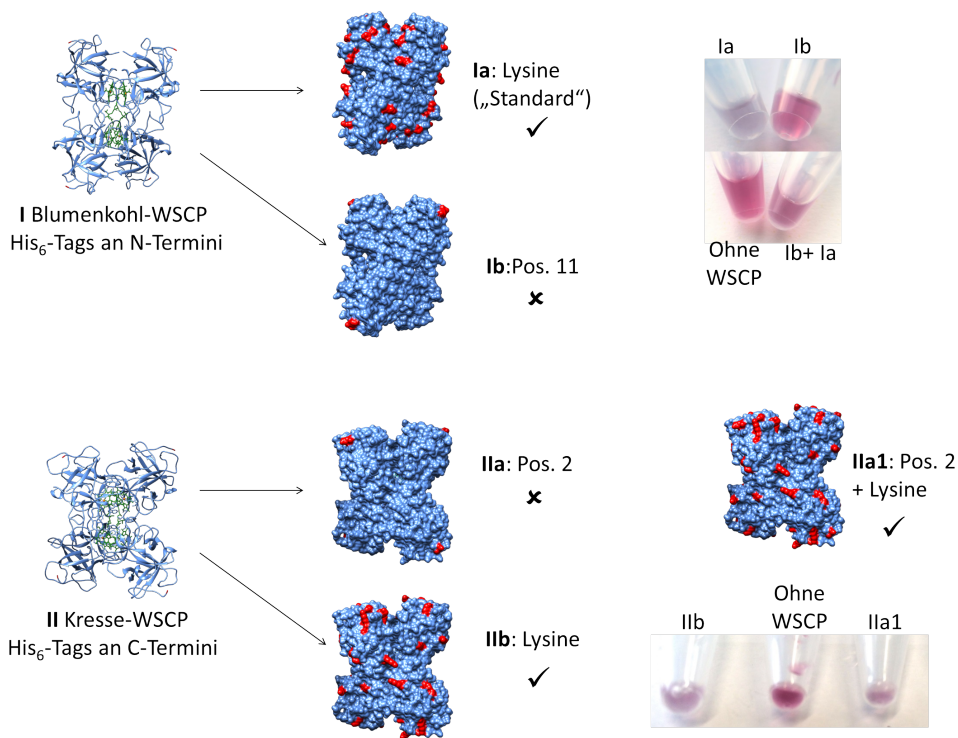
Die Bindung des WSCP an SA-stabilisierte GNPs wurde mit verschiedenen Varianten des WSCPs überprüft. Die hier zusätzlich vorgestellten Tests mit der WSCP-Variante aus virginischer Kresse sollen die in Abschnitt 4.3.1 getätigten Aussagen bezüglich der Spezifität der SA-Biotin-Bindung und der Zugänglichkeit des Biotins für das an den GNPs befindliche SA unterstützen. Es wurden drei Kresse-WSCP-Varianten getestet. Tabelle A.1 fasst nochmal alle in der vorliegenden Arbeit getesteten Varianten zusammen, die Ergebnisse und die mit *Chimera* aus den Kristallstrukturen erstellten Oberflächenbilder der getesteten Varianten sind in Abbildung A.6 zusammengestellt. Dabei sind in den Proteinstrukturen ungefähren Positionen der Biotin-Funktionen rot markiert.

**Tabelle A.1.:** Übersicht über die getesteten WSCP-Varianten aus Abbildung A.6 (AS: Aminosäure)

Name	Art	Position der His <sub>6</sub> -Tags	Position der Biotinfunktion
Ia	Blumenkohl	N-Termini, 6 AS Spacer	an allen Lysinen, 3 nm Spacer
Ib	Blumenkohl	N-Termini, 6 AS Spacer	11 vom N-Terminus
IIa	Kresse	C-Termini	2 vom N-Terminus aus
IIa1	Kresse	C-Termini	wie IIa + alle Lysine
IIb	Kresse	C-Termini	an allen Lysinen, 3 nm Spacer

Die Variante Ia ist die Variante, welche für die in der Arbeit vorgestellten Experimente zur Assemblierung der SA-funktionalisierten GNPs eingesetzt wurde. Die Ergebnisse mit Variante Ib wurden in Abschnitt 4.3.1 bereits besprochen. Die deutlich verminderte Reaktion mit den GNPs wurde auf die Position der Biotine relativ weit innerhalb der Proteinstruktur und die daraus resultierende sterische Unzugänglichkeit des SAs für die Biotine zurückgeführt. Da beide Varianten die gleichen His<sub>6</sub>-Tags besaßen, konnte die erfolgreiche Reaktion mit Variante Ia auf die Interaktion des SAs und der Biotine zurückgeführt werden. Eine Wechselwirkung der His<sub>6</sub>-Tags mit den GNPs fand offenbar nicht statt. Die Fotos im oberen Teil von Abbildung A.6 zeigen dies eindrücklich. Der Farbumschlag bleibt bei Verwendung von Ib aus, wird im Anschluss zusätzlich Ia zur Lösung gegeben, findet eine Aggregation der GNPs statt.

Sehr ähnliche Tests wurden mit den Kresse-WSCP-Varianten IIa, IIa1 und IIb durchgeführt. Die Kresse-WSCP-Varianten besaßen die His<sub>6</sub>-Tags an den C-Termini, welche, im Gegensatz zu den exponiert liegenden N-Termini, innen in der Proteinstruktur positioniert sind. Dadurch sind diese für die Bindung an die GNPs nicht zugänglich. Es zeigt sich den Positionen der Biotine entsprechend das gleiche Bild wie bei den Varianten Ia und Ib: Bei Variante IIa sind die Biotine ohne zusätzlichen Spacer aus sechs Aminosäuren (AS) an Position zwei vom N-Terminus aus positioniert. Eine Reaktion bleibt analog zu Variante

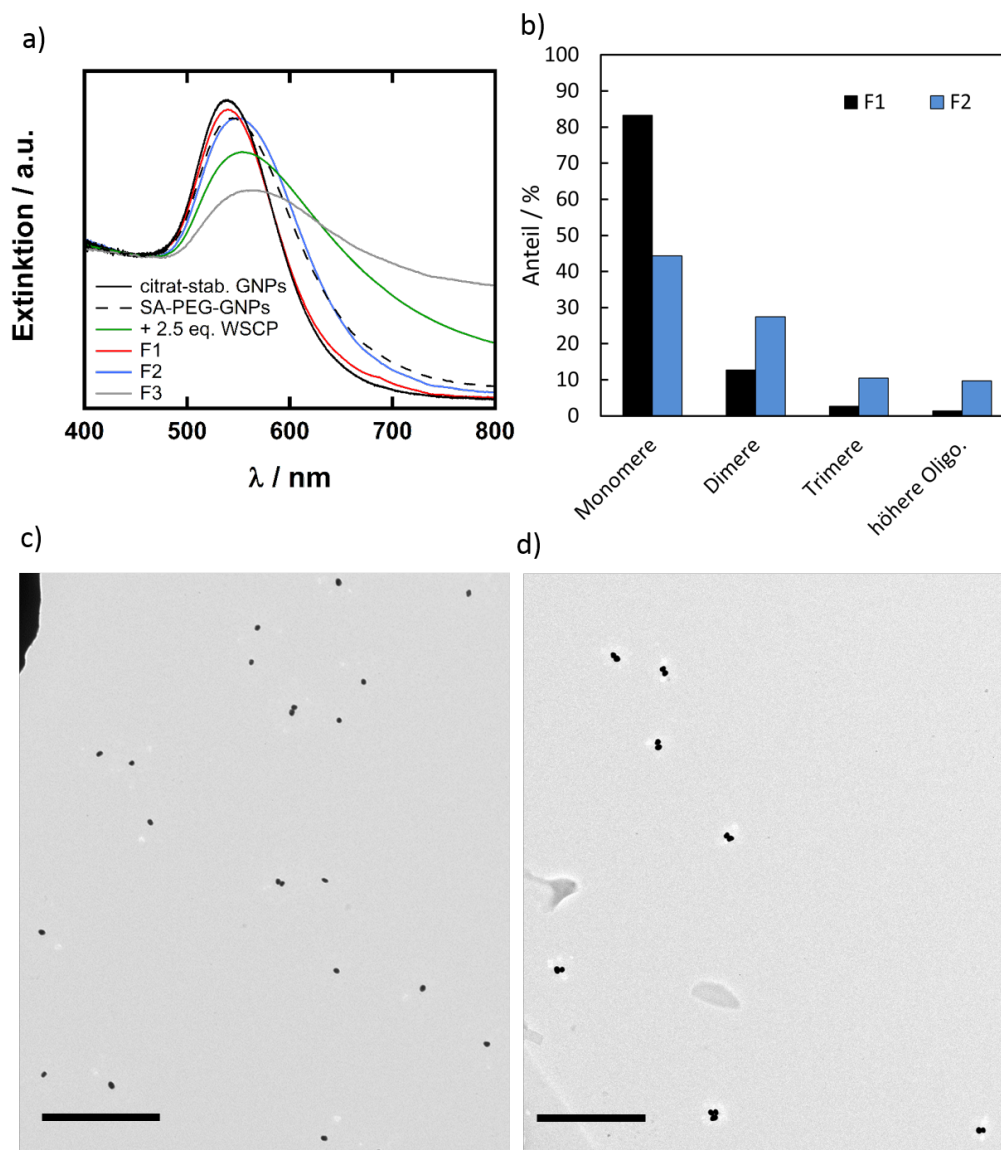


**Abbildung A.6.:** Übersicht über die getesteten WSCP-Varianten: Es sind die mit Chimera erstellten Abbildungen der Kristallstrukturen des WSCP aus Blumenkohl (I) und Kresse (II) gezeigt, sowie die aus den Kristallstrukturen erstellten Oberflächenbilder, auf welchen die Positionen der Biotinfunktionen rot markiert sind. I besaß die His<sub>6</sub>-Tags an den N-Termini, II an den C-Termini. Außerdem sind die Fotos von GNPs ohne WSCP und nach Zugabe verschiedener WSCP-Varianten dargestellt. Bei erfolgreicher Reaktion findet ein deutlicher Farbumschlag von rot-pink nach blau-lila statt.

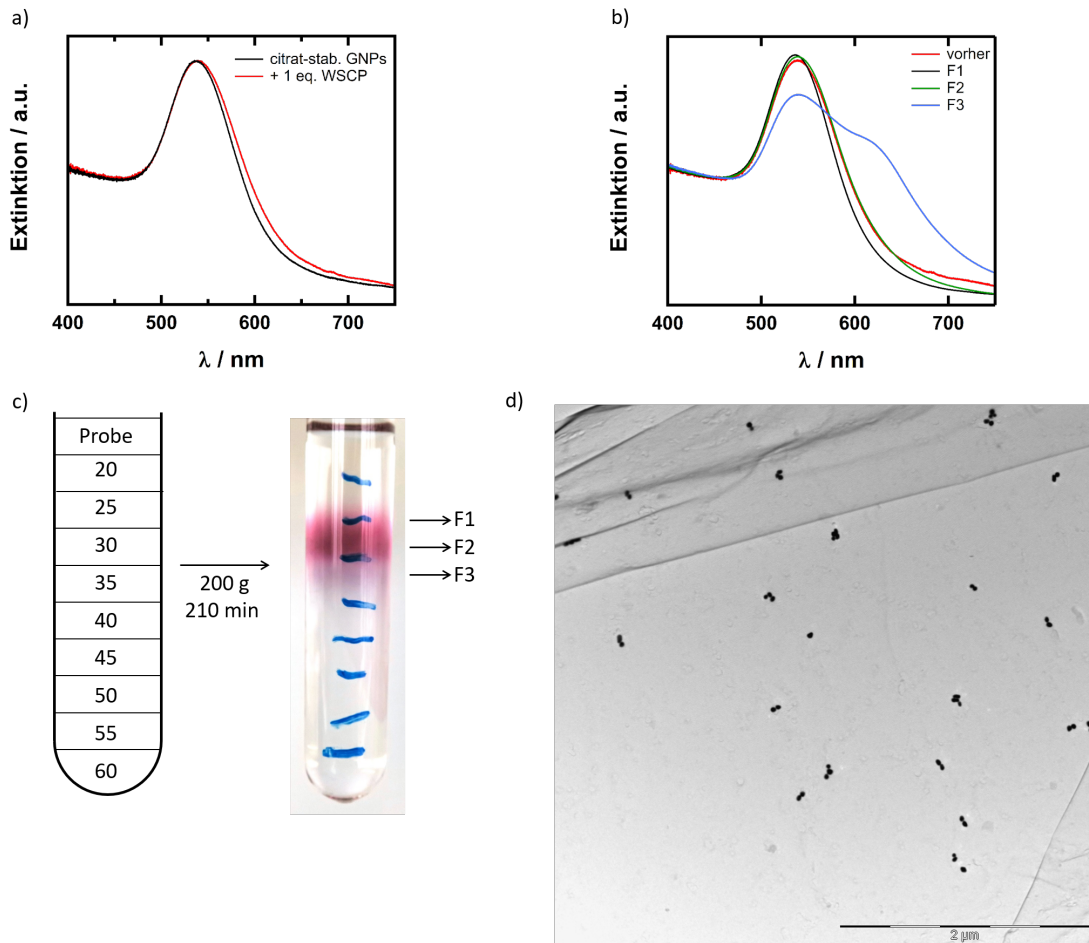
Ib aus. Bei Variante IIb (Analogon zu Variante Ia) findet eine Reaktion statt. Werden in Variante IIa zusätzlich alle Lysine (wie in Ia und IIb) mit Biotin-Funktionen versehen, findet ebenfalls eine erfolgreiche Reaktion statt.

Die Ergebnisse mit Kresse-WSCP-Varianten unterstreichen also die Aussagen aus Abschnitt 4.3.1: Sind die Biotine ungünstig positioniert, aggregieren die GNPs nicht, was vermutlich auf eine sterische Abschirmung der Biotine durch die Proteinmatrix zurückzuführen ist. Die His<sub>6</sub>-Tags sind nicht für die Bindung an die SA-funktionalisierten GNPs verantwortlich, sodass die Bindung zwischen WSCP und GNPs eindeutig auf die Biotin-SA-Bindung zurückzuführen ist.

#### A.1.4. Viskositätsgradientenzentrifugation an citrat- und PEG-stabilisierten GNP-WSCP-Aggregaten



**Abbildung A.7.:** Zusammenfassung der Ergebnisse der VGZ an PEG-stabilisierten mit WSCP assemblierten GNPs. Die GNPs hatten einen mittleren Durchmesser von  $(42 \pm 7)$  nm und wurden mit einem PEG-Verhältnis von 1000 COOH-PEG: 1 Biotin-PEG pegyliert. Für die VGZ wurde in einem 2 ml-Eppendorfgefäß je 0,4 ml einer 20wt%-igen, 29wt%-igen und 40wt%-igen Saccharoseschicht verwendet. Die Zentrifugation wurde für 4 min bei 4000 g durchgeführt. a) Extinktionssepektren der citrat-stabilisierten GNPs, der SA-PEG-GNPs und der Probe vor der Zentrifugation sowie der drei entnommenen Fraktionen. b) Ergebnisse der TEM-Analyse von F1 und F2. Für beide Fraktionen wurden jeweils mindestens 220 Partikel gezählt. c) Exemplarische TEM-Aufnahme von F1. d) Exemplarische TEM-Aufnahme von F2. Der Maßstabsbalken beträgt in beiden Aufnahmen 1000 nm.



**Abbildung A.8.:** Zusammenfassung des Experiments, welches zur der in Abschnitt 4.5.2 diskutierten Dimerfraktionierung WSCP-assemblierter citrat-stabilisierter GNPs führte. a) Extinktionsspektren der citrat-stabilisierten GNPs mit und ohne WSCP. b) Extinktionsspektren der drei Fraktionen. c) Skizze des Zentrifugengefäßes (die verwendeten Saccharosekonzentrationen sind in wt% angegeben) und Foto des Zentrifugengefäßes nach der Zentrifugation. d) exemplarische TEM-Aufnahme von F3.

### A.1.5. Fluoreszenzkorrelationspektroskopie

Eine detaillierte Beschreibung des Messprinzips sowie der möglichen Einsatzmöglichkeiten von FCS findet sich in [139]. FCS beruht auf der Analyse zeitabhängiger Intensitätsfluktuationen eines Fluorophors in Lösung in einem bestimmten Volumen. Das Volumen wird dabei durch den Laserfokus bestimmt (siehe Abbildung A.9a). Die Emission wird zeitabhängig gemessen. Die Intensitätsschwankungen des Fluorophors können durch translationale Bewegung des Fluorophors im Laserfokus hervorgerufen werden. Diffundiert das Fluorophor schnell durch das Fokusvolumen, kommt es zu schnellen Änderungen der gemessenen Intensität. Die gemessenen Intensitätsschwankungen werden statistisch analysiert, in dem die Intensität zum Zeitpunkt  $t$  mit der Intensität zum Zeitpunkt  $t + \tau$  verglichen wird.

Mit der Autokorrelationsfunktion  $G(\tau)$

$$G(\tau) = \frac{\langle F(t)F(t + \tau) \rangle}{\langle F(t) \rangle^2} \quad (\text{A.1})$$

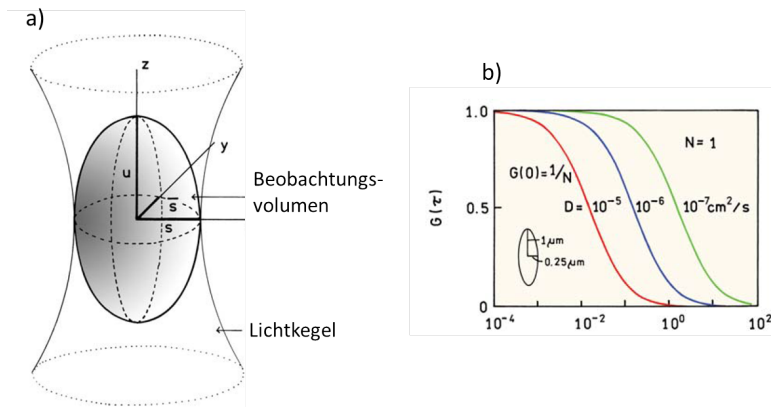
für verschiedene  $\tau$  erstellt. Diffundiert das Fluorophor langsam, sind sich  $F(t)$  und  $F(t + \tau)$  ähnlich, diffundiert das Fluorophor schnell, unterscheiden sich beide Intensitäten stärker. Die Korrelationsfunktion für die translationale Diffusion lautet:

$$G(\tau) = G(0) \left( 1 + \frac{\tau}{\tau_D} \right)^{-1} \left( 1 - \left( \frac{s}{u} \right)^2 \frac{\tau}{\tau_D} \right)^{-1/2}. \quad (\text{A.2})$$

$s$  und  $u$  beschreiben die Geometrie des Fokusvolumens (siehe Abbildung A.9a). Dabei ist  $D$  der Diffusionskoeffizient und  $\tau_D$  die Diffusionszeit mit

$$\tau_D = \frac{s^2}{4D}. \quad (\text{A.3})$$

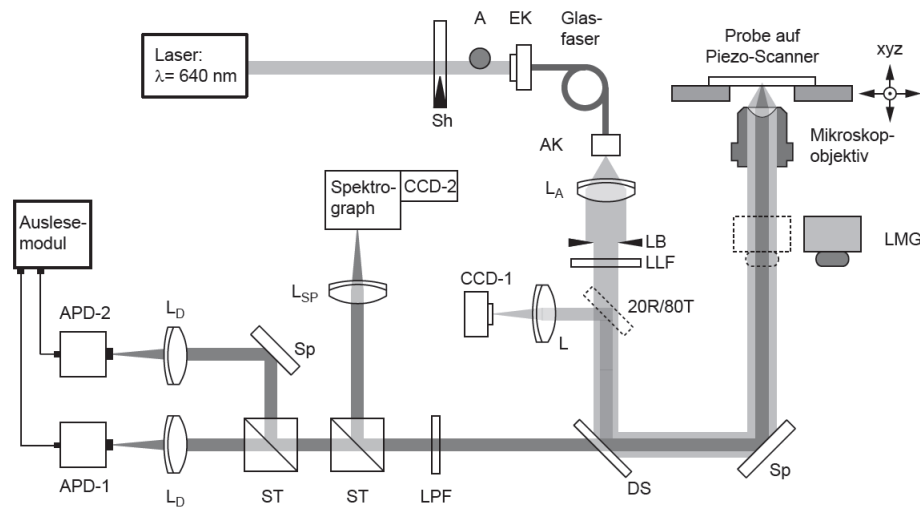
Mit Hilfe der Autokorrelationsfunktion können so prinzipiell die Diffusionszeiten und aus diesen über den Diffusionskoeffizienten der hydrodynamische Radius eines Fluorophors bestimmt werden. Abbildung A.9b zeigt Autokorrelationsfunktionen für verschiedene Diffusionskoeffizienten. Je kleiner der Diffusionskoeffizient eines Fluorophors ist, desto mehr verschiebt sich die Korrelationsfunktion zu größeren  $\tau$ .



**Abbildung A.9.:** a) Das grau schattierte Beobachtungsvolumen ist nicht scharf definiert, die Werte  $u$  und  $s$  beschreiben die Abstände, bei dem die Intensität auf  $e^{-2}$  der maximalen Intensität abgesunken ist b) Beispielkorrelationen zur Verdeutlichung der Abhängigkeit von der Diffusionskonstante. Entnommen aus [139].

### Durchführung der Fluoreszenzkorrelationspektroskopie (FCS)

Die FCS-Messungen wurden von Marcus Held im Rahmen seiner Masterarbeit durchgeführt. Das verwendete konfokale Fluoreszenzmikroskop ist in Abbildung A.10 gezeigt. Eine



**Abbildung A.10.:** Skizze des experimentellen Aufbau für die FCS. Abkürzungen der einzelnen Bauteile: Shutter (SH), variabler optischer Abschwächer (A), Glasfasereinkoppler (EK), Glasfaserauskoppler (AK), achromatische Linse (L<sub>A</sub>), Lochblende (LB), Laserlinienfilter (LLF), (20/80)-Strahlteiler (20R/80T), Linse (L), Kamera (CCD-1), dichroitischer Strahlteiler (DS), Spiegel (SP), Leistungsmessgerät (LMG), Langpassfilter (LPF), (50/50)- Strahlteilerwürfel (ST), Detektionslinse (L<sub>D</sub>), Avalanche-Photodiode (APD-1 und APD-2). Die Abbildung wurde aus der Masterarbeit von Marcus Held entnommen [187].

detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus findet sich in der Masterarbeit von Marcus Held [187].

Als Anregungslichtquelle wurde ein Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 640 nm verwendet. Nach Einkopplung des Laserlichts in die Glasfaser passierte dieses den Auskoppler AK. Mit einem Laserlinienfilter (LLF) wurde der spektrale Bereich des Anregungslichts verkleinert und die Faserfluoreszenz unterdrückt. Der Strahlteiler vor der Fokussierkamera (20R/80T) ließ 80% des Laserlichts passieren. Das Laserlicht wurde von einem dichroitischen Strahlteiler DS reflektiert und durch ein Ölimmersionsobjektiv auf die Probe fokussiert. Die Probe konnte mit Hilfe des Piezo-Scanners in x,y,z-Richtung verstellt werden. Das von der Probe ausgesendete Fluoreszenzlicht passierte den DS. Das vom DS reflektierte Laserlicht wurde auf den Strahlteiler (20R/80T) und von dort auf die CCD-Kamera CCD-1 reflektiert. Die CCD-Kamera diente der Kontrolle der Form und der Größe des Laserfokus. Laserlicht, welches den DS dennoch passiert hatte, wurde aus dem Detektionsstrahlengang mit Hilfe eines Langpassfilters LPF entfernt.

Das Fluoreszenzlicht der Probe passierte einen 50/50-Strahlteiler ST. Ein Teil des Strahls wurde auf einen Spektrographen gelenkt und von dort auf eine EMCCD-Kamera (CCD-2), mit welcher Fluoreszenzspektren aufgenommen wurden. Die anderen 50% des Fluoreszenzlichts wurden mit einem weiteren 50/50-Strahlteiler auf zwei Pfade aufgeteilt,

entlang derer das Licht zu jeweils einer APD (*APD-1* und *APD-2*) gelenkt wurden. Mit diesen wurden die von der Probe ausgesendeten Photonen gezählt. Als Auslesem modul zur zeitlichen Korrelation der Photonen wurde ein Pico Harp 300-Modul (PicoQuant) verwendet.

### A.1.6. Durchführung der kombinierten Rasterkraft-/Fluoreszenzmikroskopie

Der Aufbau des AFM-/Fluoreszenzmikroskops ist ausführlich in [253] beschrieben und in Abbildung A.11 gezeigt. An der Unterseite des AFM-Probentisches befindet sich das Objektiv des Fluoreszenzmikroskops.

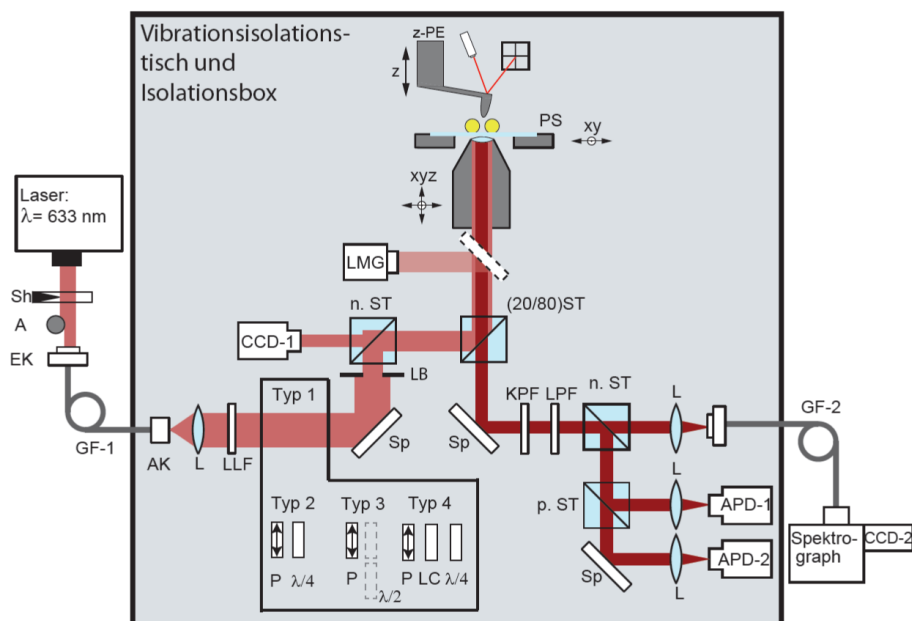
Das verwendete AFM war ein kommerziell erhältliches Gerät der Firma ASYLUM RESEARCH mit der Bezeichnung MFP-3D. Der Kontakt des Cantilevers mit der Probe wurde mit Hilfe eines Piezoelements *z-PE* hergestellt. Mit Hilfe eines Piezoscanners im Probenhalter wurde die Probe relativ zum Cantilever und relativ zum Mikroskopobjektiv des Fluoreszenzmikroskops in *xy*-Richtung bewegt. Der Cantilever bestand aus kristallinem Silizium, der Krümmungsradius der Spitze betrug 7 nm. Das Gerät wurde im Tapping-Modus betrieben.

Der Aufbau des Fluoreszenzmikroskops war sehr ähnlich dem oben beschriebenen Aufbau für die Fluoreszenzkorrelationsmikroskopie. Als Anregungslichtquelle für die Fluoreszenzmessung diente ein Helium-Neon-Gaslasers. Die Anregungswellenlänge betrug 633 nm. Es wurde ein Ölimmersionsobjektiv (ZEISS Plan-NEOFLUAR 100x NA=1.30) verwendet. Zwischen Laserlinienfilter *LLF* und Lochblende *LB* befanden sich zur Verwirklichung der verschiedenen Experimente unterschiedliche polarisationsverändernde Elemente:

- *Typ 1*: Typ 1 wurde in der vorliegenden Arbeit nicht verwendet.
- *Typ 2*: Typ 2 beinhaltete eine Kombination aus Polarisationsfilter und  $\lambda/4$ -Plättchen zur Erzeugung zirkular polarisierten Lichts.
- *Typ 3*: Typ 3 war eine Kombination aus einem Polarisationsfilter und einem  $\lambda/2$ -Plättchen. Das  $\lambda/2$ -Plättchen befand sich auf einem klappbaren Halter hinter dem Polarisationsfilter. Durch Herein- und Herausklappen des Plättchens ließ sich wahlweise  $\parallel$ - oder  $\perp$  polarisiertes Licht erzeugen.
- *Typ 4*: Typ 4 war eine Kombination aus Polarisator, einem spannungsgesteuertem Flüssigkristall *LC* und einem  $\lambda/4$ -Plättchen. Mit Hilfe des *LCs* konnte die Polarisation elektronisch variiert werden.

### Probenpräparation

Es wurden silanisierte Objektträgergläschen verwendet. Als Silanisierungsreagenz wurde (3-Aminopropyl)triethoxysilan verwendet. 100  $\mu$ l APTES wurden in einer Petrischale mit 10 ml mq-Wasser gemischt. Die Objektträger wurden in einem Plasma-Cleaner (DIENER ELECTRONIC GMBH & CO. KG Zepto; Druck: 0.5 mbar, „Plasma Power“: 5.5 w. E.) 10 min lang gereinigt und im Anschluss sofort in der APTES-Wasser-Mischung platziert, wobei darauf geachtet wurde, dass die Objektträger nicht übereinanderlagen. Nach 20 min

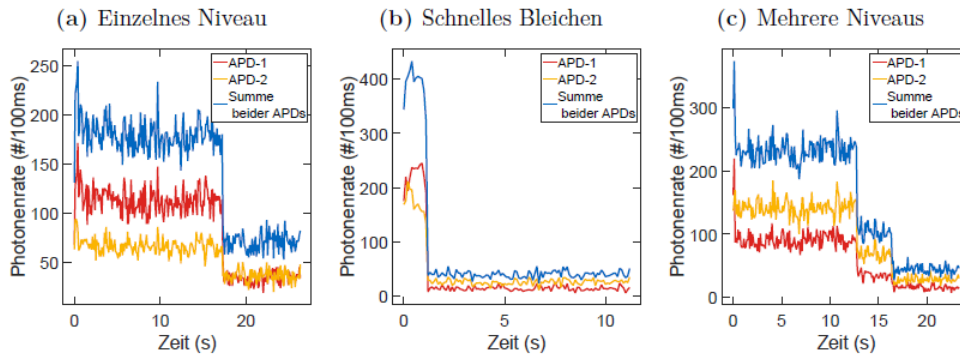


**Abbildung A.11.:** Skizze des Versuchsaufbaus für die korrelierten rasterkraftmikroskopischen und einzelmolekülspektroskopischen Experimente: Shutter (SH), variabler optischer Abschwächer (A), Glasfaser mit Ein- und Auskoppler (GF-1), Linse (L), Lochblende (LB), Laserlinienfilter (LLF), Spiegel (SP), (50/50)-Strahlteiler (n.ST), (20/80)-Strahlteiler ((20/80)ST), Kamera (CCD-1), Leistungsmessgerät (LMG), Piezoscanner (PS), z-Piezoelement (z-PE), Kurzpassfilter (KPF), Langpassfilter (LPF), (50/50)-Strahlteilerwürfel (n. ST), polarisierender Strahlteiler (p. ST), Avalanche-Photodiode (APD-1 und APD-2), Glasfaser des Spektrometers mit Ein- und Auskoppler (GF-2), CCD-Kamera des Spektrometers (CCD-2). Zur Veränderung der Anregungspolarisation wurden verwendet: Polarisator (P),  $\lambda/4$ - bzw.  $\lambda/2$ -Wellenplättchen ( $\lambda/4$  bzw.  $\lambda/2$ ), spannungsgesteuerter Flüssigkristall (LC). Entnommen aus der Masterarbeit von Marcus Held [187].

wurden die Objektträger nacheinander entnommen und sofort mit mq-Wasser gespült und im Argonstrom getrocknet.

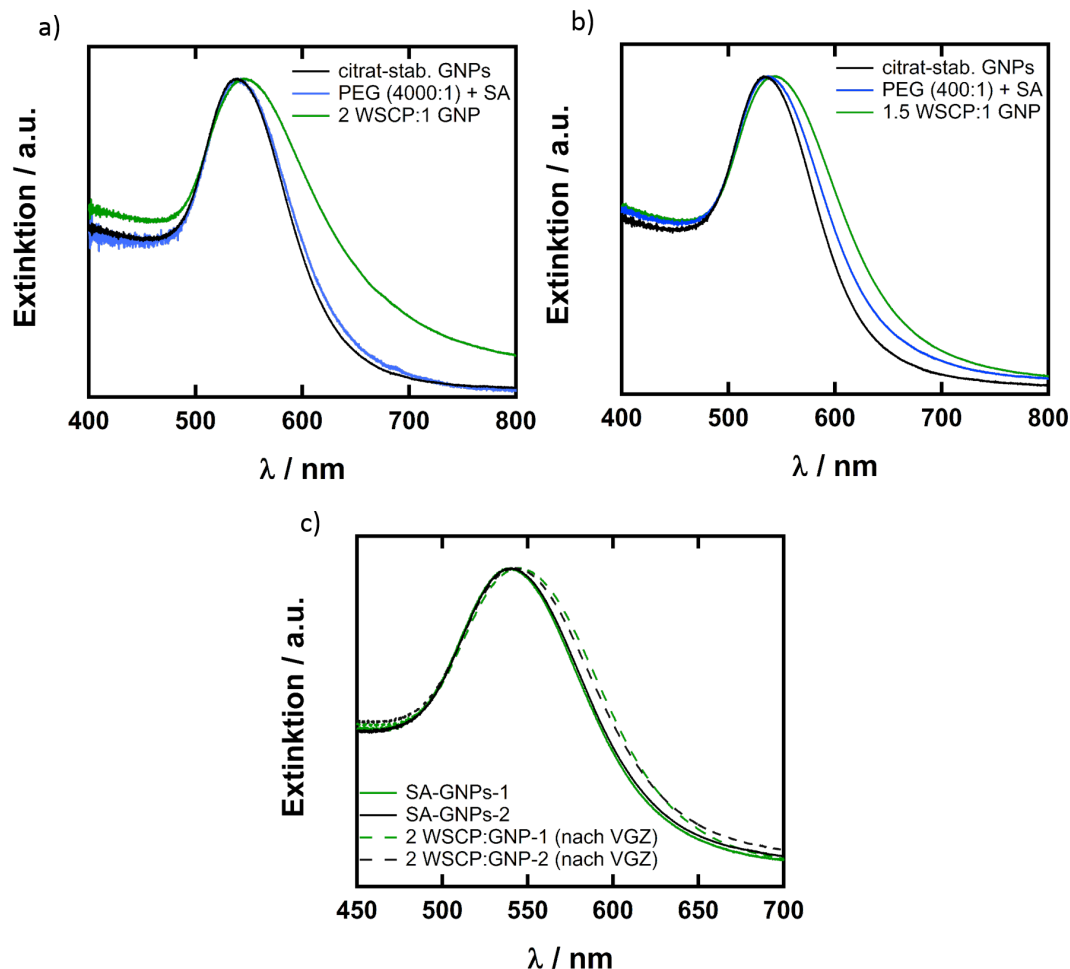
- Immobilisierung der GNP-WSCP-Aggregate: 25  $\mu\text{l}$  der GNP-WSCP-Probe wurden in die Mitte eines silanisierten Objektträgers pipettiert und 20 min unter einer Petrischale inkubiert. Die GNP-Lösung wurde mit mq-Wasser abgespült und die Oberfläche unter Argonstrom getrocknet. War die Belegungsdichte zu gering, wurden die genannten Schritte noch einmal wiederholt.
- Immobilisierung von WSCP: 20  $\mu\text{l}$  einer  $5 \cdot 10^{-10}$  M WSCP-Lösung wurde mit Hilfe von Spin-Coating (6000 Umdrehungen pro Minute, 120 s) auf einem silanisierten Objektträger immobilisiert.

### A.1.7. Exemplarische Fluoreszenzzeit Spuren von reinem WSCP



**Abbildung A.12.:** Exemplarische Zeitspuren von reinem WSCP. a) Zeigt die Zeitspur eines relativ langlebigen WSCPs mit einstufigem Bleichen. b) Beispiel für sehr schnelles, einstufiges Bleichen. c) Beispiel für mehrstufiges Bleichen. Entnommen aus der Masterarbeit von Marcus Held [187].

A.1.8. Extinktionsspektren der verwendeten WSCP-GNP-Proben

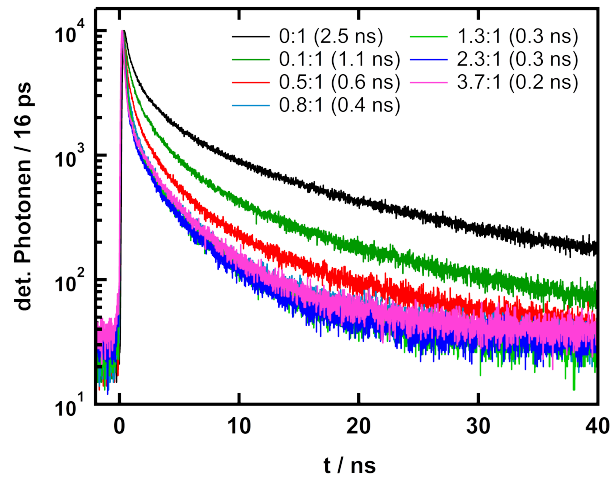


**Abbildung A.13.:** Extinktionsspektren der mit WSCP assemblierten GNPs, welche im Rahmen der Experimente am kombinierten AFM/SMS-Versuchsaufbau verwendet wurden: a) und b) PEG-stabilisierte GNPs, TEM-Aufnahmen siehe Abbildung A.1k (a) bzw. A.1h (b). c) SA-stabilisierte GNPs sowie beide Fraktionen F2 nach der VGZ (Dimeranteile bestimmt aus TEM-Aufnahmen: 28% und 22%). TEM-Aufnahme der GNPs siehe Abbildung A.1l).

## A.2. Elektronische Wechselwirkung von CdSe-QDs und PDI

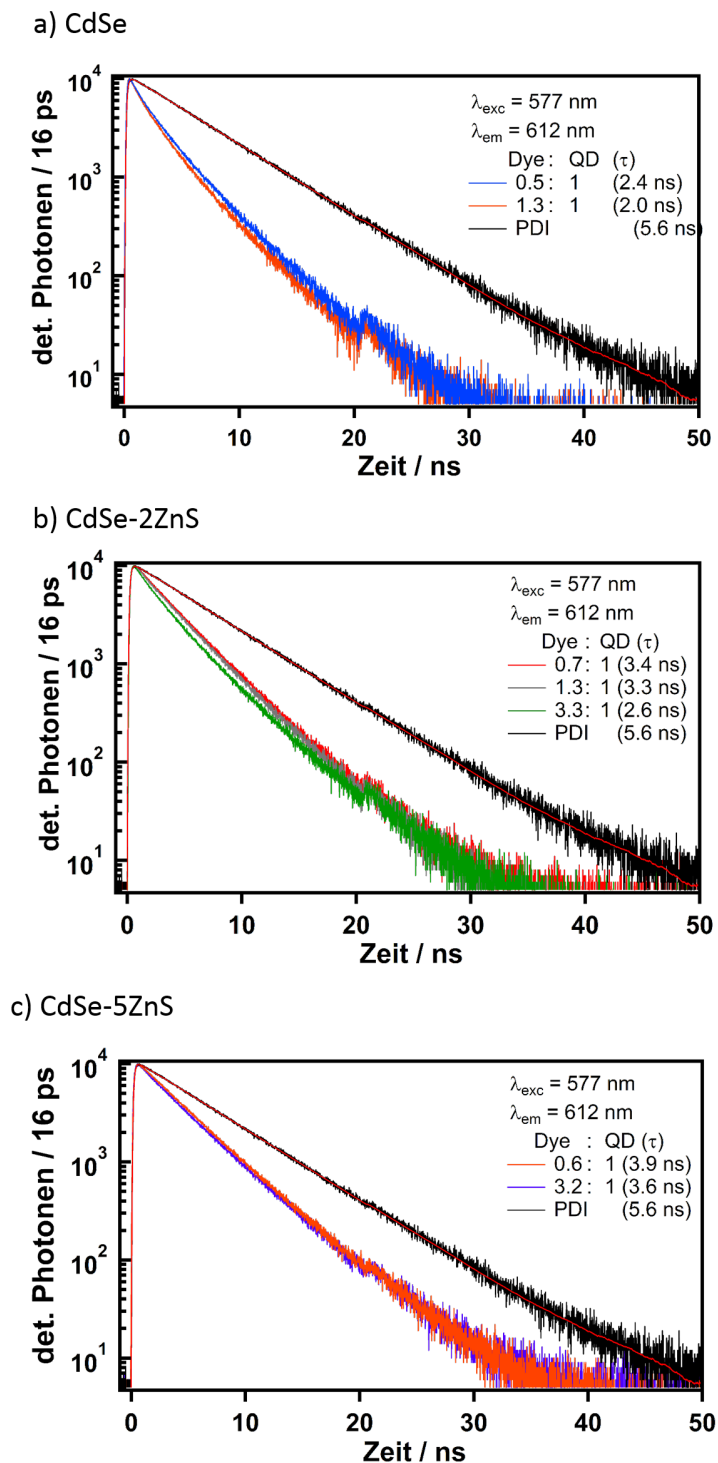
### A.2.1. Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektren

#### Selektive Anregung der QDs



**Abbildung A.14.:** Fluoreszenzzerfallskurven der CdSe-PDI-Komplexe nach Anregung mit 450 nm, die Detektionswellenlänge lag bei 550 nm (Fluoreszenzemissionsmaximum der QDs). In Klammern sind die mittleren amplitudengewichteten Zerfallszeiten angegeben.

### Selektive Anregung des PDIs



**Abbildung A.15.:** Fluoreszenzzerfallskurven der QD-PDI-Komplexe nach selektiver Anregung des PDI in den Komplexen, der Proben, welche aus Gründen der Übersichtlichkeit in Abbildung 5.9 nicht dargestellt sind.

**Tabelle A.2.:** Amplituden  $A_x$ , Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau_x$  und mittlere amplitudengewichtete Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau$  der CdSe-PDI-Komplexe. Die Anregungswellenlänge lag bei 577 nm, die Emissionswellenlänge bei 612 nm.

PDI:QD	$\tau$ /ns	$\tau_1$ /ns	$A_1$	$\tau_2$ /ns	$A_2$	$\tau_3$ /ns	$A_3$
0,1:1	2,4	4,7	0,17	0,7	0,30	2,7	0,53
0,5:1	2,3	4,1	0,28	0,6	0,27	2,3	0,45
0,8:1	2,1	3,9	0,29	0,5	0,26	1,9	0,44
1,3:1	2,0	3,8	0,29	0,4	0,27	1,8	0,44
2,3:1	1,8	3,9	0,21	0,4	0,34	1,8	0,45
3,7:1	1,6	4,0	0,17	0,4	0,41	1,7	0,42

**Tabelle A.3.:** Amplituden  $A_x$ , Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau_x$  und mittlere amplitudengewichtete Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau$  der CdSe<sub>2</sub>ZnS-PDI-Komplexe. Die Anregungswellenlänge lag bei 577 nm, die Emissionswellenlänge bei 612 nm.

PDI:QD	$\tau$ /ns	$\tau_1$ /ns	$A_1$	$\tau_2$ /ns	$A_2$	$\tau_3$ /ns	$A_3$
0,1:1	3,8	5,7	0,22	3,2	0,78		
0,4:1	3,6	4,3	0,55	2,7	0,45		
0,7:1	3,4	4,0	0,69	2,1	0,31		
1,3:1	3,3	3,9	0,69	1,9	0,31		
2,4:1	2,9	5,4	0,10	3,1	0,71	0,8	0,19
3,3:1	2,6	5,2	0,13	2,9	0,63	0,7	0,24
4,7:1	2,3	5,0	0,17	2,4	0,53	0,5	0,31

**Tabelle A.4.:** Amplituden  $A_x$ , Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau_x$  und mittlere amplitudengewichtete Fluoreszenzzerfallszeiten  $\tau$  der CdSe<sub>5</sub>ZnS-PDI-Komplexe. Die Anregungswellenlänge lag bei 577 nm, die Emissionswellenlänge bei 612 nm.

PDI:QD	$\tau$ /ns	$\tau_1$ /ns	$A_1$	$\tau_2$ /ns	$A_2$	$\tau_3$ /ns	$A_3$
0,1:1	4,0						
0,6:1	3,9	4,5	0,58	3,0	0,42		
1,4:1	3,8	4,2	0,80	2,1	0,20		
2,3:1	3,7	4,2	0,76	2,0	0,24		
3,2:1	3,6	4,2	0,75	1,7	0,25		
4,9:1	3,4	5,9	0,12	3,5	0,69	0,8	0,19

### A.2.2. Transiente Absorptionsspektroskopie

#### Statische Spektren der mit transientser Absorptionsspektroskopie untersuchten CdSe-PDI-Komplexe

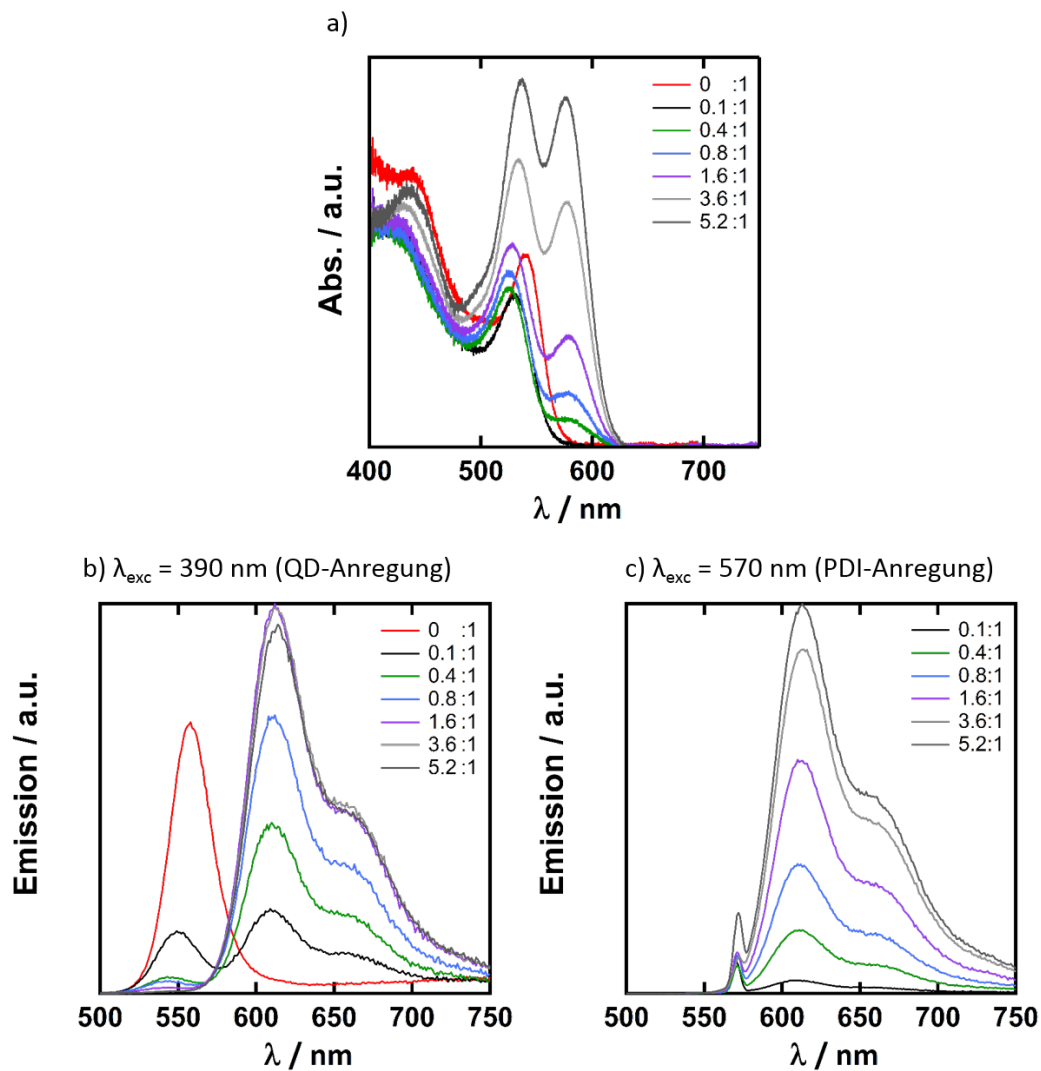


Abbildung A.16.: Statische Spektren der in den TA-Experimenten untersuchten CdSe-PDI-Komplexe

#### Durchführung

Die femtosekundaufgelöste transiente Absorptionsspektroskopie wurde an der Goethe-Universität Frankfurt in der Arbeitsgruppe von Prof. Josef Wachtveitl von Dr. Lars Dworak durchgeführt.

Die transienten Absorptionsmessungen wurden mit einem konventionellem Anregungs-Abfrage-Aufbau durchgeführt, der im Detail in [254] beschrieben wird. Die Femtosekunden-

Laserpulse mit einer Wellenlänge von 775 nm wurden mit einem Clark CPA 2001 Laser/Verstärkersystem mit einer Wiederholungsrate von 1 kHz generiert. Die Pulse wurden in einen Detektions- und einen Anregungsstrahl geteilt.

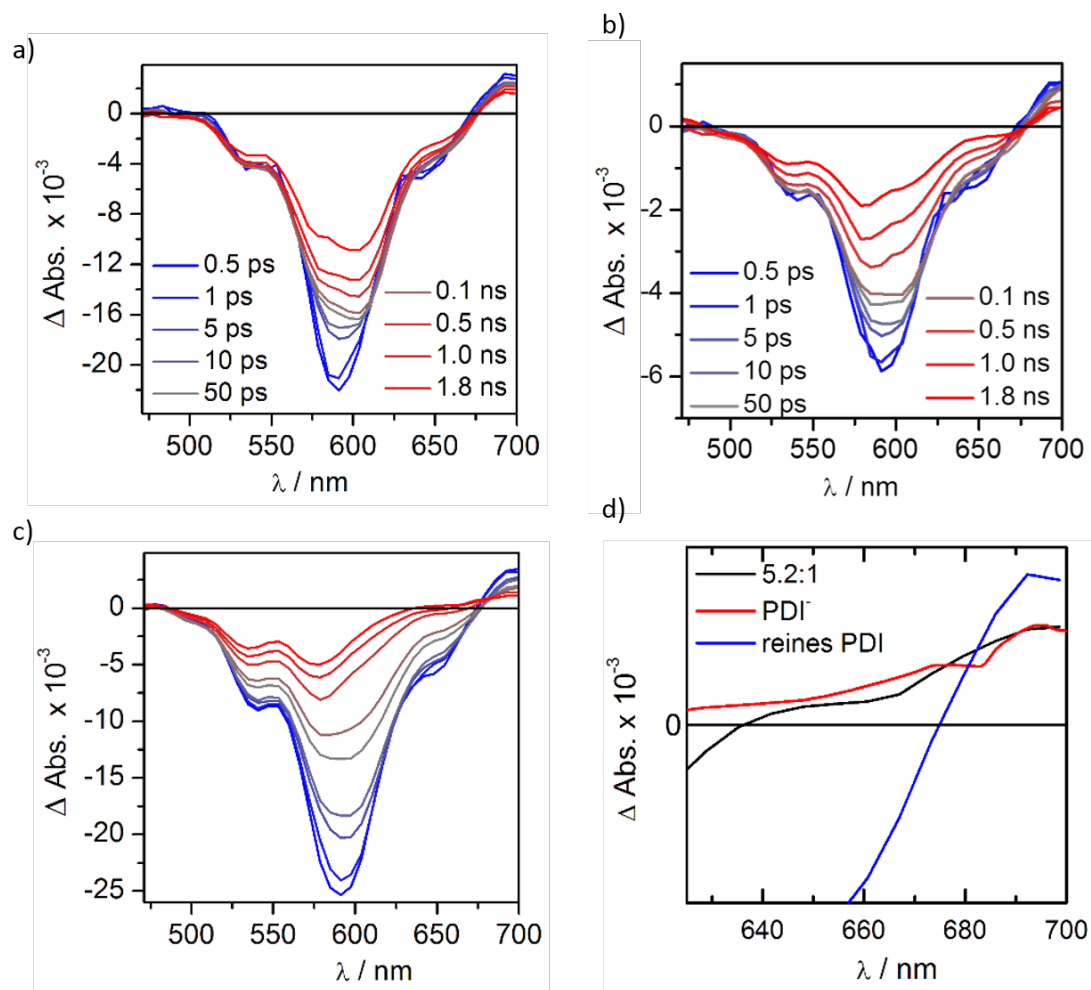
Die Anregungswellenlänge von 388 nm wurde durch einen  $\beta$ -BBO-Kristall realisiert. Die Anregungswellenlänge von 590 nm wurde mit einem nicht-kollinearen optischen parametrischen Verstärker verwirklicht [255]. Die 388 nm Anregungspulse hatten eine Energie von 10 nJ pro Puls, und einen Durchmesser von etwa 110  $\mu\text{m}$ .

Für den Detektionsstrahl wurde ein Weißlichtkontinuum mittels Fokussierung des gepulsten Laserstrahls auf ein 2 mm dickes Saphirglas erzeugt. Der Detektionsstrahl wurde in einen Abfrage- und einen Referenzstrahl geteilt. Der Abfragestrahl wurde in der Probe räumlich mit dem Anregungsstrahl überlagert.

Die Messungen wurden in einer 1 mm Quarzküvette durchgeführt. Die optische Dichte der Proben betrug am niederenergetischsten exzitonischen Übergang der QDs 0,1 bis 0,2. Auf Basis von [256] wurde die Anzahl absorbiertes Photonen auf 0,16 bis 0,28 pro QD bestimmt.

Die spektrale Auflösung des Versuchsaufbaus betrug 6,3 nm.

### **Anregung mit 390 nm: Spektren bei fester Verzögerungszeit**

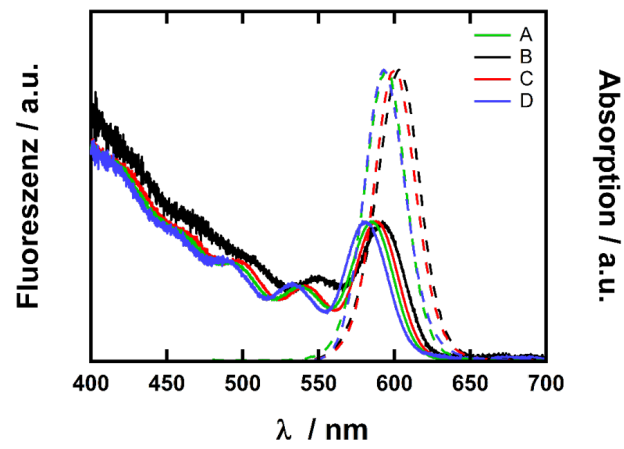


**Abbildung A.17.:** transiente Absorptionsspektren bei festen Verzögerungszeiten der reinen a) CdSe-Probe, b) der Probe mit 0,1 PDI pro CdSe, c) 1,6 PDI pro CdSe sowie d) 5,2 PDI pro CdSe nach Anregung mit 388 nm (QD-Anregung).

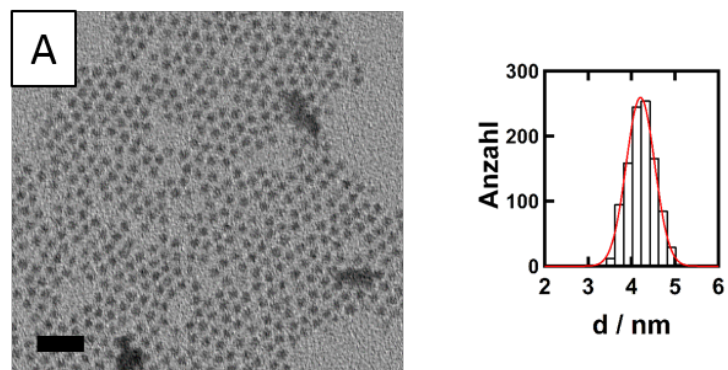
### Zerfallsassoziierte Spektren

Für die zerfallsassoziierten Spektren wird eine zeitabhängige Modellfunktion an die Einzeltransienten bei einer bestimmten Wellenlänge angepasst, welche aus einer Summe von exponentiellen Zerfällen mit Amplituden als Vorfaktoren besteht. Die Zerfallszeiten sind für alle Wellenlängen einer Probe gleich, die Amplituden werden für die verschiedenen Wellenlängen unabhängig voneinander angepasst. Das Auftragen dieser Amplituden gegen die Wellenlänge liefert die zerfallsassoziierten Spektren. Der Zerfall oder Aufbau einer Spezies mit einer bestimmten Zeitkonstante führt im Bereich der Absorption bzw. Emission dieser Spezies zu großen Amplituden. Diese sind positiv für den Zerfall von positiven und den Aufbau von negativen Absorptionsänderungen und negativ für den Aufbau von positiven und den Zerfall von negativen Absorptionsänderungen.

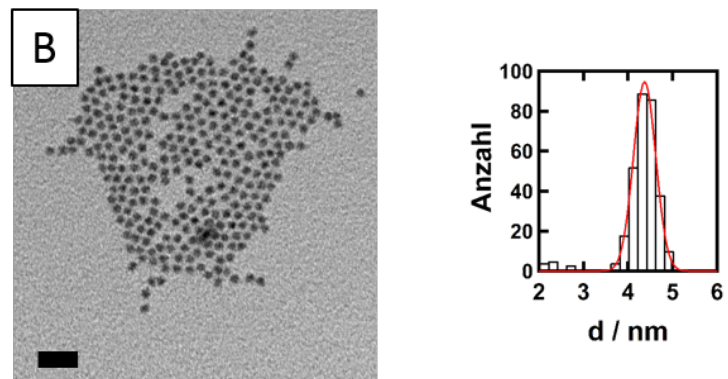
### A.3. Synthese von CdTe/CdSe/ZnS-QDs



(a) Absorptionsspektren

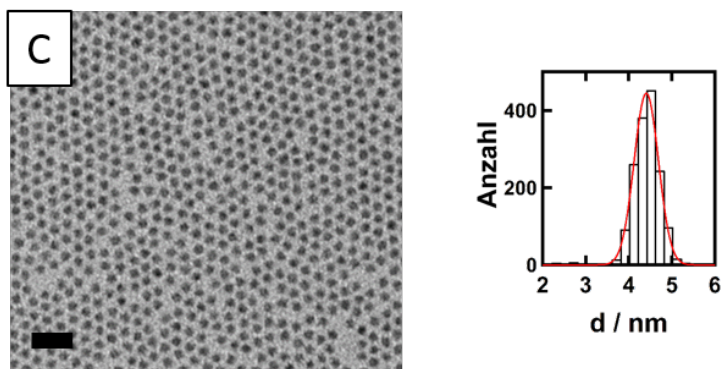


(b)  $d = (4,2 \pm 0,4) \text{ nm}$

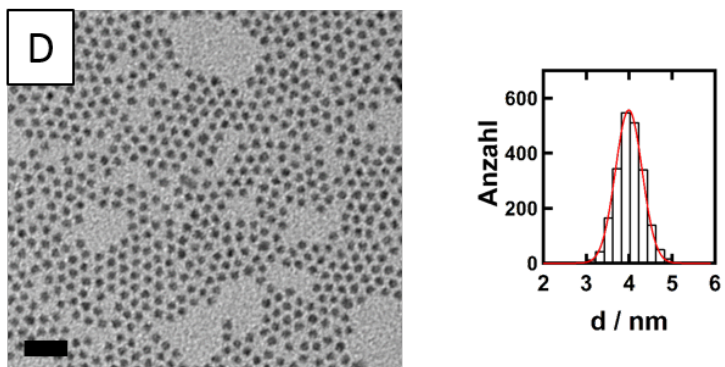


(c)  $d = (4,3 \pm 0,3) \text{ nm}$

**Abbildung A.18.:** Exemplarische Absorptionsspektren und TEM-Aufnahmen von CdTe-Kernen. Der Maßstabsbalken ist 20 nm in allen Aufnahmen.

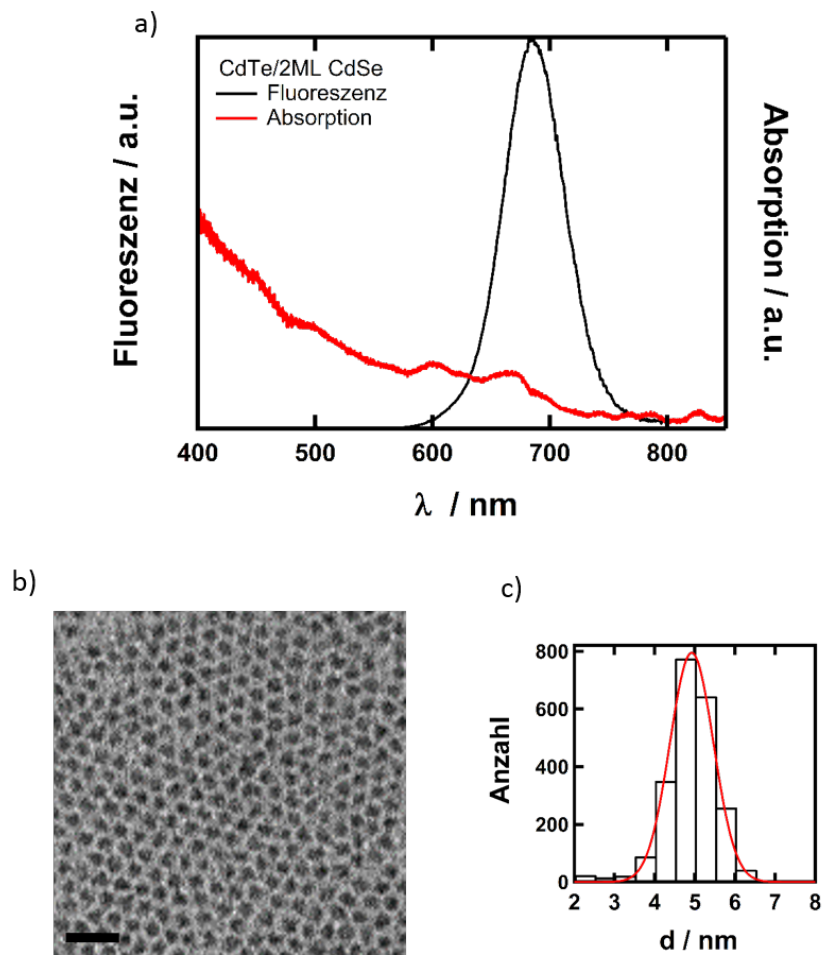


(d)  $d = (4,4 \pm 0,3)$  nm



(e)  $d = (4,0 \pm 0,4)$  nm

**Abbildung A.18.:** Fortsetzung



**Abbildung A.19.:** Charakterisierung der CdTe/2 ML CdSe-QDs mit einer Fluoreszenzquantenausbeute von 91%. a) Fluoreszenzemissions- und Absorptionsspektren von CdTe/2 ML CdSe-QDs b) Exemplarische TEM-Aufnahme. Der Maßstabsbalken ist 20 nm, der mittlere Durchmesser beträgt  $(4,9 \pm 0,6)$  nm. c) Histogramm der Größenverteilung.



# **Danksagung**



# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name  
Adresse  
Geburtsdatum  
Geburtsort  
Staatsangehörigkeit    Deutsch

## Berufserfahrung

seit 08/2017            Entwicklungsingenieurin  
Mettler-Toledo GmbH, Prozessanalytik  
09/2011 - 03/2017    wissenschaftliche Mitarbeiterin  
Institut für Physikalische Chemie, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Thomas Basché,  
Johannes Gutenberg Universität-Mainz  
09/2010 - 08/2011    Praktikantin/Diplomandin  
Robert Bosch GmbH, Zentralbereich Forschung und Voraentwicklung

## Ausbildung

10/2006 – 09/2011    Studium des Chemieingenieurwesens Technische Universität Berlin,  
Abschluss: Diplom-Ingenieurin  
10/2005-10/2006    Studium der Chemie (Diplom), Humboldt-Universität zu Berlin  
(ohne Abschluss)  
2005                    Abitur, Wieland-Herzfelde-Oberschule Berlin

## Veröffentlichungen

- „Energy and Charge Transfer in Nanoscale Hybrid Materials“ Thomas Basché, Anne Bottin, Chen Li, Klaus Müllen, Jeong-Hee Kim, Byeong-Hyeok Sohn, Prem Prabhakaran und Kwang-Sup Lee, *Macromolecular Rapid Communications*, Vol. 36, 11, S. 1026–1046 (2015)
- „Photoluminescence Emission and Excitation Spectroscopy of Single Semiconductor Nanocrystals at Cryogenic Temperatures“ Anne Boos, Anne Bottin und Thomas Basché, *In Vorbereitung*
- „Photochemistry at the CdSe Quantum Dot - PDI Dye Interface: Unravelling Excitation Energy and Electron Transfer Pathways“ Lars Dworak, Anne Bottin, Klaus Müllen, Josef Wachtveitl und Thomas Basché *In Vorbereitung*
- „Chlorophyll-Protein (LHCII) Driven Electron Transfer in Semiconductor Nanocrystals“ Mara Werwie, Lars Dworak, Anne Bottin, Lisa Mayer, Thomas Basché, Josef Wachtveitl und Harald Paulsen, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, Vol. 1859, 3, S. 174-181 (2018)

## Konferenzbeiträge

- „Electronic Coupling between Dye Molecules and CdSe-Core and CdSe/Core-Shell Nanocrystals“ Anne Bottin, Lars Dworak, Zhihong Liu, Klaus Müllen, Josef Wachtveitl und Thomas Basché Fundamental Processes in Semiconductor Nanocrystals (FQDots14), Oxford, Großbritannien, 8.-10. September 2014
- „Semiconductor Quantum Dots: Spectroscopy and FRET Assays with Fluorescent Dyes and Proteins“ Anne Boos, Anne Bottin, Mara Werwie, Zhihong Liu, Harald Paulsen, Klaus Müllen und Thomas Basché Abschlusstagung des SFB 625, Mainz, 16.-18. Oktober 2013