

Magnetische Nanopartikel für medizinische und weitere Anwendungen

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

am Fachbereich
Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Dipl.-Chem. Oskar L. Köhler

geb. in Wiesbaden

Mainz, 2014

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 28.01.2015

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2009 bis Dezember 2014 an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz am Institut für anorganische Chemie und analytische Chemie angefertigt.

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne Verwendung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Mainz, den 16.12.2014

Oskar Köhler

„Inmitten der Schwierigkeiten liegt die Möglichkeit.“

■ *Albert Einstein*

...für alle, die mir am Herzen liegen...

Danksagung

Kurzfassung

Monodisperse sphärische Eisenoxid-Nanopartikel (13 – 25 nm) und Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimere mit geringer Größenverteilung (~ 3 nm@18 nm) wurden aus Zersetzungsreaktionen metallorganischer Vorstufen in hochsiedenden organischen Lösungsmitteln dargestellt. Mößbaueruntersuchungen und magnetische Untersuchungen ergaben, dass die superparamagnetischen Partikel aus einer Mischphase von γ -Fe₂O₃ und Fe₃O₄ bestanden. Darüber hinaus wurde die Wirkung von Kupferadditiven auf die Formgebung von Eisenoxid-Nanopartikeln untersucht. In Kooperation mit der Bundesanstalt für Materialforschung wurde die asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung anhand der Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimere als mögliche Trennmethode für Nanopartikel getestet.

Die hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikel wurden durch den Austausch der Ölsäureliganden mit dem Kettenpolymer Poly(pentafluorophenyl)acrylat wasserlöslich gemacht, welches 3-Hydroxytyramin, Fluoreszenzfarbstoffe, bis-amino-funktionalisierten Polyethylenglycole und synthetische, einzelsträngige, immunstimulierende CpG-Oligonukleotide trug. Unter Einsatz von zeitaufgelöster Impedanzspektroskopie wurde beobachtet, dass die so funktionalisierten Eisenoxid-Nanopartikel effizient den lysosomal-vorkommende Toll-Like Rezeptor (TLR-9) in A549-Lungenkarzinomzellen anregten. In Folge dessen besaßen die Krebszellen eine gesteigerte Mikromotilität.

Die Eisenoxid-Nanopartikeln und die Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimere wurden mit einer wasserlöslichen Silica-Schale (2 – 5 nm) ausgestattet, welche durch eine reverse Mikroemulsion auf die Eisenoxid-Nanopartikel bzw. -Domäne aufgebracht wurde. Zusätzlich waren in dieser Fluoreszenzfarbstoffe eingelagert und auf der Oberfläche freie Aminogruppen als mögliche Ankergruppen für Biomoleküle angebracht worden. Die so funktionalisierten Partikel zeigten nach Inkubation *in vitro* mit menschlichen Endothelzellen keine signifikante Toxizität. Bei den Gold@Eisenoxid-Nanopartikeln trat zusätzlich ein den oxidativen Stress vermindender Effekt auf.

Neuartige FePt@MnO-Nanoheteropartikel mit geringer Größenverteilung sowie kontrollierbarer Größe und Morphologie der einzelnen Domänen wurden über eine keimvermittelte Synthese dargestellt. Indem Syntheseparameter wie beispielsweise die Elektronendichte des Lösungsmittels variiert wurden, konnten verschiedene Partikelarten wie Dimere oder auch Heteromultimeren erhalten werden. Hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie zeigte, dass die MnO-Domäne bevorzugt auf der (111)-Oberfläche der *fcc*-FePt-Nanopartikel wuchs. Dabei trat eine zweidimensionale

Defektstruktur mit zusätzlicher Gitterebene im FePt alle 8 bis 9 Reihen auf, um die Periodizität des MnO-Gitters aufrecht zu erhalten. Ferner koppelten bei tiefen Temperaturen die Oberflächenspins der antiferromagnetischen MnO-Domäne mit den magnetischen Momenten der ferromagnetischen FePt-Nanopartikel und erzeugten dabei einen Exchange Bias-Effekt in der Hysterese. Um die magnetischen Eigenschaften zu verbessern, wurden erste Versuche zur thermischen Umwandlung der superparamagnetischen (*fcc*) A1-Phase in die stark ferromagnetische (*fcc*) L1₀-Phase der FePt-Domäne durchgeführt. In Kooperation mit dem Forschungszentrum Jülich wurden die für FePt@MnO-Nanoheterodimere mittels Röntgenkleinwinkelstreuung und anormaler Röntgenkleinwinkelstreuung untersucht und ein Formfaktormodell aufgestellt. Zudem zeigten Messungen mit Röntgenkleinwinkelstreuung unter streifendem Einfall, dass durch Anlegen eines Magnetfeldes erste geordnete Strukturen der Nanodimere erhalten werden konnten.

Abstract

Monodisperse spherical iron oxide nanoparticles (13 – 25 nm) and gold@iron oxide nano-heteroparticles with a low size distribution have been synthesized via thermal decomposition reactions of organometallic compounds in high boiling solvents. Mössbauer spectroscopy and magnetic investigations revealed in these particles superparamagnetism and a mixed phase of γ -Fe₂O₃ and Fe₃O₄. Furthermore, the effect of copper compounds in shaping iron oxide nanoparticles has been studied. In cooperation with the Federal Institute for Materials Research and Testing the asymmetrical flow field-flow fractionation was examined as a separation method for nanoparticles based on gold@iron oxide nano-heteroparticles.

The hydrophobic iron oxide nanoparticles became hydrophilic by ligand exchange with a polymeric backbone (poly(pentafluorophenyl)acrylate, whose pentafluorophenyl groups were successively exchanged with dopamine, a fluorescent dye and bis-amino-functionalized polyethylene glycol and synthetic single-stranded immunostimulatory CpG-oligodeoxynucleotides. Efficient stimulation of the endogenous TLR-9 in A549 lung epithelial through administration of the functionalized nanoparticles resulting in enhanced micromotility of the cancer cells were revealed by time resolved impedance spectroscopy.

Iron oxide nanoparticles and gold@iron oxide nano-heteroparticles were encapsulated within a water-soluble silica shell (2 – 5 nm), which grew via reverse microemulsion-mediated synthesis on the iron oxide particles and domain, respectively. Additionally, the shell contained fluorescent dyes and had surface amino groups available for further conjugation of biomolecules. After incubation in human endothelial cells these particles

showed no significant toxicity. Furthermore, the gold@iron oxide nano-heteroparticles Janus particles reduced the level of reactive oxygen species.

Novel FePt@MnO nano-heteroparticles with a low size distribution, different sizes and morphologies of the individual domains were prepared by a seed-mediated synthesis. Different kinds of particles like dimers or heteromultimers could be obtained by adjustment of the synthetic parameters e. g. changing the polarity of the solvent. High resolution transmission electron microscopy revealed, that the MnO domains preferentially grow on the (111) surfaces of the fcc-FePt seeds. The formation of a two-dimensional defect structure with an extra atomic layer appeared in FePt every 8–9 layers to keep up the periodicity of the MnO lattice. Moreover, the surface spins of the antiferromagnetic MnO domains pinned the magnetic moments of the ferromagnetic FePt nanoparticles leading to an exchanged biased magnetic hysteresis. Initial experiments had been conducted to enhance the magnetic properties by thermal phase transition from the superparamagnetic (*fcc*) A1 phase to the strong ferromagnetic (*fcc*) L1₀ phase of the FePt domain. In cooperation with the Jülich Research Centre nano-heteroparticles a form factor models for the FePt@MnO nano-heteroparticles could be determined utilizing small angle x-ray scattering and anomalous small angle x-ray scattering. In addition, displayed by grazing incidence small angle x-ray scattering the particles could be arranged by applying a magnetic field.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|------------|
| Kurzfassung | VI |
| Abstract | VII |
| Inhaltsverzeichnis | IX |
| Abbildungsverzeichnis | XV |
| Tabellenverzeichnis | XX |
| Abkürzungsverzeichnis | XXI |
| 1 Motivation: Willkommen im Reich der Zwerge | 1 |
| 2 Grundlagen | 5 |
| 2.1 Synthese und Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln | 5 |
| 2.1.1 Synthese von Nanopartikeln | 5 |
| 2.1.2 Kolloidale Nanoheterostrukturen | 7 |
| 2.1.3 Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln | 10 |
| 2.1.4 Modell von LaMer und Dinegar | 11 |
| 2.2 Fe_3O_4 und $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ | 15 |
| 2.3 Magnetismus | 17 |
| 2.3.1 Magnetismus auf atomarer Ebene | 17 |
| 2.3.2 Kooperativer Magnetismus im makroskopischen Festkörper | 18 |
| 2.3.3 Magnetismus im nanoskopischen Festkörper: Eindomänen- und superparamagnetisches Limit | 22 |
| 2.3.4 Superparamagnetismus in der Mößbauerspektroskopie | 24 |
| 2.3.5 Superparamagnetismus in der SQUID-Magnetometrie | 25 |
| 2.3.6 Oberflächenspins | 26 |
| 2.3.7 Exchange Bias | 27 |
| 2.4 Oberflächenplasmonenresonanz | 28 |
| 2.5 Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF-FFF) | 29 |
| 3 Synthese und Charakterisierung sphärischer Eisenoxid-Nanopartikel | 31 |
| 3.1 Einleitung | 31 |
| 3.2 Ergebnisse und Diskussion | 32 |
| 3.2.1 Infrarotspektroskopie | 32 |
| 3.2.2 TEM-Charakterisierung und Größenverteilung | 33 |
| 3.2.3 Röntgendiffraktion | 36 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.2.4 | Mößbauerspektroskopie | 37 |
| 3.2.5 | SQUID-Magnetometrie..... | 40 |
| 3.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 43 |
| 3.4 | Experimentelles..... | 43 |
| 3.4.1 | Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisenpentacarbonyl | 43 |
| 3.4.2 | Synthese von Eisen(III)-oleat | 44 |
| 3.4.3 | Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisen(III)-oleat | 44 |
| 4 | Studien zur Formgebung von Eisenoxid-Nanopartikeln mittels Kupferadditiven | 45 |
| 4.1 | Einleitung..... | 45 |
| 4.2 | Ergebnisse | 47 |
| 4.3 | Diskussion..... | 54 |
| 4.4 | Zusammenfassung und Ausblick | 55 |
| 4.5 | Experimentelles..... | 57 |
| 4.5.1 | Synthese kubischer Fe ₃ O ₄ -Nanopartikel..... | 57 |
| 4.5.2 | Kupfer(II)-acetylacetonat als Zusatz bei der Eisenoxid-Nanopartikelsynthese aus Eisen(III)-oleat..... | 57 |
| 4.5.3 | Synthese von 1,2-Hexadecandiol..... | 58 |
| 5 | Synthese und Charakterisierung von Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimeren | 59 |
| 5.1 | Einleitung..... | 59 |
| 5.2 | Ergebnisse und Diskussion | 60 |
| 5.2.1 | Au-Nanopartikel: TEM-Charakterisierung und Größenverteilung..... | 60 |
| 5.2.2 | Au-Nanopartikel: Elektronenbeugung und Röntgendiffraktion | 63 |
| 5.2.3 | Au-Nanopartikel: UV/Vis..... | 65 |
| 5.2.4 | Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimere: TEM-Charakterisierung und Größenverteilung | 65 |
| 5.2.5 | Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimere: Röntgendiffraktion | 69 |
| 5.2.6 | Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimere: Mößbauerspektroskopie | 69 |
| 5.2.7 | Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimere: SQUID-Magnetometrie | 71 |
| 5.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 74 |
| 5.4 | Experimentelles..... | 75 |
| 5.4.1 | Synthese von Au-Nanopartikeln | 75 |
| 5.4.2 | Synthese von Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimeren..... | 75 |
| 6 | Auftrennung von Au@Fe₃O₄-Nanoheterodimeren mittels AF-FFF | 77 |
| 6.1 | Einleitung..... | 77 |
| 6.2 | Ergebnisse und Diskussion | 77 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 6.2.1 | TEM-Charakterisierung der Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimer-Probe | 77 |
| 6.2.2 | Trennergebnisse der AF-FFF | 78 |
| 6.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 80 |
| 7 | CpG-ODN-funktionalisierte Nanopartikel mit Motilitätssteigernder Wirkung von Alveolarkrebszellen | 81 |
| 7.1 | Einleitung | 81 |
| 7.2 | Ergebnisse und Diskussion | 83 |
| 7.2.1 | Synthese und Funktionalisierung der Nanopartikel | 83 |
| 7.2.2 | Aufnahme und Aktivierung des TLR-9-Signalwegs..... | 85 |
| 7.2.3 | Zytotoxizität der Nanopartikel | 87 |
| 7.2.4 | Zeitaufgelöste Impedanzspektroskopie | 88 |
| 7.2.5 | <i>Micromotion</i> der A549-Zellen unter Einfluss der CpG-ODNs | 90 |
| 7.2.6 | Biologisches Antwortverhalten der A549-Zellen auf die CpG-funktionalisieren Nanopartikel..... | 92 |
| 7.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 94 |
| 7.4 | Experimentelles..... | 94 |
| 7.4.1 | Synthese und Funktionalisierung der Nanopartikel | 94 |
| 7.4.2 | Zellkultur..... | 95 |
| 7.4.3 | MTS-Tests..... | 95 |
| 7.4.4 | Immunzytochemie..... | 95 |
| 7.4.5 | ECIS-Messungen und Rauschanalyse..... | 96 |
| 7.4.6 | Rausch- und Varianzanalyse | 96 |
| 8 | Multifunktionale Silica-Funktionalisierung von Eisenoxid- und Gold@Eisenoxid-Nanopartikeln..... | 99 |
| 8.1 | Einleitung | 99 |
| 8.2 | Ergebnisse und Diskussion | 101 |
| 8.2.1 | TEM-Charakterisierung von Eisenoxid@Silica-Nanopartikeln | 101 |
| 8.2.2 | TEM-Charakterisierung von Gold@Eisenoxid@Silica-Nanopartikeln..... | 103 |
| 8.2.3 | UV/Vis-Charakterisierung | 106 |
| 8.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 107 |
| 8.4 | Experimentelles..... | 108 |
| 8.4.1 | Thiolbelegung der Gold-Domäne in den Au@Fe ₃ O ₄ -Nanoheterodimeren | 108 |
| 8.4.2 | Ummantelung der Nanopartikel mit Silica | 108 |
| 8.4.3 | Aminofunktionalisierung | 109 |
| 8.4.4 | Aufreinigung mittels magnetischer Säule | 109 |
| 9 | Wirkung von Au@Fe₃O₄-Janus-Nanopartikeln auf menschliche Blutzellen | 111 |
| 9.1 | Einleitung | 111 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 9.2 | Ergebnisse und Diskussion | 113 |
| 9.2.1 | Wirkung der Aminofunktionalisierung von Janus-Partikeln auf den Zellmetabolismus | 115 |
| 9.2.2 | Unterschiedliche Wirkung von Janus-Partikeln auf unterschiedliche Marker des Zellmetabolismus | 118 |
| 9.2.3 | Biokompatibilität von Janus-Partikel im Vergleich..... | 120 |
| 9.2.4 | Die Rolle der Metalloxidkomponente in den Janus-Partikeln | 122 |
| 9.2.5 | Einfluss der Inkubationszeit auf den zellulären ATP-Level und auf die Internalisierung der Janus-Partikel | 124 |
| 9.2.6 | Einfluss der Oberfläche der Endothelzellen auf die Internalisierung der Janus-Partikel | 126 |
| 9.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 128 |
| 9.4 | Experimentelles..... | 129 |
| 9.4.1 | Synthese und physico-chemische Charakterisierung der Janus-Partikel | 129 |
| 9.4.2 | Zellkultur..... | 129 |
| 9.4.3 | Evaluierung der Nanopartikeleffekte auf den Zellmetabolismus (ATP) und ROS-Erzeugung | 130 |
| 9.4.4 | Zählung der viablen Zellen nach der Exposition mit Janus-Partikeln | 131 |
| 9.4.5 | Bestimmung der genotoxischen Effekte der Janus-Partikel | 131 |
| 9.4.6 | Bestimmung des Aufnahmeverhaltens verschiedener Nanopartikelansätze mittels Mikroskopie | 132 |
| 9.4.7 | Semiquantitative Analyse der Nanopartikelaufnahme..... | 132 |
| 9.4.8 | Messung der Wirkung der Aufnahme der Janus-Partikel auf die Oberfläche der Endothelzellen..... | 133 |
| 10 | Synthese und magnetische Eigenschaften von FePt@MnO-Nanoheterodimere..... | 135 |
| 10.1 | Einleitung..... | 135 |
| 10.2 | Ergebnisse und Diskussion | 136 |
| 10.2.1 | Synthese der FePt-Nanokristalle..... | 136 |
| 10.2.2 | Synthese der FePt@MnO-Nanoheteropartikel | 138 |
| 10.2.3 | Dynamische Lichtstreuung an FePt- und FePt@MnO-Nanopartikeln | 141 |
| 10.2.4 | Röntgendiffraktion | 142 |
| 10.2.5 | HRTEM..... | 143 |
| 10.2.6 | Magnetische Eigenschaften | 151 |
| 10.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 161 |
| 10.4 | Experimentelles..... | 161 |
| 10.4.1 | Synthese von 3 nm FePt-Nanopartikeln | 161 |
| 10.4.2 | Synthese von 6 nm FePt-Nanopartikeln | 162 |
| 10.4.3 | Synthese von 13 nm FePt-Nanopartikeln | 162 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 10.4.4 | Synthese von Mangan(II)-oleat..... | 162 |
| 10.4.5 | Synthese von FePt@MnO-Nanoheterodimeren..... | 163 |
| 10.4.6 | Synthese von FePt@MnO-Nanomultimeren | 163 |
| 10.4.7 | Synthese von FePt@MnO-Nanoheterostrukturen auf Basis von 13 nm FePt-Nanopartikeln..... | 163 |
| 11 | Studien zur Phasenumwandlung von FePt in FePt@MnO-Nanoheterodimeren..... | 165 |
| 11.1 | Einleitung | 165 |
| 11.2 | Ergebnisse und Diskussion | 167 |
| 11.2.1 | Quantitative Bestimmung der Zusammensetzung der FePt-Nanopartikel..... | 167 |
| 11.2.2 | NaCl-Matrix | 168 |
| 11.2.3 | TEM-Charakterisierung von FePt-Nanopartikeln nach thermischer Behandlung..... | 169 |
| 11.2.4 | SQUID-Magnetometrie von FePt-Nanopartikeln nach thermischer Behandlung..... | 169 |
| 11.2.5 | Redispersionsversuche von FePt nach der thermischen Behandlung | 172 |
| 11.2.6 | Phasenumwandlungen der FePt in FePt@MnO-Heterodimeren | 172 |
| 11.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 174 |
| 11.4 | Experimentelles..... | 175 |
| 11.4.1 | Synthese der 6 nm FePt- und FePt@MnO-Nanopartikel..... | 175 |
| 11.4.2 | Einbinden der FePt-Nanopartikel in der NaCl-Matrix..... | 175 |
| 11.4.3 | Tempern der FePt- und FePt@MnO-Nanopartikel..... | 175 |
| 12 | Einfluss äußerer Felder auf das Wachstum von Mesokristallen aus FePt@MnO-Nanodimeren | 177 |
| 12.1 | Einleitung | 177 |
| 12.2 | Ergebnisse und Diskussion | 178 |
| 12.3 | Zusammenfassung und Ausblick | 181 |
| 13 | Zusammenfassung..... | 183 |
| 14 | Experimentelle und analytische Methoden..... | 187 |
| 14.1 | Materialien | 187 |
| 14.1.1 | Übersicht der eingesetzten Verbindungen..... | 187 |
| 14.2 | Heiztechnik | 188 |
| 14.3 | Messtechnik..... | 189 |
| 14.3.1 | Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)..... | 189 |
| 14.3.2 | Partikelgrößenbestimmung mittels TEM | 189 |
| 14.3.3 | Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM) | 190 |
| 14.3.4 | Elektronenbeugung | 190 |
| 14.3.5 | Röntgendiffraktion (XRD) | 190 |

| | |
|---|------------|
| 14.3.6 Mößbauerspektroskopie | 191 |
| 14.3.7 Superconducting Quantum Interference Device- Magnetometrie (SQUID) | 191 |
| 14.3.8 Infrarotspektroskopie (IR) | 191 |
| 14.3.9 UV/Vis-Spektroskopie | 191 |
| 14.3.10 Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) | 191 |
| 14.3.11 Massenspektrometrie | 192 |
| 14.3.12 Schmelzpunktbestimmung | 192 |
| 14.3.13 Elementaranalyse..... | 192 |
| 14.3.14 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)..... | 192 |
| 14.3.15 ICP-OES | 192 |
| 14.3.16 Dynamische Lichtstreuung (DLS)..... | 192 |
| 14.3.17 Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF-FFF) | 193 |
| 14.3.18 Konfokale 3D-Lasermikroskopie | 193 |
| 14.3.19 Reinstwasser (Milli-Q [®] -Wasser) | 193 |
| Literaturverzeichnis..... | 194 |
| Curriculum Vitae | 212 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abb. 2-1. Versuchsaufbau thermische Zersetzung von metallorganischen Vorstufen..... | 6 |
| Abb. 2-2. Abhängigkeit der Partikelgröße von der Nukleationrate (nach ⁴⁶)..... | 7 |
| Abb. 2-3. a) Schematische Illustration der separaten Funktionalisierung der Au@MnO “Nanoblumen” | 8 |
| Abb. 2-4. Mögliche Reaktionspfade in der Keim vermittelten Synthese von kolloidalen Nanoheterostrukturen (nach ⁵⁹)..... | 9 |
| Abb. 2-5. Modell nach LaMer für die Darstellung monodisperser Nanopartikel. | 11 |
| Abb. 2-6. Plot der freien Kristallbildungsenthalpie gegen den Partikelradius (schwarze Linie) sowie die Teilbeiträge aus Oberflächenenergie (blau Linie) und Gitterenergie (rote Linie). | 13 |
| Abb. 2-7. Kristallstruktur von Fe ₃ O ₄ (grün Fe ²⁺ , blau Fe ³⁺ und weiß O ²⁻). | 15 |
| Abb. 2-8. Magnetisches Moment des Bahndrehimpulses (μ_l , links) und des Spins (μ_s , rechts) eines Elektrons. | 17 |
| Abb. 2-9. Schematische Darstellung einer Bloch-Wand, dem Übergang zwischen 2. Weiss-Bezirken (aus ¹⁰⁷)..... | 18 |
| Abb. 2-10. a) Hysterese-Schleife und b) Neukurve von ferromagnetischen und ferrimagnetischen Stoffen (nach ^{106, 108}). | 19 |
| Abb. 2-11. Fe ₃ O ₄ : Magnetische Struktur und Doppelaustausch. | 21 |
| Abb. 2-12. Superaustausch in MnO. | 21 |
| Abb. 2-13. a) Abhängigkeit der Koerzivität von der Partikelgröße (nach ¹¹⁵⁻¹¹⁷) und b) Hysterekurve eines superparamagnetischen Systems..... | 23 |
| Abb. 2-14. Idealierte <i>zero-field-cooled</i> - und <i>field-cooled</i> -Kurve. | 26 |
| Abb. 2-15. Schematische Darstellung der Spinkonfiguration einer FM-AFM Grenzschicht | 27 |
| Abb. 2-16. Darstellung der Oberflächenplasmonenresonanz sphärischer Gold- Nanopartikel (nach ^{137, 139}) und Lykurgus Becher (4. Jh. v. Ch., British Museum) bei Reflexion und Transmission von weißem Licht..... | 28 |
| Abb. 2-17. Aufbau des Trennkanals und Trennprinzip der AF-FFF (aus ¹⁴¹)..... | 29 |
| Abb. 3-1. FT-IR-Spektren von Ölsäure, Eisen(III)-oleat und Eisenoxid-Nanopartikeln | 32 |
| Abb. 3-2. (a, b) TEM-Aufnahmen und (c) Größenverteilung von monodispersen, sphärischen 9.4 nm \pm 4.6 % γ -Fe ₂ O ₃ -Nanopartikeln | 33 |
| Abb. 3-3. TEM-Aufnahmen und Größenverteilungen monodisperser, sphärischer Eisenoxid-Nanopartikel | 34 |
| Abb. 3-4. (a, b) TEM-Aufnahmen und (c) Größenverteilung von sphärischen Eisenoxid-Nanopartikeln | 35 |
| Abb. 3-5. Röntgendiffraktogramm von sphärischen 9 nm γ -Fe ₂ O ₃ -Nanopartikeln | 36 |
| Abb. 3-6. Röntgendiffraktogramm von 19 nm Eisenoxid-Nanopartikeln..... | 37 |
| Abb. 3-7. Mößbauerspektrum bei 295 K und 5 K von 9 nm γ -Fe ₂ O ₃ -Nanopartikeln hergestellt..... | 38 |

| | |
|--|----|
| Abb. 3-8. Mößbauerspektrum bei 295 K und 5 K von 20 nm Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt | 39 |
| Abb. 3-9. Magnetisierungskurve in Abhängigkeit von (a) dem Magnetfeld und (b) von der Temperatur von sphärischen 9 nm γ -Fe ₂ O ₃ -Nanopartikeln..... | 41 |
| Abb. 3-10. Magnetisierungskurve in Abhängigkeit von (a) dem Magnetfeld und (b) von der Temperatur von sphärischen 16 nm Eisenoxid-Nanopartikeln. | 42 |
| Abb. 4-1. Schema zum formgebenden Einfluss von Kupfer als Additiv bei der Synthese von Magnetit-Nanopartikeln. | 46 |
| Abb. 4-2. a) TEM-Aufnahme und b, c) Röntgendiffraktogramme von Fe ₃ O ₄ -Kuben hergestellt mit Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat (nach ¹⁷⁶). | 48 |
| Abb. 4-3. TEM-Aufnahme von sphärischen Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln (~ 4 nm) hergestellt ohne Zusatz von Cu. | 48 |
| Abb. 4-4. Röntgendiffraktogramm mit Einschub TEM-Aufnahme von kubischen Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt mit Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat und ohne Zusatz von Oleylamin. | 49 |
| Abb. 4-5. TEM-Aufnahme von Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt ohne Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat und Oleylamin. | 50 |
| Abb. 4-6. TEM-Aufnahmen Eisenoxid-Nanopartikel hergestellt in a) <i>n</i> -Trioctylamin, b) 1-Octadecen und c) Dibenzylether unter Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat. | 50 |
| Abb. 4-7. a) Röntgendiffraktogramm (Reflexbeschriftung: Fe ₃ O ₄ schwarz, Ag grün), b) und c) TEM-Aufnahmen von Fe ₃ O ₄ - und Ag@Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln..... | 51 |
| Abb. 4-8. TEM-Aufnahmen von Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisen(III)-oleat nach Park <i>et al.</i> ¹⁴⁷ hergestellt mit Zusatz von Kupfer(II)-formiat. | 52 |
| Abb. 4-9. Röntgendiffraktogramm und Bild des Bodensatzes nach Zentrifugieren in reinem Hexan..... | 53 |
| Abb. 4-10. Hypothetischer Mechanismus zum formgebenden Einfluss von Kupfer als Additiv bei der Synthese von Magnetit-Nanopartikeln..... | 55 |
| Abb. 5-1. Synthese monodisperser Gold-Nanopartikel durch zersetzende Reifung (aus ²⁸). | 59 |
| Abb. 5-2. TEM-Aufnahmen von Gold-Nanopartikeln (~ 4 nm)..... | 61 |
| Abb. 5-3. Exemplarische Größenverteilung von Gold-Nanopartikeln. | 62 |
| Abb. 5-4. TEM-Aufnahmen von Übergittern der Gold-Nanopartikel..... | 63 |
| Abb. 5-5. a) Elektronbeugungsbild und b) Pulverdiffraktogramm von 4 nm Gold-Nanopartikeln. | 64 |
| Abb. 5-6. UV/Vis-Spektrum von Gold-Nanopartikeln in Hexan..... | 65 |
| Abb. 5-7. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren | 66 |
| Abb. 5-8. TEM-Bildserie eines Gold@Eisenoxid-Heterodimernanopartikels unter variierendem Winkel der xy-Ebene relativ zum Elektronenstrahl. | 66 |
| Abb. 5-9. Größenverteilungen von Eisenoxid-Domänen in Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimeren. | 67 |
| Abb. 5-10. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren vor und nach magnetischer Separation: a) Ausgangsprobe, b) Produkt, c) und d) Überstand.. | 68 |

| | |
|---|-----|
| Abb. 5-11. Röntgendiffraktogramm von Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimeren. (Reflexbeschriftung: Fe ₃ O ₄ schwarz, Au rot)..... | 69 |
| Abb. 5-12. Mößbauerspektrum bei 296 K und 5 K von Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimer- Nanopartikeln | 70 |
| Abb. 5-13. Magnetisierungskurve in Abhängigkeit. von (a) dem Magnetfeld und (b) von der Temperatur von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren 3.5(0.4)@18.1(2.5) nm. | 72 |
| Abb. 5-14. ZFC- und FC-Kurve von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren. | 73 |
| Abb. 6-1. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren verwendet in der AF-FFF. | 78 |
| Abb. 6-2. AF-FFF-Elugramme von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren in Toluol bei verschiedenen Querflussraten | 78 |
| Abb. 6-3. AF-FFF-Elugramme und Fraktionierung von Gold@Eisenoxid- Heterodimeren in Toluol..... | 79 |
| Abb. 6-4. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren vor und nach AF- FFF..... | 80 |
| Abb. 7-1. Multifunktionale Metalloxid-Nanopartikel. | 84 |
| Abb. 7-2. TEM-Aufnahme von γ -Fe ₂ O ₃ -Nanopartikeln nach der Funktionalisierung mit Dopamin gekoppelten PPFA (aus ²³⁸). | 85 |
| Abb. 7-3. Anwesenheit von TLR-9 (rot, monoklonal Kaninchen anti-TLR-9 IgG, Invitrogen, Alexa546-gekoppelter Polyklonal Ziege anti-Kaninchen IgG, Invitrogen) in A549-Zellen (DNA blau, DAPI) (aus ²³⁸). | 85 |
| Abb. 7-4. Fluoreszenzbilder der A549-Zellen und Viabilitätstests. | 86 |
| Abb. 7-5. Lokalisation der CpG-MnO-NP (■, NBD) innerhalb der Lysosomen (■, LysoTracker DND-22 blue, Invitrogen) der A549-Zellen (aus ²³⁸)..... | 87 |
| Abb. 7-6. a) Frequenzspektren und b) Schaltkreise einer unbedeckten (schwarz) und einer mit Zellen bedeckten ECIS-Elektrode (blau). Z ist der Betrag der Impedanz. c) Schematische Darstellung des Kontaktflächen-Modells mit den auf die Messung einfließenden Parametern (aus ²³⁸). | 89 |
| Abb. 7-7. Barrierewiderstand R_b , Membrankapazität C_m und α_{ECIS} unbehandelter Zellen (grau) und Zellen nach Inkubation mit Nanopartikeln oder reinen CpG- ODNs für 24 h (aus ²³⁸). | 90 |
| Abb. 7-8. Zeitlicher Verlauf der Impedanz | 91 |
| Abb. 7-9. Fluktuation der Impedanz..... | 92 |
| Abb. 7-10. Einfluss der immunstimulierenden Metalloxid-Nanopartikel auf A549- Zellen (aus ²³⁸). | 93 |
| Abb. 7-11. Aufbau der Elektrodenzellen (8W1E) für ECIS-Messungen (www.biophysics.com). | 96 |
| Abb. 7-12. Darstellung des Algorithmus für den gleitenden Mittelwert;..... | 97 |
| Abb. 8-1. Schema der Darstellung multifunktionaler magnetischer Eisenoxid@SiO ₂ - Kern-Schale-Nanopartikel per Wasser-in-Oel-Mikroemulsion für biomedizinische Anwendungen. | 100 |
| Abb. 8-2. TEM-Aufnahmen von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ (NH ₂)-Kern-Schale-Partikeln (a, b, c). | 101 |

| | |
|--|-----|
| Abb. 8-3. Eine mit SiO ₂ -Nanopartikeln verunreinigte Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ (NH ₂)- Nanopartikelprobe vor (a) und nach der Separation mittels magnetischer Säule (b, c)..... | 102 |
| Abb. 8-4. Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ (NH ₂)-Nanopartikel, 1 Jahr nach Dispersion in wässriger Lösung..... | 102 |
| Abb. 8-5. TEM-Aufnahmen von Au@Fe ₃ O ₄ -Nanoheterodimeren mit SiO ₂ -Schale.... | 103 |
| Abb. 8-6. TEM-Aufnahmen von Au@Fe ₃ O ₄ -Nanoheterodimeren mit SiO ₂ -Schale (< 2 nm)..... | 104 |
| Abb. 8-7. Schema über die Lage von Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimeren in reversen Mizellen in Anwesenheit von Alkanthiolen und Ammoniak (aus ²⁷⁴). | 104 |
| Abb. 8-8. TEM-Aufnahmen eines 3D- <i>Superlattice</i> aus Au@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ - Nanoheterodimeren. | 105 |
| Abb. 8-9. TEM-Aufnahmen von Au@SiO ₂ - und Au@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ -Nanopartikeln... | 105 |
| Abb. 8-10. UV/Vis-Spektren von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ (NH ₂)- und Fe ₃ O ₄ @Au@SiO ₂ (NH ₂)- Nanopartikeln mit FITC und freiem FITC in Wasser. | 106 |
| Abb. 9-1. Schema der Janus-Partikel Gold@Metalloxid..... | 113 |
| Abb. 9-2. Wirkung der Oberflächenfunktionalisierung auf den ATP-Zelllevel und auf die Nanopartikelaufnahme..... | 116 |
| Abb. 9-3. Wirkung der Aminofunktionalisierung und Janus-Struktur auf den ATP- Zelllevel..... | 117 |
| Abb. 9-4. Vergleich der Wirkung von Janus-Partikeln auf die DNS-Integrität, die Zellanzahl und den Energiestoffwechsel der Zellen nach der Zugabe von Nanopartikeln. | 118 |
| Abb. 9-5. Wirkung der Janus-Partikel auf die Phosphorylierung der Histone..... | 119 |
| Abb. 9-6. Einfluss der assymmetrischen Struktur der Nanopartikel auf den ATP- Zelllevel, ROS-Zelllevel und DNS-Schaden 24 h nach der Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen von Au@Fe ₃ O ₄ -Janus-Partikel und sphärischen Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln. | 121 |
| Abb. 9-7. Wirkung der Janus-Struktur auf die Nanopartikelaufnahme. | 122 |
| Abb. 9-8. Einfluss der verschiedenen Metalloxidkomponenten der Janus-Partikel auf den ATP-Zelllevel und die Internalisierung. | 123 |
| Abb. 9-9. ATP-Zelllevel in Abhängigkeit der Inkubationszeit und Internalisierung nach Exposition mit Janus-Partikeln. | 125 |
| Abb. 9-10. Struktur der endothelialen Oberfläche beeinflusst von der Aufnahme der Janus-Partikel. | 127 |
| Abb. 10-1. TEM-Aufnahmen von FePt-Nanopartikeln mit einer durchschnittlichen Größe..... | 137 |
| Abb. 10-2. TEM-Aufnahme von FePt@Eisenoxid-Dimeren..... | 138 |
| Abb. 10-3. TEM-Aufnahmen von FePt@MnO-Nanodimeren | 139 |
| Abb. 10-4. TEM-Aufnahmen von blumenartigen FePt@MnO-Nanopartikeln | 140 |
| Abb. 10-5. TEM-Aufnahmen von FePt@MnO-Heterodimeren durchsetzt mit FePt- Nanopartikeln vor (a) und nach fraktionierter Zentrifugation (b)..... | 141 |

| | |
|--|-----|
| Abb. 10-6. Verteilungen des Hydrodynamischen Radius der FePt-Nanopartikel (rechts) und FePt@MnO-Heterodimere (links) (aus ³¹⁶). | 142 |
| Abb. 10-7. Pulverdiffraktogramm von FePt@MnO-Nanoheterodimeren. | 143 |
| Abb. 10-8. (a) HRTEM-Aufnahme eines 6 nm@12 nm FePt@MnO-Nanoheterodimers mit der bevorzugten [111] Wachstumsorientierung von MnO auf FePt. | 144 |
| Abb. 10-9. (a) HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterodimers mit Orientierung in [110] Richtung beider Domänen. | 146 |
| Abb. 10-10. (a) HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterotrimers mit Orientierung in [211] Richtung der Domänen. | 147 |
| Abb. 10-11. HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterotrimers mit nicht co-orientierten Domänen. (b) FFT-Analyse und (c) inverse FFT-Analyse (aus ³¹⁶). | 148 |
| Abb. 10-12. (a) HRTEM-Aufnahme eines FePt-Octapods mit einer co-orientierten MnO-Domänen und (b) FFT-Analyse (aus ³¹⁶). | 148 |
| Abb. 10-13. FePt@MnO-Nanoheteromultimere. | 150 |
| Abb. 10-14. Magnetischen Hysterese von 6 nm@9 nm FePt@MnO-Heterodimeren mit dem Exchange Bias-Feld H_{ex} (aus ³¹⁶). | 152 |
| Abb. 10-15. Magnetische Hysterese von 3 nm@9 nm FePt@MnO-Heterodimeren mit dem Exchange Bias-Feld H_{ex} (aus ³¹⁶). | 153 |
| Abb. 10-16. Magnetische Hysteresekurven bei 5 K im FC- (2T) und ZFC-Zustand von (a) 6 nm@17 nm und (b) 3 nm@17 nm Heterodimeren mit vertikaler Verschiebung δm der Hysterese (aus ³¹⁶). | 154 |
| Abb. 10-17. Schema der magnetischen Wechselwirkung zwischen der ferromagnetischen FePt- und der antiferromagnetischen MnO-Domäne an der Domänengrenzfläche (nach ⁵⁹). | 156 |
| Abb. 10-18. Relative Vertikalverschiebung δm der magnetischen FC-Hysterese als Funktion des angelegten Feldes. | 157 |
| Abb. 10-19. Magnetische Hysteresekurve bei 5 K im FC- (2T) und ZFC-Zustand von (a) 6 nm FePt-Nanopartikeln und (b) einer Mischung aus 6 nm FePt- und 9 nm MnO-Nanopartikeln sowie (c) 3 nm FePt-Nanopartikeln. | 158 |
| Abb. 10-20. ZFC-Kurven im Vergleich von (a) 6 nm FePt-Nanopartikeln, 6 nm@9 nm und 6 nm@17 nm FePt@MnO-Heterodimeren sowie (b) 3 nm FePt-Nanopartikeln, 3 nm@9 nm und 3 nm@17 nm FePt@MnO-Heterodimeren (aus ³¹⁶). | 160 |
| Abb. 11-1. Kristalline Phasen von FePt. | 166 |
| Abb. 11-2. Lasermikroskopische Aufnahme von NaCl-Kristallen nach dem Mahlen mittels Kugelmühle. | 168 |
| Abb. 11-3. TEM-Aufnahmen von 5.7 nm Fe ₄₅ Pt ₅₅ -Nanopartikel vor (a) und nach (b) dem Tempern. | 169 |
| Abb. 11-4. 5 K und 300 K Hystere (a) sowie ZFC- und FC-Kurve (b) von 5.7 nm Fe ₄₅ Pt ₅₅ -Nanopartikeln ohne thermische Behandlung. | 170 |
| Abb. 11-5. 5 K und 300 K Hystere (a) sowie ZFC- und FC-Kurve (b) von 5.7 nm Fe ₄₅ Pt ₅₅ -Nanopartikeln nach dem Tempern. | 171 |
| Abb. 11-6. TEM-Aufnahmen von auf TEM-Grids getemperten FePt@MnO-Nanopartikel. | 173 |

Abb. 12-1. Röntgenkleinwinkelstreuung an drei verschiedenen Lösungszuständen der FePt@MnO-Nanodimere. 179

Abb. 12-2. GISAXS-Streubild von FePt@MnO-Nanodimeren..... 180

Abb. 14-1. Versuchsaufbau Nanopartikelsynthese. 189

Tabellenverzeichnis

Tab. 2-1. Lösungsmittel und deren Siedepunkte für die thermische Zersetzung metallorganischer Vorstufen. 6

Tab. 4-1. Zusammenfassung der Ergebnisse der Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln in Abhängigkeit der variierten Parameter..... 56

Tab. 9-1. Eigenschaften von Au@Fe₃O₄-Janus-Partikeln nach Lösen in Wasser bzw. Gibco® MCDB 131 Kulturmedium. 114

Tab. 9-2. Eigenschaften von Au@Fe₃O₄-Janus-Partikeln nach dem Lösen in Puffer oder serumfreien Gibco® MCDB 131 Kulturmedium. 115

Tab. 10-1. Radien und hydrodynamische Radien einer FePt- und FePt@MnO-Probe im Vergleich. 142

Tab. 10-2. Magnetische Eigenschaften von FePt- und FePt@MnO-Nanopartikeln..... 151

Tab. 11-1. Chemische Zusammensetzung von FePt-Nanopartikeln bestimmt durch ICP-OES. 168

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------|---|
| AAS | Atomabsorptionsspektroskopie |
| Abb. | Abbildung |
| AF-FFF | Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung |
| AFM | antiferromagnetisch |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| d | Dublett |
| DLS | Dynamische Lichtstreuung (engl. dynamic light scattering) |
| engl. | englisch |
| FC | field cooled (mit Feld gekühlt) |
| <i>fcc</i> | face centered cubic, dt. kubisch flächenzentriert |
| <i>fcc</i> | face centered tetragonal, dt. tetragonal flächenzentriert |
| FFT | fast Fourier transform, dt. schnelle Fourier-Transformation |
| FM | ferromagnetisch |
| h | Stunde(n) |
| HR-TEM | high-resolution transmission electron microscopy |
| ICP-OES | inductively coupled plasma optical emission spectrometry |
| IR | Infrarot |
| <i>J</i> | Kopplungskonstante |
| konz. | konzentriert |
| Lit. | Literatur(wert) |
| m | Multipllett |
| min | Minute(n) |
| N | Normal |
| neg. | negativ |
| NMR | nuclear magnetic resonance (magnetische Kernresonanz) |
| <i>o</i> | ortho |
| <i>p</i> | para |
| p.a. | pro analysi (zur Analyse) |
| pdi | potential determining ion |
| <i>pos.</i> | positiv |
| R_{wp} | gewichteter Profil-R-Wert (engl. weighted-profile r value) |
| s | Singulett |
| Schmp. | Schmelzpunkt |
| Sdp. | Siedepunkt |
| SQUID | superconducting quantum interference device |
| Tab. | Tabelle |

| | |
|----------|---------------------------------------|
| TEM | transmission electron microscopy |
| Tos | Tosyl |
| UV | ultraviolett |
| XRD | X-ray diffraction (Röntgenbeugung) |
| ZFC | zero field cooled (ohne Feld gekühlt) |
| δ | chemische Verschiebung |

1 Motivation: Willkommen im Reich der Zwerge

„Nano“ bedeutet im Griechischen Zwerg und beschreibt Materialien oder Strukturen, die im Bereich von 1 bis 100 milliardenstel Metern liegen. Richard P. Feynman* hielt im Dezember 1959 am California Institute of Technology seine berühmte Rede „There's Plenty of Room at the Bottom“ (frei übersetzt: „Ganz unten ist eine Menge Platz“). Darin philosophierte er über die Manipulation von Materie auf atomarer Ebene und welche Möglichkeiten sich dadurch bieten, wodurch Feynman das Tor zum Reich der Zwerge weit aufstieß.

Im Einklang mit der Entwicklung der Elektronenmikroskopie sind große Fortschritte auf dem Gebiet der Nanopartikelsynthese gemacht worden. Obwohl viel geforscht wird, ist immer noch verhältnismäßig wenig generelles Verständnis für die komplexe Physik vorhanden, die hinter der gezielten, formkontrollierten Synthese anorganischer Nanopartikeln steht (siehe Kapitel 2.1). Dies liegt daran, dass die Reaktionspfade der Vorstufen, die zu den wohldefinierten Nanokristallen führen, auf atomarer Ebene noch nicht ausreichend beschrieben werden können. *„Sicher ist es keine Übertreibung, wenn man die chemische Synthese von Metallnanokristallen beim derzeitigen Stand der Entwicklung mehr als eine Kunst denn eine Wissenschaft beschreibt.“*^{1,2}

Die besonderen Eigenschaften dieser Zwerge, die sie gegenüber den Winzlingen (Atome) und den Riesen (makroskopischen Festkörper) abgrenzen und so interessant machen, lassen sich qualitativ in drei Gruppen unterteilen.^{3, 4} Da sind zum einen die oberflächenabhängigen Partikeleigenschaften wie die hohe chemische Reaktivität, die für Katalysatoren von großer Relevanz ist, oder der sogenannte Lotus-Effekt, mit dem schmutzabweisende Oberflächen gemeint sind. Überdies führen die im Vergleich zu den Volumenatomen verringerten Bindungskräfte der Oberflächenatome zu einer Abnahme der Schmelztemperatur. Grundsätzlich sind all diese Eigenschaften auch im makroskopischen Festkörper vorhanden, kommen aber erst durch das große Oberfläche-Volumen-Verhältnis zur Geltung.

Der Übergang vom Atom bzw. Molekül zum Atomverbund ändert gleichzeitig die elektronische Struktur von definierten Energieniveaus hin zu dispersen Bändern makrokristalliner Stoffe. Im Rahmen dessen bilden Nanopartikel Atomverbunde mit noch definierten Niveaus und ihre Eigenschaften zeigen größenabhängige Quanteneffekte. Bekannte Effekte hierfür sind die größenabhängige Farbe und Lumineszenz von

* Richard Phillips Feynman (1918-1988) war ein amerikanischer Physiker und erhielt 1965 den Nobelpreis für seine Arbeit zur Quantenelektrodynamik.

Halbleiterquantenpunkten⁵ und die Verschiebung der Oberflächenplasmonenresonanz von Gold-Nanopartikeln (siehe Kapitel 2.4).

Die dritte Gruppe stellen die größenabhängigen Partikeleigenschaften dar, welche unmittelbar zu den geringen Dimensionen in Relation stehen. Unter anderem finden sich hier Interferenzeffekte, wie Bragg-Stapel und photonische Kristalle, aber auch der Superparamagnetismus (siehe Kapitel 2.3), bei dem anstelle eines Multidomänen-Systems ein superparamagnetisches Eindomänen-Teilchen mit einem hohen magnetischen Moment auftritt.

Magnetische Nanopartikel sind in den Fokus der Forschung gerückt, da sie ein breites Spektrum an potentiellen Anwendungen versprechen.^{6, 7} Neben Anwendungen als magnetische Flüssigkeiten,^{8, 9} in der Datenspeicherung¹⁰, opto-/elektronischen Anwendungen oder als magnetisch abtrennbare Nanokatalysatoren^{11, 12} werden auch Einsatzgebiete in der Biomedizin/-technologie erforscht. Hier sind zentrale Themen die Hyperthermie, Bildgebung durch Kernresonanz, gezielte Abgabe von Wirkstoffen (*drug delivery*), Biosensorik, magnetische Separation von Biomolekülen oder *theranostische* Methoden, welche eine gleichzeitige Kombination aus *therapeutischen* Eingriffen mit *diagnostischen* Systemen erlauben.^{13, 14}

Für medizinische Zwecke bieten sich vor allem nanoskalige Eisenoxide¹⁵ an (siehe Kapitel 2.5), da ihre geringe Toxizität und ihr hohes magnetisches Moment kombiniert mit einer maßgeschneiderten, biokompatiblen Oberflächenfunktionalisierung aus bioabbaubaren Polymeren und/oder Silica-Schale ein effizientes und vielseitiges System bilden (siehe Kapitel 4 und 8). In Kooperation mit der Gruppe Janshoff, Universität Göttingen, welche die zellbiologischen Untersuchungen durchgeführt hat, konnten wir zeigen, dass Eisenoxid-Nanopartikel funktionalisiert mit einem biokompatiblen Polymer, an das Fluoreszenzfarbstoffe und immunstimulierenden CpG-Oligonukleotiden angebunden waren, effektiv den TLR-9 induzierten Signalweg in A549-Lungenepithelzellen stimulieren (siehe Kapitel 4).

Auf der Suche nach neuen oder verbesserten Eigenschaften bei denen chemische Zusammensetzung, Kristallinität und die Größe bzw. Größenverteilung aber auch die Form (siehe Kapitel 4) und letztendlich die Oberflächenstruktur/-funktionalisierung als Parameter Einfluss üben, sind in den letzten Jahren immer komplexere Strukturen entstanden. Im Zuge dessen hat sich mit den kolloidalen Hybrid-Nanostrukturen eine neue Gruppe an Funktionsmaterialien aufgetan. Bei diesen werden verschiedene Materialien miteinander kombiniert, um das System mit den Eigenschaften der Einzelkomponenten zu versehen.^{16, 17}

Als Beispiel können durch das Aufwachsen einer Eisenoxid-Domäne auf Gold-Nanopartikel die optischen Eigenschaften mit den magnetischen des Eisenoxids verbunden werden (siehe Kapitel 5). Mit einer weiteren komplexen Biofunktionalisierung ergibt sich ein großer Spielraum der Gold@Eisenoxid-Heterodimernanopartikel für den Einsatz in der Nanomedizin, wie in Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik Jena gezeigt werden konnte. Die Dimere erwiesen sich als nicht toxisch und verringerten sogar im Vergleich zu Eisenoxid-Nanopartikeln das Level freier Radikale in Endothelzellen (siehe Kapitel 9)

Solche immer komplexer werdenden Synthesen verlangen auch nach neuen Aufreinigungsmethoden, so dass in Zusammenarbeit mit der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) die Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF-FFF) als Trennmethode für Heterodimere getestet wurde (siehe Kapitel 6).

In den kolloidalen Hybrid-Nanostrukturen kann es jedoch auch durch synergetische Effekte zu verbesserten Eigenschaften oder gar zu neuen Eigenschaften des Systems kommen. Besonders magnetische Eigenschaften hängen stark von Wechselwirkungen an Grenzschichten ab. Neuartige, eigens hergestellte Eisenplatin@Mangan(II)-oxid-Heterodimernanopartikel mit kontrollierbaren Domänengrößen zeigten domänengrößenabhängig verschiedene magnetische Eigenschaften, unter anderem einen Exchange Bias-Effekt in der Hysterese (siehe Kapitel 10). FePt@MnO-Nanoheterodimere mit einer stark ferromagnetischen FePt-Komponente sind vielversprechende Materialien für ultrastarke *Exchange-spring* Magnete¹⁸ und bieten damit großes Potenzial für einen Einsatz in der Datenspeicherung (siehe Kapitel 11).

Viele Zwerge ergeben einen Riesen, der in der Wissenschaft als Mesokristall bezeichnet wird. Mesokristalle, welche durch kontrollierte Selbstorganisation der Nanokristalle entstehen, sind geordnete 3D-Überstrukturen aus ausgerichteten Nanokristallen, die eine neue Verbindungsklasse von Festkörpern mit einzigartigen strukturellen Merkmalen bilden. Diese Merkmale versprechen innovative Materialien für viele Anwendungen.¹⁹⁻²³ Kleinere, geordnete Strukturen aus Nanopartikeln werden *Superlattices* (dt. Übergitter) genannt.²⁴ Magnetische Nanopartikel wie FePt@MnO-Heterodimernanopartikel bieten durch ihre feldabhängigen Eigenschaften zusätzliche Parameter zur kontrollierten Selbstorganisation (engl. *self-assembly*) und Darstellung solcher Strukturen (siehe Kapitel 12).^{25, 26}

2 Grundlagen

2.1 Synthese und Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln

2.1.1 Synthese von Nanopartikeln

Prinzipiell wird unterschieden zwischen physikalischen und chemischen Methoden zur Darstellung von Materialien im Nanometerbereich. Die physikalischen Techniken folgen dem „Top-down“-Prinzip. Hier wird von makrokristallinem Material ausgegangen und dieses durch verschiedene Verfahren so zerkleinert, bis es in dem genannten Größenbereich liegt. Als ein einfaches Beispiel sei das Zermahlen von makroskopischem Material in einer Kugelmühle genannt. Der Vorzug dieser Ansätze liegt darin, dass in der Regel leicht große Mengen an Nanokristallen erhalten werden können. Ein Schwachpunkt ist die breite Größenverteilung der Proben. Ganz konträr verhält es sich bei den chemischen Syntheseverfahren, die auf dem „Bottom-up“-Prinzip beruhen. Diese gehen von Atomen aus und bilden in lösungsbasierten, kolloidchemischen Verfahren Nanokristalle. Wenn auch hierbei die Ausbeuten gering sind, lassen sich so Nanopartikel mit sehr geringer Größenverteilung, sehr guter Formkontrolle und zumeist hoher Kristallinität darstellen. Da insbesondere Größe und Form im Nanometermaßstab die Eigenschaften bestimmen, ist das der einzige Zugang zu Nanomaterialien mit exakt definierten Eigenschaften.

Häufig eingeschlagene chemische Synthesewege für die Darstellung von Nanopartikeln sind Mitfällung, Hydrothermalsynthesen, Mizellare Synthesen, thermische Zersetzung und Reduktion von metallorganischen Vorstufen. Alle haben gemeinsam, dass eine strikte Trennung von Keimbildung und Wachstum für einheitliche Proben unabdingbar ist und durch das Modell von LaMer beschrieben werden können (s. Kapitel 2.1.3).

Bei der thermischen Zersetzung werden metallorganische Verbindungen in hochsiedenden Lösungsmitteln entweder vorgelegt (Aufheizmethode, *heating up method*) oder per Heißinjektion (*hot injection*) zugegeben (siehe Abb. 2-1 u. 14-1).²⁷⁻²⁹ Die Heißinjektion wurde erstmals von Bawendi und Mitarbeitern zur Darstellung von Cadmiumchalkogenid-Nanokristallen eingesetzt.³⁰ Dabei werden häufig zusätzlich Oxidationsmittel, wie Trimethylamin-*N*-oxid^{10, 31} oder Luft³², bzw. Reduktionsmittel verwendet. Als Reduktionsmittel dienen meist Alkandiole, die entweder als Lösungsmittel eingesetzt oder extra beigemischt werden, wie zum Beispiel PEG oder 1,2-Hexadecandiol.

Diese Technik wurde von Fiévet und Mitarbeiter unter dem Begriff Polyolprozess eingeführt.³³ Damit die Partikel nicht aggregieren und stabile kolloidale Lösungen bilden, finden darüber hinaus Oberflächenliganden (engl. *capping agents, surfactants, stabilizers*) Verwendung, wie Ölsäure, Oleylamin, TOPO oder CTAB.

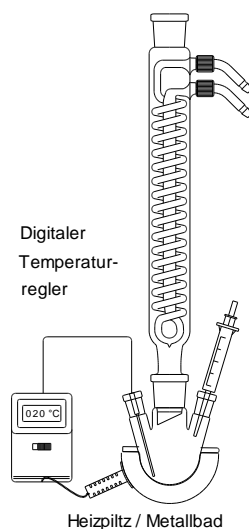


Abb. 2-1. Versuchsaufbau thermische Zersetzung von metallorganischen Vorstufen.

Eine Herausforderung besteht darin, dass diese Synthesetechnik gegenüber nahezu jedem Reaktionsparameter empfindlich sein kann, wie beispielsweise Reaktionstemperatur, Reaktionszeit³⁴ und Heizrate³⁵. Die benötigte hohe Reaktionstemperatur wird oft über die Rückflusstemperatur des verwendeten Lösungsmittels eingestellt (siehe Tab. 2-1). Es kann aber auch selbst ein wichtiger Bestandteil der Reaktion sein, wenn es zum Beispiel als Reduktionsmittel,³⁶ formgebendes Element³⁷ oder im Falle von Nanostrukturen mit mehreren Komponenten fördernd für die heterogene Nukleation wirkt (siehe Kapitel 2.1.2).

Tab. 2-1. Lösungsmittel und deren Siedepunkte für die thermische Zersetzung metallorganischer Vorstufen.

| Lösungsmittel | Siedepunkt /°C |
|-----------------|----------------|
| Diethylenglycol | 244 |
| 1-Tetradecen | 251 |
| Diphenylether | 258 |
| 1-Hexadecen | 285 |
| n-Hexadecan | 287 |
| Diocylether | 287 |
| Dibenzylether | 298 |
| 1-Octadecen | 315 |
| Squalan | ~350 |
| Triocylamin | 367 |

Wesentliche Faktoren sind die Art und das Verhältnis der Liganden.³⁸⁻⁴¹ In der Regel führt eine erhöhte Ligandenkonzentration zu größeren Partikeln, da die Nukleationsrate durch die starke Komplexierung der Vorstufen herabgesenkt wird (siehe Abb. 2-2).^{42, 43} Ferner kann ein Einfluss auf die Form der Partikel erfolgen (siehe Kapitel 4). Die Liganden oder zusätzliche Additive⁴⁴ können entweder kinetisch wirken und (selektiv) das Wachstum an den bestimmten Kristallflächen blockieren oder thermodynamisch, d.h. die Oberflächenenergie senken. Die komplexe und vielseitige Rolle von Liganden ist beispielsweise anhand von Oleylamin als oberflächenaktives Molekül, Lösungsmittel und Reduktionsmittel in der Literatur diskutiert worden.⁴⁵

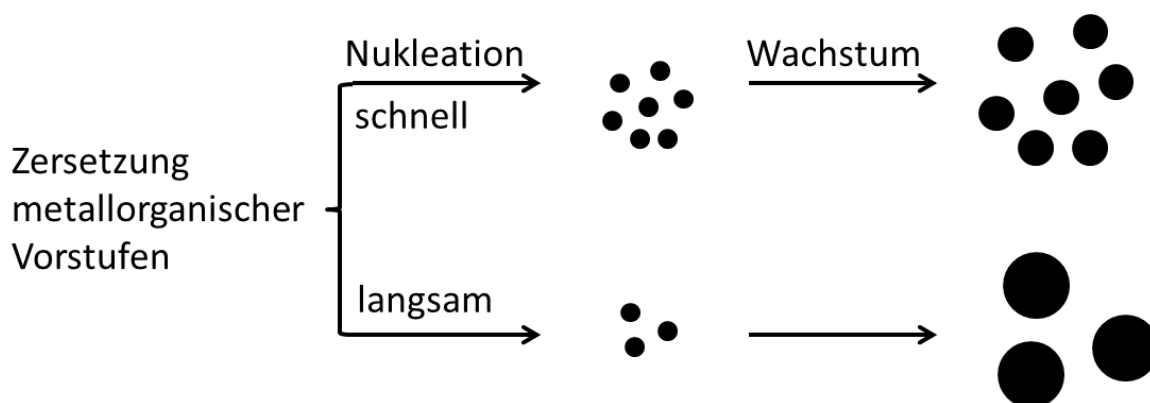


Abb. 2-2. Abhängigkeit der Partikelgröße von der Nukleationsrate (nach ⁴⁶).

Die Vorbehandlung des Präkursors,⁴⁷ selbst der Einfluss von Spuren von Wasser⁴⁸ oder Gasblasen⁴⁹, wurde untersucht. Smith *et al.* erhielten bei der Synthese von Gold-Nanopartikeln unter Einsatz von CTAB je nach Bezugsquelle Nanostäbchen oder Nanokugeln,⁵⁰ was darauf hindeutet, dass selbst geringe Verunreinigungen einen großen Einfluss ausüben können.

2.1.2 Kolloidale Nanoheterostrukturen

Durch das Zusammenführen unterschiedlicher Materialien mit einzigartigen chemischen und physikalischen Eigenschaften entstehen Systeme, die nicht nur beide Eigenschaften miteinander vereinen, sondern teilweise auch gesteigerte bis neuartige Eigenschaften mitbringen.^{51, 52} Darüber hinaus erlauben die Komponenten mit ihren unterschiedlichen chemischen Eigenschaften eine voneinander unabhängige Funktionalisierung. Als Beispiel seien die in unserer Gruppe entwickelten Au@MnO-Nanoblumen zur selektiven dualen Funktionalisierung und Bildgebung genannt.^{53, 54}

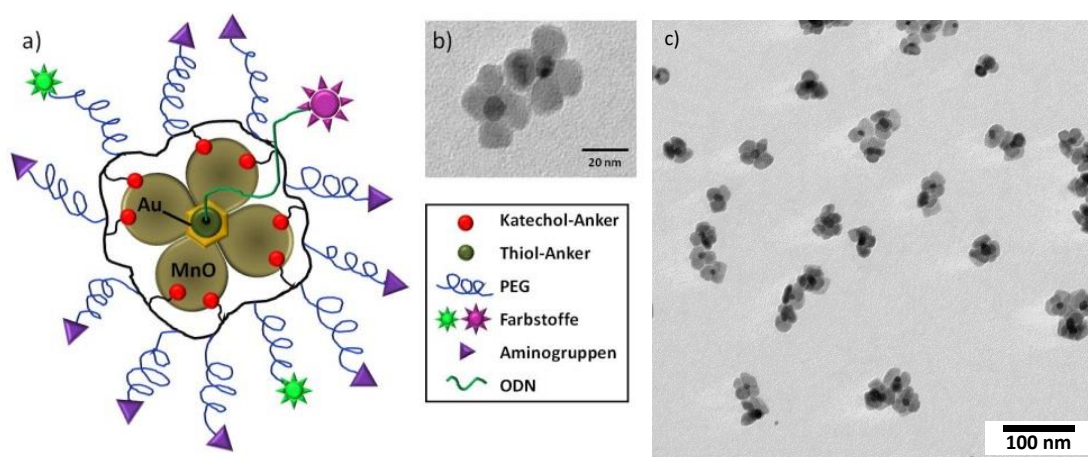


Abb. 2-3. a) Schematische Illustration der separaten Funktionalisierung der Au@MnO "Nanoblumen" mit einem multifunktionellen Polymerliganden bestehend aus Katechol-Ankergruppen und farbstoffmodifizierten (NBD) PEG(800) Seitenketten. Der Au-Kern ist mit einem Texas Red® markierten thiolhaltigem Oligonukleotid funktionalisiert; b) u. c) TEM-Aufnahmen von Polymer umhüllten Au@MnO-Nanoblumen (a und b aus ⁵³).

Während zahlreiche Materialien auf verschiedenen Wegen miteinander verbunden werden konnten, wird in der chemischen Synthese überwiegend ein Keim-vermittelter Ansatz gefahren, bei dem eine Komponente nachfolgend auf der anderen wächst. Entweder wird die erste Komponente *in situ* erzeugt (Einstufensynthese) oder sie wird vorgelegt (Zweistufensynthese). Je nach Reaktionsbedingungen und je nach Materialeigenschaften, wie beispielsweise der Gitterübereinstimmung und der Oberflächenenergie, können diese Reaktionsansätze von Heterodimeren über Heteromultimeren (Blumen, siehe oben) bis hin zu Kern-Schale-Partikeln ergeben (siehe Abb. 2-4).^{55, 56} Durch ein selektives und wiederholtes Wachstum konnte Buck *et al.* sogar Heterotetramere aus vier verschiedenen Materialien synthetisieren.⁵⁷

Eine geringe Gitterfehlpassung der Materialien oder, anders ausgedrückt, ein ähnlicher Abstand zwischen gleichen oder parallelen Gitterebenen ist eine wesentliche Voraussetzung für das epitaxiale Wachstum.⁵⁸ Während der Synthese muss zudem die homogene Nukleation der zweiten Komponente unterdrückt werden, da sonst separierte Partikel entstehen. Dementsprechend darf der Schwellenwert der kritischen Übersättigungskonzentration der Vorstufe für die homogene Nukleation nicht überschritten werden (siehe Kapitel 2.1.4). Das gelingt durch Anpassen des Keim-zu-Präkursor-Verhältnisses bzw. der eingesetzten Präkursormenge und des Heizprofils der Reaktion, da mit zunehmender Temperatur zum einen die Konzentration an Vorstufe wächst und zum anderen die homogene Nukleation wahrscheinlicher wird.

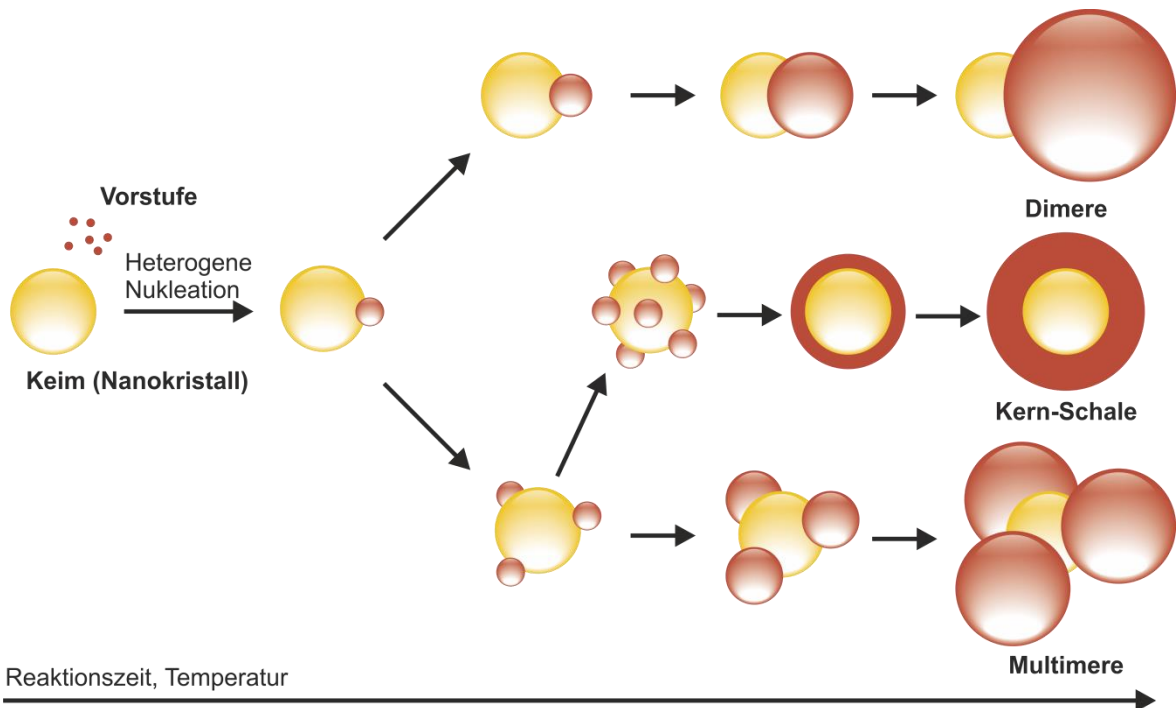


Abb. 2-4. Mögliche Reaktionspfade in der Keim vermittelten Synthese von kolloidalen Nanoheterostrukturen (nach ⁵⁹).

Ein weiterer Parameter ist das Lösungsmittel und dessen Fähigkeit, Elektronendichte zu liefern, was anhand von Gold@Eisenoxid-Nanopartikeln durch Sun und Mitarbeiter ausführlich erörtert wurde.⁶⁰⁻⁶³ Durch die Kristallisation von Eisenoxid auf den Gold-Nanopartikeln entsteht ein Elektronendefizit, was eine Nukleation an anderer Stelle des Partikels inhibiert. Lösungsmittel mit Doppelbindungen und insbesondere mit aromatischen Gruppen, wie beispielsweise Phenylether, können dieses Defizit ausgleichen und so weitere Kristallisationspunkte auf dem Partikel initiieren (siehe Tab. 2-1). Anstelle von Heterodimeren entstehen nun Heteromultimere. Wenn darüber hinaus ein Zusammenwachsen der Eisenoxid-Domänen forciert wird, bilden sich Kern-Schale-Partikel aus, wie in Abbildung 2-4 dargestellt.

Die oft asymmetrische Struktur und/oder die Möglichkeit der asymmetrischen Funktionalisierung bieten ideale Voraussetzungen, um kolloidale Nanoheterostrukturen als Janus-Partikel einzusetzen. Janus-Partikel, die nach dem römischen Gott Janus mit den zwei Gesichtern benannt sind, besitzen Oberflächen mit mindestens zwei verschiedenartigen physikalischen Eigenschaften. Ursprünglich wurde der Begriff Ende der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts für sphärische Glaspartikel eingeführt, bei denen eine Hemisphäre hydrophil und die andere hydrophob präpariert wurden.⁶⁴⁻⁶⁶ Die duale Natur der Partikel führt zu einzigartigen selbstorganisierenden Strukturen und Grenzflächeneffekten.⁶⁷

2.1.3 Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln

Eine Oberflächenfunktionalisierung der Nanopartikel für biomedizinische Anwendungen ist wegen der sonst nicht vorhandenen Wasserlöslichkeit unabdingbar. Zusätzlich kann sie für eine erhöhte Stabilität und eine verringerte Toxizität der Nanopartikel sorgen. Darüber hinaus können die Nanopartikel mit maßgeschneiderten Eigenschaften versehen werden, so dass ein gezielter Transport zum Wirkort und/oder eine spezifische Wirkung erreicht werden kann. Neben der Anbindung von Liganden^{68, 69} oder biologisch abbaubaren Polymeren⁷⁰⁻⁷² haben sich Silica-Beschichtungen⁷³ als sehr effektiv erwiesen, da diese eine exzellente Biokompatibilität aufgrund ihrer nichttoxischen und hydrophilen Oberfläche gepaart mit einer guten Stabilität vereinen. Studien haben gezeigt, dass die Freisetzung von Metallionen aus den Nanopartikeln zu toxischen Effekten führen kann.⁷⁴ So kann durch Eisenoxid-Nanopartikel anhand der Fenton-Reaktion



oxidativer Stress verursacht werden.⁷⁵ Silica-Schalen können die Rate der Freisetzung senken und so den Dosis-Effekt verringern.⁷⁶

Für die Beschichtung mit SiO₂ haben sich zwei Methoden etabliert. Die erste basiert auf dem Stöber-Prozess, welcher ursprünglich zur Darstellung von Silica-Partikeln aus Tetraethoxysilan (TEOS) durch Zugabe von Ammoniak entwickelt wurde.⁷⁷⁻⁷⁹ Bei dieser Art der Ummantelung findet zuerst eine Bildung reaktiver Si-OH-Gruppen durch Hydrolyse einer Sol-Gel-Vorstufe auf den Nanopartikeln statt. Anschließend tritt eine Netzwerkbildung durch Kondensationsreaktionen ein. Allerdings bedarf es hierbei für die Ausbildung einer homogenen Silica-Schale auf den hydrophoben Nanopartikeln zum einen häufig eines silanierenden Agents wie Amino- oder Mercaptopropyltrimethoxysilan. Diese fungieren auf der Oberfläche als Anker und führen aufgrund des wässrigen/ethanolischen Milieus zum Ligandenaustausch. Die zweite Methode ist die Wasser-in-Öl-Mikroemulsionen, auch als reverse Mikroemulsion bezeichnet.⁸⁰⁻⁸² Hier diffundieren die Nanopartikel in inverse Mizellen, wo die Hydrolyse des Silans stattfindet. Die Vorteile dieser Methode liegen darin, dass hydrophobe Nanopartikel ohne vorherigen Ligandenaustausch eingesetzt werden können und die Kontrolle über die Partikelgröße bzw. Schalendicke und deren Größenverteilung sich einfacher gestaltet.

Darüber hinaus können durch die Zugabe von Silanen, an deren Ende sich Amino- oder Carboxylgruppen befinden, chemische Anbindungsstellen für biologisch aktive Moleküle, wie beispielsweise Antikörper, angebracht werden. Zudem lassen sich Farbstoffe in die Silica-Schale einbauen, die sonst bei kernnaher Kopplung durch Quenching-Prozesse unwirksam würden.^{83, 84}

2.1.4 Modell von LaMer und Dinegar

LaMer* beschrieb mit seinem Modell ursprünglich die Herstellung von monodispersen Schwefel-Solen. Heute wird es für die Darstellung von monodispersen Nanopartikeln herangezogen. Es geht von einem homogenen Keimbildungsprozess aus. Dieser gliedert sich in die drei Phasen Anwachsen der Monomerkonzentration, schlagartige Keimbildung und Keimwachstum (siehe Abb. 2-5).^{27-29, 85, 86}

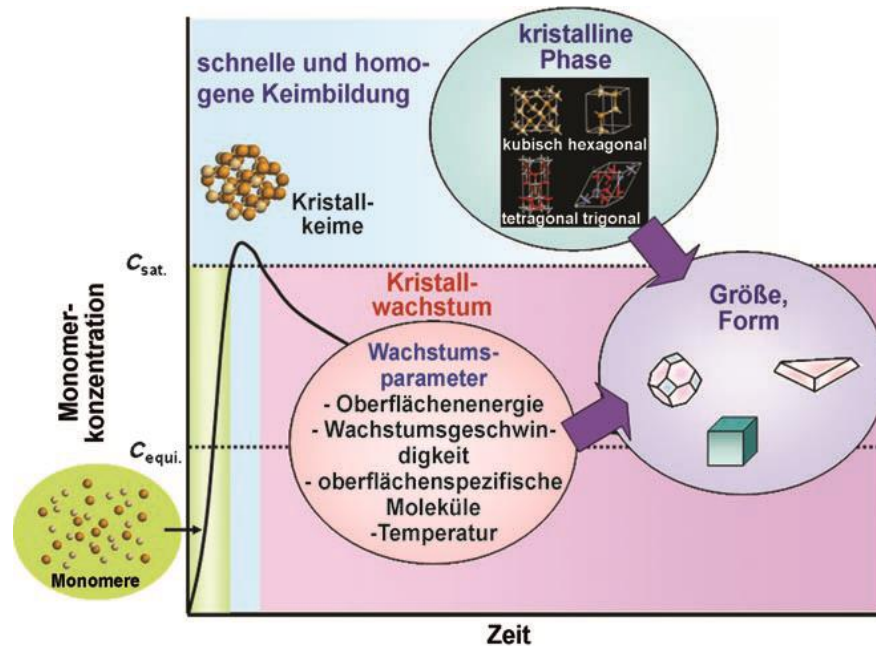


Abb. 2-5. Modell nach LaMer für die Darstellung monodisperser Nanopartikel. 1. Phase: Anwachsen der Monomerkonzentration (grün); 2. Phase: Keimbildung (blau); 3. Phase: Diffusionskontrolliertes Kristallwachstum (violett). $C_{\text{equi.}}$ = Gleichgewichtskonzentration, $C_{\text{sat.}}$ = kritische Sättigungskonzentration (aus⁸⁷).

In der ersten Phase wächst die Konzentration der sogenannten Monomere in der Lösung an. Dies bedeutet konkret, dass sich die metallorganischen Vorstufen zu Atomen oder Ionen zersetzen, bis deren Konzentration die Gleichgewichtskonzentration $C_{\text{equi.}}$ übersteigt und die Übersättigung eintritt. Bis hierhin sind die im Gleichgewicht mit den Monomeren stehenden Cluster instabil und zerfallen wieder. Die Nettokeimbildungsrate ist gleich null. Wird die kritische Sättigungskonzentration $C_{\text{sat.}}$ überschritten, setzt die zweite Phase mit einer schlagartigen Nukleation (engl. *burst of nucleation*) ein. Es entstehen innerhalb kurzer Zeit viele stabile Nukleationskeime. Diese hohe Nukleationsrate und der damit einhergehende hohe Monomerverbrauch, der die Monomernachbildung überwiegt, lässt die Übersättigung wieder unter den kritischen Wert fallen. Neugebildete Keime

* Victor Kuhn LaMer (1895–1966) war ein amerikanischer Chemiker, der auf dem Gebiet der Kolloidchemie forschte.

erreichen nicht mehr den kritischen Radius. Die Nettokeimbildungsrate sinkt wieder auf null. Während der dritten Phase wachsen die Keime langsam durch einen diffusionsgesteuerten Verbrauch an Monomeren.

Im Gegensatz zu der heterogenen Nukleation, welche an Fremdkeimen, Staubkörnern oder Gasblasen stattfindet, ist die homogene Nukleation in Lösung ein spontaner Phasenübergang ohne Beteiligung von Phasengrenzflächen oder substanzfremden Spezies. Diese findet also nur bei einem statischen Zusammentreffen von Teilchen statt. Zudem ist homogene Keimbildung endotherm, da die Bindungen in den Ausgangsverbindungen aufgespalten, die Solvathüllen aufgebrochen sowie die Oberflächenspannung des Lösungsmittels überwunden werden müssen. Infolge dessen ist die Energiebarriere für die homogene Nukleation hoch. Gleichzeitig verhindert die Energiebarriere eine kontinuierliche Nukleation und erlaubt erst so die schlagartige Keimbildung.^{85, 88} Thermodynamisch ergibt sich die Energiebarriere aus der Gibbs-Energie der Bildung eines sphärischen Kristalls mit dem Radius r in einer Lösung:

$$\Delta G_K(r) = 4\pi r^2 \gamma + \frac{4}{3} \pi r^3 \Delta G_V \quad 2.1$$

Mit Änderung der freien Enthalpie für ein Monomer in Lösung und im Einheitsvolumen des Kristalls ($r \rightarrow \infty$):

$$\Delta G_V = - \frac{RT \ln S}{V_m} \quad 2.2$$

Wobei γ die spezifische freie Oberflächenenergie, V_m das Molvolumen des Kristalls, R die universelle Gaskonstante, T die Temperatur und S die Übersättigung ist, was dem Verhältnis aus der Monomer- und der Gleichgewichtskonzentration entspricht. In Gleichung 2.1 im oberflächenabhängigen Term ist γ stets positiv. Um die Oberflächenenergie zu minimieren, nimmt der Keim eine sphärische Form an. Der zweite Term hängt vom Volumen ab und ΔG_V ist solange negativ, wie eine Übersättigung vorhanden ist, also $S > 1$. Nur dann kann die frei werdende Gitterenthalpie die freie Enthalpie dominieren. Demzufolge hat die in Abbildung 2-6 geplottete $\Delta G_K(r)$ -Kurve ein Maximum bei einem kritischen Radius r_c . Das bedeutet, dass nur Kristallisationskeime mit mindestens diesem Radius in der übersättigten Lösung spontan wachsen können. Darunter befindliche Keime sind thermodynamisch instabil und können ihre Gibbs-Energie nur verringern, indem sie sich wieder auflösen.

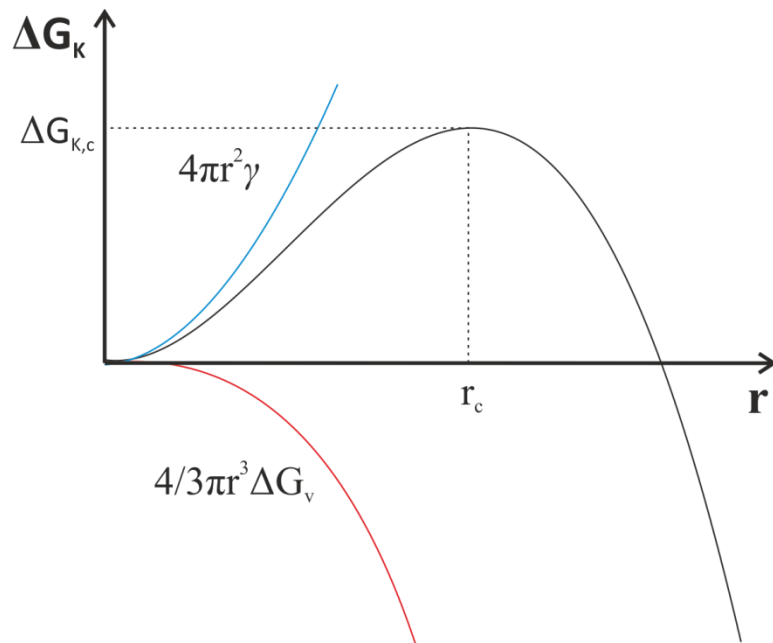


Abb. 2-6. Plot der freien Kristallbildungsenthalpie gegen den Partikelradius (schwarze Linie) sowie die Teilbeiträge aus Oberflächenenergie (blau Linie) und Gitterenergie (rote Linie). Stabile Keime entstehen in Lösung, wenn die Bedingung $r \geq r_c$ erfüllt ist. r_c = Kritischer Radius, $\Delta G_{K,c}$ = kritische freie Kristallbildungsenthalpie (nach ²⁹).

Mit der Bedingung

$$\frac{d\Delta G_K}{dr} = 0 \quad 2.3$$

ergibt sich für den kritischen Radius:

$$r_c = \frac{-2\gamma}{\Delta G_v} = \frac{2\gamma V_m}{RT \ln S} \quad 2.4$$

Setzt man diesen in Gleichung 2.1 ein, erhält man die kritische freie Enthalpie:

$$\Delta G_{K,c} = \frac{16\pi\gamma^3}{3(\Delta G_v)^2} = \frac{16\pi\gamma^3 V_m^2}{3(RT \ln S)^2} \quad 2.5$$

Hier zeigt sich, je höher der Grad der Übersättigung, desto kleiner kann der Radius für stabile Nukleationskeime sein. Erst wenn eine kritische Übersättigung erreicht bzw. eine kritische Konzentration C_{sat} an Monomer überschritten wird, erlangen die stets in der Lösung im Gleichgewicht gebildeten Cluster den kritischen Radius und sind damit nun auch thermodynamisch stabil.⁸⁹ Die homogene Nukleation setzt in der Lösung ein. Das anschließende Wachstum senkt die freie Enthalpie der Keime weiter.

Die Rate der Keimbildung kann als Arrhenius-Gleichung geschrieben werden und ist die Änderung der Anzahl an Partikel N pro Zeit

$$\frac{dN}{dt} = A \exp \left[-\frac{\Delta G_{K,c}}{k_B T} \right] = A \exp \left[\frac{16\pi\gamma^3 V_m^2}{3k_B^3 T^3 N_A^2 (\ln S)^2} \right] \quad 2.6$$

mit dem präexponentiellen Faktor A , der Boltzmann-Konstante k_B und der Avogadro-Zahl N_A .

Das Modell verwendet mit der spezifischen freien Oberflächenenergie γ und V_m bzw. ΔG_V zwei Parameter von makroskopischen Festkörpern, die als konstant angenommen werden, aber bei Nanopartikeln größenabhängig sind.⁹⁰ Trotzdem konnte anhand der Gasphasenabscheidung von 1-Butanol gezeigt werden, dass die experimentellen Daten mit den theoretischen Werten für die homogene Nukleation bei Clustern aus 10 bis 100 Molekülen gut übereinstimmen.⁹¹

Auf den Wachstumsprozess soll hier nur kurz eingegangen werden.^{27-29, 92} Im ersten Schritt diffundieren Monomere auf die Partikeloberfläche und setzen sich im zweiten Schritt dort ab. Dabei kann das Wachstum entweder reaktions- oder diffusionskontrolliert ablaufen. Reaktionskontrolliert bedeutet, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der Monomere an der Partikeloberfläche die Wachstumsrate bestimmt, da eine hohe Diffusionsgeschwindigkeit für ausreichend Monomere an der Oberfläche sorgt. Entscheidend und bestimmend bei einer genügenden Übersättigung ist jedoch das diffusionskontrollierte Wachstum. Hier ist die Diffusionsgeschwindigkeit der Monomere aus der Lösung zur Oberfläche ausschlaggebend, gefolgt von einer schnellen Reaktion der Monomere an der Oberfläche.

Wie in Abbildung 2-5 angedeutet, üben während des diffusionskontrollierten Wachstumsprozesses viele Parameter Einfluss auf die letztendliche Größe und Form aus. Ein wesentlicher Faktor für die Wachstumsgeschwindigkeit ist die Partikelgröße. Grob gesagt, je kleiner ein Partikel ist, desto schneller wächst er, da das chemische Potential mit abnehmender Größe zunimmt. Durch diesen kinetischen Effekt kommt es während des Wachstums zum sogenannten „Fokussieren“ der Größe.⁸⁸ Die Größenverteilung nimmt ab, bis sich die Größen der Partikel derart angenähert haben, dass die Größenverteilung quasi unverändert bleibt. Entweder wird die Reaktion hier abgebrochen oder kann durch weitere Zufuhr an Monomer aufrechterhalten werden.^{40, 41} Bei einer zu geringen Übersättigung setzt die Ostwald-Reifung ein.^{29, 46, 93, 94} Aufgrund der Minimierung der Oberflächenenergie findet ein kontaktfreier Materiestrom von kleinen zu größeren Partikeln statt, bis die kleiner werdenden Partikel unter den kritischen Radius schrumpfen und zerfallen. Folglich verringert sich die Zahl der Kolloide mit fortschreitender Dauer und die Größenverteilung wird breiter.

2.2 Fe_3O_4 und $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$

Sowohl Maghemit als auch Magnetit kristallisieren in der inversen Spinellstruktur (AB_2X_4). In dieser kubisch-dichtesten Packung aus Sauerstoffatomen bestehen zwei Substrukturen von oktahedralen (O_h bzw. A-Position) und tetrahedralen Plätzen (T_d bzw. B-Position). Im Magnetit (siehe Abb. 2-7) sind die Tetraederlücken zu $1/8$ von Fe^{3+} -Ionen und die Oktaederlücken zu je $1/4$ von Fe^{2+} - und Fe^{3+} -Ionen besetzt. Die Maghemitstruktur leitet sich von dieser ab mit zusätzlichen Leerstellen in den Oktaederlücken. Aufgrund der ähnlichen Struktur ist das Röntgendiffraktogramm nahezu identisch und es kann eine fließende Stöchiometrie von ideal ausgebildeten $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ mit einer Gitterkonstante von ca. 8.34 \AA hin zu ideal ausgebildeten Fe_3O_4 mit einer Gitterkonstante von ca. 8.39 \AA auftreten.⁹⁵⁻⁹⁷ Neben der geringen Abweichung erschweren die verbreiterten Reflexe aufgrund der Größe der Nanopartikel die Auswertung mittels Röntgendiffraktometrie. Die Mößbauerspektroskopie kann hier zusätzliche Informationen liefern.

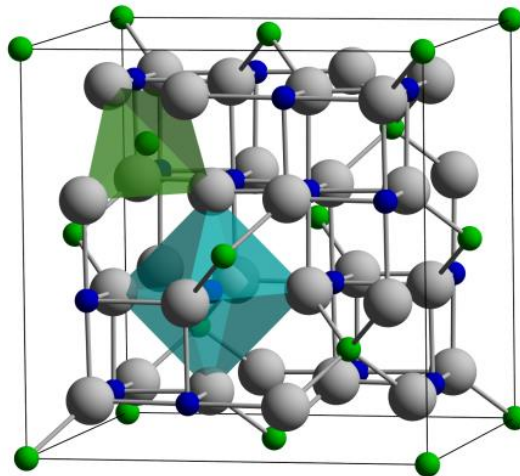


Abb. 2-7. Kristallstruktur von Fe_3O_4 (grün Fe^{2+} , blau Fe^{3+} und weiß O^{2-}).

(Bulk-)Magnetit spaltet im Mößbauerspektrum bei Raumtemperatur in zwei teilweise überlagerte Zeeman-Sextetts auf. Das Sextett mit größerer magnetischer Aufspaltung stammt von den Fe^{3+} -Ionen in A-Position. Aufgrund eines schnellen Elektronenaustausches zwischen den Kationen auf den B-Positionen liefern diese nur ein einziges Sextett mit einer gemittelten Wertigkeit von $\text{Fe}^{+2.5}$. Wird die Verwey-Temperatur (125 K) unterschritten, kommt es zu einer Verzerrung der Struktur,⁹⁸ der Ladungsaustausch entfällt und das Sextett von $\text{Fe}^{+2.5}$ spaltet sich auf. Im Spektrum ist nun nur noch ein einziges Sextett vorhanden, welches sich aus den überlagernden Sextetten der Fe^{2+} - und aller Fe^{3+} -Kationen zusammensetzt. Die Aufspaltung bei Nanopartikeln ist weniger ausgeprägt als im Bulk-Material.⁹⁹ Durch die Verzerrung der Struktur ähnelt das Spektrum von Bulk-Magnetit bei tiefen Temperaturen wieder sehr stark dem von Bulk-

Maghemit. Im Spektrum von Bulk-Maghemit ist sowohl bei Raumtemperatur als auch bei tiefen Temperaturen nur ein Sextett der positionsgemittelten Fe^{3+} -Kationen vorhanden.¹⁰⁰

Durch den Verwey-Übergang lassen sich in der SQUID-Magnetometrie Bulk-Maghemit und Bulk-Magnetit gut unterscheiden. Der Verwey-Übergang zeigt sich sowohl in der ZFC- als auch in der FC-Messung im makroskopischen Material durch eine Stufe bei 125 K und wurde zum Beispiel bei Fe_3O_4 -Nanopartikeln mit einer Größe $22 \text{ nm} \pm 7 \%$, welche in hexagonalen Dichtestpackungen angeordnet waren, beobachtet.¹⁰¹ Wohingegen Goya und Mitarbeiter für Fe_3O_4 -Nanopartikel, welche durch Zermahlen von Volumen-Material dargestellt wurden, berichteten, dass der Verwey-Übergang für Partikel mit $d < 50 \text{ nm}$ zu niedrigeren Temperaturen hin verschoben und für Partikel mit $d < 10 \text{ nm}$ nicht mehr zu beobachten ist.^{102, 103} In einer Veröffentlichung von Pineider *et al.* wurden Gold@Eisenoxid-Kern-Schale-Nanopartikel synthetisiert, bei denen mittels Röntgen-Nahkanten-Absorptions-Spektroskopie ein Anteil von ca. 10 % Wüstite (FeO) bestimmt wurde, der sich aufgrund der Reaktionsbedingungen direkt um das Gold bildet. Die breite Stufe zwischen 100 und 150 °K wird hier dem Verwey-Übergang und der antiferromagnetischen Ordnung der FeO -Phase (Néel-Temperatur, $T_N \approx 210 \text{ K}$) zugeschrieben. Die kleine Stufe in der FC-Kurve liegt bei 100 °C und ist damit jedoch versetzt zu dieser.¹⁰⁴

2.3 Magnetismus

2.3.1 Magnetismus auf atomarer Ebene

Die magnetischen Eigenschaften eines Festkörpers resultieren vollständig aus den Wechselwirkungen der Elektronen im Festkörper, da die magnetischen Momente des Atomkerns vernachlässigbar klein gegenüber denen der Elektronen im Atom sind. Das magnetische Moment eines Elektrons im freien Atom setzt sich aus dem magnetischen Spinnmoment seines Eigendrehimpulses und dem magnetischen Bahnmoment des Bahndrehimpulses zusammen, welcher aus der Bewegung um den Atomkern stammt (siehe Abb. 2-8). Ändert sich der Bahndrehimpuls aufgrund eines äußeren magnetischen Feldes, kommt ein weiterer Beitrag hinzu. Bei 3d-Metallen resultiert das magnetische Moment nahezu ausschließlich aus dem Spinanteil, so dass nur von „Spin-only“-Werten gesprochen wird.^{105, 106}

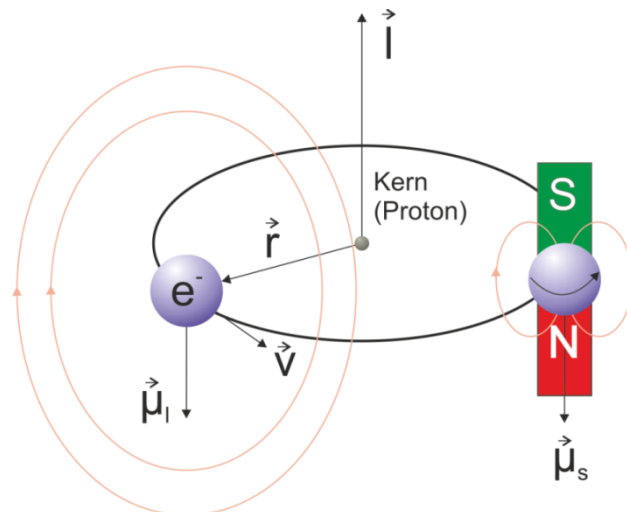


Abb. 2-8. Magnetisches Moment des Bahndrehimpulses (μ_l , links) und des Spins (μ_s , rechts) eines Elektrons. Mit v = Geschwindigkeit des Elektrons, r = Radius der Kreisbahn und l = Bahndrehimpuls. Die rosafarbenen Linien zeigen die Magnetfelder der bewegten Ladung.

Wenn Teilchen nur gepaarte Elektronen besitzen, heben sich die einzelnen Momente der Elektronen innerhalb der Atome gegenseitig auf und die Stoffe sind diamagnetisch. Beim Anlegen eines äußeren Magnetfeldes sind die induzierten magnetischen Felder gemäß der Lenzschen Regel dem äußeren Magnetfeld entgegengerichtet. Das Feld wird im Inneren des Diamagneten proportional zur Stärke des angelegten Magnetfeldes abgeschwächt. Der Proportionalitätsfaktor der Feldänderung wird durch die magnetische Permeabilität μ_r , bzw. die magnetische Suszeptibilität $\mu_r - 1$ beschrieben. Diamagnetische Materialien weisen eine magnetische Suszeptibilität χ kleiner als 0 und dementsprechend eine relative Permeabilität kleiner als 1 auf.^{105, 106}

Teilchen, in denen ungepaarte Elektronen vorhanden sind, besitzen ein permanentes magnetisches Moment. Aufgrund der thermischen Energie sind die magnetischen Momente in paramagnetischen Stoffen statistisch verteilt, so dass das mittlere Moment gleich Null ist. In einem äußeren Magnetfeld richten sich die magnetischen Momente entlang der Feldlinien aus und das Feld wird im Inneren des Paramagneten verstärkt. Die magnetische Suszeptibilität ist positiv ($\chi > 0$).^{105, 106}

2.3.2 Kooperativer Magnetismus im makroskopischen Festkörper

Unter bestimmten Voraussetzungen tritt durch die Austauschwechselwirkung eine langreichweitige magnetische Ordnung zwischen den einzelnen Atomen auf, welche zu kooperativen magnetischen Effekten wie Ferro-, Ferri- und Antiferromagnetismus führt. Die Austauschwechselwirkung ist ein quantenmechanischer Effekt, der aus der Coulomb-Abstoßung und dem Pauli-Verbot hervorgeht.^{105, 106}

Im Gegensatz zu Dia- und Paramagneten stellt sich bei Ferro- und Ferrimagneten unter einer materialabhängigen Temperatur, der Curietemperatur T_C , die Ausrichtung der atomaren magnetischen Momente ohne externes Magnetfeld ein. Damit weist das Material eine sogenannte „spontane“ Magnetisierung auf. Die spontane Parallelstellung der einzelnen magnetischen Momente geschieht im makroskopischen Körper nicht einheitlich. Es entstehen Bereiche, die sogenannten Domänen oder Weiss-Bezirke, in denen die magnetischen Momente der einzelnen Atome parallel ausgerichtet sind. Diese sind zusätzlich durch weitere kleinere Teilbereiche, den Bloch-Wänden, voneinander getrennt. In den Bloch-Wänden findet eine fließende Ausrichtung der Elektronenspins an die benachbarten Weiss-Bezirke statt (siehe Abb. 2-9). Trotz dieser Ordnung ist nach außen hin noch keine Nettomagnetisierung messbar, da die magnetischen Momente durch die unterschiedlichen Orientierung der Domänen kompensiert werden.^{105, 106}

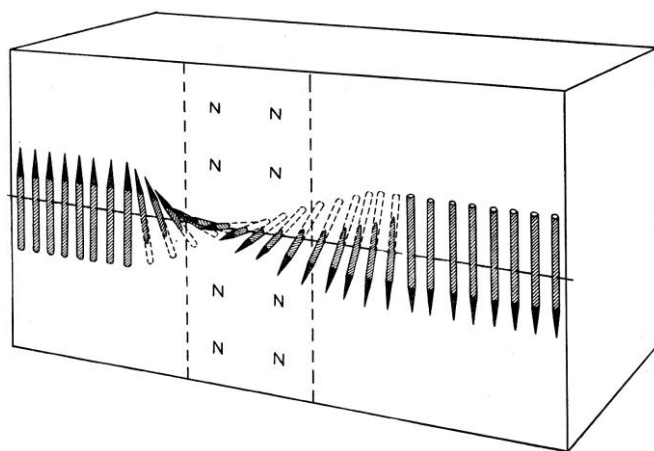


Abb. 2-9. Schematische Darstellung einer Bloch-Wand, dem Übergang zwischen 2. Weiss-Bezirken (aus ¹⁰⁷)

Das Anlegen eines externen Magnetfeldes übt Einfluss auf die Richtung, nicht aber auf den Betrag der magnetischen Momente aus. Bei ferromagnetischen Materialien richten sich die magnetischen Momente in den Domänen parallel zum externen Magnetfeld aus. Die magnetische Suszeptibilität von Ferromagneten ist wesentlich größer als die eines Paramagneten ($\chi \gg 0$) und nicht proportional zum angelegten Magnetfeld. Zunächst findet eine Verschiebung der Bloch-Wände statt, bei der die Weiss-Bezirke zusammenwachsen, was sich in kleinen Sprüngen in der Magnetisierungskurve als Barkhausen-Effekt äußert. Im Anschluss beginnen die Spins sich auszurichten bis eine Sättigung der Magnetisierung eintritt. Nach Abschalten des externen Magnetfeldes bleibt die Magnetisierung als remanente Magnetisierung partiell erhalten. Um die ferromagnetische Substanz wieder vollständig zu entmagnetisieren, muss die magnetische Koerzitivfeldstärke aufgebracht werden. Je höher diese ist, desto besser behält ein Magnet seine Magnetisierung in einem magnetischen Gegenfeld, d.h. desto schwerer findet eine Umpolung statt. Sie ist damit ein Maß für die Härte von Magneten. Ein Magnet mit niedriger Koerzitivfeldstärke und Remanenzmagnetisierung wird als weich und im umgekehrten Fall als hart bezeichnet. Die Magnetisierung eines Ferromagneten in einem angelegten Magnetfeld wird durch eine Hysterese-Schleife wie in Abbildung 2-10 beschrieben.^{105, 106}

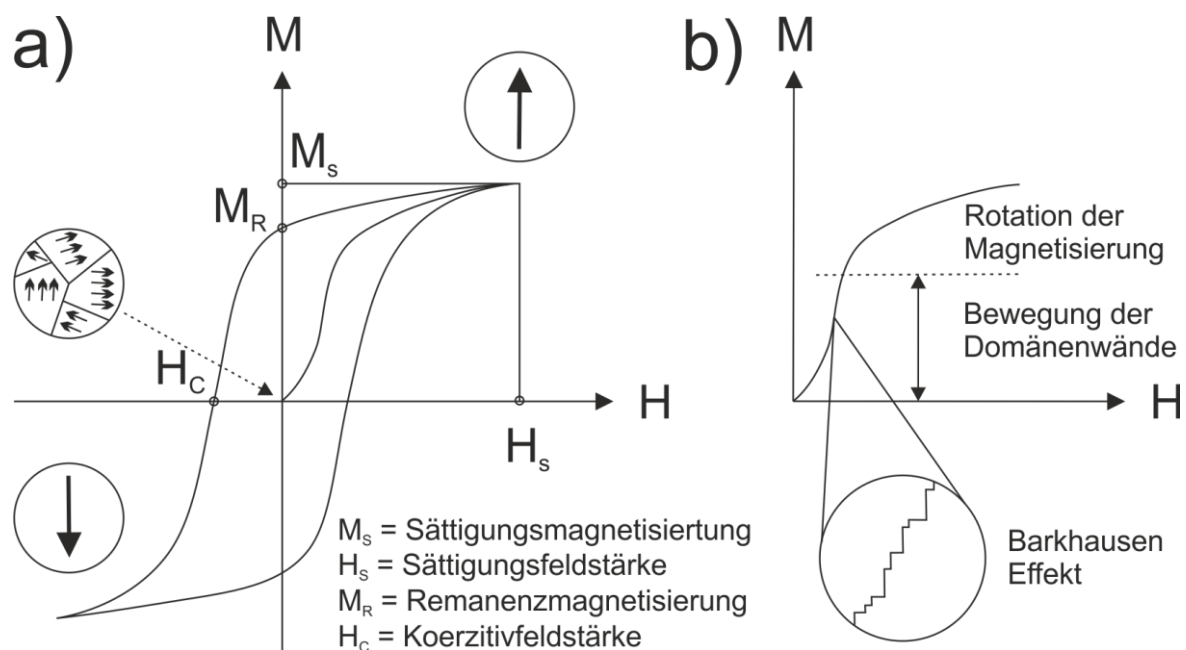


Abb. 2-10. a) Hysterese-Schleife und b) Neukurve von ferromagnetischen und ferrimagnetischen Stoffen (nach ^{106, 108}).

Ferrimagneten verhalten sich analog wie Ferromagneten mit dem Unterschied, dass die magnetischen Momente der Atome jeweils abwechselnd antiparallel in den Weiss-Bezirken ausgerichtet sind. Da sich die magnetischen Momente im Betrag unterscheiden, resultiert eine Nettomagnetisierung in den Weiss-Bezirken. Ein Ferrimagnet lässt sich durch zwei ineinander gestellte, antiparallele ferromagnetischen Untergitter beschreiben.^{105, 106}

Beispiele für ferrimagnetische Materialien sind Magnetit und Maghemit. Im Magnetit bilden pro Einheitszelle 8 Fe^{3+} -Ionen auf den A-Positionen das eine Untergitter, während 8 Fe^{3+} -Ionen und 8 Fe^{2+} -Ionen auf den B-Positionen das andere Untergitter darstellen (siehe auch Kapitel 2.2). In diesem Modell koppeln die $\text{Fe}^{3+}(\text{B})$ und $\text{Fe}^{2+}(\text{B})$ über eine indirekte Austauschwechselwirkung, dem sogenannten Doppelaustausch, ferromagnetisch (siehe Abb. 2-11). Ein Elektron des Fe_B^{3+} -Ions wird hierbei delokalisiert und richtet mittels einer Art von Elektronenhüpfen über ein vermittelndes, diamagnetisches Sauerstoff-Anion zwischen den t_{2g} -Orbitalen der Fe^{2+} - und Fe^{3+} -Ionen im B-Untergitter deren Spins parallel aus.^{109, 110} Hingegen wechselwirken die Fe_A^{3+} -Ionen mit den Fe_B^{3+} -Ionen mittels dem sog. Superaustausch über ein vermittelndes, diamagnetisches Sauerstoff-Anion antiferromagnetisch, was zu einer antiparallelen Spinausrichtung führt.^{109, 110} Folglich kompensieren sich die magnetischen Momente von jeweils $5 \mu_\text{B}$ pro Formeleinheit der Fe^{3+} -Ionen auf der A- und B-Position, so dass das magnetische Moment von $4 \mu_\text{B}$ ausschließlich von dem Fe_B^{2+} -Ion stammt. Experimentell wurde ein Sättigungsmoment von 4 bis $4,2 \mu_\text{B}$ gefunden (siehe Abb. 2-11).¹⁰⁶ Die Sättigungsmagnetisierung sinkt mit abnehmender Größe des Materials und hängt wesentlich von der Kristallinität bzw. Oberflächenbeschaffenheit ab (siehe Abschnitt 2.3.6).¹¹¹

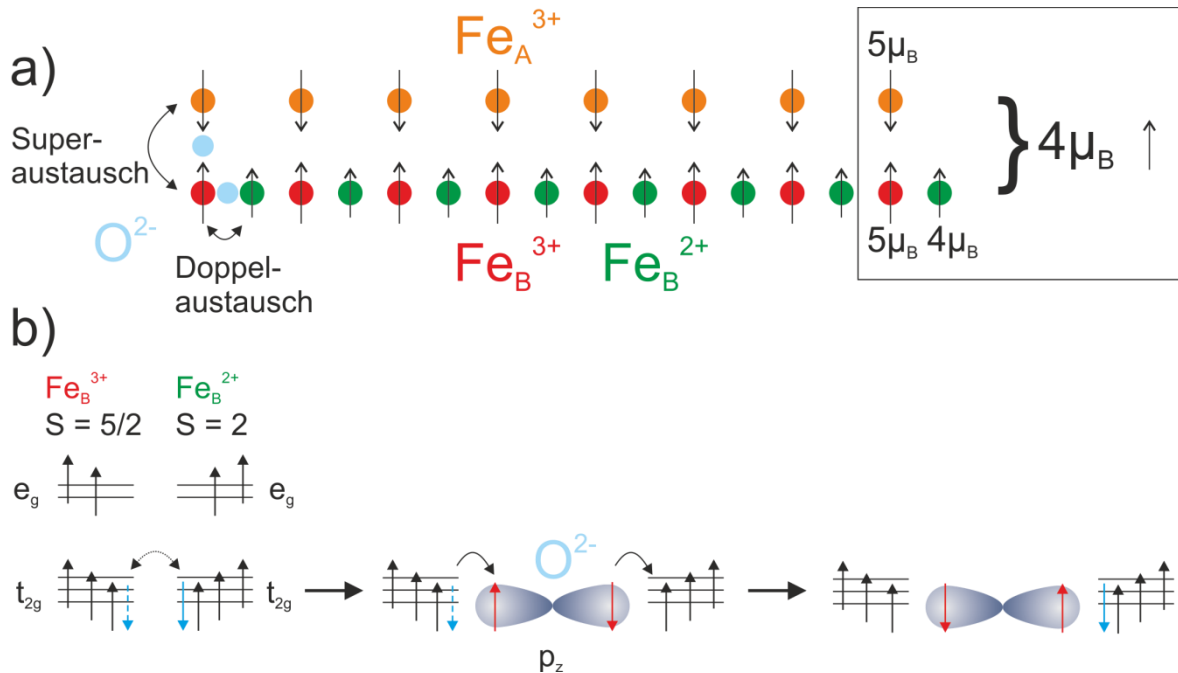


Abb. 2-11. Fe_3O_4 : Magnetische Struktur und Doppelaustausch. a) Mittels Superaustausch koppeln die 8 Fe_A^{3+} -Ionen pro Einheitszelle über O^{2-} -Ionen mit den Fe_B^{3+} -Ionen antiferromagnetisch und mittels Doppelaustausch die 8 Fe_B^{3+} mit den 8 Fe_B^{2+} -Ionen ferromagnetisch. Es resultiert ein Sättigungsmoment von $4 \mu_B$ pro Formeleinheit. b) Beim Doppelaustausch kann das t_{2g} Spin-down Elektron zwischen den Fe_B^{3+} und Fe_B^{2+} -Ionen hüpfen, während sein Spin antiparallel zum lokalen Moment koppelt (nach ^{109, 110}).

Beim Antiferromagnetismus findet in gleicher Weise wie beim Ferrimagnetismus eine antiparallele Ausrichtung der Spins statt. Bei dieser heben sich die magnetischen Momente jedoch gegenseitig auf, so dass keine makroskopische Magnetisierung zu beobachten ist. Oberhalb der Néel-Temperatur, welche analog zur Curietemperatur bei Ferro-/Ferrimagneten ist, bricht die Spinordnung zusammen und das Material verhält sich paramagnetisch.^{105, 106} Ein Beispiel für eine antiferromagnetische Substanz ist Mangan(II)-oxid, bei dem durch Superaustausch eine antiparallele Kopplung der Spins der Mn^{2+} -Ionen über ein verbrückendes Sauerstoffanion stattfindet (siehe Abb. 2-12).¹¹²

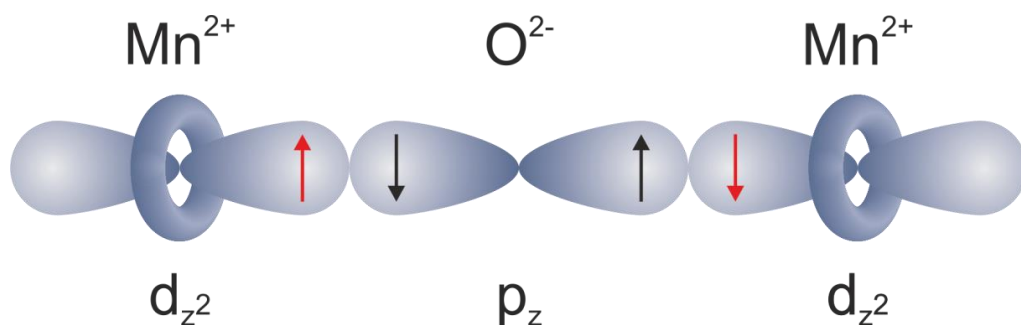


Abb. 2-12. Superaustausch in MnO . Antiferromagnetische Kopplung der Spins zweier d_{z^2} -Orbitale benachbarter Mn^{2+} -Ionen über ein verbrückendes Sauerstoff- p_z -Orbital (nach ¹¹³).

2.3.3 Magnetismus im nanoskopischen Festkörper: Eindomänen- und superparamagnetisches Limit

Im Wesentlichen werden die magnetischen Eigenschaften von Nanopartikeln durch ihre begrenzte Größe und durch Oberflächeneffekte bestimmt.^{6, 7} Aus der Größenbeschränkung resultieren ein Eindomänen- und ein superparamagnetisches Limit. Während die magnetostatische Energie (ΔE_{MS}) proportional zum Volumen des Materials zunimmt, steigt die Energie für die Bildung der Domänenwände (E_{dw}) proportional mit der Oberfläche, so dass unter einer kritischen Teilchengröße die Ausbildung einer Domänenwand energetisch ungünstig wird und solche Partikel nur noch aus einer einzigen, einheitlich magnetisierten Domäne bestehen. Das Eindomänenlimit hängt vom Material und dem Beitrag verschiedener Anisotropieenergieterme (Form-, Oberflächen-, magnetokristalline und magnetoelastische Anisotropie) ab.^{6, 7, 114}

Wenn $\Delta E_{MS} = E_{dw}$ ergibt sich für den kritischen Durchmesser D_C eines nicht wechselwirkenden, sphärischen Teilchens, unter dem nur eine Domäne ausgebildet wird:

$$D_C \approx 18 \frac{\sqrt{AK_{eff}}}{\mu_0 M_S^2} \quad 2.7$$

Hier ist A die Austauschkonstante, K_{eff} die Anisotropiekonstante, die μ_0 Vakuumpermeabilität und M_S die Sättigungsmagnetisierung. Beispielsweise beträgt der kritische Radius für $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 60 nm und für Fe_3O_4 128 nm.^{6, 7, 114} Die Koerzitivfeldstärke ist bei Eindomänenteilchen im Vergleich zu Mehrdomänenteilchen bzw. makroskopischen Festkörpern größer, weil keine Verschiebung der Domänenwände mehr auftritt und so die Richtung der Magnetisierung nur noch durch ein gleichzeitiges Umklappen aller im Teilchen enthaltener Spins erfolgen kann. Letzteres bedarf mehr Energie.^{6, 7, 114}

Eine Abweichung von der idealen Kugelform der Partikel fügt einen zusätzlichen Beitrag der Koerzitivkraft hinzu, so dass bei Teilchen mit steigender Formanisotropie der kritische Durchmesser zunimmt.^{6, 7, 114}

Mit abnehmender Größe des Eindomänenteilchens sinkt die Anzahl der Spins und somit die benötigte Energie zur kohärenten Spinrotation. Gleichzeitig folgt die Abnahme der Koerzitivfeldstärke, bis sie ab einer charakteristischen Teilchengröße (und in Abhängigkeit von der Temperatur) auf null fällt. In diesem Fall ähneln die Nanopartikel riesigen paramagnetischen Atomen mit einem großen, konstanten magnetischen Moment. Das System verhält sich wie ein Paramagnet mit einer schnellen Reaktion auf angelegte magnetische Felder ohne Remanenz und Koerzitivkraft. Dieser Befund wird deshalb als Superparamagnetismus bezeichnet (siehe Abb. 2-13).^{6, 7, 114}

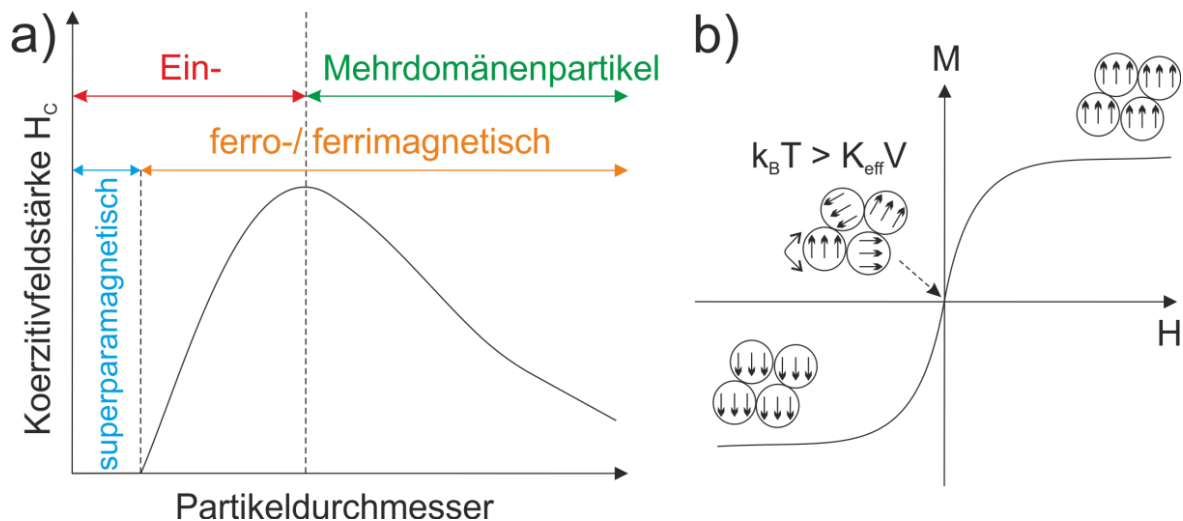


Abb. 2-13. a) Abhängigkeit der Koerzitivität von der Partikelgröße (nach ¹¹⁵⁻¹¹⁷) und b) Hysterekurve eines superparamagnetischen Systems.

Ausgehend von einem isolierten sphärischen Teilchen mit einer einzigen Domäne kann für die Energie der magnetischen Anisotropie pro Teilchen, welche für die Aufrechterhaltung der magnetischen Momente entlang einer bestimmten Richtung sorgt,

$$E(\theta) = K_{\text{eff}} V \sin^2 \theta \quad 2.8$$

angenommen werden, wobei V das Teilchenvolumen, K_{eff} die effektive Anisotropiekonstante und θ der Winkel zwischen der Magnetisierung und der magnetischen Vorzugsrichtung ist. Häufig haben magnetische Materialien aufgrund der Anisotropie eine Vorzugsrichtung, welche im Gegensatz zur schweren Achse auch magnetisch leichte Achse bzw. leichte Richtung genannt wird. In Abwesenheit eines externen Feldes richtet sich die Magnetisierung entlang einer Richtung minimaler Energie aus. Der Ausdruck $K_{\text{eff}} V$ stellt hier eine Energiebarriere zwischen zwei energetisch gleichwertigen Vorzugsrichtungen der Magnetisierung dar. Je kleiner die Partikelgröße wird, desto eher wird die Energiebarriere von der thermischen Energie $k_B T$ überwunden und desto leichter gelingt die kohärente Spinrotation. Wenn $k_B T > K_{\text{eff}} V$ eintritt, unterliegt die Magnetisierungsrichtung permanenten Fluktuationen, die Koerzitivkraft verschwindet, das superparamagnetische Limit ist erreicht und das System zeigt keine Hysterese mehr.^{6, 7, 114} Die thermischen Energie $k_B T$ und die effektive Anisotropiekonstante $K_{\text{eff}} V$ bestimmen also die Relaxationszeit des magnetischen Moments eines Teilchens τ , was durch die Néel-Brown-Gleichung beschrieben wird.

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{K_{eff}V}{k_B T}\right) \quad 2.9$$

Hier ist k_B die Boltzmann-Konstante und τ_0 die inverse Anlauffrequenz der Magnetisierungsumkehr (*inverse attempt frequency*, $\tau_0 \approx 10^{-9}$ s).^{6, 7, 114}

Wenn die Relaxationszeit kürzer als die experimentelle Beobachtungszeit τ_M oder, anders ausgedrückt, die Fluktuationsrate der magnetischen Momente höher als die inverse, experimentelle Beobachtungszeit ist, kann keine Magnetisierung gemessen werden und das System ist im superparamagnetischen Zustand. Im umgekehrten Fall $\tau > \tau_M$ befindet sich das System im sogenannten blockierten Zustand. Die kritische Temperatur, bei der $\tau = \tau_M$ und das System in den geblockten Zustand übergeht, heißt dementsprechend Blockierungstemperatur T_B (engl. *blocking temperature*).^{6, 7, 114}

Es ist zu beachten, dass die Blockierungstemperatur von der effektiven Anisotropiekonstante, der Partikelgröße, dem angelegten magnetischen Feld sowie der experimentellen Messzeit und damit von der verwendeten Messmethode abhängt.^{6, 7, 114}

Zudem können interpartikuläre, magnetische Wechselwirkungen die superparamagnetische Relaxation beeinflussen, was zu komplexen Sachverhalten führen kann. Deswegen werden hier nur die wesentlichen interpartikulären, magnetischen Wechselwirkungen genannt, welche die Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, die direkte Austauschwechselwirkung sich berührender Teilchen, die Superaustauschwechselwirkung und die RKKY-Wechselwirkung (Ruderman-Kittel-Kasuya-Yosida) sind. Falls die interpartikulären, magnetischen Wechselwirkungen so stark werden, dass magnetische Nah- und/oder Fernordnungen entstehen, können Erscheinungen wie Superferromagnetismus und superspingsglasartige Zustände auftreten.^{6, 7, 114}

2.3.4 Superparamagnetismus in der Mößbauerspektroskopie

Eine Messmethode, bei der das Auftreten des Superparamagnetismus eine Rolle spielt, ist die (^{57}Fe -)Mößbauerspektroskopie^{118, 119}. Hier resultiert die Hyperfeinfeldaufspaltung aus der magnetischen Dipol-Wechselwirkung zwischen dem magnetischen Dipolmoment eines Eisenkerns und dem magnetischen Feld am Kernort, welches in erster Linie von den Valenzelektronen hervorgerufen wird. Dabei präzediert das magnetische Moment um die Achse des Magnetfeldes. Wenn die magnetische Anisotropieenergie ($\sim kT$) überwunden wird, kommt es zu den angesprochenen Energiefluktuationen und die Richtung der Magnetisierung ändert sich. Falls die Fluktuationsrate die experimentelle, inverse Beobachtungszeit (Mößbauer $\sim 10^{-8}$ s) übersteigt, gibt es keine statische Quantisierungsachse mehr. Als Folge kann die magnetische Aufspaltung nicht mehr

aufgelöst werden und es ergibt sich ein dynamisches Spektrum ohne Hyperfeinfeldaufspaltung. Anstelle eines Sextetts ist nur noch ein Singulett vorhanden (vgl. Abb. 3-7). Wenn die superparamagnetische Relaxationszeit gerade die Beobachtungszeit erreicht, ergibt sich auch hier eine Blockierungstemperatur. Diese wird für die Mößbauerspektroskopie so definiert, dass sich 50 % des Spektrums im geblockten Zustand befinden.^{114, 120, 121} Im Spektrum tritt daher die Überlagerung eines Sextetts mit einem Singulett auf.

2.3.5 Superparamagnetismus in der SQUID-Magnetometrie

Eine weitere wesentliche Messmethode zur Bestimmung der magnetischen Eigenschaften ist die SQUID-Magnetometrie (engl. *superconducting quantum interference device*, dt. supraleitende Quanteninterferenzeinheit), bei der die Hysterese und die Blockierungstemperatur gemessen werden können. Zur Bestimmung der Blockierungstemperatur wird zuerst die ZFC-Kurve (engl. *zero-field-cooled*) aufgenommen, indem die Probe in einem magnetischen Nullfeld von Raumtemperatur (300 K) auf z.B. 5 K abgekühlt wird, so dass eine zufällige Anordnung der magnetischen Momente der Partikel eingefroren wird. Im Anschluss wird die Probe bei angelegtem Magnetfeld (wie in dieser Arbeit $H = 100$ Oe) langsam erwärmt und ihr magnetisches Moment gemessen. Beim Erwärmen erreichen immer mehr der ungeordneten magnetischen Momente die nötige Energie, um sich entlang des Magnetfeldes bis zu einem maximalen Gesamtmoment bei T_B auszurichten. Das weitere Ansteigen der thermischen Energie führt wieder zu einem Abfall der Magnetisierungskurve, da die Relaxationszeit der Momente unter die experimentelle Beobachtungszeit (ca. 10^2 s) fällt (siehe Abb. 2-14).¹¹⁴ Im zweiten Schritt wird die Probe in einem magnetischen Feld (hier ebenfalls $H = 100$ Oe) von Raumtemperatur aus abgekühlt. Die FC-Kurve (engl. *field-cooled*) steigt mit sinkender Temperatur kontinuierlich an bis eine Sättigung eintritt, da ein stetiges Ausrichten der magnetischen Momente in Magnetfeldrichtung stattfindet (siehe Abb. 2-14).

Eine Verteilung der Teilchengröße führt zu einer Verbreiterung der ZFC-Kurve und einer gemittelten Blockierungstemperatur. Die ZFC- und FC-Kurve laufen nicht mehr am Maximum zusammen, sondern bei höheren Temperaturen, bei denen die Relaxationszeit der größten Partikel gerade der experimentellen Beobachtungszeit entspricht, also $\tau = \tau_M$ gilt.¹²²

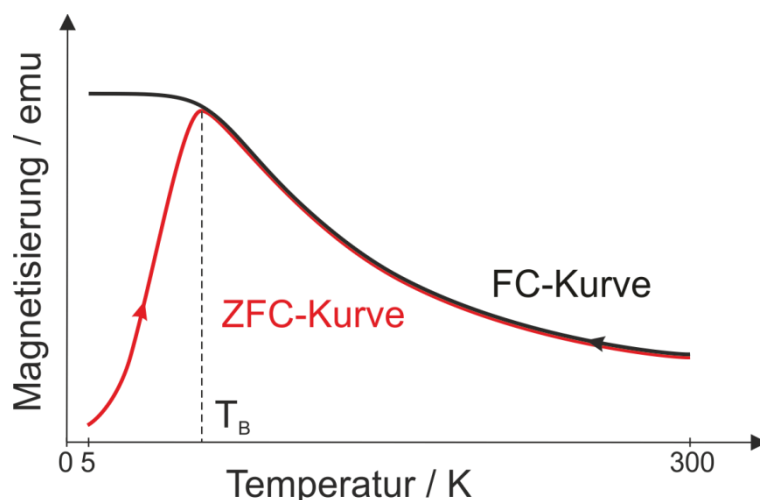


Abb. 2-14. Idealisierte *zero-field-cooled*- und *field-cooled*-Kurve. Das Maximum der ZFC-Kurve gibt die Blockierungstemperatur T_B in der SQUID-Magnetometrie an.

2.3.6 Oberflächenspins

Die gesteigerte Anzahl an Oberflächenspins der Nanopartikel, die aus dem großen Oberflächenatom-Volumenatom-Verhältnis hervorgeht, führt zu einem wesentlichen Einfluss der Oberflächenspins auf das magnetische Verhalten. Der Symmetriebruch der Kristallstruktur am Rand jedes Teilchens kann zu Veränderungen in der Bandverteilung, der Gitterkonstante und/oder der Atomkoordination führen, was wiederum zu Oberflächenanisotropie und Kern-Oberflächen-Austauschanisotropie führen kann. Des Weiteren können magnetisch inaktive Oberflächen oder verkantete Spins auftreten.^{6, 7, 114} Bei der Spinverkipfung (engl. *spin canting*)¹²³ an der Oberfläche richten sich die Spins selbst in starken externen Magnetfeldern nicht vollständig aus und es kommt zu einer reduzierten Sättigungsmagnetisierung im Vergleich zum makroskopischen Festkörper.¹²⁴⁻¹²⁶

Eine Verstärkung der magnetischen Anisotropie K_{eff} mit sinkender Partikelgröße wurde ebenfalls beobachtet und daraufhin vermutet, dass der zusätzliche Beitrag aus der Oberflächenanisotropie herrührt.^{123, 127, 128}

In Nanopartikeln von antiferromagnetischen Verbindungen wie NiO oder MnO konnte eine Nettomagnetisierung bei tiefen Temperaturen gemessen und daher ein superparamagnetisches Verhalten der Partikel festgestellt werden.¹²⁹⁻¹³¹ Diese Tatsache wird auf die große Zahl an unkompensierten Oberflächenspins zurückgeführt. Mit sinkender Partikelgröße nimmt die Nettomagnetisierung zu, da das Oberflächen-zu-Volumenverhältnis ebenfalls steigt. Letztendlich kann auch eine Oberflächenfunktionalisierung, wie z.B. eine Silica-Schale oder organische Liganden, einen Teil zu den magnetischen Eigenschaften beitragen.^{6, 7, 132}

2.3.7 Exchange Bias

Ein besonderer Oberflächeneffekt ist der Exchange Bias, der zwischen einer ferro- und antiferromagnetischen Grenzschicht auftritt und sich vornehmlich in einer Verschiebung der Hystereseschleife entlang der Feldachse und/oder einer gesteigerten Koerzitivitätsfeldstärke ausdrückt, wenn das System unter die Néel-Temperatur des Antiferromagneten abgekühlt wird (siehe Abb. 2-15). Damit verbunden ist eine unidirektionale Anisotropie (engl. *unidirectional exchange anisotropy*), die durch die Austauschwechselwirkung zwischen dem Ferro- und dem Antiferromagneten wirkt. Zwar ist der exakte Mechanismus noch nicht geklärt,¹³³ jedoch wurden bereits verschiedene Systeme etabliert. Beispielsweise wurden Nanopartikel in einer Matrix eingebettet,¹³⁴ Kern-Schale-Partikel¹³⁵ oder auch reine antiferromagnetische Nanopartikel mit nur einer Domäne synthetisiert, bei denen der Effekt aus der Wechselwirkung der Kern- und Oberflächenspins resultiert.¹³¹

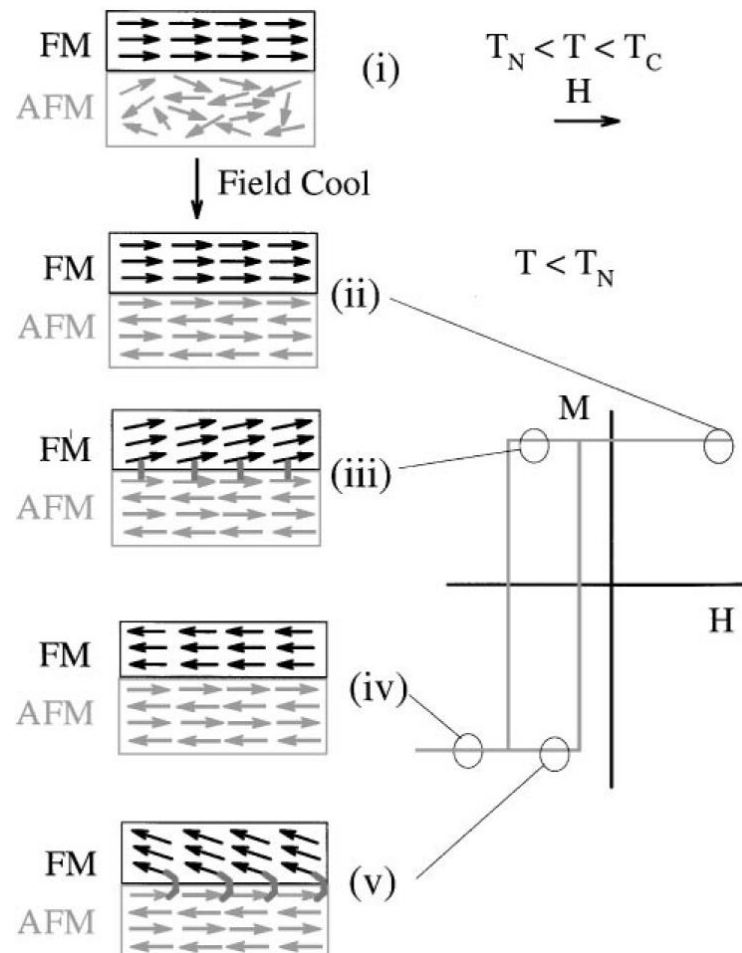


Abb. 2-15. Schematische Darstellung der Spinkonfiguration einer FM-AFM Grenzschicht (oben) oberhalb der Néel-Temperatur und (unten) während verschiedener Phasen (i)–(v) einer Hysterese infolge des Exchange Bias verschoben unterhalb der Néel-Temperatur (aus ¹³⁶).

2.4 Oberflächenplasmonenresonanz

Nanopartikel aus Gold oder Silber weisen intensive Farben auf. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist der römische Lykurgus Becher aus dem 4. Jahrhundert, der bei reflektiertem Licht grün und bei durchstrahltem Licht rot erscheint (siehe Abb. 2-16). Quantenmechanisch betrachtet sind in metallischen Nanopartikeln die freien Elektronen in Metallboxen (Quantenpunkt, engl. quantum dot) mit diskreten Energiezuständen gefangen. Ihre De-Broglie-Wellenlänge entspricht nunmehr der Größe des Partikels. Zudem tritt hier eine Lücke zwischen Leitungsband und Fermi-Niveau auf. Die frei beweglichen Elektronen besitzen mit der Plasmafrequenz eine charakteristische kollektive Oszillationsfrequenz, welche bei Anregung zur Plasmonenresonanz-Bande führt und bei Gold im Bereich von 520 nm liegt. Das elektromagnetische Feld des wechselwirkenden Lichtes führt zu einer Schwingung des Elektronengases an der Oberfläche des Partikels bzw. die Elektronen oberhalb des Fermi-Niveaus schwingen kollektiv relativ zu den Atomrümpfen. Es tritt die sogenannte Oberflächenplasmonenresonanz ein (siehe Abb. 2-16).¹³⁷⁻¹³⁹

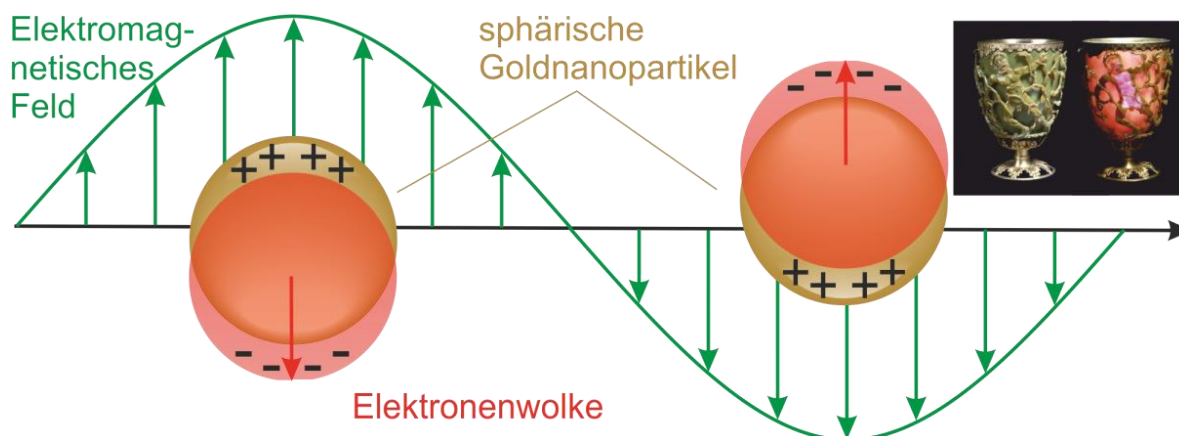


Abb. 2-16. Darstellung der Oberflächenplasmonenresonanz sphärischer Gold-Nanopartikel (nach ^{137, 139}) und Lykurgus Becher (4. Jh. v. Ch., British Museum) bei Reflexion und Transmission von weißem Licht.

Mithilfe der Mie-Theorie, die 1908 von Gustav Mie in seinem Artikel „Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metalllösungen“ veröffentlicht und nach ihm benannt wurde,¹⁴⁰ lässt sich die Oberflächenplasmonenresonanz erklären und berechnen. Sie beschreibt die exakte Lösung der Maxwell-Gleichungen für die Streuung einer ebenen, elektromagnetischen Welle an einem sphärischen Objekt.¹³⁷⁻¹³⁹

2.5 Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF-FFF)

Die Auftrennung verschieden großer Partikel mithilfe der Feld-Fluss-Fraktionierung basiert auf dem folgenden Prinzip (siehe Abb. 2-17): Eine Lösung der Partikel wird in einen sehr dünnen Kanal (typische Höhe z. B. 200 μm) eingespritzt, in dem ein Kraftfeld senkrecht zur Richtung des später angelegten (Haupt-)Flusses wirkt – bei der verwendeten asymmetrischen Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (engl. *asymmetric flow field-flow fractionation*, AF-FFF) ist dies ein zweites Flussfeld, welches dadurch erzeugt wird, dass der Boden des Kanals eine semipermeable Membran ist. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Diffusionskoeffizienten können unterschiedlich große Partikel unterschiedlich weit in dieses Kraftfeld diffundieren und bewegen sich dadurch in verschiedenen Kanalhöhen. Die eigentliche Trennung erfolgt dann durch Anlegen des (Haupt-)Flusses: In dem parabolischen Flussprofil, das sich dabei aufgrund der geringen Kanalhöhe einstellt, werden die Partikel, die sich weiter in der Kanalmitte befinden, früher eluiert als diejenigen in der Nähe des Kanalbodens. Die kleineren Partikel mit ihrem größeren Diffusionskoeffizienten eluieren vor den größeren.

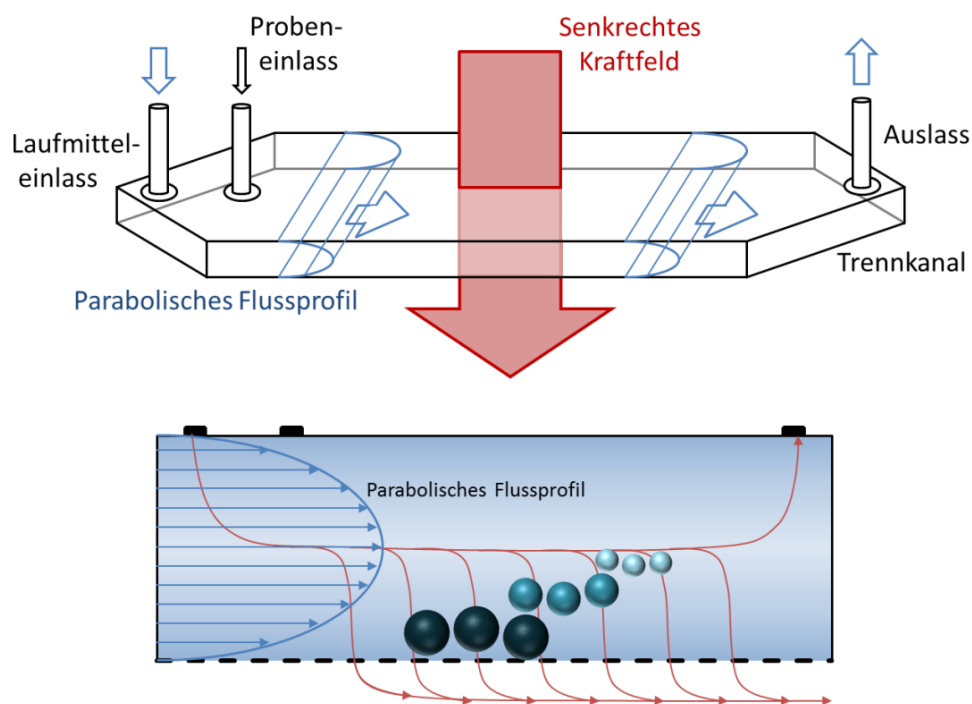


Abb. 2-17. Aufbau des Trennkanals und Trennprinzip der AF-FFF (aus ¹⁴¹).

3 Synthese und Charakterisierung sphärischer Eisenoxid-Nanopartikel

3.1 Einleitung

Im Falle von nanoskaligen Eisenoxiden – Magnetit (Fe_3O_4), Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_4$), Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) und Wüstit (Fe_{1-x}O) – sind mittlerweile zahlreiche Publikationen über mögliche Synthesewege erschienen.^{15, 142, 143} Die ersten Darstellungen von Eisenoxid-Nanokristallen aus Zersetzungsreaktionen von metallorganischen Vorstufen in organischen Lösungsmitteln erfolgten unter Verwendung von Eisenpentacarbonyl in Decalin Ende der 1970er Jahre.^{144, 145} In den letzten Jahren haben sich insbesondere Darstellungsmethoden etabliert, welche die Zersetzung von Eisenoleatkomplexen nutzen.^{31, 146, 147} Eisenoxid-Nanopartikel aus derartigen Zersetzungsreaktionen zeichnen sich durch extrem geringe Größenverteilungen aus und neigen aufgrund einer Ligandenschicht nicht zur Agglomeration, was sie zu hervorragenden Vorstufen für die Nanobiotechnologie macht. Zu diesem Zweck wurden Eisenoxid-Nanopartikel nach zwei Literatursynthesen dargestellt und ausführlich charakterisiert, welche auf die Zersetzung von Eisenoleat basieren.

Die erste Synthese liefert Eisenoxid-Nanopartikel durch oxidative Zersetzung von Eisenpentacarbonyl in Octylether.^{31, 40} Bei dieser Synthese bilden sich zuerst *in situ* Eisenoleat-Komplexe, aus denen sich im weiteren Verlauf durch thermische Zersetzung Eisen-Nanopartikel entstehen. Direkt im Anschluss werden die Eisen-Nanopartikel mit Trimethylamin-*N*-oxid oxidiert.

In der zweiten Synthese werden Eisenoxid-Nanopartikel aus der thermischen Zersetzung von separat hergestellten Eisen(III)-oleat in 1-Octadecen unter Beigabe zusätzlicher Ölsäure dargestellt. Hier beginnt der Eisen(III)oleat-Präkursor sich schrittweise ab ca. 200 °C zu zersetzen und ab ca. 300 °C setzt die Nukleation der Eisenoxid-Nanopartikel ein.^{147, 148}

3.2 Ergebnisse und Diskussion

3.2.1 Infrarotspektroskopie

Nach der Synthese sind die Partikel mit Ölsäure umhüllt und bilden stabile Dispersionen in unpolaren Lösungsmitteln. Die Koordination der Ölsäure an der Oberfläche der Eisenoxid-Nanopartikel bestätigen die IR-Spektren von Ölsäure, Eisen(III)-oleat und den Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisen(III)-oleat im Vergleich (siehe Abb. 3-1). Dank der unveränderten C-H-Valenzschwingungsbanden der Alkylkette um 2900 cm^{-1} und der sich verändernden C=O-Valenzschwingungsbande lässt sich feststellen, dass die Ölsäure an den Partikeln gebunden ist. Die freie Ölsäure zeigt eine scharfe C=O-Valenzschwingungsbande bei 1711 cm^{-1} . In den Spektren des Oleats und der Partikel treten stattdessen zwei breite Banden bei 1541 cm^{-1} und 1435 cm^{-1} auf. In der Literatur werden diese der antisymmetrischen und symmetrischen C-O-Streckschwingung mit einer bidentaten Koordination der Sauerstoffatome der Carboxylgruppe an einem Eisenatom zugeschrieben.⁴⁷ Die vorherrschenden Banden im Spektrum der Eisenoxid-Nanopartikel unterhalb 700 cm^{-1} stammen von Fe-O Schwingungen innerhalb der Partikel.¹⁴⁹ Die sehr breiten Banden bei 3400 cm^{-1} im Oleat- und Partikelspektrum sind typisch für Wasser und rühren wahrscheinlich von nicht trockenem Kaliumbromidpressling her, welcher als Probenmatrix dient.

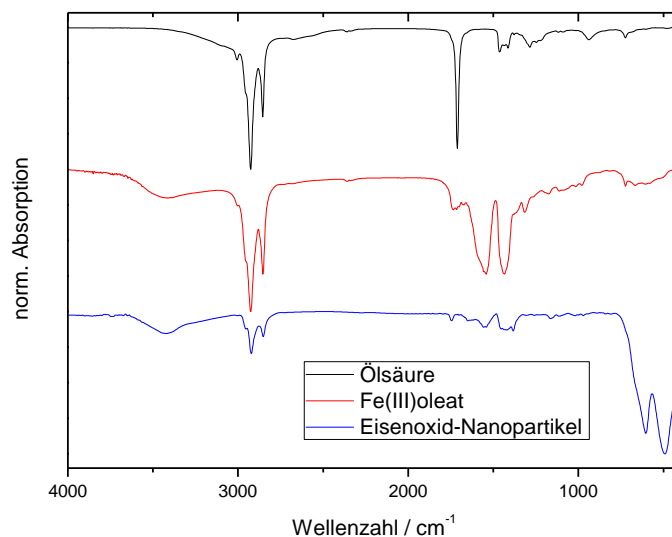


Abb. 3-1. FT-IR-Spektren von Ölsäure, Eisen(III)-oleat und Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt durch thermische Zersetzung von Eisen(III)oleat. Die Spektren wurden normiert, indem die stärkste Bande im jeweiligen Spektrum als 100 % Transmission definiert wurde.

3.2.2 TEM-Charakterisierung und Größenverteilung

In der folgenden Abbildung 3-2 sind TEM-Aufnahmen und Größenverteilung einer Probe aus der oxidativen Zersetzung von Eisenpentacarbonyl wiedergeben. Die Partikel weisen eine sphärische Form auf. Die Ölsäuremoleküle sind aufgrund ihres geringen Streukontrastes nicht auflösbar. Die Auswertung der TEM-Aufnahmen ergab eine Größe von 9.4 nm mit einer sehr geringen Größenverteilung von nur $\pm 4.6\%$, womit die Probe als monodispers ($\sigma < 5\%$) einzustufen ist.

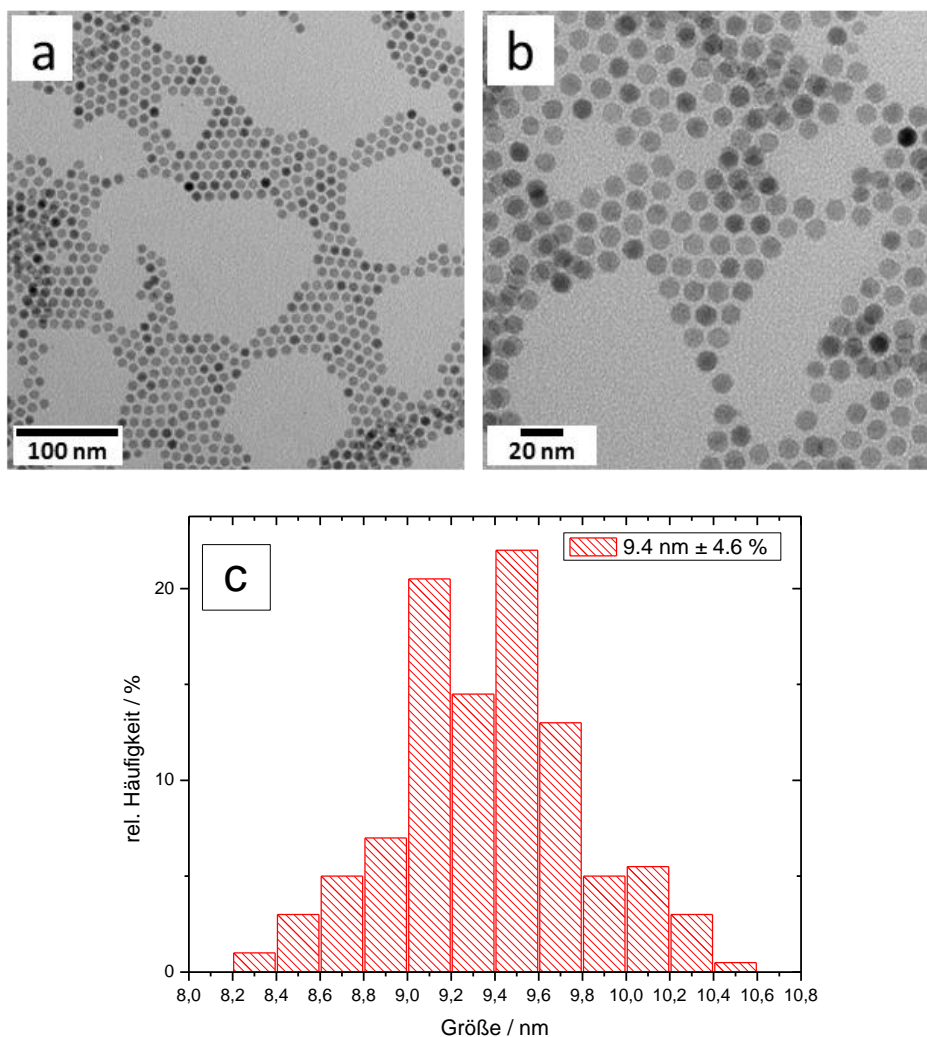


Abb. 3-2. (a, b) TEM-Aufnahmen und (c) Größenverteilung von monodispersen, sphärischen $9.4 \text{ nm} \pm 4.6\%$ $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -Nanopartikeln hergestellt durch oxidative Zersetzung von Eisenpentacarbonyl.

Durch die thermische Zersetzung von separat hergestellten Eisen(III)-oleat konnten verschiedene Größen monodisperser sphärischer Eisenoxid-Nanopartikel in Abhängigkeit der Konzentration an Ölsäure dargestellt werden. In Abbildung 3-3 sind exemplarisch TEM-Aufnahmen und die dazugehörigen Größenverteilungen von Proben verschiedener

Größen gezeigt (13, 16 und 25 nm). Eine Erhöhung der Konzentration an Ölsäure führt zu einer Herabsetzung der Nukleationsrate und somit zur einer gesteigerten Größe (siehe Abb. 2-2).

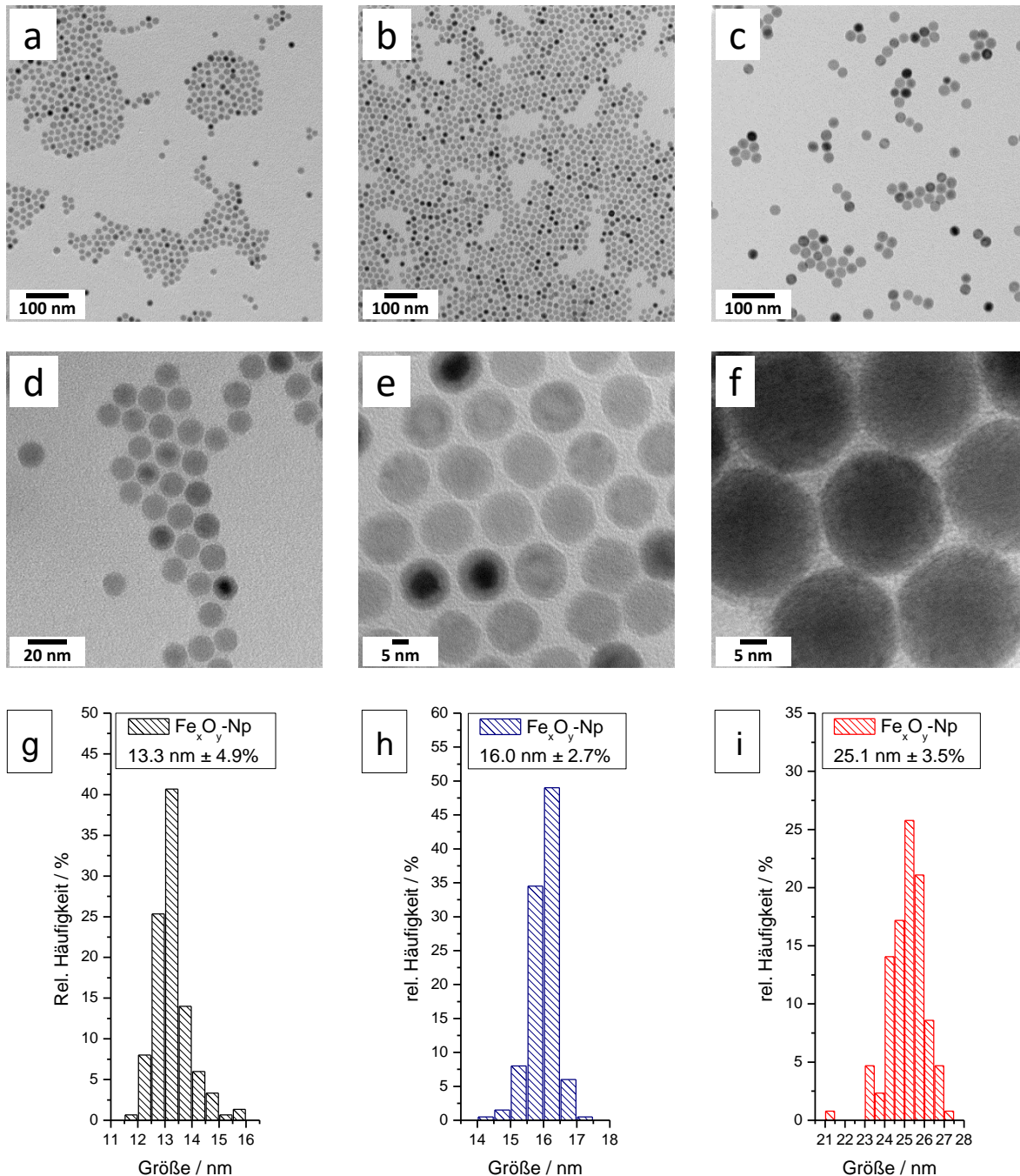


Abb. 3-3. TEM-Aufnahmen und Größenverteilungen monodisperser, sphärischer Eisenoxid-Nanopartikel hergestellt durch thermische Zersetzung von Eisen(III)-oleat. (a, d, g) 13 nm; (b, e, h) 16 nm; (c, f, i) 25 nm.

Im Vergleich zur Literatur¹⁴⁷ war die Partikelgröße stets leicht erhöht, was an der Darstellung und Aufarbeitung der Eisen(III)-oleat-Vorstufe liegen kann, da dies Einfluss auf das Synthesergebnis nehmen kann. Die Aufarbeitung und damit die Reinheit des Eisen(III)-oleats erwiesen sich als wesentliche Faktoren für die Güte der Partikel, ähnlich wie es auch in der Literatur beobachtet wurde.⁴⁷

Für die Mößbauerspektroskopie der Eisenoxid-Nanopartikel aus Eisen(III)-oleat wurden 20 nm Nanopartikel verwendet (siehe Kapitel 3.2.4), wie sie in Abbildung 3-4 abgebildet sind. Die Probe weist eine Größenstandardabweichung von unter 5 % auf. Allerdings sind Partikel mit Größen von 15 bis 26 nm vorhanden.

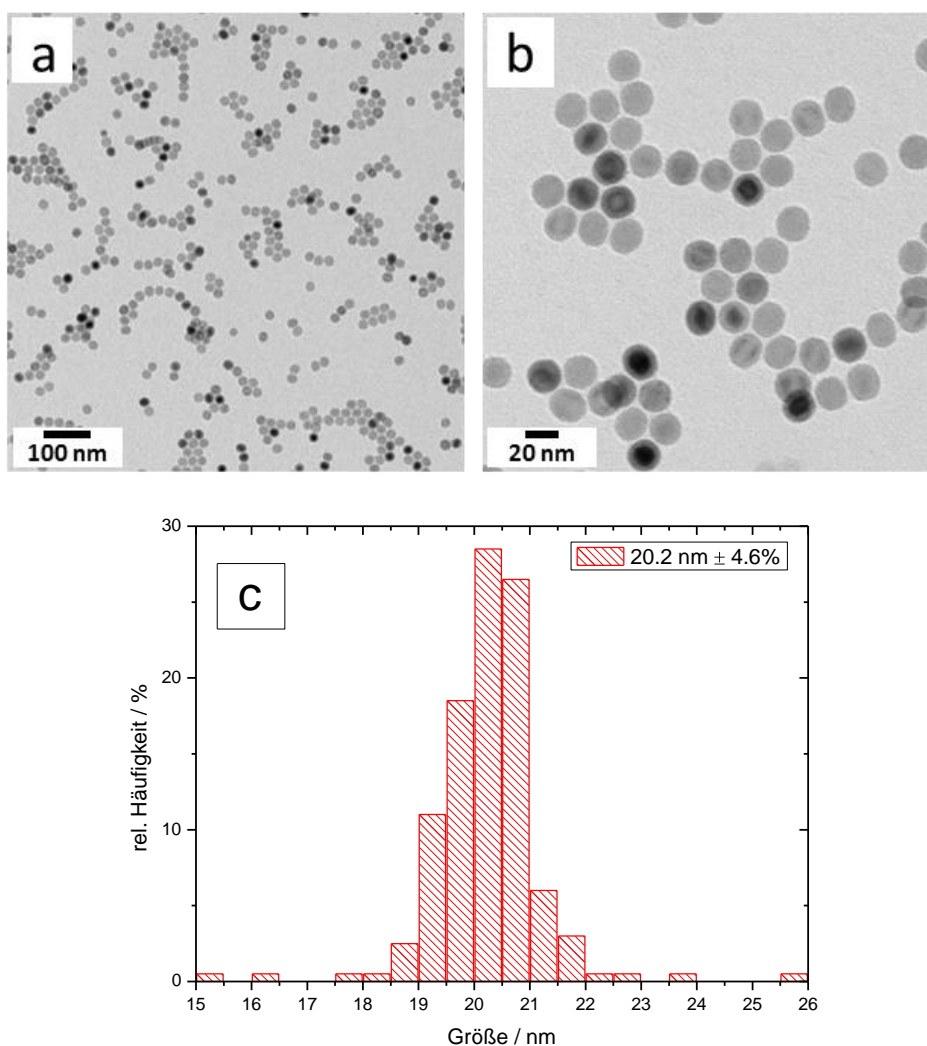


Abb. 3-4. (a, b) TEM-Aufnahmen und (c) Größenverteilung von sphärischen Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt durch thermische Zersetzung von Eisen(III)-oleat.

3.2.3 Röntgendiffraktion

Das Röntgendiffraktogramm der 9 nm Eisenoxid-Nanopartikel aus Eisenpentacarbonyl in Abbildung 3-5 zeigt die charakteristischen Reflexe für Eisenoxid und der aus den Vollprofilanalysen erhaltene Wert für die Gitterkonstante liegt mit $\sim 8.36 \text{ \AA}$ nahe dem Wert von Bulk-Maghemit mit 8.34 \AA .⁹⁵⁻⁹⁷ Zudem steht die ermittelte Kristallitgröße mit $8.6(1) \text{ nm}$ im Einklang mit der aus den TEM-Untersuchungen abgeleiteten Partikelgröße. Die Übereinstimmung der beiden Größen spricht für eine hohe Kristallinität der Partikel.

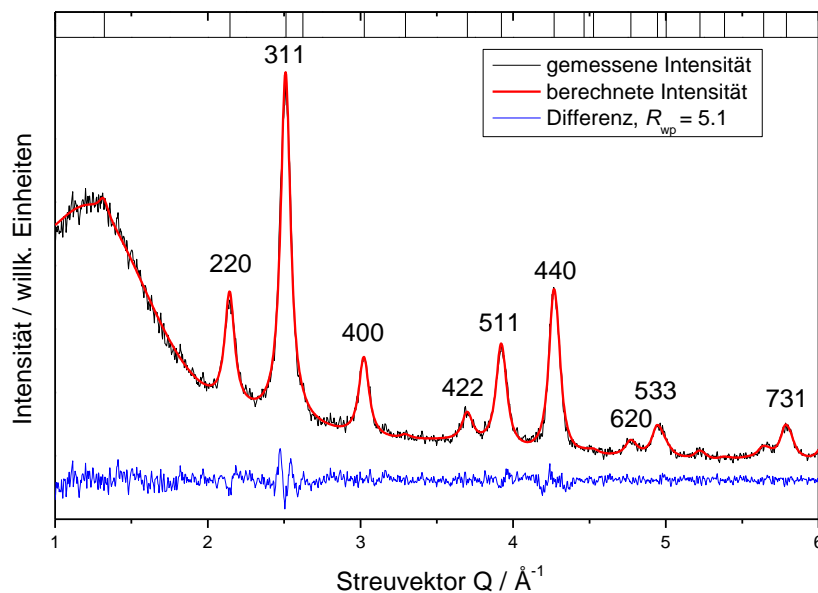


Abb. 3-5. Röntgendiffraktogramm von sphärischen 9 nm $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -Nanopartikeln hergestellt durch oxidative Zersetzung von Eisenpentacarbonyl.

Für die Eisenoxid-Nanopartikel aus Eisen(III)-oleat nähern sich die verfeinerten Daten mit zunehmender Größe (25 nm) den für Maghemit charakteristischen Werten von 8.39 \AA an. Kleinere Eisenoxid-Nanopartikel lassen sich als Mischungen von Maghemit und Magnetit auswerten und es ergeben sich kleinere Gitterkonstanten, wobei die 10 nm Nanopartikel mit ca. 8.36 \AA noch über den Wert von Maghemit liegen. Allerdings gilt es bei der Betrachtung der Werte zu berücksichtigen, dass die Beugungsdaten auf eine eher geringer ausgeprägte Kristallinität hindeuten. Zumal die Kristallitgröße der einzelnen Komponenten von Maghemit und Magnetit stets weit unter der aus der Elektronenmikroskopie ermittelten Partikelgröße lag. Folglich lässt sich hier nur allgemein feststellen, dass ein fließender Übergang von Maghemit zu Magnetit hin stattfindet. Die Abbildung 3-6 zeigt exemplarisch das Röntgendiffraktogramm von 19 nm Eisenoxid-Nanopartikeln. Die berechnete Intensität setzt sich aus Anteilen von Magnetit und Maghemit zusammen.

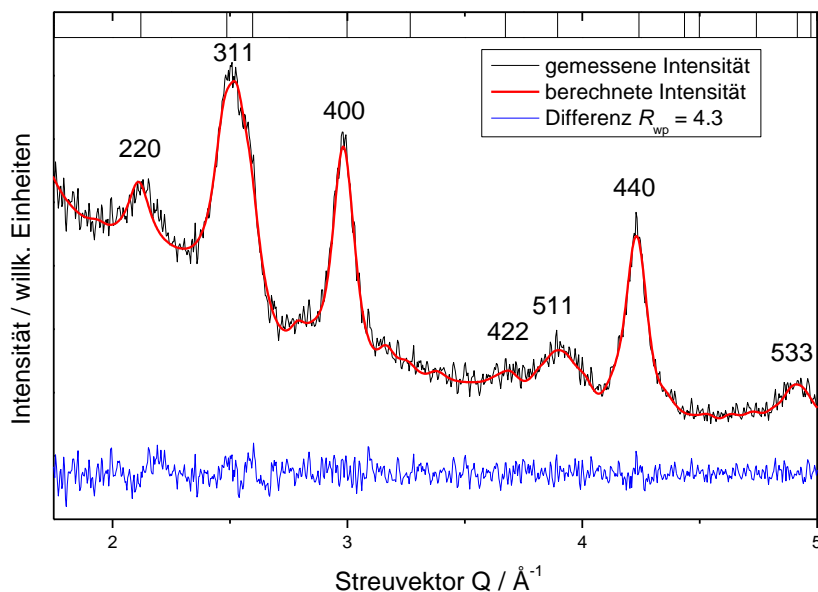


Abb. 3-6. Röntgendiffraktogramm von 19 nm Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt durch thermische Zersetzung von Eisen(III)-oleat.

3.2.4 Mößbauerspektroskopie

Das Mößbauerspektrum bei 5 K der 9 nm Eisenoxid-Nanopartikel aus Eisenpentacarbonyl in Abbildung 3-7 zeigt ein statisches Spektrum mit Hyperfeinfeldaufspaltung. Um die Verteilung der Hyperfeinfeldparameter zu erhalten, wurden die Daten mit einem Voigt-basiertem Fit-Modell mit zwei Sextetten analysiert. Hierbei ergaben sich Isomerieverschiebungen (IS) von 0.31(1) und 0.58(1) mm/s sowie die Quadrupolaufspaltungen (QS) von jeweils 0.00(2) mm/s und den magnetischen Hyperfeinfeldern (H_{hf}) 496(58) und 519(18) kOe, welche sich den Fe^{3+} -Ionen auf den tetra- und octahedralen Plätzen zuordnen lassen (orangene und blaue Linie). Die schwarze Linie entspricht der Summe der gefitteten Linien. Sowohl der Verlauf des Sextetts, bei dem die äußerste Bande im negativen Bereich die stärkste Absorption aufweisen als auch die Werte der Hyperfeinfeldern lassen auf hoch kristalline $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -Nanokristalle schließen.^{100, 150}

Die Abbildung 3-7 zeigt auch die Messung bei 295 K. Da hier nur ein dynamisches Spektrum ohne magnetische Aufspaltung vorliegt, muss die Messtemperatur weit über der Blockierungstemperatur der Maghemit-Nanopartikel liegen. Dementsprechend wurde das Spektrum mit einer dynamischen *Line Shape Site Analyse* (vorgegebenes Hyperfeinfeld von 500 kOe) als Singulett (IS = 0.37(1) mm/s) gefittet.

Des Weiteren wurden für die Untersuchungen mittels Mößbauerspektroskopie sphärische Eisenoxid-Nanopartikel aus Eisen(III)-oleat mit einer Größe von 20 nm verwendet (vgl. Kapitel 3.2.2). Im komplexen Mößbauerspektrum bei 295 K in Abbildung 3-8 waren nicht nur eine Überlagerung von mehreren Sextetten vorhanden,

sondern auch die Anteile eines statischen und dynamischen Spektrums. Die Auswertung der Daten bei 295 K erfolgte mit einer dynamischen *Line Shape Site* Analyse, bestehend aus einem Singulett und drei weiteren Sextetten. Hierbei wurden die Quadrupolaufspaltungen als 0-wertig definiert. Die gefitteten Sextette machten anteilig ca. 70 % des Spektrums aus und entsprachen dem statischen Anteil des Spektrums. Davon ließen sich zwei Sextette mit jeweils ca. 30% Magnetit zuordnen ($IS = 0.52(1)$, $H_{hf} = 418(11)$ kOe, rote Linie; $IS = 0.52(1)$, $H_{hf} = 364(28)$ kOe, blaue Linie) und das dritte Sextett mit ca. 10 % Maghemit ($IS = 0.35(1)$, $H_{hf} = 452(98)$ kOe, orangefarbene Linie). Die restlichen $\sim 30\%$ machte das Singulett ($IS = 1.06(1)$ mm/s, grün) aus, was den dynamischen Anteil bzw. kleinere Kristallite mit superparamagnetischer Relaxation repräsentierte. Die Messtemperatur von 295 K lag somit nahe der Blockierungstemperatur der Probe in der Mößbauerspektroskopie.

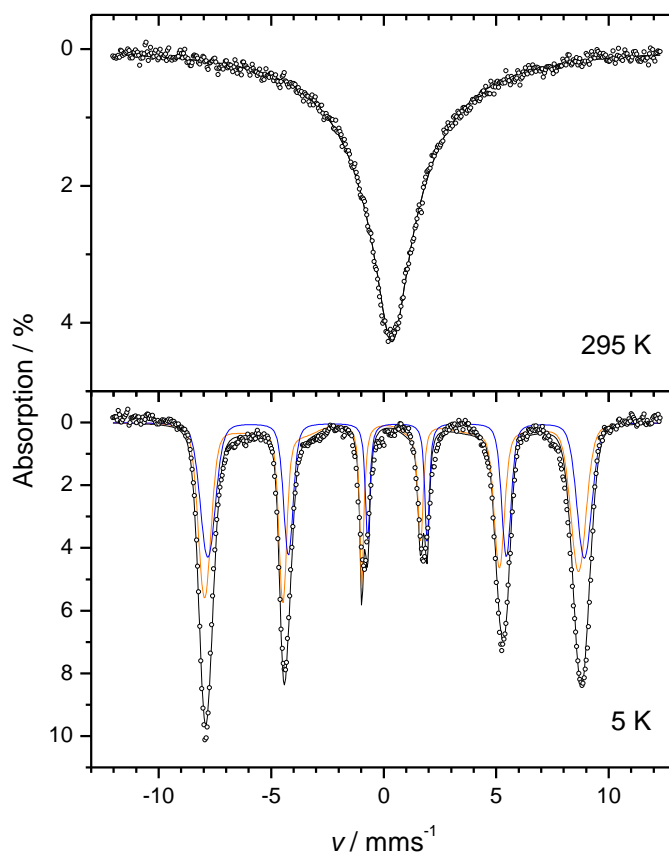


Abb. 3-7. Mößbauerspektrum bei 295 K und 5 K von 9 nm γ - Fe_2O_3 -Nanopartikeln hergestellt durch oxidative Zersetzung von Eisenpentacarbonyl (Messdaten schwarze Punkte, Gesamtfitt schwarze Linie). Bei 295 K zeigen die Partikel superparamagnetische Relaxation.

Die Daten für das statische Spektrum bei 5 K wurden mit einem Voigt-basiertem Fit-Modell mit drei Sextetten gefittet (siehe Abb. 3-8). Auch hier lassen sich zwei Sextette ($IS = 0.96(1)$ mm/s, $QS = -0.18(2)$ mm/s, 457(72) kOe, rote Linie; $IS = 0.62(1)$ mm/s,

QS = 0.00(2) mm/s, 506(23) kOe, blaue Linie) Magnetit zuordnen und eines Maghemit (IS = 0.34(1) mm/s, QS = 0.00(2) mm/s, 505(17) kOe, orangefarbene Linie). Allerdings führt nicht nur die nanoskalige Größe des Materials, sondern auch die nichtstöchiometrische Zusammensetzung der Partikel zu Abweichungen der Werte von idealen Bulk-Magnetit und -Maghemit, was die Auswertung der Spektren erschwert.^{151, 152}

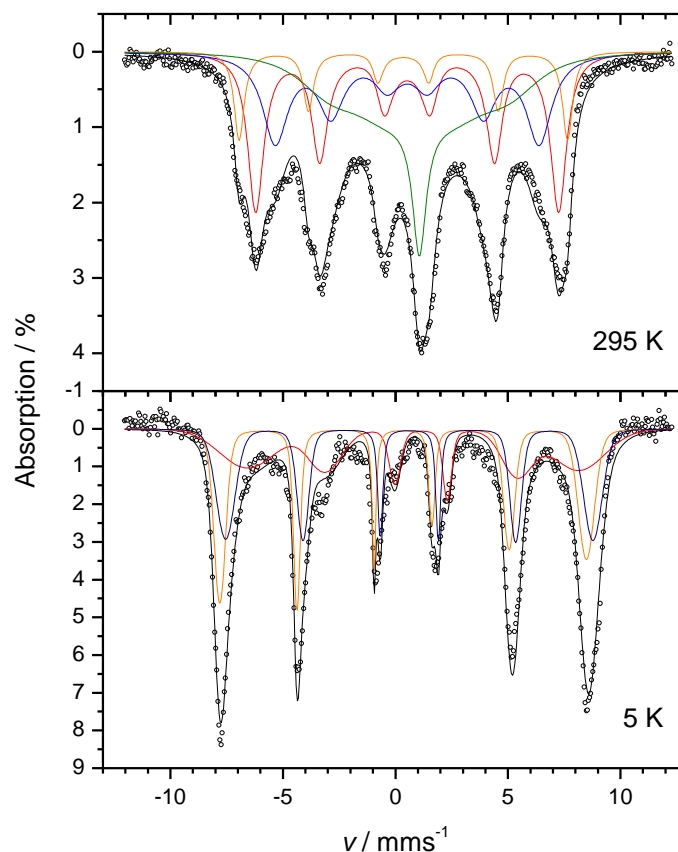


Abb. 3-8. Mößbauerspektrum bei 295 K und 5 K von 20 nm Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt durch thermische Zersetzung von Eisen(III)-oleat (Messdaten schwarze Punkte, Gesamtfitt schwarze Linie). In beiden Spektren sind Anteile von Maghemit (orange) und Magnetit (rot, blau) vorhanden. Bei 295 K weist ein Teil der Partikel superparamagnetische Relaxation auf (grün).

Das Gesamtverhältnis Magnetit zu Maghemit beträgt nach den gefitteten Daten bei 5 K ungefähr 2:1. Im Vergleich mit dem Verhältnis beim statischen Anteils des Spektrums bei 295 K (6:1) zeigt sich, dass bei den kleineren Kristalliten die Maghemitphase vorherrscht, während bei den größeren Kristallite die Magnetitphase dominiert. Dies ist im Einklang mit den Ergebnissen der Röntgendiffraktion und der Literatur.¹⁴⁷ Der Anstieg der Magnetitphase mit zunehmender Größe wird den Zersetzungsprozessen des Eisen-Oleat-Komplexes zugeschrieben.¹⁴⁸

3.2.5 SQUID-Magnetometrie

Bei der Messung des magnetischen Moments m in Abhängigkeit eines angelegten Magnetfeldes bei 300 K wurde kein Koerzitivfeld von den 9 nm Maghemit-Nanopartikeln aufgebaut. Sie verhielten sich bei Raumtemperatur superparamagnetisch (siehe Abb. 3-9 a). Im Gegensatz dazu bildete sie bei 5 K eine Hysteresekurve aus. Die Blockierungstemperatur, welche aus der ZFC-Kurve bestimmt wurde, betrug 101 K (siehe Abb. 3-9 b). Die Sättigungsmagnetisierung näherte sich 40 emu/g an und stimmte mit der Literatur überein.^{40, 41, 111} Sie lag damit deutlich unter dem Wert von Bulk-Maghemit mit ~80 emu/g.^{97, 153}

Anhand der Magnetisierungskurven bei 5 K und 300 K ist deutlich zu erkennen, dass Eisenoxid-Nanopartikel aus Eisen(III)-oleat mit einem Durchmesser von 16 nm ebenfalls bei Raumtemperatur (300 K) superparamagnetisches Verhalten zeigten (siehe Abb. 3-10 a).

Die Sättigungsmagnetisierung ging gegen 25 emu/g, erreichte aber noch kein Plateau. Sie lag damit unter dem Wert des Volumenmaterials sowohl von Maghemit (~80 emu/g)^{97, 153} als auch von Magnetit (90 – 100 emu/g)^{6, 7, 97}. Sie war im Vergleich auch niedriger als die kleineren 9 nm Maghemit-Nanopartikel. Da die Ergebnisse der Röntgendiffraktion und Mößbauerspektroskopie im Gegensatz zu den Maghemit-Partikeln nur auf eine geringe Kristallinität der Eisenoxid-Nanopartikel hindeuteten, ist davon auszugehen, dass die verminderte Sättigungsmagnetisierung auf die Spinverkipfung im Bereich der Oberfläche zurückging. Diese wurde entweder durch eine verringerte Koordination und unterbrochenen Austausch an der Oberfläche oder gebrochener Symmetrie in Kombination mit Fehlordnungen im Kristall verursacht (siehe Kapitel 2.3.6).

Zudem trat eine geringe Verschiebung der Hysteresekurve auf, so dass diese nicht mehr symmetrisch zum Koordinatenursprung war. Dieser Exchange Bias-Effekt wurde bei verschiedenen magnetischen Nanopartikeln beobachtet und ein Kern-Schale-Prinzip postuliert, bei dem Austauschwechselwirkungen zwischen den Spins des Kerns und der Oberfläche stattfinden, wie es auch beispielsweise bei Maghemit-Magnetit-Kern-Schale-Partikeln vorgefunden wurde.¹⁵⁴

Die FC- und ZFC-Kurve in Abbildung 3-10 b zeigen den charakteristischen Verlauf für superparamagnetische Nanopartikel und die Blockierungstemperatur betrug 207 K. Auch hier deckten sich die Resultate der magnetischen Messungen mit der Literatur.¹⁴⁷ In der ZFC-Kurve trat eine Stufe zwischen 100 und 150 K auf, welche möglicherweise ihre Ursache im Verwey-Übergang des Materials hatte (siehe Kapitel 2.2). Auf dieses experimentelle Phänomen wird in Kapitel 5.2.7 näher eingegangen.

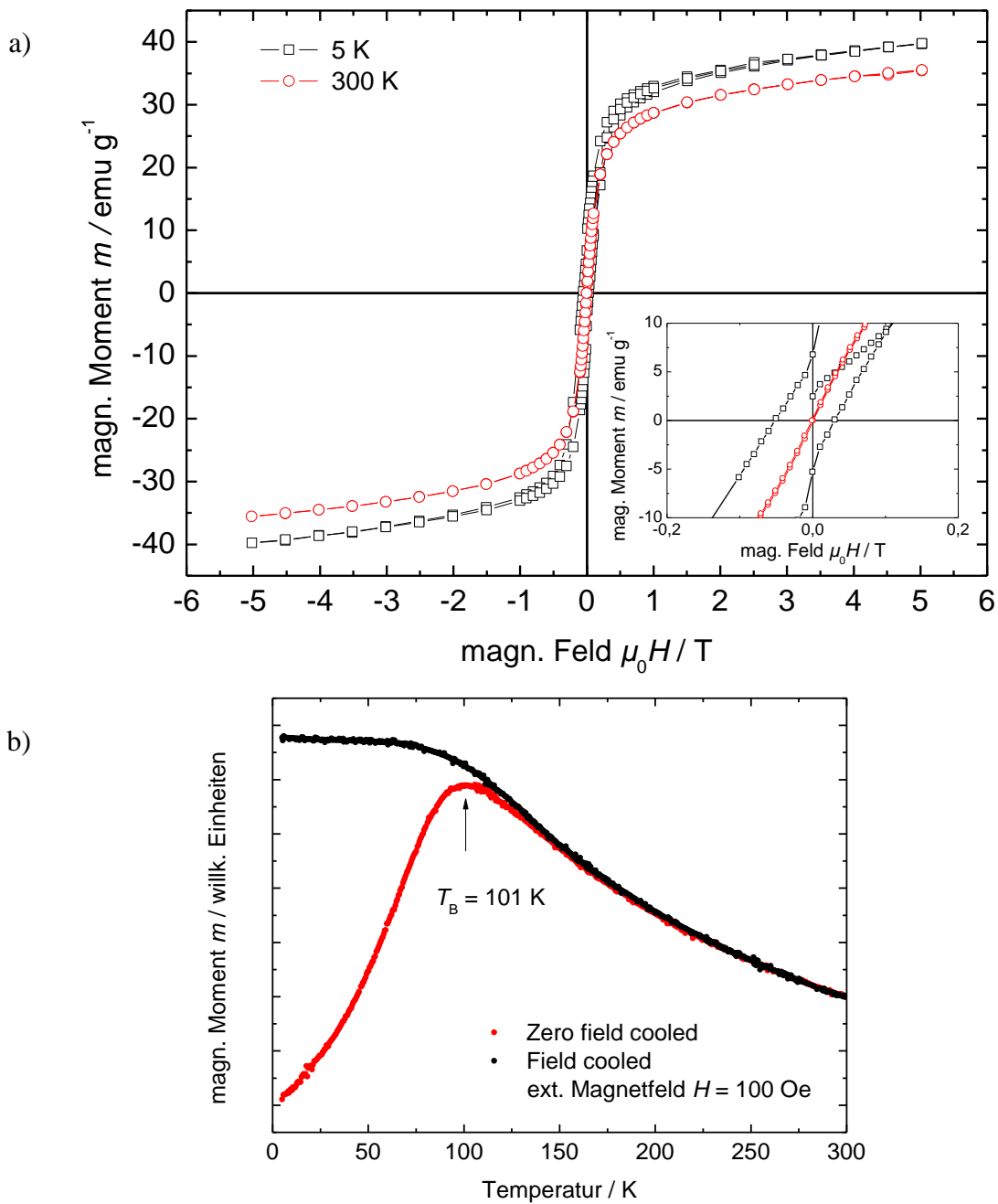


Abb. 3-9. Magnetisierungskurve in Abhängigkeit von (a) dem Magnetfeld und (b) von der Temperatur von sphärischen 9 nm $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -Nanopartikeln. Die vergrößerte Darstellung um den Koordinatenursprung in (a) verdeutlicht das superparamagnetische Verhalten der Nanopartikel mit $H_C = 0$ bei 300 K.

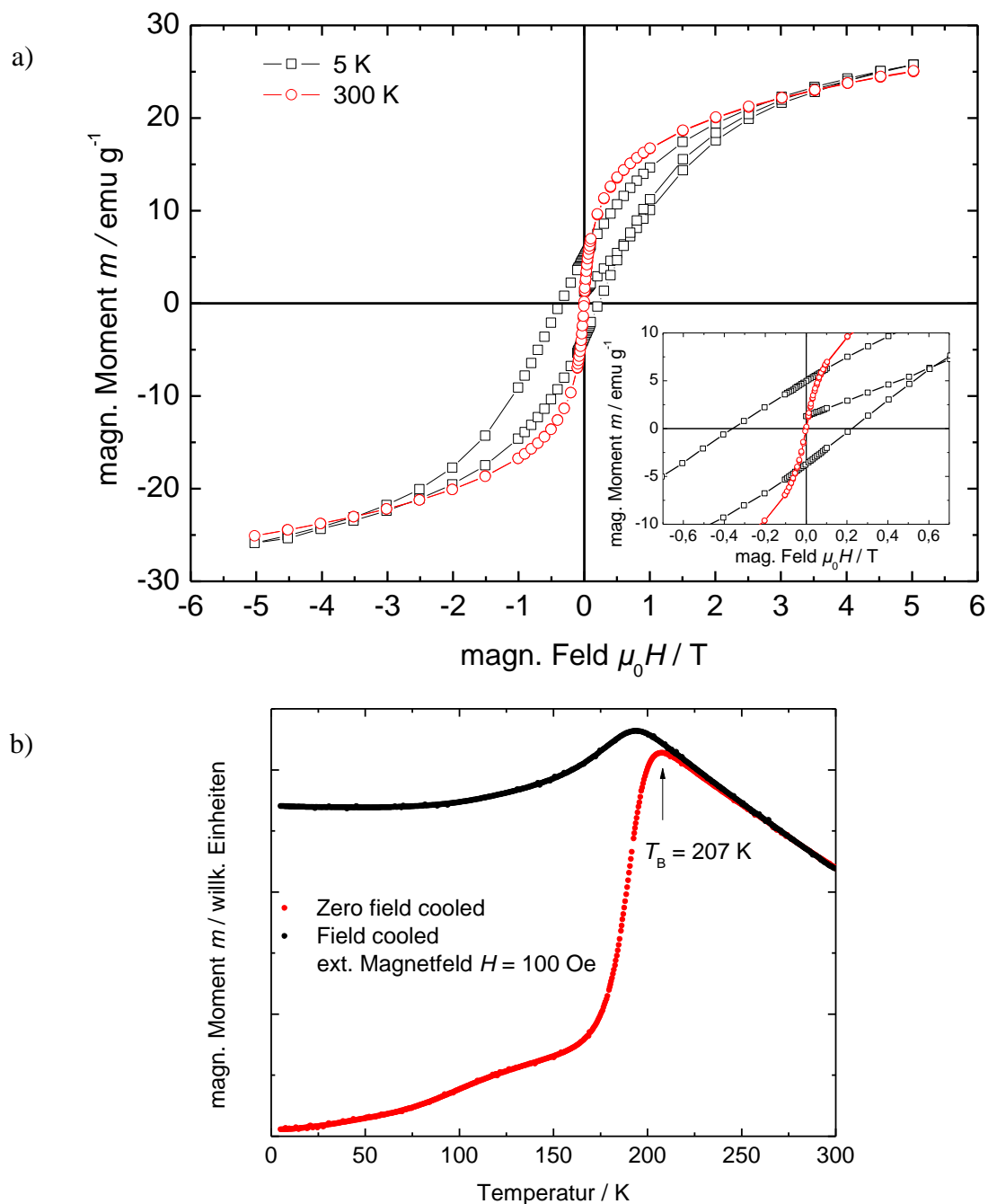


Abb. 3-10. Magnetisierungskurve in Abhängigkeit von (a) dem Magnetfeld und (b) von der Temperatur von sphärischen 16 nm Eisenoxid-Nanopartikeln. Die vergrößerte Darstellung um den Koordinatenursprung in (a) verdeutlicht das superparamagnetische Verhalten der Nanopartikel mit $H_C = 0$ bei 300 K.

3.3 Zusammenfassung und Ausblick

Mittels zweier unterschiedlicher Synthesen konnten monodisperse, sphärische superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel in Größen zwischen 9 bis 25 nm hergestellt werden. Röntgendiffraktion und Mößbauer-Untersuchungen wurden zur Phasenanalyse herangezogen. Bei den Nanopartikeln, welche aus der thermischen Zersetzung von Eisenpentacarbonyl mit anschließender Oxidation von Trimethylamin-*N*-oxid erhalten wurden, handelte es sich bei einer Größe von 9 nm um gut kristallisierte Maghemit-Partikel. Dahingegen bestanden die Eisenoxid-Nanopartikel, welche aus der thermischen Zersetzung von Eisen(III)-oleat stammten, aus einer Mischung aus Maghemit und Magnetit. Das Verhältnis hing von der Partikelgröße ab und verschob sich mit zunehmender Größe von der oxidierten γ -Fe₂O₃-Phase zur teiloxidierten Fe₃O₄-Phase hin.

Der Superparamagnetismus beider Eisenoxid-Nanopartikelsorten wurde anhand von SQUID und Mößbauermessungen bestätigt. Die Sättigungsmagnetisierungen der Nanopartikel lagen mit ca. 40 emu/g unter dem Wert der makroskopischen Festkörper. Die Eisenoxid-Partikel mit Mischphase weisen im Vergleich zu den Maghemit-Nanopartikeln einen niedrigeren Sättigungswert auf, was an der geringen Kristallinität lag und zu einer erhöhten Spinverkantung führte.

Die beiden Synthesen zeichnen sich durch eine gute Reproduzierbarkeit aus und lieferten Partikel mit einer leichten Dispergierbarkeit und einer langen Stabilität in unpolaren Medien. Für die Darstellung der Eisenoxid-Nanopartikel mit Mischphase stellte sich die Vorstufe des Eisen(III)-oleat als ein wesentlicher Parameter für das Synthesergebnis heraus.

Aufgrund der variablen Größe sowie ihrer Synthese in großem Maßstab von mehreren Gramm fanden ausschließlich Eisenoxid-Nanopartikel für weitere Experimente Verwendung.

3.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

3.4.1 Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisenpentacarbonyl

Die ca. 9 nm großen Eisenoxid-Nanopartikel wurden durch oxidative Zersetzung von Eisenpentacarbonyl nach Hyeon und Mitarbeiter hergestellt.⁴⁰ Die Reaktion wurde unter Argonatmosphäre durchgeführt. Zunächst wurden 1.28 g (4.56 mmol) Ölsäure, 10 ml

Dioctylether auf 100 °C erhitzt und 0.2 ml (1.52 mmol) Fe(CO)₅ injiziert. Anschließend wurde die Reaktionslösung 1 h unter Rückfluss erhitzt. Nachdem sie auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurden 0.34 g (4.56 mmol) (CH₃)₃NO beigegeben und die Reaktionslösung wieder auf 130 °C für 2 h erhitzt. Daraufhin wurde die Reaktionslösung langsam auf Rückfluss gebracht und für 1 h dort gehalten. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Nanopartikel mit Ethanol (ca. 60 ml) gefällt, für 10 min bei 9000 U/min zentrifugiert und wieder in Hexan (ca. 15 ml) gelöst. Der Waschvorgang wurde zwei weitere Male wiederholt. Die Nanopartikel wurden in Hexan bei 4 °C gelagert.

3.4.2 Synthese von Eisen(III)-oleat

Für die Synthese von Fe(oleat)₃ nach Jana *et al.*¹⁵⁵ wurden 27.0 g (150 mmol) FeCl₃·6H₂O in 500 ml Methanol gelöst und langsam zu einer Lösung von 12.0 g NaOH in 800 ml Methanol bei Raumtemperatur getropft. Die Lösung färbte sich zunächst orange und ein brauner Niederschlag fiel schon während der Zugabe aus. Nach beendeter Zugabe wurde noch 30 min gerührt. Der Überstand wurde abdekantiert. Um überschüssige Ölsäure, andere organische Bestandteile und Salzreste zu entfernen, wurde das Eisen(III)-oleat 4-mal mit Methanol gewaschen, in Hexan gelöst und mit Reinstwasser ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wurde verworfen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel erst im Grobvakuum und abschließend im Feinvakuum entfernt. Es blieb ein rotbrauner, wachsartiger Feststoff zurück.

3.4.3 Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisen(III)-oleat

Die Synthese der Eisenoxid-Nanopartikel erfolgte nach Park *et al* mit leichten Abänderungen.¹⁴⁷ Für 16 nm Nanopartikel wurden 1.8 g (2 mmol) Eisen(III)-oleat, 317 ml (1 mmol) Ölsäure in 10 ml 1-Octadecen gelöst und mittels Schlenk-Apparatur bei 70 °C 3-mal evakuiert und mit Argon geflutet. Die Reaktionslösung wurde mit einer Heizrate von 3.3 °C auf Rückflusstemperatur (315 – 320 °C) erhitzt und dort für 30 min belassen. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Partikel mit Ethanol und Zentrifugation bei 9000 U/min für 10 min gefällt. Der Überstand wurde verworfen und der Niederschlag in Hexan gelöst und wiederholt mit Ethanol und Zentrifugieren gefällt. Nach erneutem Lösen in 20 ml Hexan und Zugabe von ca. 0.1 ml Ölsäure, wurde die Lösung für 5 min bei 9000 U/min zentrifugiert. Diesmal wurde der kaum vorhandene Bodensatz verworfen und der Überstand bei 4 °C unter Argon gelagert.

4 Studien zur Formgebung von Eisenoxid-Nanopartikeln mittels Kupferadditiven

4.1 Einleitung

In den letzten Jahren wurde an zahlreichen Beispielen belegt, dass nicht nur die Größe die Eigenschaften von Nanopartikeln maßgeblich beeinflusst, sondern auch ihre Form. Es konnten verschiedene Formen von unterschiedlichen Nanopartikeln dargestellt werden.^{1, 2, 87, 156-159}

Die Nanopartikelform wird im Wesentlichen von drei Faktoren bestimmt, nämlich der kristallinen Phase, der Oberflächenenergie und des (thermodynamisch oder kinetisch kontrollierten) Wachstums.^{87, 156} Die Oberflächenenergie der kristallographischen Flächen eines Kristallkeims übt starken Einfluss auf das anisotrope Wachstum des Nanokristalls aus. Flächen mit hoher Oberflächenenergie wachsen schnell und Flächen mit niedriger Oberflächenenergie langsam, so dass die schneller wachsenden Flächen mit der Zeit verschwinden und der Kristall von der am langsamsten wachsenden Flächen begrenzt wird. Bei gleichen Wachstumsraten entlang der verschiedenen Kristallachsen entstehen sphärische bzw. quasisphärische Partikel, wie beispielsweise Kuboktaeder. Wenn die Wachstumsrate entlang der $\langle 111 \rangle$ Richtung schneller als die in $\langle 100 \rangle$ Richtung ist, entstehen Nanokuben.

Die Oberflächenenergie und die Wachstumsgeschwindigkeit entlang bestimmter Richtungen können durch verschiedene experimentelle Parameter gezielt beeinflusst werden, wie unter anderem durch Zugabe von oberflächenaktiven Substanzen. Das Steuern der Nanokristallform unter Verwendung eines Liganden kann so verstanden werden, dass die Energien einzelner Kristallflächen durch Chemiesorption des Liganden thermodynamisch begünstigt werden.^{1, 2} Mithilfe von *ab initio* Kalkulationen konnte eine freigesetzte Bindungsenergie bei der Bindung von Zitronensäure an eine Ag(111)-Oberfläche von 13.8 kcal/mol errechnet werden, wohingegen aufgrund des unterschiedlichen Bindungsverhaltens der Zitronensäure sich für eine Ag(100)-Oberfläche lediglich 3.7 kcal/mol ergaben.¹⁶⁰

Bei Eisenoxid-Nanopartikel wurde – neben der sphärischen Form – über eine Liganden-vermittelte Formkontrolle insbesondere die kubische Morphologie erhalten,¹⁶¹ und zwar beispielsweise durch die Zugabe von Natriumoleat.^{44, 162-165} In einer Studie von Gao *et al.* konnte mit Trioctylphosphinoxid als zusätzliche, oberflächenaktive Substanz

nahezu ausschließlich kubenförmige Proben synthetisiert werden. Andere Zusammensetzungen lieferten inhomogene Proben an Eisenoxid-Nanopartikeln mit unterschiedlichen Formen.¹⁶⁶

Sun und Mitarbeiter synthetisierten kubische MnFe_2O_4 -Nanopartikel durch die Reaktion von Eisen(III)-acetylacetonat und Mangan(II)-acetylacetonat mit 1, 2-Hexadecandiol als Reduktionsmittel in Dibenzylether in Gegenwart von Oleylamin und Ölsäure,^{167, 168} ähnlich wie sie hier geführt wurde. Als bei der Synthese der MnFe_2O_4 -Nanopartikel das Verhältnis von Surfactant/ $\text{Fe}(\text{acac})_3$ unter 3:1 gesenkt wurde, wurden quasisphärische Partikel erhalten.¹⁶⁸ Insbesondere sei hier auf die Arbeit von Yang *et al.*¹⁶⁹ verwiesen, die nach der gleichen Synthese wie Sun und Mitarbeiter kubische statt sphärische Eisenoxid-Nanopartikeln ohne zusätzliche Additive darstellen konnten. Es wurden lediglich die Heizdauer und die Menge an 1,2-Hexadecandiol abgeändert sowie das Ölsäure- zu Oleylaminverhältnis auf 4:1 angehoben. Sie erklären diese Ergebnisse damit, dass die Carboxylgruppe der Ölsäure selektiv an unterschiedliche Kristallflächen bindet, während die schwache Bindung des Amins isotrop ist. Anhand der Mengenzusammensetzung wurde so eine Kontrolle der Reaktivität der Carboxylgruppe erreicht, welche zu veränderten Wachstumsdynamiken führte. Des Weiteren konnten in mehreren Publikationen durch Variationen diverser Reaktionsparameter kubische Eisenoxid-Nanopartikel realisiert werden.^{35, 147, 170-174}

Basierend auf den Arbeiten von Sun und Mitarbeiter^{146, 168, 175} wurde in unserer Arbeitsgruppe die Synthese von Ferrit-Nanopartikeln aus der thermischen Zersetzung von Eisen(III)-acetylacetonat untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass die Zugabe von Kupfer(II)-acetylacetonat die Form von Magnetit-Nanopartikeln beeinflussen kann und eine Synthese für kubische Fe_3O_4 -Nanopartikel erarbeitet.¹⁷⁶ Diese zu optimieren und zu prüfen, ob die Zugabe von Kupferadditiven eine generelle Formkontrolle bei der Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln erlaubt, ist Gegenstand dieses Kapitels (siehe Abb. 4-1).

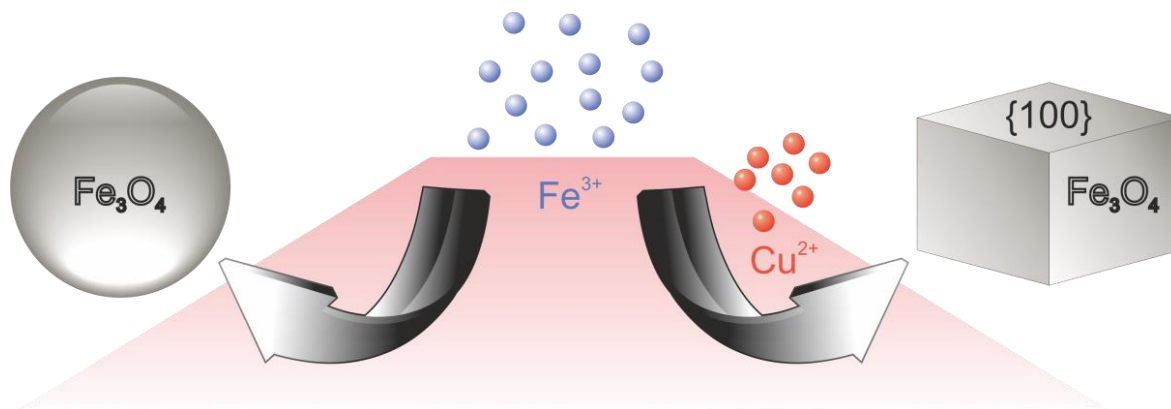


Abb. 4-1. Schema zum formgebenden Einfluss von Kupfer als Additiv bei der Synthese von Magnetit-Nanopartikeln.

4.2 Ergebnisse

Für die Synthese von kubischen Eisenoxid-Nanopartikeln wurden die Präkursor Eisen(III)- und Kupfer(II)-acetylacetonat im Verhältnis 2:1 in Diphenylether vorgelegt und äquimolare Mengen an Oleylamin und Ölsäure als oberflächenaktive Liganden beigegeben. Ein Überschuss an 1,2-Hexadecandiol diente als mildes Reduktionsmittel. Um monodisperse Proben nach dem Mechanismus von LaMer zu erhalten (siehe Kapitel 2.1), wurde die Reaktion 2 h bei 195 °C gehalten, da sich bei dieser Temperatur das $\text{Fe}(\text{acac})_3$ zersetzt.³⁷ Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf Rückflusstemperatur (~259 °C) erhitzt. Die Nanopartikel wurden durch Fällung mit Ethanol und Zentrifugieren vom Reaktionsrückstand abgetrennt.

Diese Synthesevorschrift liefert Eisenoxidkuben wie sie in der TEM-Aufnahme in Abbildung. 4-2 zu sehen sind – hier mit einem Durchmesser von 13 bis 15 nm. Wie auch hier zu erkennen, waren stets sphärische Nanopartikel und andere Formen in unterschiedlichen Größen vorzufinden.

Exemplarisch sind in Abbildung 4-2 zwei Röntgendiffraktogramme von unterschiedlichen Größenverteilungen wiedergeben. Die Werte der Gitterkonstanten, die aus den Verfeinerungen erhalten wurden, schwankten stets um 8.37 Å mit Abweichungen von ca. 0.05 Å. Ein wichtiges Merkmal ist, dass hier keine Reflexe von kristallinen Kupferverbindungen in den Diffraktogrammen auftraten. Die Röntgendiffraktogramme aller Proben sind mit denen in Abbildung 4-2 a und b kongruent und daher im Folgenden nur gezeigt, wenn sie zusätzliche Informationen liefern. Zugleich wiesen atomabsorptionsspektroskopische Messungen sämtlicher Proben mit Kupferadditiven keinen nennenswerten Kupferanteil auf. Der Anteil lag in der Regel weit unter 5 %.

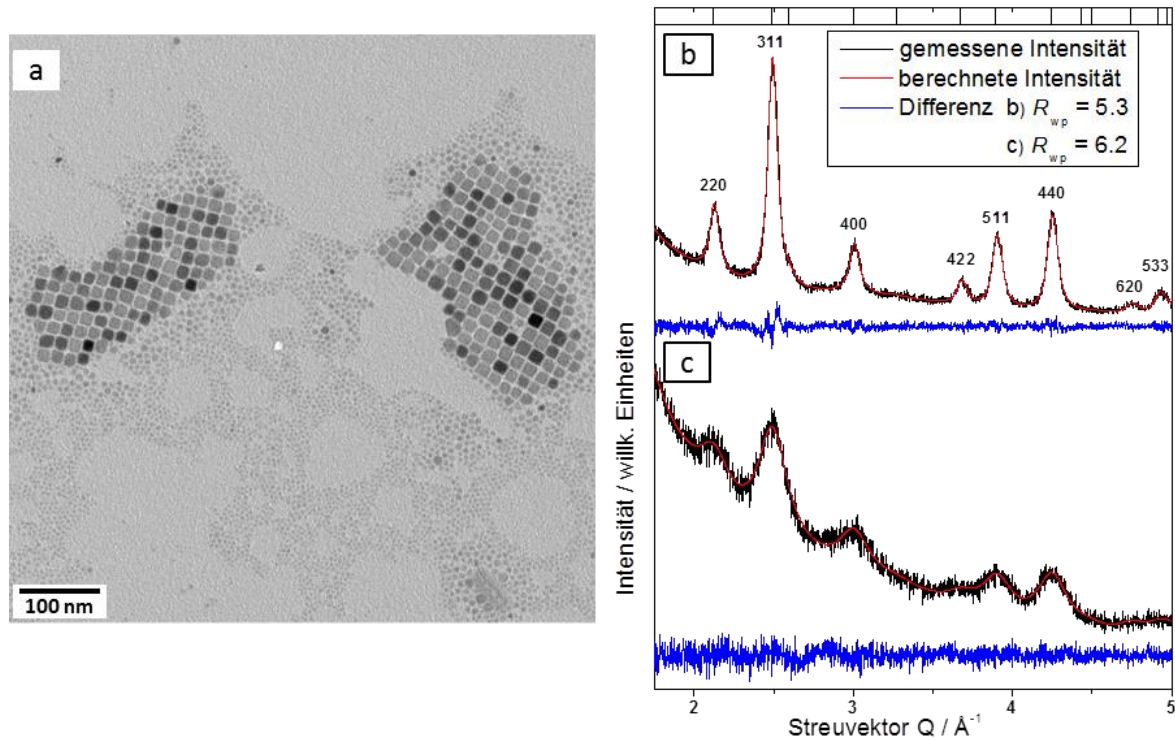


Abb. 4-2. a) TEM-Aufnahme und b, c) Röntgendiffraktogramme von Fe_3O_4 -Kuben hergestellt mit Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat (nach ¹⁷⁶).

Die Kontrollreaktionen ohne Kupfer lieferten 3 bis 4 nm große sphärische Eisenoxid-Nanopartikel (siehe Abb. 4-3), wie von Sun und Mitarbeiter beschrieben.¹⁴⁶

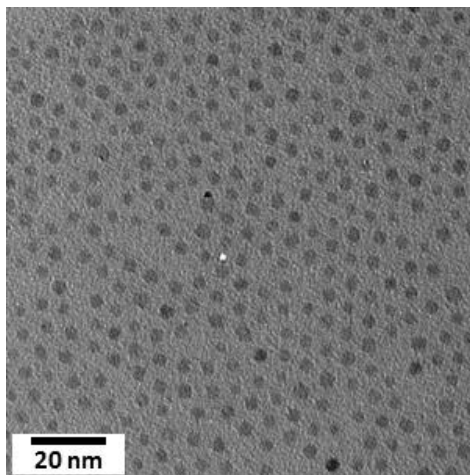


Abb. 4-3. TEM-Aufnahme von sphärischen Fe_3O_4 -Nanopartikeln (~ 4 nm) hergestellt ohne Zusatz von Cu.

Um den Einfluss von Kupferverbindungen auf die Reaktion näher zu untersuchen, wurden in einer Versuchsreihe verschiedene Reaktionsparameter variiert. Ansätze ohne Oleylamin lieferten ebenfalls Proben mit hoher Ausbeute an Kuben. Die Abbildung 4-4 zeigt das Diffraktogramm mit der dazugehörigen TEM-Aufnahme. Auffällig waren hier die veränderten Intensitäten der Reflexe. Im Kontrast zu den Diffraktogrammen in Abbildung 4-2 c, wiesen der (400) und der (440) Reflex erhöhte Intensitäten auf, während der (311) Reflex deutlich schwächer in Erscheinung trat. Diese Intensitätsverschiebung kann damit erklärt werden, dass bei kubischen Nanopartikeln in einer Anordnung (engl. *assembly*) eine bevorzugte Kristallausrichtung der {100} Ebenen parallel zum Träger auftreten kann.^{168, 169} Der Wert der Gitterkonstante mit $8.34(1) \text{ \AA}$ lag hier bei den für Maghemit typischen Werten.

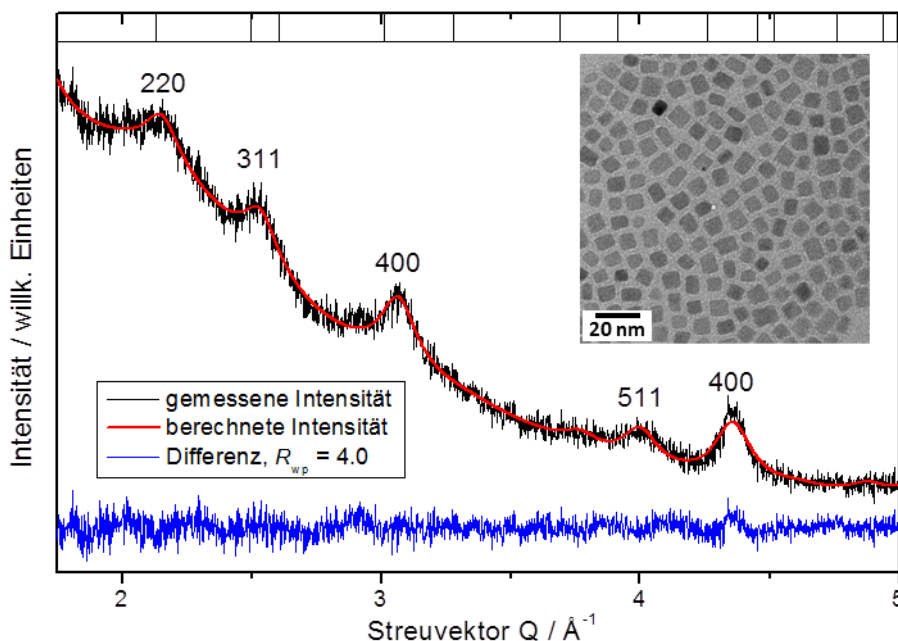


Abb. 4-4. Röntgendiffraktogramm mit Einschub TEM-Aufnahme von kubischen Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt mit Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat und ohne Zusatz von Oleylamin.

Als zusätzliche Kontrolle wurden Reaktionen ohne die Anwesenheit von Oleylamin und Kupfer(II)-acetylacetonat durchgeführt. Diese Proben wurden polydispers und verschiedene Formen traten auf, wie es exemplarisch in Abbildung 4-5 zu sehen ist.

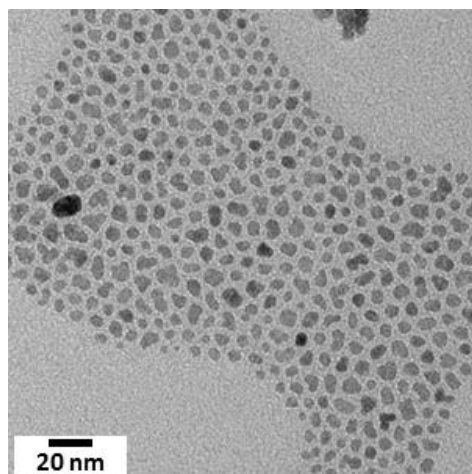


Abb. 4-5. TEM-Aufnahme von Eisenoxid-Nanopartikeln hergestellt ohne Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat und Oleylamin.

Zudem wurde ein möglicher Einfluss des Lösungsmittels untersucht. Der Ersatz von Phenylether als Lösungsmittel durch äquivalente Volumina an Trioctylamin oder 1-Octadecen zeigte keinen wesentlichen Einfluss auf die Reaktionsergebnisse, wohingegen die Proben mit Dibenzylether eine breitere Streuung an Größe und Formen aufwiesen (siehe Abb. 4-6).

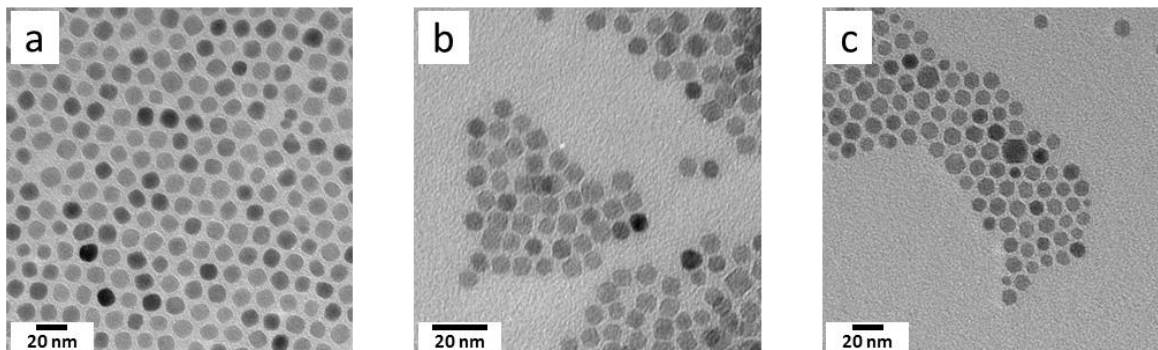


Abb. 4-6. TEM-Aufnahmen Eisenoxid-Nanopartikel hergestellt in a) *n*-Trioctylamin, b) 1-Octadecen und c) Dibenzylether unter Zusatz von Kupfer(II)-acetylacetonat.

Die Ergebnisse unter Verwendung von Kupfer(II)-formiat anstelle von Kupfer(II)-acetylacetonat deckten sich mit denen des Kupfer(II)-acetylacetonats. Die Proben, in denen das Kupfer(II)-formiat als Hydrat verwendet wurde und nicht getrocknet vorlag, lieferten homogenere Proben. Ein Austausch des Kupferpräkursors durch Silber(I)-carbonat als Metall mit ähnlichen chemischen Eigenschaften bezüglich Bindungseigenschaften von Aminen bewirkte in der Tat in geringem Maße die Ausbildung von kubischen Eisenoxiden, wie in der TEM-Aufnahme (Abb. 4-7 b) zu erkennen ist. Allerdings bildete sich vor den Eisenoxid-Nanopartikeln anscheinend bereits Silber-Nanopartikel, auf denen eine

Eisenoxid-Domäne aufwuchs, so dass ein großer Anteil an Ag@Fe₃O₄-Nanopartikeln vorhanden ist (siehe Abb. 4-7 a und c). Dieses tritt ein, obwohl die Zersetzungstemperatur des AgCO₃ mit 218 °C¹⁷⁷ über der von Fe(acac)₃ mit 195 °C³⁷ und unter der von Cu(acac)₂ mit variierenden Literaturangaben von > 245 bis 286 °C^{178, 179} liegt. Die Größe und Form der Eisenoxid-Domänen und der freien Eisenoxid-Nanopartikel variiert hierbei jedoch stark. Aufgrund des stärkeren Streukontrasts erscheint das Silber im Vergleich zum Eisenoxid in den TEM-Aufnahmen dunkler. Da der Kontrast auch von der Orientierung zum Elektronenstrahl abhängt, erscheinen einzelne Eisenoxid-Nanopartikel extrem kontraststark. Ansätze mit 1 mmol Silber(I)-carbonat ergaben homogenere Proben als Ansätze mit 0.5 mmol. Dementsprechend traten im Röntgendiffraktogramm neben den Reflexen von Magnetit weitere auf, die sich elementarem Silber zuordnen ließen (siehe Abb. 4-7 c). Der Wert der Gitterkonstante für die Eisenoxid-Nanopartikel betrug bei diesen Proben 8.387(3) Å und der der anderen Komponente 4.085(6) Å, was mit den Literaturwert für Silber übereinstimmt.¹⁸⁰

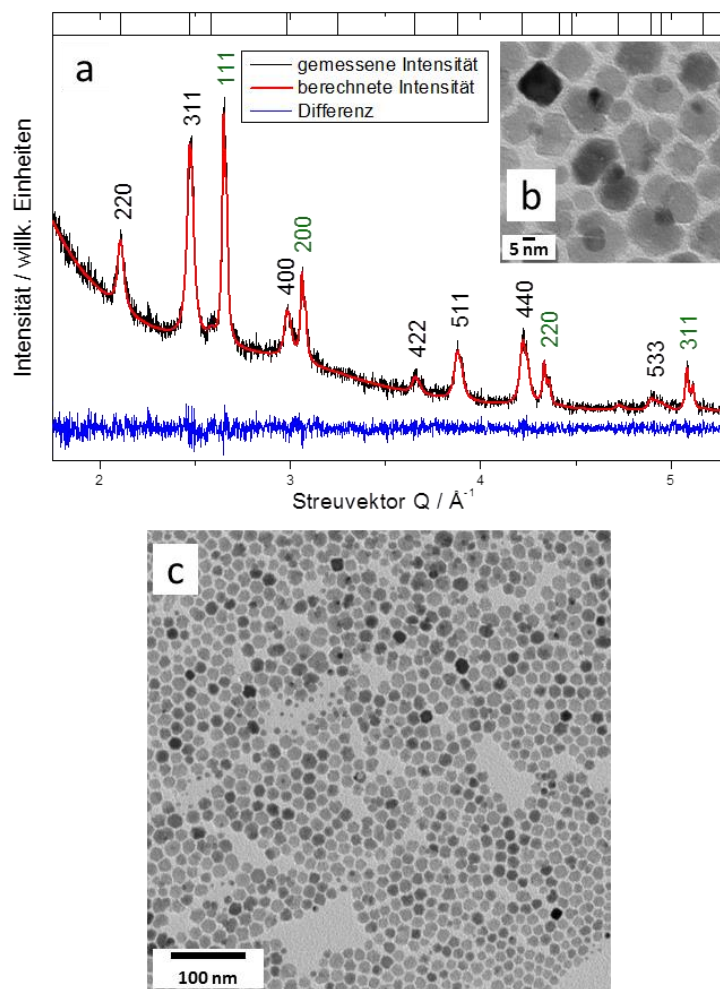


Abb. 4-7. a) Röntgendiffraktogramm (Reflexbeschriftung: Fe₃O₄ schwarz, Ag grün), b) und c) TEM-Aufnahmen von Fe₃O₄- und Ag@Fe₃O₄-Nanopartikeln hergestellt mit Ag(CO)₃.

1,2-Hexadecandiol ist nur mit einer Reinheit von 90 % kommerziell erhältlich. Um einen möglichen Einfluss von Verunreinigungen auszuschließen, wurde 1,2-Hexadecandiol aus der Epoxidierung von 1-Hexadecen mit Perameisensäure mit anschließender Diolbildung durch Erhitzen in ethanolischer Kaliumhydroxidlösung dargestellt.¹⁸¹ Die NMR-Daten und die Schmelzpunktbestimmung weisen auf ein reines Produkt hin. Diese und weitere Daten sind im experimentellen Teil 4.5.3 angegeben. Die Synthese der kubischen Eisenoxide zeigte jedoch im Ergebnis keinen Unterschied zwischen dem kommerziell erhältlichen und dem dargestellten 1,2-Hexadecandiol. Für die meisten Reaktionen wurde letzteres verwendet.

Um die allgemeine Wirksamkeit des Kupfers als formgebendes Element weiter zu prüfen, wurde eine weitere Vorschrift für monodisperse sphärische Eisenoxid-Nanopartikel überarbeitet. Die sphärischen Eisenoxidpartikel, die nach Park *et al.*¹⁴⁷ ausgehend von Eisen(III)-oleat dargestellt wurden, sind in Kapitel 8 näher beschrieben. Der Ansatz wurde auf äquimolare Mengen an Fe(III)-oleat herunterskaliert und mit gleichen Äquivalenten an Kupfer(II)-acetylaceton bzw. Kupfer(II)-formiat und Oleylamin versetzt. Das Lösungsmittel wurde bei dem in der Literatur angegebenen 1-Octadecen belassen und bei der Zugabe von Ölsäure das bereits vorliegende Oleat mit in den Äquivalenten berücksichtigt. Es war zu beobachten, dass die Partikel nicht mehr die hohe Einheitlichkeit an sphärischer Form aufwiesen (vgl. Abb. 4-8).

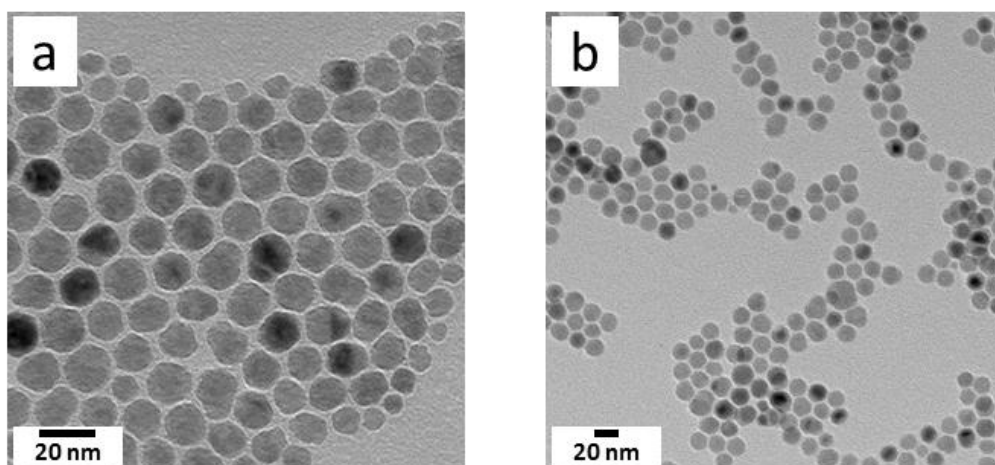


Abb. 4-8. TEM-Aufnahmen von Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisen(III)-oleat nach Park *et al.*¹⁴⁷ hergestellt mit Zusatz von Kupfer(II)-formiat.

Der Überstand, der beim ersten Fällen der Partikel auftrat, war bei der gesamten Versuchsreihe mit Kupferadditiven durchgehend rötlich bis dunkelbraun gefärbt. TEM-Untersuchungen des Überstandes zeigten meist nur einzelne Partikel oder wenige, sehr

kleine Nanopartikel (> 3 nm). AAS-Messungen ergaben sehr geringe Konzentrationen an Kupfer und Eisen.

Nach dem Zentrifugieren der Reaktionslösung von Ansätzen mit Kupferverbindungen in reinem Hexan war ausnahmslos ein kupferfarbener Niederschlag mit schwarzen Anteilen vorhanden (siehe Abb. 4-9). Laut AAS-Messungen setzte sich der Bodensatz überwiegend aus Kupfer mit Eisenanteilen zusammen. Die Verhältnisse schwankten in Abhängigkeit der Probe. Je mehr Verunreinigungen in Form von großen Eisenoxid-Partikeln auftraten, desto größer war der Eisenanteil im Niederschlag. Die Röntgendiffraktion bestätigte, dass es sich um elementares Kupfer und um keine Kupferverbindungen handelte. In Abbildung 4-9 ist exemplarisch ein Röntgendiffraktogramm des Rückstands wiedergeben. In diesem überlagerten die Reflexe des Kupfers mit denen des Eisenoxides. Nur der (200) Reflex war eindeutig dem Kupfer zuzuweisen. Die ermittelten Gitterkonstanten von $8.380(1)$ Å und $8.361(1)$ Å stimmen mit den Literaturwerten für Magnetit und Kupfer überein.¹⁸² Untersuchungen des Niederschlags am TEM zeigten, dass dieser sich vornehmlich aus stark dispersem Material, welches eine Größe von ca. 30 nm bis in den Mikrometerbereich aufwies, und wenig mitgefällten Nanopartikeln zusammensetzte.

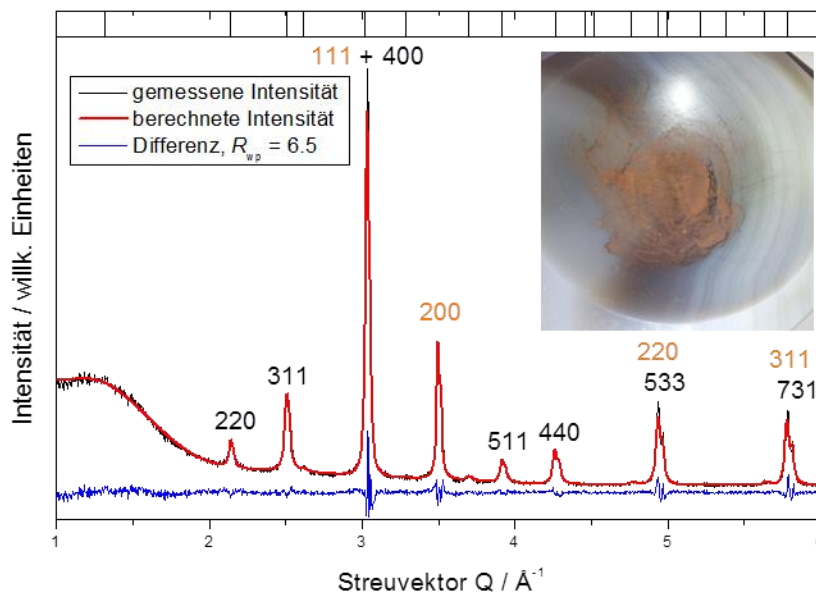


Abb. 4-9. Röntgendiffraktogramm und Bild des Bodensatzes nach Zentrifugieren in reinem Hexan. Das Röntgendiffraktogramm zeigt eine Mischung aus Magnetit und elementarem Kupfer (Reflexbeschriftung: Fe_3O_4 schwarz, Cu orange).

4.3 Diskussion

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, wurden in mehreren Veröffentlichungen durch die Zugabe von Natriumoleat bei der thermischen Zersetzung von metallorganischen Vorstufen in organischen Lösungsmitteln Eisenoxid-Nanokuben erhalten. Leitfähigkeitsmessungen zeigten, dass es durch die Beimischung von Natriumoleat zu signifikant gesteigerten Werten bei höheren Temperaturen (ca. 200 °C) kommt, was auf eine Dissoziation von Natriumoleat zurückgeführt wurde. Daraus wurde geschlossen, dass durch gesteigerte Konzentration an „freien“ Ionen, speziell Oleat-Ionen, eine veränderte selektive Adhäsion an den Kristallflächen stattfindet und als Folge die Wachstumsgeschwindigkeit der {100} Kristallflächen gesenkt wird. Ferner führten Metalloleate mit entsprechenden Dissoziationsverhalten und daher übereinstimmenden Leitfähigkeitswerten von Natriumoleat zu ähnlichen Ergebnissen. Dahingegen lieferten Metalloleate mit geringerem Dissoziationsverhalten und niedrigen Leitfähigkeitswerten sphärische Partikel.^{44, 164}

Ein vergleichbarer Mechanismus wurde hier für den Einfluss von Kupferionen vermutet und ist in Abbildung 4-10 dargestellt. Aufgrund der experimentellen Ergebnisse und der vorhandenen Literatur ist davon auszugehen, dass das (die) Kupfer(ionen) nicht direkt auf das Wachstum der Kristallflächen Einfluss nehmen. Vielmehr wirken sie indirekt über eine veränderte freie Ligandenkonzentration, die ein anisotropes Wachstum bewirkt. Beim Lösen der Kupferverbindungen in der Reaktionslösung war eine Blaufärbung zu beobachten, was auf die Bildung eines Kupferaminkomplexes zurückzuführen ist. Da Kupfer(II)salze als Vorstufen eingesetzt wurden und am Ende der Reaktion ein elementarer Kupferniederschlag erhalten wurde, wird das Kupfer während der Reaktion zumindest teilweise reduziert. Sowohl das Oleylamin, als auch das Diol können als Reduktionsmittel wirken.^{33, 183} Wann und wie schnell die Reduktion stattfindet, ist ungeklärt. Der Kupferniederschlag beim Aufarbeiten der Reaktion sowie die AAS- und XRD-Resultate belegen, dass kein Kupfer in Partikeln vorhanden war. Da offenbar keine Einbindung des Kupfers an den Kristallflächen erfolgte, war das Kupfer entweder ionisch oder elementar während der gesamten Reaktion vorhanden. Damit übte es Einfluss auf die freie Ligandenkonzentration aus, insbesondere wenn das Kupfer noch während der Wachstumsphase der Eisenoxid-Nanopartikel ionisch vorlag. Letztendlich wurde wegen der Komplexbildung des Oleylamins durch die Kupferionen das tatsächliche Verhältnis von Ölsäure zu Oleylamin in Lösung erhöht. Dieses hatte eine vergleichbare Wirkung wie die in der Einleitung genannten Literaturbeispiele, welche durch einen Überschuss an Ölsäure oder der Freisetzung an Oleat-Ionen mittels Natriumoleatbeigabe kubische Eisenoxide darstellen konnten.^{44, 162-165, 169}

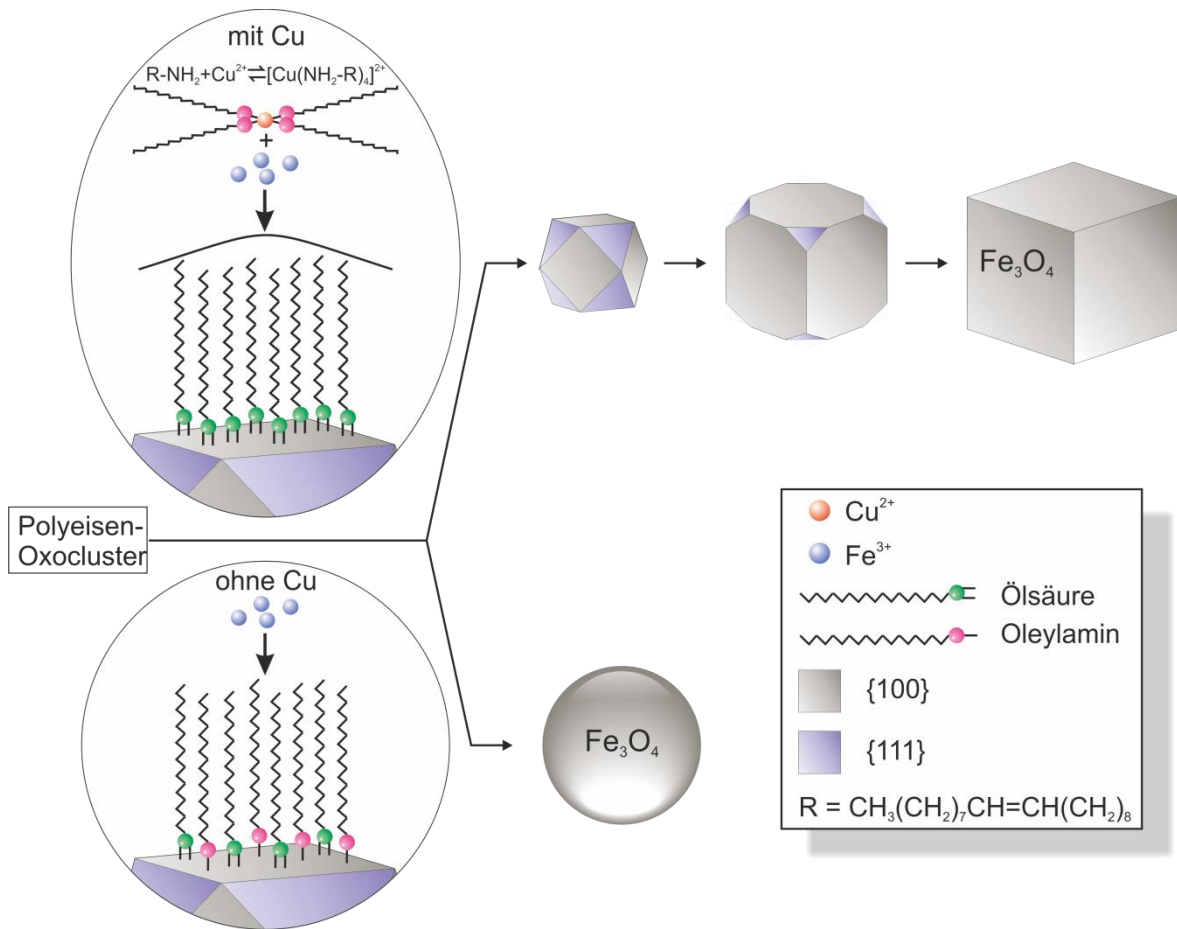


Abb. 4-10. Hypothetischer Mechanismus zum formgebenden Einfluss von Kupfer als Additiv bei der Synthese von Magnetit-Nanopartikeln. Durch die Zugabe von Kupfer wird das anisotrop bindende Oleylamin durch Komplexbildung aus dem Ligandengleichgewicht entzogen. Der Überschuss an Ölsäure verlangsamt selektiv das Wachstum der {100} Flächen, was zu Nanokuben führt.

4.4 Zusammenfassung und Ausblick

In einer Versuchsreihe wurde der Einfluss von Kupferverbindungen, speziell von Kupfer(II)-acetylacetonat und -formiat, auf die Formgebung bei der Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 4-1 zusammengefasst.

TEM-Untersuchungen belegten einen Einfluss auf die Form der Eisenoxid-Nanopartikel bei Zugabe von Kupferverbindungen. Röntgendiffraktion und AAS-Messungen zeigten, dass kein Kupfer in die Eisenoxid-Nanopartikel eingelagert wurde. Die Reaktionsergebnisse wiesen darauf hin, dass sich das Verhältnis der oberflächenaktiven Liganden in der Lösung durch die Zugabe von Kupferverbindungen änderte und dadurch der Einfluss auf die Form zustande kam. Für weitere und detaillierte

Untersuchungen des Mechanismus können Leitfähigkeitsmessungen der Reaktionslösung mehr Aufschluss geben.

Tab. 4-1. Zusammenfassung der Ergebnisse der Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln in Abhängigkeit der variierten Parameter.

| Varierte Parameter | Ergebnisse |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Kupfer(II)-acetylacetonat | kubische und sphärische Nanopartikel |
| <ul style="list-style-type: none"> • Kupfer(II)-formiat (Hydrat, Getrocknet) | Kubisch, sphärisch und weitere Formen |
| <ul style="list-style-type: none"> • Silber(I)-carbonat (0.5 mmol, 1 mmol) | Ag@Fe ₃ O ₄ -Heteropartikeln und Fe ₃ O ₄ -Kuben |
| <ul style="list-style-type: none"> • Ohne Kupferpräkursor | sphärische Nanopartikel (wie in Lit.) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Ohne Oleylamin | kubische und sphärische Nanopartikel |
| <ul style="list-style-type: none"> • Ohne Kupferpräkursor und Oleylamin | Breite Streuung in Größe und Form |
| <ul style="list-style-type: none"> • Dibenzylether • Diphenylether • Trioctylamin • 1-Octadecen | kein signifikanter Unterschied |

Inwieweit Kupferadditive damit sich als Mittel für die Formkontrolle von Eisenoxid-Nanopartikeln oder gar als universelles Mittel zur Formkontrolle für Nanopartikel eignen, konnte im Rahmen dieser Studie nicht abschließend beantwortet werden, zumal im Vergleich weitere, effektivere Reaktionsparameter zur Formkontrolle existieren. Weiterhin konnte in unsere Gruppe gezeigt werden, dass Kupferpräkursor, wie Kupfer(II)-formiat oder -acetat, eher genutzt werden können, um CuFe₂O₄- oder Cu@Fe₃O₄-Nanopartikel darzustellen.^{184, 185}

4.5 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

4.5.1 Synthese kubischer Fe₃O₄-Nanopartikel

Nach der Ausgangsvorschrift¹⁷⁶ für 7 nm kubische Eisenoxid-Nanopartikel wurden 0.8 g (3 mmol) Oleylamin, 0.85 g (3 mmol) Ölsäure, 0.35 g (1 mmol) Fe(acac)₃, 0.14 g (0.5 mmol) Cu(acac)₂ und 1.29 g (5 mmol) 1,2-Hexadecandiol in 10 ml Diphenylether gegeben. Die Lösung wurde für 5 min unter Argon bei Raumtemperatur gerührt und der Kolben in ein 100 °C heißes Metallbad überführt. Durch ein Steuergerät wurde die Temperatur auf 195 °C mit einer Heizrate von 4.1 °C/min gesteuert und für 2 h gehalten. Daraufhin wurde die Reaktionslösung mit einer Heizrate von 1.5 °C/min auf die Rückflusstemperatur von 259 °C erhitzt und für weitere 2 h gehalten. Während die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abkühlte, wurde die Versuchsanordnung unter Argon gesetzt. Die Nanopartikel wurden durch Zugabe von 20 ml Ethanol und Zentrifugieren bei 9000 U/min für 20 min gefällt. Die rotbraune Überstand wurde verworfen und der Niederschlag in 20 ml Hexan unter Zugabe von jeweils ca. 0.1 ml Ölsäure und Oleylamin wieder gelöst. Um größere Reaktionsrückstände zu entfernen, wurde die Lösung für 20 min bei 9000 U/min zentrifugiert. Der Bodensatz wurde verworfen und die Lösung bei 4 °C unter Argon gelagert. Die variierten Parameter der Reaktion werden im Unterkapitel Ergebnisse und Diskussion erörtert.

4.5.2 Kupfer(II)-acetylacetonat als Zusatz bei der Eisenoxid-Nanopartikelsynthese aus Eisen(III)-oleat

Die Vorschrift nach Park *et al.*¹⁴⁷ zur Synthese monodisperser, sphärischer Eisenoxid-Nanopartikel wird in dem Kapitel 3.4.3 beschrieben. In der abgeänderten Vorschrift wurden 1.8 g (2 mmol) Fe(oleat)₃, 262 mg (1 mmol) Cu(acac)₂ oder 153 mg (1 mmol) Cu(HCOO)₂, 322 µl (1 mol) Ölsäure und 999 µl (3 mmol) Oleylamin in 10 g 1-Octadecen gelöst. Die Lösung wurde mit einer Heizrate von 3.3 °C/min von Raumtemperatur auf Rückfluss (zwischen 315 – 320 °C) für 30 min erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 20 ml Aceton zugegeben und bei 9000 U/min für 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen. Der Niederschlag wurde in 20 ml Hexan gelöst, durch Aceton ausgefällt und zentrifugiert. Im letzten Schritt wurde der Niederschlag unter Zugabe von je 0.1 ml Ölsäure und Oleylamin in 20 ml Hexan gelöst und ohne Aceton zentrifugiert. Der teils schwarze teils kupferfarbene Bodensatz wurde verworfen und die Lösung bei 4 °C unter Argon gelagert.

4.5.3 Synthese von 1,2-Hexadecandiol

Nach einer Synthesevorschrift von Swern *et. al.*¹⁸¹ wurden unter Rühren bei Raumtemperatur 25.3 g (0.28 mol) einer 35 %igen Wasserstoffperoxidlösung zu einer Lösung von 56.1 g (0.25 mol) 1-Hexadecen in 300 ml Ameisensäure geben. Die Lösung wurde auf 40 °C erwärmt. Eine milchige Trübung setzte rasch ein. Nach 24 h wurde die Ameisensäure am Rotationsverdampfer abgedampft und der Destillationsrückstand mit einer 3 N alkoholischen KOH-Lösung (25,3 g in 150 ml) für 1.5 h unter Rückfluss gekocht. Nach Abdampfen des Ethanol wurde 150 ml heißes Reinstwasser zum Destillationsrückstand geben, woraufhin sich sofort ein farbloser Niederschlag bildete. Von der abgekühlten Lösung wurde der Niederschlag abgesaugt und mit 4 °C kaltem Reinstwasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral war. Im Gegensatz zur Literatur wurde keine Etherextraktion des Waschwassers durchgeführt. Der Niederschlag wurde im Exsikkator über Kieselgel unter vermindertem Druck getrocknet. Die Ausbeute betrug 91 % (58,72 g) der Theorie und der Schmelzpunkt lag bei 67 °C. Das Produkt wurde aus 348 ml (6 ml/mg) Methanol umkristallisiert, bei 4 °C für 20 h ausgefällt, abgesaugt und mit eiskaltem Methanol gewaschen. Das Filtrat wurde stark eingengt und wiederholt – wie beschrieben – 1,2-Hexadecandiol auskristallisiert. Die feinpulvrigen, farblosen Kristalle wurden im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 50,03 g (0.19 mol, 77 %), farblose Kristalle.

Schmp.: 74 °C, Schmp. (Lit.¹⁸¹) = 75-76 °C.

C₁₆H₃₄O₂ (258.4 g/mol) berechnet: C 74.36 % H 13.26 %

gefunden: C 73.73 % H 12.70 %

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2955, 2918, 2850, 1468, 1078, 878, 721 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 0.89 (t, ³J_{HH} = 6.8 Hz, 3H, -CH₃), 1.27 (m, 22H, CH₃-(CH₂)₁₁), 1.45 (m, 2H, -HOCHCH₂CH₂-), 2.05 (m, 1H, CHOH), 2.14 (m, 1H, HOCH₂-), 3.45 (m, 1H, CH₂OH), 3.70 ppm (m, 2H, -CHOHCH₂OH).

Für die beiden Diol-Protonen wurde außerdem ein breites Singulett beobachtet:

δ (ppm) = 2.25 (s, 2H, -CHOHCH₂OH).

5 Synthese und Charakterisierung von Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimeren

5.1 Einleitung

Gold-Nanopartikel bzw. kolloidales Gold, auch „lösliches“ Gold genannt, wurden ohne das Wissen über ihre Existenz schon seit dem fünften Jahrhundert vor Christus in Ägypten und China für das Färben von Gläsern und Keramiken verwendet. Ein berühmtes Beispiel hierfür ist der von den Römern angefertigte Lykurgus Becher (siehe Abb. 2-16).¹³⁸

Die ersten bekannten Synthesen in der Neuzeit waren die Darstellung von Andreas Cassius* und Micheal Faraday. Im 17. Jahrhundert erhielt Cassius das nach ihm benannte Farbpigment Cassius'scher Purpur durch die Reduktion von Gold(III)-chlorid-Lösung mit Zinn(II)-chlorid.¹³⁸ 1857 berichtete Micheal Faraday in seiner wissenschaftlichen Abhandlung über die vom Festkörper abweichenden optischen Eigenschaften tieferer Goldsolen, die er mittels Reduktion von AuCl_4^- -Ionen durch Phosphor in CS_2 darstellte.¹⁸⁶ Aber erst durch die Arbeit von Turkevich¹⁸⁷ (1951) und die Veröffentlichung der Brust-Schiffrin-Methode¹⁸⁸ im Jahre 1994 gelangte die Forschung in eine völlig neue Dimension, da nun Reaktionen mit gut handhabbaren Gold-Nanopartikeln zur Verfügung standen, welche eine geringere Größenverteilung aufwiesen.^{138, 189} Klabunde und Mitarbeiter entwickelten einen Reifungsprozess (digestive ripening process, siehe Abb. 5-1) zur Synthese monodisperser Goldnanokristalle ausgehend von der Zersetzung polydisperser Goldnanokristalle.¹⁹⁰⁻¹⁹⁴ Inzwischen sind zahlreiche Publikationen erschienen, die sich mit der gezielten Synthese von Gold-Nanopartikeln in unterschiedlicher Größe und Form befassen.^{138,195}

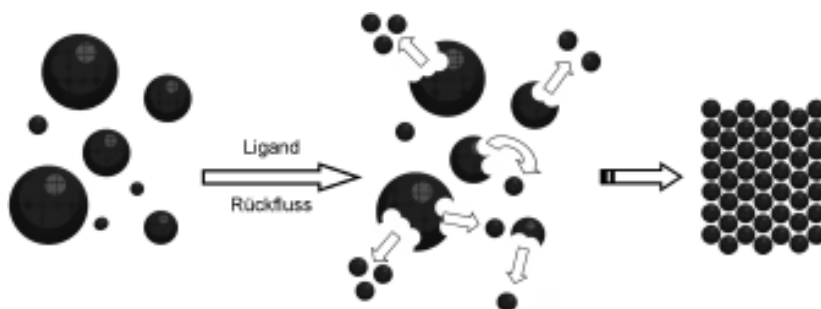


Abb. 5-1. Synthese monodisperser Gold-Nanopartikel durch zersetzende Reifung (aus ²⁸).

* Andreas Cassius war ein deutscher Arzt (1605-1673).

Dank ihrer besonderen Eigenschaften, wie chemischer Inertheit, hohes Oberflächen-zu-Volumenverhältnis und hoher Leitfähigkeit, stellen Gold-Nanopartikel ein breites Spektrum an vielversprechenden Anwendungen in Aussicht. So sind Gold-Nanopartikel obgleich der großen Anzahl an Oberflächenatomen äußerst stabil und bieten beispielsweise ein großes Potenzial für katalytische Zwecke.¹⁹⁶⁻¹⁹⁹

Die auffälligste Eigenschaft ist ihre intensive Farbe, welche durch die Oberflächenplasmonenresonanz hervorgerufen wird (siehe Kapitel 2.4). Da die genaue Absorptionswellenlänge empfindlich von verschiedenen Parametern wie Größe, Form und Oberflächenfunktionalisierung der Gold-Nanopartikel sowie weiteren extrinsischen Parametern abhängt, werden Gold-Nanopartikel intensiv als potenzielle Kandidaten für die Sensorik, Biosensorik und Diagnostik erforscht.²⁰⁰ Für letzteres eignen sie sich besonders, da Studien zeigen, dass die Toxizität von Gold-Nanopartikeln im Wesentlichen von der Oberflächenfunktionalisierung bestimmt wird. Diese wiederum kann einfach und maßgeschneidert angepasst werden.²⁰¹

Maghemit und Magnetit weisen im kubischen Kristallgitter mit einer Gitterkonstante von 8.34 Å und 8.39 Å in guter Näherung den doppelten Ebenabstand von Gold auf, welches im kubisch-flächenzentrierten Kristallgitter mit einer Gitterkonstante von 4.08 Å kristallisiert.^{62, 97} Diese geringe Gitterfehlpassung bietet die Möglichkeit für epitaxiales Wachstum und damit für die Kombination der Eigenschaften der Eisenoxid- und der Gold-Nanopartikel. In den letzten 10 Jahren ist eine Reihe von Arbeiten erschienen, die sich mit der Synthese von hantelförmigen^{60, 202, 203}, blumen-^{204, 205} oder Kern-Schale-artigen²⁰⁶⁻²⁰⁹ Gold-Eisenoxid-Nanopartikeln beschäftigen. Das System wurde auf seine Eigenschaften^{104, 210-214} hin untersucht und Anwendungsmöglichkeiten in Katalyse^{215, 216}, Medizin^{63, 217, 218} und Biologie^{219, 220} aufgezeigt.

5.2 Ergebnisse und Diskussion

5.2.1 Au-Nanopartikel: TEM-Charakterisierung und Größenverteilung

Monodisperse Gold-Nanopartikel mit einer Größe im Bereich von 4 nm (siehe Abb. 5-2) konnten mittels Reduktion von Tetrachlorogoldsäure durch Zugabe von *tert*-Butylamin-Borankomplex in einer Oleylamin-Tetralin-Lösung dargestellt werden.²²¹ Bei der Zugabe des Reduktionsmittels kam es zu einer schlagartigen Keimbildung, was anhand eines einhergehenden Farbwechsels von orange nach tief rot in der Reaktionslösung sichtbar war. Im Anschluss wuchsen die gebildeten Goldkeime nach dem Modell von LaMer durch weitere Aufnahme von Vorstufen.

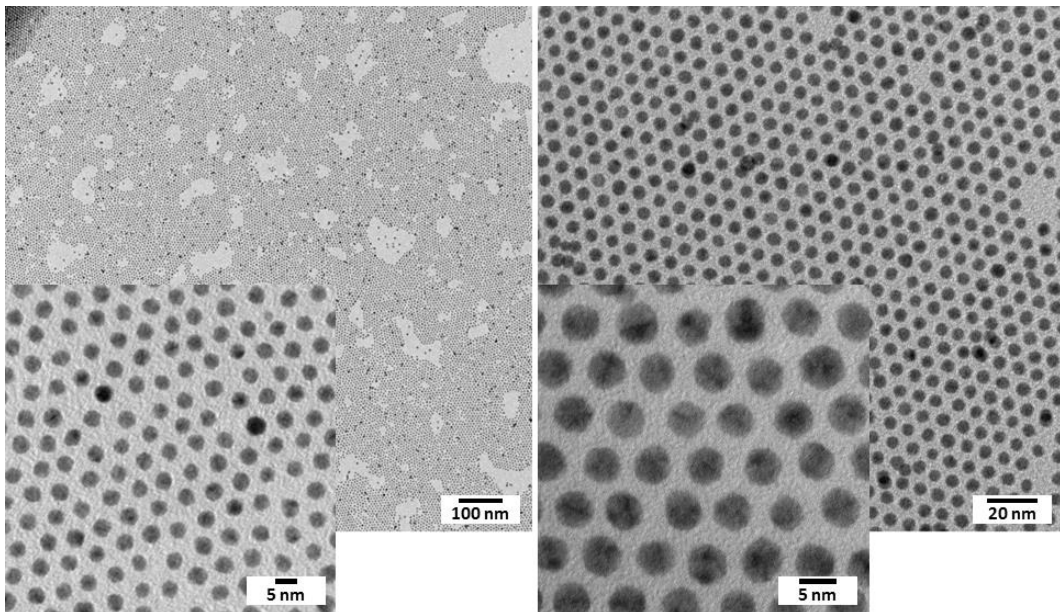


Abb. 5-2. TEM-Aufnahmen von Gold-Nanopartikeln (~ 4 nm).

Die TEM-Aufnahmen in Abbildung 5-2 und deren statistische Auswertung, welche in Abbildung 5-3 wiedergegeben ist, zeigten, dass die Gold-Nanopartikel eine sehr niedrige Dispersität aufweisen und ungefähr 4 nm groß sind. Die durchschnittliche Größe der Proben variierte nach statistischen Auswertungen von ca. 3.3 bis 4.3 nm, da die Reaktionen bei Raumtemperatur (~23 °C) durchgeführt wurden. Die geringfügigen Größenschwankungen der durchschnittlichen Größe kommen durch den empfindlichen Einfluss der Temperatur zustande, welcher in der Literatur zur nanometergenauen Größenkontrolle der Partikel genutzt wurde (ca. 1 nm Größenwachstum pro 5 °C Temperaturabnahme). Die Größenzunahme mit sinkender Temperatur wurde damit erklärt, dass bei einer niedrigeren Injektionstemperatur weniger Keime gebildet wurden und somit auch mehr Präkursor für das Wachstum dieser zur Verfügung stand (siehe auch Abb. 2-2).

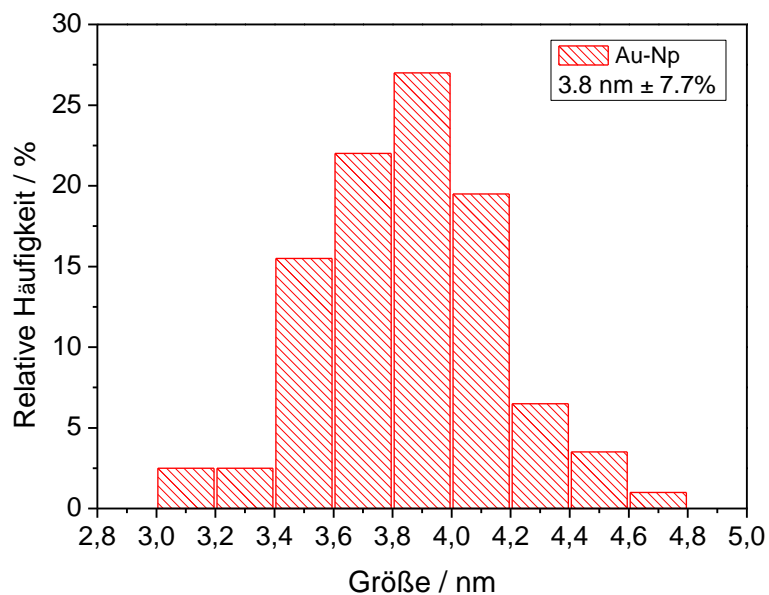


Abb. 5-3. Exemplarische Größenverteilung von Gold-Nanopartikeln.

Ein weiterer Indikator für die enge Größenverteilung sind die auf den TEM-Grids vorhandenen, hohen symmetrischen Anordnungen der Partikel, welche von hexagonalen Monolagen bis hin zu hexagonal geordneten Schicht reichen. Polykristalline Gold-Nanopartikeln bilden bevorzugt die hexagonal-dichteste Kugelpackung, wohingegen monokristalline die kubische bilden. Dieses Phänomen wurde auf das unterschiedliche Defektverhalten des Kristallkerns zurückgeführt, da die monokristallinen überwiegend einen defektfreien und im Gegensatz dazu die polykristallinen defektbehafteten aufweisen.¹⁹⁴ Diese Übergitter, bei denen sich die Nanopartikel selbstorganisierend (engl. *self assembling*) zu größeren Strukturen anordnen, reduzieren deutlich die Oberflächenenergie und damit die freie Energie des Systems.^{222, 223} In Abbildung 5-4 sind mehrere TEM-Aufnahmen zusammengefasst, die den Aufbau und die Anordnung in den Superlattices verdeutlichen. Übersichtsbild a lässt anhand des zunehmenden Kontrastes die wachsende Zahl an Schichten erkennen, während die beiden anderen Aufnahmen b und c mit größerer Auflösung die hexagonale Aufbau innerhalb der Übergitter hervorheben, was gut an der vorhanden Sechsring-Struktur zu erkennen ist.

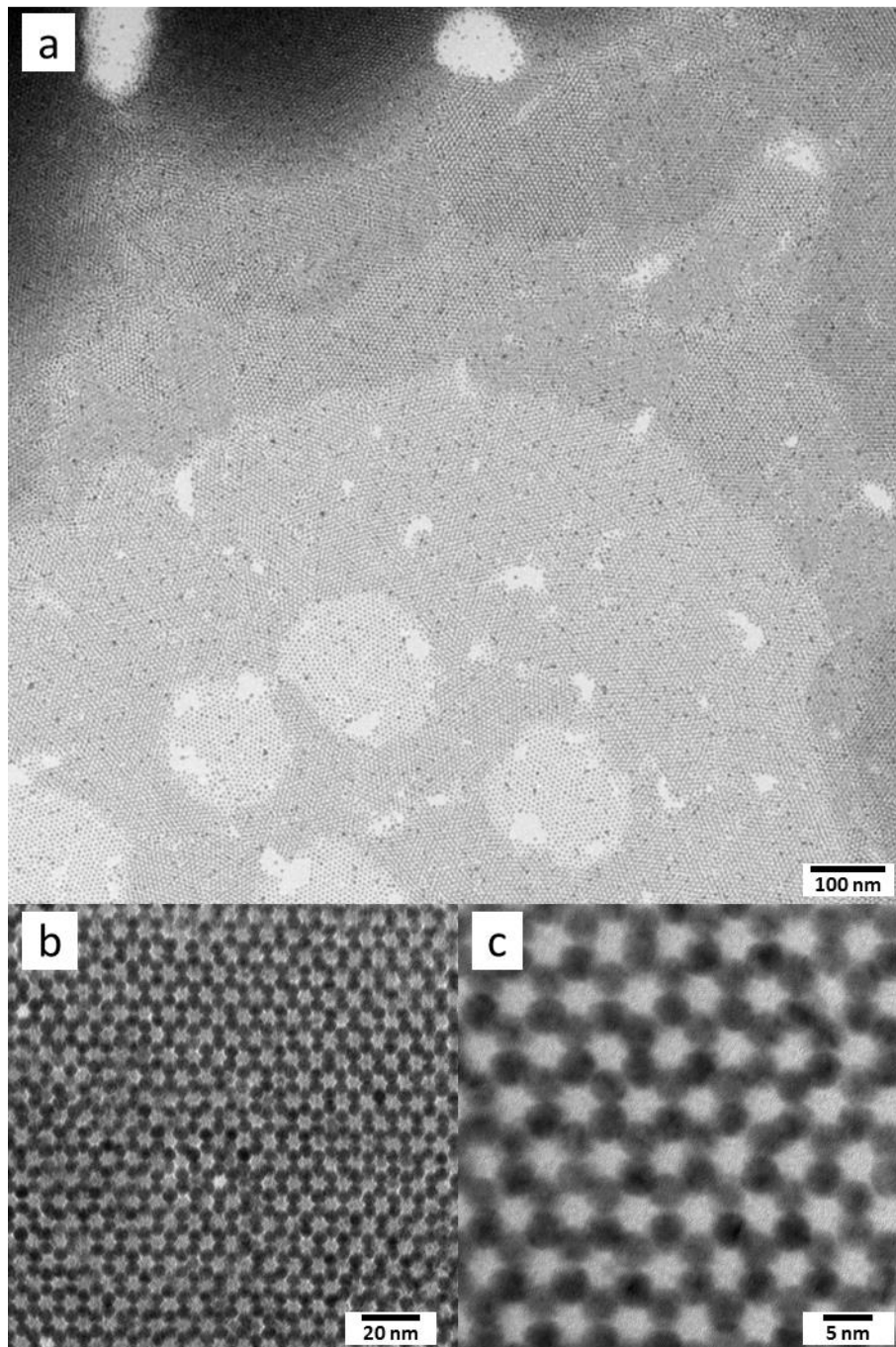


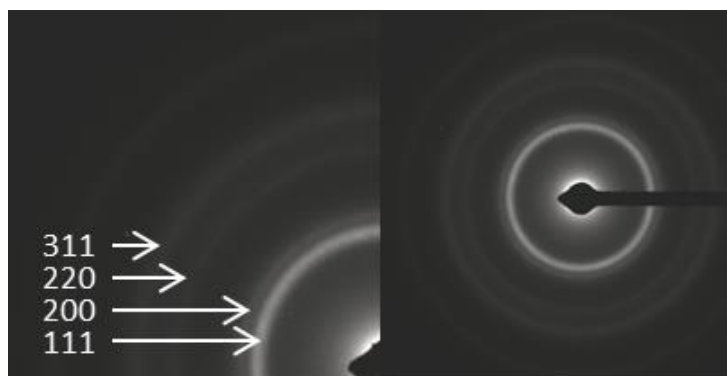
Abb. 5-4. TEM-Aufnahmen von Übergittern der Gold-Nanopartikel.

5.2.2 Au-Nanopartikel: Elektronenbeugung und Röntgendiffraktion

Gold besitzt eine *fcc*-Kristallstruktur und kristallisiert in der Raumgruppe Fm-3m. Die Röntgen- und Elektronenbeugungsaufnahmen wiesen die für Gold zu erwartenden Reflexe auf. Es waren keine weiteren kristallinen Phasen vorhanden (siehe Abb. 5-5). Die nach einer Pawley-Verfeinerung berechnete Gitterkonstante war in Übereinstimmung mit der Literatur $a = 4.066(13) \text{ \AA}$.²²⁴ Bei genauer Analyse der Daten war zu erkennen, dass der

(111)- und (200)-Reflex zueinander hin verschoben waren, so dass erstgenannter bei einem höheren Streuvektorbetrag und letztgenannter bei einem niedrigeren lag. In der Literatur wird dieses Phänomen durch Modelle beschrieben, die von einer defektbehafteten *fcc*-Struktur für Gold-Nanopartikel ausgehen. Bei diesen Ansätzen werden ausgedehnte Strukturdefekte, Domänen innerhalb der Partikel und weitere nicht kristallographische Effekte miteinbezogen wie beispielsweise eine höhere Packungsdichte der Atome an der Oberflächen als im Inneren des Kristalls.²²⁵

a)



b)

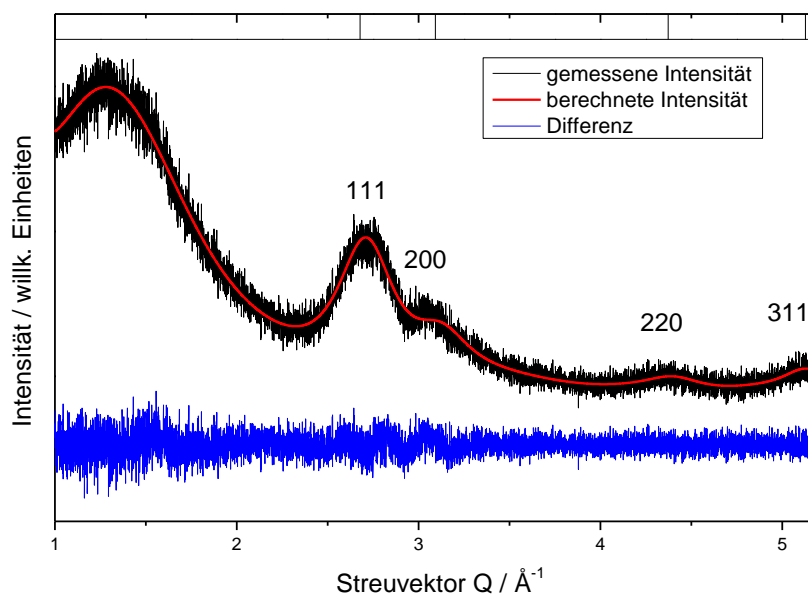


Abb. 5-5. a) Elektronbeugungsbild und b) Pulverdiffraktogramm von 4 nm Gold-Nanopartikeln.

Die aus der Reflexbreite berechnete, mittlere Kristallitgröße von 1.5-1.7 nm harmoniert mit den Aufnahmen der Transmissionselektronenmikroskopie (4 nm). Dieses Ergebnis bestätigt den in der Literatur²²¹ und in weiteren Arbeiten unserer Gruppe²²⁶ aufgeklärten Zwillings- bzw. polykristallinen Aufbau der Partikel.

5.2.3 Au-Nanopartikel: UV/Vis

Die charakteristische Absorptionsbande der Oberflächenplasmonenresonanz trat im UV/Vis-Spektrum der in Hexan gelösten Gold-Nanopartikel (Abb. 5-6) bei einem Wert von 513 nm auf. Da die Partikel nur eine Größe von 4 nm besaßen, wirkten sich hier Dämpfungseffekte stärker aus, so dass die Bande breit und schwach ausgeprägt war.

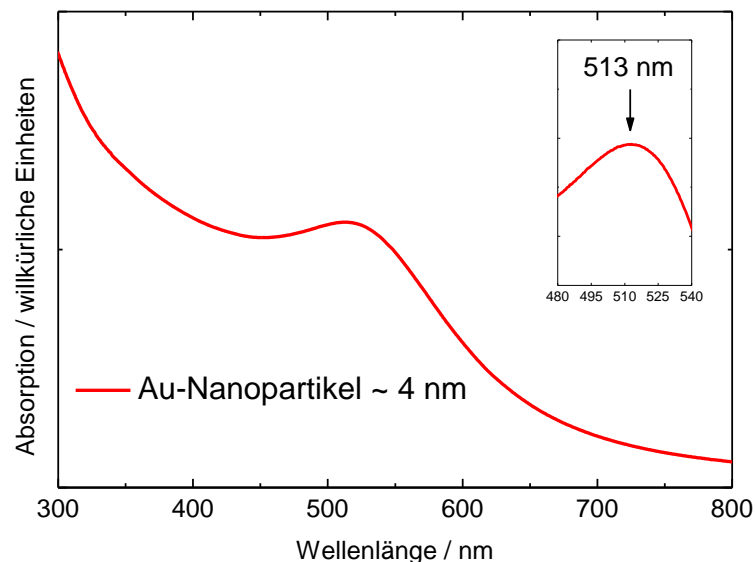


Abb. 5-6. UV/Vis-Spektrum von Gold-Nanopartikeln in Hexan.

5.2.4 Au@Fe₃O₄-Heterodimere: TEM-Charakterisierung und Größenverteilung

In den TEM-Aufnahmen erschienen die Eisenoxid-Nanopartikel hellgrau und die Gold-Nanopartikel dunkelgrau bis schwarz, da Gold eine höhere Elektronendichte besitzt und daher wesentlich weniger Elektronen durchdringen können. Da der Kontrast auch von der Orientierung zum Elektronenstrahl abhängt, streuen einzelne Eisenoxid-Domänen stärker und sind auf den Aufnahmen dunkler. Die organischen Liganden sind aufgrund ihres geringen Streukontrastes nicht auflösbar.

Bei den größeren Eisenoxid-Domänen war häufig eine Abweichung von der sphärischen Form (Abb. 5-7, roter Kreis) zu beobachten, welche teilweise nierenförmig (Abb. 5-7, orangefarbener Kreis) war. Auf der Gold-Domäne verwuchsen oft zwei (Abb. 5-7, gelber Kreis), selten drei (Abb. 5-7, blauer Kreis) Eisenoxid-Domänen ineinander. Dies würde bedeuten, dass in der Phase der Kristallisation des Eisenoxides auf den Gold-Nanopartikeln häufig zwei bis drei Kristallisationsorte vorhanden waren. Diese Untereinheiten wuchsen dann aufgrund der geringen Größe der Goldnanopartikel zu einer Eisenoxid-Domäne zusammen.

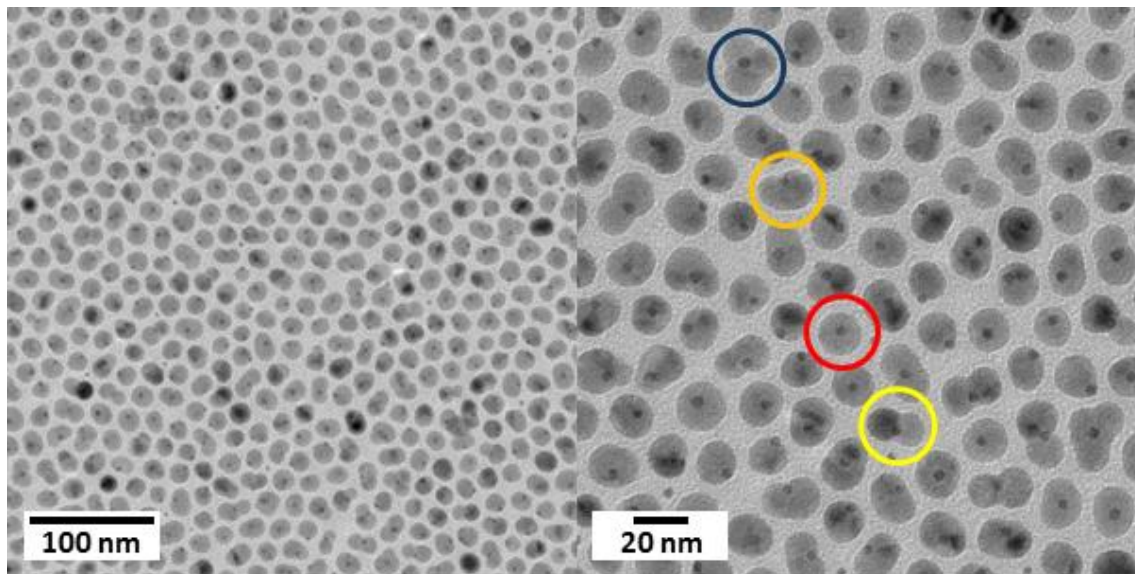


Abb. 5-7. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren mit sphärischer (rot), nierenförmiger (orange), 2 Untereinheiten- (gelb) und 3 Untereinheiten- (blau) Eisenoxid-Domäne.

Um zu verdeutlichen, dass es sich bei den Partikeln um Dimere und nicht um Kern-Schale-Partikel handelte, wurde eine TEM-Bildserie unter Verkipfung der xy-Ebene relativ zum Elektronenstrahl an einem Partikel durchgeführt. Mit dieser TEM-Tomografie ließ sich die räumliche Struktur der Nanopartikel ermitteln. Bei einem kugelsymmetrischen Aufbau, wie er bei einem Kern-Schale-Partikel vorhanden wäre, müsste das Ergebnis winkelunabhängig und dementsprechend jedes Bild identisch sein. Das Wandern der im Z-Kontrast dunkleren Gold-Domäne in Abbildung 5-8 spiegelte daher den nicht-zentrosymmetrischen Aufbau des Partikels wieder.

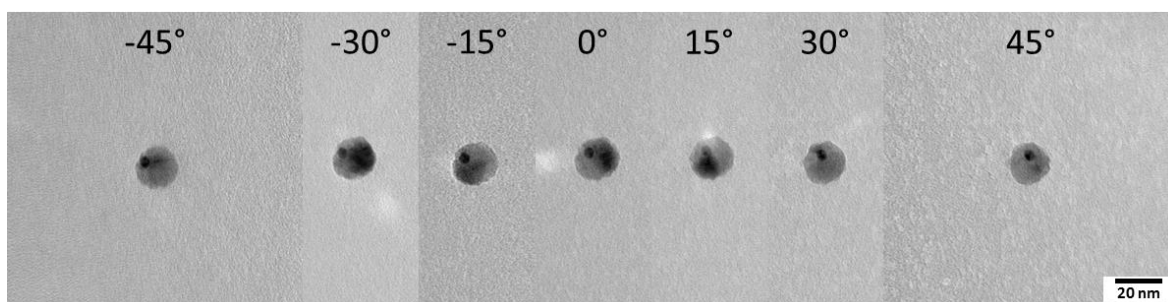


Abb. 5-8. TEM-Bildserie eines Gold@Eisenoxid-Heterodimernanopartikels unter variierendem Winkel der xy-Ebene relativ zum Elektronenstrahl.

In Abbildung 5-9 sind drei Größenverteilungen von Proben wiedergeben. Aufgrund der zusammenwachsenden Domänen kommt es zu einer wesentlich breiteren Größenverteilung der Eisenoxid-Domäne bei den Heterodimeren als bei den sphärischen Eisenoxid-Nanopartikeln. Es wurde die maximale Ausdehnung der Eisenoxid-Domäne als Größe gemessen.

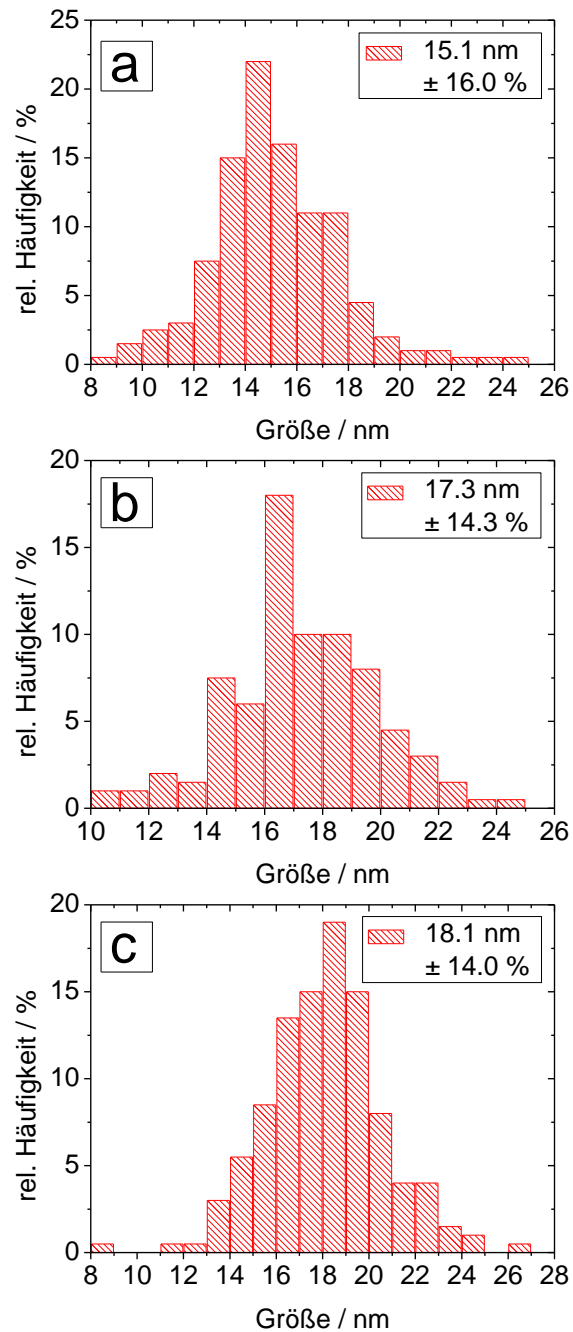


Abb. 5-9. Größenverteilungen von Eisenoxid-Domänen in Au@Fe₃O₄-Heterodimeren.

Es kam vor, dass im Produkt ein großer Anteil an freien Gold-Nanopartikeln zurückblieb (siehe Abb.5-10 a). Diese konnten leicht durch magnetische Separation durch einen handelsüblichen Neodym-Eisen-Bor-Magneten mit 1 Tesla abgetrennt werden. Der Vorgang wurde so lange wiederholt – in der Regel zwei Durchgänge – bis der Hexan-Überstand keine rötliche Färbung durch die Gold-Nanopartikel mehr aufwies. Nach vorsichtigem Abziehen des Überstandes mit einer Spritze war das Produkt nahezu frei von Gold-Nanopartikeln (siehe Abb.5-10 b). Zu beachten war, dass bei dieser Art der Aufreinigung auch teilweise Heterodimere mit kleiner Eisenoxid-Domäne im Überstand abgetrennt wurden (siehe Abb.5-10 c, d). Eine Aufreinigung des Überstandes war auch aufgrund der geringen Mengen an Heterodimeren im Überstand nicht effektiv.

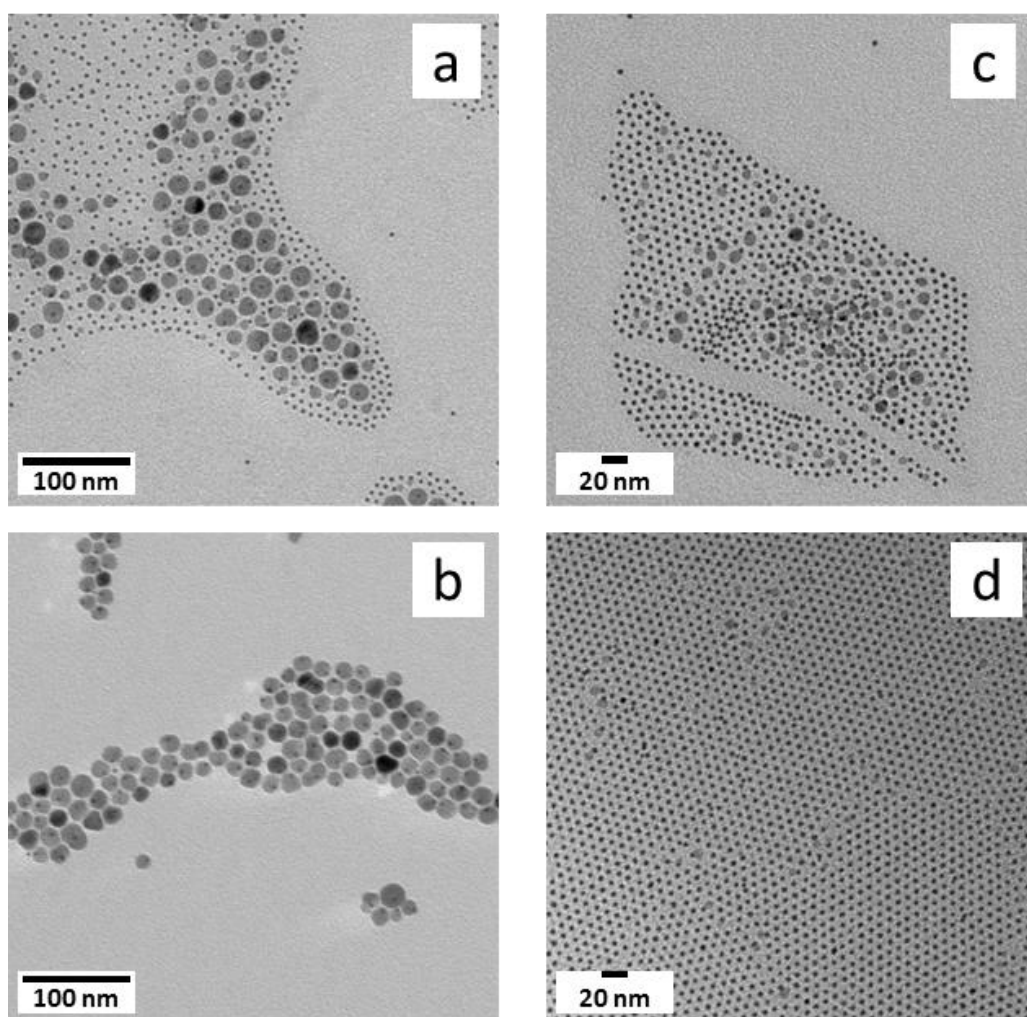


Abb. 5-10. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren vor und nach magnetischer Separation: a) Ausgangsprobe, b) Produkt, c) und d) Überstand.

5.2.5 Au@Fe₃O₄-Heterodimere: Röntgendiffraktion

Im Röntgendiffraktogramm der Gold@Eisenoxid-Nanopartikel in Abbildung 5-11 waren die Goldreflexe aufgrund der geringen Kristallitgröße der Gold-Nanopartikel nicht detektierbar (siehe Abschnitt 5.2.2). Nur der Au(111)-Reflex deutete sich bei ca. 2.7 \AA^{-1} an. Im Diffraktogramm zeigten sich die für Eisenoxid charakteristischen Reflexe. Für die berechneten Intensitäten wurde von einer Mischung aus Magnetit und Maghemit ausgegangen, da sich die Reflexe nicht eindeutig einer Phase zuordnen ließen (siehe Kapitel 2.2 und 3.2.3).

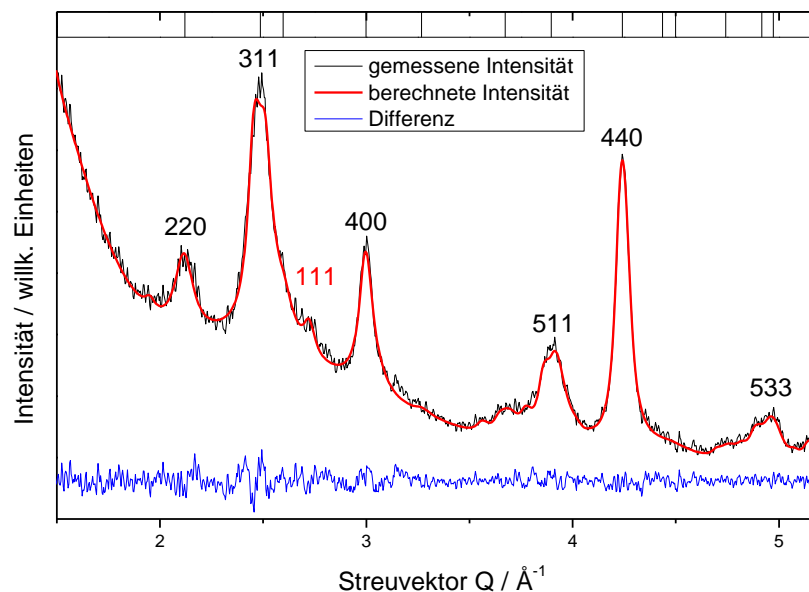


Abb. 5-11. Röntgendiffraktogramm von Au@Fe₃O₄-Heterodimeren. (Reflexbeschriftung: Fe₃O₄ schwarz, Au rot).

5.2.6 Au@Fe₃O₄-Heterodimere: Mößbauerspektroskopie

Wie bereits erwähnt, erschwerten die stöchiometrische Abweichung vom idealen Bulk-Magnetit und -Maghemit die exakte Auswertung der Spektren (siehe Kapitel 3.2.4).^{151, 152} Darüber hinaus üben interpartikuläre, magnetische Wechselwirkungen Einfluss auf die magnetischen Eigenschaften der Partikel aus. Zwischen räumlich separierten und nicht separierten Partikeln kann es zu abweichenden magnetischen Daten kommen. Dies kann auch Auswirkungen auf die Mößbauerspektren haben, wie u.a. ein verbreiterte Banden und eine abweichende Blockierungstemperatur, welche auch ein Maß für die Kristallitgröße ist.^{120, 121, 227} Zudem können weitere magnetische Effekte zwischen der Gold- und der Eisenoxid-Domäne auftreten.¹⁰⁴ Obwohl die verhältnismäßig kleine Gold-Domäne nur einen geringen Beitrag leisten dürfte, sollte dieser Aspekt beim Vergleich der Daten mit den jeweils reinen Eisenoxid-Nanopartikeln Berücksichtigung finden.

Die Mößbauerdaten bei 5 K wurden mit drei Lorentzverteilungsfunktionen gefittet (siehe Abb. 5-12). Das erste Sextett mit der Isomerieverschiebung von 0.527 mm/s und einer Hyperfeinfeldaufspaltung von 524 kOe ließ sich dem Maghemit zuordnen (QS = -0.017 mm/s, rot). Demgegenüber zeigten die beiden anderen Sextette mit einer Isomerieverschiebung von 0.707 mm/s und 0.426 mm/s sowie den magnetischen Aufspaltungen von 471 kOe und 501 kOe charakteristische Werte von Magnetit (QS = -0.132 mm/s und 0 mm/s, blau und grün).²²⁸ Das Verhältnis von Magnetit zu Maghemit betrug demnach ca. 3:1, was bedeutet, dass die Eisenoxid-Domänen zum größten Teil aus Fe₃O₄ bestanden.

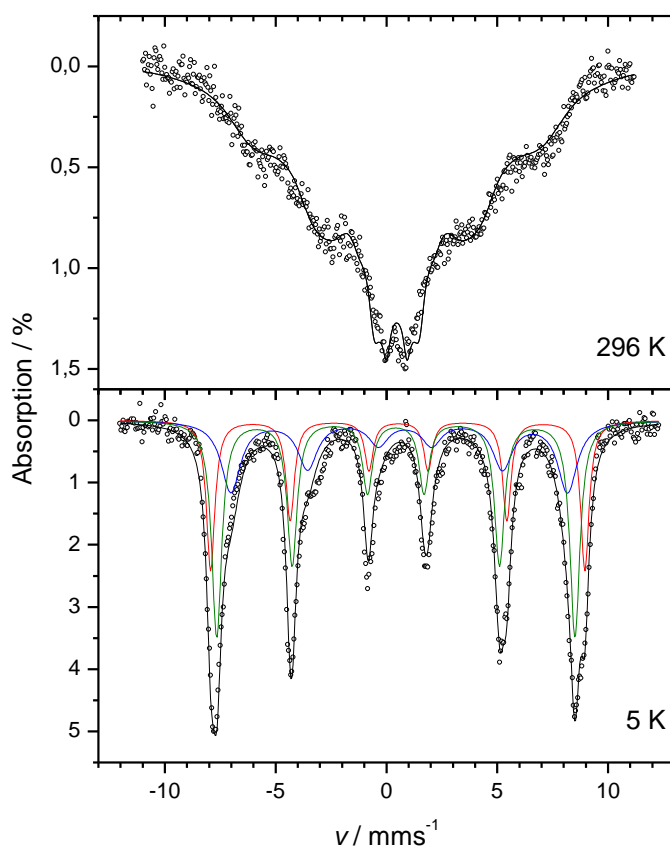


Abb. 5-12. Mößbauerspektrum bei 296 K und 5 K von Au@Fe₃O₄-Heterodimer-Nanopartikeln (Messdaten schwarze Punkte, Gesamffit schwarze Linie).

Das Spektrum bei Raumtemperatur (296 K) deutete eine breitere Kristallgrößenverteilung mit Schwerpunkt von ca. 8 bis 10 nm an, da sowohl ein Quadrupoldublett von größeren Kristalliten, als auch die statisch, magnetische Sextettaufspaltung von kleineren Kristalliten zu erkennen war (siehe Abb. 5-12).^{102, 150} Die Daten wurden pro Forma mit einer Voigt-basierten Analyse gefittet (IS = 0.46(1) mm/s, QS = 0(2), $H_{hf} = 276(164)$, schwarz). Aufgrund der breiteren Verteilung der Kristallite und der oben genannten Gründe wurden die Daten nicht weiter verfeinert.

Die Bewertung der Ergebnisse ist schwierig. Die Abweichung der Kristallitgröße von der Domänengröße (hier $18.5 \text{ nm} \pm 15 \%$) könnte einerseits ihren Ursprung in der weniger gut ausgeprägten Kristallinität der Mischphase aus Magnetit und Maghemit gehabt haben. Andererseits könnte sie auch ein weiteres Indiz dafür sein, dass die Eisenoxid-Domänen nicht monokristallin aufgebaut waren. Ein weiterer, wichtiger Gesichtspunkt bei der Beurteilung der Kristallitgröße und deren Größenverteilung ist, dass die Eisenoxid-Domänen keine einheitliche sphärische Geometrie besaßen.

5.2.7 Au@Fe₃O₄-Heterodimere: SQUID-Magnetometrie

Die Eisenoxid-Domänen zeigten superparamagnetisches Verhalten. Bei der Messung des magnetischen Moments m in Abhängigkeit eines angelegten Magnetfeldes bei 300 K besaßen sie kein Koerzitivfeld, während sie bei 5 K eine Hysteresekurve ausbildeten (siehe Abb. 5-13 a). Die Sättigungsmagnetisierung tendierte gegen 40 emu/g , was unter dem Wert des Volumenmaterials sowohl von Maghemit ($\sim 80 \text{ emu/g}$)^{97, 153} als auch von Magnetit ($90 - 100 \text{ emu/g}$)^{6, 7, 97} lag.

Da wie bei den sphärischen Eisenoxid-Nanopartikeln aus Eisen(III)-oleat bei den Eisenoxid-Domänen der Heterodimere die vorherrschende Phase Magnetit war und die Größen (16 nm vs. 18 nm) nahezu identisch waren, ließen die Ergebnisse der magnetischen Messungen (siehe Kapitel 3.2.5) sich gut miteinander vergleichen. Bei beiden Partikelsorten wies die Hysteresekurve eine leichte Verschiebung vom Koordinatenursprung auf. Dieser geringe Exchange Bias-Effekt wurde in der Literatur auf unterschiedliche Bedingungen der Spins an der Oberfläche und im Inneren der Nanopartikel zurückgeführt, so dass nach einem Kern-Schale-Modell die Spins untereinander wechselwirkten.¹⁵⁴ Interessanterweise unterschieden sich die Dimere von den Eisenoxid-Nanopartikeln in ihre magnetische Hysterese insofern, dass die Sättigungsmagnetisierung der Heterodimeren mit ca. 40 emu/g höher als die der einfachen Partikeln mit ca. 25 emu/g war. Offenbar sorgte die heterogene Keimbildung gegenüber der homogenen Keimbildung bei der Synthese aus Eisenoleat für eine größere magnetische Ordnung im System. Die Ergebnisse für ZFC/FC-Messungen waren konsistent. Der Verlauf der Graphen war nahezu identisch. Die Blockierungstemperatur war bei den Eisenoxid-Domänen mit 237 K (siehe Abb. 5-13 b) im Vergleich zu den reinen Partikeln mit 207 K aufgrund der größeren Ausdehnung zu höheren Temperaturen hin verschoben. Die breitere Größenverteilung der Eisenoxid-Domänen mit $\pm 14 \%$ gegenüber $\pm 3 \%$ bei den Eisenoxid-Nanopartikeln aus Oleat führte zu einer breiteren Maximum in der ZFC-Kurve.

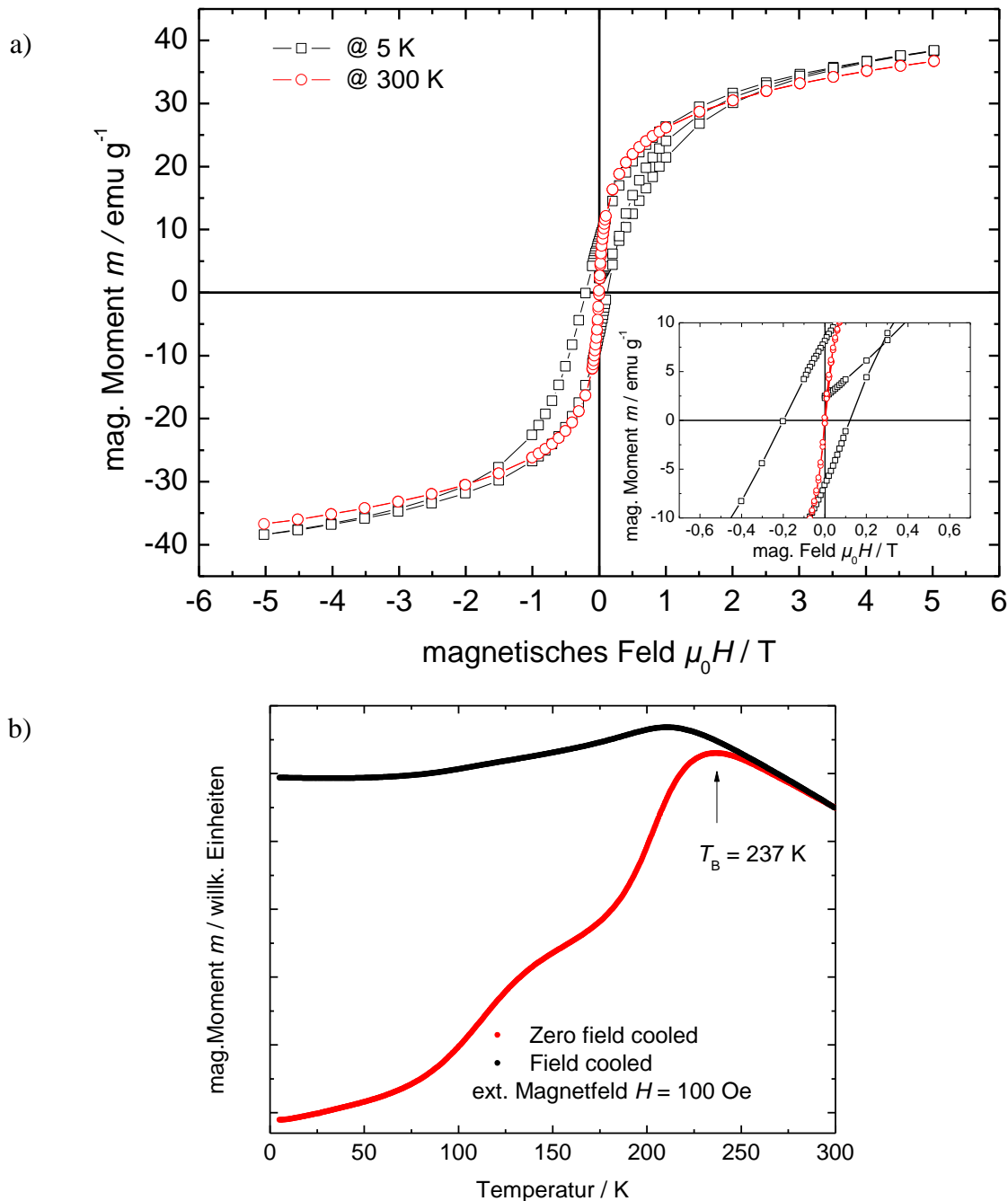


Abb. 5-13. Magnetisierungskurve in Abhängigkeit von (a) dem Magnetfeld und (b) von der Temperatur von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren 3.5(0.4)@18.1(2.5) nm. Die vergrößerte Darstellung um den Koordinatenursprung in (a) verdeutlicht das superparamagnetische Verhalten der Nanopartikel mit $H_C = 0$ bei 300 K.

Wie bei den Eisenoxid-Nanopartikeln trat in der ZFC-Kurve eine breite Stufe zwischen 100 und 150 K auf (vergleiche Abb. 3-10 b). Eine Stufe in der FC-Kurve war in unseren Messungen sowohl bei den Eisenoxid-Nanopartikeln aus Oleat als auch bei den Eisenoxid-Heterodimeren hingegen selten eindeutig zu beobachten. Wenn sie auftrat, lag sie im

gleichen Temperaturbereich wie die Stufe in der ZFC-Kurve. Als Beispiel für das Auftreten der Stufe dient die FC-Kurve in Abbildung 5-14, welche ebenfalls eine Messung der ZFC- und FC-Kurve von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren zeigt. Die Kanten der Stufe lagen bei ca. 110 K. Beim makroskopischen Magnetit ist wegen des Verwey-Übergangs sowohl in der ZFC- Kurve als auch in der FC-Kurve bei 125 °C eine Stufe zu beobachten. Allerdings ist die Literatur bezüglich des Verwey-Übergangs in Magnetit-Nanopartikeln nicht eindeutig (siehe Kapitel 2.2). Vergleichbare Ergebnisse finden sich in den Daten bei Pineider *et al.*¹⁰⁴. Dort wurde das Auftreten der Stufe bei den Messungen der Gold@Magnetit-Nanopartikeln auf den Verwey-Übergang zurückgeführt. Die Abweichung vom makroskopischen Material wurde mit einem Anteil Wüstit bei den Nanopartikeln erklärt. Zwar schließen hier die Röntgendiffraktion und die Mößbauermessungen der Eisenoxid-Nanopartikel sowie der Heterodimere ein Vorhandensein der Wüstitphase aus, jedoch setzten sich beide Partikelsorte aus einer Mischphase von Maghemit und Magnetit zusammen.

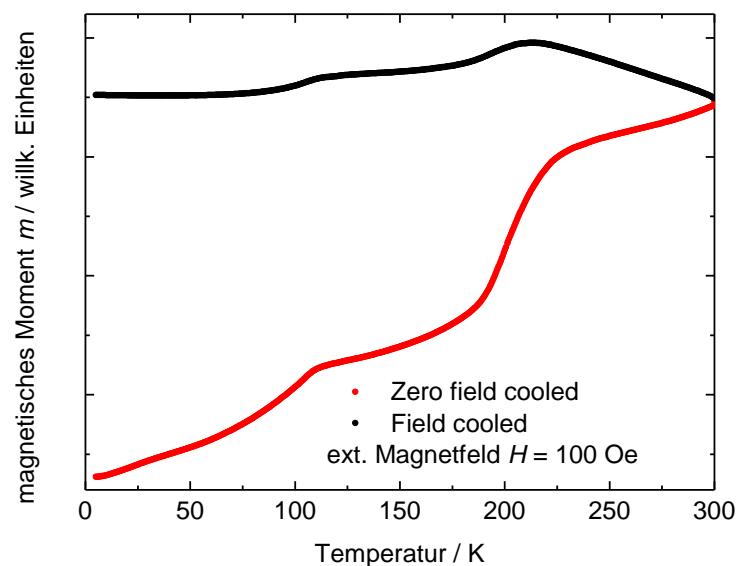


Abb. 5-14. ZFC- und FC-Kurve von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren.

5.3 Zusammenfassung und Ausblick

Durch eine keimvermittelte Synthese in zwei Stufen konnten Gold@Eisenoxid-Heterodimere hergestellt werden. In der ersten Stufe wurden monodisperse Gold-Nanopartikel durch die Reduktion von Tetrachlorgoldsäure durch einen Borkomplex nach Peng *et al.*²²¹ erhalten. Statistische Auswertungen von TEM-Aufnahmen ergaben eine Größe von ca. 4 nm für die sphärischen Partikel. Die Auswertung der Röntgendiffraktion zeigte, dass die Partikel aus zwei Kristalliten mit halben Partikeldurchmessern bestehen. Die Gold-Nanopartikel wiesen eine schwache und breite UV/Vis-Bande bei 513 nm auf, welche durch die Oberflächenplasmonenresonanz hervorgerufen wurde.

In einer zweiten Stufe wuchs durch die thermische Zersetzung von Eisenpentacarbonyl in Gegenwart von Ölsäure eine Eisenoxid-Domäne epitaktisch auf den Gold-Nanopartikeln. Die Eisenoxid-Domänen hatten überwiegend eine sphärische Form und waren ca. 15 bis 18 nm groß mit einer Größenverteilung von ca. 15 %. TEM-Aufnahmen und Mößbauerdaten deuteten an, dass die Kristallisation von Eisenoxid auf den Gold-Nanopartikeln häufig an mehreren Stellen stattgefunden hat. Im weiteren Verlauf der Reaktion wuchsen diese Kristallisationsorte schließlich zu einer großen Domäne zusammen. Insbesondere durch die Entstehung dieser Untereinheiten und deren ungleichmäßigen Zusammenwachsen kam es zu der breiten Größenverteilung.

Die Eisenoxid-Domäne bestand wie die Eisenoxid-Nanopartikel in Kapitel 2.5 laut Mößbauerdaten vornehmlich aus Magnetit. Die starke Ähnlichkeit spiegelt sich in den magnetischen Messungen wieder. Während die ZFC/FC-Messungen in sehr guter Übereinstimmung waren, treten in der Hysterese (5 K) bei den Dimeren sogar höhere Sättigungswerte auf als bei den reinen Eisenoxid-Partikeln (~40 emu/g gegenüber ~30 emu/g). Die Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimere zeigten superparamagnetisches Verhalten.

Eine Optimierung der Synthese hinsichtlich einer möglichst einheitlichen Eisenoxid-Domäne in Größe und Form ist der nächste erforderliche Schritt. Hierfür muss die Mehrfachkristallisation auf den Gold-Nanopartikeln unterbunden werden. In Anschluss daran ist eine Größen- und Formeinstellbarkeit der einzelnen Domänen sowohl von Gold als auch Eisenoxid ein höchst interessanter Aspekt, da damit eine gezielte Variation der Eigenschaften der Heterodimere möglich wird und sich viele Anwendungsmöglichkeiten erschließen würden. Welches Potenzial die Heterodimere für medizinische Anwendungen andeuten, wird in Kapitel 9 näher beschrieben.

5.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

5.4.1 Synthese von Au-Nanopartikeln

4 nm große Au-Nanopartikel wurden nach einer Vorschrift von Peng *et al.*²²¹ dargestellt. Es wurden bei Raumtemperatur (ca. 23 °C) in 10 ml Tetralin 100 mg (0.25 mmol) $\text{HAuCl}_4 \cdot 3(\text{H}_2\text{O})$ und 10 ml Oleylamin gelöst und für 10 min im Argonstrom gerührt. Durch schnelle Zugabe einer kurz im Ultraschallbad homogenisierten Lösung von 43.5 mg (0.5 mmol) TBAB in 1 ml Tetralin und 1 ml Oleylamin zur Präkursorlösung wurde die Keimbildung initiiert und ein sofortiger Farbumschlag von orange nach tiefdunkelrot trat ein. Nach 1 h Rühren unter Argonatmosphäre wurden die Partikel mittels Zugabe von 15 ml Ethanol und 15 ml Methanol gefällt und durch Zentrifugieren bei 9000 U/min für 5 min aufgereinigt. Der Niederschlag wurde in 10 ml Hexan aufgenommen, im Ultraschallbad redispersiert und in gleicher Weise wiederholt zentrifugiert, während der farblose Überstand jeweils verworfen wurde. Im Anschluss wurden die Partikel in Hexan gelöst und bei 4 °C gelagert. Die Ausbeute betrug ca. 80 mg an Oleylamin umhüllten Au-Nanopartikeln.

5.4.2 Synthese von Au@Fe₃O₄-Heterodimeren

15 mg Au-Nanopartikel wurden zu einer Lösung aus 2 ml (6 mmol) Oleylamin und 2 ml (6 mmol) Ölsäure in 20 ml 1-Octadecen geben, auf 70 °C erhitzt und 3-mal innerhalb von 45 min entgast und wieder mit Argon geflutet. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf 120 °C erhitzt und 0.27 ml (2 mmol) $\text{Fe}(\text{CO})_5$ hinzugeben. Innerhalb von 60 min wurde die Reaktion kontinuierlich auf 310 °C (~ 3.2 °C/min) hochgeheizt und für weitere 60 min bei dieser Temperatur gehalten. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Nanopartikel mit einem 5-fachen Überschuss an Isopropanol gefällt und für 10 min bei 9000 U/min zentrifugiert. Der Niederschlag wurde in Hexan aufgenommen, im Ultraschallbad redispersiert und erneut mit Isopropanolüberschuss zentrifugiert. Um größere Reaktionsrückstände zu entfernen, wurden die Partikel im letzten Aufreinigungsschritt nur in Hexan bei 7000 U/min für 1 min zentrifugiert. Der kaum vorhandene Niederschlag wurde verworfen. Der Hexanüberstand wurde bei 4 °C gelagert. In seltenen Fällen, wenn TEM-Aufnahmen einen hohen Anteil an freien Gold-Nanopartikeln aufwiesen, wurde eine zusätzliche magnetische Separation mittels eines handelsüblichen 1 Tesla Magneten durchgeführt. Diese wurde solange wiederholt, bis die Hexanphase keine rot-violette Färbung mehr aufwies.

6 Auftrennung von Au@Fe₃O₄-Nanoheterodimeren mittels AF-FFF

6.1 Einleitung

Viele Parameter beeinflussen das Synthesergebnis bei Nanopartikeln. Am Beispiel der Gold@Eisenoxid-Nanopartikel sind es Parameter wie Gitterfehlpassung²²⁹, Kristallinität der Goldnanopartikel²⁰⁴, Gold-zu-Eisenpräkursor Verhältnis²⁰⁴, Liganden bzw. Additive²³⁰, verwendetes Lösungsmittel^{37, 60}, Heizrate³⁷ und Kochzeit²⁰⁴. Zusätzlich kann die oft niedrige Reinheit der kommerziell erhältlichen Liganden die Reproduzierbarkeit erschweren.²³¹ Um die größen- und/oder formspezifischen Eigenschaften von Nanopartikeln optimal nutzen zu können, bedarf es oft extrem einheitlicher Proben. Eine nachgeschaltete, effektive Trennung könnte im Hinblick auf industrielle Anwendungen die Nutzbarkeit erleichtern und die Prozesse kostengünstiger gestalten.²³² Da Synthesen von Nanopartikeln in Durchflussreaktoren immer mehr an Bedeutung gewinnen,²³³ bieten sich Aufreinigungsmethoden mit kontinuierlichem Flussbetrieb hierfür besonders an, wie zum Beispiel die asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (engl. asymmetrical flow field-flow fractionation, AF-FFF). In der Literatur wurden bisher nur einfach strukturierte anorganische Nanopartikel aus Gold²³⁴, Silber²³⁵ oder Eisenoxid²³⁶ und größere (> 60 nm) γ -Fe₂O₃@SiO₂ Kern-Schale-Nanopartikel²³⁷ mittels AF-FFF analysiert. In Zusammenarbeit mit der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) wurde daher die AF-FFF als potentielle Aufreinigungsmethode für komplex aufgebaute Nanopartikel anhand der Gold@Eisenoxid-Heterodimeren-Nanopartikel untersucht.

6.2 Ergebnisse und Diskussion

6.2.1 TEM-Charakterisierung der Au@Fe₃O₄-Heterodimer-Probe

Die verwendete Au@Fe₃O₄-Heterodimer-Probe wurde ähnlich wie im vorherigen Kapitel beschrieben dargestellt. Die nachfolgenden TEM-Aufnahmen in Abbildung 6-1 zeigen die Probe; 4 nm großen Gold-Nanopartikel bildeten die Gold-Domäne in den Heterodimeren. Da keine vollständige Umsetzung stattgefunden hatte, waren noch freie Gold-Nanopartikel vorhanden. Die Eisenoxid-Domäne der Dimere wies eine Größe von 5 nm bis über 20 nm auf. Die Form der Eisenoxid-Domäne war überwiegend sphärisch. Der Anteil von Trimeren ist nur sehr gering.

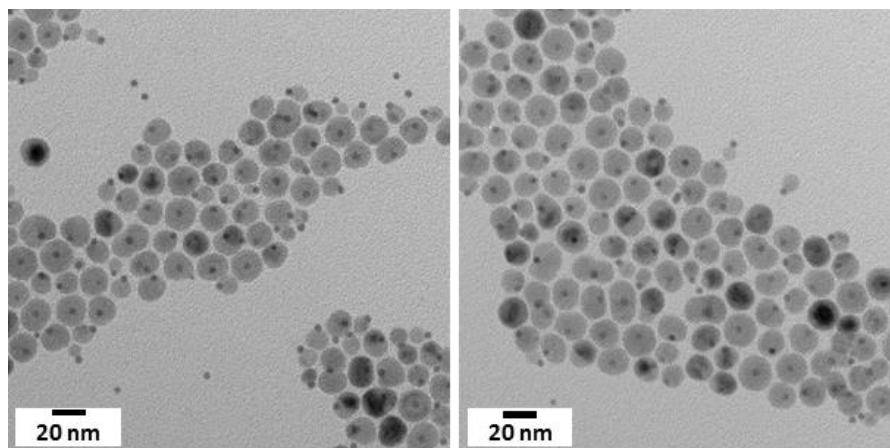


Abb. 6-1. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren verwendet in der AF-FFF.

6.2.2 Trennergebnisse der AF-FFF

Für eine bestmögliche Trennleistung der in Toluol gelösten Gold@Eisenoxid-Nanopartikel musste zuerst die Querflussrate optimiert werden. Abbildung 6-2 zeigt, dass eine optimale Trennung bei einer Querflussrate von 1 ml/min erreicht wurde. Dabei waren zwei Signale bei einer Retentionszeit von 1.15 min bzw. 2.67 min zu sehen. Bei einer Querflussrate von 0.5 ml/min fand keine Trennung statt und bei 1.5 ml/min wechselwirkte die größere Fraktion mit der Membran und verblieb im Kanal.

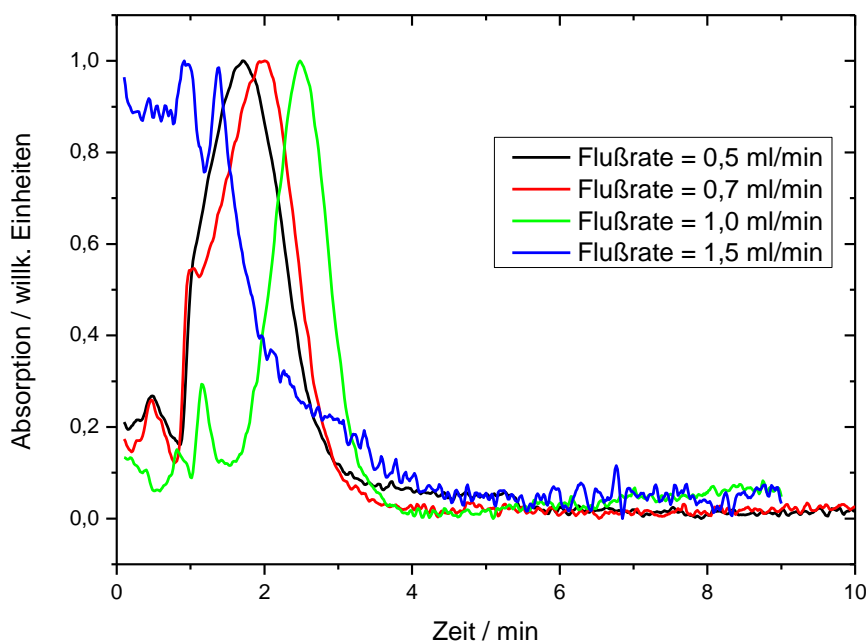


Abb. 6-2. AF-FFF-Elugramme von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren in Toluol bei verschiedenen Querflussraten (Detektor: UV/Vis-Absorption bei $\lambda = 350$ nm).

Um die Reproduzierbarkeit der Fraktionierung zu überprüfen, wurden drei Experimente bei einer Querflussrate von 1.0 ml/min durchgeführt. Wie in Abbildung 6-3 zu erkennen, zeigen alle 3 Durchläufe ein ähnliches Profil. Die Fraktionen wurden daher in den letzten zwei Experimenten entsprechend Abbildung 6-3 gesammelt und nummeriert. Im Anschluss wurden die Fraktionen mittels Transmissionselektronmikroskopie untersucht.

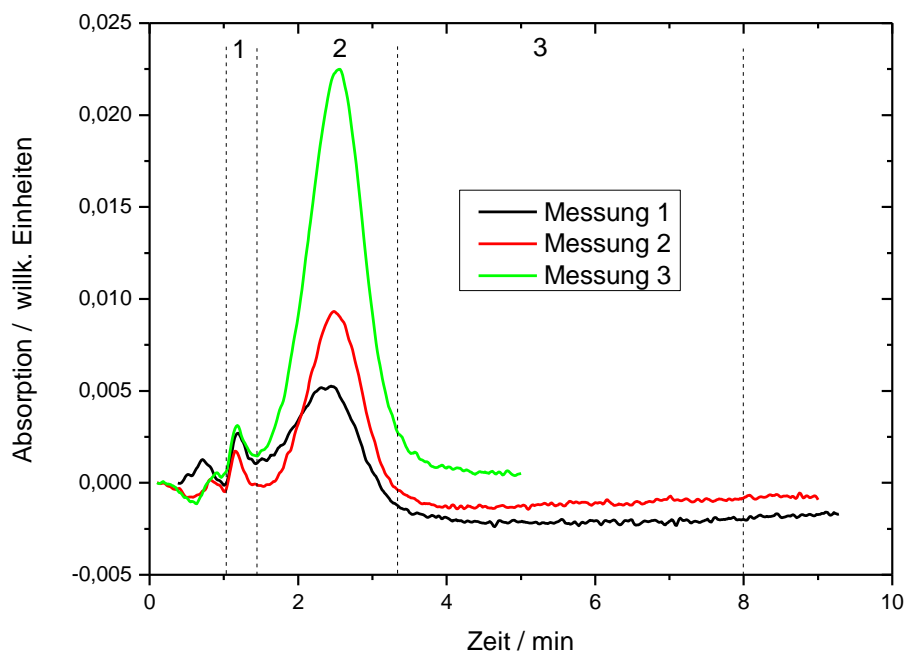


Abb. 6-3. AF-FFF-Eluogramme und Fraktionierung von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren in Toluol (Querflussrate = 1 ml/min, Detektor: UV/Vis-Absorption bei $\lambda = 350$ nm).

Unter dem Transmissionselektronenmikroskop wurden in Fraktion 1 nur Gold-Nanopartikel, in Fraktion 2 ausschließlich die Dimere und in Fraktion 3 keine Partikel vorgefunden. In Abbildung 6-4 sind TEM-Aufnahmen von der Ausgangsprobe der Fraktion 1 und 2 gegenübergestellt. Die Fraktionen waren auch nach dem Einengen noch stark verdünnt, da höhere Konzentrationen bei dem verwendeten AF-FFF-Aufbau mit Injektionsvolumen von lediglich 20 μ l zur Überladung des Kanals führte.

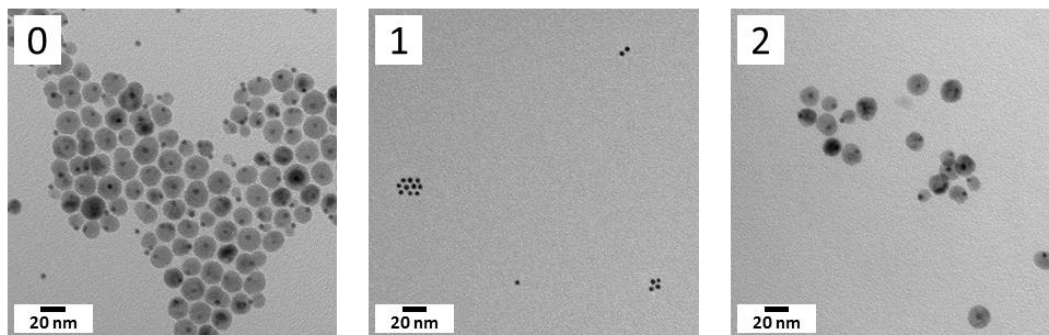


Abb. 6-4. TEM-Aufnahmen von Gold@Eisenoxid-Heterodimeren vor und nach AF-FFF : 0) Ausgangsprobe, 1) erste und 2) zweite Fraktion.

6.3 Zusammenfassung und Ausblick

Die Möglichkeiten der AF-FFF für den Einsatz in der Nanopartikelsynthese wurden untersucht. Hierfür wurde eine Probe von Au@Fe₃O₄-Heterodimeren verwendet, welche freie Gold-Nanopartikel beinhaltete und eine polydisperse Eisenoxid-Domäne aufwies.

Drei Fraktionen wurden gesammelt. Die erste beinhaltete nur Gold-Nanopartikel, die zweite nur Dimere und die dritte war frei von Probe. Die TEM-Untersuchungen der Fraktionen zeigten, dass AF-FFF eine sehr effektive Methode darstellt, um Nanopartikel mit geringen Größenunterschieden voneinander zu trennen. Es waren keine Gold-Nanopartikel mehr in der Fraktion der Dimer vorzufinden und umgekehrt, und dies obwohl die kleinsten Dimere nur eine Eisenoxid-Domäne von ca. 5 nm besaßen. Dementsprechend konnte auf eine maximale Trennleistung geschlossen werden. Im Vergleich mit anderen in dieser Arbeit verwendeten Trennungsmethoden wie der Zentrifugation oder der magnetischen Separation wies diese Methode die beste Trennleistung auf. Jedoch war die verwendeten AF-FFF in ihrer Kapazität stark begrenzt. Während eine optimale Trennung von freien Keimpartikeln und Heterodimeren gelang, war eine Auftrennung der dispersen Dimerpartikel auf Anrieb jedoch nicht möglich. In weiteren Experimenten muss untersucht werden, ob durch ein Unterteilen der Fraktion 2 in weitere Zeitabschnitte Probenfraktionen mit unterschiedlicher Größe und geringer Größenverteilungen erreicht werden können.

Die AF-FFF besitzt großes Potenzial als Trennmethode für Nanopartikel. So konnte gezeigt werden, dass mittels AF-FFF bei einer keimvermittelten Synthese eine leichte und höchst effektive Separation von nichtreagierten Keimen von den Heteronanopartikeln erreicht werden kann. Insbesondere wenn die Entwicklung in der Mikroprozessertechnik mit der Synthese von Nanopartikeln im kontinuierlichen Fluss weiter voranschreitet, bietet sich die AF-FFF als nachgeschaltete Methode zur Aufreinigung an.

7 CpG-ODN-funktionalisierte Nanopartikel mit Motilitätssteigernder Wirkung von Alveolarkrebszellen

Das folgende Kapitel enthält Auszüge der Publikation:

*Enhanced motility of alveolar cancer cells induced by CpG-ODN-functionalized nanoparticles*²³⁸

Jan Rother,^a Anna Pietuch,^a Kerstin Koll,^b Thomas D. Schladt,^b Oskar Köhler,^b Isabel Schick,^b Wolfgang Tremel,^b Andreas Janshoff^a

7.1 Einleitung

Täglich sind wir einer großen Zahl an Pathogenen ausgesetzt, welche zum Beispiel über Wunden in die epithelialen Zellschichten eindringen. Beginnend ab dem ersten Kontakt mit einem pathogenen Mikroorganismus beugt unser Immunsystem einer Erkrankung vor, indem es eine Kaskade spezifischer und unspezifischer Abwehrmechanismen einleitet. Dieser Vorgang beinhaltet sowohl die lokale Freisetzung an entzündungsfördernden Chemokinen und Cytokinen, welche Immunzellen an den Ort der Verletzung anziehen als auch die Produktion von unspezifischen, antimikrobiellen Peptiden. Zur gleichen Zeit wird die adaptive Immunantwort induziert, die binnen weniger Tage zu einem Schutzmechanismus gegen spezifische Pathogene führt.²³⁹

Das Erkennen der Pathogene wird vermittelt durch *Pattern-Recognition Receptors* (PRRs). Einer dieser Rezeptoren ist der Toll-Rezeptor[†] der Fruchtfliege *Drosophila*. Nach seiner Entdeckung im Jahre 1985 wurde er zuerst nur der dorsoventralen Polarisation während der Embryogenese der Fruchtfliege zugeordnet.²⁴⁰ Spätere Experimente von Lemaitre und Mitarbeitern offenbarten, dass er auch eine essentielle Rolle in der Immunabwehr der adulten *Drosophila* spielt.²⁴¹ Seitdem sind mehr als zehn Proteine mit hoher Sequenzhomologie in Wirbeltieren gefunden worden. Diese Toll-ähnlichen Rezeptoren (kurz TLR, von engl. *toll-like receptor*) sind vorwiegend bei Zellen des

^a Institut für Physikalische Chemie, Georg-August-Universität, Tammannstr. 6, 37077 Göttingen, Deutschland

^b Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie, Johannes Gutenberg-Universität, Duesbergweg 10 – 14, 551228 Mainz, Deutschland

[†] Der Name des Rezeptors leitet sich vom deutschen „toll“ ab. Hintergrund ist, dass die Forschungsgruppe um die Nobelpreisträgerin Christiane Nüsslein-Volhard so begeistert über die Entdeckung war, dass sie ihn „Toll“ nannten.

Immunsystems vorzufinden und sind ein wichtiges Bindeglied zwischen dem angeborenen und dem adaptiven Immunsystem.²⁴² Innerhalb der TLRs hat der TLR-9 aufgrund seines Liganden hohe Aufmerksamkeit erlangt: Der Rezeptor wird aktiviert durch nicht-methylierte, cytosin- und guaninreiche Motive prokaryotischer DNS (CpG-DNS). Das macht ihn zu einem potentiellen Ziel für therapeutische Ansätze gegen Autoimmunkrankheiten oder Krebs. Ebenso wird die Adressierung des TLR-9 während der Impfung durch systemische Verabreichung von synthetischen, einzelsträngigen, immunstimulierenden CpG-Oligodesoxynukleotiden (CpG-ODNs) diskutiert, um die Immunisierung zu beschleunigen.²⁴³ Im Gegensatz zu vielen anderen TLRs ist der TLR-9 nicht auf der Plasmamembran vorhanden; er ist in den Lysosomen lokalisiert. Das macht ihn zu einem attraktiven Ziel für multivalente Transportersysteme, die potentiell die Aufnahme von CpG-ODNs erhöhen und damit auf eine gesteigerte und verbesserte, angeborene Immunantwort zielen. Von vielen verschiedenartigen Strategien um Liganden zielgenau zur Verfügung zu stellen und intrazelluläre Rezeptoren zu stimulieren, bilden maßgeschneiderte Nanopartikel einen vielversprechenden Ansatz, da sie in Größe, Form und Oberflächenfunktionalität außerordentlich anpassbar sind.²⁴⁴⁻²⁴⁶

In dieser Arbeit wurden die Möglichkeiten und Fragestellungen erforscht, welche die Verwendung von anorganischen Nanopartikeln als Transportersystem mit sich bringt. Zum anderen wurde der Effekt der TLR-9-Aktivierung in der menschlichen Lungenkarzinomzelllinie A549 untersucht. Obwohl immunstimulierende CpG-ODNs bereits aussichtsreiche Ergebnisse in Tierversuchen sowie in klinischen Studien gezeigt haben, berichteten mehrere Gruppen erst kürzlich, dass der TLR-9 ebenfalls von manchen Tumorzellen exprimiert wird.²⁴⁷ Erste Experimente an Krebszellen wiesen darauf hin, dass die Aktivierung von TLR-9 zum einen zu einer verringerten Apoptoserate nach Behandlung der Zellen mit dem Apoptose-induzierenden Protein TNF- α (Tumornekrosefaktor- α) und zum anderen zu einer verstärkten Proliferation führte. Dies birgt ein nicht kalkulierbares Risiko für Tumorpatienten, die CpG-ODNs ausgesetzt werden.^{248, 249} Demzufolge ist für einen verlässlichen und sicheren Einsatz in der Krebsbehandlung ein fundiertes Wissen über die Wirkung von CpG-ODNs auf Krebszellen unabdingbar.

Hier wurde ein neuer Weg eingeschlagen, um lysosomale TLR-9 in epithelialen Lungenkrebszellen der Zelllinie A549 mit CpG-ODN funktionalisierten, superparamagnetischen Mangan(II)-oxid- (MnO-) und Eisen(III)-oxid- (γ -Fe₂O₃-) Nanopartikeln (NP) spezifisch anzusteuern (siehe Abb. 7-1 7-1). Die an die Nanopartikel gebundenen Fluorophore erlaubten eine einfache Lokalisierung innerhalb der Zellen *in vitro*. Die magnetischen Eigenschaften gestatteten zudem die Lokalisierung der immunstimulierenden Partikel *in vivo* anhand von Magnetresonanztomographie, da die hier

verwendeten Metalloxid-Nanopartikel sich als Kontrastmittel in der *T1*- bzw. *T2*-gewichteten Bildgebung eignen.²⁵⁰ Es konnte gezeigt werden, dass lediglich die verwendeten Fe₂O₃-Nanopartikel im untersuchten Konzentrationsbereich nicht toxisch sind. Indessen stellten sich die MnO-basierten Transporter selbst in geringen Konzentrationen als toxisch heraus, so dass der Effekt der CpG-ODNs durch zytotoxische Effekte verdeckt wurde. Die mit CpG-ODN funktionalisierten Fe₂O₃-Partikel verursachten eine signifikant erhöhte Mikromotilität in den A549-Zellen, was in Vergleichsmessungen mit ungebundenen CpG-ODNs in gleicher Konzentration durch ECIS (electric cell-substrate impedance sensing) ermittelt wurde. Darüber hinaus ließen die impedimetrischen Experimente erkennen, dass die Dichte der Zell-Zell-Kontakte nach der Inkubation mit den immunstimulierenden Nanopartikeln vermindert wurde, ohne die Viabilität der Zellen zu beeinträchtigen, was auf eine morphologische Veränderung im Antwortverhalten auf die TLR-9-Aktivierung hindeutete.

7.2 Ergebnisse und Diskussion

7.2.1 Synthese und Funktionalisierung der Nanopartikel

In Abbildung 7-1 a und b sind TEM-Aufnahmen der hydrophoben Manganoxid- und Eisenoxid-Nanopartikel wiedergegeben. Beide Sorten Nanopartikel hatten mit einem Durchmesser von ca. 16 nm ($\sigma < 5\%$) die gleiche Größe. Die Partikel wurden mit einem Polymer umhüllt, das aus dem Kettenpolymer Poly(pentafluorophenyl)acrylat (PPFA) besteht (siehe Abb. 7-1 c), dessen Pentafluorophenyl-Gruppen zuvor sukzessiv mit 3-Hydroxytyramin (Dopamin), einem Fluoreszenzfarbstoff und einem bis-amino-funktionalisierten Polyethylenglycol (PEG) ersetzt wurden.^{53, 131, 251} In einer Ligandenaustauschreaktion konnten die aus der Synthese stammenden Ölsäuremoleküle durch das funktionalisierte Polymer verdrängt werden, da das Polymer mit den aromatischen Diolgruppen des Dopamins eine stabilere, chelatartige Verbindung auf der Partikeloberfläche eingeht. Damit ging ein Wechsel der Löslichkeit von unpolaren zu polaren Medien einher.^{251, 252} Im letzten Schritt wurden CpG-ODNs (CpG-ODN 2006, Invivogen, USA) unter Verwendung der Phosphoramidit-Methode an die freien Aminogruppen des PEGs gekoppelt (siehe Abb. 7-1 d). Als Kontrolle dienten Nanopartikel, die entweder Nukleotidsequenzen trugen, die den TLR-9 nicht aktivieren, oder PEGylierte Partikel ohne ODNs (PEG-NP) sowie reine, nicht an Partikel gebundene CpG-ODNs. In der folgenden Abbildung 7-2 sind Eisenoxid-Nanopartikel nach dem Ligandenaustausch mit dem dopaminfunktionalisierten Grundpolymer gezeigt.

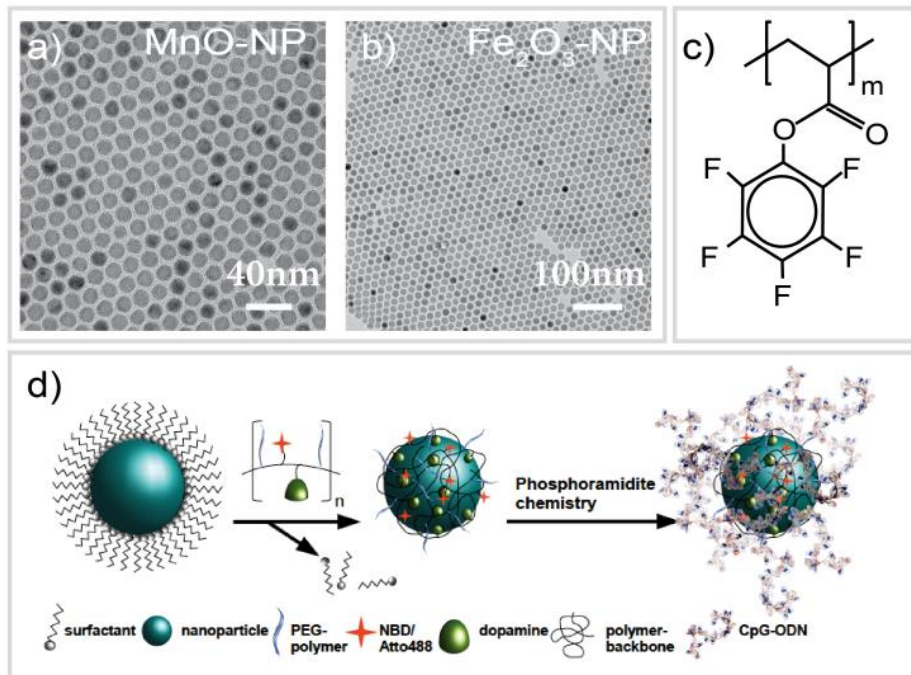


Abb. 7-1. Multifunktionale Metalloxid-Nanopartikel. a) und b) TEM-Aufnahmen der hydrophoben Manganoxid- und Eisenoxid-Nanopartikel. c) Polymerkette Polyaktivester Poly(pentafluorophenyl)acrylat. d) Schema der Funktionalisierung der Nanopartikel. Im ersten Schritt werden die organischen Liganden gegen das funktionalisierte Polymer (an den Seitengruppen: Bisamino-PEG, Fluoreszenzfarbstoff NBD oder ATTO488 und Dopamin, welches als Ankergruppe an Partikel dient) ausgetauscht. In einem zweiten Schritt werden unter Verwendung des Phosphoramidit-Verfahrens einzelsträngige CpG-Oligodesoxynukleotide (CpG-ODNs) an die freien Aminogruppen des PEG-Polymers gebunden (aus²³⁸).

Allerdings lieferte das Polymer aufgrund des geringen Z-Kontrastes im TEM keinen Kontrast und ist damit praktisch unsichtbar. Die Aufnahme demonstrierte jedoch, dass durch die Funktionalisierung keine Veränderung der Partikel als solche eintrat. Größenauswertungen anhand von TEM-Aufnahmen der Partikel vor und nach der Funktionalisierung zeigten keine signifikanten Abweichungen.

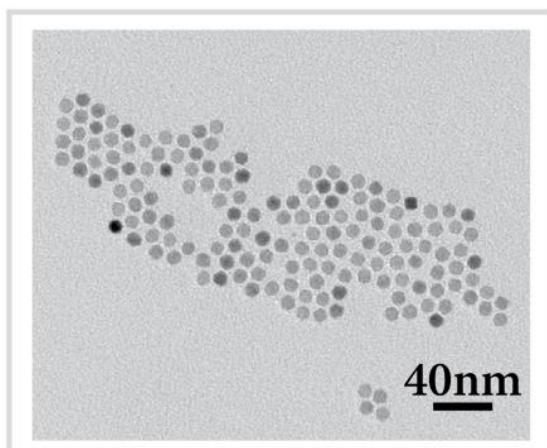


Abb. 7-2. TEM-Aufnahme von γ -Fe₂O₃-Nanopartikeln nach der Funktionalisierung mit Dopamin gekoppelten PPFA (aus ²³⁸).

7.2.2 Aufnahme und Aktivierung des TLR-9-Signalwegs

Zur Kontrolle, ob die A549-Zellen den TLR-9-Rezeptor in den Lysosomen exprimieren, wurden die entsprechen Zellbestandteile durch immunzytochemische Methoden (siehe Unterkapitel 7.4.4) spezifisch gefärbt. Die folgende Abbildung 7-3 zeigt die Verteilung von TLR-9 (rot) in den Zellen (DNS blau).

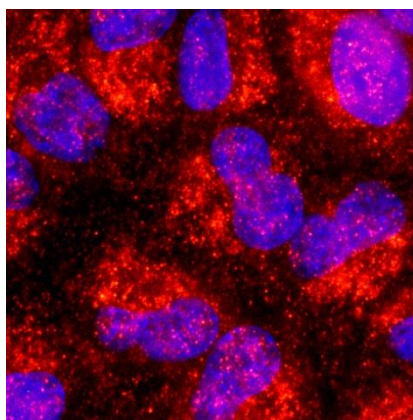


Abb. 7-3. Anwesenheit von TLR-9 (rot, monoklonal Kaninchen anti-TLR-9 IgG, Invitrogen, Alexa546-gekoppelter Polyklonal Ziege anti-Kaninchen IgG, Invitrogen) in A549-Zellen (DNA blau, DAPI) (aus ²³⁸).

Anhand von Fluoreszenzmikroskopie wurde die Aufnahme der funktionalisierten Nanopartikel in die A549-Zellen verfolgt. Sowohl die CpG-Fe₂O₃-Nanopartikel (siehe 7-4 a), als auch die CpG-MnO-Nanopartikel wurden von den Zellen erfolgreich aufgenommen. Ein zentraler Punkt dabei ist in der Abbildung 7-5 zu sehen. Die grüne Fluoreszenz der CpG-MnO-Nanopartikel fällt örtlich mit der blauen Fluoreszenz der Lysosomen, welche mit dem Fluoreszenzfarbstoff LysoTracker DND-22 blue markiert

wurden, zusammen. Das spricht für eine Aufnahme der Partikel in den Lysosomen, der Ort an dem sich der TLR-9 befindet. Die Endozytose der funktionalisierten Nanopartikel in den lysosomalen Bereichen war entscheidend für das Erkennen der CpG-ODNs-Liganden durch die lysosomalen TLR-9 und das anschließende Aktivieren der Signalkette. Abbildung 7-4 b zeigt zudem die erfolgreiche Aufnahme und perinukleäre Lokalisation der Kontroll-Fe₂O₃-Nanopartikel (grün, ATTO488). Dies bedeutet, dass die Endozytose weder von der funktionalisierten, aktiven Nukleotidsequenz noch von der Partikelart abhängt. Jenes ist notwendig, um geeignete Kontrollversuche durchführen zu können.

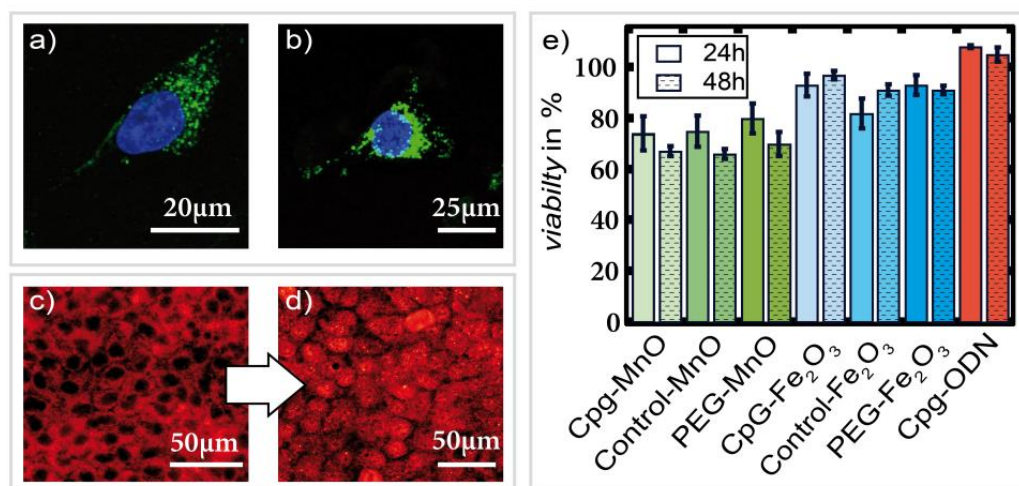


Abb. 7-4. Fluoreszenzbilder der A549-Zellen und Viabilitätstests. a) und b) Aufnahme und kernnahe Lokalisation der CpG-Fe₂O₃-NP (a) Kontroll-Fe₂O₃-NPs (b) (■, ATTO488). Die DNA wurde mit DAPI (■) gefärbt. c) und d) Verteilung von NFκB (■, 1. Antikörper: Kaninchen anti-p65 IgG, 2. Körper: Alexa546 konjugiert mit Ziege anti-Kaninchen IgG) in einer A549-Zelle vor (c) und 30 min nach der (d) Inkubation mit CpG-MnO-NP. e) MTT-Test mit A549-Zellen ($n = 6$ (24 h); $n = 4$ (48 h)). Die Zellen wurden inkubiert mit 25 µg/ml der verschiedenen NP oder 1.2 µM CpG-ODNs (aus ²³⁸).

Um zu prüfen, ob die mit CpG-ODN funktionalisierten Nanopartikel in der Lage sind, die TLR-9 induzierte Signalkaskaden einzuleiten, wurde die p65-Untereinheit des spezifischen Transkriptionsfaktors NFκB (*nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*) vor und 30 min nach der Inkubation mit CpG-MnO-Nanopartikeln markiert.²⁵³ Bei NFκB handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor, der im Laufe der TLR-9 induzierten Signaltransduktionskaskade aktiviert wird. Im inaktivierten Zustand verbleibt der Transkriptionsfaktor NFκB im Zytosol, wo er an seinen spezifischen Inhibitor IκB (siehe 7-4 c) gebunden ist. Nach der Aktivierung des TLR-9 wird der IκB phosphoryliert und anschließend im Proteasom abgebaut, so dass der NFκB in den Kern wandern kann, wo er an den spezifischen NFκB-Motiven der DNS bindet. Das Fluoreszenzbild in Abbildung 7-4 d bestätigte die Aktivierung des TLR-9 30 min nach

dem Aussetzen mit CpG-MnO-Nanopartikeln, da die Translokation des Transkriptionsfaktors NF κ B in den Zellkern stattgefunden hatte. Somit lässt sich festhalten, dass die mit CpG-ODNs funktionalisierten Nanopartikel die gleichen Signalketten wie die reinen CpG-ODNs einleiten.

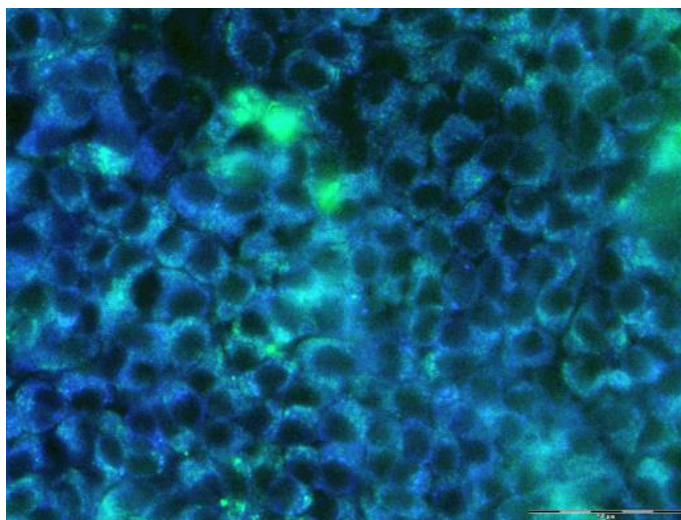


Abb. 7-5. Lokalisation der CpG-MnO-NP (■, NBD) innerhalb der Lysosomen (■, LysoTracker DND-22 blue, Invitrogen) der A549-Zellen (aus ²³⁸).

7.2.3 Zytotoxizität der Nanopartikel

Es wurden MTS-Tests (Promega CellTiter 96® aqueous solution) durchgeführt, um zytotoxische Effekte des auf Nanopartikel basierenden Transportsystems und die intrinsische Toxizität der CpG-ODNs zu untersuchen (siehe Abb. 7-4 e). Die MTS-Tests zeigten, dass nur die MnO-Nanopartikel toxisch auf A549-Zellen wirken. Nach 24 h hatten die Zellen, welche mit MnO-Nanopartikeln behandelt wurden, im Vergleich zu den unbehandelten Zellen eine Viabilität von 74 bis 80 %. Demgegenüber zeigten die mit Fe₂O₃-Nanopartikeln behandelten Zellen immer noch eine Viabilität von 82 bis 93 %. Der Effekt trat mit steigender Inkubationszeit der Zellen mit Partikeln noch deutlicher in Erscheinung. Da die mit MnO-Nanopartikeln behandelten Zellen nach 48 h nur noch eine Viabilität von 66 bis 70 % aufwiesen, während die Viabilität der mit Fe₂O₃-Nanopartikel behandelten Zellen nahezu unverändert blieb. Der hier beobachtete zytotoxische Effekt konnte eindeutig dem Transportsystem zugeschrieben werden, da für reine CpG-ODNs selbst in höheren Dosen keine Toxizität nachgewiesen wurde (siehe Abb. 7-4 e). Ferner trugen beiden Partikelarten die gleiche Oberflächenfunktionalisierung, weshalb ihr Einwirken auf die Toxizität vernachlässigt werden konnte. Das Material der Partikel schien den Effekt zu bestimmen. Im Fall der MnO-basierten Nanopartikel ist es wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass Mangan(II)-Ionen aus den Partikeln freigesetzt wurden und/oder dass oxidativer Stress auftritt, wie kürzlich bei Choi *et al.* berichtet wurde.²⁵⁴

7.2.4 Zeitaufgelöste Impedanzspektroskopie

Um das dynamische und strukturelle Antwortverhalten der Epithelzellen auf die von den CpG-ODNs induzierte TLR-9-Stimulation nicht invasiv sowie berührungs- und markerfrei quantifizieren zu können, wurden Messungen unter Verwendung der zeitaufgelösten Impedanzspektroskopie (*electric cell-substrate impedance sensing*, ECIS) durchgeführt. Speziell sollten die Integrität und Viabilität der Zellschichten, die Motilität, die Barrierefunktion sowie der Zell-Substrat-Abstand in Reaktion auf das Einwirken der Nanopartikel untersucht werden.²⁵⁵

In kürzlich veröffentlichten Arbeiten gab es erste Hinweise darauf, dass die TLR-9-Stimulation in CaKi-1-Zellen durch MnO-basierte Nanopartikel zu einer gesteigerten Motilität führen.²⁵⁰ Aufgrund der limitierten Empfindlichkeit und Tauglichkeit der verwendeten CaKi1-Zellen für elektrochemische Messungen und der Toxizität der MnO-basierten Nanopartikel wurden hier zusätzliche, umfangreiche Studien anhand von zeitaufgelöster Impedanzspektroskopie durchgeführt.

Das elektrische Kontaktflächen-Modell zur Beschreibung der durch ECIS-Experimente erhaltenen Impedanzspektren wurde zuerst von Giaever und Keese eingeführt und später von Lo und Ferrier durch das Hinzufügen einer anisotropen Zellform erweitert.^{255, 256} Nach diesem Modell kann anhand der Spektren der Barrierewiderstand R_b der Zellschicht, die Membrankapazität C_m und der Parameter α_{ECIS} ermittelt werden, welche mit dem Zell-Substrat-Abstand $\alpha \propto \sqrt{h^{-1}}$ bestimmt werden.²⁵⁷ Es wurde im Frequenzbereich 62.5 Hz bis 64.0 kHz gemessen. Ein Vergleich der Frequenzscans der Impedanz der blanken Elektrode zu der mit Zellen bedeckten Elektrode ist in Abbildung 7-6 a zu sehen. Die Bedeckung der Elektrode mit Zellen führte zu einem starken Anstieg der Impedanz von ca. 2 kHz auf 64 kHz. Die niedrigen Frequenzen werden vor allem durch den Stromfluss zwischen und unter den Zellen bestimmt und stellen damit ein quantitatives Maß für den Parameter α_{ECIS} dar. Der mittlere Frequenzbereich wird hauptsächlich durch den Barrierewiderstand der Zellschicht beeinflusst. Die Kapazitätsveränderungen dominieren das Spektrum bei höheren Frequenzen ($> 10^4$ Hz).

Der Ersatzschaltkreis der blanken Elektrode setzt sich aus einem konstanten Phasenelement (*constant phase element*, CPE) und einem Ohmschen Widerstand R_{bulk} zusammen, der den Gesamtwiderstand des Zellmediums wiedergibt. Wenn die Zellen die Elektrode bedecken, muss der Ersatzschaltkreis der blanken Elektrode um einen Ohmschen Widerstand R_b und einem nicht-Ohmschen Widerstand $Z(\alpha_{ECIS})$ in Reihe erweitert werden. Beide sind parallel zu einem Kondensator C_m geschaltet. Dabei ist C_m ein Maß für die Membranfläche und des Belegungsgrades der Elektrode mit Zellen. Der Aufbau der Schaltkreise und das Kontaktflächen-Modell sind in Abbildung 7-6 b und c schematisch

wiedergeben. Für Elektroden mit einem Durchmesser von 250 μm gilt, dass bei Frequenzen höher als 40 kHz die Kapazität antiproportional zur Oberflächenbelegung der Elektrode ist.²⁵⁸

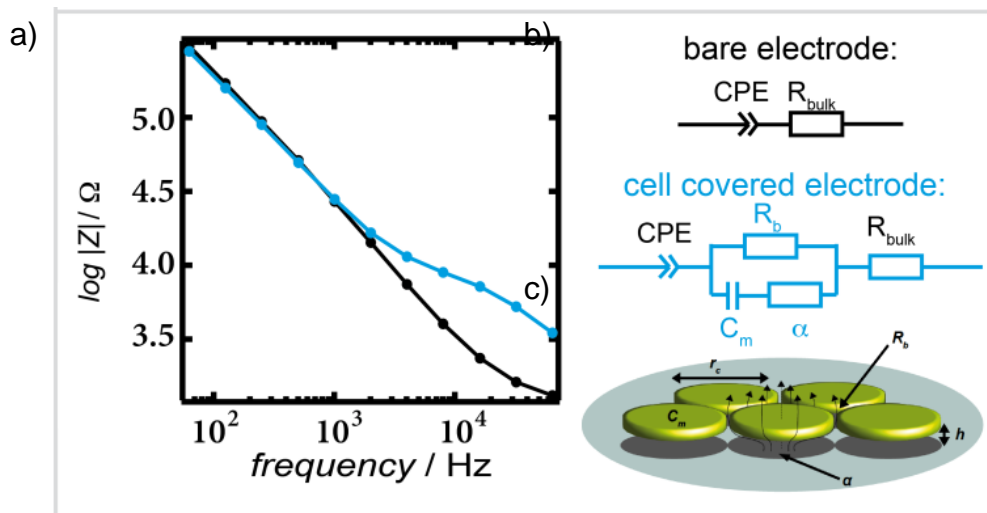


Abb. 7-6. a) Frequenzspektren und b) Schaltkreise einer unbedeckten (schwarz) und einer mit Zellen bedeckten ECIS-Elektrode (blau). $|Z|$ ist der Betrag der Impedanz. c) Schematische Darstellung des Kontaktflächen-Modells mit den auf die Messung einfließenden Parametern (aus²³⁸).

Nach 24 h Inkubation der A549-Zellen mit den Nanopartikeln, die die TLR-9 agonistische ODN-Sequenz besaßen, kam es zu einem Abfall des R_b -Wertes. Bei den Kontrollpartikeln und den unbehandelten Zellen trat der Effekt nicht auf (siehe Abb. 7-7). Gleichzeitig blieb die Membrankapazität C_m aller Proben mit Ausnahme der mit CpG-MnO-Nanopartikeln behandelten Probe im Wesentlichen unbeeinträchtigt, was bedeutet, dass die Elektrode immer noch mit Zellen voll bedeckt war (siehe Abb. 7-7).²⁵⁸ Der höhere C_m -Wert, der sich für die mit CpG-MnO-Nanopartikeln behandelten Zellen ergab, bedeutete zusammen mit dem erniedrigten Barrierewiderstand R_b eine verringerte Oberflächenbelegung der Elektrode und war damit ein weiteres Indiz für die Toxizität der MnO-Nanopartikel (siehe Abb. 7-7).

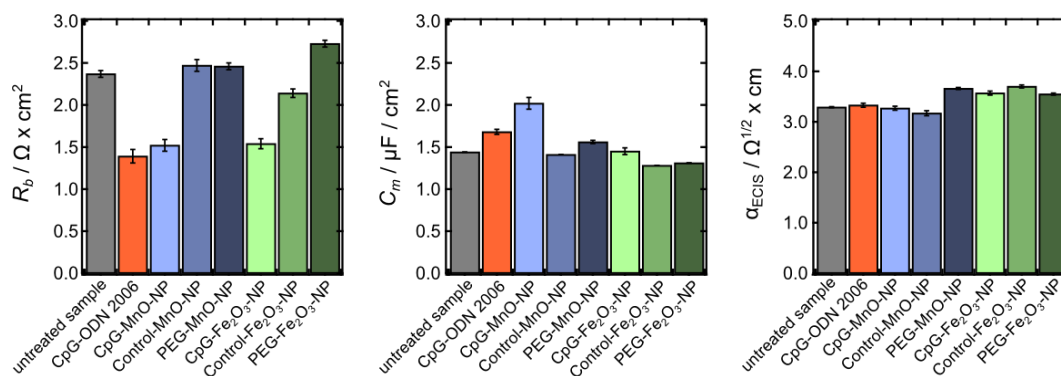


Abb. 7-7. Barrierewiderstand R_b , Membranekapazität C_m und α_{ECIS} unbehandelter Zellen (grau) und Zellen nach Inkubation mit Nanopartikeln oder reinen CpG-ODNs für 24 h (aus ²³⁸).

7.2.5 Micromotion der A549-Zellen unter Einfluss der CpG-ODNs

Im folgenden Abschnitt werden *Micromotion*-Messungen bei konstanter Frequenz, aber erhöhter Zeitauflösung beschrieben. Diese erlaubten eine Quantifizierung dynamischer Zellformveränderungen der Zellen bzw. der Dynamik des Zell-Substrat-Abstandes als Antwort auf die Aktivierung durch TLR-9. In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass Messungen der *Micromotion* allgemein Rückschlüsse auf die Motilität und Invasivität von Krebszellen zulassen.²⁵⁹

Die obere Reihe in Abbildung 7-8 zeigt die zeitlichen Verläufe der normalisierten Impedanz der mit Zellen bedeckten Elektrode als Funktion der Zeit unter Einfluss von Nanopartikeln. Der Verlauf konnte in drei Abschnitte unterteilt werden. In Abschnitt I kam es zum Abfall der $|Z_{\text{norm}}|$ -Kurve infolge der thermischen Störung der A549-Zellen aufgrund des Zellmediumwechsels. Darauf folgte in Abschnitt II ein Plateau bei den mit CpG-ODNs und CpG-Fe₂O₃-Nanopartikel behandelten Zellen. Allerdings fiel der Wert für die mit CpG-ODN behandelten Zellen zunächst noch kontinuierlich weiter, bis er auf ca. 50 % des Anfangswertes stagnierte.

Der dritte Abschnitt begann ca. 50 h nach der Behandlung. Bei den Zellen, die mit CpG-Fe₂O₃-Nanopartikeln behandelt wurden, stieg der $|Z_{\text{norm}}|$ -Wert wieder an, während er bei den mit CpG-MnO-Nanopartikeln behandelten Zellen gegen null fiel. Bei den Zellen, die den reinen CpG-ODNs ausgesetzt waren, setzte der dritte Abschnitt verzögert nach 70 h mit einem leichten Anwachsen des $|Z_{\text{norm}}|$ -Wertes ein. Wichtig dabei war, dass der Anstieg der Impedanz nach der Behandlung mit den CpG-Fe₂O₃-Nanopartikeln und den CpG-ODNs mit einem Anstieg der Impedanzfluktuation einherging. Im Gegensatz dazu kam es bei den mit CpG-MnO-Nanopartikel behandelten Zellen zu einer starken Abschwächung der Fluktuationen, was für einen Verlust an Viabilität spricht. Der Ursprung der Impedanzfluktuationen liegt zumeist in zeitlichen Veränderungen der

Zellform und des Zell-Substrat-Abstandes (*Micromotion*). Diese Veränderungen werden durch Fluktuationen des Stromflusses zwischen den Zellen und dem Substrat hervorgerufen.²⁶⁰

Es ist anzunehmen, dass das Lösen und Neuknüpfen der Fokal-Kontakte für die Änderungen des $|Z|$ -Wertes verantwortlich waren. Daher ließ sich die veränderte Mikromotion mit einer der veränderten vertikalen Motilität der Zellen erklären. Die Varianz der Impedanzfluktuationen ist in der unteren Reihe Abbildung 7-8 gezeigt.

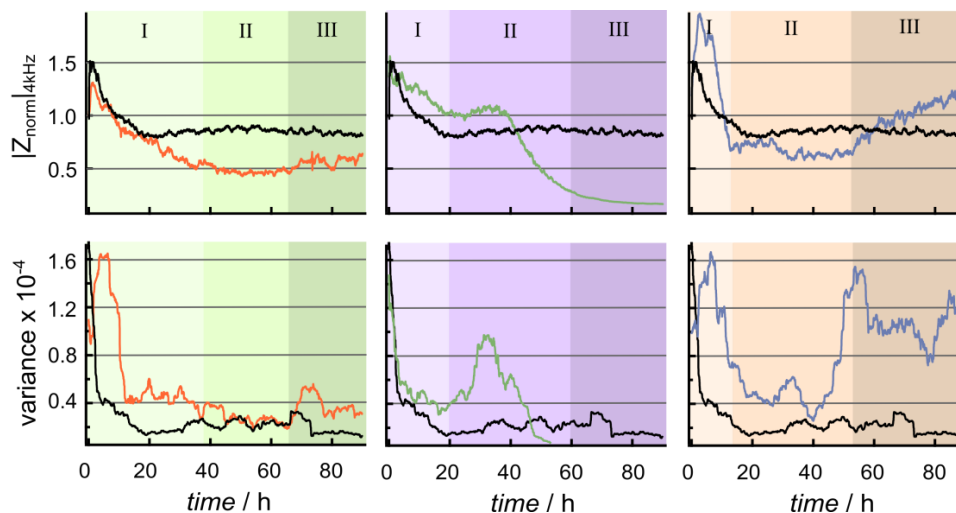


Abb. 7-8. Zeitlicher Verlauf der Impedanz bei 4 kHz, normalisiert auf die Impedanz vor Zugabe der Wirkstoffe (obere Reihe) und Varianz der trendbefreiten Daten (untere Reihe) für unbehandelte Zellen (■) und Zellen behandelt mit 25 µg/ml CpG-MnO-NP(■), CpG-Fe₂O₃-NP (■) und 2.4 µM CpG-ODNs (■) (aus²³⁸).

Ungeachtet dessen, ob an die Partikel gebunden oder rein, führte die Zugabe von CpG-ODN zum Zellmedium allgemein zu einer anfänglich größeren Varianz von $|Z|$ als im Vergleich zu den unbehandelten Zellen. Im Abschnitt II der Varianz wiesen die unbehandelten Zellen und die Zellen mit reinen CpG-ODNs einen identischen Varianzwert auf. Die Varianz der Zellen mit CpG-ODN und CpG-Fe₂O₃-Nanopartikeln stieg in Abschnitt III wieder an. Im Einklang mit Zytotoxizitätsergebnissen (siehe Abb. 7-4 e) und Absinken des R_b -Wertes auf null (siehe Abb. 7-7) fiel auch die Varianz der CpG-MnO-NP-Zellen auf null, was für den Zelltod der A549-Zellen sprach.

In Abbildung 7-9 ist der Zeitverlauf der trendbefreiten Impedanz ($|Z_{detr}|_4 \text{ kHz}$) (siehe Unterkapitel 7.4.6) für den Abschnitt III wiedergeben. Hier ist die Wirkung der CpG-ODNs gebunden an die Partikel deutlicher zu erkennen. Während das Impedanzsignal der CpG-MnO-NP behandelten Zellen nur geringe Fluktuationen aufwies, zeigte das Impedanzsignal der CpG-Fe₂O₃-NP behandelten Zellen im Vergleich zu den unbehandelten Zellen sichtbar erhöhte Fluktuationen. Es ist anzunehmen, dass diese

persistenten Fluktuationen aus der NF κ B-Aktivierung und aus der damit erhöhten Aktivität der Zellen hervorgingen. Ein bedeutender Aspekt hierbei ist, dass die Aktivität gesteigert wurde, obwohl die Menge an CpG-ODNs auf der Partikeloberfläche maximal nur 1/6 der eingesetzten Menge an freien CpG-ODNs betrug.

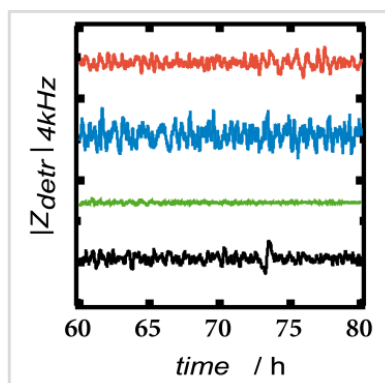


Abb. 7-9. Fluktuation der Impedanz bei 4 kHz für unbehandelte Zellen (■) und Zellen behandelt mit 25 $\mu\text{g/ml}$ CpG-MnO-NP(■), CpG-Fe $_2$ O $_3$ -NP (■) und 2.4 μM CpG-ODNs (■) trendbefreit durch einen gleitender Mittelwert-Algorithmus (siehe Unterkapitel 7.4.6).

7.2.6 Biologisches Antwortverhalten der A549-Zellen auf die CpG-funktionalisieren Nanopartikel

Zusammenfassend ergibt sich das folgende Gesamtbild über die Interaktion der CpG-ODNs gebunden an die nicht toxischen Fe $_2$ O $_3$ -Nanopartikel mit den A549-Zellen. Die gesammelten Daten zeigten, dass die mit CpG-ODNs funktionalisierten Metalloxid-Nanopartikel in die Lysosomen der Lungenkrebszellen aufgenommen wurden und eine per TLR-9 aktivierte Signalkaskade startete, indem der Transkriptionsfaktor NF κ B in den Zellkern wandert. Lediglich die Partikel mit einem Fe $_2$ O $_3$ -Kern zeigten keine toxische Wirkung und waren damit geeignet, um als Nanotransporter zu dienen.

Aus dem Vergleich der Wirkung des Fe $_2$ O $_3$ -Trägersystems mit der Wirkung der reinen CpG-ODNs, ließ sich schließen, dass das Trägersystem sowohl die Wirkkinetik beschleunigte als auch die Intensität der hervorgerufenen Reaktion verstärkte. Zudem stieg in beiden Fällen nach der Zugabe von CpG-ODNs die Impedanz nach Erreichen eines Plateaus, was zeitgleich mit einer erhöhten Mikromotion mit langzeitigen Fluktuationen auftritt. Zusammengefasst bedeutet das, dass sowohl die frei in Lösung als auch die an Nanopartikel gebundenen CpG-ODNs die zelluläre Mikromotion steigerten und den Barrierewiderstand der Zellschicht verringerten. Letzteres konnte über das Herunterregulieren der Adhäsionsmoleküle erklärt werden, und zwar insbesondere der

Cadherine, wie es bereits für plasmazytoide dendritische Zellen, aus Knochenmark gewonnenen dendritischen Zellen und Langerhans-Zellen gezeigt wurde.²⁶¹

Abbildung 7-10 fasst die Abfolge der Reaktionen, welche durch die CpG-funktionalisierten Metalloxid-Nanopartikel eingeleitet wird, in den A549-Lungenkrebszellen (Adenokarzinom) zusammen. Die Zellen nahmen beide Nanopartikelsorten auf. Sowohl die Aufnahme von CpG-ODNs, welche an die Nanopartikel gebunden waren, als auch von freien CpG-ODNs aktivierte den TLR-9-Signalweg. Dies führte einerseits zu einer gesteigerten Motilität der Zellen und andererseits zu einem Verlust an Zell-Zell-Bindungen. Die Kombination aus gesteigerter Motilität auf der einen Seite und der Verlust an interzellulären Kontakten auf der anderen, könnte enormen Einfluss auf das Migrationsverhalten der Krebszellen ausüben und so zu einer erhöhten Gefahr durch Metastasenbildung führen. Aus diesem Grund stellt das Behandeln von Krebszellen mit synthetischen TLR-9-Agonisten, wie es von Klinman im Jahre 2004 vorgeschlagen wurde, eine ernstzunehmende Gefahr dar, und es bedarf noch weiterer Studien.²⁴³ In Abbildung 7-10 wird gezeigt, dass die Zugabe von MnO-basierten Nanopartikeln zum Zelltod führte, wohingegen das auf γ -Fe₂O₃-basierte Trägersystem keinen beobachtbaren Einfluss im Bereich der eingesetzten Konzentration auf die Viabilität der A549-Zellen aufwies. In vorherigen Versuchen konnte kein zytotoxischer Effekt der MnO-Nanopartikel auf CaKi1-Zellen gefunden werden, was suggeriert, dass die Toxizität von Nanopartikeln nicht nur von der Größe, Form, Funktionalisierung und dem Kernmaterial abhängt, sondern auch von den verwendeten Zelltypen.²⁵⁰

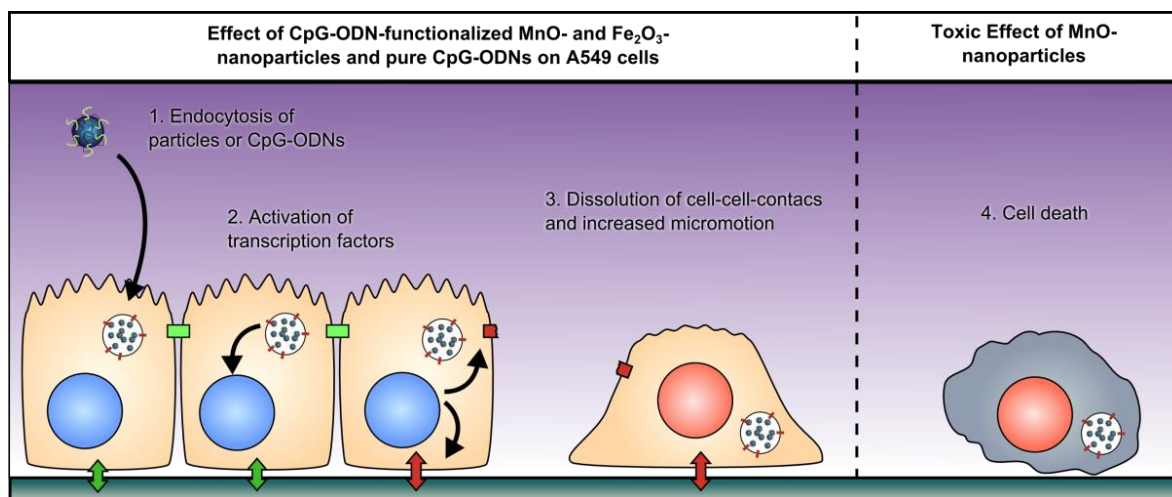


Abb. 7-10. Einfluss der immunstimulierenden Metalloxid-Nanopartikel auf A549-Zellen (aus ²³⁸).

7.3 Zusammenfassung und Ausblick

Monodisperse Mangan(II)-oxid- und Eisen(III)-oxid-Nanopartikel konnten durch Ummantelung mit einem biokompatiblen Polymer wasserlöslich und durch Anbindung von Fluoreszenzfarbstoffen sowie synthetischen, einzelsträngigen, immunstimulierenden CpG-Oligodesoxynukleotiden multifunktional synthetisiert werden. Die Trägersysteme auf Basis der Nanopartikel erwiesen sich als wesentlich effektivere Stimulantien als freie CpG-ODNs für den in A549-Lungenepithelzellen TLR-9 induzierten Signalweg und, im Falle mit γ -Fe₂O₃-Kerns, als nicht toxisch. Dank zeitaufgelöster Impedanzspektroskopie konnte gezeigt werden, dass die intensive Anregung durch die Pathogene nachahmenden Trägersysteme zu einer verstärkten Motilität führte, welche von abgeschwächten Barriereigenschaften begleitet wurde, wie zum Beispiel der Abnahme an Adhäsionsmolekülen. Es wurde hierbei angenommen, dass die dynamischen und morphologischen Veränderungen der Krebszellen als Antwort auf die Stimulation der TLR-9 aufzufassen sind. Diese Veränderungen führten somit zu einem erhöhten metastatischen Potential. Als Konsequenz dieses Ergebnisses müssen in Zukunft Immuntherapien, die auf die Aktivierung der TLR abzielen, mit großer Vorsicht gehandhabt werden, damit sich gutartige Tumore nicht zu bösartigen entwickeln. Weitere Studien sind dringend notwendig.

7.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

7.4.1 Synthese und Funktionalisierung der Nanopartikel

Die Eisenoxid-Nanopartikel wurden wie in Kapitel 2.4 durch thermische Zersetzung von Eisen(III)-oleat in hochsiedendem Lösungsmittel dargestellt.¹⁴⁷ Die hier verwendeten Nanopartikel bestanden nach XRD-Auswertungen vornehmlich aus γ -Fe₂O₃. Die Synthese der Manganoxid-Nanopartikel¹³¹ und die Polymerfunktionalisierung^{53, 251} der Nanopartikel sind in vorherigen Veröffentlichungen unserer Gruppe näher beschrieben. Die Funktionalisierung des Kettenpolymers wurde durch quantitative Substitution der Reaktivestergruppen von (Poly(pentafluorophenyl)acrylat) mit den Aminogruppen von Dopamin, ATTO488- oder NBD-Piperazin, NH₂-PEG800-Boc und 1,4-Diaminobutan im Verhältnis 18/2/25/55 in Gegenwart von Triethylamin erreicht. Alle Reagenzien wurden schrittweise zugegeben, jeweils gefolgt von 2 h Rühren.

Das ATTO 488- oder NBD-Piperazina-Addukt wurde durch langsame Zugabe von ATTO488 oder NBD zu Piperazin in wasserfreien DMF bei 0 °C gebildet. Das DMF wurde im Vakuum abgedampft und das Produkt wurde in Diethylether rekristallisiert. Die Umsetzung erfolgte quantitativ.

7.4.2 Zellkultur

Die Zellen wurden in „Dulbecco’s Modified Eagle Medium“ (Biochrom, Instamed T043-10), welches 10 % fötales Kälberserum (PAA, A101009-0808) und 4 mM *L*-Glutamin beinhaltet, unter 7.5 % CO₂-Atmosphäre und 100 % Luftfeuchtigkeit bei 37 °C kultiviert. Das Medium für die Versuche enthielt zusätzlich 2.5 mg/ml Amphotericin B, 100 IE/ml Penicillin und 100 µg/ml Streptomycin. Die Kultivierung erfolgte entweder in 25 cm² oder 75 cm² Zellkulturflaschen.

7.4.3 MTS-Tests

Der MTS-Test „CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay“ (Promega, USA) wurde nach Herstellerangaben verwendet. Dafür wurde die optimale Anzahl von 12x10⁵ Zellen pro *well* in einer 96-*well* Mikrotiterplatte bei 37 °C, 7.5 %iger CO₂-Atmosphäre und 100% Luftfeuchtigkeit wachsen gelassen. Nach Erreichen der Konfluenz wurden die Nanopartikel in die *wells* gegeben. Nach 24 oder 48 h wurde der Überstand entfernt, die *wells* mit vorgewärmtem Medium ausgespült und das MTS-Reagenz zugegeben. Nach 60 min Inkubation bei Wachstumsbedingungen wurde die UV/Vis-Absorption bei einer Wellenlänge von 490 nm und 650 nm mittels eines Mikroplattenlesers (Molecular Devices, Ismaning, Deutschland) bestimmt. Die unbehandelten Zellen dienten als Positivkontrolle und mit 4 % TritonX100 behandelte Zellen als Negativkontrolle. Jede Partikelsorte wurde 6-mal (24 h) bzw. 4-mal (48 h) überprüft.

7.4.4 Immunzytochemie

Zur Kontrolle, ob die A549-Zellen den TLR-9 in den Lysosomen exprimieren, wurden die entsprechen Zellbestandteile spezifisch gefärbt. Der Transkriptionsfaktor p65 wurde gefärbt, indem zuerst eine 2 µg/ml Lösung primärer Antikörper Kaninchen anti-p65 IgG (Biolegend, USA) und dann eine 5 µg/ml Lösung sekundärer Antikörper mit Alexa546-konjugiert Ziege anti-Kaninchen IgG (Invitrogen, Germany) zugeben wurden. Die Zellen wurden mit einer 4 %igen Paraformaldehyd-Lösung bei Raumtemperatur für 10 min fixiert. Nach drei Waschzyklen mit PBS wurde 20 °C kaltes Methanol zu den Zellen geben. Die Proben wurden für weitere 5 min bei -20 °C inkubiert. Anschließend wurden

sie zwei weitere Male mit PBS gewaschen und die Zellen mit dem primären Antikörper für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nachdem die Zellen 5-mal für mindestens 5 min mit PBS abgespült wurden, wurden die Zellen mit dem sekundären Antikörper für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert und erneut 5-mal für 5 min mit PBS abgespült.

Um die Lysosomen anzufärben, wurden die Zellen unter Wachstumsbedingungen mit einer 50 nM Lösung LysoTracker DND-22 blau (Invitrogen, Deutschland) im Medium inkubiert. Nach 45 min wurde der Überstand durch PBS ersetzt.

7.4.5 ECIS-Messungen und Rauschanalyse

Die ECIS-Messungen wurden an einem kommerziell erhältlichen System (ECIS Z Θ , Applied Biophysics, NY, USA) durchgeführt. Der Elektrodenaufbau (8W1E) war ebenfalls von Applied Biophysics und bestand aus 8 separaten Elektrodenzellen, jede mit einer einzelnen Elektrode mit 250 μm Durchmesser ausgestattet (siehe Abb. 7-11). Die Impedanz wurde entweder bei einer festen Frequenz von 4 kHz als Funktion der Zeit oder als Funktion der Wechselstromfrequenz und der Zeit gemessen. Für die Messungen wurden in alle der 8 Elektrodenzellen A549-Zellen gegeben. Die Zellen wurden eine Stunde vor der Zugabe in einem Inkubator (CO₂Cell, MMM, Deutschland) mit 200 μl Wachstumsmedium, das zusätzlich Amphotericin B, Penicillin und Streptomycin enthielt, inkubiert. Die in 200 μl Medium dispergierten Nanopartikel wurden 27 h nach dem Beladen der Elektrodenzellen mit Zellen hinzugegeben. Alle Messungen wurden unter Standard-Zellkulturbedingungen durchgeführt.



Abb. 7-11. Aufbau der Elektrodenzellen (8W1E) für ECIS-Messungen (www.biophysics.com).

7.4.6 Rausch- und Varianzanalyse

Die Rauschanalyse wurde als Funktion der Abtastrate des ECIS-Gerätes durchgeführt. Im Fall der mit CpG-Fe₂O₃- und CpG-MnO-NP behandelten Zellen war die Abtastrate ungefähr ein Drittel geringer als die Abtastrate der unbehandelten Zellen. Das Fenster für die Rauschanalyse wurde deswegen bei den genannten Proben um ein Drittel verringert, damit die Analysenzeiten konstant gehalten werden konnten.

Für die Varianzanalysen wurden die Impedanzdaten normalisiert, indem ein Wert von 1 der Impedanz vor der Behandlung mit Nanopartikeln oder reinen CpG-ODNs und ein Wert von 0 der Impedanz der blanken Elektroden zugeordnet wurde (siehe Abb. 7-12, blaue Linie). Die Daten wurden von Trends befreit anhand eines gleitenden Durchschnitts-Algorithmus. Der Algorithmus bestimmte die Durchschnittswerte in einem Bereich definierter Größe (hier 4000 Datenpunkte für Zellen mit CpG-Fe₂O₃- und CpG-MnO-Nanopartikel, 6000 Datenpunkte für die unbehandelten Zellen und die mit CPG-ODNs). Dieser Durchschnittswert wurde von dem Impedanzwert in der Mitte des definierten Bereichs abgezogen. Wurde der Bereich kontinuierlich über den Zeitverlauf der Messung verschoben, so ergab sich der lokale Trend (in Abhängigkeit von der Bereichsgröße) für jeden Datenpunkt (siehe Abb. 7-12, rote Linie). Am Ende führte die Subtraktion dieses Trends zu trendbefreiten Daten, welche um null fluktuierten (siehe Abb. 7-12, grüne Linie).

Nun wurde die Varianz der Daten bestimmt, indem, wie oben beschrieben, erneut ein Bereich definierter Größe über die Daten verschoben wurde. Der Varianzwert jedes Bereichs wird der Zeit des ersten Datenpunktes im korrespondierenden Bereich zugeordnet (Eulersches Polygonzugverfahren). Das Inkrement zwischen den aufeinanderfolgenden Bereichen war auf 10 Punkte eingestellt.

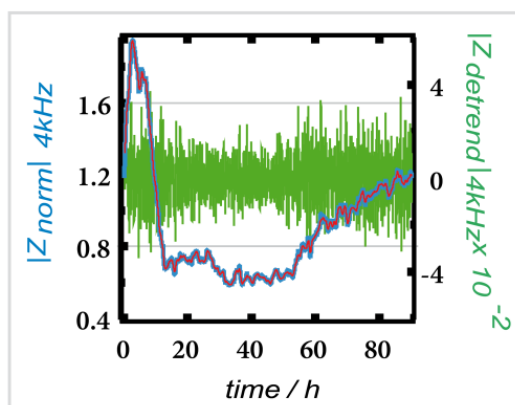


Abb. 7-12. Darstellung des Algorithmus für den gleitenden Mittelwert; normalisierte Impedanz (blaue Linie), aus dem Algorithmus bestimmter, lokaler Trend des Signals (rote Linie) und der aus der Subtraktion erhaltenen Fluktuation um 0 (grüne Linie) (aus²³⁸).

8 Multifunktionale Silica-Funktionalisierung von Eisenoxid- und Gold@Eisenoxid-Nanopartikeln

8.1 Einleitung

Dank der geringen Toxizität^{13, 14, 254, 262-266} und magnetischen Eigenschaften sind Eisenoxid-Nanopartikel für viele Anwendungen interessant. Zum einen zählen hierzu *In-vitro*-Anwendungen wie Biosensorik, magnetische Aufreinigung/Trennung von Biomolekülen und Biokatalysatoren.^{13, 142, 267-271} Zum anderen werden in der Medizin Anwendungen wie beispielsweise der Hyperthermie, gezielter Wirkstoffstoffabgabe oder dem Einsatz als MRT-Kontrastmittel großes Potential zugesprochen.^{13, 142, 267-271} Damit Nanopartikel bei *In-vivo*-Anwendungen zum Einsatz kommen können, ist es unabdingbar, sie mithilfe einer Oberflächenfunktionalisierung in wässrigen Medien stabil dispergierbar zu machen. Eine Oberflächenfunktionalisierung (siehe Kapitel 2.1.3), die darüber hinaus nicht nur eine zielgerichtete therapeutische Wirkungsweise, sondern zusätzlich noch vielfältige diagnostische Methoden ermöglicht, stellt hierbei den *theranostischen* Idealfall dar.

In diesem Kapitel wurden monodisperse Eisenoxid-Nanopartikel und Gold@Eisenoxid-Heterodimere mittels reverser Mikroemulsion nach gruppeneigener Vorschrift²⁷² mit einer multifunktionalen Hülle auf Silica-Basis ausgestattet. Wie in Abbildung 8-1 veranschaulicht, diffundierten die noch mit Ölsäure umhüllten Eisenoxid-Nanopartikel in die Mizellen der Wasser-in-Öl-Emulsion, welche zuvor durch Zugabe von Igepal® CO-520 und Ammoniak in Cyclohexan ausgebildet wurden. Dort wurde schrittweise die Silica-Schale aufgebaut und funktionalisiert. Zuerst wurden zeitgleich TEOS und FITC beigegeben. Das TEOS wurde durch die basischen Bedingungen aktiviert, reagierte mit den Hydroxylgruppen auf der Oberfläche der Nanopartikel und baute durch weitere Reaktion mit TEOS-Molekülen die SiO₂-Schale auf. Währenddessen wurde der Fluorophor in die Schale mit eingebaut. Danach folgte 2-[Methoxy(polyethylenoxy)propyl]trimethoxysilan (PEG-TES) für die Wasserlöslichkeit und zuletzt 3-Aminopropyltriethoxysilan (APS) als Aminoankergruppe für biofunktionale Moleküle. Zusammen mit den magnetischen Eigenschaften der Eisenoxid-Nanopartikel ergab sich ein vielseitiges System für mögliche Anwendungen in der Nanomedizin.

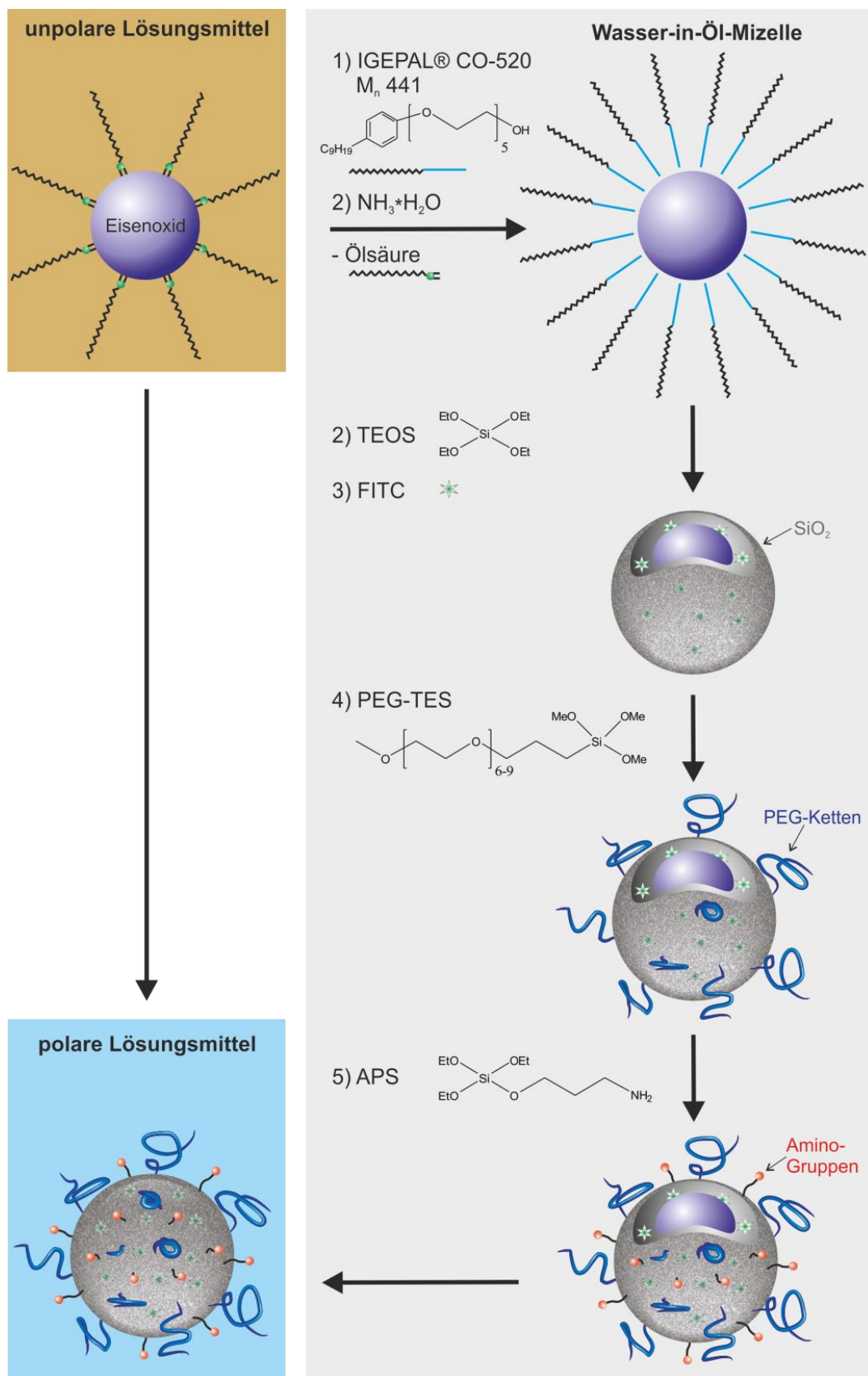


Abb. 8-1. Schema der Darstellung multifunktionaler magnetischer Eisenoxid@SiO₂-Kern-Schale-Nanopartikel per Wasser-in-Oel-Mikroemulsion für biomedizinische Anwendungen.

8.2 Ergebnisse und Diskussion

8.2.1 TEM-Charakterisierung von Eisenoxid@Silica-Nanopartikeln

Die Abbildung 8-2 zeigt TEM-Aufnahmen von Eisenoxid-Nanopartikeln nach der Silica-Ummantelung. Aufgrund des geringen Streukontrastes der SiO_2 -Schale im Vergleich zum Eisenoxid-Kern erschien die SiO_2 -Schale heller. Der Streukontrast der organischen Verbindungen wie PEG und APS ist so gering, dass diese nicht mit dem verwendeten Elektronenmikroskop aufgelöst werden konnten.

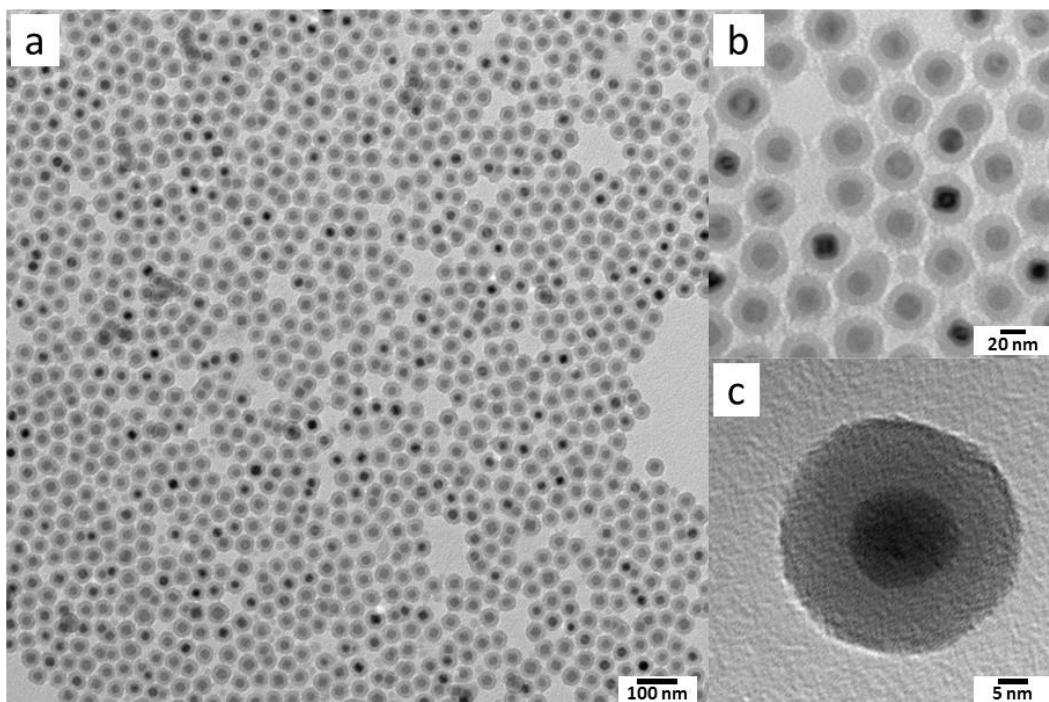


Abb. 8-2. TEM-Aufnahmen von $\text{Fe}_3\text{O}_4@(\text{NH}_2)\text{SiO}_2$ -Kern-Schale-Partikeln (a, b, c).

In den TEM-Aufnahmen war zu erkennen, dass stellenweise zwei bis drei Eisenoxid-Nanopartikel in einer Silica-Schale eingeschlossen waren und einzelne Silica-Nanopartikel ohne Kern auftraten. Ersteres spricht für mehrfache Einschlüsse von Eisenoxid-Nanopartikeln in den Mizellen, letzteres für eine Mizelle ohne Einschluss eines Eisenoxid-Nanopartikels. Mehrfacheinschlüsse und Silica-Partikel ohne Kern traten zumeist nur in geringen Maßen auf. Einzelne Silica-Partikel konnten durch magnetische Separation abgetrennt werden.

Für die magnetische Separation wurde eine magnetische Säule von Miltenyi Biotec verwendet. Abbildung 8-3 zeigt die Effizienz der magnetischen Aufreinigung am Beispiel einer Probe an Eisenoxid@ $\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikeln, bei der ein Unterschuss an Eisenoxid-Nanopartikeln eingesetzt wurde, um eine große Anzahl an Silica-Nanopartikeln

zu generieren. Aufnahme a zeigt die Probe vor der magnetischen Separation mit vielen, kleineren Silica-Nanopartikeln. In Aufnahme b ist das Filtrat nach dem Waschen mit Aceton zu sehen, in dem sich die Silica-Nanopartikel mit wenigen Eisenoxid@SiO₂(NH₂)-Nanopartikeln befinden. Die Aufnahme c zeigt die Nanopartikel, welche zunächst auf der Säule zurück geblieben sind und nach dem Entfernen des Magneten mit Methanol von der Säule gespült wurden. Die geringe Menge an Eisenoxid@SiO₂(NH₂)-Nanopartikeln, welche nicht auf der Säule gehalten werden konnte und im Filtrat vorzufinden ist, geht wohl darauf zurück, dass die Ansatzmenge die Kapazitätsgrenze der Säule erreichte.

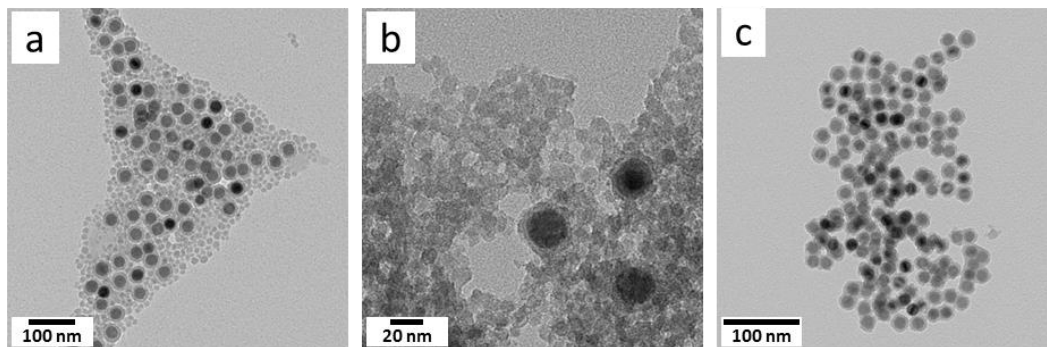


Abb. 8-3. Eine mit SiO₂-Nanopartikeln verunreinigte Fe₃O₄@SiO₂(NH₂)-Nanopartikelprobe vor (a) und nach der Separation mittels magnetischer Säule (b, c).

Die Eisenoxid@SiO₂(NH₂)-Nanopartikel bilden stabile kolloidale Lösungen, welche im Extremfall bis zu einem Jahr in Lösung blieben. TEM-Untersuchungen zeigten keine erkennbaren Veränderungen an diesen Partikeln (siehe Abbildung 8-4).

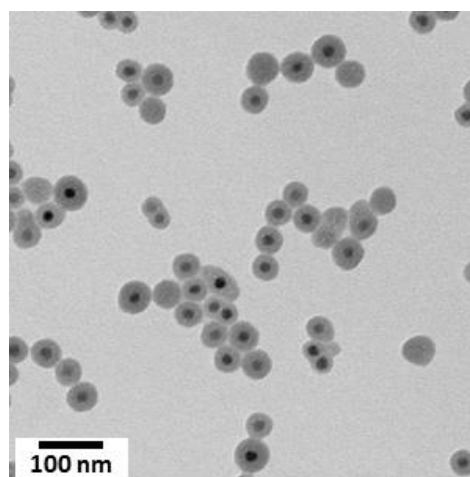


Abb. 8-4. Fe₃O₄@SiO₂(NH₂)-Nanopartikel, 1 Jahr nach Dispersion in wässriger Lösung. Die Partikel zeigen keine Veränderungen (vergl. Abb. 8-2).

8.2.2 TEM-Charakterisierung von Gold@Eisenoxid@Silica-Nanopartikeln

Die Au@Fe₃O₄-Heteronanodimere bildeten wie die Fe₃O₄-Nanopartikel eine Silica-Schale aus. Die TEM-Aufnahme in Abbildung 8-5 b zeigt ein Dimer mit kontrastarmer Silica-Schale, der grünlischen Eisenoxid-Domäne und der dunklen Gold-Domäne.

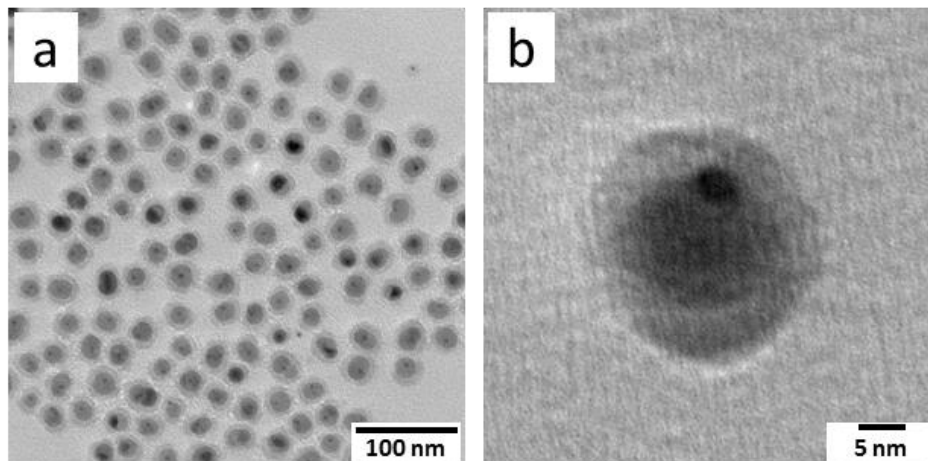


Abb. 8-5. TEM-Aufnahmen von Au@Fe₃O₄-Nanoheterodimeren mit SiO₂-Schale.

Für Au@MnO@Silica-Nanopartikel, welche vor der Silica-Ummantelung mit 1-Octadecanthiol funktionalisiert wurden, konnte unsere Gruppe ausführlich zeigen, dass nur die MnO-Domäne und nicht die Au-Domäne mit Silica überzogen wurde.²⁷³ Bei den Au@Fe₃O₄-Nanopartikeln konnten analoge Ergebnisse erzielt werden, sofern die Au@Fe₃O₄-Nanopartikel zuvor mit 1-Octadecanthiol oder Cysteamin behandelt wurden und eine möglichst dünne Silica-Schale durch Anpassen der Reaktionsparameter gebildet wurde. Die TEM-Aufnahmen in Abbildung 8-6 zeigen Au@Fe₃O₄-Heterodimere mit einer feinen Silica-Schale (< 2 nm). Diese ist auf den TEM-Aufnahmen aufgrund des geringen Streukontrastes nur schwer auszumachen. Trotzdem zeichneten sich die Proben ebenfalls durch eine gute Wasserlöslichkeit aus.

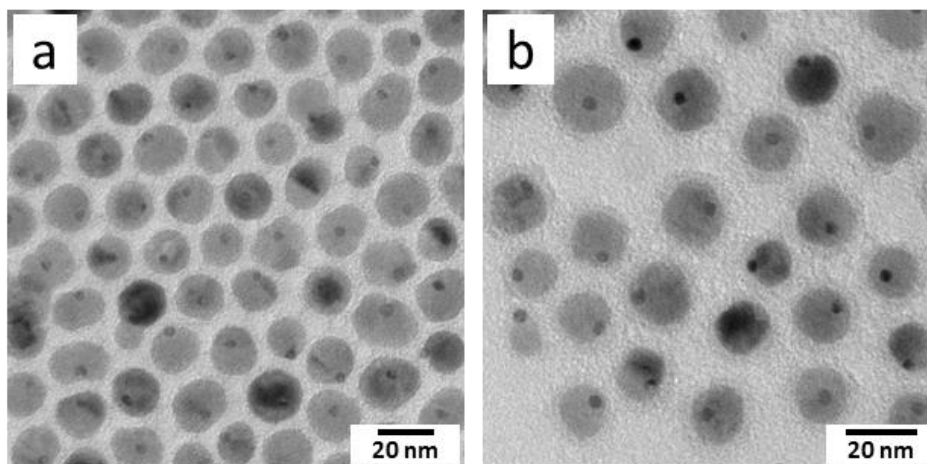


Abb. 8-6. TEM-Aufnahmen von Au@Fe₃O₄-Nanoheterodimeren mit SiO₂-Schale (< 2 nm).

Eine kürzlich erschienene Publikation von Wu *et al.* bestätigte diese Beobachtungen.²⁷⁴ Auch hier konnte durch Belegung der Gold-Domäne von 8 nm@12 nm Au@Fe₃O₄-Nanodimeren mit einem langkettigen Thiol vor der reversen Mikroemulsion eine Silica-Bildung auf der Gold-Domäne verhindert werden, so dass sich nur auf der Eisenoxid-Domäne eine stark ausgeprägte Silica-Schale entwickelte. Ohne Thiolligand wurden die Dimere komplett mit Silica umschlossen. Dieses Phänomen wurde anhand der starken Thiolbindung auf Gold erklärt. Während im Gegensatz zum Fe₃O₄ die Ölsäure- und Oleylaminliganden leicht unter basischen Bedingungen in den reversen Mizellen ausgetauscht werden konnten, blieb der hydrophobe Thiolligand am Gold erhalten und verhinderte die Einbindung der Gold-Domäne in die wässrige Mizelle.

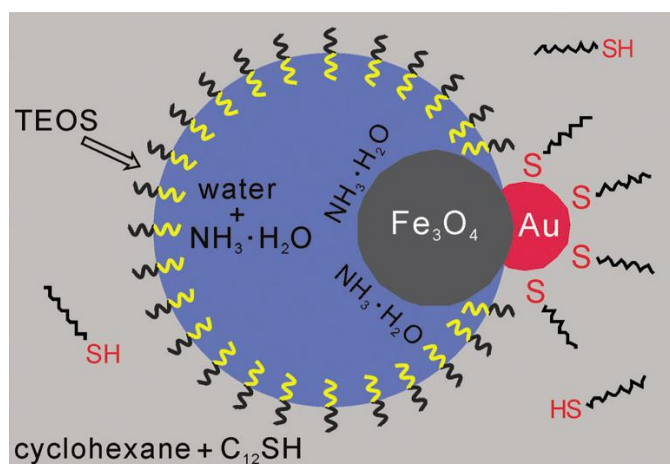


Abb. 8-7. Schema über die Lage von Au@Fe₃O₄-Heterodimeren in reversen Mizellen in Anwesenheit von Alkanthiolen und Ammoniak (aus ²⁷⁴).

Darüber hinaus konnte bei den Gold@Eisenoxid-Nanopartikeln mit Silica-Schale ebenfalls die Bildung von Überstrukturen beobachtet werden (siehe Abb. 8-8), was weiterhin für eine enge Größenverteilung der Proben spricht und damit auch gut definierte Eigenschaften der Proben garantiert.

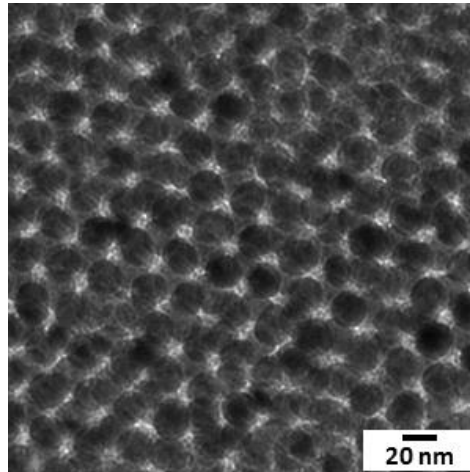


Abb. 8-8. TEM-Aufnahmen eines 3D-Superlattices aus $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2$ -Nanoheterodimeren.

Interessanterweise wurde bei Proben, und zwar insbesondere bei solchen mit einem erhöhten Anteil an freien Gold-Nanopartikeln, die Bildung von Gold@Silica-Nanopartikeln beobachtet (siehe Abb. 8-9). Es schien sich hierbei um Dimere zu handeln. Diese Ergebnisse konnten mit Pt-Nanopartikeln wiederholt werden und werden derzeit in unserer Gruppe untersucht.

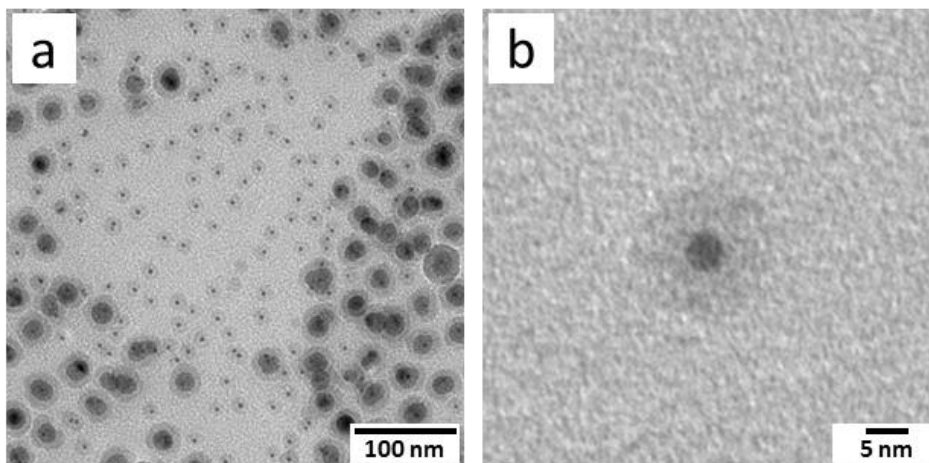


Abb. 8-9. TEM-Aufnahmen von Au@SiO_2 - und $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2$ -Nanopartikeln.

8.2.3 UV/Vis-Charakterisierung

Die Abbildung 8-10 zeigt das UV/Vis-Absorptionsspektrum von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikeln (blau) und $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Heterodimeren (rot), beide mit FITC in der Silica-Schale sowie das von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikeln ohne FITC (schwarz) und schließlich nur FITC in Wasser (grün). Die Partikelproben wurden zusätzlich mittels magnetischer Separation aufgereinigt, um auszuschließen, dass noch freier Farbstoff vorhanden war.

Die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikel mit einer dünnen Silica-Schale ohne FITC haben wie zu erwarten kein Maximum bei den Absorptionswellenlängen des Farbstoffes um 500 nm. Wegen der Absorption der Eisenoxid-Nanopartikel steigt diese zu kleineren Wellenzahlen hin stark an.

Die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikel mit FITC (blau) zeigten im Bereich um 500 nm ein Absorptionsmaximum, welches sich in Form einer leichten Schulter im Graph ausdrückte. Dieser Absorptionsbereich deckt sich mit dem des Farbstoffes, was für eine Einbindung des Farbstoffes in der Silica-Schale sprach. Die schwache Ausprägung der Absorptionsbande des Farbstoffes beruhte darauf, dass die vermessenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikel nur eine geringer ausgeprägte Silica-Schale besaßen und dementsprechend wenig Farbstoff in der Schale vorhanden war.

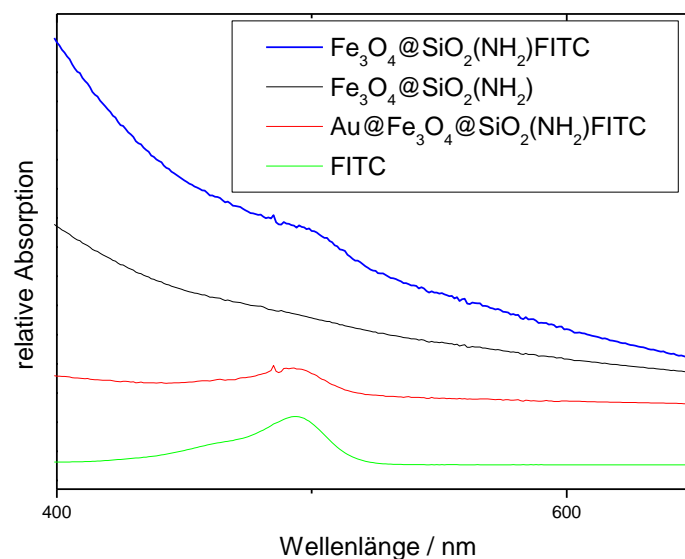


Abb. 8-10. UV/Vis-Spektren von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ - und $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikeln mit FITC und freiem FITC in Wasser.

Die Absorptionskurve der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@\text{SiO}_2(\text{NH}_2)$ -Nanopartikel (rot) mit einer stärker ausgeprägten Silicaschale war in guter Übereinstimmung mit dem freien FITC-Farbstoff (grün). Beide zeigten ein Absorptionsmaximum bei 495 bzw. 494 nm. Aufgrund der Absorption der Partikel war die Bande bei den Partikeln weniger stark ausgeprägt als beim Farbstoff. Folglich stieg im Gegensatz zum freien Farbstoff auch die Absorption mit kleineren Wellenzahlen an. In der Literatur wurde beobachtet, dass die Eisenoxid-Domäne die Bande der Oberflächenplasmonenresonanz bei Gold@Eisenoxid-Dimeren signifikant vermindert und zu anderen Wellenzahlen verschiebt.²¹² Da hier zusätzlich die Gold-Domäne im Verhältnis zur Eisenoxid-Domäne wesentlich kleiner und eine Silicaschale vorhanden sowie die Bande der Oberflächenplasmonenresonanz bereits im Absorptionsspektrum der reinen Gold-Nanopartikel nur schwach ausgebildet war (vgl. Abb. 5-6), war im Spektrum die Bande der Oberflächenplasmonenresonanz der Gold-Domäne bei 513 nm nicht zu sehen.

8.3 Zusammenfassung und Ausblick

Mittels einer Ummantelung mit Silica durch eine Wasser-in-Öl-Mikroemulsion konnten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Kern-Schale-Nanopartikel und $\text{Au}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Kern-Schale-Nanopartikel synthetisiert werden, welche langzeitstabile kolloidale Lösungen in Wasser bildeten. Durch Anbinden von Thiolliganden auf der Gold-Domäne der $\text{Au}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Nanoheterodimere vor der Silica-Ummantelung konnten Gold@Eisenoxid@Silica-Kern-Schale-Nanopartikel mit Silica-freier Gold-Domäne erhalten werden.

Zusätzlich wurde durch den Einbau von Farbstoffen in die Silica-Schale und der Anbindung freier Aminogruppen auf der Silica-Schale eine Plattform für die Anbindung von biofunktionalen Stoffen geschaffen, die eine vielseitige Funktionalisierung erlaubt. Aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften war eine einfache und effektive Aufarbeitung mittels magnetischer Separation möglich.

8.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

8.4.1 Thiolbelegung der Gold-Domäne in den Au@Fe₃O₄-Nanoheterodimeren

Die Belegung der Gold-Domäne mit Thiolliganden erfolgte durch Lösen von 10 mg Gold@Eisenoxid-Dimere in 3 ml Chloroform, Zusatz von 50 mg 1-Octadecanthiol oder für die Aminofunktionalisierung von 50 mg Cysteamin und anschließender Behandlung im Ultraschallbad für ca. 1.5 h.

8.4.2 Ummantelung der Nanopartikel mit Silica

Die Silica-Ummantelung wurde nach einer von unserer Arbeitsgruppe kürzlich veröffentlichten Methode durchgeführt.²⁷²

Es wurden bei Raumtemperatur in 35 ml Cyclohexan 2.0 g Igepal® CO-520 gelöst und durch Einleiten eines leichten Argonstroms unter Rühren entgast. Nach 30 min wurden 9 – 11 mg Nanopartikel (Fe₃O₄ oder Au@Fe₃O₄) gelöst in 1 ml Cyclohexan zugeben und die Lösung wurde für weitere 15 min entgast. Zur Bildung der Mizellen wurden 150 ml konz. NH₄OH-Lösung langsam zugetropft, worauf sich die Lösung kurz trübte. Nach weiteren 5 min wurden 112 ml (0.5 mmol) TEOS und eine Mikrospatelspitze FITC zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht unter Argonatmosphäre gerührt. Die PEGylierung der Partikel erfolgte durch Zugabe von 128 µl (0.25 mmol) PEG-TES, welche nach ca. 2 h abgeschlossen war, was am Ausfallen der Partikel deutlich wurde. Nach dem Dispergieren im Ultraschallbad wurden die Partikel für 5 min bei 5000 U/min zentrifugiert und in 3 – 5 ml Aceton wieder aufgenommen. Falls die Partikel weiter funktionalisiert werden sollten, wurden sie wiederholt aufgereinigt (Zugabe von ca. 10 ml Hexan, Zentrifugation für 5 min bei 5000 U/min und Aufnahme in Aceton oder einem anderen polaren Lösungsmittel). Sollte keine weitere Funktionalisierung mehr stattfinden, wurden die in Aceton gelösten Partikel auf eine magnetische Zellseparationssäule Modell LS (MACS®) der Firma Miltenyi Biotec gegeben und mit 2 ml Aceton gewaschen. Die Partikel wurden nach dem Entfernen des Magneten mit ca. 3 ml Methanol von der Säule eluiert. Das Methanol wurde abgedampft und die Partikel in Reinstwasser gelöst.

8.4.3 Aminofunktionalisierung

Die Partikel wurden in 20 ml Aceton gelöst und 150 µl konz. NH_4OH -Lösung unter Rühren bei Raumtemperatur hinzugegeben. Nach 5 min wurden 150 µl (0.65 mmol) APS und 128 µl (0.25 mmol) PEG-TES zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für weitere 4 h unter Argonatmosphäre gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf ca. 3 – 5 ml im Vakuum eingedampft, die Partikel durch Zugabe von Hexan ausgefällt und 5 min bei 5000 U/min zentrifugiert. Die Partikel wurden erneut in 3 – 5 ml Aceton aufgenommen und wie im folgenden Abschnitt beschrieben, mit einer magnetischen Säule aufgereinigt.

8.4.4 Aufreinigung mittels magnetischer Säule

Zur Abtrennung der Silica-Nanopartikel von den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Kern-Schale-Nanopartikeln wurde eine LS+ Positiv Trennsäule von Miltenyi Biotec und ein MidiMACS Separator (Magnet), ebenfalls von Miltenyi, verwendet. Die in 3 – 5 ml Aceton gelöste Probe wurde auf die Säule gegeben. Diese Fraktion war entsprechend des verwendeten Farbstoffes FITC grün gefärbt. Danach wurde die Probe mit weiteren 3 ml Aceton gewaschen, wobei hier nur die ersten Tropfen noch eine Färbung aufwiesen und dann schnell klarsichtig wurden. Nach dem Entfernen der Säule vom Separator wurde die Probe mit ca. 3 ml Methanol von der Säule gespült, was an einer starken Trübung des Methanols zu erkennen war. Nach dem Füllen mit Hexan und Zentrifugieren bei 9000 U/min für 5 min wurde die Probe im Argonstrom getrocknet. Im Anschluss daran wurde die Probe in Reinstwasser aufgenommen und bei 4 °C gelagert.

9 Wirkung von Au@Fe₃O₄-Janus-Nanopartikeln auf menschliche Blutzellen

Das folgende Kapitel enthält Auszüge der Publikation:

*Anti-oxidative effects and harmlessness of asymmetric Au@Fe₃O₄ Janus particles on human blood cells*²⁷⁵

Lisa Landgraf,^a Peter Ernst,^a Isabel Schick,^b Oskar Köhler,^b Hartmut Oehring^c, Wolfgang Tremel,^b Ingrid Hilger^a

9.1 Einleitung

Für Nanomaterialien konnte gezeigt werden, dass sie für verschiedene Felder in der Biologie und Medizin einen großen Nutzen haben. Aufgrund ihrer einzigartigen physikalischen und chemischen Eigenschaften spielen insbesondere metallische Nanopartikel in bildgebenden und diagnostischen Verfahren eine wichtige Rolle.²⁷⁶ Eisenoxid- und Manganoxid-Nanopartikel erwiesen sich als gute T_2 und T_1 Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie.^{277, 278} Weitere Anwendungen schließen Hyperthermie und Arzneistoffabgabe mit ein.^{279, 280} Darüber hinaus gelten Gold-Nanopartikel als vielversprechende Kandidaten für bildgebende Verfahren auf Basis von Röntgenstrahlen (CT) oder Plasmonenresonanz.^{281, 282} Die Kompatibilität dieser sphärischen Nanopartikel mit menschlichen Zellen wurde in ausführlichen zytotoxischen, gentoxischen sowie Studien über deren zelluläre Aufnahme verifiziert.²⁸³⁻²⁸⁷ In den letzten Dekaden haben zweiseitige Partikel mit einer asymmetrischen Struktur, sogenannte Janus-Partikel, starke Aufmerksamkeit erfahren, weil sie die Vorteile beider oben beschriebenen Nanopartikelsorten vereinen können.

In einer für den biomedizinischen Aspekt relevanten Veröffentlichung haben Xu *et al.* Au@Fe₃O₄-Nanopartikel als dual funktionale Proben in A431 Epithelzellen beschrieben. Sie zeigten eine exzellente T_2 Relaxation und Biokompatibilität.²¹⁷ Kirui und Mitarbeiter konnten ebenfalls demonstrieren, dass sich sowohl magnetische Hysteresen induzieren lassen als auch dass sie als photothermale Absorber gegen Krebszellen wirken.²⁸⁸ Janus-Partikel wurden auch eingesetzt, um mit der einen Seite Platinionen gegen den Tumor

^aZentrum für Radiologie, Jena Universitätsklinik, Friedrich Schiller Universität Jena, Erlanger Allee 101, 07747 Jena, Deutschland

^b Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie, Johannes Gutenberg-Universität, Duesbergweg 10 – 14, 551228 Mainz, Deutschland

^c Universitätsklinikum Jena, Institut für Anatomie II, Teichgraben 7, 07743 Jena, Deutschland

abzugeben und mit der anderen Seite das Her2/neu-Rezeptorprotein in Brustkrebszellen anzusteuern.⁶³ Des Weiteren zeigten sich FePt@Au-Nanopartikel als gute MRT-Kontrastmittel mit einer hohen Zielaffinität nach der Konjugation mit HmenB1-Antikörpern, welche prostataspezifische Antigene erkennen.²⁸⁹ Silber@Magnetit-Nanopartikel wurden für die Manipulation von Makrophagen mittels eines externen Magnetfeldes verwendet²⁹⁰ und Silber@Magnetit erwiesen sich geeignet für den Einsatz als mögliche zelluläre Biomarker²⁹¹.

Die obengenannten optischen, magnetischen und Wirkstoff-liefernden Charakteristika machen Janus-Partikel zu hochinteressanten Kandidaten für biomedizinische Anwendungen. Allerdings fehlen ausführliche Daten über ihre Biokompatibilität bezüglich menschlicher Zellen. Erste Untersuchungen, welche auf die Viabilität der Zellen nach kurzen Inkubationszeiten (24 und 48 h) mit Au@Fe₃O₄-Partikeln abzielten, wurden mit MTT/WST1 Tests unternommen.^{217, 288} Allerdings ist bekannt, dass Metallnanopartikel diese Assay-Systeme beeinflussen können.^{284, 292}

In dieser Studie wurde die Wirkung von verschiedenen Au@Fe₃O₄-Zusammensetzungen auf Endothelzellen und Monozyten untersucht, da Blut den Verteilungsweg von Nanopartikeln im Körper darstellt. Darüber hinaus wurden die Ergebnisse von Au@Fe₃O₄-Nanopartikeln mit denen von sphärischen Eisenoxid- und Au@MnO-Nanopartikeln verglichen. Im Fokus der Studie lag die Stabilität der Partikel in verschiedenen Puffern, das Aufnahmeverhalten und der Zellmetabolismus, um Aussagen treffen zu können, inwieweit anorganische Janus-Partikel besondere Leistungsmerkmale aufweisen: (1) Da die Aufnahme von sphärischen Nanopartikeln von an der Oberfläche befindlichen NH₂-Gruppen beeinflusst wird, wurde untersucht, ob ein vergleichbarer Effekt für asymmetrische Nanopartikel ebenfalls vorhanden war und (2) ob die NH₂-Funktionalisierung einen Einfluss auf den Zellmetabolismus und die direkte Aufnahme in die Zellen ausübte. (3) Um die Auswirkungen auf den Zellmetabolismus besser zu verstehen, wurden die intrazelluläre Aufnahme mit der Zellviabilität, dem zellulären ATP-Level und der DNS-Integrität verglichen. (4) Zudem wurden ausführlich die Auswirkungen speziell der Janus-Strukturen mit denen der sphärischen Partikel in verschiedenen Zelllinien und Ausleseverfahren verglichen. (5) Auch der Einfluss der Metalloxidkomponente mit Fe₃O₄ oder MnO wurde untersucht. (6) Abschließend wurde die Rolle verschiedener Komponenten der Zellmembran auf die Adhäsion und Internalisierung von Janus-Partikeln erörtert. Besonders wurde auf die Frage eingegangen, ob krankheitsrelevante Veränderungen der Zellmembranen in Endothelzellen die Adhäsion und Internalisierung beeinflussen, wie zum Beispiel gesteigerte endotheliale Permeabilität in Diabetes.²⁹³ Die Ergebnisse besitzen eine große Bedeutung hinsichtlich der Eignung von Janus-Partikeln für biomedizinische Anwendungen.

9.2 Ergebnisse und Diskussion

Die in dieser Studie verwendeten Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel unterschieden sich in der Position ihrer NH₂-Funktionalisierung. Das Schema und die TEM-Aufnahmen in Abbildung 9-1 zeigen den asymmetrischen Aufbau der Janus-Partikel mit ihrer Silica-Schale um die Eisenoxid-Domäne und der variierenden Position der NH₂-Gruppen (kurz Au@Fe₃O₄, Au@Fe₃O₄-NH₂ und Au-NH₂@Fe₃O₄). Um die Wirkung auf menschliche Zellen besser vergleichen zu können, wurden auch Silica-umhüllte, sphärische Eisenoxid-Nanopartikel mit und ohne NH₂-Funktionalisierung (kurz Fe₃O₄ bzw. Fe₃O₄-NH₂) sowie Au@MnO-Janus-Partikel mit Silica-umhüllter Manganoxid-Domäne und ebenfalls variierender NH₂-Funktionalisierung (kurz Au@MnO, Au-NH₂@MnO, Au@MnO-NH₂) verwendet. TEM-Auswertungen ergaben einen Durchmesser von ca. 3.5 nm für die Gold-Domäne und ca. 16 nm für die Eisenoxid-Domäne (siehe Abb. 9-1). Die Au@MnO-Dimere besaßen in etwa die gleichen Abmessungen.

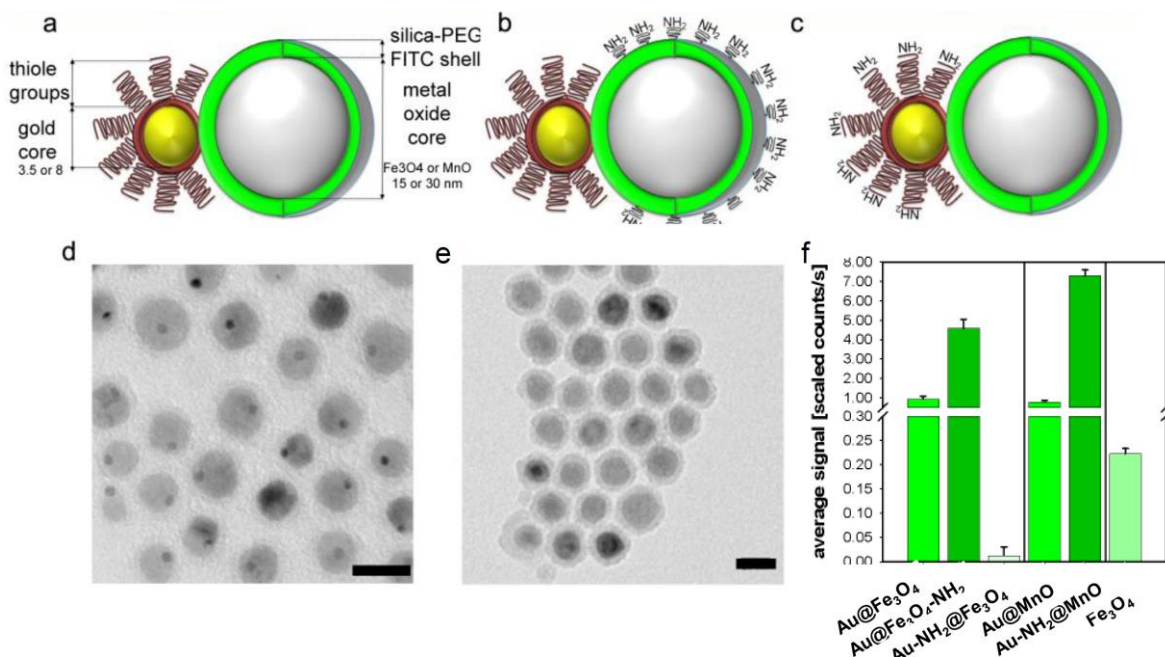


Abb. 9-1. Schema der Janus-Partikel Gold@Metalloxid (a), mit Aminofunktionalisierung an der Metalloxid-Domäne (b) und Aminofunktionalisierung an der Gold-Domäne (c). TEM-Aufnahmen der Au@Fe₃O₄ (d) und der sphärischen Kontrollpartikel Fe₃O₄ mit Silica-Schale (e). Fluoreszenz der mit FITC markierten Silica-Schale der Nanopartikel (f), Maßstabsbalken jeweils 20 nm (aus ²⁷⁵).

Die Ansätze der Janus-Partikel neigten zur Bildung von Mizellen und Clustern.^{67, 294, 295} Es wurde davon ausgegangen, dass dieses Verhalten aus den amphiphilen Eigenschaften der Nanopartikel resultierte, welche durch ihre Oberflächenfunktionalisierung bestimmt wurden. Aufgrund ihrer Oberflächenladung waren die Au@Fe₃O₄ und die Au@Fe₃O₄-NH₂ im wässrigen Medium kolloidal stabil. Hingegen lagerten sich die Au-NH₂@Fe₃O₄Partikel

zu bis 1 μm großen Agglomeraten zusammen (siehe Tab. 9-1). Wir nehmen an, dass durch die NH_2 -Funktionalisierung auf der Gold-Domäne ein Dipol mit positiver und negativer Ladung entsteht, was zu einer gegenseitigen Anziehung der Janus-Partikel führte und daraus der vergrößerte hydrodynamische Durchmesser resultierte. Allgemein waren die Janus-Partikel mit NH_2 -Gruppen weniger kolloidal stabil als die Varianten ohne (siehe Tab. 9-1).

Tab. 9-1. Eigenschaften von $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ -Janus-Partikeln nach Lösen in Wasser bzw. Gibco® MCDB 131 Kulturmedium.

| | Partikelgröße / nm $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ | Hydrodynamischer Durchmesser / nm | | | | Zeta-Potential / mV | |
|--|---|--------------------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
| | | in Wasser | pdi water | Kultur- medium | pdi medium | in Wasser | Kultur- medium |
| $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ | 3.5@15.1 $\pm 0.4 @ \pm 2.4$ | 61.0 ± 0.6 | 0.200 ± 0.014 | 103 ± 28 | 0.251 ± 0.040 | -35.0 ± 1.8 | -0.003 ± 0.300 |
| $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ | 3.5@18.1 $\pm 0.4 @ \pm 2.5$ | 45.0 ± 0.7 | 0.193 ± 0.021 | 124.00 ± 49.09 | 1 ± 0 | 21.0 ± 0.5 | -18.0 ± 0.3 |
| $\text{Au-NH}_2\text{@Fe}_3\text{O}_4$ | 3.5@17.3 $\pm 0.4 @ \pm 2.5$ | 1060 ± 608 | 0.782 ± 0.324 | 2527 ± 1698 | 0.318 ± 0.209 | -24.0 ± 0.8 | -26.0 ± 0.5 |

Darüber hinaus wurden die drei verschiedenen Varianten der $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ -Janus-Partikel in verschiedenen Puffern mit und ohne 10 % *fetal bovine serum* (FBS, fetales Kälberserum) (siehe Tab. 9-1 und Tab. 9-2) getestet, um die Wirkung beider Effekte, nämlich des asymmetrischen Charakters und der variierenden Position der Aminogruppen, auf die Stabilität der Nanopartikel und auf die Ausbildung einer Proteinkorona zu untersuchen. Die Inkubation im Nährmedium, ergänzt mit 10 % FBS, führte zu einer Vergrößerung der hydrodynamischen Durchmesser (um ~ 50 nm), was auf die Bildung einer Proteinkorona schließen lässt. Die Inkubation der Nanopartikel mit einem Nährboden ohne zusätzliches Serum ließ die hydrodynamischen Durchmesser wesentlich stärker anwachsen (um ~ 600 nm) (vergleiche Tab. 9-1 und Tab. 9-2), was hier auf ein Agglomerieren der Partikel und im Medium mit FBS auf eine Teilstabilisierung der Partikel durch die Proteinkorona hinweist.²⁹⁶ Die Messung des Zeta-Potentials in Wasser bestätigte die negative Oberflächenladung der unbehandelten Janus-Partikel, die in Abhängigkeit des Ausmaßes an NH_2 -Funktionalisierung in den positiven Bereich verschoben wurden. Nach der Inkubation mit Serumproteinen wechselte die Ladung jeweils ihr Vorzeichen, was die Annahme der Ausbildung einer Proteinkorona um die Partikel weiter bekräftigte (siehe Tab. 9-1).

Tab. 9-2. Eigenschaften von Au@Fe₃O₄-Janus-Partikeln nach dem Lösen in Puffer oder serumfreien Gibco® MCDB 131 Kulturmedium. Der hydrodynamische Durchmesser und das Zeta-Potential wurden in HBSS und im Kulturmedium ohne FBS bestimmt.

| | Hydrodynamischer Durchmesser / nm | | | | Zeta-Potential / mV | |
|--|-----------------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|---------------------|-----------------------------|
| | in HBSS | pdi | In serumfreien Kulturmedium | pdi | in HBSS | In serumfreien Kulturmedium |
| Au@Fe ₃ O ₄ | 401±23 | 0.312±0.040 | 635±147 | 0.309±0.15 | -43.0±1.1 | -26±0.7 |
| Au-NH ₂ @Fe ₃ O ₄ | 252±9 | 0.604±0.097 | 693±114 | 0.392±0.206 | -40.5±2.6 | -22.5±1.1 |

Interessanterweise trat der Wechsel des Zeta-Potentials nur in stabilen Nanopartikellösungen auf, wie es auch von Lundqvist *et al.* beobachtet werden konnte.²⁹⁷ Zusammenfassend zeigten unsere Daten, dass die Oberflächenladung durch NH₂-Funktionalisierung ein wesentlicher Faktor für die Kontrolle der kolloidalen Stabilität und der Ausbildung einer Proteinkorona darstellten. Die Oberflächenladung bestimmt damit mehr das Verhalten in einer biologischen Umgebung als der asymmetrische Janus-Charakter *per se*.

9.2.1 Wirkung der Aminofunktionalisierung von Janus-Partikeln auf den Zellmetabolismus

Unsere Studien zeigten, dass die Wirkung von NH₂-funktionalisierten Janus-Partikeln auf den Zellmetabolismus höher war als Varianten ohne NH₂-Gruppen. Genauer gesagt steigerte die NH₂-Funktionalisierung die zytotoxische Wirkung der Janus-Partikel, wie es für die Komponenten als sphärische Eindomänenpartikel bereits beschrieben wurde.²⁹⁸ Die HMEC-1 Zellen blieben nach Zugabe von nicht NH₂-funktionalisierten Janus-Partikeln mit einer Konzentration von bis zu 50 µg/ml Fe(II)/(III) viabel (siehe Abb. 2a(i)). Unter allen getesteten Varianten besaßen die Au-NH₂@Fe₃O₄ Partikel die am stärksten ausgeprägten zytotoxischen Effekte nach 24 und 48 h (siehe Abb. 9-3 a und b) sowie nach 72 h (siehe Abb. 9-2 a). In diesem Zusammenhang kann nicht eindeutig gesagt werden, in welchem Ausmaß die Effekte auf die Agglomeration speziell dieser Janus-Partikel zurückgehen. Allgemein war die Wirkung der NH₂-Funktionalisierung dosisabhängig. Jedoch war sie unabhängig davon, ob die Funktionalisierung am Gold oder Metalloxid vorhanden war.

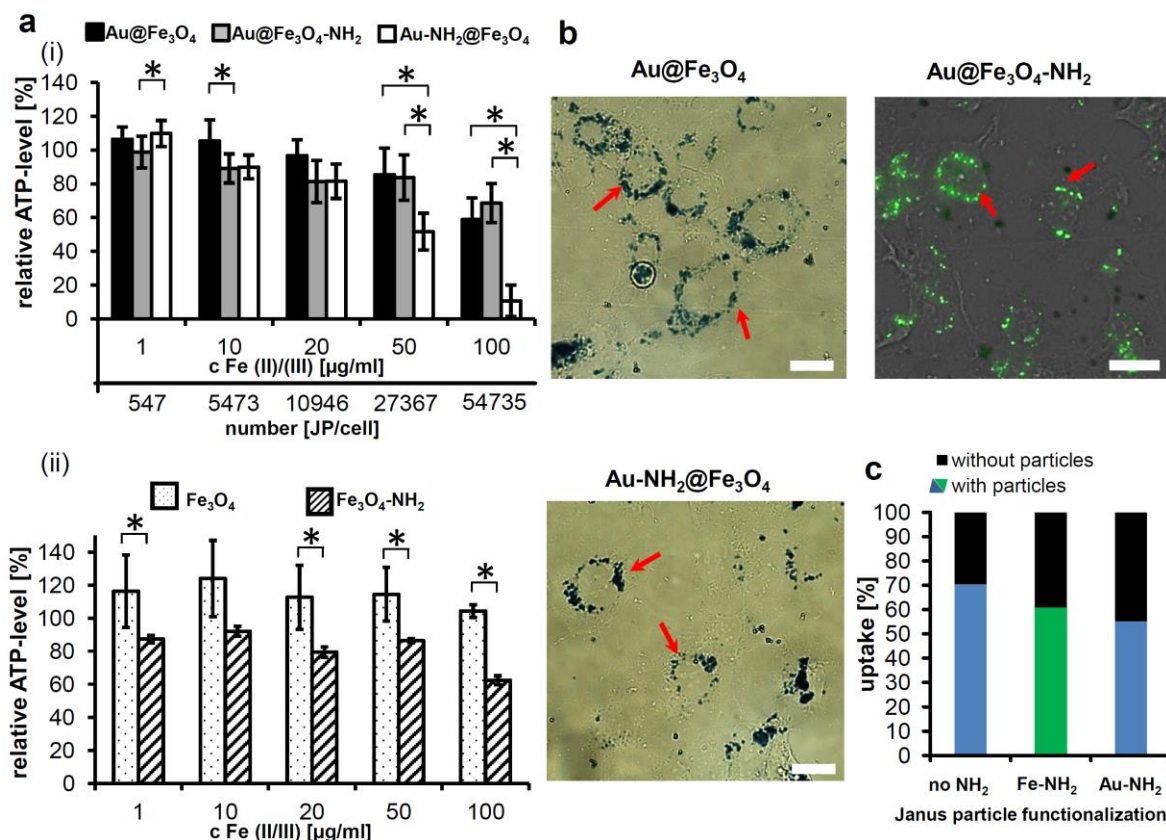


Abb. 9-2. Wirkung der Oberflächenfunktionalisierung auf den ATP-Zelllevel und auf die Nanopartikelaufnahme. Die Endothelzellen wurden mit steigenden Konzentrationen von Nanopartikeln für 72 h inkubiert. (a) Die relativen ATP-Zelllevel wurden mittels des ATPLite Assays detektiert. (i) Die HMEC-1 wurden mit Au@Fe₃O₄, Au@Fe₃O₄-NH₂ und Au-NH₂@Fe₃O₄ behandelt. (ii) Die HMEC-1 wurden mit Fe₃O₄ und Fe₃O₄-NH₂ behandelt. Die Daten wurden auf die Kontrollwerte (ohne Partikelexposition) normalisiert, welche als 100% ATP-Level gesetzt wurden. * p < 0.05 (b) Aufnahme der Zellen nach der Inkubation von Nanopartikeln (5 µg/ml Fe(II)/(III)) für 72 h. Die Eisenoxidkomponente der Nanopartikel wurde für die Mikroskopie mit Berliner Blau gefärbt oder mit Fluoreszenzmikroskopie von in die SiO₂-Hülle eingebetteten FITC visualisiert. Lokalisierung der Janus-Partikel (blau). (c) Semi-quantitative Analyse der Nanopartikelaufnahme (für Details siehe Text). (Masstabsbalken jeweils 20 µm) (aus ²⁷⁵).

Für die sphärischen Fe₃O₄- (siehe Abb. 9-2 a(ii)) und MnO- (siehe Abb. 9-3) Nanopartikel wurde auch eine erhöhte Wirkung auf den zellulären ATP-Level beobachtet, wenn die NH₂-funktionalisierten Partikel verwendet wurden. In einem weiteren Schritt wurde die Aufnahme der Janus-Partikel (5 µg/ml Fe(II)/(III)) in den HMEC-1 daraufhin untersucht, ob domänenabhängige (Au vs. Metalloxid) Effekte der NH₂-Funktionalisierung vorlagen. Die nicht funktionalisierten Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel wurden in einem geringfügig höheren Ausmaß aufgenommen als die funktionalisierten, ungeachtet von der Position der NH₂-Gruppe (siehe Abb. 2b und c). Dies ist wohl auf die unterschiedliche Oberflächenladung zurückzuführen, wie es das Zeta-Potential nach der Inkubation im

Zellmedium (siehe Tab. 9-1) und die damit zusammenhängende Ausbildung einer Proteinkorona andeutet.^{297, 299} Die Tatsache, dass Literaturdaten²⁸⁴ von Zeta-Potentialen der Nanopartikel hauptsächlich von wässrigen Suspensionen stammen, limitiert den direkten Vergleich der Daten miteinander. Die intrazelluläre Verteilung der Nanopartikel aller Janus-Partikel zeigt eine perinukleäre Lokalisation (siehe Abb. 9-2 b).

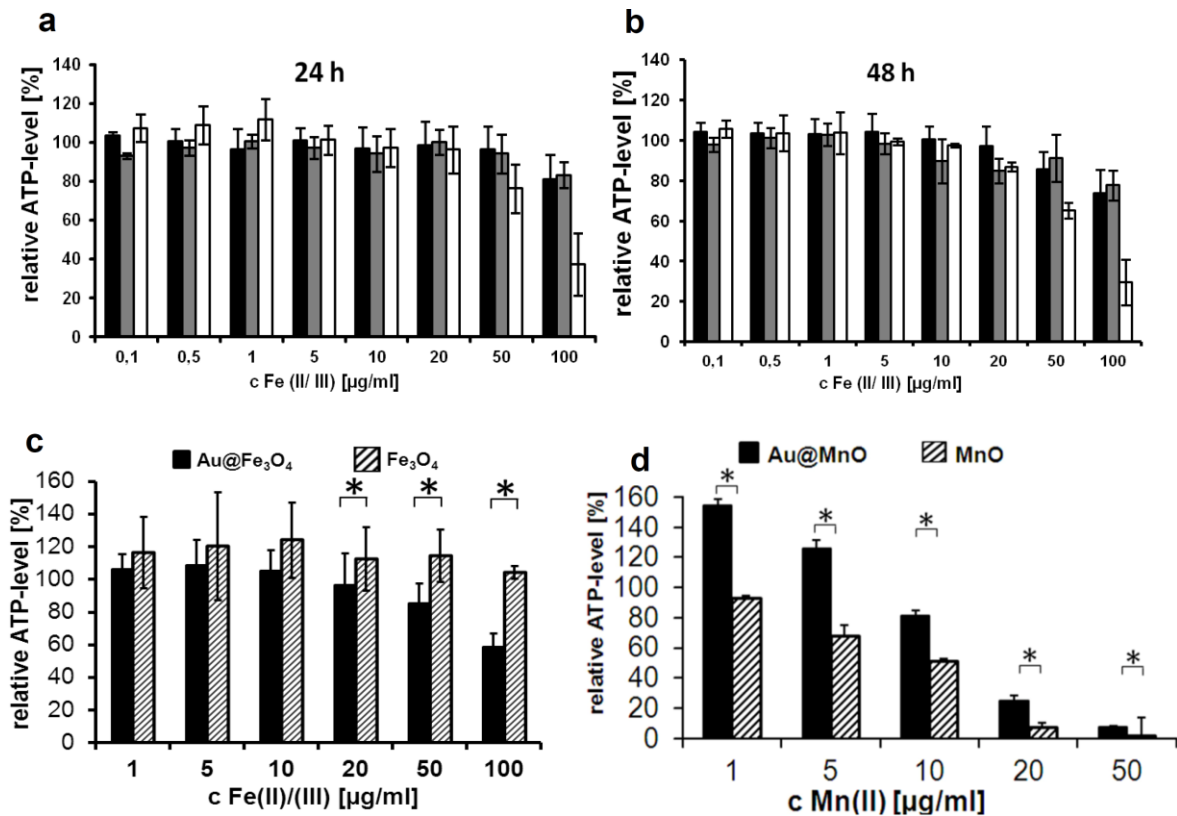


Abb. 9-3. Wirkung der Aminofunktionalisierung und Janus-Struktur auf den ATP-Zelllevel. Endothelzellen inkubiert mit ansteigenden Konzentrationen von Nanopartikeln. Die relativen ATP-Zelllevel wurden mit ATPLite assay bestimmt. HMEC-1 behandelt mit Au@Fe₃O₄, Au@Fe₃O₄-NH₂ und Au-NH₂@Fe₃O₄ für 24 (a) und 48 h (b). (c) HMEC-1 behandelt mit Au@Fe₃O₄ und Fe₃O₄ (72 h). (d) HMEC-1 behandelt mit Au@MnO und MnO (72 h). Die Daten wurden auf die Kontrollwerte normalisiert (ohne Partikelexposition), welche als 100 % ATP-Level gesetzt wurden. * p < 0.05 (aus²⁷⁵).

Zusammenfassend deuteten die Untersuchungsergebnisse des zellulären ATP-Metabolismus darauf hin, dass die NH₂-funktionalisierten Janus-Partikel zu einer stärkeren Reduktion des zellulären ATP-Levels führten, wobei dies nicht durch eine erhöhte Aufnahme verursacht wurde. Ferner war keine direkte Aufnahme in die HMEC-1 Zellen aufgrund einer domänenabhängigen Funktionalisierung festzustellen.

9.2.2 Unterschiedliche Wirkung von Janus-Partikeln auf unterschiedliche Marker des Zellmetabolismus

Um ein möglichst umfassendes Bild von der Wirkung der Janus-Partikel auf die Zellen zu erhalten, wurden die DNS-Integrität, die Zellviabilität und der ATP-Zelllevel analysiert. Interessanterweise wurde die DNS in erster Linie von den Au@Fe₃O₄-Janus-Partikeln ohne NH₂-Funktionalisierung geschädigt (siehe Abb. 9-4 a).

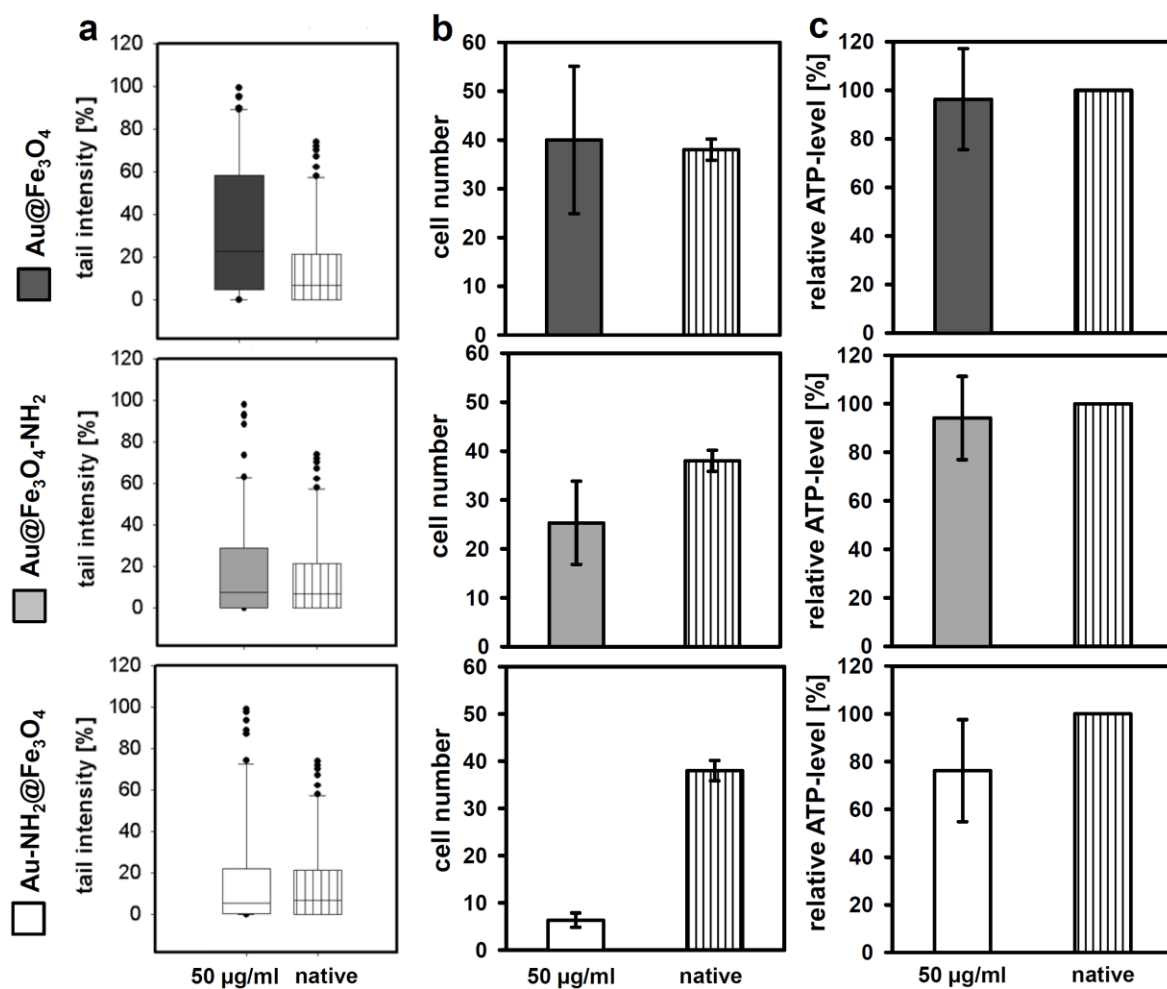


Abb. 9-4. Vergleich der Wirkung von Janus-Partikeln auf die DNS-Integrität, die Zellanzahl und den Energiestoffwechsel der Zellen nach der Zugabe von Nanopartikeln. Die HMEC-1 wurden mit 50 µg/ml Fe(II)/(III) der Au@Fe₃O₄-Janus-Partikeln oder ohne Nanopartikel (native) für 24 h inkubiert. (a) DNS-Integrität gezeigt als Tail-Intensität (Comet Assay) im Vergleich zu den unbehandelten nativen Zellen. (b) Die Anzahl der Zellen pro Sektion ermittelt durch Mikroskopie. (c) Relative ATP-Zelllevel detektiert mittels ATPLite Assay. Die Tail-Intensitäten von 20 Zellen wurden in einer Dreifachbestimmung durch Comet Assay Software ermittelt. Die ATP-Daten wurden auf die Kontrollwerte ohne Partikelexposition normalisiert (aus ²⁷⁵).

Der Grund für die genotoxischen Effekte der Au@Fe₃O₄-Nanopartikel blieb unklar. Sehr wahrscheinlich gehen sie auf eine spezielle Wechselwirkung der Partikel mit der DNS oder einer der Komponenten der DNS zurück. Ähnliche Effekte wurden bei Eisenoxid-Partikeln beobachtet, welche einen hydrodynamischen Durchmesser von 10 nm hatten und mit (3-Aminopropyl)trimethoxysilan beschichtet waren.²⁸⁴ Da die Zellen weiterhin viabel waren, bestätigt durch die Zellzählung (siehe Abb. 9-4) und durch den unveränderten ATP-Level, schien das System zur Reparatur der DNS weiterhin intakt zu sein. Im Gegensatz dazu induzierten die NH₂-funktionalisierten Partikel zwar keine genotoxischen Effekte, doch führten sie zu einer deutlich verminderten Anzahl an viablen Zellen, ohne dabei eine Beeinträchtigung des ATP-Levels zu zeigen (siehe Abb. 9-4 a-c). Die gemessene Phosphorylierung von Histonen zeigte auch eine höhere Wirkung der Au@Fe₃O₄-Partikel auf die DNS (siehe Abb. 9-5). Dies deutete darauf hin, dass die Au@Fe₃O₄-Partikel einen Schaden der DNS verursachten, welcher durch das endogene System zur Reparatur selbst wieder behoben werden konnte. Dahingegen induzierten die Varianten von Au@Fe₃O₄-NH₂ und Au-NH₂@Fe₃O₄ den Zelltod durch einen anderen, nicht genotoxischen Mechanismus. Hierfür schienen Schädigungen der zellulären Membranen verantwortlich zu sein, wie es von sphärischen, mit Chitosan modifizierten PLGA-Nanopartikeln (Poly(lactic-co-glycolic)acid) berichtet wurde.³⁰⁰

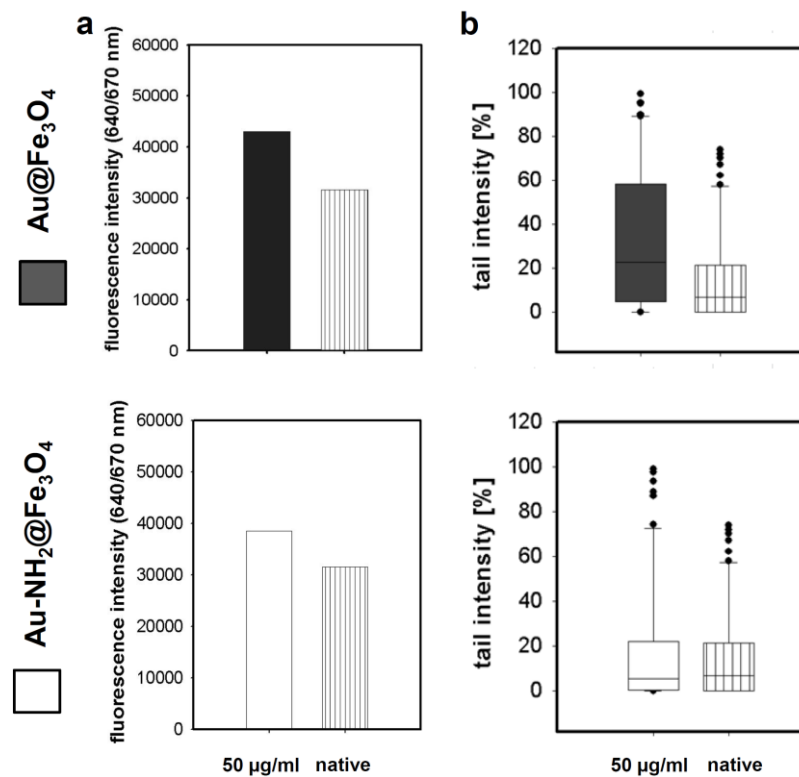


Abb. 9-5. Wirkung der Janus-Partikel auf die Phosphorylierung der Histone (a) im Vergleich mit Analyse per Comet Assay. (b) HMEC-1 nach der Inkubation von Au@Fe₃O₄-Januspartikel mit 50 µg/ml Fe(II)/(III) und ohne Nanopartikel (native) für 24 h (aus²⁷⁵).

9.2.3 Biokompatibilität von Janus-Partikel im Vergleich

Um den Einfluss von Strukturmerkmalen untersuchen zu können, wurden asymmetrische Janus-Partikel mit sphärischen Fe_3O_4 -Nanopartikeln verglichen. Die $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ -Janus-Partikel bewirkten keine Änderung des ATP-Levels, während die sphärischen Fe_3O_4 -Nanopartikel zu einem klaren Anstieg des zellulären ATP-Levels nach 24 h Inkubationszeit (siehe Abb. 9-6) führten. Jedoch war nach 72 h Inkubationszeit mit Janus-Partikeln (siehe Abb. 9-3 c) ein beständiger Rückgang des ATP-Levels zu beobachten. Der vorübergehende proliferative Effekt war wahrscheinlich auf die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies (engl. reactive oxygen species, ROS) zurückzuführen (siehe Abb. 9-6 b). Es entstand bei den sphärischen Nanopartikeln mehr ROS als bei den Janus-Partikeln. Die Tatsache, dass die Entstehung von ROS eine nichtlineare Reaktion mit einem anfänglichen Anstieg der Proliferation initiierte, welchem ein Abfall der Viabilität folgte, ist ein gut beschriebenes Phänomen, was als Hormesis bekannt ist.^{301, 302} Zusätzlich reduzierten die $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ -Janus-Partikel verglichen mit den nicht behandelten Kontrollzellen den ROS-Level, was darauf hinwies, dass die Gold-Domäne eine schützende Wirkung gegenüber den zytotoxischen Effekten der Metalloxid-Domäne zeigt.^{303, 304} Des Weiteren führten die sphärischen Fe_3O_4 -Nanopartikel zu einem geringen Anstieg der Schädigung der DNS im Vergleich zu den unbehandelten Zellen und denen mit Janus-Partikeln, was über die Phosphorylierung der Histone in einem Fluoreszenz-Assay (H2A.X, siehe Abb. 9-6 c) ermittelt wurde.

Janus- und Eisenoxid-Nanopartikel zeigten deutliche Effekte auf verschiedene Zelltypen. Die Wirkung auf primäre Endothelzellen (HUVECs) war für beide Varianten identisch (siehe Abb. 9-6 d), jedoch reagierten diese Zellen empfindlicher als die permanente Zelllinie HMEC-1 bei einer Nanopartikelkonzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$ Fe(II)/(III) (siehe Abb. 9-6 a). Zusätzlich zeigten die permanenten Makrophagen (J7741.A, siehe Abb. 9-6 e) eine dosisabhängige Verminderung des zellulären ATP-Levels nach der Exposition sowohl mit sphärischen als auch den Janus-Nanopartikeln. Dementsprechend bestimmte also die Konzentration des Eisenoxids die Viabilität dieser Zelllinien. Auch in mononuklearen Zellen, welche aus menschlichem Blut isoliert wurden, führten die sphärischen Nanopartikel zu einem stärkeren Abfall des zellulären ATP-Levels als die Janus-Partikel. Daraus ließ sich folgern, dass $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ -Janus-Partikel generell besser biokompatibel sind als die sphärischen Fe_3O_4 -Nanopartikel. Trotzdem bedarf es noch weiterer Untersuchungen, um die Ergebnisse zu validieren.

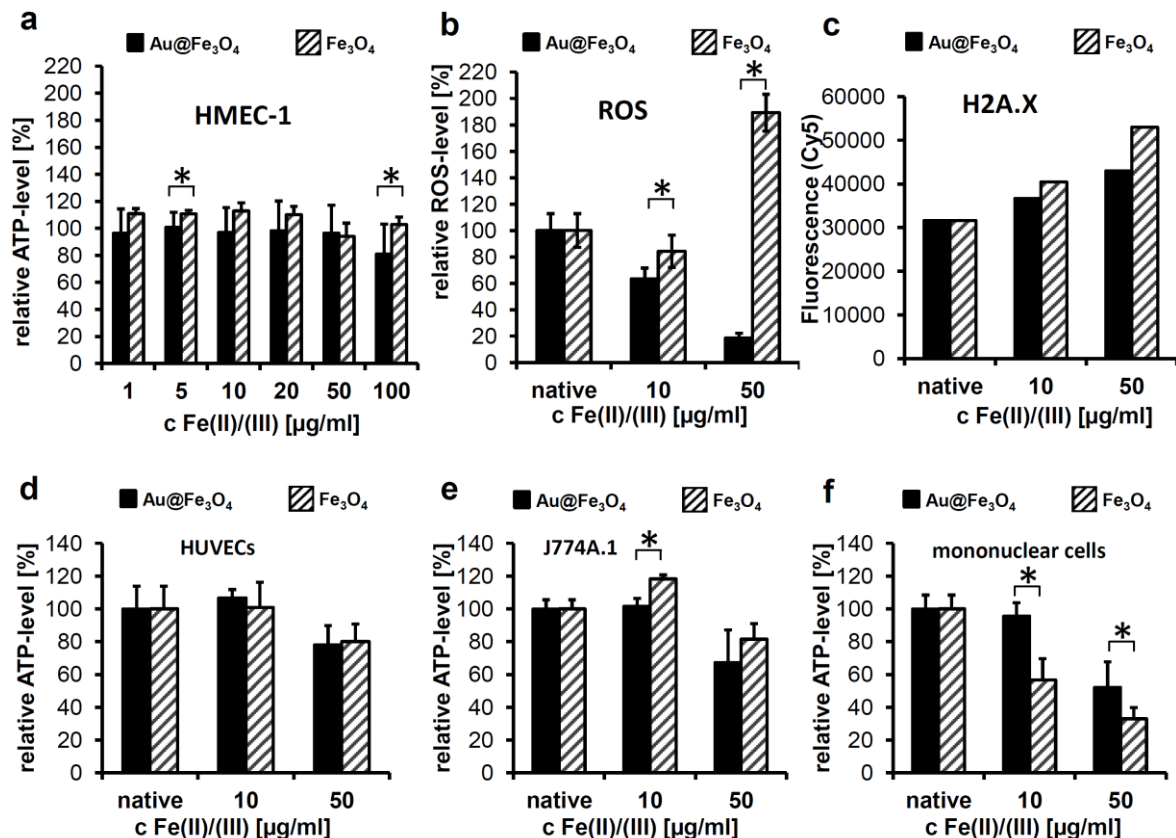


Abb. 9-6. Einfluss der asymmetrischen Struktur der Nanopartikel auf den ATP-Zelllevel, ROS-Zelllevel und DNS-Schaden 24 h nach der Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen von Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel und sphärischen Fe₃O₄-Nanopartikeln. (a) ATP-Zelllevel von permanenten Endothelzellen (HMEC-1). (b) Relativer ROS-Zelllevel der HMEC-1 gemessen mit dem OxiSelect ROS Assay. (c) Phosphorylierte Histone nach der Nanopartikelexposition sichtbar gemacht via zytologischem Färben mit Anti-Histon H2A.X Antikörper und einem Cy5 gelabelten sekundären Antikörper. ATP-Zelllevel von (d) primären Endothelzellen (HUVECs), (e) permanente Makrophagen (J774A.1) und (f) frisch isolierte, humane, mononukleäre Zellen. Die ATP-Daten wurden auf die Kontrollwerte (ohne Partikelexposition) normalisiert, welche als 100 % ATP-Level gesetzt wurden. Die ROS-Werte wurden auf die viablen Zellen normalisiert, welche während des ATP Assays gemessen wurden. **p* < 0.05 (aus ²⁷⁵).

Beide Varianten sammelten sich perinukleär bei ähnlichen Aufnahmezeiten von ca. 60 % (siehe Abb. 9-7) an, so dass eine vermehrte Aufnahme der sphärischen Fe₃O₄-Nanopartikel in die HMEC-1 nicht der Grund für den hier stärker ausgeprägten Effekt sein dürfte.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass in Langzeitexperimenten mit Endothelzellen die Janus-Partikel eine bessere Biokompatibilität als die sphärischen Fe₃O₄-Nanopartikel aufwiesen. Darüber hinaus besitzen sie antioxidative Eigenschaften gegen ROS, welche Zellen und Gewebe schützen können.

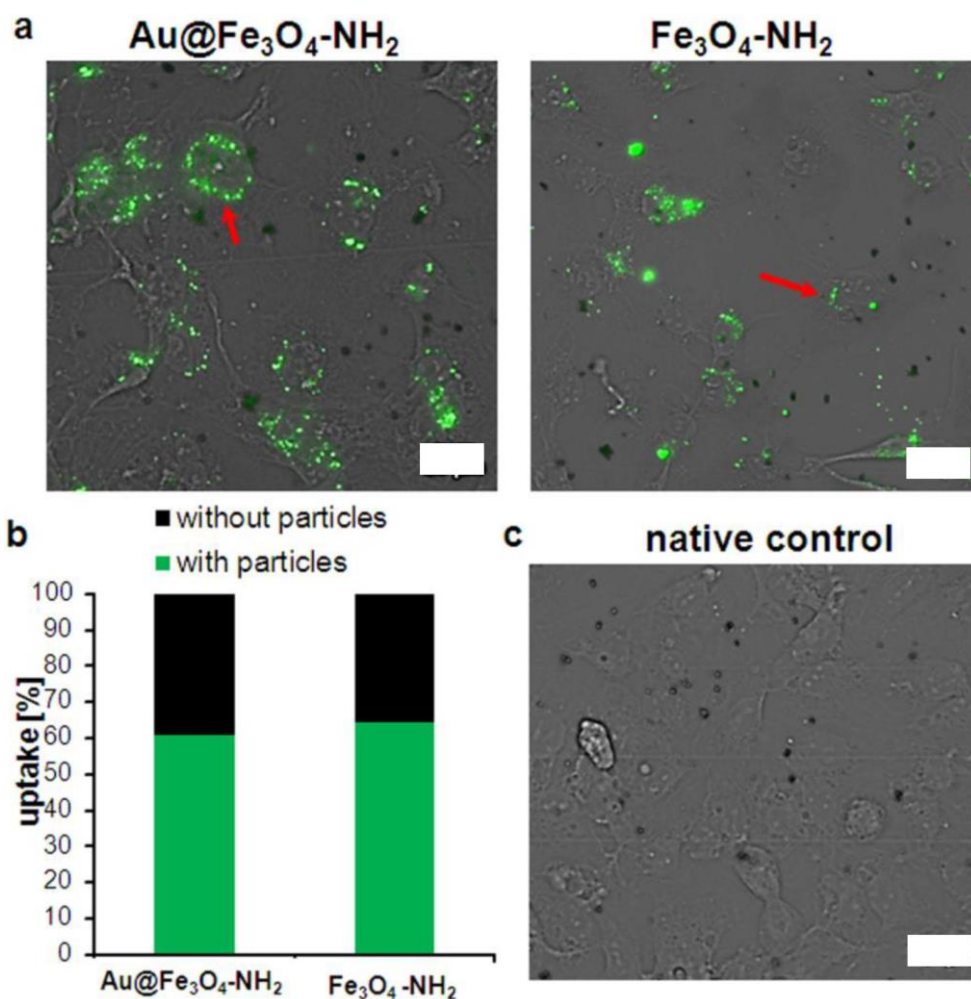


Abb. 9-7. Wirkung der Janus-Struktur auf die Nanopartikelaufnahme. (a) Nanopartikelaufnahme in die Zellen nach Inkubation mit Nanopartikeln (5 µg/ml Fe(II)/(III)) für 72 h. (b) Semi-quantitative Analyse der Nanopartikelaufnahme. (c) Unbehandelte HMEC-1 gefärbt mit Berliner Blau (aus ²⁷⁵).

9.2.4 Die Rolle der Metalloxidkomponente in den Janus-Partikeln

Die Daten zeigten beim Vorhandensein einer Manganoxid-Domäne eine stärkere konzentrationsabhängige Senkung des zellulären ATP-Levels als bei einer Eisenoxid-Domäne (siehe Abb. 9-8 a).

Aufgrund optischer Mikroskopie und semi-quantitativer Analysen konnte ausgeschlossen werden, dass das Aufnahmeverhalten verantwortlich war (siehe Abb. 9-8 b). Bei der Aufnahme der Au@MnO₂- gegenüber der Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel ohne NH₂-Funktionalisierung war kein relevanter Unterschied feststellbar (vgl. Abb. 9-8 b (i) mit (ii)). Die intrazelluläre Nanopartikelverteilung aller in dieser Studie verwendeten Janus-Partikel war perinucleär. Entsprechend den Ergebnissen der semi-quantitativen Analysen haben in jedem Ansatz nahezu alle Zellen Janus-Partikel aufgenommen (siehe Abb. 9-8 c links und rechts). Daher konnte eine erhöhte Aufnahme als Grund für die

stärkere Wirkung der Au@MnO-Partikel auf den Zellmetabolismus ausgeschlossen werden. Mit großer Sicherheit lag es an einem größeren zytotoxischen Potential, wie bereits bei sphärischen MnO-Nanopartikeln von uns beobachtet wurde (siehe Kapitel 4). Auch zeigten sphärischen Magnetit-Nanopartikel eine bessere Biokompatibilität in Rattenleberzellen als MnO-Nanopartikel,³⁰⁵ so dass hier die Zusammensetzung der Partikel für diesen Effekt verantwortlich war, welcher gleichermaßen in sphärischen als auch in asymmetrischen Janus-Partikeln auftrat.

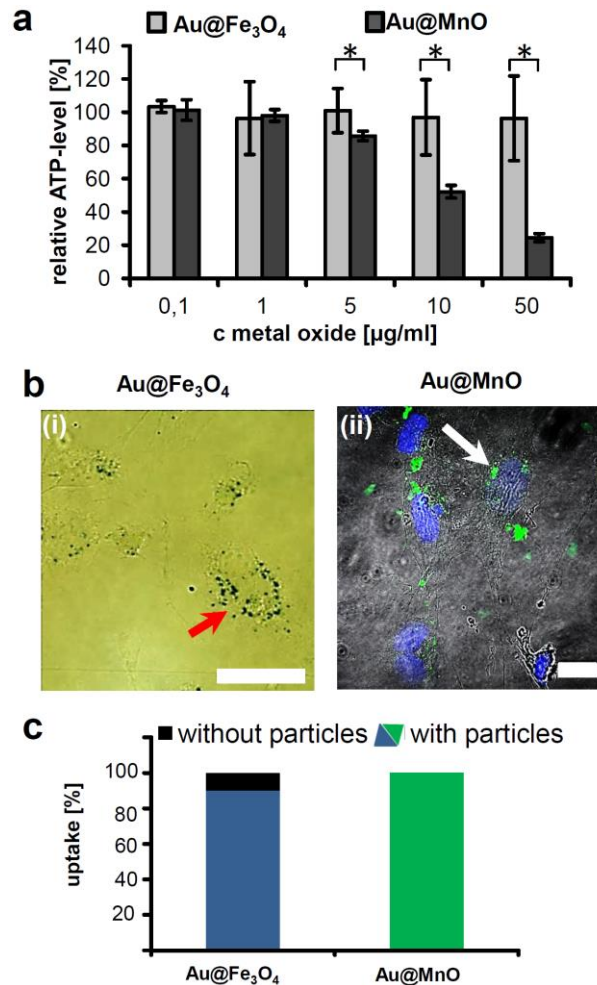


Abb. 9-8. Einfluss der verschiedenen Metalloxidkomponenten der Janus-Partikel auf den ATP-Zelllevel und die Internalisierung. Für die Messung der ATP-Level wurden die Endothelzellen für 24 h mit ansteigender Konzentration von Au@Fe₃O₄- und Au@MnO-Janus-Partikeln inkubiert. (a) Der relative ATP-Zelllevel wurde mit einem ATPLite Assay bestimmt. Die Daten wurden auf die unbehandelten Zellen als 100% normalisiert. * $p < 0.05$ (b) Mikroskopische Auswertung der Nanopartikelaufnahme von HMEC-1 nach der Behandlung mit (i) Au@Fe₃O₄, (ii) Au@MnO, Massstabsbalken (i) 50 µm und (ii) 20 µm. Rote Pfeile: Mit Berliner Blau gefärbte Nanopartikel (blau). Weiße Pfeile: FITC markierte Nanopartikel (grün). Nucleus gefärbt mit Hoechst (blau). (c) Semiquantitative Analyse der Nanopartikelaufnahme (1 µg/ml Fe(II)/(III) bzw. Mn(II)) 24 h nach der Inkubation. Internalisierte Au@Fe₃O₄-Nanopartikel: blaue Balken und Au@MnO: grüne Balken (aus²⁷⁵).

9.2.5 Einfluss der Inkubationszeit auf den zellulären ATP-Level und auf die Internalisierung der Janus-Partikel

Es konnte eine zeitabhängige Verminderung des zellulären ATP-Levels festgestellt werden, wenn die Zellen mit Janus-Partikeln inkubiert wurden. In Abbildung 9-9 a ist ersichtlich, dass zwar der relative zelluläre ATP-Level 3 h nach der Inkubation mit Au-NH₂@Fe₃O₄- und Au-NH₂@MnO-Partikeln ($p > 0.05$) nicht signifikant beeinträchtigt wurde. Jedoch war nach 24 h ein deutlicher Abfall zu verzeichnen. Besonders stark fiel ein über die Zeit sich änderndes Verhalten für Konzentrationen von Au-NH₂@Fe₃O₄- und Au-NH₂@MnO-Janus-Partikeln mit $> 50 \mu\text{g/ml}$ Fe(II)/(III) und $> 1 \mu\text{g/ml}$ Mn(II) auf. Die Konzentration von $5 \mu\text{g/ml}$ Mn(II) bei den Au-NH₂@MnO-Partikeln erwies sich dabei als die kritische zytotoxische Konzentration.

Für die Au-NH₂@MnO-Partikel wurde 72 h nach der Inkubation ein Anstieg des ATP-Levels von bis zu $1 \mu\text{g/ml}$ beobachtet, welcher durch Hormesis verursacht wurde. Dieser deutliche Abfall des ATP-Gehalts könnte vom Zelltod aufgrund zytotoxischer Effekte herrühren (insbesondere für steigende Konzentrationen). Diese Erscheinung ist bekannt als ein Resultat von ROS-Produktion oder der Verminderung der mitochondrialen Aktivität in einer dosisabhängigen Weise.²⁸⁵

Andererseits ist es möglich, dass der gesteigerte Verbrauch an ATP in lebenden Zellen auf die Internalisierung von Nanopartikeln zurückging. Der Umfang der Internalisierung von fluoreszierenden Au-NH₂@MnO-Janus-Partikeln in HMEC-1 konnte mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie dargestellt werden (siehe Abb. 9-9 b). Nach 24 und 48 h der Inkubation waren mit FITC markierte Au-NH₂@MnO-Nanopartikel in den Zellen sichtbar (grüne Signale in Abb. 9-9 b), wohingegen nach 3 h erst eine beginnende Adhäsion der Janus-Partikel an den Zellmembranen mittels z-stacking-Analyse detektiert wurde (grüne Punkte über den roten Zellmembranen in Abb. 9-9 c). 24 h nach der Aussetzung waren die Janus-Partikel vollkommen von den HMEC-1 (grüne Punkte befindlich auf derselben Ebene wie die blauen Nuclei in Abb. 9-9 c) aufgenommen. Dies suggerierte, dass die Aufnahme der Janus-Partikel innerhalb von 3 bis 24 h während der Behandlung erfolgte, was in Einklang mit der vorgefundenen zeitabhängigen Reduzierung des ATP-Levels stand. Aus der Annahme heraus, dass die Zytotoxizität der Nanopartikel mit MnO durch Entstehung von ROS verursacht wurde und die gleichzeitige Reduktion der mitochondrialen Aktivität in einer dosisabhängigen Weise geschah,²⁸⁵ muss der Prozess der Internalisierung der Nanopartikel in die Endothelzellen zwischen 3 h und 24 h nach der Inkubation ein entscheidender Faktor sein, der die Wirkung auf den zellulären ATP-Metabolismus bestimmte. Ähnliche Vorgänge wurden auch in Kontrollexperimenten mit

sphärischen Nanopartikeln beobachtet, so dass dieser Effekt nicht spezifisch für Janus-Partikel war.

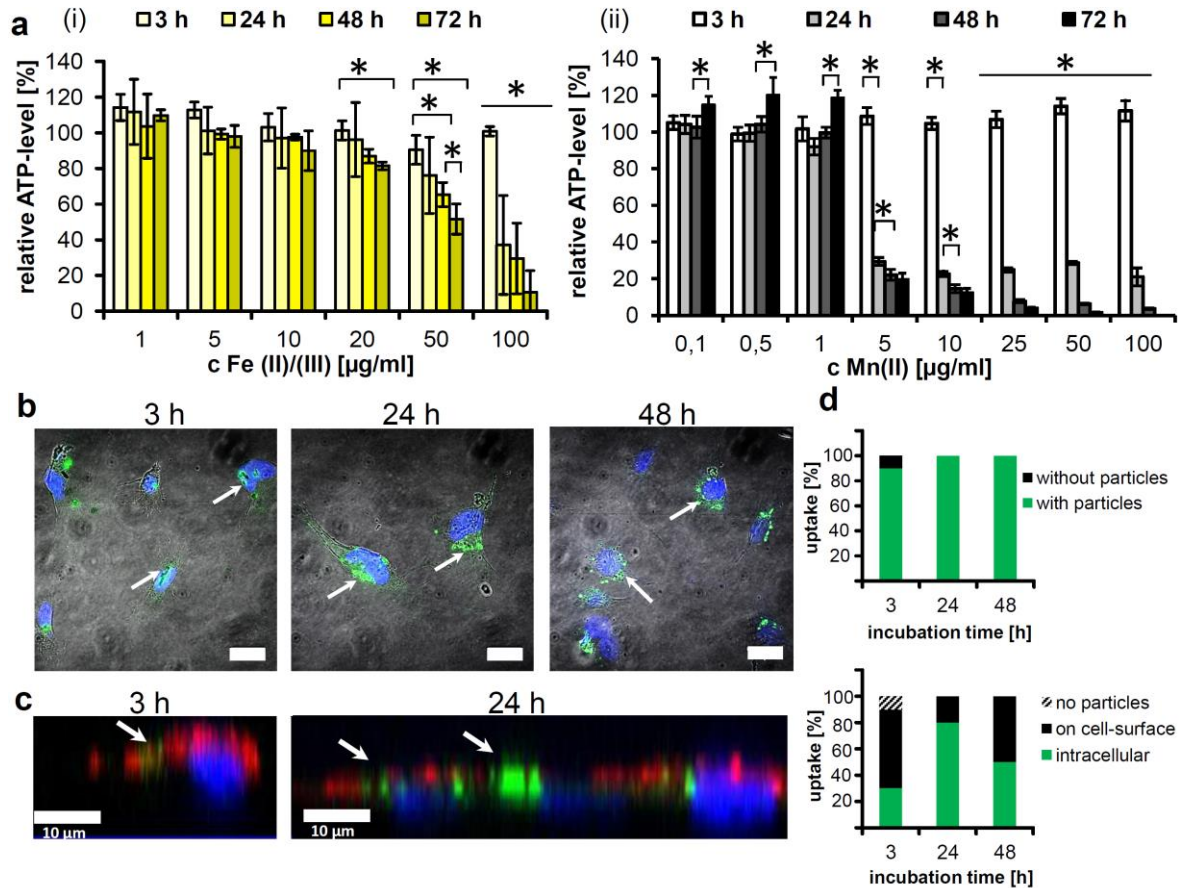


Abb. 9-9. ATP-Zelllevel in Abhängigkeit der Inkubationszeit und Internalisierung nach Exposition mit Janus-Partikeln. (a) ATP-Zelllevel der Endothelzellen 3, 24, 48 und 72 h nach der Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von (i) Au-NH₂@Fe₃O₄- und (ii) Au-NH₂@MnO-Janus-Partikeln. Die Daten wurden auf die unbehandelten Zellen normalisiert. *p < 0.05 (b) Konfokale Fluoreszenz- und Hellfeld- (overlay) Aufnahmen der Internalisierung von Au-NH₂@MnO-Janus-Partikeln (1 µg/ml Mn(II)) 3, 24 and 48 h nach der Inkubation. (c) Konfokale Aufnahmen (z-stacks) zeigen die Position der Au-NH₂@MnO-Janus-Partikeln 3 und 24 h nach der Inkubation. (d) Semiquantitative Analyse der Nanopartikelaufnahme. Lokalisierung der Janus-Partikel (gün), Nucleus (blau), Zellmembran (rot) (aus ²⁷⁵).

9.2.6 Einfluss der Oberfläche der Endothelzellen auf die Internalisierung der Janus-Partikel

Um die Rolle der Zelloberfläche der Endothelzellen auf die Aufnahme und Internalisierung der Janus-Partikel zu verstehen, wurden verschiedene Methoden zur Modifikation der Struktur der Zelloberfläche vor der Inkubation der Partikel angewendet. Bei der Nutzung einer inversen Zellkultur waren mehr anhaftende Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel unabhängig von der Position der Aminogruppe auf der basalen Zelloberfläche verglichen mit der apikalen Oberfläche (höherer Anteil an blauen Partikeln in Abb. 9-10 a) vorhanden. Des Weiteren wurde durch konfokale Lasermikroskopie eine höhere, mit den Au-NH₂@MnO-Nanopartikeln assoziierte FITC-Fluoreszenz an der basalen als an der apikalen Zelloberfläche beobachtet. Die Daten der konfokalen Mikroskopie zeigten nur eine Anhaftung, aber keine Internalisierung der Janus-Partikel in die Zellen 3 h nach der Zugabe von Partikeln (siehe Abb. 9-10 b, z-stack). Unter Berücksichtigung der Unterschiede in der Proteinexpression der apikalen und basalen Zelloberfläche³⁰⁶ war die abweichende Rolle der Glycoproteinkonstitution bei der Partikelabsorption und der Internalisierung für dieses Verhalten verantwortlich. Besonders Integrine, Laminine, Kollagen und Proteoglykane wie Heparansulfat waren auf der basalen Zelloberfläche vorhanden und alle diese Proteine sind verantwortlich für die (Zell-)Adhäsion.³⁰⁷ Außerdem, wenn die Glykokalyx durch leichte Trypsinierung verändert wurde, war die Nanopartikelaufnahme deutlich reduziert (keine Fluoreszenz in Abb. 7c). Diese Beobachtung verdeutlichte, dass Lysin und Arginin enthaltende Protein-Domänen für eine Adhäsion der Nanopartikel an der endothelialen Zelloberfläche notwendig waren. Eine gesteigerte Permeabilität, welche aus einer verminderten Dicke der Glykokalyx stammte,³⁰⁸⁻³¹⁰ war nicht feststellbar.

Interessanterweise führte eine Coinkubation mit dem Lectin Weizenkeimagglutinin (WGA, wheat germ agglutinin) zu einer gesteigerten Aufnahme der Au-NH₂@MnO-Janus-Partikel (FITC-Fluoreszenzsignale in Abb. 9-10 d). Dieser Effekt wurde durch ein Binden des WGA am *N*-acetyl-D-glucosamin und an der Sialinsäure verursacht, was wiederum die Zytoadhäsion und Zytovasion begünstigte.³¹¹ Auch könnte durch das vorige Anbinden an die Nanopartikel ein rezeptorvermittelter Weg eingeschlagen werden.³¹¹ Die Ergebnisse in diesem Abschnitt veranschaulichen die Bedeutung der Konstitution der Proteine in der Zellmembran im Hinblick auf ein Anbinden der Janus-Partikel. Um eine tiefere Einsicht in die ablaufenden Prozesse zu erlangen, sollen weitere Experimente folgen, welche die Zusammensetzung der basalen Zellmembran als Schwerpunkt haben.

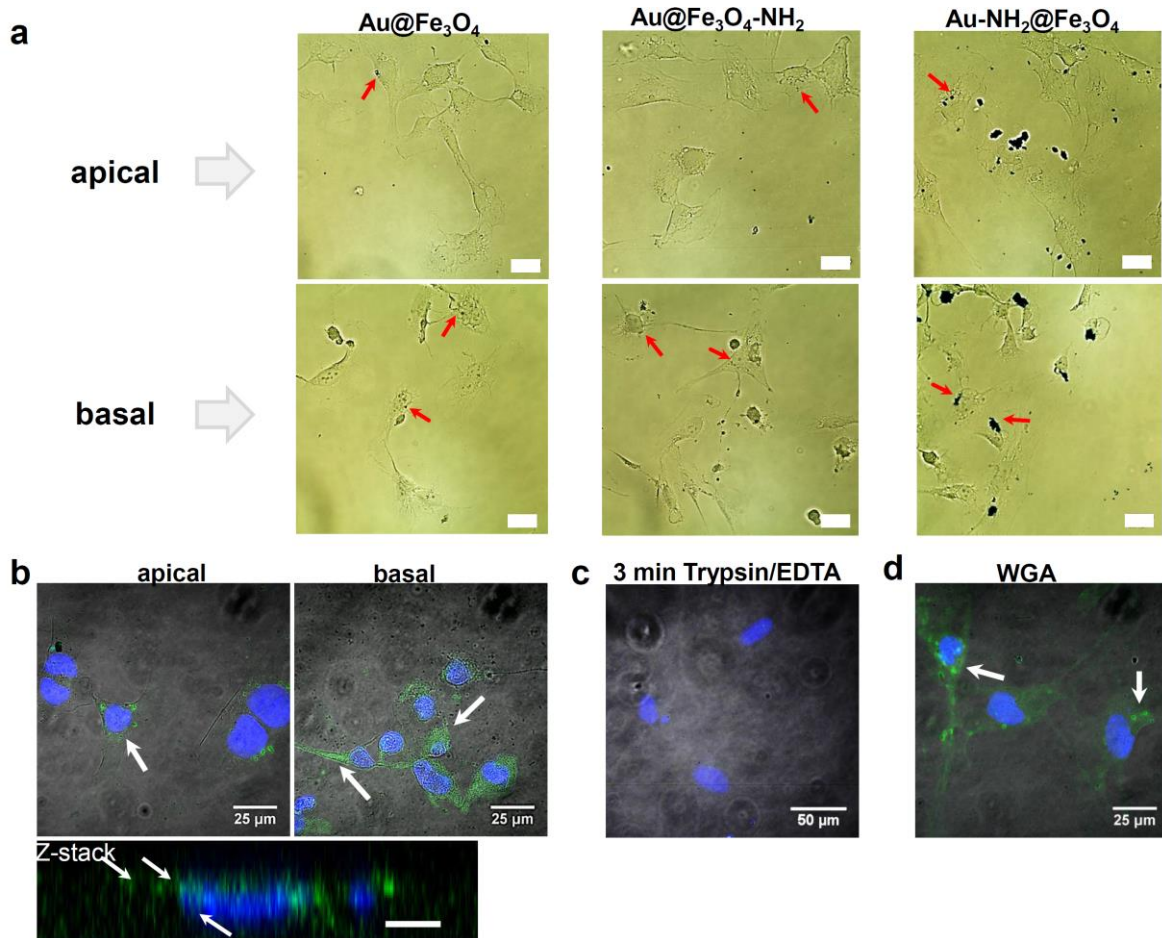


Abb. 9-10. Struktur der endothelialen Oberfläche beeinflusst von der Aufnahme der Janus-Partikel. HMEC-1 behandelt mit Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel (1 µg/ml Fe(II)/(III)) bzw. Au-NH₂@MnO-Janus-Partikel (1 µg/ml Mn(II)) für 3 h bei 37 °C. (a) Hellfeldmikroskopieaufnahmen der Zellen in apikaler und basaler Orientierung nach der Inkubation mit drei verschiedenen Funktionalisierungen von Au@Fe₃O₄-Janus-Partikeln. Rote Pfeile: Lokalisierung der Nanopartikel (blau). Konfokale Fluoreszenz- und Hellfeld-Aufnahmen (overlay) der Au-NH₂@MnO-Internalisierung (b) nach Zellinversion, (c) nach Trypsinierung und (d) nach Coinkubation mit Lectin WGA. Weiße Pfeile: Lokalisierung der Nanopartikel (grün), Nucleus (blau). Die Aufnahmen verschiedener Z-Ebenen (Z-stack) zeigt die Position der Nanopartikel nach der Zellinversion an der basalen Zelloberfläche (aus²⁷⁵).

9.3 Zusammenfassung und Ausblick

In unseren Studien wurden kürzlich entwickelte Janus-Nanopartikel, welche als vielversprechende Kandidaten für medizinische Anwendungen gelten, im Vergleich mit ihren sphärischen Komponenten unter vielen Aspekten untersucht und es konnten so wichtige Erkenntnisse gewonnen werden.

HMEC-1 Zellen reagierten auf die Oberflächenfunktionalisierung mit NH_2 , unabhängig davon auf welcher Komponente diese lokalisiert war. Die $\text{Au-NH}_2@Fe_3O_4$ -Janus-Partikel neigten zur Aggregation und somit zur Sedimentation. Daher hatten diese Partikel die größte Wirkung auf die Zellviabilität, da eine stark gesteigerte Nanopartikelkonzentration in direkter Nähe zu den Zellen vorlag. Eine wichtige und herausragende Eigenschaft zeigten die $\text{Au}@Fe_3O_4$ -Janus-Partikel ohne zusätzliche NH_2 -Funktionalisierung: Sie wiesen eine exzellente Biokompatibilität auf und hatten im Vergleich zu den sphärischen Eisenoxid-Nanopartikeln sogar einen antioxidativen Effekt. Die Daten zeigten, dass die $\text{Au}@Fe_3O_4$ -Janus-Partikel für vier verschiedene Zelltypen verträglich waren, welche im menschlichen Blutsystem vorhanden sind. Sie wirkten verglichen mit den sphärischen Einzelkomponenten geringer auf den Zellmetabolismus der HMEC-1 Zellen. Dies wurde auch für den Mechanismus ihrer Internalisierung in die Zellen beobachtet.

Die asymmetrischen Janus-Partikel vereinen vielversprechende Merkmale für zukünftige biomedizinische Anwendungen, insbesondere ihre Biokompatibilität und Multifunktionalität. Zusätzlich zu dieser grundlegenden Eigenschaft spricht für zukünftige Anwendungen von Janus-Partikeln in der Medizin, dass sie einen besonders patientenfreundlichen Einsatz erlauben, da sie viele diagnostische und therapeutische Ergebnisse in der Klinik durch nur eine einzige Verabreichung liefern könnten.

9.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

9.4.1 Synthese und physico-chemische Charakterisierung der Janus-Partikel

Die Synthese der sphärischen Fe₃O₄-Nanopartikel erfolgte durch thermische Zersetzung von Eisen(III)-oleat im hochsiedenden Lösungsmittel wie in Kapitel 3 und die der Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel wie in Kapitel 5 beschrieben. Die MnO-Nanopartikel und die Au@MnO-Janus-Partikel wurden nach Protokollen unserer Gruppe dargestellt.^{131, 273} Die Thiolbelegung der Gold-Domäne bei den Au@Fe₃O₄-Nanoheterodimeren und die Silica-Funktionalisierung für alle Partikelsorten wurde durchgeführt, wie in Kapitel 8.4 beschrieben. Die Lösung wurde für 1 h im Ultraschallbad belassen. Um überschüssige Liganden zu entfernen, wurde wiederholt mit 40 ml Aceton gefällt, bei 9000 U/min für 10 min zentrifugiert und die Partikel in Hexan gelöst. Die Konzentrationen der Metallkomponenten (Fe(II)/(III) und Mn(II)) wurden anhand von AAS-Messungen bestimmt.

Die Messungen des hydrodynamischen Durchmessers, der ein Maß für die kolloide Stabilität ist, und des Zeta-Potentials der Nanopartikelansätze wurden an einem Zetasizer (Nano-ZS, Malvern Instruments, Herrenberg, Germany) mit dynamischer Lichtstreuung durchgeführt. Zuvor wurden die Nanopartikel in deionisiertem Wasser 10 min mittels Ultraschallbad (Sonorex RK 52 H, Bandlein, Berlin, Germany) behandelt. Die Nanopartikelansätze wurden für 3 Tage in einem kompletten Kulturmedium 10% Fetales oder Fötale Kälberserum (FBS), Medium ohne FBS oder in Salzpuffer (HBSS) bei 37 °C in einem Inkubator (5 % CO₂, befeuchtete Umgebung) inkubiert. Anschließend wurde das Kulturmedium nach einem Protokoll von Cho *et al.*³¹² 30 s bei 25.000 x g abzentrifugiert. Der Nanopartikelrückstand wurde in deionisiertem Wasser resuspendiert und das Mittel des hydrodynamischen Durchmessers aus 5 Messungen bestimmt. Die Messungen des Zeta-Potentials wurden dreifach durchgeführt mit jeweils 10 Durchgängen bei 25 °C.

9.4.2 Zellkultur

Die immortalisierten menschlichen mikrovaskulären Endothelzellen (HMEC-1; Centers for Disease Control and Prevention, USA) wurden in Gibco® MCDB 131 Medium mit 10 % (v/v) FBS, 1 % (v/v) GlutaMAXTM I (100X; Life Technologies GmbH, Germany), 1 µg/ml Hydrocholesterol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) und 10 ng/ml epidermalen Wachstumsfaktor (Life Technologies GmbH, Germany) kultiviert.

Die primäre menschliche endotheliale Nabelvenenzelllinie (HUVEC) und die Mausmakrophagen (J774A.1) wurden von Cell Line Service (CLS, Germany) bezogen. Die HUVEC Zellen wurden in einem Endothelzellenwachstumsmedium nach Zugabe von SupplementMix (Promocell, Germany) kultiviert. J774A.1 Zellen wurden in Gibco® DMEM/Ham's F12 Medium mit 10 % (v/v) FBS (Life Technologies GmbH, Germany) herangezogen. Frische mononukleäre Zellen wurden aus Blut via Differentialzentrifugation und Ficoll-Hypaque (LSM 1077, PAA Laboratories GmbH, Austria) isoliert sowie in Gibco® RPMI Medium mit 10 % von inaktivierten FBS und Glutamin (Life Technologies GmbH, Germany) kultiviert. Alle verwendeten Zelllinien wurden bei 37 °C in einer 5 % CO₂ befeuchten Umgebung kultiviert.

Für die Experimente wurden die Zellen auf einer Plastikmatrix bei einer Dichte von 1.2×10^4 Zells/cm² (Endothelzellen) oder 1.8×10^4 Zellen/cm² (Monozyten) aufgebracht. Sie wurden 24 h kultiviert, bevor sie den Nanopartikeln ausgesetzt wurden. Die Zellen waren nach routinemäßig durchgeführter Untersuchung mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) negativ auf Mykoplasmen getestet worden.

9.4.3 Evaluierung der Nanopartikeleffekte auf den Zellmetabolismus (ATP) und ROS-Erzeugung

Um die Effekte der Nanopartikel auf den Zellmetabolismus bestimmen zu können, wurde der zelluläre ATP-Level als Marker verwendet. Nach 3, 24, 48, oder 72 h der Inkubation und wiederholter Waschschrte rangierte die Konzentrationen der Nanopartikel von 0.1 bis 100 µg/ml Fe(II)/(III). Der zelluläre ATP-Level wurde mit einem ATPLite Assay (PerkinElmer, Rodgau, Germany) nach Angabe des Herstellers gemessen. Das Lumineszenzsignal, welches durch die Umwandlung von *D*-Luciferin zu Oxyluciferin entsteht, wurde an einem LUMIstar Galaxy (BMG LABATECH GmbH, Ortenberg, Germany) bestimmt. Die nach der Aussetzung mit Nanopartikeln bestimmten ATP-Level wurden auf nichtbehandelte Kontrollzellen normalisiert.

Alle angegebenen Daten sind Standardabweichungen von einem (3-6 parallelen) oder drei (12 parallelen) unabhängigen Experimenten. Die Datenanalyse erfolgte mittels der Software Wilcoxon-Mann-Whitney-U-test (IBM SPSS Statistics, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Germany). Die statistische Signifikanz wurde durch den Vergleich der unbehandelten Zellen (Kontrolle) mit denen, welche Nanopartikeln ausgesetzt waren, berechnet. *P*-Werte < 0.05 wurden als signifikant angenommen. Die Produktion der reaktiven Sauerstoffspezies während der Nanopartikelinkubation wurde mit dem OxiSelect™ Intracellular ROS Assay Kit (BioCat GmbH, Germany) nach Herstellerprotokoll bestimmt. Die Fluoreszenzsignale, welche durch die Oxidation des

nicht fluoreszierenden 2,7-Dichlorodihydrofluorescein (DCFH₂) zu stark fluoreszierenden Dichlorofluorescein (DCF) durch ROS entstanden, wurden mit einem TECAN Plattenleser (infinite M1000 PRO, Tecan Trading AG, Switzerland) ausgelesen. Die gemessenen Fluoreszenzintensitäten wurden auf die Zahl der viablen Zellen normalisiert.

9.4.4 Zählung der viablen Zellen nach der Exposition mit Janus-Partikeln

Um die Zellviabilität nach der Exposition mit Janus-Partikeln genauer zu untersuchen, wurde ein zweiter Auslesevorgang durchgeführt, welcher die Zahl der viablen Zellen wiedergibt. HMEC-1 wurden mit Nanopartikeln der Konzentration 1, 50, oder 100 µg/ml Fe(II)/(III) für 24 h bei 37 °C behandelt. Unbehandelte Zellen dienten als Kontrolle. Nach dem Waschen wurden die Zellzahlen mit Hellfeldmikroskopie unter Verwendung eines EVOS-Systems (PEQLAB, Erlangen, Germany) bestimmt. Hierfür wurden alle Zellen in einem Bildfeld von 665 mm² gezählt. Der Mittelpunkt des Bildfelds war dabei immer auf dem Mittelpunkt des Wells eingestellt. Das Zellzählen wurde dreifach durchgeführt. Die jeweiligen Durchschnittswerte wurden als Zellviabilität per Bildausschnitt (665 mm²) definiert.

9.4.5 Bestimmung der genotoxischen Effekte der Janus-Partikel

Die potentielle genotoxische Wirkung der Au@Fe₃O₄-Janus-Partikel wurde unter Verwendung eines Comet Assays bestimmt, wobei nach einem Protokoll von Singh *et al.* und Gleib *et al.* verfahren wurde.^{313, 314} Hierfür wurden die Endothelzellen verschiedenen Konzentrationen an Janus-Partikeln (1, 10, oder 50 µg/ml) ausgesetzt und für 24 h bei 37 °C inkubiert. Nach mehreren Waschküchlängen wurden die Zellen mit Trypsin von der Plastikmatrix gelöst und durch Zentrifugieren für 5 min bei 4 °C und 2500 x g gewonnen. Danach wurden die Zellpellets in 0.7 % niedrig-schmelzende Agarose suspendiert und auf einem Glasträger, welcher mit 0.5 % normal-schmelzende Agarose bedeckt war, aufgetragen. Im Anschluss wurden alle Glasträger über Nacht in ein Lysebad (100 mM Na₂EDTA, 1 % Triton X-100, 2.5 mM NaCl, 10 mM Tris-Base, NaOH, 1 % Na-Lauroylsarcosin, 10 % DMSO) gestellt. Nach dem Spülen mit Elektrophoresepuffer (1 mM Na₂EDTA, 300 mM NaOH) wurde die DNS durch Inkubieren einer alkalischer Lösung (1 mM Na₂EDTA, 300 mM NaOH) für 20 min in der Elektrophoresekammer abgewickelt. Die Elektrophorese wurde bei 25 V und 300 mA für 20 min durchgeführt. Daraufhin wurden die Proben 3-mal mit Phosphat-gepufferter Salzlösung (NaCl, KCl, KH₂PO₄, Na₂HPO₄ x 2H₂O, pH 7.3) gereinigt und mit 30 µl SYBR Green® gefärbt. Die Messung der Fluoreszenzintensitäten von Kopf und Schweif erfolgte anhand der Comet Assay Software (Comet Assay IV, Perceptive Instruments Ltd, Bury St Edmunds, UK) in der Art, dass in verschiedenen Bildausschnitten in dreifacher Ausfertigung Nuclei aus 20 Zellen

ausgewertet wurden. Die Schädigung der DNS wurde als Prozent der Zellkerne berechnet, welche einen Schweif besaßen.

Zusätzlich wurden die Zellen mit phosphorylierten Histonen als weiteren Indikator für DNS-Schädigungen gefärbt. In diesem Zusammenhang wurden die HMEC-1 Zellen in 96-well-Platten herangezogen. Nach der Behandlung mit Nanopartikeln wurden die Zellen fixiert, permeabilisiert, gehemmt und mit Anti-Histonen H2A.X Antikörpern (abcam, UK) sowie mit fluoreszierenden Ziege anti-Kaninchen Antikörpern IgG H&L (cy5®)IgG (abcam, UK) markiert. Beim letztgenannten wurde nach Herstellerprotokoll für Immunocytochemie gearbeitet. Die Intensität der Fluoreszenz, welche mit dem phosphorylierten Serin 139 korrelierte, wurde mit einem TECAN Platten-Lesegerät (infinite M1000 PRO, Tecan Trading AG, Switzerland) bei 640/ 670 nm ausgelesen.

9.4.6 Bestimmung des Aufnahmeverhaltens verschiedener Nanopartikelansätze mittels Mikroskopie

Um die Aufnahme der Nanopartikel zu analysieren, wurden die HMEC-1 Zellen mit Nanopartikelansätzen bei nicht zytotoxischen Konzentrationen von 1 oder 5 µg/ml Mn(II) bzw. Fe(II)/(III) inkubiert. Nach dem Waschen mit HBSS, um nicht aufgenommen Partikel zu entfernen, wurden die Zellen in einer 4 % Formaldehydlösung für 10 min bei 4 °C fixiert. Die Zellen wurden mit Berliner Blau nach Literaturvorschrift³¹⁵ eingefärbt, um das Eisen während der Hellfeldmikroskopie (EVOS, PEQLAB Biotechnologie GMBH, Germany) detektieren zu können. Weiterhin wurde die Detektion der Eisenoxid- und Manganoxidkomponenten mittels Fluoreszenzmikroskopie (CLSM) (LSM 510 Meta, Carl Zeiss Micro Imaging GmbH, Jena, Germany) durchgeführt, da FITC in der Silica-Schale eingebunden war, welches bei 488 nm angeregt werden konnte. Um die morphologischen Eigenschaften der Zellen nach der Nanopartikelexposition untersuchen zu können, wurden die Kerne mit dem Farbstoff Hoechst 33258 (Applichem, Darmstadt, Germany) und die Glykokalyx mit Lectin WGA-AlexaFluor633 (Invitrogen GmbH, Darmstadt, Germany) gefärbt.

9.4.7 Semiquantitative Analyse der Nanopartikelaufnahme

Die Menge der in die HMEC-1 Zellen aufgenommenen Nanopartikel wurde mit einer mikroskopischen, semiquantitativen Analyse der Zellen berechnet. Die Analyse wurde per stichprobenartiger Auswahl von 3 verschiedenen Bildausschnitten mit je 74 mm² Flächeninhalt und Zählung aller sichtbaren Zellen in diesem Bereich durchgeführt. Diese Methode wurde durch zwei Experimente überprüft, bei denen Blindproben verwendet wurden. Anschließend wurde eine Analyse auf Zellen mit internalisierten Nanopartikeln

anhand von Fluoreszenz- (FITC) oder Hellfeldmikroskopie (Berliner Blau) durchgeführt. Die Aufnahmerate wurde berechnet als der Prozentsatz der Zellen mit Nanopartikeln.

9.4.8 Messung der Wirkung der Aufnahme der Janus-Partikel auf die Oberfläche der Endothelzellen

Es wurden drei verschiedene Vorgehensweisen genutzt, um die Rolle der Oberfläche der Endothelzellen zu untersuchen. Die erste Methode bestand darin, die Inversion von Endothelzellen zu nutzen, um nach Muller und Gimbrone Zugang zur basalen Zelloberfläche zu erhalten, da sie diejenige ist, welche den Nanopartikeln zugewandt ist.³⁰⁶ Um die Zellen zu invertieren, wurden die HMEC-1 Zellen zunächst mit einer Dichte von 2.4×10^4 Zellen/cm² in Petrischalen aufgetragen und für 24 h bei 37 °C inkubiert. Nach dem Spülen mit Puffer wurden sterile Deckgläser über die apikale Zelloberfläche platziert. Die Deckgläser wurden mit einer neuen Petrischale mit frischem Kulturmedium an der Unterseite nach oben zusammengesteckt. Dann wurden die Zellen für weitere 3 h inkubiert, damit eine Adhäsion an die Deckgläser stattfand. Daraufhin wurden die Janus-Partikel (1 µg/ml Fe(II)/(III) oder Mn(II)) im Kulturmedium beigegeben und für 3 h inkubiert. Nach dem Entfernen nicht aufgenommener Partikel durch wiederholtes Spülen wurden die Zellen fixiert und wie beschrieben für die Untersuchungen am Mikroskop gefärbt.

Bei der zweiten Methode wurde die Struktur der Zellmembranproteine verändert, indem die Peptidbindungen zwischen den Aminosäuren Lysin und Arginin durch Trypsinierung getrennt wurden. Hierfür wurden die HMEC-1 Zellen mit einer Dichte von 1.2×10^4 /cm² ausgesät. Nach 24 h wurden die Zellen 3-mal mit 200 µl/well HBSS gewaschen und die Proteinmembranen mit 100 µl/well Trypsin (GIBCO®, Life Technologies GmbH, Germany) für 3 min bei 37 °C verdaut. Dabei wurde in vorherigen Experimenten keine Beeinträchtigung der Zellviabilität beobachtet.

Die dritte Methode zielte darauf ab, durch einen Vorinkubationsschritt von WGA die mögliche Rolle von Lectinen bei der Aufnahme der Janus-Partikel zu klären. In diesem Zusammenhang wurden die Zellen zunächst mit 5 µg/ml WGA (WGA-AlexaFluor633, Invitrogen GmbH, Darmstadt, Germany) für 10 min inkubiert und anschließend mit den Janus-Partikeln (siehe Tab. 9-1) (1 µg/ml Fe(II)/(III) oder Mn(II)) für 3 h co-inkubiert. Zellen ohne Vorbehandlung der Oberfläche dienten als Kontrolle für eine nicht modulierte Zelloberflächenadhäsion der Janus-Partikel. Alle Zellproben wurden abschließend mit Puffer gewaschen, fixiert und die Zellkerne mit Hoechst 33258 (Appllichem, Darmstadt, Germany) für die Fluoreszenzmikroskopie gefärbt. Alternativ wurde das Eisenoxid mit Berliner Blau für die Hellfeldmikroskopie nach Song *et al.* gefärbt.³¹⁵

10 Synthese und magnetische Eigenschaften von FePt@MnO-Nanoheterodimere

Das folgende Kapitel enthält Auszüge der Publikation:

*Synthesis and Magnetic Properties of FePt@MnO Nanoheteroparticles*³¹⁶

Thomas D. Schladt,^a Tanja Graf,^a Oskar Köhler,^a Heiko Bauer,^a Michael Dietzsch,^a Jörn Mertins,^a Robert Branscheid,^b Ute Kolb,^b Wolfgang Tremel^a

10.1 Einleitung

Neben magnetischen Nanomaterialien aus Eisenoxid sind in den letzten Jahren vor allem Strukturen bestehend aus einer Eisenplatin-Legierung untersucht worden.³¹⁷⁻³¹⁹ Der wesentliche Grund hierfür ist, dass FePt nach thermischer Behandlung in der tetragonalen L1₀-Phase vorliegt, welche eine sehr hohe Anisotropiekonstante besitzt und damit für eine drastische Erhöhung der Speicherdichte sorgen könnte. Bei der Nanopartikelsynthese anhand von thermischer Zersetzung metallorganischer Vorstufen reichen die Temperaturen nicht aus und es wird die kubische A1-Phase erhalten, welche schwach ferromagnetisch ist (für Einzelheiten siehe Kap. 11.1). Andererseits sind diese Partikel für biomedizinische Anwendungen von Interesse, da für Nanopartikel in der A1-Phase die Verwendung als duales CT/MRT-Kontrastmittel oder Mittel zur Tumorbehandlung gezeigt werden konnte.^{320, 321}

Nanokompositmaterialien aus FePt und anderen Werkstoffen eröffnen zusätzliche Möglichkeiten für medizinische Anwendungen, wie es unsere Gruppe schon für Au@MnO-Nanoheterodimere als multifunktionale Partikel zeigen konnte.⁵⁴ MnO-Nanopartikel ihrerseits zeigen superparamagnetisches Verhalten wegen der unkompenzierten Oberflächenspins (siehe Kap.2.3.6). Dies hat in den letzten Jahren zu einem wachsenden Interesse an MnO-Nanopartikeln für die Diagnostik geführt, da sie hierdurch den T₁-Kontrast in der Kernspinresonanz verkürzen.^{278, 322, 323}

Bis jetzt wurde nur von einer Kombination aus FePt-Nanopartikeln mit einer MnO-Schale von Kang *et al.* berichtet, bei denen eine erhöhte Koerzitivfeldstärke und Blockierungstemperatur demonstriert wurde.³²⁴ In diesem Kapitel wird von der

^a Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie, Johannes Gutenberg-Universität, Duesbergweg 10 – 14, 551228 Mainz, Deutschland

^b Elektronenmikroskopiezentrum, Institut für Physikalische Chemie, Johannes Gutenberg-Universität, Welderweg 11, 551228 Mainz, Deutschland

erfolgreichen und kontrollierbaren Synthese von FePt@MnO-Nanokompositen berichtet, welche die einzelnen Eigenschaften beider Materialien vereinen. Es konnten selektiv die Größe und Morphologie der Nanoheteropartikel – von Dimeren bis blumenartig – durch die Anpassung der einzelnen experimentellen Parameter variiert werden. Mittels hochauflösender Elektronenmikroskopie wurde gezeigt, dass das epitaxiale Wachstum des MnO auf dem FePt eher als Epitaxie durch Domänenanpassung (engl. *domain matching epitaxy*) statt der üblichen Epitaxie anhand von Gitterfehlpassungen (engl. *lattice matching epitaxy*) beschrieben werden konnte. Darüber hinaus wurde das magnetische Verhalten der FePt-Domänen signifikant durch die MnO-Domäne beeinflusst. Nach dem Abkühlen der Strukturen in einem externen Magnetfeld auf niedrige Temperaturen (5 K) trat eine magnetische Austauschwechselwirkung zwischen dem ferromagnetischen FePt und dem antiferromagnetischen/ferromagnetischen MnO auf, welche zu vielseitigen Effekten wie einer gesteigertem Koerzitivfeld und einem Exchange Bias in der Hystereseschleife führte.

10.2 Ergebnisse und Diskussion

FePt@MnO-Nanokomposite wurden in einer einfachen, zweistufigen-Synthese dargestellt. Die Größe und Form der antiferromagnetischen MnO-Domäne und der ferromagnetischen FePt-Domäne konnte hierbei unabhängig voneinander variiert werden. In der ersten Stufe wurden monodisperse FePt-Nanokristalle verschiedener Größen dargestellt. Auf diese Keime wurde in einer zweiten Stufe die MnO-Domäne aufwachsen gelassen, welche durch die Menge des Präkursor Mn(II)-oleat in ihrer Größe kontrolliert werden konnte. Der Einfluss verschiedener Parameter, wie Menge der FePt-Nanopartikel, Elektronendichte des Lösungsmittels und Präkursorverhältnis, wurde untersucht und wird in den folgenden Abschnitten beschrieben.

10.2.1 Synthese der FePt-Nanokristalle

Die FePt-Nanopartikel mit durchschnittlichen Größen von 3, 6 und 13 nm wurden nach veröffentlichten Verfahren dargestellt, welche auf der Zersetzung von Platin(II)-acetylacetonat in Anwesenheit von Eisenpentacarbonyl in hochsiedenden organischen Lösungsmitteln basieren. Die Kontrolle über die Größe und Form der Nanopartikel wurde kinetisch durch die Variation von Präkursorverhältnis, Temperatur und Ligandenverhältnis erlangt. Auf den Bildungsmechanismus und dessen Auswirkung auf die Zusammensetzung wird in Kapitel 11.1 näher eingegangen.

Abbildung 10-1 zeigt TEM-Aufnahmen von FePt-Nanopartikel mit durchschnittlichen Größen von 3, 6 und 13 nm. Während die kleineren 3 nm FePt-Nanopartikel

(Abb. 10-1 a, d) eher sphärisch und die 6 nm FePt-Nanopartikel (Abb. 10-1 b, e) kubisch oder rechteckig waren, konnten bei 13 nm FePt-Nanopartikeln (Abb. 10-1 c, f) Proben dargestellt werden, bei denen die dominierende Form Kuben, Kuboktaeder oder *Octadpods* waren.

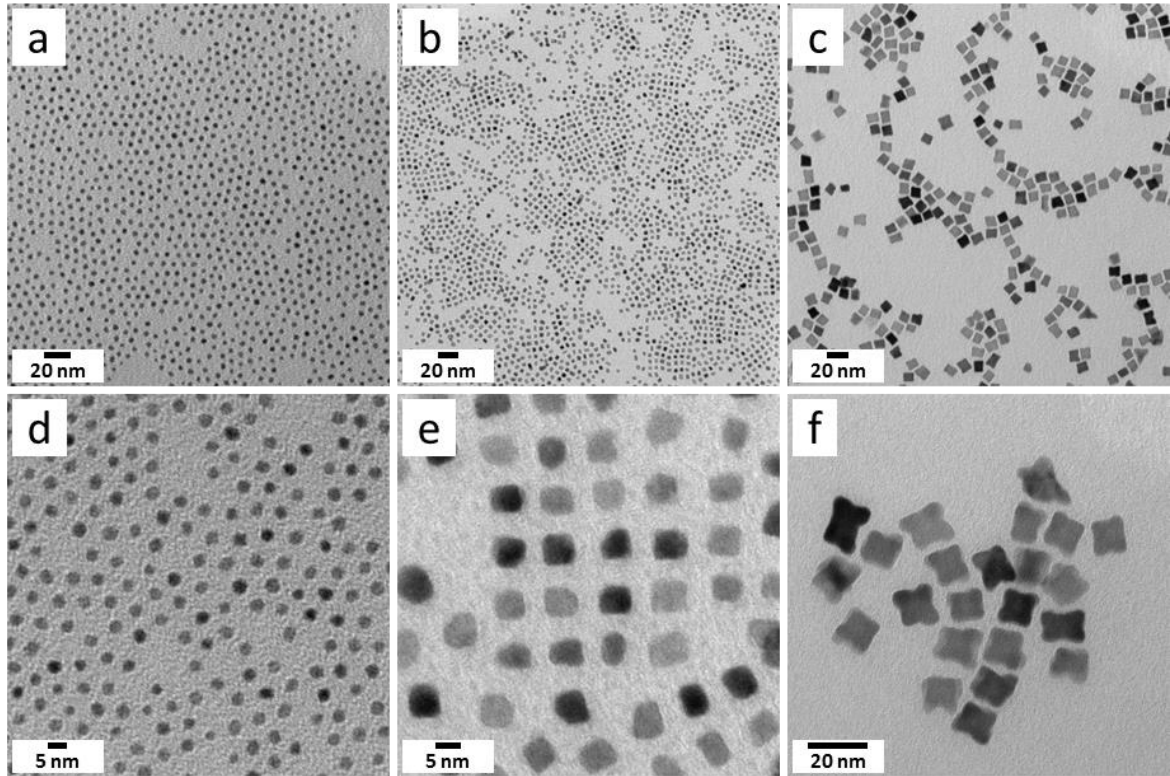


Abb. 10-1. TEM-Aufnahmen von FePt-Nanopartikeln mit einer durchschnittlichen Größe von (a, d) 3 nm, (b, e) 6 nm und (c, f) 13 nm.

Bei 6 nm FePt-Partikeln wurde beobachtet, dass eine Oxidation eintrat, wenn diese nach dem veröffentlichten Protokoll auf 205 °C erhitzt wurden, so dass sich Eisenplatin@Eisenoxid-Dimere ausbilden. Auf dem TEM-Bild in Abbildung 10-2 erscheint die Eisenoxid-Domäne bedingt durch die niedrigen Ordnungszahlen heller und ist damit gut von der FePt-Domäne zu unterscheiden. Diese Beobachtung war im Einklang mit der Literatur und wurde von Figuerola *et al.* genutzt, um eine größenkontrollierte Synthese für FePt@Eisenoxid-Dimere zu etablieren.³²⁵

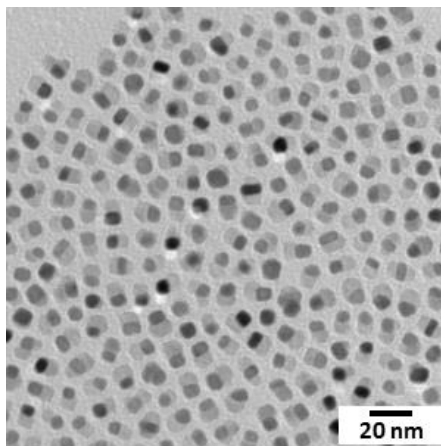


Abb. 10-2. TEM-Aufnahme von FePt@Eisenoxid-Dimeren.

10.2.2 Synthese der FePt@MnO-Nanoheteropartikel

In der zweiten Stufe bildeten sich MnO-Domänen in einer heterogenen Nukleation durch die Zersetzung des Manganoxid-Präkursors auf den FePt-Keimen. Wie schon von Wang *et al.* berichtet, konnte die Synthese von Nanoheteropartikeln nur gelingen, wenn die homogene Nukleation unterdrückt und gleichzeitig die heterogene Nukleation gefördert wurde (siehe Kapitel 2.1.2).⁶² Die Unterdrückung der homogenen Nukleation gelang, indem die Präkursorkonzentration unter der kritischen Sättigungskonzentration gehalten wurde. Dies wurde durch die Kontrolle über das Präkursorverhältnis, der Menge an Keimpartikeln und das Heizprofil erreicht. Zusätzlich hing die endgültige Morphologie von den Nanoheterostrukturen auch vom eingesetzten Lösungsmittel während der Synthese ab. Je nach Polarität des Lösungsmittels konnten Dimere oder Multimere mit mehreren MnO-Domänen auf einem FePt-Keim erhalten werden.

1-Octadecen als Lösungsmittel führte zur fast ausschließlichen Bildung von FePt@MnO-Nanodimeren, welche aus einer MnO-Domäne auf einem FePt-Keim bestanden. Beispiele solcher Dimere sind in den TEM-Aufnahmen in Abbildung 10-3 gezeigt. Da auch hier das FePt aufgrund der höheren Ordnungszahlen einen dunkleren Kontrast liefert, erscheint es gegenüber dem MnO dunkler. Die ersten drei Aufnahmen in der oberen Reihe (Abb. 10-3 a – c) zeigen Nanoheterodimere, welche mit 3 nm FePt-Nanopartikeln als Keime hergestellt wurden, während die Aufnahmen der unteren Reihe (Abb. 10-3 d – f) Proben darstellen, welche mit 6 nm FePt-Nanopartikeln synthetisiert wurden. Die Aufnahmen belegen, dass die ursprüngliche Form der FePt-Keime erhalten blieb. Es wurden überwiegend Dimere ausgebildet, selten Tri- oder Multimere. Die MnO-Domäne war tendenziell sphärisch und konnte leicht in ihrer Größe durch die zugegebene Menge an Mn-Präkursor variiert werden. Bei einer Minderung der Mn(II)-oleat Menge von 0.5 zu 0.1 mmol sankt die Mn-Domänengröße von 17 auf 9 nm.

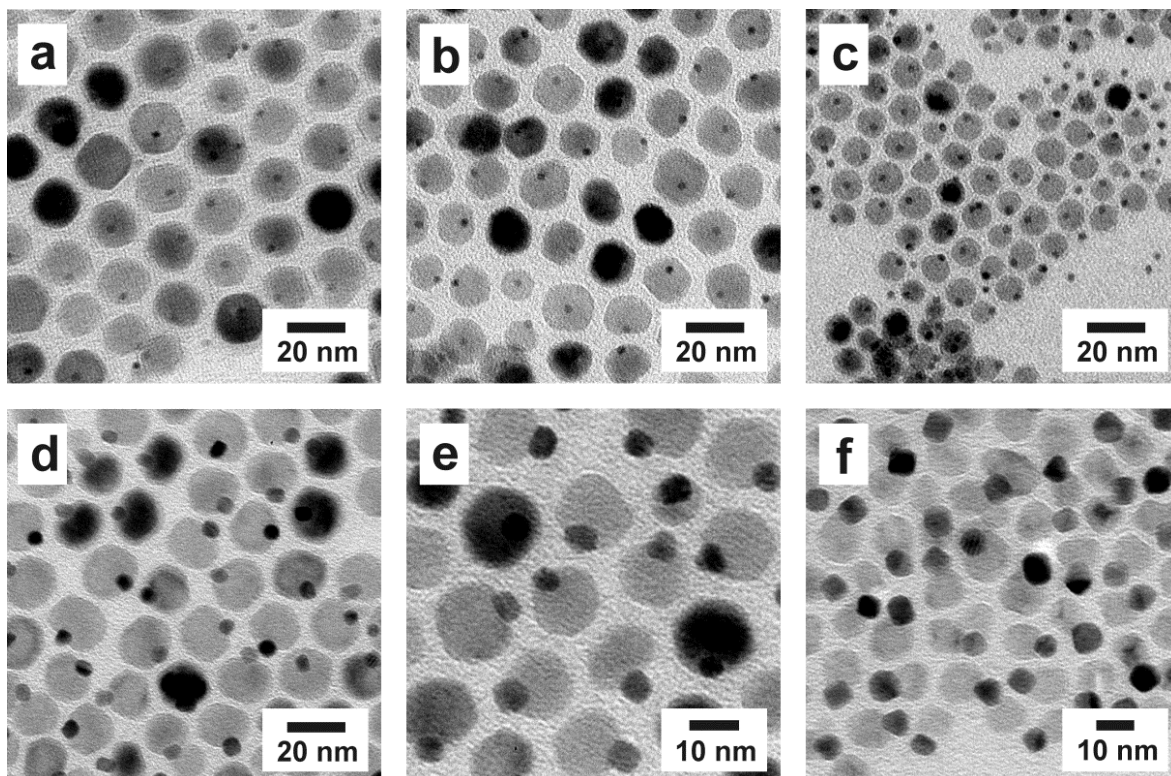


Abb. 10-3. TEM-Aufnahmen von FePt@MnO-Nanodimeren hergestellt mit 3 nm (a–c) und 6 nm (d–f) FePt-Nanopartikeln als Keime. Die Nanodimere wurden mit 0.5 mmol (a und d), 0.25 mmol (b und e) und 0.1 mmol (c und f) Mn(II)-oleat hergestellt, was zur einer Variation in der Größe der MnO-Domäne führte: (a) 3 nm@17 nm, (b) 3 nm@15 nm, (c) 3 nm@9 nm, (d) 6 nm@17 nm, (e), 6 nm@12 nm und (f) 6 nm@9 nm (aus ³¹⁶).

Während die Größenverteilungen der FePt-Nanopartikel mit einer Größenverteilung zwischen 5 bis 10 % sehr eng waren (siehe Kapitel 10.4.1, 10.4.2 und Tab. 11-1), fielen die Standardabweichungen der FePt@MnO-Dimere mit $\sigma > 10\%$ häufig größer aus. Trotz alledem bestätigten die Messungen der dynamischen Lichtstreuung in Kapitel 10.2.3 die TEM-Auswertungen, nämlich dass auch weiterhin enge Größenverteilungen erhalten wurden.

Durch eine Änderung der Elektronendichte des Lösungsmittels wurden andere Partikelmorphologien erhalten. Die Abbildung 10-4 zeigt TEM-Aufnahmen blumenartiger FePt@MnO-Nanopartikeln, welche mehrere MnO-Domänen an jedem FePt-Kern hatten. Die Partikel wurden in gleicher Weise wie die Dimere dargestellt mit dem Unterschied, dass Dibenzylether als Lösungsmittel verwendet wurde. Dies deckte sich mit Beobachtungen, die von Yu *et al.* für Au@Fe₃O₄-Nanoheteropartikel gemacht wurden.⁶⁰ Wie bei den Au-Nanopartikeln besitzen die FePt-Nanopartikel freie Elektronen, welche bei der Nukleation von MnO auf der Oberfläche abgezogen werden. 1-Octadecen als Lösungsmittel konnte den Elektronenmangel nicht kompensieren und es kam in der Regel

nicht zu weiteren Nukleationspunkten von MnO. Es wurden FePt@MnO-Dimeren erhalten. Dibenzylether hingegen besitzt wegen des delokalisierten π -Elektronensystems in den Benzylringen eine ausreichende Polarisierbarkeit, um das entstehende Elektronendefizit auf der FePt-Oberfläche soweit zu kompensieren, dass weitere Nukleationspunkte auf geeigneten Kristallflächen entstanden. So kam es so zur Bildung von blumenartigen Nanoheteropartikeln.

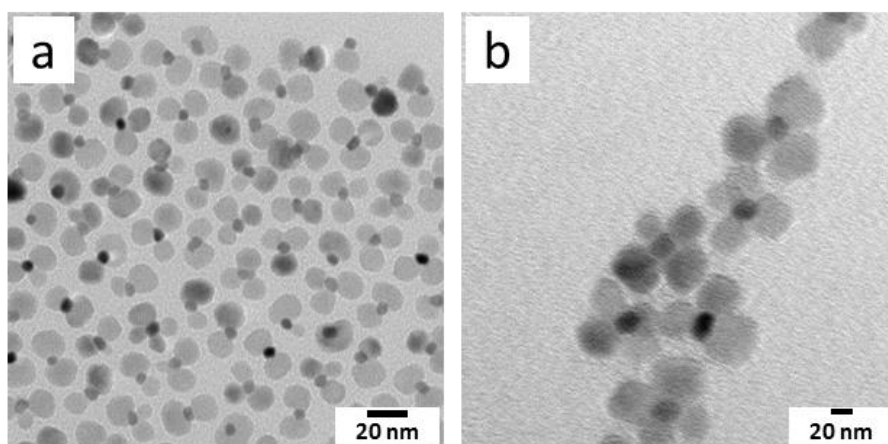


Abb. 10-4. TEM-Aufnahmen von blumenartigen FePt@MnO-Nanopartikeln hergestellt in Dibenzylether.

Zusätzlich zum Elektronenausgleich in den FePt-Keimen musste bei Dibenzylether berücksichtigt werden, dass dieser Dibenzylether mit einem stark koordinierenden Effekt auf die Oberflächen des MnO wirkte. Der Effekt führte zu einer Stabilisierung der MnO-Oberfläche und folglich zu einem verlangsamten Wachstum von MnO, was wiederum die Nukleation weiterer Metalloxid-Domänen förderte. Ein Indiz für die verzögerte Nukleation bei den blumenartigen Partikeln ist, dass die MnO-Domänen eine eher polydisperse Natur mit Größen zwischen 10 bis 25 nm aufwiesen.

Des Weiteren hatten die Reinheit und das Alter des Manganoleats einen wesentlichen Einfluss auf das Syntheseresultat. Zudem kam es vor, dass bei der Synthese nicht alle FePt-Nanopartikel eine MnO-Domäne ausbildeten, so dass sich im Produkt nach der Aufarbeitung noch freie FePt-Nanopartikel befanden. Im Gegensatz zu den Au@Fe₃O₄-Heterodimeren war eine magnetische Separation hier nicht anwendbar (vgl. Kapitel 5.2.4), da die stärker magnetische Komponente die vorgelegten Keime waren. Anhand fraktionierter Zentrifugation, bei der die Drehzahl, Dauer und Zusammensetzung des Lösungsmittelgemisches auf die Probe angepasst wurden, konnten die freien FePt-Nanopartikel bei hinreichend großer MnO-Domäne abgetrennt werden. Als Beispiel sind in Abbildung 10-5 TEM-Aufnahmen einer Probe gezeigt, bei der im

Lösungsmittelgemisch Hexan und Aceton, jeweils 10 ml, durch Zentrifugation bei 9000 U/min für 6 min eine Abtrennung der FePt-Nanopartikel erzielt wurde.

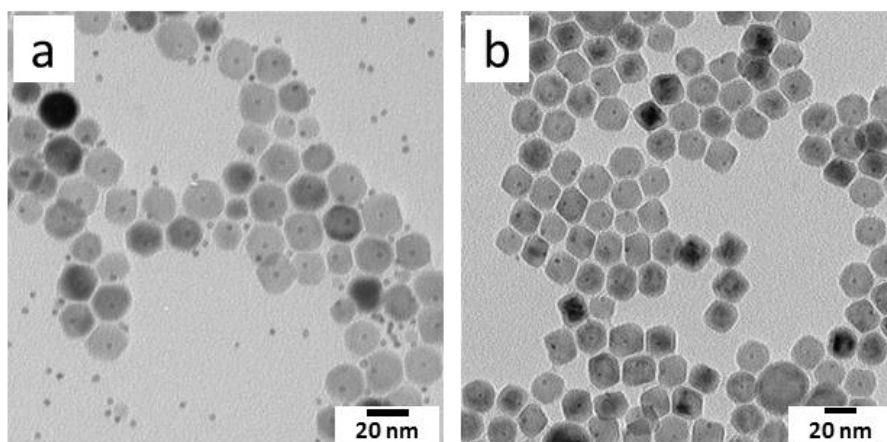


Abb. 10-5. TEM-Aufnahmen von FePt@MnO-Heterodimeren durchsetzt mit FePt-Nanopartikeln vor (a) und nach fraktionierter Zentrifugation (b).

10.2.3 Dynamische Lichtstreuung an FePt- und FePt@MnO-Nanopartikeln

Die Messungen der dynamischen Lichtstreuung wurden in verdünnten Nanopartikellösungen durchgeführt, um den hydrodynamischen Radius R_H der Partikel in Lösung zu bestimmen. Die TEM-Ergebnisse monodisperser FePt ($r = 2.3$ nm) und daraus gebildeten FePt@MnO-Heterodimeren ($r = 2.3$ nm + 4.5 nm) wurden mit denen aus der Lichtstreuung verglichen.

In beiden Fällen zeigte die Autokorrelationsfunktion $g_1(\tau)$ einen kontinuierlichen, monomodalen Abfall. Deshalb wurde die Korrelationsfunktion mit einer Kumulanten-Serie gefittet.

$$g_1(\tau) = a + b \cdot \exp\left(-\frac{\tau}{c}\right) \cdot [1 + d \cdot \tau^2] \quad 10.1$$

Hier ist a die Basislinie, welche vor dem Fit abgezogen wurde, b die Amplitude und c die Abfallzeit der Korrelationsfunktion, welche das z-Mittel des Diffusionskoeffizienten $\langle D \rangle = 1/c \cdot q^2$ der Partikel liefert, wenn $\langle D \rangle$ keine q -Abhängigkeit zeigt.

$$\sigma^2(D) = (\Delta D)^2 = \langle D^2 \rangle - \langle D \rangle^2 = \frac{2d}{q^4} \quad 10.2$$

Der zweite Kumulant d ist ein quantitatives Maß für die Breite der Diffusionskoeffizientenverteilung und daher für die Dispersität der Probe.

Mit der Stokes-Einstein-Gleichung $\langle R_H \rangle$ wurde der hydrodynamische Radius erhalten:

$$\langle R_H \rangle = \frac{kT}{6\pi\eta\langle D \rangle} \quad 10.3$$

Dieser ist für die FePt- und für die FePt@MnO-Probe in Tabelle 10-1 angegeben. In beiden Fällen war er größer als die anhand von TEM-Aufnahmen ermittelten Radien. Eine Teilerklärung dieses zu erwartenden Befundes war, dass bei der dynamischen Lichtstreuung auch die Ligandenkorona aus Ölsäuremolekülen gemessen wurde, welche im TEM nicht detektierbar war. Zudem konnten Aggregatbildungen in der Lösung aufgrund von unpolaren Wechselwirkungen der Partikelkoronen trotz starker Verdünnung nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Der zweite Aspekt, der hier eine wesentliche Rolle spielte, war, dass in der dynamischen Lichtstreuung das inverse z-Mittel $R_H \equiv 1/\langle R_{H,z} \rangle$ bestimmt wurde, was zu einer Betonung der größeren Partikel in der Verteilung führte. Im Wesentlichen bestätigten die Ergebnisse der dynamischen Lichtstreuung (siehe Abb. 10-6) den in TEM-Aufnahmen vorzufindenden hohen Grad an Monodispersität der Proben.

Tab. 10-1. Radien und hydrodynamische Radien einer FePt- und FePt@MnO-Probe im Vergleich.

| | $\langle r \rangle$ [nm] | $\langle R_H \rangle \pm \Delta R_H$ [nm] |
|----------|--------------------------|---|
| FePt | 2.3 ± 0.3 | 5.3 ± 0.3 |
| FePt@MnO | $2.3@4.5$ | 12.5 ± 3.7 |

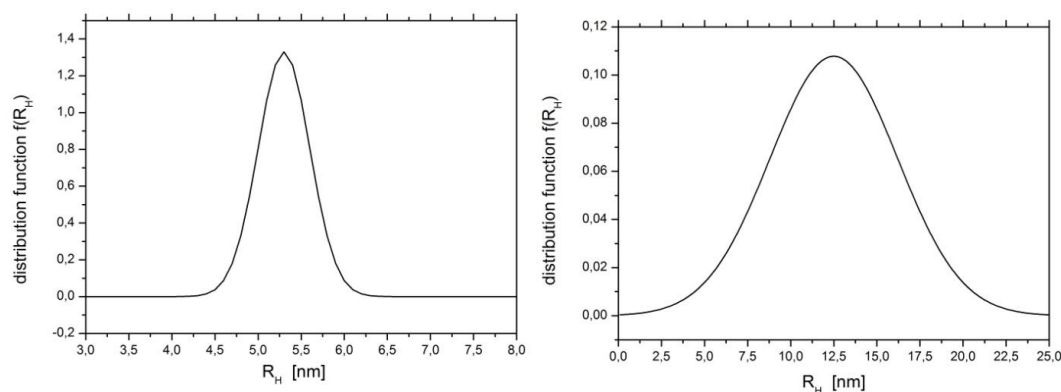


Abb. 10-6. Verteilungen des Hydrodynamischen Radius der FePt-Nanopartikel (rechts) und FePt@MnO-Heterodimere (links) (aus ³¹⁶).

10.2.4 Röntgendiffraktion

Die Phasenzusammensetzung der Proben wurde mit Pulverdiffraktion untersucht. Die Abbildung zeigt ein Pulverdiffraktogramm von FePt@MnO-Nanodimeren mit 3 nm FePt@17 nm MnO sowie 6 nm FePt@17 nm MnO. Die Positionen der relativen Intensitäten aller Reflexe waren in guter Übereinstimmung mit denen für FePt in der *fcc*-

Phase und von makroskopischem MnO. Die Reflexbreiten waren abhängig von der Größe und der Verteilungsfunktion der Proben. Im Einklang mit der Scherrer-Gleichung sind die Reflexe der FePt, vor allem die der 3 nm FePt, wesentlich breiter, da die FePt-Domäne im Verhältnis wesentlich kleiner als die MnO-Domäne war.

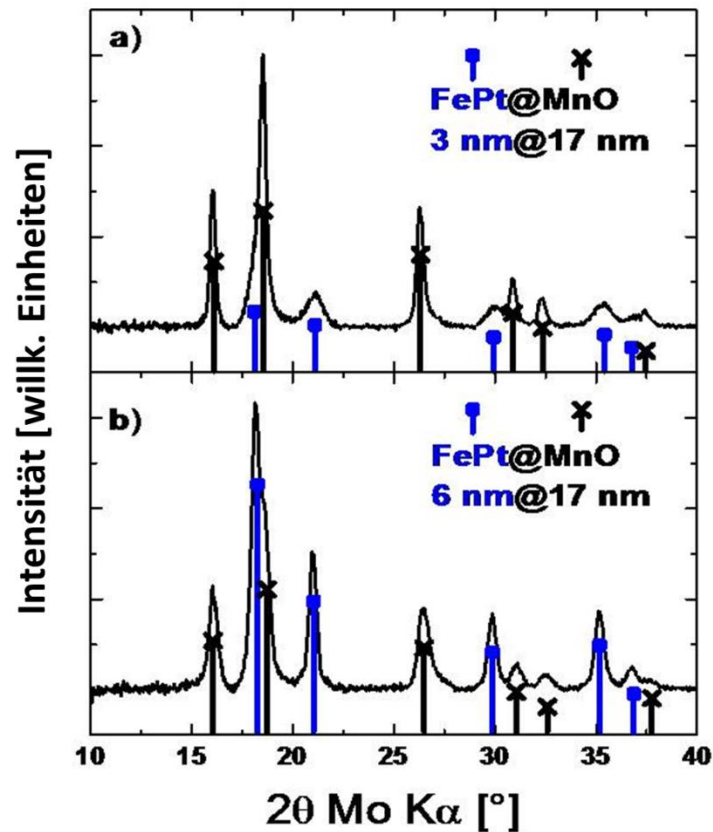


Abb. 10-7. Pulverdiffraktogramm von FePt@MnO-Nanoheterodimeren : (a) 3 nm@17 nm und (b) 6 nm@17 nm. Reflexpositionen für *fcc* FePt (■) und MnO (x) (aus ³¹⁶).

10.2.5 HRTEM

Um die strukturelle Zusammensetzung der Nanokomposite genauer zu untersuchen und um zu klären, über welche Flächen beide Materialien miteinander verbunden sind, wurde HRTEM genutzt. Obwohl verschiedene Arten von Heterogrenzflächen gefunden wurden, werden im Folgenden nur die häufigsten Fälle behandelt.

In Abbildung 10-8 ist repräsentativ eine HRTEM-Aufnahme von 6@12 nm FePt@MnO-Dimeren zu sehen. Die deutlich ausgeprägten Netzebenen in jedem Partikel bewiesen deren einkristalline Struktur. Abstandsmessungen von angrenzenden, parallelen Ebenen in der großen, hellen Domäne, wie sie in Abbildung 10-8 a gezeigt sind, ergaben einen Gitterabstand von 1.57 Å, welcher zwischen den (220) Ebenen in kubischem MnO auftrat. Die entsprechende Auswertung der kleinen, dunklen Domäne lieferte mit 1.37 Å

für den Ebenenabstand einen Wert, der gut zu den (220) Ebenen von *fcc* FePt passt. Weitere Informationen können aus dem dazugehörigen *fast Fourier transform*-Bild (FFT, dt. schnelle Fourier-Transformation) in Abbildung 10-8 b gewonnen werden. Die eingekreisten Beugungspunkte wurden den (-202) und den (-220) Ebenen sowohl in FePt (blau) als auch in MnO (rot) zugeordnet. Zusätzlich war der gemessene Winkel von 61.2° zwischen den angezeigten Kristallgitterebenen für beide Fälle in guter Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert von 60° zwischen der (-202) und der (-220) Ebene in einem *fcc* Gitter. Diese Ergebnisse zeigen, dass beide Domänen co-orientiert entlang der kristallographischen [111] Achse waren.

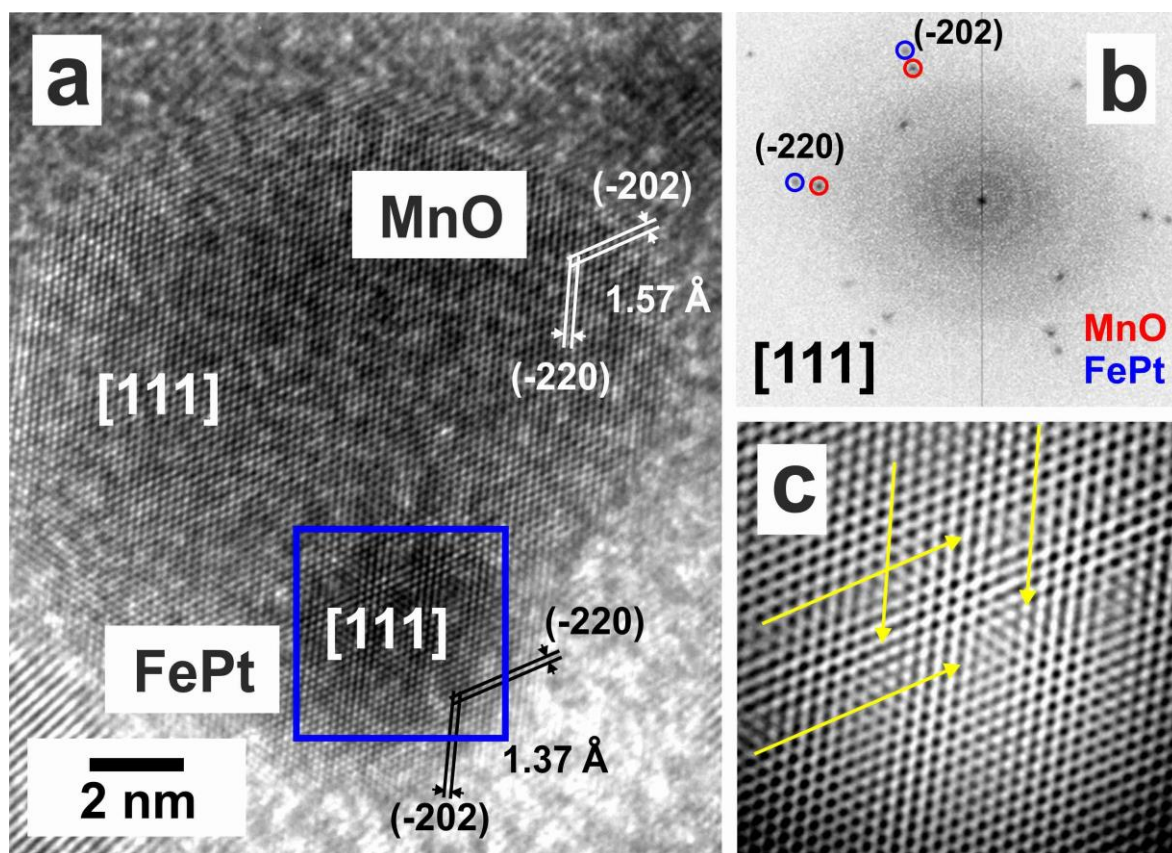


Abb. 10-8. (a) HRTEM-Aufnahme eines 6 nm@12 nm FePt@MnO-Nanoheterodimers mit der bevorzugten [111] Wachstumsorientierung von MnO auf FePt. (b) FFT-Analyse des in a) blau eingerahmten Bereiches mit entsprechender Reflexzuordnung. (c) Inverse FFT-Analyse des gleichen Bereiches: Zweidimensionale Defektstruktur mit zusätzlicher Gitterebene alle 8 bis 9 Reihen (gelbe Pfeile) (aus ³¹⁶).

Jedoch kam es aufgrund der eher geringen Gitterfehlانpassung zwischen den Abständen der (111) Ebenen beider Materialien ($d_{(111)\text{FePt}} \approx 0.85 d_{(111)\text{MnO}}$) zu ausgeprägten Defektstrukturen. Genauer gesagt, um die Periodizität des MnO-Gitters aufrecht zu erhalten, musste alle 8 bis 9 Atomlagen ein Defekt bzw. eine zusätzliche

Atomlage auftreten. Dieses ließ sich gut im inversen FFT-Bild in Abbildung 10-8 c beobachten, wo das Auftreten der zweidimensionalen Defektstruktur bzw. zusätzlicher Atomlagen durch die gelben Pfeile aufgezeigt wird. Das Verhalten der FePt@MnO-Heterodimere war damit ein Beispiel für Epitaxie durch Domänenanpassung in Nanopartikeln. Dieses Phänomen tritt sonst beim epitaxialen Wachstum dünner Schichten auf.³²⁶ Anders als bei der wesentlich häufiger auftretenden Epitaxie anhand von Gitterfehlanspassungen, wo nur Abweichungen von 7 % für Heterosysteme möglich sind, können bei der Epitaxie durch Domänenanpassung Systeme mit großen Fehlanpassungen aufwachsen, da ganzzahlige Vielfache von Hauptgitterebenen an der Grenzfläche für die Übereinstimmung sorgen.

Ein weiteres Beispiel für die epitaxialen Zusammenhänge zwischen der FePt- und MnO-Domäne ist in Abbildung 10-9 wiedergeben. In der HRTEM-Aufnahme von einem FePt@MnO-Nanoheterodimer, welches in die [110] Richtung ausgerichtet war, trat eine kohärente Grenzfläche zwischen beiden Materialien auf bzw. beide Materialien waren über die identische Kristallebene miteinander verbunden. Der Gitterabstand in der großen Domäne von 2.22 Å deckte sich mit dem für die (002) Ebenen in MnO und 1.95 Å in der kleinen Domäne für die (002) Ebenen in *fcc* FePt. Auch hier trat die oben erwähnte Defektstruktur aufgrund der geringen Gitterfehlanspassung ($d_{(111)\text{FePt}} \approx 0.9 d_{(111)\text{MnO}}$) auf, welche alle 9 Lagen zum Ausgleich eine zusätzliche Atomlage enthielt (siehe Abb. 10-9 b gelbe Pfeile).

Auch bei den FePt@MnO-Multimeren konnte Gleiches beobachtet werden. Die Messungen der Abstände bei der HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterotrimeren in Abbildung 10-10 ergaben zwischen den senkrechten Kristallflächen in der Domäne 1 und 2 einen Wert von 2.56 und 1.56 Å. Diese Werte passten zu den (111) und (022) Flächen in MnO. Wohingegen in Domäne 3 die Abstände mit 2.20 und 1.35 Å den (111) und (022) Flächen im kubischen FePt entsprachen. Darüber hinaus war der gemessene Winkel zwischen diesen beiden Ebenen mit 90° stimmig für ein kubisches Gitter. Das FTT-Bild (siehe Abb. 10-10 b) ließ darauf schließen, dass das Trimer insgesamt entlang der [211] Zonenachse ausgerichtet war und damit auch darauf, dass die MnO-Domänen mit dem FePt-Keim entlang der gleichen Kristallfläche verbunden waren. Wieder konnte aufgrund der geringen Gitterfehlanspassung die Defektstruktur nachgewiesen werden, welche durch die gelben Pfeile in Abbildung 10-10 c angedeutet ist.

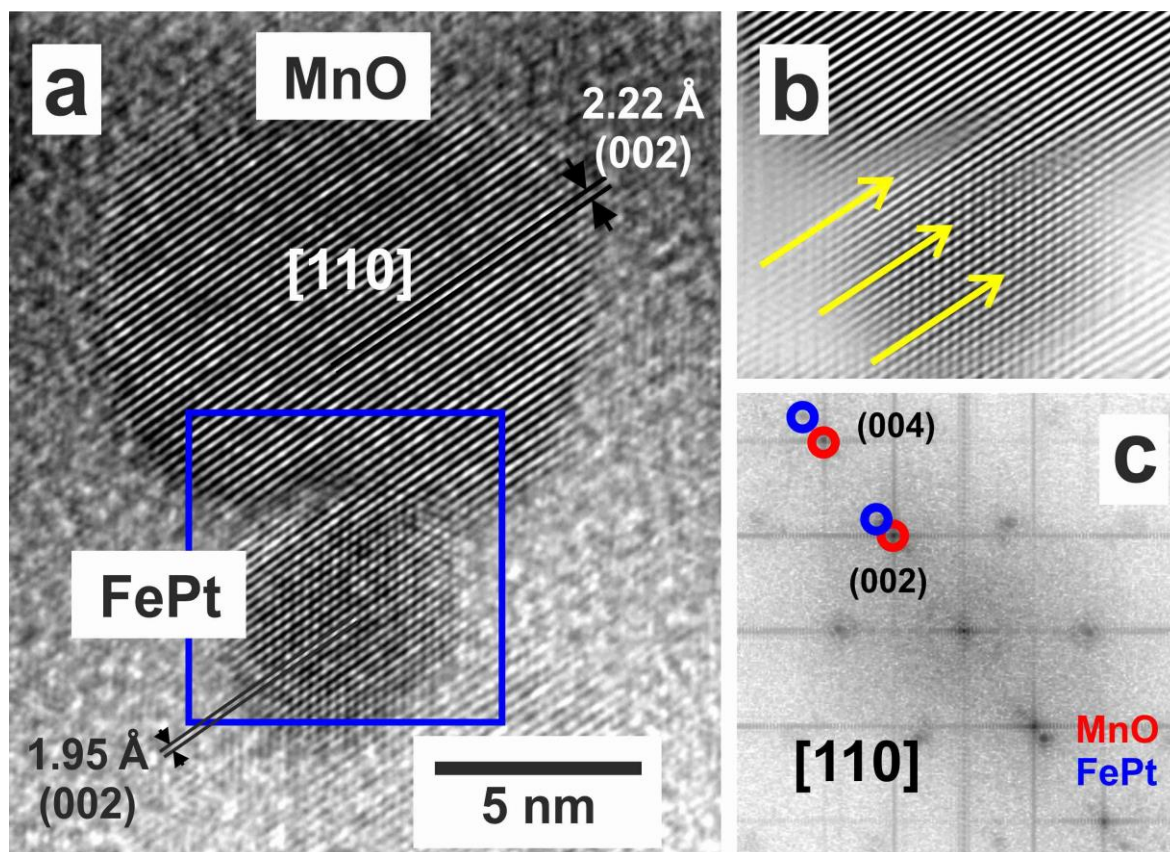


Abb. 10-9. (a) HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterodimers mit Orientierung in $[110]$ Richtung beider Domänen. (b) Inverse FFT-Analyse des in a) blau eingerahmten Bereiches: Zweidimensionale Defektstruktur mit zusätzlicher Gitterebene alle 9 Reihen (gelbe Pfeile). (c) FFT-Analyse des in a) blau eingerahmten Bereiches mit entsprechender Reflexzuordnung (aus ³¹⁶).

Außerdem wurden auch verschiedene relative Orientierungen von FePt- und MnO-Domänen zueinander in anderen Partikeln gefunden, wie die HRTEM-Aufnahme eines Nanoheterotrimers in Abbildung 10-11 zeigt. Hier waren die einzelnen Domänen nicht co-orientiert, obwohl die FFT- und inverse FFT-Analyse bestätigten, dass bei der Domänenverbindung zum Teil die gleichen Kristallflächen wie bei den zuvor erwähnten Beispielen beteiligt sind.

Jedoch war die Co-Orientierung entlang bestimmter Kristallflächen der dominierende Fall. Zudem trat das Zusammenwachsen bevorzugt an den (111) Kristallflächen des FePt-Keims auf. Dementsprechend konnte die Bildung von FePt@MnO-Nanoheterodimeren als epitaxiales Wachstums des MnO auf den (111) Kristallflächen auf den FePt-Keimen beschrieben werden.

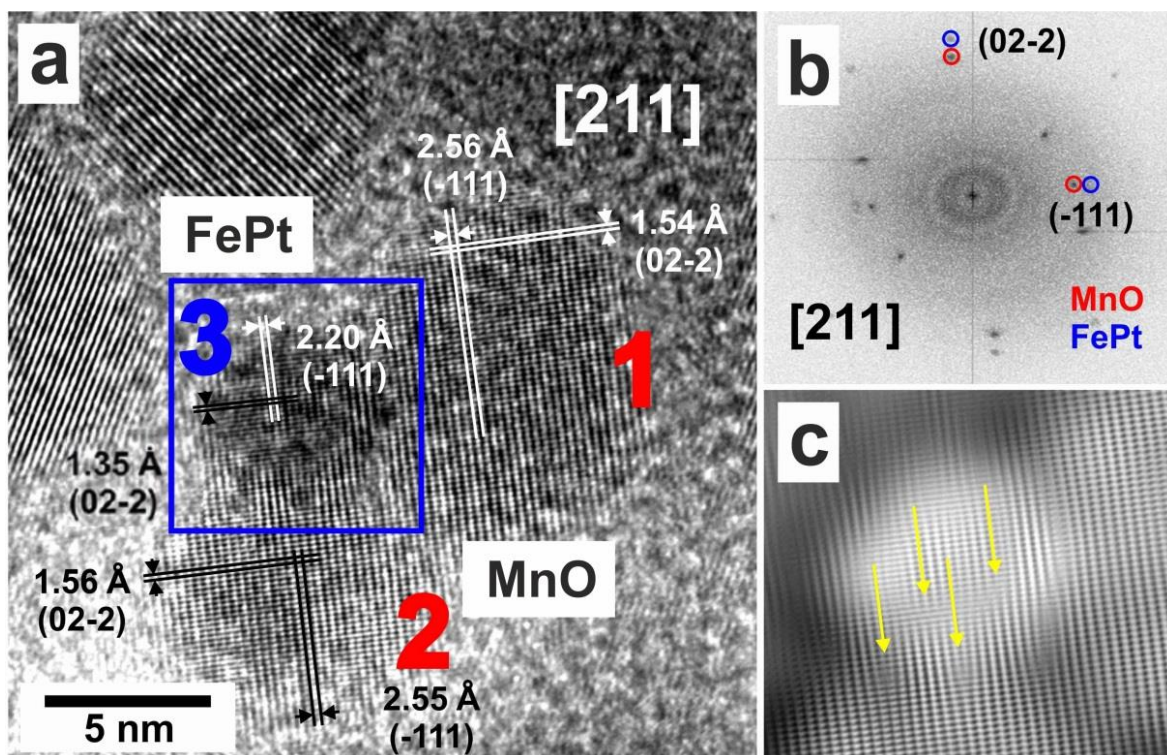


Abb. 10-10. (a) HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterotrimers mit Orientierung in [211] Richtung der Domänen. (b) FFT-Analyse des in a) blau eingerahmten Bereiches mit entsprechender Reflexzuordnung und (c) Inverse FFT-Analyse des in a) blau eingerahmten Bereiches: Zweidimensionale Defektstruktur mit zusätzlicher Gitterebene alle 8–9 Reihen (gelbe Pfeile) (aus ³¹⁶).

Die Verwendung von 13 nm FePt-Keimen ohne Ausnahme, d.h. ob nun Kuben, Oktaeder oder *Octapods* verwendet wurden, führte zur überwiegenden Bildung von FePt@MnO-Nanoheteromultimeren mit mehreren MnO-Domänen. Dabei wuchsen die Domänen bevorzugt an den Ecken und Kanten, weniger auf den Flächen. Dies konnte zum einem mit der erhöhten Oberflächenenergie erklärt werden. Zum anderen lagen bei den meist nicht perfekten Kuben bzw. kubischen Strukturen die (111) Kristallflächen frei. Am Beispiel von *Octapods*, bei denen die (111) Flächen an den Ecken herauswuchsen (siehe Abb. 10-13 a und c), ließ sich dieser Sachverhalt besonders gut verfolgen (siehe Abb. 10-13 b und d). Die Ausmessung der Kristallfläche einer verbundenen FePt- und MnO-Domäne in einer HRTEM-Aufnahme (Abb. 10-12 a), einschließlich der FFT-Analyse (Abb. 10-12 b), zeigt dass die Domänen entlang der gleichen Achse mit dem Verbund über die (111) Flächen orientiert waren.

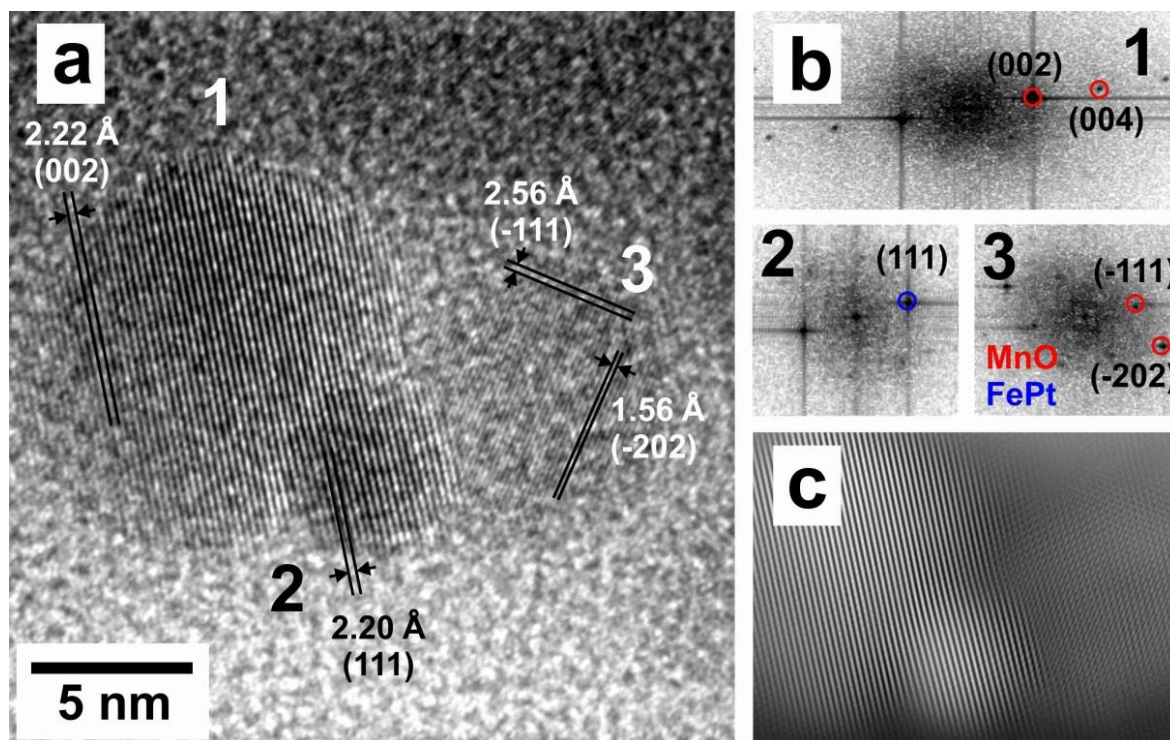


Abb. 10-11. HRTEM-Aufnahme eines FePt@MnO-Nanoheterotrimers mit nicht co-orientierten Domänen. (b) FFT-Analyse und (c) inverse FFT-Analyse (aus ³¹⁶).

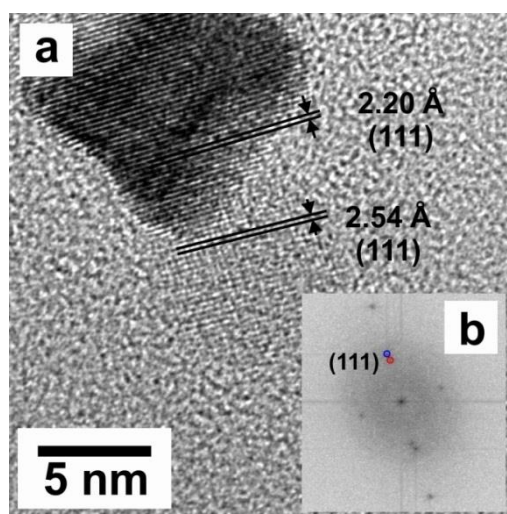


Abb. 10-12. (a) HRTEM-Aufnahme eines FePt-Octapods mit einer co-orientierten MnO-Domänen und (b) FFT-Analyse (aus ³¹⁶).

Die Abbildung 10-13 e zeigt eine HRTEM-Aufnahme eines FePt-Kuben an dessen Ecken sich vier MnO-Domänen befinden. Aus den ausgemessenen Abständen der Gitterebenen (siehe Abb. 10-13 e) und den dazugehörigen Auswertungen der FFT-Bilder (siehe Abb. 10-13 f) zeigte sich, dass die entgegengesetzten MnO-Domänen 2 und 5 die gleiche Orientierung besaßen, wohingegen 3 und 4 signifikant geneigt zueinander waren.

Um aus zweidimensionalen HRTEM-Aufnahmen ein Verständnis für die dreidimensionale Struktur zu gewinnen, wurde eine Kippserie bestehend aus 58 Bildern im HRTEM von einem FePt-*Octapod* mit vier MnO-Domänen durchgeführt. Aus den einzelnen Schnittbildern ließ sich, wie in der Tomografie, die räumliche Struktur berechnen. Die Abbildungen 10-13 g und h zeigen zwei repräsentative Aufnahmen aus der Serie. In Aufnahme 10-13 g ist gut die Octapodform des FePt-Keimes zu erkennen, während sich in Aufnahme 10-13 h die vier MnO-Domänen sehr gut abzeichnen. Weiterhin lässt sich in den Aufnahmen eine Art Wolke um das gesamte Partikel ausmachen. Dies waren die organischen Liganden Ölsäure und Oleylamin, die nur einen sehr schwachen Beugungscontrast liefern. Dieser schwache Beugungscontrast erschwerte das komplexe Verfahren zusätzlich. Trotzdem ließ das Ergebnis der Rekonstruktion (siehe Abb. 10-13 i) auf einen räumlichen Versatz der MnO-Domänen schließen, wie er auch in Abbildung 10-13 d dargestellt ist.

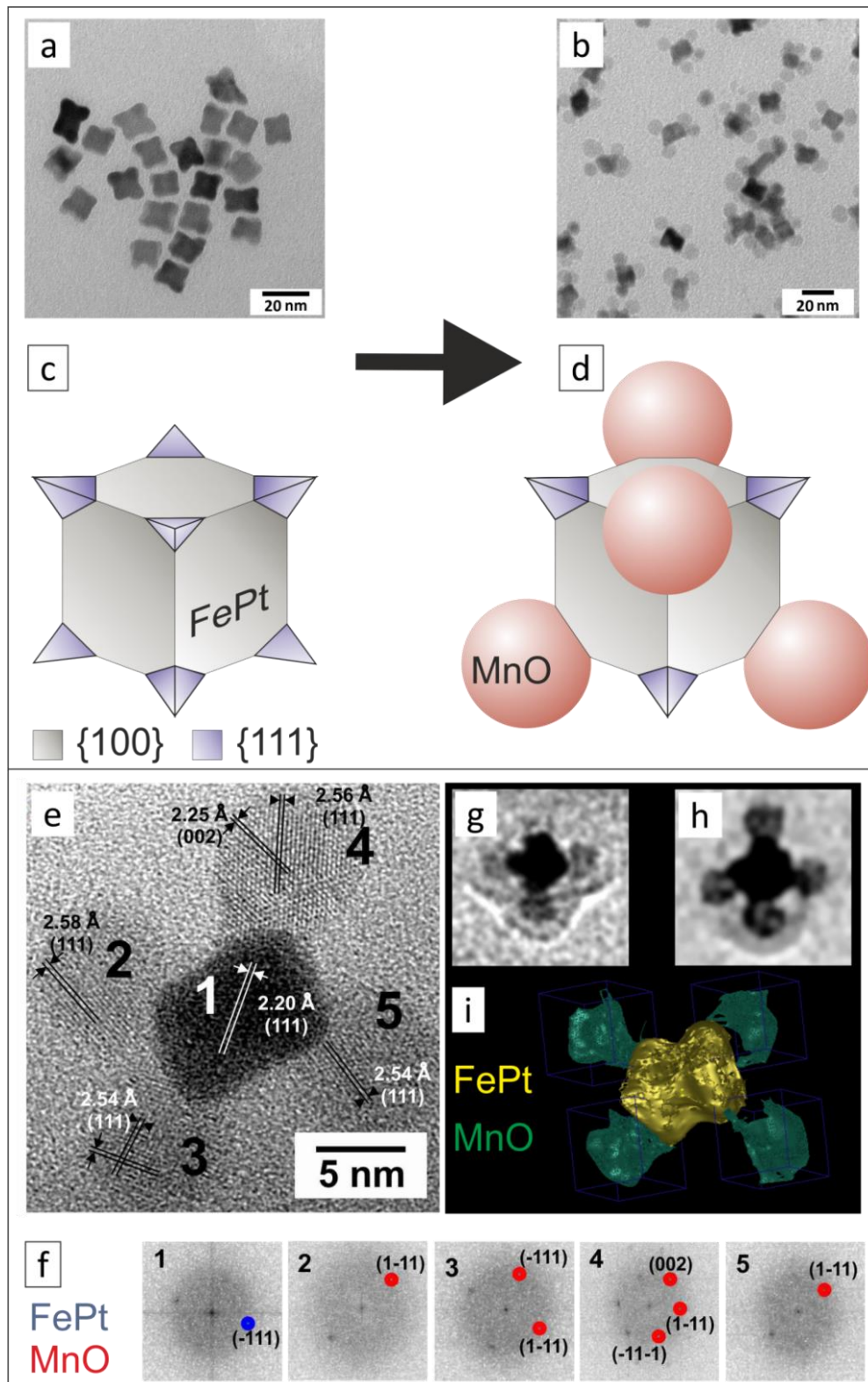


Abb. 10-13. FePt@MnO-Nanoheteromultimere. TEM-Aufnahmen von FePt-Octapods (a) und FePt@MnO-Nanoheteromultimeren (b), graphische Darstellung von Octapods (c) und FePt@MnO-Nanoheteromultimeren (d), HRTEM und FFT-Analyse eines FePt@MnO-Nanoheterotetrameres (e und f), HRTEM-Aufnahmen aus einer Kippserie eines FePt(Octapod)@MnO-Nanoheterotetrameres (g und h) und entsprechender 3D-Rekonstruktion (i) (teilweise aus ³¹⁶).

10.2.6 Magnetische Eigenschaften

Die magnetischen Messungen, die an 3 und 6 nm FePt-Nanopartikeln sowie an 3 nm@9 nm, 6 nm@9 nm, 3 nm@17 nm und 6 nm@17 nm FePt@MnO-Dimeren mittels SQUID-Magnetometrie durchgeführt wurden, belegten superparamagnetisches Verhalten aller Proben bei Raumtemperatur. Trotzdem variierten die magnetischen Eigenschaften der einzelnen Proben bei 5 K stark voneinander, was eine erhebliche magnetische Wechselwirkung zwischen den FePt- und der MnO-Domänen andeutete. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 10-2 zusammengefasst. Ähnliche Beobachtungen, wie eine gesteigerte Sättigungsmagnetisierung, wurden der Wechselwirkung zwischen den Oberflächenspins von MnO und FePt zugeschrieben, welche die Dicke der magnetisch toten Schicht und/oder eine Spinvergangung an der Oberfläche des FePt senkten.^{324, 327, 328} Für eine Erklärung dieses Phänomens wurden zwei wesentliche Beiträge in Betracht gezogen. Erstens, die ferromagnetische-antiferromagnetische (FM-AFM) Wechselwirkung der Oberflächenspins der FePt- und MnO-Domänen und, zweitens, das magnetische Volumen jeder Probe.

Tab. 10-2. Magnetische Eigenschaften von FePt- und FePt@MnO-Nanopartikeln.

| Probe / nm | $H_{C_{ZFC}}$ / kOe | $H_{C_{FC}}$ / kOe | H_{ex} / kOe | T_B / K |
|------------|---------------------|--------------------|----------------|-----------|
| 3 | 5.7 | 5.7 | 0 | 16.2 |
| 3 @ 9 | 3.6 | 3.5 | 1.5 | 47.1 |
| 3 @ 17 | 0.05 | 0.04 | 0.017 | 66.2 |
| 6 | 3.4 | 3.4 | 0 | 31.8 |
| 6 @ 9 | 3.2 | 4.2 | 2.5 | 46.7 |
| 6 @ 17 | 0.55 | 0.02 | 0.03 | 77.2 |

Als Beispiel zeigt die Abbildung 10-14 die feldabhängigen Magnetisierungskurven von 6 nm@9 nm FePt@MnO-Heterodimeren gemessen unter verschiedenen Bedingungen. Im Gegensatz zu den Messungen bei Raumtemperatur weisen die Partikel eine ausgeprägte ferromagnetische Hystereseschleife bei 5 K mit einem Koerzitivfeld (H_c) von 4.2 kOe auf. Die Sättigungsmagnetisierung wurde bei einem angelegten Feld auch von 5 T nicht erreicht, was bei Systemen mit einer antiferromagnetischen Komponente mit linearer Suszeptibilität wie MnO bereits beobachtet wurde.¹³¹ Dabei wurden die antiferromagnetischen Momente im MnO in Feldrichtung verkantet, während hier das angelegte Feld nicht ausreichte, um die Sättigungsmagnetisierung des Antiferromagneten zu erreichen. Demgegenüber waren die nackten 6 nm FePt-Partikel magnetisch weicher mit einem $H_c = 3.4$ kOe (siehe Abb. 10-19 a) bzw. $H_c = 2.1$ kOe (vgl. Abb. 11-4 a). Das

weitaus deutlichere Zeichen für eine direkte Wechselwirkung zwischen den magnetischen Domänen wurde beobachtet, wenn die magnetische Hystereseschleife nach dem Kühlen der Probe in einem externen Feld von 2 T (*field cooled* (FC) Status) gemessen wurde. Wie in Abbildung 10-14 zu sehen, war die FC-Hysterese (rote Dreiecke) mit $|H_c| = 5$ kOe breiter und vom Ursprung mit $|H_{ex}| = 2.5$ kOe durch ein Exchange Bias-Feld verschoben, wobei $|H_{ex}| = |H_{c1}| - \frac{1}{2}(|H_{c1}| + |H_{c2}|)$ ist. Dieses Phänomen wurde in Systemen durch die magnetische Austauschwechselwirkung hervorgerufen, in welchen ferromagnetische und antiferromagnetische Materialien eine gemeinsame Grenzfläche teilen. Die magnetischen Momente der unkompensierten Oberflächenspins des MnO, als antiferromagnetische Komponente, wurde parallel zum externen Feld ausgerichtet und die magnetischen Momente der FePt-Domäne waren wiederum durch die Austauschwechselwirkung an die MnO-Momente gekoppelt, so dass die Spins der FePt-Domäne dadurch eingefroren wurden. Eine Umkehr der Magnetisierungsrichtung benötigte nun eine größere Kraft, was ein höheres antiparalleles Feld bedeutete und damit zu einem gesteigerten Koerzitivfeld H_c und zu einer Verschiebung der Hysterese durch H_{ex} führte. Ein weiterer Beitrag, der möglicherweise aufgetreten sein kann, aber höchstens nur einen quantitativen Einfluss hatte, war die dipolare Kopplung von nicht verbunden Partikeln. Dieser Beitrag wurde häufig in magnetischen Messungen von Pulverproben beobachtet.³²⁹

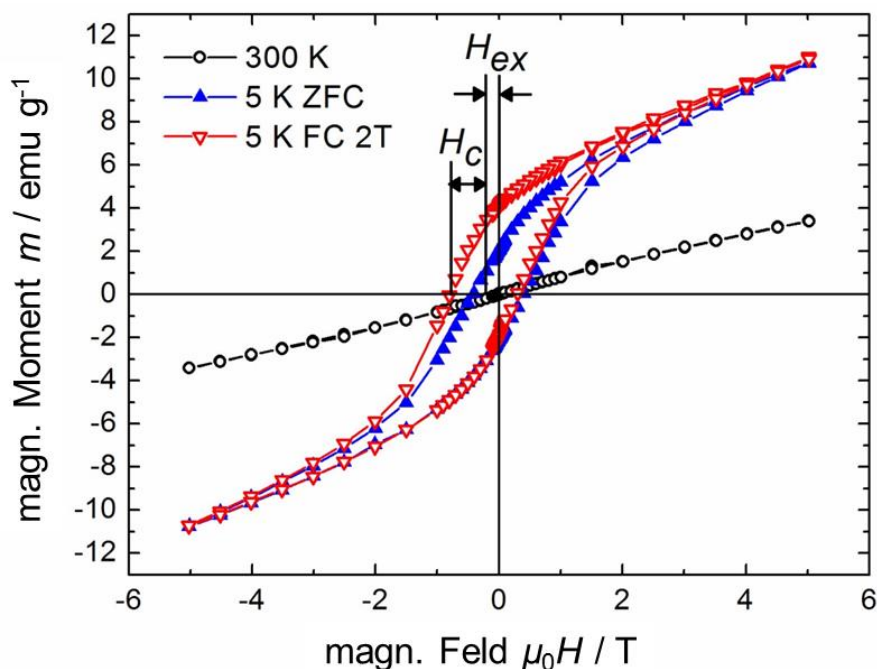


Abb. 10-14. Magnetischen Hysterese von 6 nm@9 nm FePt@MnO-Heterodimeren mit dem Exchange Bias-Feld H_{ex} (aus³¹⁶).

Die 3 nm@9 nm FePt@MnO-Heterodimere verhielten sich, abgesehen von geringeren Werten, wie die 3 nm@9 nm Partikel. Die feldabhängigen Messungen der Magnetisierung bei 5 K ohne Feld abgekühlt (*zero field cooled* (ZFC)) zeigten eine ferromagnetische Hysterese mit $|H_c| = 3.5$ kOe (siehe Abb. 10-15). Auch hier führte die Messung nach dem Abkühlen der Probe bei einem angelegten Feld von 2 T zu einer deutlichen Verschiebung der Hysterese. Jedoch fiel die Verschiebung mit $|H_{ex}| = 1.5$ kOe geringer als bei den 6 nm@9 nm FePt@MnO-Dimeren aus. Dies lag voraussichtlich an der kleineren Grenzfläche in den 3 nm@9 nm Heterodimeren, was wegen der schwächeren Austauschwechselwirkung zu einem verminderten Exchange Bias führte.

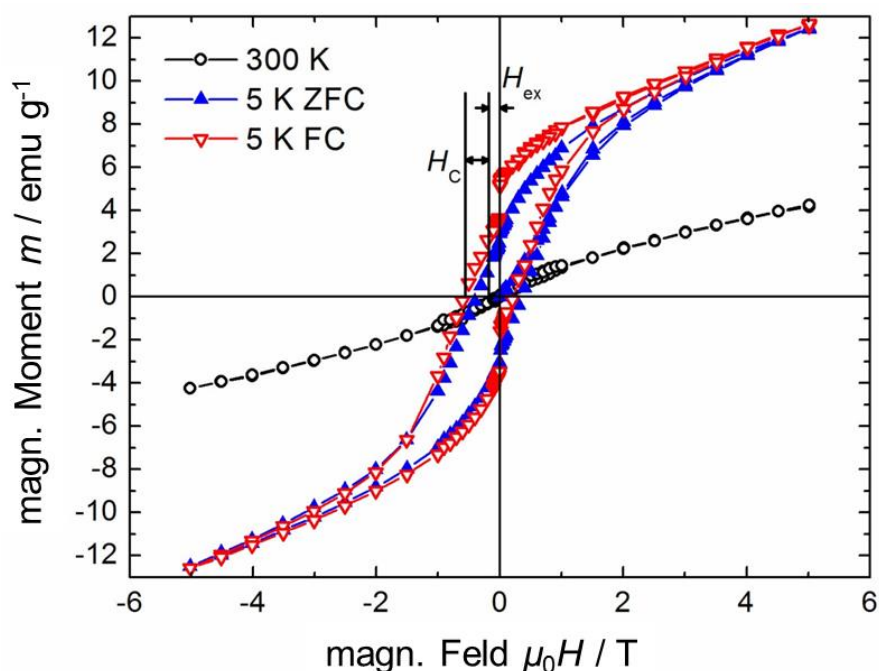


Abb. 10-15. Magnetische Hysteresen von 3 nm@9 nm FePt@MnO-Heterodimeren mit dem Exchange Bias-Feld H_{ex} (aus ³¹⁶).

Bei den 6 nm@17 nm und 3 nm@17 nm Heterodimeren wurde zusätzlich noch eine vertikale Verschiebung beobachtet (siehe Abb. 10-16 a und b). Die Magnetisierung in Richtung des positiven Bereiches relativ zum Feld während der Kühlphase war größer als für das angelegte Feld in Gegenrichtung. Diese vertikale Verschiebung der Hysterese deutete an, dass ein Teil der magnetischen Momente in FC-Richtung eingefroren war und nicht durch das angelegte Feld umgekehrt werden konnte. Die Größenordnung der Verschiebung konnte als $\delta m = \frac{1}{2}(m_1 - m_2)$ definiert werden, wobei m_1 und m_2 die remanenten Magnetisierungen der Probe sind. Für die 6 nm@17 nm Dimere war $\delta m = 0,364$ emu/g, was etwa einer relativen Verschiebung der Magnetisierung von ~21% bei $\mu_0 H = 0$ entsprach. Überraschenderweise zeigten diese Partikel keine maßgebliche

horizontale Verschiebung wie bei den zuvor diskutierten Proben mit einer kleineren MnO-Domäne. Die Ergebnisse ließen vermuten, dass der hier vorliegende Exchange Bias-Mechanismus von komplexer Natur ist.

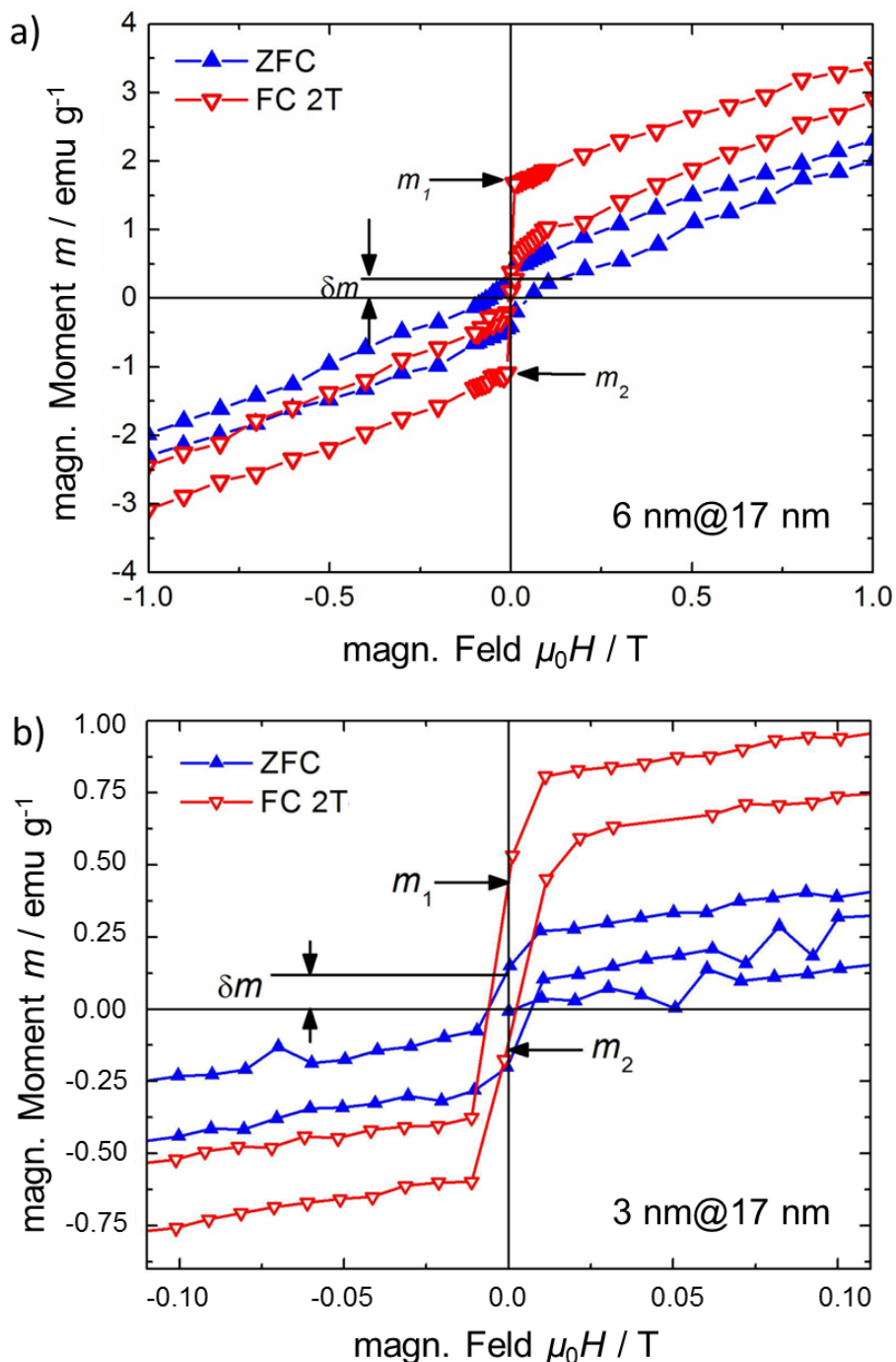


Abb. 10-16. Magnetische Hysteresekurven bei 5 K im FC- (2T) und ZFC-Zustand von (a) 6 nm@17 nm und (b) 3 nm@17 nm Heterodimeren mit vertikaler Verschiebung δm der Hysterese (aus ³¹⁶).

Allgemein wurde eine vertikale Verschiebung schon häufiger in FM/AFM-Zweischichtensystemen^{330, 331} beobachtet oder in Nanopartikeln mit FM-Kern und einer Spinglas-ähnlichen Schale³³². In den meisten Fällen war die Größenordnung der Verschiebung nur wenige Prozent,^{332, 333} wohingegen hier die Werte bis zu 21 % reichten. Auch wurde bereits eine vertikale und horizontale Verschiebung in antiferromagnetischen NiO¹²⁹, in oxidierten Cobalt-Nanopartikeln^{334, 335} und in nanostrukturierten Kompositmaterialien aus ferromagnetischem Eisen und antiferromagnetischem MnO₂ gefunden, bei denen das Ausmaß der Verschiebung δm mit sinkendem Eisenanteil anstieg.³³⁶ Es existieren verschiedene Modelle über die komplexen Wechselwirkungen an der Grenzfläche der FM und AFM-Materialien,^{336, 337} welche sich qualitativ auf das FePt@MnO-Nanoheterodimersystem übertragen lassen.

Zunächst kann sich die MnO-Domäne selbst wie ein FM/AFM-System mit einer äußeren ferromagnetischen Schale basierend auf den unkompensierten Oberflächenspins und dem antiferromagnetischen Kern verhalten, wenn die Partikel sehr klein sind. Reine MnO-Nanopartikel zeigen dann einen schwachen aber messbaren Exchange Bias-Effekt und eine vertikalen Verschiebung.¹³¹ Werden die MnO-Nanopartikel unter die Néel-Temperatur ($T_N = 122$ K) in einem externen Magnetfeld gekühlt, werden die unkompensierten Oberflächenspins an den AFM-Kern gekoppelt. Die Umkehr der Magnetisierung der Spins in einem entgegengesetzten Feld fällt nun schwerer, was zu einem gesteigerten Koerzitivfeld führt und eben den schwachen Exchange Bias hervorruft. Zudem erfährt der AFM-Kern in den MnO-Nanopartikeln neben dem externen Feld auch das FM-Feld der Schale, so dass eine vertikale Verschiebung der Hysterese auftritt. Wenn die beiden Felder in die positive Richtung zeigen, ist die Hystereseschleife nach oben verschoben, entsprechend einer ferromagnetischen Grenzflächenwechselwirkung.³³⁷ Dieser Effekt kann bei MnO-Nanopartikeln sehr ausgeprägt auftreten, wie unsere Gruppe zeigen konnte.¹³¹

Also konnte der magnetische Aufbau der FePt@MnO-Nanodimere basierend auf den vorherigen Ausführungen als ein Ferromagnet (FePt) verstanden werden, der mit einem FM/AFM-Kern/Schale-System (MnO) über eine gemeinsame Grenzfläche verbunden war. Die ausführliche Beschreibung der auftretenden Wechselwirkungen in diesem System ist nicht trivial. Die Tatsache, dass die vertikale Verschiebung nur in relativ großen MnO-Domänen auftrat, zeigte, dass die magnetische Spinstruktur der MnO-Domäne eine wichtige Rolle spielte. Eine Möglichkeit wäre, dass das Verhältnis von unkompensierten Oberflächenmomenten zu verkanteten Kernmomenten in den einzelnen Partikeln entscheidend ist. Abbildung 10-17 skizziert diese Annahme. Für FePt-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 3 nm ist die Grenzfläche und daher auch der Effekt der hier ferromagnetisch ausgerichteten Spins auf die antiferromagnetische MnO-Domäne nur

gering (siehe Abb. 10-17 a). Dahingegen ist die Grenzfläche für 6 nm FePt-Nanopartikel größer und die koppelnde Wirkung der ferromagnetischen FePt-Spins nimmt zu (siehe Abb. 10-17 b). Mit abnehmender Größe der MnO-Domäne steigt das Verhältnis an unkompenzierten zu kompenzierten Spins, so dass das magnetische Moment der MnO-Domäne anwächst und mit ihm der Einfluss der MnO-Domäne auf die magnetischen Eigenschaften des FePt@MnO-Systems (siehe Abb. 10-17 c).

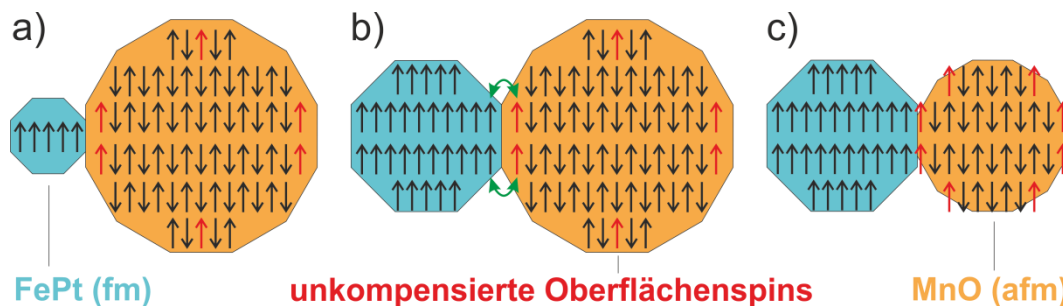


Abb. 10-17. Schema der magnetischen Wechselwirkung zwischen der ferromagnetischen FePt- und der antiferromagnetischen MnO-Domäne an der Domänengrenzfläche (nach ⁵⁹).

Um das beobachtete Phänomen weiter zu untersuchen, wurde eine Serie von feldabhängigen Messungen mit verschiedenen Feldern in der Abkühlphase im Bereich von 0.1 bis 10 kOe durchgeführt und daraus die entsprechende vertikale Verschiebung der Magnetisierung δm bestimmt. In der Abbildung 10-18 ist δm als Funktion der Feldstärke des angelegten Magnetfeldes für 6 nm@17 nm und 3 nm@17 nm FePt@MnO-Dimere aufgetragen. Die größere Verschiebung trat in der 6 nm@17 nm Probe auf, was die Annahme einer starken magnetischen Wechselwirkungen zwischen FePt und MnO stützte, da bei diesen Partikeln eine größere Grenzfläche vorhanden war. In beiden Fällen schien δm eine Sättigung für höhere Abkühlfelder zu erreichen, so dass ab einer gewissen Feldstärke alle Spins an der Grenzfläche in Richtung des angelegten Feldes eingefroren wurden. Allerdings sollte beachtet werden, dass die Nanoheterodimere eine so komplexe magnetische Struktur besitzen, welche abhängig von der jeweiligen Domänengröße war, dass weitere ausführliche Messungen nötig sind, um dieses Phänomen erklären zu können.

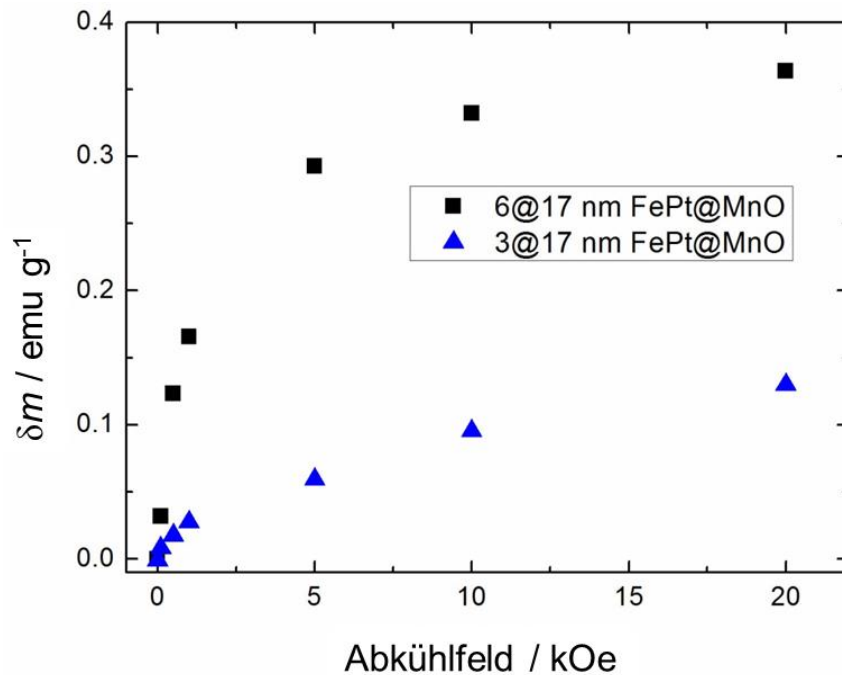


Abb. 10-18. Relative Vertikalverschiebung δm der magnetischen FC-Hysterese als Funktion des angelegten Feldes während der Kühlphase für 6 nm@17 nm und 3 nm@17 nm FePt@MnO-Dimere (aus ³¹⁶).

Es wurden Kontrollmessungen mit reinen FePt-Nanopartikeln (3 und 6 nm) und Mischungen von FePt- und MnO-Nanopartikeln durchgeführt. Die Mischung bestand aus 6 nm FePt-Nanopartikeln und 9 nm MnO-Nanopartikeln, welche gut durchmischt, aber nicht chemisch verbunden waren, um sicherzustellen, dass die beobachteten Effekte ausschließlich der Grenzflächenwechselwirkungen der FePt@MnO-Nanoheteropartikeln zuzuschreiben waren. Weder die freien FePt-Nanopartikel noch die Mischung aus FePt- und MnO-Nanopartikeln wiesen in FC- oder ZFC-Messungen der Hysterese Änderungen auf (siehe Abb. 10-19). Dies zeigte, dass der vorgefundene Exchange Bias-Effekt und die vertikale Verschiebung von den Wechselwirkungen entlang der Grenzfläche der MnO- und der FePt-Domäne verursacht wurden.

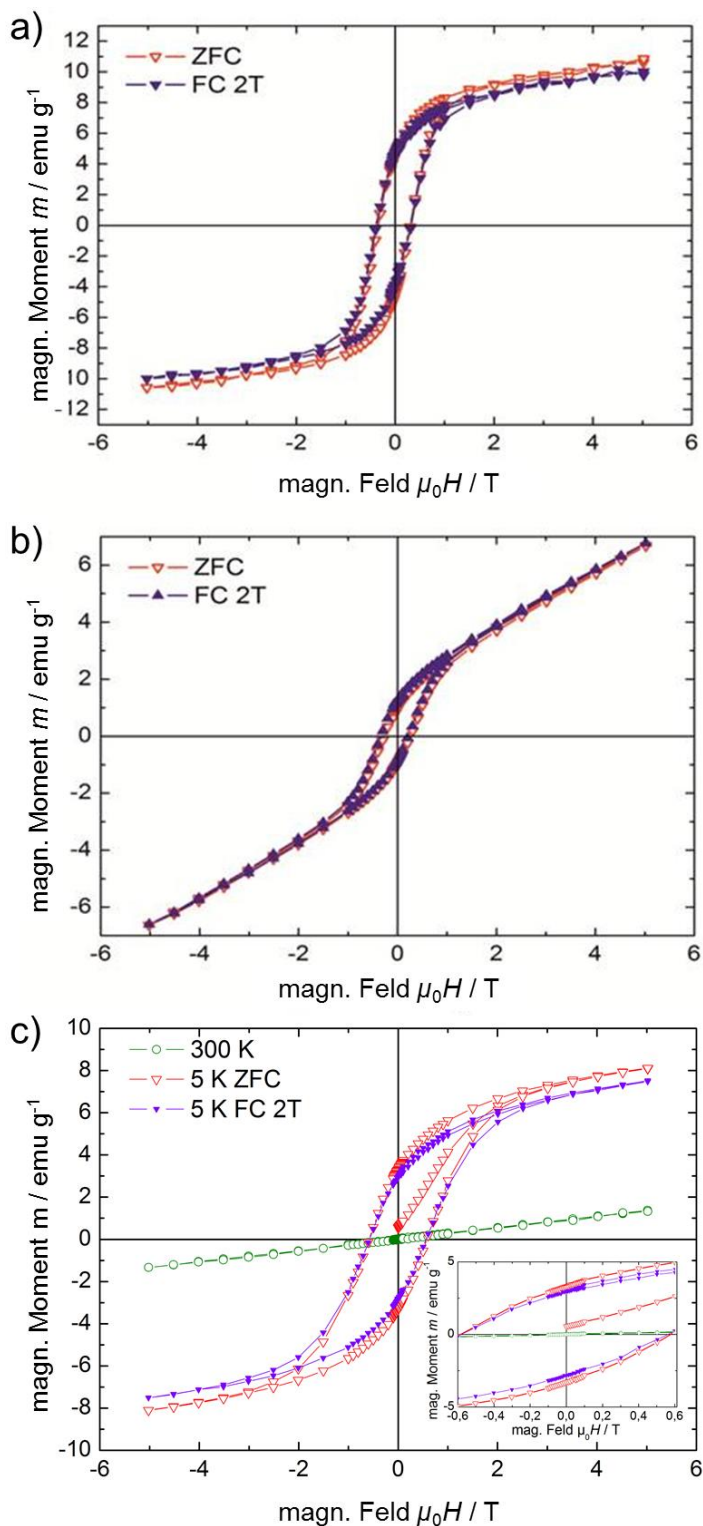


Abb. 10-19. Magnetische Hysteresekurve bei 5 K im FC- (2T) und ZFC-Zustand von (a) 6 nm FePt-Nanopartikeln und (b) einer Mischung aus 6 nm FePt- und 9 nm MnO-Nanopartikeln sowie (c) 3 nm FePt-Nanopartikeln mit zusätzlicher Hysterese bei 300 K und vergrößerten Einschub um den Koordinatenursprung (aus ³¹⁶).

Temperaturabhängige Messungen der Magnetisierung der FC/ZFC-Kurven zeigten ausgeprägte Blockierungstemperaturen T_B , was charakteristisch für superparamagnetische Partikel ist. Während die 6 nm FePt-Keime eine Blockierungstemperatur von 32 K zeigten (siehe Abb. 10-20 a), lagen die T_B von 6 nm@9 nm und 6 nm@17 nm bei 48 K bzw. 78 K. Der Anstieg von der T_B mit anwachsender FePt@MnO-Domäne wurde durch zwei Faktoren bestimmt. Erstens führt der Kopplungseffekt der Spins, welche durch die AFM MnO-Domäne hervorgerufen wurden, zu einer erhöhten Stabilität gegen die thermischen Fluktuationen des magnetischen Moments, wie es auch bei FePt/MnO-Kern/Schale-Nanopartikel auftrat.^{134, 324} Zweitens konnte die magnetische Dipolwechselwirkung zwischen der FePt- und MnO-Domäne die gesamte magnetische Anisotropie des Systems vergrößern, was ebenfalls eine Erhöhung der Blockierungstemperatur mit sich bringt und kürzlich bei Eisen-Nanokuben beobachtet wurde.³³⁸

Die relativ schmalen Verläufe der ZFC-Kurve der 6 nm FePt-Nanopartikel und 6 nm@9 nm FePt@MnO-Dimere deuten geringere Größenverteilungen der Proben an. Nur der Verlauf der 6 nm@17 nm FePt@MnO-Dimere war breiter und zeigte eine schwache Schulter, welche wahrscheinlich von nicht umgesetzten FePt-Keimen hervorgerufen wurde.

Die Blockierungstemperaturen von FePt@MnO-Nanoheterodimeren basierend auf 3 nm FePt-Partikeln waren vergleichbar mit denen der aus 6 nm FePt-Keime aufgebauten (siehe Abb. 10-20 b). Die jeweiligen Werte waren etwas geringer mit $T_B = 16, 45$ und 65 K für reine 3 nm FePt, 3 nm@9 nm bzw. 3 nm@17 nm FePt@MnO-Dimere. Dass die Werte niedriger ausfielen, lag an dem geringeren Volumen der 3 nm FePt-Keime und somit ihrer geringeren Stabilität in Bezug auf thermischen Fluktuationen. Doch war auch hier eine Zunahme der Blockierungstemperatur mit wachsender MnO-Domäne festzustellen. Ebenso deuteten die schmalen Verläufe der Kurven wieder eine geringe Größenverteilung der Proben an.

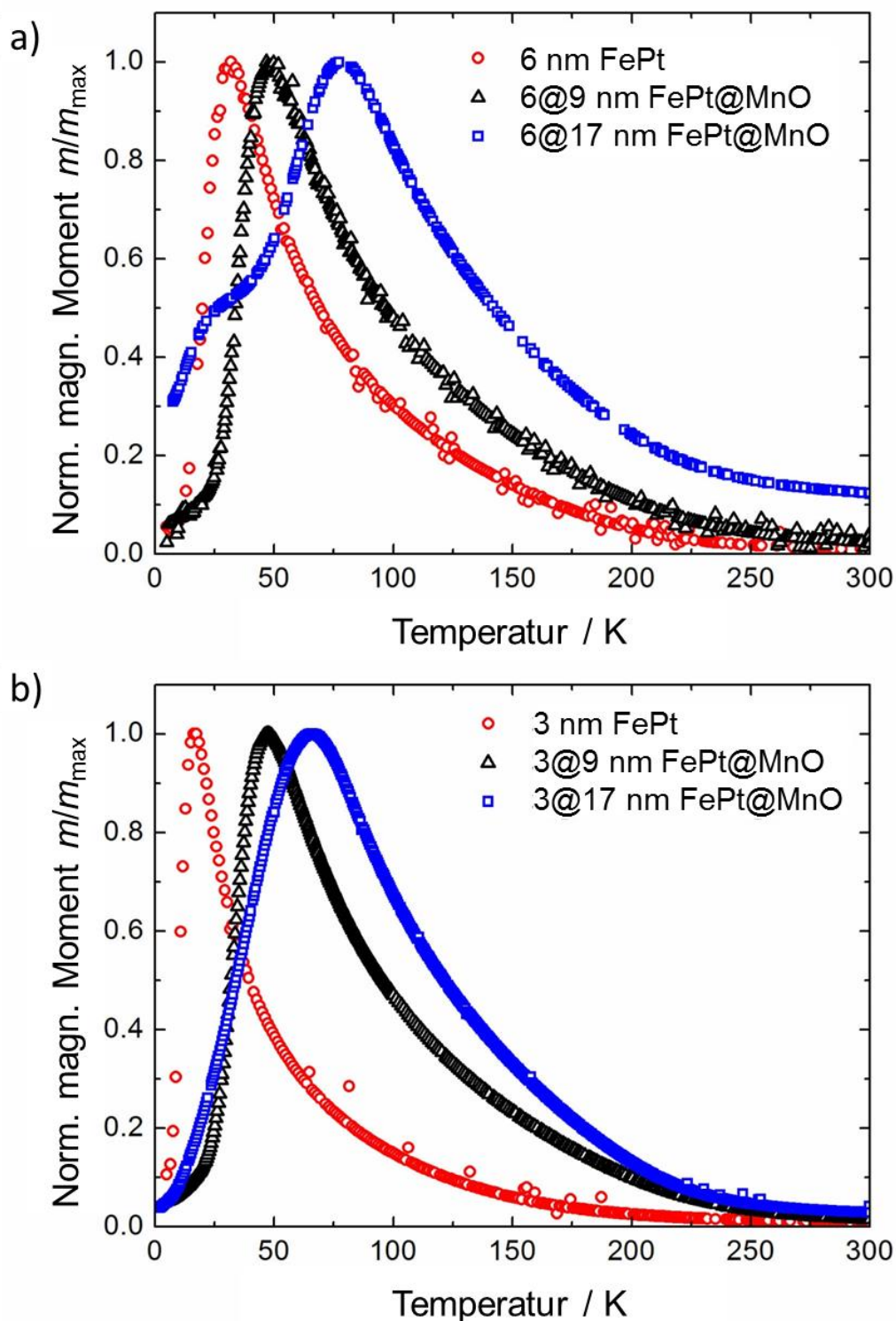


Abb. 10-20. ZFC-Kurven im Vergleich von (a) 6 nm FePt-Nanopartikeln, 6 nm@9 nm und 6 nm@17 nm FePt@MnO-Heterodimeren sowie (b) 3 nm FePt-Nanopartikeln, 3 nm@9 nm und 3 nm@17 nm FePt@MnO-Heterodimeren (aus ³¹⁶).

10.3 Zusammenfassung und Ausblick

Es konnten monodisperse FePt@MnO-Nanoheteropartikel mit verschiedenen Formen und Größen durch eine keimvermittelte Zweistufen-Synthese hergestellt werden. Die Größe der einzelnen Domänen konnte durch das Anpassen der jeweiligen Syntheseparameter gesteuert werden. Die Partikelmorphologie konnte von Dimeren bis „Blumenartigen“ durch die Polarität des Lösungsmittels gesteuert werden. Darüber hinaus zeigten FePt@MnO-Nanoheteropartikel, welche mit großen (13 nm) FePt-Kuben bzw. abgewandelten Formen hergestellt wurden, bevorzugt die Bildung von Multimeren mit zwei oder mehr MnO-Domänen.

Untersuchungen mit HRTEM belegten, dass beide Materialien in einer co-orientierten Weise miteinander verbunden waren und es sich hierbei um die weniger übliche Form der Epitaxie durch Domänenanpassung als um die der normalerweise auftretenden Epitaxie aufgrund von Gitterfehlpassung handelte.

Zwischen den magnetischen Domänen der Dimere traten erhebliche magnetische Wechselwirkungen auf, da bei magnetischen Messungen ein gesteigertes Remanenz- und Koerzitivfeld sowie eine erhöhte Blockierungstemperatur im Vergleich zu den blanken FePt-Nanopartikeln registriert wurde. Des Weiteren wurden Verschiebungen in den Magnetisierungskurven beobachtet, besonders deutlich in denen im Feld gekühlten Hysteresen, welche charakteristisch für einen Exchange Bias-Effekt sind und auf Austauschwechselwirkungen zwischen der ferromagnetischen/antiferromagnetischen FePt@MnO-Grenzfläche beruhen.

10.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

10.4.1 Synthese von 3 nm FePt-Nanopartikeln

Für die Synthese von ca. 3 nm großen FePt-Nanopartikeln wurde ein Protokoll von Sun und Mitarbeitern verwendet.³³⁹ Es wurden 197 mg (0.5 mmol) Platin(II)-acetylacetonat ($\text{Pt}(\text{acac})_2$), 388 mg (1.5 mmol) 1,2-Hexadecandiol, 159 μl (0.5 mmol) Ölsäure und 165 μl (0.5 mmol) Oleylamin in 20 ml Dioctylether gelöst und mittels Schlenk-Apparatur bei 70 °C innerhalb einer Stunde entgast und wiederholt mit Argon geflutet. Im Anschluss wurde die Lösung auf 120 °C erhitzt und 132 μl (1 mmol) $\text{Fe}(\text{CO})_5$ zugegeben. Die Reaktionslösung wurde zügig auf Rückflusstemperatur (298 °C) geheizt und für 30 min bei dieser belassen. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Produkt 3-mal mit

Ethanol in einer Hexanlösung bei 9000 U/min für 10 min zentrifugiert. Das gereinigte Produkt wurde mit Zugabe von jeweils 25 µl Ölsäure und Oleylamin bei 4 °C gelagert.

10.4.2 Synthese von 6 nm FePt-Nanopartikeln

Die FePt-Nanopartikel mit durchschnittlichen Größen von bis zu 6 nm wurden nach einer Methode von Chen und Mitarbeiter dargestellt.³⁴⁰ Hierzu wurden 197 mg (0.5 mmol) Pt(acac)₂ in einer Mischung aus 10 ml Dibenzylether und 5 ml 1-Octadecen oder in 15 ml reinen 1-Octadecen gelöst und mittels Schlenk-Apparatur bei 70 °C innerhalb einer Stunde entgast und wiederholt mit Argon geflutet. Die Reaktionslösung wurde in der Folge auf 120 °C geheizt. Dann wurden direkt hintereinander 264 µl (2 mmol) Fe(CO)₅ und 1588 µl (5 mmol) Ölsäure injiziert. Nach 5 min wurden 1650 µl (5 mmol) Oleylamin hinzugegeben und die Reaktionslösung auf einer Temperaturen von 195 °C (bis maximal 205 °C) für 60 min geheizt. Die Aufarbeitung erfolgte wie im vorherigen Abschnitt beschrieben.

10.4.3 Synthese von 13 nm FePt-Nanopartikeln

Die größeren FePt-Nanowürfel und *-Octapods* wurden nach einer Veröffentlichung von Chou und Mitarbeitern synthetisiert.³⁴¹ Als Beispiel für die Synthese von Nanokuben wurde eine Lösung von 40 mg (0.1 mmol) Pt(acac)₂, 1034 mg (4 mmol) 1,2-Hexadecandiol, 4 ml (12.6 mmol) Ölsäure und 4 ml (12.1 mmol) Oleylamin in 4 ml Dioctylether mittels Schlenk-Apparatur bei 80 °C innerhalb von 45 min entgast und wiederholt mit Argon geflutet. Daran anschließend wurde die Reaktionslösung auf 115 °C erhitzt, 66 µl (0.5 mmol) Fe(CO)₅ zugegeben und direkt weiter für 60 min auf 240 °C geheizt. Auch hier erfolgte die Aufarbeitung wie im Abschnitt 10.4.3 beschrieben mit der Ausnahme, dass nur 5 min zentrifugiert wurde.

10.4.4 Synthese von Mangan(II)-oleat

Die Darstellung des Mangan(II)-oleats erfolgte nach einer von unserer Arbeitsgruppe veröffentlichten Synthesevorschrift.^{59, 131} In eine Lösung aus 7.92 g (40 mmol) MnCl₂*4(H₂O) und 22.6 g (80 mmol) Ölsäure in 200 ml Methanol wurde eine Lösung aus 3.2 g (80 mmol) NaOH in 200 ml Methanol langsam unter Rühren bei Raumtemperatur zugetropft. Hierbei fiel das Produkt während der Zugabe kontinuierlich aus. Nach Ende der Zugabe wurde 1 h weitergerührt. Der Überstand wurde abdekantiert und der Bodensatz mit je 2-mal 100 ml destilliertem Wasser, Ethanol und Aceton gewaschen. Das Produkt wurde in 200 ml Hexan gelöst, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel erst im Grobvakuum und zum Schluss im Feinvakuum abgedampft. Zurück blieb ein dunkelroter bis brauner, wachsartiger Feststoff.

10.4.5 Synthese von FePt@MnO-Nanoheterodimeren

Für die Synthese von FePt@MnO-Nanoheterodimeren dienten die FePt-Nanopartikel als Keime. Die Menge der FePt-Nanopartikel variierte von 5 bis 25 mg, wobei mit zunehmender Größe der Partikel die verwendete Masse ebenso zunahm. Die jeweilige Domänengröße wurde zum einen über die ursprüngliche Keimgröße (FePt) und zum anderen über die eingesetzte Menge an Mn(II)-oleat gesteuert. Um beispielsweise 3 nm@17 nm Dimere zu erhalten, wurden 5 mg der 3 nm FePt-Partikel in 0.5 ml 1-Octadecen mit je 25 µl von Ölsäure und Oleylamin gelöst und anschließend in eine Lösung von 309 mg (0.5 mmol) Mn(II)-oleat, 953 µl (3 mmol) Ölsäure und 1980 µl (6 mmol) Oleylamin in 15 ml 1-Octadecen gegeben. Die Reaktionslösung wurde mittels Schlenk-Apparatur bei 80 °C für eine Stunde entgast und wiederholt mit Argon geflutet. Danach wurde die Reaktionslösung auf Rückfluss (315 °C) mit Heizrate zwischen 23 bis 30 °C/min geheizt und für 30 min auf dieser Temperatur gehalten. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Produkt durch wiederholtes Fällern mit Aceton, Zentrifugation bei 9000 U/min für 10 min und Redispersion in Hexan aufgereinigt.

10.4.6 Synthese von FePt@MnO-Nanomultimeren

Entsprechend den Ausführungen über den Synthesemechanismus in den Abschnitten „Ergebnisse und Diskussion“ konnten durch das Steigern der Elektronendichte des Lösungsmittels weitere Nukleationspunkte an den FePt-Keimen erhalten werden. Für diesen Zweck wurde wie im vorherigen Abschnitt mit selbigen Ansatzmengen verfahren mit dem Unterschied, dass 1-Octadecen konsequent durch Dibenzylether ersetzt wurde.

10.4.7 Synthese von FePt@MnO-Nanoheterostrukturen auf Basis von 13 nm FePt-Nanopartikeln

Grundsätzlich erfolgt die Darstellung der Nanoheterostrukturen auf Basis der 13 nm FePt-*Octopods* wie bei den FePt-Nanomultimeren mit der Ausnahme, dass die Menge an Mn(II)-oleat wesentlich herabgesetzt werden musste (< 0.1 mmol), da sonst die MnO-Domänen zusammenwachsen. In einer Standardreaktion wurden 25 mg FePt-*Octopods* in 1 ml Dibenzylether mit jeweils 25 µl Ölsäure und Oleylamin dispergiert und in eine Lösung von 62 mg (0.1 mmol) Mn(II)-oleat, 953 µl (3 mmol) Ölsäure und 1980 µl (6 mmol) Oleylamin in 15 ml Dibenzylether überführt. Im Anschluss war die Reaktionsführung analog derer der Nanoheterodimere.

11 Studien zur Phasenumwandlung von FePt in FePt@MnO-Nanoheterodimeren

11.1 Einleitung

Magnetische Eindomänenpartikel gelten als vielversprechendes Material, um den kontinuierlich wachsenden Bedarf an Datenspeicherkapazität zu decken. Solche Partikel stoßen mit dem superparamagnetischen Limit an ihre Grenzen. Mit immer kleiner werdender Partikelgröße kann die magnetische Anisotropieenergie pro Partikel unter die thermische Energie fallen. Diese Anisotropieenergie ist notwendig, um das magnetische Moment entlang einer bestimmten Achse aufrechtzuhalten. Ab diesem Punkt induzieren thermische Fluktuationen ein zufälliges Kippen des magnetischen Moments und die magnetisch gespeicherte Information geht verloren. FePt-Nanopartikel besitzen in der ferromagnetischen $L1_0$ -Phase eine hohe Ordnung, welche eine sehr hohe Anisotropiekonstante von $K \approx 7 \cdot 10^6 \text{ J/m}^3$ bewirkt.³⁴² Die hohe Anisotropiekonstante senkt den kritischen Durchmesser drastisch, bei dem das Partikel unter das superparamagnetische Limit fällt. So können bei Raumtemperatur 3 nm große, stabil ferromagnetische FePt-Partikel erhalten werden, die mit dem heutigen Standardschreibverfahren für Festplatten, der senkrechten Aufzeichnungstechnik (engl. *Perpendicular Magnetic Recording*), Speicherdichten von bis zu 10 Tbit/in² erreichbar machen können.³⁴³

Erst durch eine thermische Behandlung ($> 600 \text{ }^\circ\text{C}$) kommt es in FePt-Nanopartikeln zu einer Phasenumwandlung von der ungeordneten und flächenzentrierten kubischen A1-Phase zu der geordneten und flächenzentrierten tetragonalen $L1_0$ -Phase. Bei diesem Übergang ordnen sich die Fe- und Pt-Atome von einer stochastischen Verteilung auf den Gitterplätzen in Eisen- bzw. Platin-Lagen an, welche senkrecht zu der c-Achse liegen (siehe Abb. 11-1). Das Anordnen der Atome führt aufgrund der unterschiedlichen Atomradien zu einer Verzerrung der Struktur mit einem Gitterkonstantenverhältnis (c/a) von 0.96. Die Voraussetzung für eine erfolgreiche Phasenumwandlung der $\text{Fe}_x\text{Pt}_{1-x}$ -Partikel in die $L1_0$ -Phase ist eine Stöchiometrie mit $35 \leq x \leq 60$.^{344, 345} In der Literatur wird berichtet, dass im Allgemeinen mit zunehmender Größe der FePt-Nanopartikel der Pt-Anteil steigt. Erklärt wird dieser Befund über den Bildungsmechanismus, bei dem in der frühen Phase Platin-reiche Keime bei einer gleichzeitig langsam ablaufenden Zersetzung von Eisenpentacarbonyl durch die Reduktion von Platin(II)-acetylacetonat entstehen. Mit zunehmender Zersetzung des $\text{Fe}(\text{CO})_5$ diffundieren mehr Eisenatome in die Keime. Die

Diffusionsrate ist dabei abhängig von der Oberfläche der Platin-reichen Keime. Die Oberfläche ist vor allem durch die Größe der Keime vorgegeben, welche wiederum von der Nukleationsrate abhängt und durch die Reaktionsparameter gesteuert werden kann. Da kleinere, Platin-reiche Keime eine im Vergleich große spezifische Oberfläche besitzen, sorgt die höhere Diffusionsrate für einen höheren Eisenanteil als bei größeren FePt-Nanopartikeln.^{317, 346, 347} Zudem konnte beobachtet werden, dass die Stöchiometrie bei einzelnen Partikeln innerhalb einer Probe variieren kann.³⁴⁸

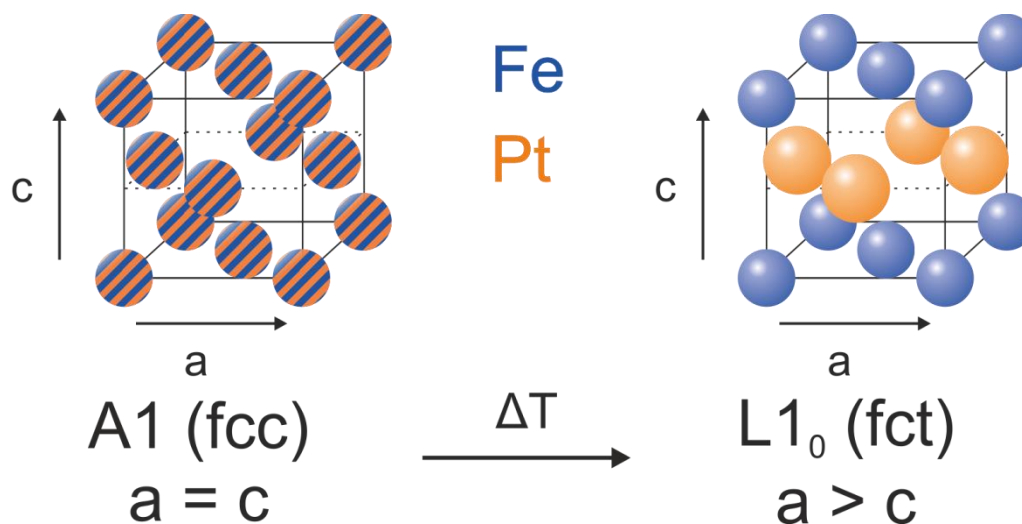


Abb. 11-1. Kristalline Phasen von FePt. Kubisch flächenzentrierte (fcc) A1-Phase mit stochastischer Verteilung auf den Gitterplätzen und flächenzentriert tetragonale (fct) L1₀-Phase mit parallel angeordneten Lagen von Fe- und Pt-Atomen.

Bei der thermischen Behandlung besteht die Gefahr, dass ein Sinterprozess einsetzt. Beim Sintern vergrößern sich die einzelnen Partikel ungleichmäßig und verlieren dabei die einheitliche Form. Liu und Mitarbeiter konnten dies durch das Einbetten der FePt-Nanopartikel in eine NaCl-Matrix mit großem Überschuss an Salz (>400:1) verhindern und so monodisperse FePt-Nanopartikel mit einer hohen magnetischen Anisotropie erhalten.³⁴⁹⁻³⁵¹ Die Matrix wird durch das Abdampfen von Hexan aus einer Suspension mit den Nanopartikeln und dem NaCl gebildet.

Da die FePt@MnO-Heterodimere nach der Umwandlung aus einer harten magnetischen Komponente, FePt in der fcc-Phase, und einer weichen magnetischen Komponente, MnO mit seinen unkompensierten Oberflächenspins, bestand, sollte das System sich wie ein sogenannter *Exchange-spring* Magnet¹⁸ verhalten. Diese verkörpern eine neue Klasse ultrastarker Permanentmagneten. Das hier zu Grunde liegende Prinzip ist, dass die weniger anisotrope Phase (MnO) mit ihrer hohen Magnetisierung die Remanenz erhöht, während die stark anisotrope Phase (FePt) eine hinreichende Koerzitivfeldstärke gewährleistet, so dass ein System mit größtmöglichem Energieprodukt $(BH)_{\max}$ entsteht,

welches das eines Einphasenmagneten bei weitem übertrifft. Da hierbei die harte und weiche Phase durch eine Austauschwechselwirkung an den Grenzflächen miteinander koppeln, muss für eine ausreichende bzw. optimale Wechselwirkung gesorgt sein. Dementsprechend müssen die Strukturen nanoskalig sein, damit sich das System letztendlich wie ein Einkomponentenmagnet verhält. Diese ultrastarken Permanentmagnete sollen in hochentwickelten magnetischen Anwendungen wie bei Hochleistungs-Elektromotoren und -Generatoren große Verbesserungen bringen und möglichst die in ihrer Verfügbarkeit begrenzten, seltenen Erdmagneten ersetzen, die sich aktuell im Einsatz befinden.

In diesem Kapitel wurde die Salzmatrixmethode aufgegriffen, um erste Studien zur Darstellung von FePt@MnO-Heterodimeren mit einer ferromagnetischen FePt-Komponente durchzuführen. Es wurde versucht, monodisperse FePt-Nanopartikel durch Tempern in L1₀-Phase umzuwandeln, um sie als Keime für eine spätere Dimersynthese zu verwenden. Ein anderer Ansatz verfolgte die Umwandlung von FePt@MnO-Dimeren, wie sie in Kapitel 10 beschrieben wurden, durch Tempern ohne Salzmatrix.

11.2 Ergebnisse und Diskussion

11.2.1 Quantitative Bestimmung der Zusammensetzung der FePt-Nanopartikel

Mittels ICP-OES wurde die Zusammensetzung der FePt-Nanopartikel bestimmt, um zu prüfen, ob mit den FePt-Nanopartikeln eine Phasentransformation in die L1₀-Phase erreicht werden kann. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 11-1 zusammengefasst. Alle Proben erfüllten die notwendige Bedingung, dass bei den Fe_xPt_{x-1}-Nanopartikeln eine Stöchiometrie von $35 \leq x \leq 60$ vorliegt. Wie in der Literatur beschrieben, ging tendenziell mit einer Größenabnahme auch eine Abnahme des Eisenanteils einher. Die Schwankungen der chemischen Zusammensetzung ließen sich durch die Empfindlichkeit des Systems auf die verschiedenen Syntheseparameter erklären. So wirkten auf die finale Zusammensetzung das eingesetzte Fe(CO)₅/Pt(acac)₂-Verhältnis, die Reaktionstemperatur, das Ölsäure/Oleylamin-Verhältnis und außerdem die Zugabesequenz der Liganden.³⁴⁰ Im Vergleich zur Originalvorschrift³⁴⁰ wurde nicht das ursprüngliche Dibenzylether/1-Octadecen-Gemisch verwendet, da die Partikel häufig > 5 nm waren.

Tab. 11-1. Chemische Zusammensetzung von FePt-Nanopartikeln bestimmt durch ICP-OES.

| $d_{\text{FePt}} / \text{nm}$ | Fe/Pt (molares Verhältnis) | $\text{Fe}_x\text{Pt}_{100-x}$ | Lösungsmittel |
|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------|
| 5.6 ± 0.5 | $0.77 \pm 5.0\%$ | $\text{Fe}_{44}\text{Pt}_{56}$ | Diocylether |
| 5.7 ± 0.6 | $0.82 \pm 3.7\%$ | $\text{Fe}_{45}\text{Pt}_{55}$ | 1-Octadecen |
| 6.0 ± 0.6 | $0.47 \pm 1.6\%$ | $\text{Fe}_{32}\text{Pt}_{68}$ | Diocylether |
| 6.0 ± 0.5 | $0.59 \pm 5.0\%$ | $\text{Fe}_{38}\text{Pt}_{62}$ | Diocylether |
| 6.6 ± 0.6 | $0.55 \pm 4.4\%$ | $\text{Fe}_{35}\text{Pt}_{65}$ | Diocylether |

11.2.2 NaCl-Matrix

Durch Mahlen von grobkörnigen NaCl in einer Kugelmühle ergaben sich feine NaCl-Kristalle mit einer Ausdehnung von weniger als $10 \mu\text{m}$, wie es lasermikroskopische Untersuchungen in Abbildung 11-2 zeigen.

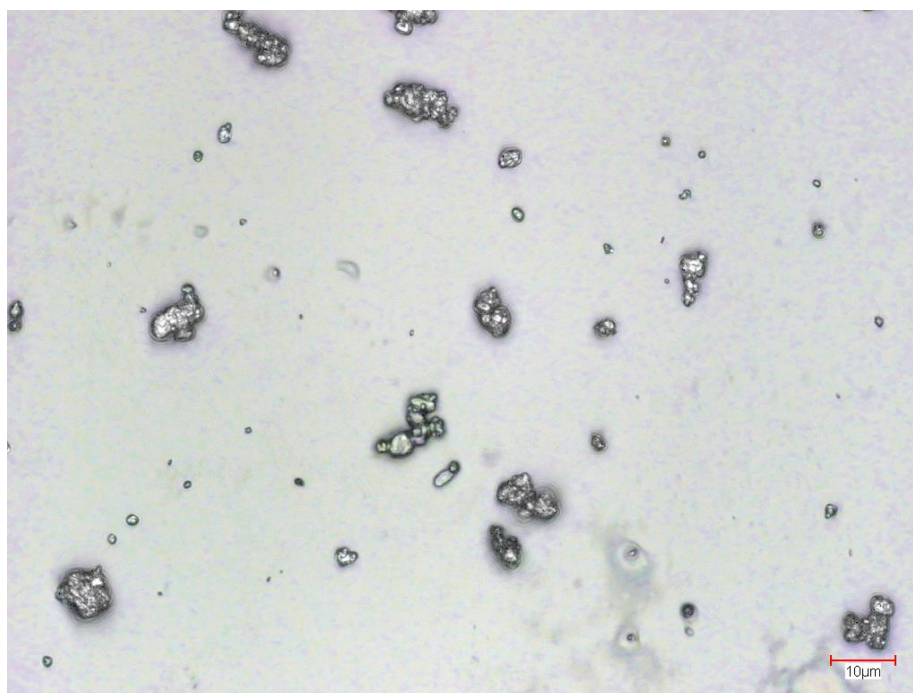


Abb. 11-2. Lasermikroskopische Aufnahme von NaCl-Kristallen nach dem Mahlen mittels Kugelmühle und vor dem Einsatz als Matrix gegen Sinterprozesse.

11.2.3 TEM-Charakterisierung von FePt-Nanopartikeln nach thermischer Behandlung

Obwohl ein Massenüberschuss von mindestens 400:1 an NaCl zu FePt-Nanopartikeln eingesetzt und streng auf eine einheitliche Ausbildung der Matrix (homogene Färbung) geachtet wurde, verdeutlichen TEM-Untersuchungen, dass es zu Sinterprozessen kam.

In Abbildung 11-3 sind ca. 6 nm kubische bis quaderförmige FePt-Nanopartikel vor und nach der thermischen Behandlung bei 700 °C über 4 h gezeigt. Nach der thermischen Behandlung wurden unveränderte Nanopartikel neben vergrößerten Partikeln mit abgerundeter Form vorgefunden.

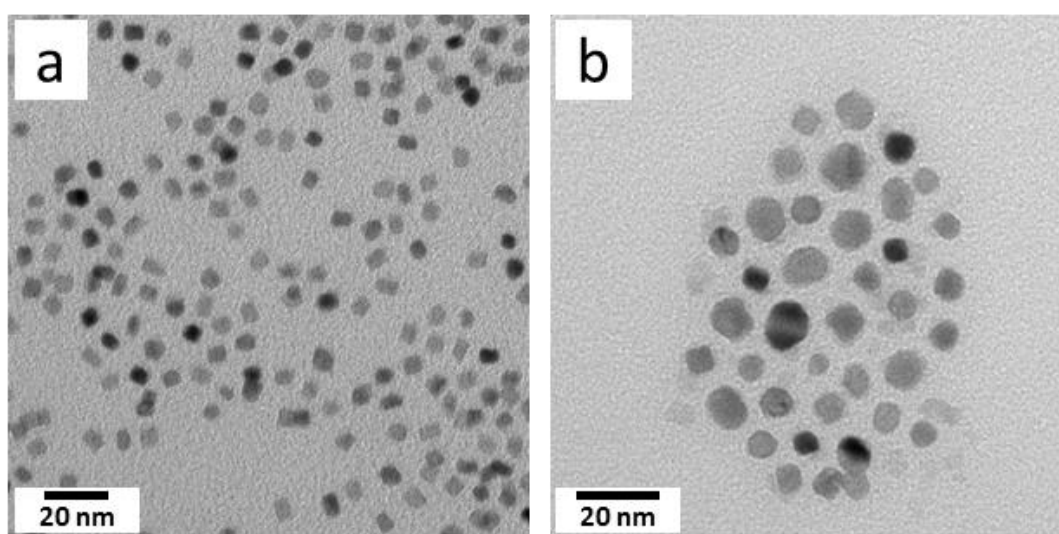


Abb. 11-3. TEM-Aufnahmen von 5.7 nm Fe₄₅Pt₅₅-Nanopartikel vor (a) und nach (b) dem Tempern bei 700 °C für 4 h in einer NaCl-Matrix unter Formiergasatmosphäre.

11.2.4 SQUID-Magnetometrie von FePt-Nanopartikeln nach thermischer Behandlung

In Abbildung 11-4 sind die magnetischen Daten der FePt-Nanopartikel vor der thermischen Behandlung wiedergegeben. Während die Magnetisierungskurve bei Raumtemperatur typisch für paramagnetische Materialien war, lieferte sie bei 5 K eine Hysterese mit einer Magnetisierung von ca. 15 emu/g bei 5 T und $H_c = 2.1$ kOe (Abb. 11-4 a). Die feldabhängige ZFC-Kurve erreichte ein schmales Maximum mit $T_B = 28$ K (Abb. 11-4 a).

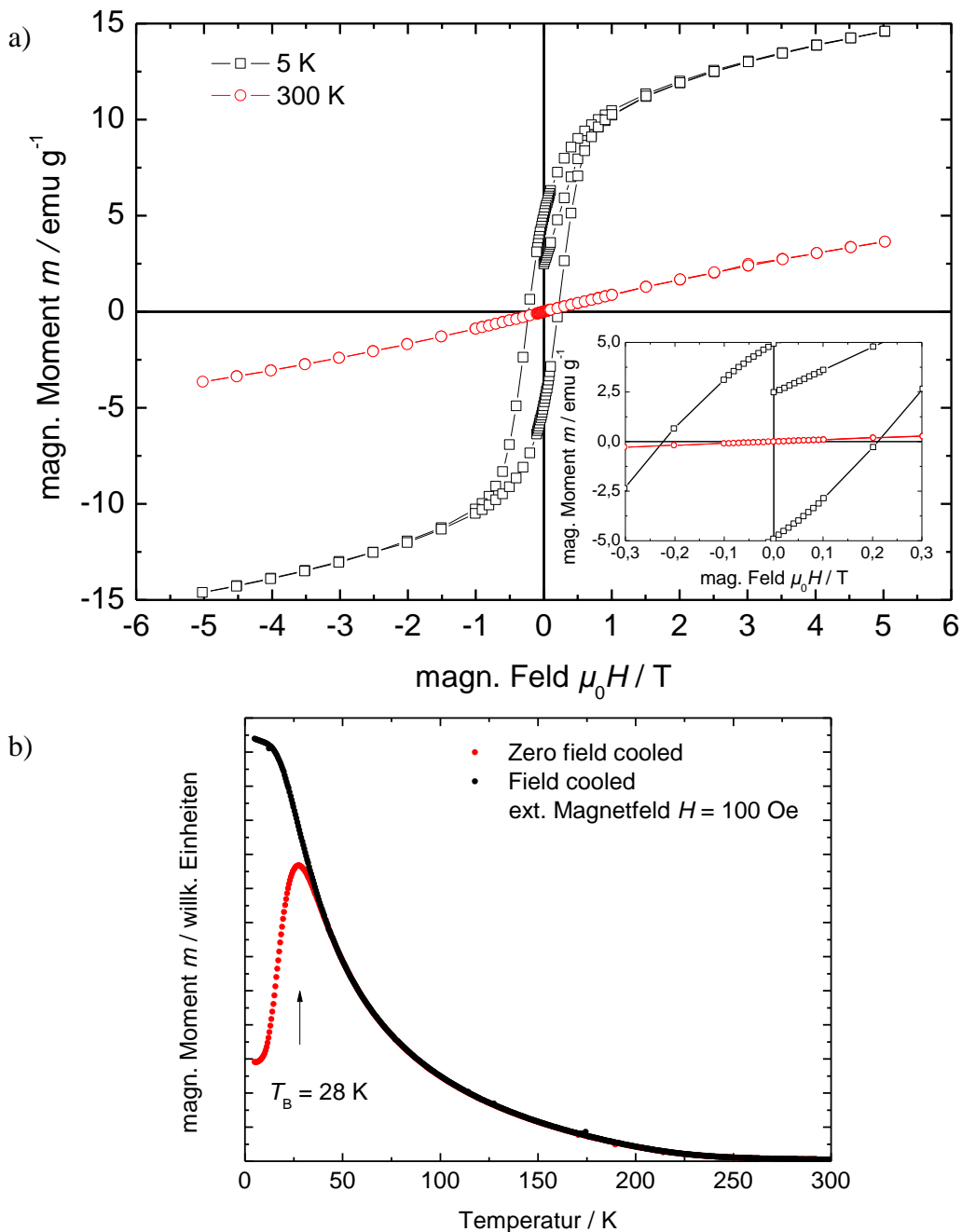


Abb. 11-4. 5 K und 300 K Hystere (a) sowie ZFC- und FC-Kurve (b) von 5.7 nm $\text{Fe}_{45}\text{Pt}_{55}$ -Nanopartikeln ohne thermische Behandlung.

Nach der thermischen Behandlung waren deutliche Unterschiede der magnetischen Eigenschaften zu beobachten (siehe Abb. 11-5 a und b). Die Hysteresis bei 5 K war wesentlich ausgeprägter und die Magnetisierung bei 5 T sowie H_c stiegen auf ca. 35 emu/g bzw. 2.6 kOe. Der paramagnetische Verlauf der Magnetisierungskurve bei 300 K wich einem ferromagnetischen. Diese Hysteresis hatte eine Magnetisierung von 44 emu/g bei 5 T und eine Koerzitivfeldstärke von $H_c = 2.0$ kOe. Zudem lag der Schnittpunkt der ZFC/FC-

Kurve in Abbildung 11-5 a nun bei einem Wert von knapp über 300 K, was ein weiteres Indiz für die gestiegene Blockierungstemperatur der Nanopartikel war. Trotz alledem waren die Koerzitivfeldstärken (H_c) der getemperten Nanopartikel mit weniger als 0.3 T im Vergleich zu Literaturwerten sehr gering, welche bei harten Magneten über 1 T liegen.^{352,}

353

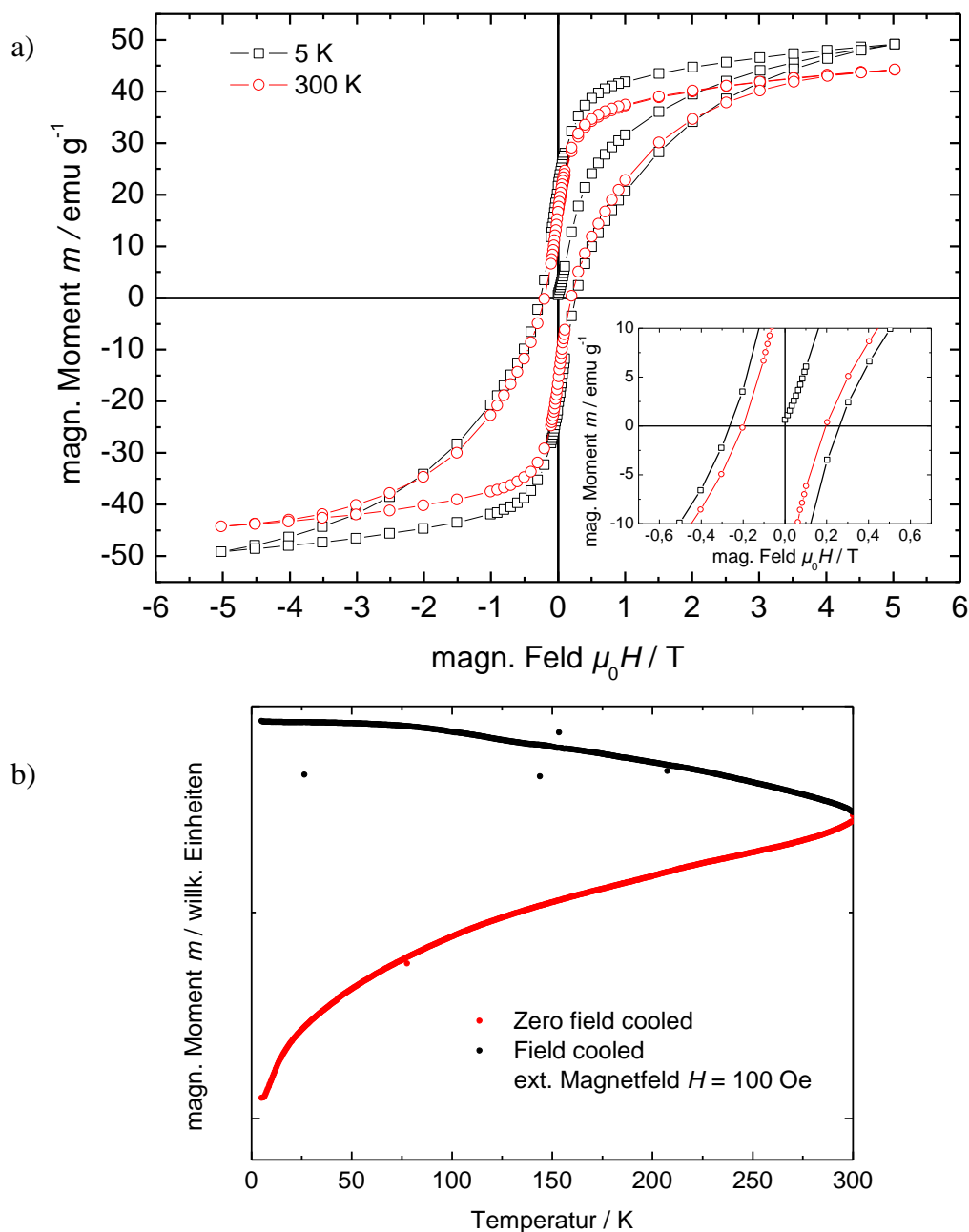


Abb. 11-5. 5 K und 300 K Hystere (a) sowie ZFC- und FC-Kurve (b) von 5.7 nm $\text{Fe}_{45}\text{Pt}_{55}$ -Nanopartikeln nach dem Tempern bei 700 °C für 4 h in einer NaCl-Matrix unter Formiergasatmosphäre.

11.2.5 Redispersionsversuche von FePt nach der thermischen Behandlung

Versuche, die Nanopartikel nach der thermischen Behandlung wieder langzeitstabil zu dispergieren, brachten bisher keinen Erfolg. Hierfür wurden Ölsäure und katecholhaltige PEG-Polymere eingesetzt, welche in Hexan oder in Chloroform per Ultraschallbadbehandlung als Schutzliganden an die Partikel binden sollten. Es war anzunehmen, dass bei den hohen Temperaturen und reduzierenden Bedingungen sich durch den Zersetzungsprozess der Liganden Ölsäure und Oleylamin ein Kohlefilm um die Partikel bildete.³⁵⁴

11.2.6 Phasenumwandlungen der FePt in FePt@MnO-Heterodimeren

Da Mangan(II)-oxid als Volumenmaterial einen Schmelzpunkt von weit über 1000 °C besitzt, wurde die Möglichkeit getestet, ob die größere MnO-Domäne die FePt-Domäne beim Tempern schützen kann, ohne dass es einer zusätzlichen Matrix bedarf. Hierfür wurden FePt@MnO-Heterodimere auf TEM-Grids aufgetragen und bei verschiedenen Temperaturen und Zeiten in Argonatmosphäre erhitzt (siehe Abb. 11-6).

Bei Temperaturen bis einschließlich 600 °C wurden für Anordnungen, bei den die Partikel nicht oder nur geringfügig über die MnO-Domäne miteinander in Kontakt standen, keine Veränderungen der Heterodimere beobachtet (siehe Abb. 11-6 a – d).

Interessanterweise schien die MnO-Domäne bei Temperaturen um 650 °C selbst zu sintern, was in den Abbildungen 11-6 e und f, die von zwei unabhängigen Experimenten stammen, zu erkennen ist. Nach aktuellem Stand der Literatur gibt es keine Studien über das Schmelzverhalten von MnO-Nanopartikeln. Es ist jedoch bekannt, dass mit abnehmender Größe die Schmelztemperatur von Nanopartikeln mehrere hundert Grad unter dem Schmelzpunkt des makroskopischen Volumenmaterials liegen kann.³⁵⁵

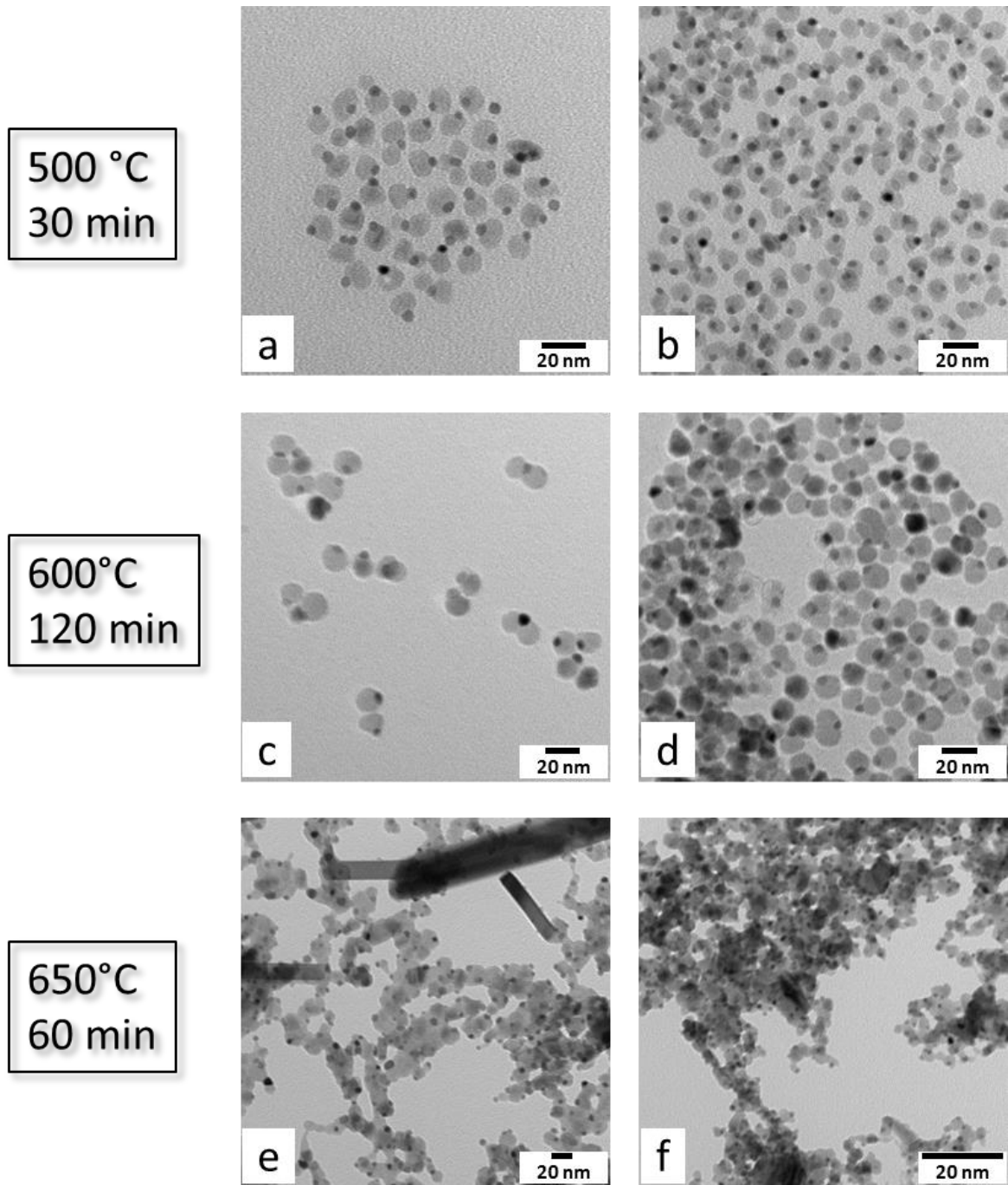


Abb. 11-6. TEM-Aufnahmen von auf TEM-Grids getemperten FePt@MnO-Nanopartikel. Ab 650 °C unter Argonatmosphäre wuchsen die Manganoxid-Domänen zusammen. Die Probe im Bild e wies stäbchenförmige Verunreinigungen auf.

11.3 Zusammenfassung und Ausblick

Durch Tempern von 6 nm FePt-Nanopartikeln unter Sauerstoffausschluss in einer NaCl-Matrix konnten ihre magnetischen Eigenschaften, wie Koerzitivfeldstärke und Sättigungsmagnetisierung, verbessert werden. Die Nanopartikel zeigten nun anstelle des superparamagnetischen ein ferromagnetisches Verhalten, was als ein klares Indiz dafür war, dass eine Phasenumwandlung in die $L1_0$ -Phase stattgefunden haben musste. Dabei zeigten die im Vergleich zum makroskopischen Festkörper noch verhältnismäßig niedrigen, magnetischen Werte und die durch Sinterprozesse gestiegene Dispersität der Partikel, dass die Prozessparameter beim Tempern noch optimiert werden müssen. Gegen die Sinterprozesse könnten mehr und/oder kleiner gemahlene NaCl-Kristalle Abhilfe schaffen. Da ICP-MS-Untersuchungen der verwendeten FePt-Nanopartikel ein nahezu optimales Fe- zu Pt-Verhältnis von 1:1 bestätigten, sollte die Steigerung der magnetischen Kenngrößen eher durch ein Tempern mit längeren Zeitintervall und/oder höheren Temperaturen erreicht werden. Allerdings wurden bei getemperten FePt-Nanopartikeln eine nichtmagnetische Schale beobachtet, welche die magnetischen Größen verringerte und aus dem Zersetzungsprozess der Oberflächenliganden stammte.³²⁸ Des Weiteren schien sich beim Zersetzungsprozess ein abschirmender Kohlefilm auszubilden,³⁵⁴ da die FePt-Nanopartikel sich nicht mehr durch Zugabe von Oberflächenliganden redispersieren ließen. Dieses wäre jedoch für das Aufwachsen der MnO-Domänen im zweiten Schritt unerlässlich. Möglicherweise könnte hier ein anderer Ansatz zum gewünschten Ergebnis führen. In der Literatur³⁵³ wurde alternativ die Verwendung einer MgO-Schale für FePt-Nanopartikel beschrieben, welche den Sinterprozess verhinderte und im Anschluss mit verdünnter HCl wieder entfernt wurde. Die FePt-Nanopartikel waren nach dieser Prozedur wieder in organischen Lösungsmitteln stabil dispergierbar.

Bei ersten Hochtemperaturexperimenten von bereits fertigen FePt@MnO-Nanoheterodimeren zeigte sich mit geringen Mengen auf TEM-Grids, dass die MnO-Domäne die Sinterprozesse der FePt-Nanopartikel verhinderte. Allerdings sinterten die MnO-Domänen selbst bereits bei ca. 650 °C, was einer drastischen Senkung der Schmelztemperatur entsprach, jedoch ein bekanntes Phänomen bei Nanopartikeln ist. Experimente mit größeren Ansätzen und die dazugehörigen magnetischen Messungen stehen noch aus.

Nach einer erfolgreichen Phasenumwandlung von FePt@MnO mit der Konsequenz extrem hartmagnetischer Eigenschaften könnte unter anderem das Pressen des Materials zu einem Werkstück erfolgen. Zudem wäre ein weiterer interessanter Punkt die Frage, inwieweit die Phasenumwandlung der FePt-Nanopartikel auf die im vorherigen Kapitel festgestellte strukturelle Anomalie der Epitaxie von FePt@MnO einen Einfluss übt.

11.4 Experimentelles

Zusätzliche experimentelle Informationen wie eine Übersicht der verwendeten Chemikalien und der Analyseverfahren finden sich im Kapitel 14.

11.4.1 Synthese der 6 nm FePt- und FePt@MnO-Nanopartikel

Die Synthese der 6 nm FePt-Nanopartikel erfolgte wie in Abschnitt 10.4.2 beschrieben, jedoch mit der leichten Abänderung, dass entweder nur 1-Octadecen oder Dioctylether verwendet wurde.

11.4.2 Einbinden der FePt-Nanopartikel in der NaCl-Matrix

NaCl wurde in einer Kugelmühle von Retsch, Model MM200, mit 3 Kugeln bei 30 Hz für 99 min gemahlen. Das gemahlene NaCl wurde mit einem Massenüberschuss von mindestens 400:1 mit den FePt-Nanopartikeln unter Zugabe von Hexan vereint. Im Anschluss wurde das Hexan unter starkem Rühren abgedampft, so dass eine homogene Braunfärbung des Salzes erreicht wurde.

11.4.3 Tempern der FePt- und FePt@MnO-Nanopartikel

Die Phasenumwandlungen der FePt- und der FePt@MnO-Nanopartikeln wurden in einem Hochtemperatur-Rohröfen, Modell MTF 12/38/400 von Carbolite, durchgeführt. Die Proben wurden auf einem Korundschiffchen entweder unter einem Argon- oder Formiergasstrom (Wasserstoff/Argon) erhitzt. Nachdem die Apparatur 30 min mit Argon bzw. Formiergas geflutet worden war, wurde das Heizprogramm mit 10 °C/min gestartet. Die eingestellte Endtemperatur wurde für das programmierte Zeitintervall gehalten. Im Anschluss kühlte der Ofen mit 10 °C/min bis auf Raumtemperatur ab. Allerdings kam es zu Abweichungen der eingestellten Heiz- bzw. Kühlraten, insbesondere beim Abkühlprozess.

Durch Waschen mit Reinstwasser und Zentrifugieren bei 9000 U/min für 3 min wurde das Salz entfernt. Im Anschluss wurde der Niederschlag getrocknet. Versuche, die Partikel in Hexan mit Zugabe von Ölsäure, bzw. in Chloroform mit Zugabe Dopamin-endständigen PEG-Polymeren im Ultraschallbad zu redispergieren, brachten keinen Erfolg.

Die FePt@MnO-Heterodimere wurden wie in Kapitel 14.3.1 beschrieben auf einem mit Kohlenstofffilm beschichteten TEM-Grid präpariert und ohne Salzmatrix unter den gleichen Bedingungen erhitzt.

12 Einfluss äußerer Felder auf das Wachstum von Mesokristallen aus FePt@MnO-Nanodimeren

12.1 Einleitung

Nicht nur intrapartikuläre Aspekte wie die Kristallstruktur, sondern auch interpartikuläre Effekte können Einfluss auf die magnetische Anisotropie haben. Zum Beispiel konnte an ferromagnetischen Cobalt-Nanopartikeln in einer antiferromagnetischen Cobaltoxid-Matrix gezeigt werden, dass durch den Exchange Bias-Effekt zusätzlich ein stabilisierender Beitrag zur magnetischen Anisotropie auftrat. Als Folge sank das superparamagnetische Limit der Partikel.¹³⁴

Zwar können die makroskopischen magnetischen Eigenschaften solcher Systeme anhand von ZFC/FC-Messungen ermittelt werden, doch ermöglichen Untersuchungen über die individuellen magnetischen Momente der einzelnen Dimere und der Partikel in Abhängigkeit von einem angelegten Feld tiefergehende Aussagen über die Spinstruktur und magnetisches Umschaltverhalten. Ferner könnten geordnete Strukturen von magnetischen Nanopartikeln eine weitere Verbesserung bringen oder sogar zu neuen Materialien führen.¹⁹⁻²³ Diesen Ansätzen wurde in einer Zusammenarbeit mit dem Forschungszentrum Jülich nachgegangen. Sowohl der Einfluss der magnetischen Morphologie des Partikels als auch äußere Einflüsse auf die Selbstorganisation der Nanodimere mittels verschiedener Messtechniken von Röntgenkleinwinkelstreuung an den von uns dargestellten FePt@MnO-Nanodimeren wurden untersucht.

Die in diesem Kapitel kurz vorgestellten Ergebnisse beruhen auf der Kooperation mit dem Forschungszentrum Jülich.³⁵⁶ Es wurden temperaturabhängige Magnetisierungsmessungen zur Bestimmung der magnetischen Eigenschaften durchgeführt. Die Partikel-Morphologie wurde mittels Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS, engl. *Small Angle X-Ray Scattering*) und anomaler Röntgenkleinwinkelstreuung (ASAXS, engl. *Anomalous Small Angle X-Ray Scattering*) an der Beamline B1 und die auf dem Substrat aufgetragenen Nanopartikeln wurden mittels Röntgenkleinwinkelstreuung unter streifendem Einfall (GISAXS, engl. *Grazing Incidence Small Angle X-Ray Scattering*) an der Beamline BW4 am HASYLAB/DESY in Hamburg charakterisiert.

12.2 Ergebnisse und Diskussion

In den Röntgenkleinwinkelstreuexperimenten wurden Konzentrationsreihen von FePt@MnO-Nanodimeren mit den Größen 5nm@10nm und 5nm@14nm in Toluol vermessen (siehe Abb. 12-1). Ein Formfaktormodell für Nanopartikel mit ausschließlich sphärischen Untereinheiten wurde hergeleitet und anhand der Daten überprüft. Die Radien beider sphärischer Untereinheiten der Nanopartikel sowie die Größenverteilungen konnten mit Ungenauigkeiten von 6 % bestimmt und das Formfaktormodell für Dimere bestätigt werden. Der große Vorteil dieser Methode gegenüber der Elektronenmikroskopie war, dass ein großer Bereich der Probe untersucht werden konnte. Der Nachteil wiederum war, dass es sich hierbei um eine Untersuchung im reziproken Raum handelte. Durch den Verlust der Phaseninformation waren Eingangsinformationen zur Verifikation notwendig, um Formfaktormodelle anpassen zu können.

Als problematisch hierbei erwies sich, dass zum einen mit zunehmender Partikelgröße die Abweichung von der idealen Kugelform immer stärker wurde und dass zum anderen wegen des epitaktischen Aufwachsens die MnO-Domäne keine perfekte Kugel bildete, so dass der Abstand zwischen den Kugelmittelpunkten nicht angepasst werden konnte.

Der Vergleich der Daten aller Konzentrationen im kleinen Q -Bereich ließ darauf schließen, dass die Partikel in der Lösung weder agglomerierten noch sie sich gegeneinander ausrichteten, so dass kein zusätzlicher Strukturfaktor auftrat.

Mit der anomalen Kleinwinkelstreuung konnten die Beiträge der Untereinheiten jeder Probe separat untersucht werden, da hier die Streuung der Proben bei mehreren Energien nahe der Resonanzabsorptionskante von Mangan und von Platin gemessen wurde. Daher konnte die Größe und Größenverteilung der MnO-Partikel exakter bestimmt werden als mit SAXS Experimenten. Es war dabei zudem möglich, die Radien der MnO-Partikel aus den SAXS Messungen innerhalb der Fehlergrenzen mit ASAXS zu bestätigen, so dass nur sehr große Unterschiede in den Dispersitäten Einfluss auf den Dimerformfaktor hatten.

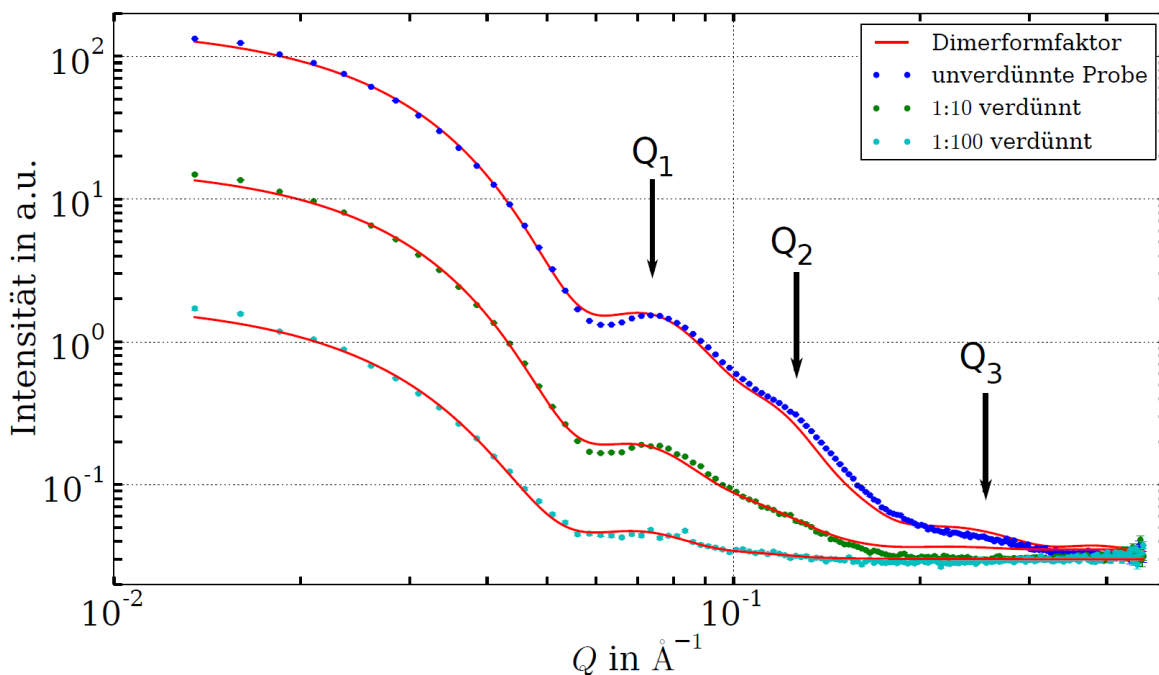


Abb. 12-1. Röntgenkleinwinkelstreuung an drei verschiedenen Lösungszuständen der FePt@MnO-Nanodimere. Es ist Intensität in Abhängigkeit vom Betrag des Streuvektors Q doppeltlogarithmisch aufgetragen. Aus dem Kurvenverlauf und der Maxima ($Q_{1,2,3}$) konnten die Dimerformfaktoren und somit die Größe und Größenverteilung der einzelnen Untereinheiten der Dimere bestimmt werden. Die in guter Näherung gleiche Steigung bei kleinen Q -Werten verdeutlichte, dass die Partikel nicht agglomerieren (aus ³⁵⁶).

Für die strukturelle Untersuchung der Anordnung in Mesokristallen in GISAXS Experimenten wurden die Proben auf Siliziumwafer mit natürlicher Siliziumoxid-Schicht mit der Drop-Casting Methode aufgetragen und die Auswirkung mehrerer Parameter auf die Selbstordnung der Dimere während des Trocknens überprüft. Während die Nanodimere nur eine geringe Ordnung durch natürliche Selbstorganisation, also ohne den Einfluss äußerer Bedingungen, ausbildeten, konnte die Ordnung durch das Anlegen äußerer Magnetfelder erhöht werden, insbesondere unter dem Einfluss eines inhomogenen Magnetfeldes mit Gradient nach oben. Hier ordneten sich die Nanodimere zu einer oder mehreren Monolagen parallel zur Oberfläche des Substrats, was im folgenden GISAXS-Streubild (Abb. 12-2) zu erkennen ist.

Ein homogenes, parallel zum Substrat anliegendes Magnetfeld begünstigte ebenfalls die Ausbildung von geordneten Strukturen, die sich vorzugsweise am Substrat orientierten. Das Zusammenwirken mehrerer Parameter steigerte die Ordnung deutlich, da beispielsweise eine Kombination aus dem Magnetfeld und dem Schrägstellen des Substrates die Orientierung am Substrat förderte.

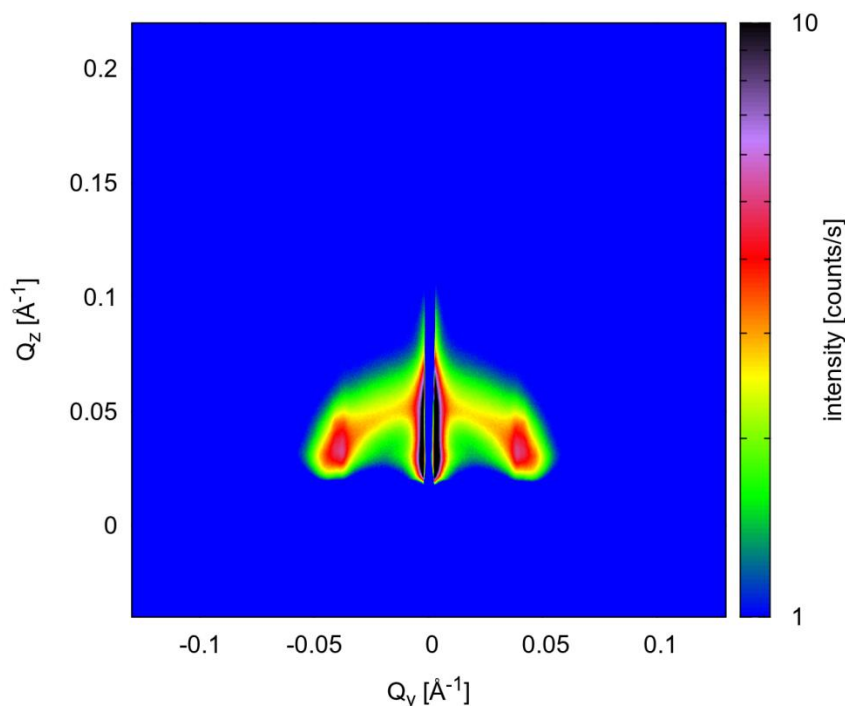


Abb. 12-2. GISAXS-Streubild von FePt@MnO-Nanodimeren. Die Probe wurde in einem inhomogenen Magnetfeld Gradient nach oben auf einem Siliziumwafer mittels Drop-Casting aufgetragen. Die Belichtungszeit betrug 30 s. Die zwei korrespondierenden Peaks auf der Yoneda-Linie bei $Q_{y1} = -3.7 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$ und $Q_{y2} = 3.8 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$ lassen auf eine laterale Ordnung der Nanodimere schließen. Um den Detektor vor Sättigung zu schützen, wurde bei dieser Messung ein Beamstop eingesetzt (blauer Bereich im Zentrum mit geringer Intensität im Zentrum) (aus ³⁵⁶).

Bei allen beobachteten Ordnungen handelte es sich um eine oder wenige Monolagen, also nur um Superlattices, da lediglich ein Signal vorhanden war, welches in Q_z -Richtung ausschmierte, und da Peaks höherer Ordnung vollständig ausblieben. Die Herstellung von dreidimensionalen Mesokristallen gelang nicht. Hierfür werden mehrere Gründe vermutet. Bei den verwendeten Proben waren noch wenige freie FePt-Nanopartikel vorhanden. Die Selbstordnung zu dreidimensionalen Strukturen gestaltet sich bei Dimeren generell schwieriger, da durch die Verknüpfung der Untereinheiten wesentlich weniger Freiheitsgrade im Aufbau zu Verfügung stehen als im Vergleich zu Systemen mit nur einer Nanopartikelsorte oder zu binären Systemen³⁵⁷⁻³⁵⁹, welche sich aus zwei unterschiedlichen Nanopartikelsorten zusammensetzen. Es ist davon auszugehen, dass die vorgefundene Ordnung dadurch von den größeren MnO-Domänen der Partikel dominiert wurde, während sich die FePt-Partikel in für sie günstige Lücken einordneten.

Über die aus ZFC- und FC-Messungen bestimmte Blockierungstemperatur konnte eine Anisotropiekonstante für die Nanodimere mit $K = 3.28 \cdot 10^3 \text{ J/m}^3$ berechnet werden.

12.3 Zusammenfassung und Ausblick

Auf Basis der FePt@MnO-Nanodimere konnte in einer Kooperation mit dem Forschungszentrum Jülich durch Kleinwinkelstreuung und anormale Kleinwinkelstreuung ein Formfaktormodel für die Nanodimere aufgestellt und bestätigt werden. Des Weiteren war es möglich durch Nutzen der magnetischen Eigenschaften der Partikel mittels eines angelegten Magnetfeldes geordnete Strukturen der Nanodimere zu schaffen. Dank der vielversprechenden Ergebnisse werden weitere Messungen am Synchrotron erfolgen, bei denen die strukturellen und magnetischen Eigenschaften von MnO- und FePt-Nanopartikeln gemessen und mit denen der FePt@MnO verglichen werden sollen, um das Zustandekommen der veränderten Eigenschaften der Dimere gegenüber den einzelnen Komponenten detailliert zu ergründen. Ein weiteres, langfristiges Ziel ist die Optimierung der Parameter für den gezielten Aufbau von Mesokristallen durch Selbstorganisation. Die Kooperation ist darüber hinaus um eine Zusammenarbeit mit dem Instituts Laue-Langevin, Grenoble, erweitert worden. Hier sollen mit zeitaufgelöster Neutronenstreuung im oszillierenden Magnetfeld der Einfluss der anisotropischen Form des Exchange Bias auf die Néel-Relaxation untersucht werden. Das tiefere Verständnis der Magnetisierungsdynamik sowie der Korrelation der magnetischen und elektrischen Eigenschaften von Nanoheterodimeren könnte große Beiträge zur Darstellung neuer, multifunktionaler Materialien liefern.

13 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese magnetischer Nanopartikel und ihrer Funktionalisierung für biomedizinische Zwecke. Dazu wurde die Methode der Zersetzung metallorganischer Vorstufen in hochsiedenden Lösungsmitteln mit anschließendem Ligandenaustausch verwendet.

Zunächst wurden superparamagnetische, sphärische Eisenoxid-Nanopartikel in variabler Größe (13 – 25 nm) mit sehr geringer Größenverteilung mittels einer literaturbekannten Synthese aus Eisen(III)-oleat in 1-Octadecen dargestellt. Sie bildeten in organischen Lösungsmitteln stabile kolloidale Lösungen. Insbesondere Mößbaueruntersuchungen zeigten, dass es sich bei diesen Nanopartikeln um eine Mischphase aus Maghemit und Magnetit handelte, bei der der Magnetitanteil mit zunehmender Größe anstieg.

Darüber hinaus wurde der Einfluss von Kupferadditiven auf die Formgebung von Eisenoxid-Nanopartikeln untersucht. Studien zeigten, dass zugesetzte Kupferionen während der Synthese nur indirekt über ein verändertes Verhältnis freier Liganden Einfluss nahmen. Somit sind Kupferadditive weniger als universelles formgebendes Element bei der Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln geeignet.

Durch Vorlage monodisperser Gold-Nanopartikel (~ 3 nm) als Keime und anschließender Zugabe von Eisenpentacarbonyl unter Anwesenheit von Ölsäure in 1-Octadecen konnten superparamagnetische Gold@Eisenoxid-Dimere synthetisiert werden. Die Größe der Eisenoxid-Domäne war ca. 18 nm, wobei es aufgrund der geringen Größe der Gold-Nanopartikel zu einem Verwachsen der Eisenoxid-Domänen kam und so teilweise „nierenförmige“ und Multimernanopartikel entstanden. Auch hier bestand die Eisenoxid-Domäne aus einer Mischphase von Maghemit und Magnetit mit wachsendem Anteil an Magnetit bei zunehmender Größe.

Da bei Keim-vermittelten Nanopartikelsynthesen häufig noch freie Keime zurückblieben, wurde in Kooperation mit der Bundesanstalt für Materialforschung die asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung als Aufarbeitungsmethode für die Gold@Eisenoxid-Dimere getestet. Dies ist vor allem im Hinblick auf die zunehmende Bedeutung von Syntheseverfahren im kontinuierlichen Fluss in der Mikroprozessertechnik von großem Interesse. Durch das Größen-trennende Verfahren konnten höchst effizient nicht umgesetzte Goldkeime von den Heterodimeren abgetrennt werden.

Sowohl die Eisenoxid-Nanopartikel als auch die Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimere zeigten in zellbiologischen Studien nach multifunktionalen

Oberflächenfunktionalisierungen interessante Ergebnisse. Die Eisenoxid-Nanopartikel wurden hierfür mit einem bioabbaubaren Polymer funktionalisiert, welches aus dem Kettenpolymer Poly(pentafluorophenyl)acrylat bestand und dessen Pentafluorophenyl-Gruppen zuvor sukzessiv mit 3-Hydroxytyramin, einem Fluoreszenzfarbstoff und einem bis-amino-funktionalisierten Polyethylenglycol ersetzt wurden. Zudem wurden immunstimulierende CpG-Oligonukleotide kovalent an das Polymer gebunden. Anschließend wurde in Zusammenarbeit mit der Universität Göttingen der lysosomal-vorkommende, Toll-ähnliche Rezeptor in A549-Lungenkarzinomzellen durch die Verabreichung von entweder diesen Eisenoxid- oder Mangan(II)-oxid-basierten Nanopartikeln stimuliert. Die Auswirkung der TLR-9-Aktivierung auf die Zellmotilität und auf die Zellmorphologie wurde unter Einsatz von zeitaufgelöster Impedanzspektroskopie nachverfolgt. Im Gegensatz zu den zytotoxischen, auf MnO-basierenden Nanopartikeln, stellten die Partikel aus Eisenoxid nicht-toxische CpG-ODN-Transporter dar. Die CpG-ODNs stimulierten effizient TLR-9 der Lungenkrebszelllinie A549, was in einer gesteigerten Mikromotilität und einem Verlust an Barriereigenschaften resultierte. Verglichen mit frei von Partikeln verabreichten CpG-ODNs boten partikelbehaftete Nukleotide eine deutlich effizientere Stimulierung, was der größeren, lokalen Konzentration an Liganden auf der Partikeloberfläche zugeschrieben wurde. Unsere Studien zeigten, dass die partikelgebundenen CpG-ODNs zu einer erhöhten Motilität der Krebszellen führten. Aus diesem Grund könnte darüber hinaus auch ihre Invasivität und ihr metastatisches Potential gesteigert werden, was der ursprünglichen Strategie der Immuntherapie entgegenwirken würde.

Anstelle einer Polymerfunktionalisierung wurden die Eisenoxid-Nanopartikel und die Gold@Eisenoxid-Nanoheterodimere mit einer multifunktionalen Silica-Schicht ummantelt. In den Mizellen einer Wasser-in-Öl-Emulsion, welche durch Zugabe von Igepal® CO-520 und Ammoniak in Cyclohexan ausgebildet wurden, wurde schrittweise die Silica-Schale aufgebaut. Durch Beifügen von Tetraethoxysilan, dem Farbstoff FITC, 2-[Methoxy(polyethyleneoxy)propyl]trimethoxysilan und 3-Aminopropyltriethoxysilan entstand eine fluoreszierende Silica-Schale. Diese machte die Partikel wasserlöslich und trug zusätzlich auf der Oberfläche freie Aminogruppen als Ankergruppen für Biomoleküle. Wenn die Gold-Domäne in den Dimeren vor der Silica-Ummantelung mit 1-Octadecanthiol belegt wurde, blieb die Gold-Domäne frei von Silica. Nach der Silica-Ummantelung wurde eine asymmetrische Funktionalisierung durchgeführt und Janus-Partikel erhalten.

In Kooperation mit der Universitätsklinik Jena wurde die Wirkung von verschiedenen Gold@Eisenoxid-Janus-Partikel *in vitro* untersucht, um ihre spezifische Aufnahme zu verstehen und potenzielle zytotoxische Effekte auf menschliche Blutzellen zu prüfen. Die

Wirkung der Janus-Partikel auf die Zellen hing im Wesentlichen von drei Faktoren ab. (1) Von der Oberflächenfunktionalisierung: Die NH_2 -Funktionalisierung auf der Gold- oder Eisenoxid-Domäne induzierte im Gegensatz zu den nichtfunktionalisierten Varianten eine ausgeprägte Reduktion der Zellviabilität, welche durch einen Schaden an intrazellulären Membranen verursacht wurde. (2) Von der Eigenschaft der Metalloxidkomponente im Vergleich mit gleich aufgebauten Gold@Manganoxid-Heterodimeren. (3) Von der Tatsache, dass die gesamte Oberflächenladung und die Größe der Nanopartikel einen größeren Einfluss auf die Internalisierung und Zellmetabolismus als der Janus-Charakter *per se* hatten. Dabei zeigten die mit Silica-teilmantelten Gold@Eisenoxid-Janus-Partikel eine bessere Biokompatibilität als die Silica-ummantelten Eisenoxid-Nanopartikel. Beide wiesen eine deutliche Unbedenklichkeit gegenüber den Endothelzellen auf, jedoch nur die Dimere mit freier Gold-Domäne zeigten einen antioxidativen Effekt. Zusammenfassend lassen die Ergebnisse insbesondere für die Silica-teilmantelten $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4$ -Janus-Partikel auf ein großes Potential für *in vivo*-Applikationen schließen.

Neuartige FePt@MnO -Nanoheteropartikel mit geringer Größenverteilung sowie kontrollierbarer Größe und Morphologie der einzelnen Domänen wurden ebenfalls über eine keimvermittelte Synthese dargestellt. Auf monodispersen, superparamagnetischen FePt -Nanopartikeln wuchsen durch Zersetzung von Mangan(II)-oleat Manganoxid-Domänen. So konnten verschieden aufgebaute Partikel, von Dimeren bis zu Heteromultimeren, erhalten werden, indem verschiedene Syntheseparameter wie zum Beispiel die Elektronendichte des Lösungsmittels variiert wurden. Mittels hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie wurde herausgefunden, dass die MnO -Domäne bevorzugt auf der (111) Oberflächen der *fcc*- FePt -Nanopartikel wuchsen. Zudem trat eine zweidimensionale Defektstruktur mit zusätzlicher Gitterebene alle 8 bis 9 Reihen auf, so dass es sich hierbei anscheinend um die selten vorkommende Epitaxie durch Domänenanpassung statt der sonst auftretenden Epitaxie durch Gitterfehlanspassung handelte. Ferner koppelten bei tiefen Temperaturen die Oberflächenspins der antiferromagnetischen MnO -Domäne mit den magnetischen Momenten der FePt -Nanopartikel und erzeugten dabei einen Exchange Bias-Effekt in der Hysterese.

Durch eine Umwandlung der (*fcc*) A1-Phase in (*fcc*) L_{10} -Phase der FePt -Domäne in den FePt@MnO -Heterodimeren wurde eine Verstärkung der magnetischen Phänomene vermutet, da bei den FePt -Nanopartikeln ein Wechsel vom superparamagnetischen zum stark ferromagnetischen Verhalten einhergeht. Aus diesem Grunde wurden erste Studien zur Darstellung von FePt@MnO -Nanopartikeln mit einer stark ferromagnetischen FePt -Komponente durchgeführt. Zum Schutz gegen Sinterprozesse wurden die FePt -Nanopartikel in eine NaCl -Matrix eingebettet. Nach thermischer Behandlung waren die FePt -Nanopartikel bei Raumtemperatur ferromagnetisch. Jedoch waren die Partikel trotz

Matrix nicht mehr monodispers und dispergierbar. Bei ersten Versuchen der direkten Umwandlung von Heterodimeren wurde beobachtet, dass die MnO-Schale ein mögliches Sintern der FePt-Domäne verhinderte. Allerdings waren die umgesetzten Mengen für weitere Messungen zu gering.

Im Hinblick auf ein tieferes Verständnis für die magnetische Struktur der FePt@MnO-Nanoheterodimere wurden diese in einer Kooperation mit dem Forschungszentrum Jülich mittels Kleinwinkelstreuung und anormaler Kleinwinkelstreuung untersucht. Es wurde ein Formfaktormodell aufgestellt. Weiterhin konnten dank der magnetischen Eigenschaften der Partikel durch Anlegen eines Magnetfeldes erste geordnete Strukturen der Nanodimere geschaffen werden. Aktuell laufen Messungen, bei denen der Einfluss des Exchange Bias-Effektes auf die Spinstruktur der MnO-Domäne mittels Neutronenstreuung untersucht wird.

14 Experimentelle und analytische Methoden

14.1 Materialien

14.1.1 Übersicht der eingesetzten Verbindungen

Zur Synthese wurden die folgenden Chemikalien ohne weitere Aufreinigung eingesetzt:

| Chemikalie | Abkürzung |
|--|-----------|
| 1,2-Hexadecandiol (technisch 90 %, Aldrich) | |
| 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (98 %, Aldrich) | EDC |
| 1-Hexadecen (92 %, Aldrich) | |
| 1-Octadecanthiol (98 %, Aldrich) | |
| 1-Octadecen (90 %, Aldrich) | |
| 2-[Methoxy(polyethylenoxy)propyl]trimethoxysilan, 6-9 PE-Einheiten (90 %, ABCR) | PEG-TES |
| 3-Aminopropyltriethoxysilan (99 %, Aldrich) | APS |
| Aceton (99.9 %, VWR) | |
| Ameisensäure (99.9 %, Acros) | |
| Ammoniumhydroxid (wäss. Lsg. 25 %, Sigma-Aldrich) | |
| ATT0 465-NHS-ester (Fluka) | |
| Chloroform (≥ 99.8 %, Aldrich) | |
| Cysteamin (≥ 98.0 %, Aldrich) | |
| Dibenzylether (98 %, Aldrich) | |
| Diethylether (p.a., VWR) | |
| Diocylether (99 %, Aldrich) | |
| Diphenylether (≥ 99 %, Aldrich) | |
| Eisen(III)-acetylacetonat (99.9 %, Aldrich) | |
| Eisen(III)-chloridhexahydrat (99+ %, Chempur) | |
| Eisenpentacarbonyl (99.5 %, Acros) | |
| Ethanol (p.a., Roth) | |
| Fluoresceinisothiocyanat (Aldrich) | FITC |
| Hexan (> 95 %, VWR) | |
| Igepal®CO-520, $(C_2H_4O)_n \cdot C_{15}H_{24}O$, $n \sim 5$ (Aldrich) | |
| Isopropanol (p.a., Fluka) | |
| Kaliumhydroxid (90 %, Aldrich) | |
| Kupfer(II)-acetat ($> 99.99+$ %, Fluka) | |
| Kupfer(II)-acetylacetonat (99.99+ %, Aldrich) | |
| Kupfer(II)-formiat, Hydrat (97 %, Aldrich) | |
| Laurinsäure (99.5 %, Acros) | |
| Mangan(II)-chlorid Tetrahydrat (> 99.9 %, Aldrich) | |

| Chemikalie | Abkürzung |
|---|-----------|
| Methanol (98.5 %, Aldrich) | |
| <i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid (99 %, Fluka) | |
| Natriumchlorid (> 99 %, Roth) | |
| Natriumhydroxid (99+ %, Aldrich) | |
| <i>N</i> -Hydroxysuccinimid (97 %, Fluka) | NHS |
| Oleylamine (80-90 %, Acros) | |
| Ölsäure (> 70 %, Fischer Scientific) | |
| Silber(I)-carbonat (> 97 %, Fluka) | |
| <i>Tert</i> -Butylamin-Borankomplex (97 %, Aldrich) | TBAB |
| Tetrachlorogoldsäure Trihydrat (99.999 % metal basis, ABCR) | |
| Tetraethoxysilan (99.999 %, Aldrich) | TEOS |
| Tetralin (99 %, Aldrich) | |
| Toluol (p.a., Acros) | |
| Trimethylamin- <i>N</i> -oxid (98 %, Aldrich) | |
| Trioctylamin (98 %, Acros) | |
| Wasserstoffperoxid (35 % gew., Acros) | |

14.2 Heiztechnik

Sämtliche Reaktionen, die die Formgebung von Eisenoxid-Nanopartikeln unter Einfluss von Kupferadditiven zum Gegenstand hatten, wurden mittels eines Metallbades bestehend aus einem Messingblock gefüllt mit Roses Metall (Bi 50 %, Pb 25 %, Sn 25 %, Schmp.: 96 – 98 °C) und einem angeschlossenen Heizreglers von JUMO Modell dTron 304 temperaturgesteuert gefahren (siehe Abb. 14-1). Der Thermofühler war in den Messingblock integriert. Die Temperatur der Reaktionslösung wurde mit einem externen Thermometer gegenkontrolliert. Die Temperaturabweichung der Reaktionslösung zur Temperatur des Metallbades betrug weniger als 5 % und wurde bei den Rampeneinstellungen berücksichtigt.

Die Kontrolle der Temperatur und Heizrate bei allen weiteren Reaktionen wurde durch eine Heizhaube von MOHR & CO Typ KM-G2 verbunden mit einem Heizregler KS 40 Typ 9404 407 40001 von Philips und mit einem Thermofühler S/S-316 Typ K der Firma RS erreicht. Der Thermofühler war über ein speziell angefertigtes Glasröhrchen, welches mit Trioctylamin als Wärmeübermittler gefüllt war, in Kontakt mit der Reaktionslösung (siehe 14-1). Vergleichsmessungen der Temperatur mit einem handelsüblichen Laborthermometer zeigten, dass die Abweichung weniger als 3 % betrug.



Abb. 14-1. Versuchsaufbau Nanopartikelsynthese. Per Temperaturregler gesteuertes Metallbad (links) oder Heizpils (rechts).

14.3 Messtechnik

14.3.1 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Zur Probenvorbereitung wurden ca. 0.1 mg der jeweiligen Partikel in 0.5 ml des entsprechenden Lösungsmittels gelöst und auf einem vorgefertigten Kupfer-TEM-Grid mit Kohlenstoffbeschichtung (Science Services, TEM-Netzchen, Cu 300mesh, Kohlefilm) aufgebracht. Anschließend wurde das Lösungsmittel vom TEM-Grid abgedampft.

Die Aufnahmen der Proben wurden an einem Philips Transmissionselektronenmikroskop EM-420, ausgerüstet mit einer Slow-scan CCD Kamera (1k · 1k), unter Verwendung der Software „AMT Camera Image Capture Engine“ (Version 5.42.544) gemacht. Die Beschleunigungsspannung der Elektronen in der LaB₆ Kathode betrug 120 kV und das Auflösungsvermögen ca. 3.3 nm.

14.3.2 Partikelgrößenbestimmung mittels TEM

Die Partikelgrößen wurden durch graphische Auswertungen von TEM-Aufnahmen unter Verwendung des Programmes ImageJ (Version 1.43g bis 1.46r) bestimmt. Hierzu wurden Statistiken aus mindestens 100 Partikeln angefertigt. Für die Bestimmung der

Durchmesser bzw. Kantenlängen wurde von idealen geometrischer Körper (Kugeln und Kuben) ausgegangen.

14.3.3 Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM)

Für die hochauflösenden TEM-Aufnahmen diente ein Tecnai F30 von FEI, welches mit einer 300 kV Feldemissionskanone und mit einem Ultra-TWIN-Linsensystem ausgerüstet ist, wodurch eine Auflösung von bis zu ca. 0.1 nm erreicht werden kann. Die Probenpräparation war identisch mit der in Abschnitt 14.3.1.

14.3.4 Elektronenbeugung

Beugungsbilder wurden sowohl am Philips Transmissionselektronen-mikroskop EM-420 als auch am Tecnai F30 von FEI aufgenommen. Anhand von Referenzproben bzw. -daten wurden die Beugungsbilder ausgewertet.

14.3.5 Röntgendiffraktion (XRD)

Für die Aufnahme von Pulverröntgenbeugungsdaten der Nanopartikel fanden je nach Probenzusammensetzung ein Siemens D5000, ein Bruker D8 Advance oder ein Bruker D8 Discover Diffraktometer Verwendung. Das Siemens D5000 nutzt $\text{CuK}_{\alpha 1}$ -Strahlung, ein Ge(220)-Monochromator und als Detektor ein M50 PSD (*position sensitive detector*) von Braun. Mit dem Bruker D8 Advance wurden die Daten mit ungefilterter Mo-Strahlung und einem energiedispersivem Detektor (Bruker SolX, Diskriminationsfenster entsprechend $\text{MoK}_{\alpha 1}$ und $\text{MoK}_{\alpha 2}$) in Bragg-Brentano Geometrie bestimmt. Sowohl für das D5000 als auch für das D8 Advance wurde die Probe zwischen zwei Klebestreifen (Scotch[®] Magic) fixiert, welches die breite Intensität bei kleinem Streuvektor q ($< 2 \text{ \AA}^{-1}$) verursacht, die in den Diffraktogrammen beobachtet werden kann. Bei dem Bruker D8 Discover mit HiStar Detektor und Graphit-monochromatisierter CuK_{α} Strahlung wurden die Proben mit Clynol auf einem Glas bzw. Si (111) Träger fixiert und jeweils sechs Beugungsaufnahmen im Bereich von $13 < 2\Theta / ^\circ < 100$ in Reflexion aufgezeichnet. Die Bestimmung der Intensitäten erfolgte mit der Software Bruker AXS GADDS³⁶⁰.

Vollprofilanpassungen nach Pawley erfolgten mit TOPAS Academic V4.1³⁶¹ unter Anwendung des Fundamental Parameter Ansatzes, ausgehend von literaturbekannten Strukturdaten der jeweiligen Elemente und Verbindungen.^{182, 362, 363} Der Nullpunktfehler ist bei den Auswertungen berücksichtigt worden.

14.3.6 Mößbauerspektroskopie

Die ^{57}Fe -Mößbauerspektren wurden unter Verwendung einer ^{57}Co -Quelle, eindiffundiert in einer Rhodium-Matrix (Folie), in Transmissionsgeometrie durchgeführt. Die Quelle wurde im Modus der konstanten Beschleunigung gefahren und die Kalibrierung erfolgte mit α -Fe Folie als Referenzabsorber. Die Daten wurden mit dem Programm Recoil³⁶⁴ ausgewertet.

14.3.7 Superconducting Quantum Interference Device- Magnetometrie (SQUID)

Die Messungen mittels supraleitender Quanteninterferenzeinheit zur Untersuchung der magnetischen Eigenschaften wurden an Pulverproben in einem Quantum Design MPMS-XL durchgeführt. Sowohl die ZFC- als auch die FC-Kurven wurden bei einem magnetischen Feld von 100 Oe aufgenommen. Die Datenauswertung erfolgte mit dem Programm OriginPro 8 von OriginLab.

14.3.8 Infrarotspektroskopie (IR)

Die Daten der Infrarotspektroskopie wurden mit einem Bruker Tensor 27 Spektrometer ermittelt. Feststoffe wurden als KBr-Pressling und Flüssigkeiten zwischen zwei KBr-Fenstern gemessen. Die Daten wurden mit dem Programm OriginPro 8 von OriginLab ausgewertet.

14.3.9 UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Absorptionsspektren wurden in Hellma Quarzglas Suprasil-Küvetten (Schichtdicke 10 mm) mit einem Varian Cary 5000 UV/Vis-NIR-Spektrophotometer aufgenommen und mit OriginPro® 8.0 ausgewertet.

14.3.10 Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker DRX400 Avance Instrument 400 MHz aufgenommen und mit dem Programm MestReNova (Version 5.3.0) ausgewertet.

Die verwendeten deuterierten Lösungsmittel Chloroform-*d* und Dimethylsulfoxid-*d*₆, wurden von der Firma Deutero GmbH, Kastellaun, Deutschland, bezogen.

14.3.11 Massenspektrometrie

FD-Massenspektren wurden mit einem Finnigan-MAT-95-Spektrometer der Firma ThermoElectron, Boston (USA), aufgenommen.

Die Molmassen bei den Massenspektren beziehen sich auf die Massen der reinen Isotope ^1H , ^{12}C , ^{16}O , ^{23}Na und ^{39}K , die Molmasse bei den Summenformeln dagegen auf die natürliche Isotopenverteilung.

14.3.12 Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung des Schmelzpunktes pulverförmiger Substanzen erfolgte in Glaskapillaren unter Verwendung des Schmelzpunktbestimmungsgerätes von Electrothermal, Modell IA9100 MK1.

14.3.13 Elementaranalyse

Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Labor des Instituts für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz mit einem CHN-Gerät Vario EL der Firma Elementar Analysensysteme GmbH (früher: Heraeus), Hanau, Deutschland, durchgeführt.

14.3.14 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

Die Proben wurden in konz. HNO_3 aufgeschlossen und anschließend mit Reinstwasser verdünnt. Die Kupfer-, Eisen- und Mangankonzentration von wässrigen Proben wurde anhand von Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt, wofür ein Perkin-Elmer 5100 ZL verwendet wurde. Für andere Elemente waren die spezifischen Lampen nicht vorhanden.

14.3.15 ICP-OES

Die Zusammensetzung der FePt-Nanopartikel wurde mittels optischer Emissionsspektrometrie (ICP-OES, engl. *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) an einem PerkinElmer Optima 3000 in säureverdünnter HNO_3 -Lösung ermittelt.

14.3.16 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Für DLS-Experimente wurde ein Aufbau bestehend aus einem Helium-Neon-Laser „1145P“ ($\lambda = 632.8 \text{ nm}$, $P = 200 \text{ mW}$) von JDS Uniphase als kohärente Lichtquelle, einem Kompakt-Goniometersystem AVK „CGS-8F DLS/SLS-5022F“ mit acht Detektionseinheiten „Photon Counting Module SPCMCD3296 H“ von PerkinElmer

(Bauart: Avalanche-Photodioden, APD), dem Thermostaten Haake „C25P“ und einem „ALV-7004 Digital Multiple-Tau Realtime Correlator“ genutzt.

Der einfallende und gestreute Strahl wurden bezüglich der Streuebene (VV Modus) vertikal polarisiert. Die Messungen wurden bei $T = 293 \text{ K}$ und bei einem konstanten Winkel von $\theta = 30^\circ$ durchgeführt, da die gemessenen Radien sich nicht als Funktion des Streuvektors $q = 4\pi n \sin(\theta/2)/\lambda_0$ änderten. Jede Probe wurde in 10 bis 20 separaten Durchgängen vermessen und in einem Kreuzkorrelationsmodus (cross correlation mode) gemittelt, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern.

Alle Proben wurden in einer *Flow-box* präpariert, um Kontamination mit Staub zu vermeiden. Die mit Ölsäure umhüllten Nanopartikel wurden in Hexan mit einer Konzentration von unter 10 mg/L gelöst. Ca. 2 ml dieser Lösung wurde durch einen Millex-FG Filter (0.2 μm Porengröße) in eine zylindrische Küvette aus Quarzglas (Hellma, 20 mm Durchmesser) gegeben.

14.3.17 Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF-FFF)

Für die Trennversuche der in Toluol stark verdünnten Gold@Eisenoxid-Nanopartikelproben wurde eine Anlage bestehend aus einer Knauer „HPLC Mini-Star K-501“ Injektionspumpe (20 μL Injektionsvolumen), dem FFF-Kanal „4.0“ mit einer PMMA-Platte von ConSensus und einem „Gastorr 152“ Degasser von FLOM, Shimmachi Ome City Tokyo, Japan, verwendet. Zum Abschluss des Kanals kam eine Glasplatte zum Einsatz. Zur Detektion des Absorptionssignals im UV/Vis-Bereich wurde ein Waters Photoarraydetektor „2996“ (Software: „Waters Millenium32“, Version 3.2) eingesetzt.

14.3.18 Konfokale 3D-Lasermikroskopie

Die NaCl-Proben wurden in Aceton dispergiert, auf einen Objektträger gegeben und das Aceton wieder abgedampft. Die Aufnahmen der NaCl-Kristalle wurden an einem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop VK-8710 der Firma Keyence aufgenommen. Die Steuerung und anschließende Auswertung wurde mit den zum Mikroskop gehörenden Programmen VK Viewer bzw. Analyzer durchgeführt.

14.3.19 Reinstwasser (Milli-Q[®]-Wasser)

Das verwendete Reinstwasser (Typ 1, 18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ at 25 $^\circ\text{C}$) wurde einem Laborwasseraufbereitungssystem Synergy 185 von Millipore, ausgestattet mit einem Millipak Express 20 Membranfilter (0.22 μm), entnommen.

Literaturverzeichnis

1. Xia, Y.; Xiong, Y.; Lim, B.; Skrabalak, S. E., *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (1), 60-103.
2. Xia, Y.; Xiong, Y.; Lim, B.; Skrabalak, S. E., *Angewandte Chemie* **2009**, *121* (1), 62-108.
3. Goesmann, H.; Feldmann, C., *Angewandte Chemie* **2010**, *122* (8), 1402-1437.
4. Goesmann, H.; Feldmann, C., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (8), 1362-1395.
5. Alivisatos, A. P., *Science* **1996**, *271* (5251), 933-937.
6. Lu, A.-H.; Salabas, E. L.; Schüth, F., *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46* (8), 1222-1244.
7. Lu, A.-H.; Salabas, E. L.; Schüth, F., *Angewandte Chemie* **2007**, *119* (8), 1242-1266.
8. Rosensweig, R. E., *Annual Review of Fluid Mechanics* **1987**, *19*, 437-463.
9. Charles, S., The Preparation of Magnetic Fluids. In *Ferrofluids*, Odenbach, S., Ed. Springer Berlin Heidelberg: 2003; Vol. 594, pp 3-18.
10. Hyeon, T., *Chemical Communications* **2003**, *0* (8), 927-934.
11. Shylesh, S.; Schünemann, V.; Thiel, W. R., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (20), 3428-3459.
12. Shylesh, S.; Schünemann, V.; Thiel, W. R., *Angewandte Chemie* **2010**, *122* (20), 3504-3537.
13. Schladt, T. D.; Schneider, K.; Schild, H.; Tremel, W., *Dalton Transactions* **2011**, *40* (24), 6315-6343.
14. Reddy, L. H.; Arias, J. L.; Nicolas, J.; Couvreur, P., *Chemical Reviews* **2012**, *112* (11), 5818-5878.
15. Wu, W.; He, Q.; Jiang, C., *Nanoscale Research Letters* **2008**, *3* (11), 397-415.
16. Costi, R.; Saunders, A. E.; Banin, U., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (29), 4878-4897.
17. Costi, R.; Saunders, A. E.; Banin, U., *Angewandte Chemie* **2010**, *122* (29), 4996-5016.
18. Kneller, E. F.; Hawig, R., *Magnetics, IEEE Transactions on* **1991**, *27* (4), 3588-3560.
19. Cölfen, H.; Antonietti, M., *Angewandte Chemie* **2005**, *117* (35), 5714-5730.
20. Cölfen, H.; Antonietti, M., *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44* (35), 5576-5591.
21. Claridge, S. A.; Castleman, A. W.; Khanna, S. N.; Murray, C. B.; Sen, A.; Weiss, P. S., *ACS Nano* **2009**, *3* (2), 244-255.
22. Song, R.-Q.; Cölfen, H., *Advanced Materials* **2010**, *22* (12), 1301-1330.
23. Zhou, L.; O'Brien, P., *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2012**, *3* (5), 620-628.

24. Collier, C. P.; Vossmeier, T.; Heath, J. R., *Annual Review of Physical Chemistry* **1998**, *49* (1), 371-404.
25. Ahniyaz, A.; Sakamoto, Y.; Bergström, L., *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104* (45), 17570-17574.
26. Disch, S.; Wetterskog, E.; Hermann, R. I. P.; Salazar-Alvarez, G.; Busch, P.; Brückel, T.; Bergström, L.; Kamali, S., *Nano Letters* **2011**, *11* (4), 1651-1656.
27. Jongnam Park, J. J., Soon Gu Kwon, Youngjin Jang, Taeghwan Hyeon., *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46* (25), 4630-4660.
28. Park, J.; Joo, J.; Kwon, S. G.; Jang, Y.; Hyeon, T., *Angewandte Chemie* **2007**, *119* (25), 4714-4745.
29. Kwon, S. G.; Hyeon, T., *Small* **2011**, *7* (19), 2685-2702.
30. Murray, C. B.; Norris, D. J.; Bawendi, M. G., *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115* (19), 8706-8715.
31. Hyeon, T.; Lee, S. S.; Park, J.; Chung, Y.; Na, H. B., *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123* (51), 12798-12801.
32. Woo, K.; Hong, J.; Choi, S.; Lee, H.-W.; Ahn, J.-P.; Kim, C. S.; Lee, S. W., *Chemistry of Materials* **2004**, *16* (14), 2814-2818.
33. Fievet, F.; Lagier, J. P.; Blin, B.; Beaudoin, B.; Figlarz, M., *Solid State Ionics* **1989**, *32-33, Part 1* (0), 198-205.
34. Yu, W. W.; Falkner, J. C.; Yavuz, C. T.; Colvin, V. L., *Chemical Communications* **2004**, *0* (20), 2306-2307.
35. Guardia, P.; Perez-Juste, J.; Labarta, A.; Batlle, X.; Liz-Marzan, L. M., *Chemical Communications* **2010**, *46* (33), 6108-6110.
36. Maity, D.; Chandrasekharan, P.; Si-Shen, F.; Xue, J.-M.; Ding, J., *Journal of Applied Physics* **2010**, *107* (9), 09B310-3.
37. Shi, W.; Zeng, H.; Sahoo, Y.; Ohulchanskyy, T. Y.; Ding, Y.; Wang, Z. L.; Swihart, M.; Prasad, P. N., *Nano Letters* **2006**, *6* (4), 875-881.
38. Cozzoli, P. D.; Snoeck, E.; Garcia, M. A.; Giannini, C.; Guagliardi, A.; Cervellino, A.; Gozzo, F.; Hernando, A.; Achterhold, K.; Ciobanu, N.; Parak, F. G.; Cingolani, R.; Manna, L., *Nano Letters* **2006**, *6* (9), 1966-1972.
39. Li, X.; Si, H.; Niu, J. Z.; Shen, H.; Zhou, C.; Yuan, H.; Wang, H.; Ma, L.; Li, L. S., *Dalton Transactions* **2010**, *39* (45), 10984-10989.
40. Park, J.; Lee, E.; Hwang, N.-M.; Kang, M.; Kim, S. C.; Hwang, Y.; Park, J.-G.; Noh, H.-J.; Kim, J.-Y.; Park, J.-H.; Hyeon, T., *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44* (19), 2872-2877.
41. Park, J.; Lee, E.; Hwang, N.-M.; Kang, M.; Kim, S. C.; Hwang, Y.; Park, J.-G.; Noh, H.-J.; Kim, J.-Y.; Park, J.-H.; Hyeon, T., *Angewandte Chemie* **2005**, *117* (19), 2932-2937.
42. Casula, M. F.; Jun, Y.-w.; Zaziski, D. J.; Chan, E. M.; Corrias, A.; Alivisatos, A. P., *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (5), 1675-1682.

43. Tian, Y.; Yu, B.; Li, X.; Li, K., *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (8), 2476-2481.
44. Shavel, A.; Liz-Marzan, L. M., *Physical Chemistry Chemical Physics* **2009**, *11* (19), 3762-3766.
45. Mourdikoudis, S.; Liz-Marzán, L. M., *Chemistry of Materials* **2013**.
46. Shevchenko, E. V.; Talapin, D. V.; Schnablegger, H.; Kornowski, A.; Festin, Ö.; Svedlindh, P.; Haase, M.; Weller, H., *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125* (30), 9090-9101.
47. Bronstein, L. M.; Huang, X.; Retrum, J.; Schmucker, A.; Pink, M.; Stein, B. D.; Dragnea, B., *Chemistry of Materials* **2007**, *19* (15), 3624-3632.
48. Macdonald, J. E.; Brooks, C. J.; Veinot, J. G. C., *Chemical Communications* **2008**, (32), 3777-3779.
49. Lynch, J.; Zhuang, J.; Wang, T.; LaMontagne, D.; Wu, H.; Cao, Y. C., *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133* (32), 12664-12674.
50. Smith, D. K.; Korgel, B. A., *Langmuir* **2008**, *24* (3), 644-649.
51. Behrens, S., *Nanoscale* **2011**, *3* (3), 877-892.
52. Wang, D.; Li, Y., *Advanced Materials* **2011**, *23* (9), 1044-1060.
53. Schladt, T. D.; Shukoor, M. I.; Schneider, K.; Tahir, M. N.; Natalio, F.; Ament, I.; Becker, J.; Jochum, F. D.; Weber, S.; Köhler, O.; Theato, P.; Schreiber, L. M.; Sönnichsen, C.; Schröder, H. C.; Müller, W. E. G.; Tremel, W., *Angewandte Chemie* **2010**, *122* (23), 4068-4072.
54. Schladt, T. D.; Shukoor, M. I.; Schneider, K.; Tahir, M. N.; Natalio, F.; Ament, I.; Becker, J.; Jochum, F. D.; Weber, S.; Köhler, O.; Theato, P.; Schreiber, L. M.; Sönnichsen, C.; Schröder, H. C.; Müller, W. E. G.; Tremel, W., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (23), 3976-3980.
55. Carbone, L.; Cozzoli, P. D., *Nano Today* **2010**, *5* (5), 449-493.
56. Fan, F.-R.; Liu, D.-Y.; Wu, Y.-F.; Duan, S.; Xie, Z.-X.; Jiang, Z.-Y.; Tian, Z.-Q., *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (22), 6949-6951.
57. Buck, M. R.; Bondi, J. F.; Schaak, R. E., *Nat Chem* **2012**, *4* (1), 37-44.
58. Zur, A.; McGill, T. C., *Journal of Applied Physics* **1984**, *55* (2), 378-386.
59. Schladt, T. D. Design of Multifunctional Magnetic Nanomaterials for Biomedical Applications Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2010.
60. Yu, H.; Chen, M.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; White, R. L.; Sun, S., *Nano Lett* **2005**, *5* (2), 379-82.
61. Zeng, H.; Sun, S., *Advanced Functional Materials* **2008**, *18* (3), 391-400.
62. Wang, C.; Xu, C.; Zeng, H.; Sun, S., *Advanced Materials* **2009**, *21* (30), 3045-3052.
63. Xu, C.; Wang, B.; Sun, S., *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (12), 4216-4217.

64. Casagrande, C.; Fabre, P.; Raphaël, E.; Veyssié, M., *EPL (Europhysics Letters)* **1989**, *9* (3), 251.
65. de Gennes, P.-G., *Angewandte Chemie* **1992**, *104* (7), 856-859.
66. de Gennes, P.-G., *Angewandte Chemie International Edition in English* **1992**, *31* (7), 842-845.
67. Lattuada, M.; Hatton, T. A., *Nano Today* **2011**, *6* (3), 286-308.
68. Hatakeyama, M.; Kishi, H.; Kita, Y.; Imai, K.; Nishio, K.; Karasawa, S.; Masaike, Y.; Sakamoto, S.; Sandhu, A.; Tanimoto, A.; Gomi, T.; Kohda, E.; Abe, M.; Handa, H., *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (16), 5959-5966.
69. White, M. A.; Johnson, J. A.; Koberstein, J. T.; Turro, N. J., *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (35), 11356-11357.
70. Josephson, L.; Tung, C.-H.; Moore, A.; Weissleder, R., *Bioconjugate Chemistry* **1999**, *10* (2), 186-191.
71. Xie, J.; Xu, C.; Kohler, N.; Hou, Y.; Sun, S., *Advanced Materials* **2007**, *19* (20), 3163-3166.
72. Oh, J. K.; Park, J. M., *Progress in Polymer Science* **2011**, *36* (1), 168-189.
73. Piao, Y.; Burns, A.; Kim, J.; Wiesner, U.; Hyeon, T., *Advanced Functional Materials* **2008**, *18* (23), 3745-3758.
74. Xiu, Z.-m.; Zhang, Q.-b.; Puppala, H. L.; Colvin, V. L.; Alvarez, P. J. J., *Nano Letters* **2012**, *12* (8), 4271-4275.
75. Singh, N.; Jenkins, G. J.; Asadi, R.; Doak, S. H., *Nano Reviews* **2010**, *1*, 341-343.
76. Schladt, T. D.; Koll, K.; Bauer, H.; Weber, S.; Schreiber, L. M.; Tremel, W., *MRS Online Proceedings Library* **2011**, 1355.
77. Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E., *Journal of Colloid and Interface Science* **1968**, *26* (1), 62-69.
78. Lu, Y.; Yin, Y.; Mayers, B. T.; Xia, Y., *Nano Letters* **2002**, *2* (3), 183-186.
79. Dai, Q.; Lam, M.; Swanson, S.; Yu, R.-H. R.; Milliron, D. J.; Topuria, T.; Jubert, P.-O.; Nelson, A., *Langmuir* **2010**, *26* (22), 17546-17551.
80. Tago, T.; Hatsuta, T.; Miyajima, K.; Kishida, M.; Tashiro, S.; Wakabayashi, K., *Journal of the American Ceramic Society* **2002**, *85* (9), 2188-2194.
81. Lee, J.; Lee, Y.; Youn, J. K.; Na, H. B.; Yu, T.; Kim, H.; Lee, S.-M.; Koo, Y.-M.; Kwak, J. H.; Park, H. G.; Chang, H. N.; Hwang, M.; Park, J.-G.; Kim, J.; Hyeon, T., *Small* **2008**, *4* (1), 143-152.
82. Ding, H. L.; Zhang, Y. X.; Wang, S.; Xu, J. M.; Xu, S. C.; Li, G. H., *Chemistry of Materials* **2012**, *24* (23), 4572-4580.
83. Ow, H.; Larson, D. R.; Srivastava, M.; Baird, B. A.; Webb, W. W.; Wiesner, U., *Nano Letters* **2004**, *5* (1), 113-117.
84. Ma, D.; Guan, J.; Dénomée, S.; Enright, G.; Veres, T.; Simard, B., *Chemistry of Materials* **2006**, *18* (7), 1920-1927.

85. LaMer, V. K.; Dinegar, R. H., *Journal of the American Chemical Society* **1950**, *72* (11), 4847-4854.
86. Mer, V. K. L., *Industrial & Engineering Chemistry* **1952**, *44* (6), 1270-1277.
87. Jun, Y.-w.; Choi, J.-s.; Cheon, J., *Angewandte Chemie* **2006**, *118* (21), 3492-3517.
88. Peng, X.; Wickham, J.; Alivisatos, A. P., *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120* (21), 5343-5344.
89. Vossmeier, T.; Katsikas, L.; Giersig, M.; Popovic, I. G.; Diesner, K.; Chemseddine, A.; Eychmueller, A.; Weller, H., *The Journal of Physical Chemistry* **1994**, *98* (31), 7665-7673.
90. Alivisatos, A. P., *The Journal of Physical Chemistry* **1996**, *100* (31), 13226-13239.
91. Strey, R.; Wagner, P. E.; Viisanen, Y., *The Journal of Physical Chemistry* **1994**, *98* (32), 7748-7758.
92. Reiss, H., *The Journal of Chemical Physics* **1951**, *19* (4), 482-487.
93. Talapin, D. V.; Rogach, A. L.; Haase, M.; Weller, H., *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105* (49), 12278-12285.
94. Talapin, D. V.; Rogach, A. L.; Shevchenko, E. V.; Kornowski, A.; Haase, M.; Weller, H., *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (20), 5782-5790.
95. Goss, C. J., *Phys Chem Minerals* **1988**, *16* (2), 164-171.
96. Fukasawa, T.; Iwatsuki, M.; Furukawa, M., *Analytica Chimica Acta* **1993**, *281* (2), 413-419.
97. Cornell, R. M.; Schwertmann, U., *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*. 2nd Edition ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2004.
98. Senn, M. S.; Wright, J. P.; Attfield, J. P., *Nature* **2012**, *481* (7380), 173-176.
99. Dezsi, I.; Fetzer, C.; Gombkot, x; A.; Szucs, I.; Gubicza, J.; Ungar, T., *Journal of Applied Physics* **2008**, *103* (10), 104312-5.
100. da Costa, G. M.; De Grave, E.; Vandenberghe, R. E., *Hyperfine Interactions* **1998**, *117* (1), 207-243.
101. Mishra, D.; Benitez, M. J.; Petravic, O.; Confalonieri, G. A. B.; Szary, P.; Brüßing, F.; Theis-Bröhl, K.; Devishvili, A.; Vorobiev, A.; Konovalov, O.; Paulus, M.; Sternemann, C.; Toperverg, B. P.; Zabel, H., *Nanotechnology* **2012**, *23* (5), 055707.
102. Goya, G. F.; Berquo, T. S.; Fonseca, F. C.; Morales, M. P., *Journal of Applied Physics* **2003**, *94* (5), 3520-3528.
103. Goya, G. F., *Solid State Communications* **2004**, *130* (12), 783-787.
104. Pineider, F.; de Julián Fernández, C.; Videtta, V.; Carlino, E.; al Hourani, A.; Wilhelm, F.; Rogalev, A.; Cozzoli, P. D.; Ghigna, P.; Sangregorio, C., *ACS Nano* **2012**.
105. Bergmann, L.; Schaefer, C., *Lehrbuch der Experimentalphysik, Band IV, Teil 1 Aufbau der Materie*. Walter de Gruyter Verlag: Berlin, Boston, 1973.
106. Riedel, E.; Janiak, C., *Anorganische Chemie*. 2011.

107. Kittel, C., *Reviews of Modern Physics* **1949**, 21 (4), 541-583.
108. Klabunde, K. J., *Nanoscale Materials in Chemistry*. 2. Aufl. ed.; Wiley-Interscience: New York, 2009.
109. Venkateshvaran, D.; Althammer, M.; Nielsen, A.; Geprägs, S.; Ramachandra Rao, M. S.; Goennenwein, S. T. B.; Opel, M.; Gross, R., *Physical Review B* **2009**, 79 (13), 134405.
110. Opel, M., *Journal of Physics D: Applied Physics* **2012**, 45 (3), 033001.
111. Berkowitz, A. E.; Schuele, W. J.; Flanders, P. J., *Journal of Applied Physics* **1968**, 39 (2), 1261-1263.
112. Anderson, P. W., *Physical Review* **1950**, 79 (2), 350-356.
113. Janiak, C.; Klapötke, T.; Meyer, H.-J.; Alsfasser, R.; Riedel, E., *Moderne Anorganische Chemie*. 3. Auf. ed.; De Gruyter: Berlin, Boston, 2007.
114. Bedanta, S.; Kleemann, W., *Journal of Physics D: Applied Physics* **2009**, (1), 013001.
115. Kneller, E. F.; Luborsky, F. E., *Journal of Applied Physics* **1963**, 34 (3), 656-658.
116. Heim, E. A. Fluxgate-Magnetrelaxometrie magnetischer Nanopartikel in der Bioanalytik. Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig, Braunschweig, 2009.
117. Schmid, G., *Nanoparticles : from theory to application*. Wiley-VCH: Weinheim, 2004.
118. Gütlich, P., *Chemie in unserer Zeit* **1970**, 4 (5), 133-144.
119. Gütlich, P., *Chemie in unserer Zeit* **1971**, 5 (5), 131-141.
120. Mørup, S.; Bødker, F.; Hendriksen, P. V.; Linderoth, S., *Physical Review B* **1995**, 52 (1), 287-294.
121. Cannas, C.; Concas, G.; Gatteschi, D.; Falqui, A.; Musinu, A.; Piccaluga, G.; Sangregorio, C.; Spano, G., *Physical Chemistry Chemical Physics* **2001**, 3 (5), 832-838.
122. Hansen, M. F.; Mørup, S., *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **1999**, 203 (1-3), 214-216.
123. Morales, M. P.; Veintemillas-Verdaguer, S.; Montero, M. I.; Serna, C. J.; Roig, A.; Casas, L.; Martínez, B.; Sandiumenge, F., *Chemistry of Materials* **1999**, 11 (11), 3058-3064.
124. Serna, C. J.; Bødker, F.; Mørup, S.; Morales, M. P.; Sandiumenge, F.; Veintemillas-Verdaguer, S., *Solid State Communications* **2001**, 118 (9), 437-440.
125. Li, D.; Teoh, W. Y.; Woodward, R. C.; Cashion, J. D.; Selomulya, C.; Amal, R., *The Journal of Physical Chemistry C* **2009**, 113 (28), 12040-12047.
126. Calatayud, M. P.; Riggio, C.; Raffa, V.; Sanz, B.; Torres, T. E.; Ibarra, M. R.; Hoskins, C.; Cuschieri, A.; Wang, L.; Pinkernelle, J.; Keilhoff, G.; Goya, G. F., *Journal of Materials Chemistry B* **2013**.

127. Respaud, M.; Broto, J. M.; Rakoto, H.; Fert, A. R.; Thomas, L.; Barbara, B.; Verelst, M.; Snoeck, E.; Lecante, P.; Mosset, A.; Osuna, J.; Ely, T. O.; Amiens, C.; Chaudret, B., *Physical Review B* **1998**, *57* (5), 2925-2935.
128. Bødker, F.; Mørup, S.; Linderoth, S., *Physical Review Letters* **1994**, *72* (2), 282-285.
129. Kodama, R. H.; Makhlof, S. A.; Berkowitz, A. E., *Physical Review Letters* **1997**, *79* (7), 1393-1396.
130. Lee, G. H.; Huh, S. H.; Jeong, J. W.; Choi, B. J.; Kim, S. H.; Ri, H.-C., *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (41), 12094-12095.
131. Schladt, T. D.; Graf, T.; Tremel, W., *Chemistry of Materials* **2009**, *21* (14), 3183-3190.
132. Kim, D. K.; Zhang, Y.; Voit, W.; Rao, K. V.; Muhammed, M., *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2001**, *225* (1-2), 30-36.
133. Nogués, J.; Sort, J.; Langlais, V.; Skumryev, V.; Suriñach, S.; Muñoz, J. S.; Baró, M. D., *Physics Reports* **2005**, *422* (3), 65-117.
134. Skumryev, V.; Stoyanov, S.; Zhang, Y.; Hadjipanayis, G.; Givord, D.; Nogues, J., *Nature* **2003**, *423* (6942), 850-853.
135. Inderhees, S. E.; Borchers, J. A.; Green, K. S.; Kim, M. S.; Sun, K.; Strycker, G. L.; Aronson, M. C., *Physical Review Letters* **2008**, *101* (11), 117202.
136. Nogués, J.; Schuller, I. K., *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **1999**, *192* (2), 203-232.
137. Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C., *The Journal of Physical Chemistry B* **2002**, *107* (3), 668-677.
138. Daniel, M.-C.; Astruc, D., *Chemical Reviews* **2004**, *104*, 293-346.
139. Moores, A.; Goettmann, F., *New Journal of Chemistry* **2006**, *30* (8), 1121-1132.
140. Mie, G., *Annalen der Physik* **1908**, *330* (3), 377-445.
141. Bantz, C. Das Aggregationsverhalten zweier Nanopartikelsysteme auf Siloxan-Basis bei unterschiedlichen Ionenkonzentrationen und in biologisch relevanten Medien als Grundlage für Zell- und molekularbiologische Experimente. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2014.
142. Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L.; Muller, R. N., *Chemical Reviews* **2008**, *108* (6), 2064-2110.
143. Teja, A. S.; Koh, P.-Y., *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* **2009**, *55* (1-2), 22-45.
144. Griffiths, C. H.; O'Horo, M. P.; Smith, T. W., *Journal of Applied Physics* **1979**, *50* (11), 7108-7115.
145. Smith, T. W.; Wychick, D., *The Journal of Physical Chemistry* **1980**, *84* (12), 1621-1629.
146. Sun, S.; Zeng, H., *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (28), 8204-8205.

147. Park, J.; An, K.; Hwang, Y.; Park, J.-G.; Noh, H.-J.; Kim, J.-Y.; Park, J.-H.; Hwang, N.-M.; Hyeon, T., *Nature Materials* **2004**, *3* (12), 891-895.
148. Kwon, S. G.; Piao, Y.; Park, J.; Angappane, S.; Jo, Y.; Hwang, N.-M.; Park, J.-G.; Hyeon, T., *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (41), 12571-12584.
149. Waldron, R. D., *Physical Review* **1955**, *99* (6), 1727-1735.
150. Rebbouh, L.; Hermann, R. P.; Grandjean, F.; Hyeon, T.; An, K.; Amato, A.; Long, G. J., *Physical Review B* **2007**, *76* (17), 174422.
151. Annersten, H.; Hafner, S. S., *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials* **1973**, *137* (5-6), 321-340.
152. Kamali-M, S.; Ericsson, T.; Wäppling, R., *Thin Solid Films* **2006**, *515* (2), 721-723.
153. Nadeem, K.; Krenn, H.; Traussnig, T.; Wurschum, R.; Szabo, D. V.; Letofsky-Papst, I., *Journal of Applied Physics* **2012**, *111* (11), 113911-6.
154. Martínez-Boubeta, C.; Simeonidis, K.; Angelakeris, M.; Pazos-Pérez, N.; Giersig, M.; Delimitis, A.; Nalbandian, L.; Alexandrakis, V.; Niarchos, D., *Physical Review B* **2006**, *74* (5), 054430.
155. Jana, N. R.; Chen, Y.; Peng, X., *Chemistry of Materials* **2004**, *16* (20), 3931-3935.
156. Jun, Y.-w.; Choi, J.-s.; Cheon, J., *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45* (21), 3414-3439.
157. Tao, A. R.; Habas, S.; Yang, P., *Small* **2008**, *4* (3), 310-325.
158. Lim, B.; Xia, Y., *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (1), 76-85.
159. Lim, B.; Xia, Y., *Angewandte Chemie* **2011**, *123* (1), 78-87.
160. Kilin, D. S.; Prezhdo, O. V.; Xia, Y., *Chemical Physics Letters* **2008**, *458* (1-3), 113-116.
161. Yang, C.; Wu, J.; Hou, Y., *Chemical Communications* **2011**, *47* (18), 5130-5141.
162. Shavel, A.; Rodríguez-González, B.; Spasova, M.; Farle, M.; Liz-Marzán, L. M., *Advanced Functional Materials* **2007**, *17* (18), 3870-3876.
163. Shavel, A.; Rodríguez-González, B.; Pacifico, J.; Spasova, M.; Farle, M.; Liz-Marzán, L. M., *Chemistry of Materials* **2009**, *21* (7), 1326-1332.
164. Kovalenko, M. V.; Bodnarchuk, M. I.; Lechner, R. T.; Hesser, G.; Schäffler, F.; Heiss, W., *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (20), 6352-6353.
165. Pauly, M.; Pichon, B. P.; Albouy, P.-A.; Fleutot, S.; Leuvrey, C.; Trassin, M.; Gallani, J.-L.; Begin-Colin, S., *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (40), 16018-16027.
166. Gao, G.; Liu, X.; Shi, R.; Zhou, K.; Shi, Y.; Ma, R.; Takayama-Muromachi, E.; Qiu, G., *Crystal Growth & Design* **2010**, *10* (7), 2888-2894.
167. Sun, S.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G., *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *126* (1), 273-279.
168. Zeng, H.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Sun, S., *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (37), 11458-11459.

169. Yang, H.; Ogawa, T.; Hasegawa, D.; Takahashi, M., *Journal of Applied Physics* **2008**, *103* (7), 07D526-3.
170. Kim, D.; Lee, N.; Park, M.; Kim, B. H.; An, K.; Hyeon, T., *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *131* (2), 454-455.
171. Zhen, G.; Muir, B. W.; Moffat, B. A.; Harbour, P.; Murray, K. S.; Moubaraki, B.; Suzuki, K.; Madsen, I.; Agron-Olshina, N.; Waddington, L.; Mulvaney, P.; Hartley, P. G., *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *115* (2), 327-334.
172. Chalasani, R.; Vasudevan, S., *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115* (37), 18088-18093.
173. Ho, C.-H.; Tsai, C.-P.; Chung, C.-C.; Tsai, C.-Y.; Chen, F.-R.; Lin, H.-J.; Lai, C.-H., *Chemistry of Materials* **2011**, *23* (7), 1753-1760.
174. Guardia, P.; Di Corato, R.; Lartigue, L.; Wilhelm, C.; Espinosa, A.; Garcia-Hernandez, M.; Gazeau, F.; Manna, L.; Pellegrino, T., *ACS Nano* **2012**, *6* (4), 3080-3091.
175. Xie, J.; Peng, S.; Brower, N.; Pourmand, N.; Wang, S. X.; Sun, S., *Anglais* **2006**, *78* (5), 12.
176. Schwind, M. Magnetic Ferrite Nanoparticles: Synthesis and Characterization of Ferrite Nanocrystals with Different Shapes and Elemental Compositions. Johannes-Gutenberg Universität, Mainz, 2008.
177. Brumby, A.; Braumann, P.; Zimmermann, K.; Van Den Broeck, F.; Vandeveld, T.; Goia, D.; Renner, H.; Schlamp, G.; Weise, W.; Tews, P.; Dermann, K.; Knödler, A.; Schröder, K.-H.; Kempf, B.; Lüscho, H. M.; Peter, C.; Schiele, R., Silver, Silver Compounds, and Silver Alloys. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 2000.
178. Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung: GESTIS-Stoffdatenbank.
179. Nasibulin, A.; Ahonen, P. P.; Richard, O.; Kauppinen, E.; Altman, I., *J Nanopart Res* **2001**, *3* (5-6), 383-398.
180. Wasserman, H. J.; Vermaak, J. S., *Surface Science* **1970**, *22* (1), 164-172.
181. Swern, D.; Billen, G. N.; Scanlan, J. T., *Journal of the American Chemical Society* **1946**, *68* (8), 1504-1507.
182. Batchelder, D. N.; Simmons, R. O., *Journal of Applied Physics* **1965**, *36* (9), 2864-2868.
183. Xu, Z.; Shen, C.; Hou, Y.; Gao, H.; Sun, S., *Chemistry of Materials* **2009**, *21* (9), 1778-1780.
184. Nakhjavan, B.; Tahir, M. N.; Natalio, F.; Gao, H.; Schneider, K.; Schladt, T.; Ament, I.; Branscheid, R.; Weber, S.; Kolb, U.; Sonnichsen, C.; Schreiber, L. M.; Tremel, W., *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (24), 8605-8611.
185. Nakhjavan, B.; Tahir, M. N.; Panthofer, M.; Gao, H.; Schladt, T. D.; Gasi, T.; Ksenofontov, V.; Branscheid, R.; Weber, S.; Kolb, U.; Schreiber, L. M.; Tremel, W., *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (19), 6909-6915.

186. Faraday, M., *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1857**, 147, 145-181.
187. Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J., *Discussions of the Faraday Society* **1951**, 11, 55-75.
188. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R., *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1994**, (7), 801-802.
189. Liz-Marzan, L. M., *Chemical Communications* **2012**.
190. Lin, X. M.; Jaeger, H. M.; Sorensen, C. M.; Klabunde, K. J., *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105 (17), 3353-3357.
191. Prasad, B. L. V.; Stoeva, S. I.; Sorensen, C. M.; Klabunde, K. J., *Langmuir* **2002**, 18 (20), 7515-7520.
192. Stoeva, S.; Klabunde, K. J.; Sorensen, C. M.; Dragieva, I., *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124 (10), 2305-2311.
193. Prasad, B. L. V.; Stoeva, S. I.; Sorensen, C. M.; Klabunde, K. J., *Chemistry of Materials* **2003**, 15 (4), 935-942.
194. Stoeva, S. I.; Prasad, B. L. V.; Uma, S.; Stoimenov, P. K.; Zaikovski, V.; Sorensen, C. M.; Klabunde, K. J., *The Journal of Physical Chemistry B* **2003**, 107 (30), 7441-7448.
195. Grzelczak, M.; Perez-Juste, J.; Mulvaney, P.; Liz-Marzan, L. M., *Chemical Society Reviews* **2008**, 37 (9), 1783-1791.
196. Hvolbæk, B.; Janssens, T. V. W.; Clausen, B. S.; Falsig, H.; Christensen, C. H.; Nørskov, J. K., *Nano Today* **2007**, 2 (4), 14-18.
197. Lee, Y.; Loew, A.; Sun, S., *Chemistry of Materials* **2009**, 22 (3), 755-761.
198. Zhou, X.; Xu, W.; Liu, G.; Panda, D.; Chen, P., *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 132 (1), 138-146.
199. Zhang, Y.; Cui, X.; Shi, F.; Deng, Y., *Chemical Reviews* **2011**, 112 (4), 2467-2505.
200. Saha, K.; Agasti, S. S.; Kim, C.; Li, X.; Rotello, V. M., *Chemical Reviews* **2012**, 112 (5), 2739-2779.
201. Giljohann, D. A.; Seferos, D. S.; Daniel, W. L.; Massich, M. D.; Patel, P. C.; Mirkin, C. A., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, 49 (19), 3280-3294.
202. Choi, S.-H.; Na, H. B.; Park, Y. I.; An, K.; Kwon, S. G.; Jang, Y.; Park, M.-h.; Moon, J.; Son, J. S.; Song, I. C.; Moon, W. K.; Hyeon, T., *Journal of the American Chemical Society* **2008**, 130 (46), 15573-15580.
203. Lin, F.-h.; Doong, R.-a., *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, 115 (14), 6591-6598.
204. Wei, Y.; Klajn, R.; Pinchuk, A. O.; Grzybowski, B. A., *Small* **2008**, 4 (10), 1635-1639.
205. Xie, J.; Zhang, F.; Aronova, M.; Zhu, L.; Lin, X.; Quan, Q.; Liu, G.; Zhang, G.; Choi, K.-Y.; Kim, K.; Sun, X.; Lee, S.; Sun, S.; Leapman, R.; Chen, X., *ACS Nano* **2011**, 5 (4), 3043-3051.

206. Wang Wang; Luo, J.; Fan, Q.; Suzuki, M.; Suzuki, I. S.; Engelhard, M. H.; Lin, Y.; Kim, N.; Wang, J. Q.; Zhong, C.-J., *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109* (46), 21593-21601.
207. Xu, Z.; Hou, Y.; Sun, S., *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (28), 8698-8699.
208. Shevchenko, E. V.; Bodnarchuk, M. I.; Kovalenko, M. V.; Talapin, D. V.; Smith, R. K.; Aloni, S.; Heiss, W.; Alivisatos, A. P., *Advanced Materials* **2008**, *20* (22), 4323-4329.
209. Song, H.-M.; Wei, Q.; Ong, Q. K.; Wei, A., *ACS Nano* **2010**, *4* (9), 5163-5173.
210. Glaser, N.; Adams, D. J.; Böker, A.; Krausch, G., *Langmuir* **2006**, *22* (12), 5227-5229.
211. Korobchevskaya, K.; George, C.; Diaspro, A.; Manna, L.; Cingolani, R.; Comin, A., *Applied Physics Letters* **2011**, *99* (1), 011907-3.
212. Comin, A.; Korobchevskaya, K.; George, C.; Diaspro, A.; Manna, L., *Nano Letters* **2012**, *12* (2), 921-926.
213. Umut, E.; Pineider, F.; Arosio, P.; Sangregorio, C.; Corti, M.; Tabak, F.; Lascialfari, A.; Ghigna, P., *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2012**, *324* (15), 2373-2379.
214. Wei, Y.; Bishop, K. J. M.; Kim, J.; Soh, S.; Grzybowski, B. A., *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (50), 9477-9480.
215. Yin, H.; Wang, C.; Zhu, H.; Overbury, S. H.; Sun, S.; Dai, S., *Chemical Communications* **2008**, (36), 4357-4359.
216. Lee, Y.; Garcia, M. A.; Frey Huls, N. A.; Sun, S., *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (7), 1271-1274.
217. Xu, C.; Xie, J.; Ho, D.; Wang, C.; Kohler, N.; Walsh, E. G.; Morgan, J. R.; Chin, Y. E.; Sun, S., *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47* (1), 173-176.
218. George, C.; Dorfs, D.; Bertoni, G.; Falqui, A.; Genovese, A.; Pellegrino, T.; Roig, A.; Quarta, A.; Comparelli, R.; Curri, M. L.; Cingolani, R.; Manna, L., *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133* (7), 2205-2217.
219. Park, H.-Y.; Schadt, M. J.; Wang; Lim, I. I. S.; Njoki, P. N.; Kim, S. H.; Jang, M.-Y.; Luo, J.; Zhong, C.-J., *Langmuir* **2007**, *23* (17), 9050-9056.
220. Zhou, H.; Lee, J.; Park, T. J.; Lee, S. J.; Park, J. Y.; Lee, J., *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, *163* (1), 224-232.
221. Peng, S.; Lee, Y. M.; Wang, C.; Yin, H. F.; Dai, S.; Sun, S. H., *Nano Research* **2008**, *1* (3), 229-234.
222. Lin, X. M.; Wang, G. M.; Sorensen, C. M.; Klabunde, K. J., *The Journal of Physical Chemistry B* **1999**, *103* (26), 5488-5492.
223. Compton, O. C.; Osterloh, F. E., *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (25), 7793-7798.

224. Naidu, S. V. N.; Houska, C. R., *Journal of Applied Physics* **1971**, *42* (12), 4971-4975.
225. Petkov, V.; Peng, Y.; Williams, G.; Huang, B.; Tomalia, D.; Ren, Y., *Physical Review B* **2005**, *72* (19), 195402.
226. Schick, I. Funktionalisierte Au@MnO-Janus-Partikel. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2011.
227. Mørup, S.; Hansen, M. F.; Frandsen, C., *Beilstein Journal of Nanotechnology* **2010**, *1*, 182-190.
228. Lemine, O. M.; Omri, K.; Zhang, B.; El Mir, L.; Sajieddine, M.; Alyamani, A.; Bououdina, M., *Superlattices and Microstructures* **2012**, *52* (4), 793-799.
229. Wang, C.; Yin, H.; Dai, S.; Sun, S., *Chemistry of Materials* **2010**, *22* (10), 3277-3282.
230. Sheng, Y.; Xue, J., *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, *374* (1), 96-101.
231. Beveridge, J. S.; Buck, M. R.; Bondi, J. F.; Misra, R.; Schiffer, P.; Schaak, R. E.; Williams, M. E., *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (42), 9875-9879.
232. Kowalczyk, B.; Lagzi, I.; Grzybowski, B. A., *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2011**, *16* (2), 135-148.
233. Abou-Hassan, A.; Bazzi, R.; Cabuil, V., *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (39), 7180-7183.
234. Calzolari, L.; Gilliland, D.; Garcia, C. P.; Rossi, F., *Journal of Chromatography A* **2011**, *1218* (27), 4234-4239.
235. Hagedorfer, H.; Kaegi, R.; Parlinska, M.; Sinnet, B.; Ludwig, C.; Ulrich, A., *Analytical Chemistry* **2012**, *84* (6), 2678-2685.
236. Lohrke, J.; Briel, A.; Mäder, K., *Nanomedicine* **2008**, *3* (4), 437-452.
237. Silvio, D.; Judith, K.; Dietmar, E.; Robert, M.; Matthias, Z., *Nanotechnology* **2012**, *23* (35), 355701.
238. Rother, J.; Pietuch, A.; Koll, K.; Schladt, T.; Köhler, O.; Schick, I.; Tremel, W.; Janshoff, A., *J Nanopart Res* **2013**, *15* (12), 1-10.
239. Murphy, K.; Travers, P.; Walport, M.; Janeway, C., *Janeway's immunobiology*. 7th ed.; Garland Science: New York, 2008; p xxi, 887 p.
240. Anderson, K. V.; Bokla, L.; Nussleinvolhard, C., *Cell* **1985**, *42* (3), 791-798.
241. Lemaître, B.; Nicolas, E.; Michaut, L.; Reichhart, J. M.; Hoffmann, J. A., *Cell* **1996**, *86* (6), 973-83.
242. Akira, S.; Takeda, K.; Kaisho, T., *Nat Immunol* **2001**, *2* (8), 675-80.
243. Klinman, D. M., *Nat Rev Immunol* **2004**, *4* (4), 249-58.
244. Minelli, C.; Lowe, S. B.; Stevens, M. M., *Small* **2010**, *6* (21), 2336-57.
245. Wang, A. Z.; Langer, R.; Farokhzad, O. C., *Annual review of medicine* **2012**, *63*, 185-98.

246. Wilkinson, K.; Ekstrand-Hammarstrom, B.; Ahlinder, L.; Guldevall, K.; Pazik, R.; Kepinski, L.; Kvashnina, K. O.; Butorin, S. M.; Brismar, H.; Onfelt, B.; Osterlund, L.; Seisenbaeva, G. A.; Kessler, V. G., *Nanoscale* **2012**, *4* (23), 7383-7393.
247. Horner, A. A.; Takabaysahi, K.; Zubeldia, J. M.; Raz, E., *Allergy* **2002**, *57 Suppl 72*, 24-9.
248. Droemann, D.; Albrecht, D.; Gerdes, J.; Ulmer, A. J.; Branscheid, D.; Vollmer, E.; Dalhoff, K.; Zabel, P.; Goldmann, T., *Respir Res* **2005**, *6*, 1.
249. Ren, T.; Xu, L.; Jiao, S.; Wang, Y.; Cai, Y.; Liang, Y.; Zhou, Y.; Zhou, H.; Wen, Z., *Pathol Oncol Res* **2009**, *15* (4), 623-30.
250. Shukoor, M. I.; Natalio, F.; Tahir, M. N.; Wiens, M.; Tarantola, M.; Therese, H. A.; Barz, M.; Weber, S.; Terekhov, M.; Schroder, H. C.; Muller, W. E. G.; Janshoff, A.; Theato, P.; Zentel, R.; Schreiber, L. M.; Tremel, W., *Advanced Functional Materials* **2009**, *19* (23), 3717-3725.
251. Koll, K. Functionalization and Characterization of Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2011.
252. Xu, C.; Xu, K.; Gu, H.; Zheng, R.; Liu, H.; Zhang, X.; Guo, Z.; Xu, B., *J Am Chem Soc* **2004**, *126* (32), 9938-9.
253. Takeda, K.; Akira, S., *Semin Immunol* **2004**, *16* (1), 3-9.
254. Choi, J. Y.; Lee, S. H.; Na, H. B.; An, K.; Hyeon, T.; Seo, T. S., *Bioprocess Biosyst Eng* **2010**, *33* (1), 21-30.
255. Giaever, I.; Keese, C. R., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1991**, *88* (17), 7896-7900.
256. Lo, C. M.; Ferrier, J., *Physical Review E* **1998**, *57* (6), 6982-6987.
257. Lo, C. M.; Keese, C. R.; Giaever, I., *Biophys J* **1995**, *69* (6), 2800-7.
258. Wegener, J.; Keese, C. R.; Giaever, I., *Exp Cell Res* **2000**, *259* (1), 158-66.
259. Schneider, D.; Tarantola, M.; Janshoff, A., *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **2011**, (0).
260. Giaever, I.; Keese, C. R., *Physica D* **1989**, *38* (1-3), 128-133.
261. Krieg, A. M., *Annu Rev Immunol* **2002**, *20* (1), 709-60.
262. Gupta, A. K.; Wells, S., *NanoBioscience, IEEE Transactions on* **2004**, *3* (1), 66-73.
263. Lewinski, N.; Colvin, V.; Drezek, R., *Small* **2008**, *4* (1), 26-49.
264. Fadeel, B.; Garcia-Bennett, A. E., *Advanced Drug Delivery Reviews* **2010**, *62* (3), 362-374.
265. Singh, N.; Jenkins, G. J. S.; Asadi, R.; Doak, S. H., *Nano Reviews* **2010**, *1*, 5358.
266. Soenen, S. J. H.; De Cuyper, M., *Nanomedicine* **2010**, *5* (8), 1261-1275.
267. Arruebo, M.; Fernández-Pacheco, R.; Ibarra, M. R.; Santamaría, J., *Nano Today* **2007**, *2* (3), 22-32.
268. Lodhia, J.; Mandarano, G.; Ferris, N.; Eu, P.; Cowell, S., *Biomedical Imaging and Intervention Journal* **2010**, *6* (2), e12.

269. Lodhia, J.; Mandarano, G.; Ferris, N.; Eu, P.; Cowell, S., *Biomedical Imaging and Intervention Journal* **2010**, *6* (2), e13.
270. Bear, J.; Charron, G.; Fernández-Argüelles, M.; Massadeh, S.; McNaughter, P.; Nann, T., In *Vivo Applications of Inorganic Nanoparticles*. In *BetaSys*, Booß-Bavnbek, B.; Klösgen, B.; Larsen, J.; Pociot, F.; Renström, E., Eds. Springer New York: 2011; Vol. 2, pp 185-220.
271. Ahmed, N.; Fessi, H.; Elaissari, A., *Drug Discovery Today* **2012**, *17* (17–18), 928-934.
272. Schladt, T. D.; Koll, K.; Pruffer, S.; Bauer, H.; Natalio, F.; Dumele, O.; Raidoo, R.; Weber, S.; Wolfrum, U.; Schreiber, L. M.; Radsak, M. P.; Schild, H.; Tremel, W., *Journal of Materials Chemistry* **2012**, *22* (18), 9253-9262.
273. Schick, I.; Lorenz, S.; Gehrig, D.; Schilman, A.-M.; Bauer, H.; Panthöfer, M.; Fischer, K.; Strand, D.; Laquai, F.; Tremel, W., *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136* (6), 2473-2483.
274. Wu, B.; Tang, S.; Chen, M.; Zheng, N., *Chemical Communications* **2014**, *50* (2), 174-176.
275. Landgraf, L.; Ernst, P.; Schick, I.; Köhler, O.; Oehring, H.; Tremel, W.; Hilger, I., *Biomaterials* **2014**, *35* (25), 6986-6997.
276. Conde, J.; Doria, G.; Baptista, P., *Journal of drug delivery* **2012**, *2012*, 751075.
277. Lee, D. Y., *Macromol Res* **2011**, *19* (8), 843-847.
278. Na, H. B.; Lee, J. H.; An, K.; Park, Y. I.; Park, M.; Lee, I. S.; Nam, D.-H.; Kim, S. T.; Kim, S.-H.; Kim, S.-W.; Lim, K.-H.; Kim, K.-S.; Kim, S.-O.; Hyeon, T., *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, *46* (28), 5397-5401.
279. Thiesen, B.; Jordan, A., *Int J Hyperther* **2008**, *24* (6), 467-474.
280. Yu, M. K.; Jeong, Y. Y.; Park, J.; Park, S.; Kim, J. W.; Min, J. J.; Kim, K.; Jon, S., *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47* (29), 5362-5365.
281. Chien, C.-C.; Chen, H.-H.; Lai, S.-F.; Wu, K.-C.; Cai, X.; Hwu, Y.; Petibois, C.; Chu, Y.; Margaritondo, G., *Journal of Nanobiotechnology* **2012**, *10* (1), 10.
282. Pustovalov, V. K.; Babenko, V. A., *Laser Phys Lett* **2004**, *1* (10), 516-520.
283. Choi, J. Y.; Lee, S. H.; Bin Na, H.; An, K.; Hyeon, T.; Seo, T. S., *Bioproc Biosyst Eng* **2010**, *33* (1), 21-30.
284. Hong, S. C.; Lee, J. H.; Lee, J.; Kim, H. Y.; Park, J. Y.; Cho, J.; Han, D. W., *International journal of nanomedicine* **2011**, *6*, 3219-31.
285. Hussain, S. M.; Javorina, A. K.; Schrand, A. M.; Duhart, H. M.; Ali, S. F.; Schlager, J. J., *Toxicol Sci* **2006**, *92* (2), 456-463.
286. Shukla, R.; Bansal, V.; Chaudhary, M.; Basu, A.; Bhonde, R. R.; Sastry, M., *Langmuir* **2005**, *21* (23), 10644-10654.
287. Ying, E. B.; Hwang, H. M., *Sci Total Environ* **2010**, *408* (20), 4475-4481.
288. Kirui, D. K.; Rey, D. A.; Batt, C. A., *Nanotechnology* **2010**, *21* (10).

289. Choi, J.-s.; Jun, Y.-w.; Yeon, S.-I.; Kim, H. C.; Shin, J.-S.; Cheon, J., *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (50), 15982-15983.
290. Jiang, J.; Gu, H. W.; Shao, H. L.; Devlin, E.; Papaefthymiou, G. C.; Ying, J. Y., *Advanced Materials* **2008**, *20* (23), 4403-4407.
291. Sotiriou, G. A.; Hirt, A. M.; Lozach, P. Y.; Teleki, A.; Krumeich, F.; Pratsinis, S. E., *Chemistry of Materials* **2011**, *23* (7), 1985-1992.
292. Hoskins, C.; Wang, L.; Cheng, W.; Cuschieri, A., *Nanoscale Research Letters* **2012**, *7* (1), 77.
293. Reitsma, S.; Slaaf, D. W.; Vink, H.; van Zandvoort, M. A. M. J.; Egbrink, M. G. A. O., *Pflug Arch Eur J Phy* **2007**, *454* (3), 345-359.
294. Granick, S.; Jiang, S.; Chen, Q., *Phys Today* **2009**, *62* (7), 68-69.
295. Walther, A.; Muller, A. H. E., *Soft Matter* **2008**, *4* (4), 663-668.
296. Gebauer, J. S.; Malissek, M.; Simon, S.; Knauer, S. K.; Maskos, M.; Stauber, R. H.; Peukert, W.; Treuel, L., *Langmuir* **2012**, *28* (25), 9673-9.
297. Lundqvist, M.; Stigler, J.; Elia, G.; Lynch, I.; Cedervall, T.; Dawson, K. A., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2008**, *105* (38), 14265-14270.
298. Bhattacharjee, S.; Ershov, D.; Fytianos, K.; van der Gucht, J.; Alink, G. M.; Rietjens, I. M. C. M.; Marcelis, A. T. M.; Zuilhof, H., *Part Fibre Toxicol* **2012**, *9*.
299. Tenzer, S.; Docter, D.; Rosfa, S.; Wlodarski, A.; Kuharev, J.; Rekić, A.; Knauer, S. K.; Bantz, C.; Nawroth, T.; Bier, C.; Sirirattanapan, J.; Mann, W.; Treuel, L.; Zellner, R.; Maskos, M.; Schild, H.; Stauber, R. H., *Acs Nano* **2011**, *5* (9), 7155-7167.
300. Nafee, N.; Schneider, M.; Schaefer, U. F.; Lehr, C. M., *Int J Pharmaceut* **2009**, *381* (2), 130-139.
301. Calabrese, E. J.; Iavicoli, I.; Calabrese, V., *Hum Exp Toxicol* **2013**, *32* (2), 120-152.
302. Schmeisser, S.; Schmeisser, K.; Weimer, S.; Groth, M.; Priebe, S.; Fazius, E.; Kuhlow, D.; Pick, D.; Einax, J. W.; Guthke, R.; Platzer, M.; Zarse, K.; Ristow, M., *Aging Cell* **2013**, *12* (3), 508-517.
303. Barathmanikanth, S.; Kalishwaralal, K.; Sriram, M.; Pandian, S. R.; Youn, H. S.; Eom, S.; Gurunathan, S., *Journal of Nanobiotechnology* **2010**, *8*, 16.
304. Sadkov, A. P.; Golovanova, S. A.; Lariontseva, N. V.; Levchenko, L. A., *Russ Chem B+* **2011**, *60* (4), 667-670.
305. Hussain, S. M.; Hess, K. L.; Gearhart, J. M.; Geiss, K. T.; Schlager, J. J., *Toxicol in Vitro* **2005**, *19* (7), 975-983.
306. Muller, W. A.; Gimbrone, M. A., *J Cell Biol* **1986**, *103* (6), 2389-2402.
307. Schafer, I. A.; Kovach, M.; Price, R. L.; Fratianne, R. B., *Experimental Cell Research* **1991**, *195* (2), 443-457.
308. Chappell, D.; Jacob, M.; Hofmann-Kiefer, K.; Bruegger, D.; Rehm, M.; Conzen, P.; Welsch, U.; Becker, B. F., *Anesthesiology* **2007**, *107* (5), 776-784.

309. Jacob, M.; Bruegger, D.; Rehm, M.; Welsch, U.; Conzen, P.; Becker, B. F., *Anesthesiology* **2006**, *104* (6), 1223-1231.
310. Rehm, M.; Zahler, S.; Lotsch, M.; Welsch, U.; Conzen, P.; Jacob, M.; Becker, B. F., *Anesthesiology* **2004**, *100* (5), 1211-1223.
311. Weissenboeck, A.; Bogner, E.; Wirth, M.; Gabor, F., *Pharmaceutical Research* **2004**, *21* (10), 1917-1923.
312. Cho, E. C.; Zhang, Q.; Xia, Y. N., *Nat Nanotechnol* **2011**, *6* (6), 385-391.
313. Singh, N. P.; Mccoy, M. T.; Tice, R. R.; Schneider, E. L., *Experimental Cell Research* **1988**, *175* (1), 184-191.
314. Gleib, M.; Habermann, N.; Osswald, K.; Seidel, C.; Persin, C.; Jahreis, G.; Pool-Zobel, B. L., *Biomarkers* **2005**, *10* (2-3), 203-217.
315. Song, M.; Moon, W. K.; Kim, Y.; Lim, D.; Song, I. C.; Yoon, B. W., *Korean J Radiol* **2007**, *8* (5), 365-371.
316. Schladt, T. D.; Graf, T.; Köhler, O.; Bauer, H.; Dietzsch, M.; Mertins, J.; Branscheid, R.; Kolb, U.; Tremel, W., *Chemistry of Materials* **2012**, *24* (3), 525-535.
317. Sun, S., *Advanced Materials* **2006**, *18* (4), 393-403.
318. Chen, J.; Sun, C.; Chow, G. M., *International Journal of Product Development* **2008**, *5* (3), 238-258.
319. Chen, S.; Andre, P., *International Journal of Nanotechnology* **2012**, *9* (1), 39-68.
320. Xu, C.; Yuan, Z.; Kohler, N.; Kim, J.; Chung, M. A.; Sun, S., *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (42), 15346-15351.
321. Chou, S.-W.; Shau, Y.-H.; Wu, P.-C.; Yang, Y.-S.; Shieh, D.-B.; Chen, C.-C., *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (38), 13270-13278.
322. Gilad, A. A.; Walczak, P.; McMahan, M. T.; Na, H. B.; Lee, J. H.; An, K.; Hyeon, T.; van Zijl, P. C. M.; Bulte, J. W. M., *Magnetic Resonance in Medicine* **2008**, *60* (1), 1-7.
323. Shapiro, E. M.; Koretsky, A. P., *Magnetic Resonance in Medicine* **2008**, *60* (2), 265-269.
324. Kang, S.; Miao, G. X.; Shi, S.; Jia, Z.; Nikles, D. E.; Harrell, J. W., *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (4), 1042-1043.
325. Figuerola, A.; Fiore, A.; Di Corato, R.; Falqui, A.; Giannini, C.; Micotti, E.; Lascialfari, A.; Corti, M.; Cingolani, R.; Pellegrino, T.; Cozzoli, P. D.; Manna, L., *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (4), 1477-1487.
326. Narayan, J.; Larson, B. C., *Journal of Applied Physics* **2003**, *93* (1), 278-285.
327. Thomson, T.; Toney, M. F.; Raoux, S.; Lee, S. L.; Sun, S.; Murray, C. B.; Terris, B. D., *Journal of Applied Physics* **2004**, *96* (2), 1197-1201.
328. Wu, X. W.; Liu, C.; Li, L.; Jones, P.; Chantrell, R. W.; Weller, D., *Journal of Applied Physics* **2004**, *95* (11), 6810-6812.
329. Frankamp, B. L.; Boal, A. K.; Tuominen, M. T.; Rotello, V. M., *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (27), 9731-9735.

330. Del Bianco, L.; Fiorani, D.; Testa, A. M.; Bonetti, E.; Signorini, L., *Physical Review B* **2004**, *70* (5), 052401.
331. Mishra, S. R.; Dubenko, I.; Losby, J.; Roy, S.; Ali, N.; Marasinghe, K., *Magnetics, IEEE Transactions on* **2004**, *40* (4), 2716-2720.
332. Zheng, R. K.; Wen, G. H.; Fung, K. K.; Zhang, X. X., *Journal of Applied Physics* **2004**, *95* (9), 5244-5246.
333. Nogués, J.; Leighton, C.; Schuller, I. K., *Physical Review B* **2000**, *61* (2), 1315-1317.
334. Tracy, J. B.; Weiss, D. N.; Dinega, D. P.; Bawendi, M. G., *Physical Review B* **2005**, *72* (6), 064404.
335. Tracy, J. B.; Bawendi, M. G., *Physical Review B* **2006**, *74* (18), 184434.
336. Passamani, E. C.; Larica, C.; Marques, C.; Proveti, J. R.; Takeuchi, A. Y.; Sanchez, F. H., *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2006**, *299* (1), 11-20.
337. Nowak, U.; Usadel, K. D.; Keller, J.; Miltényi, P.; Beschoten, B.; Güntherodt, G., *Physical Review B* **2002**, *66* (1), 014430.
338. Kronast, F.; Friedenberger, N.; Ollefs, K.; Gliga, S.; Tati-Bismaths, L.; Thies, R.; Ney, A.; Weber, R.; Hassel, C.; Römer, F. M.; Trunova, A. V.; Wirtz, C.; Hertel, R.; Dürr, H. A.; Farle, M., *Nano Letters* **2011**, *11* (4), 1710-1715.
339. Sun, S.; Murray, C. B.; Weller, D.; Folks, L.; Moser, A., *Science* **2000**, *287* (5460), 1989-1992.
340. Chen, M.; Kim, J.; Liu, J. P.; Fan, H.; Sun, S., *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (22), 7132-7133.
341. Chou, S.-W.; Zhu, C.-L.; Neeleshwar, S.; Chen, C.-L.; Chen, Y.-Y.; Chen, C.-C., *Chemistry of Materials* **2009**, *21* (20), 4955-4961.
342. Ivanov, O. A.; Solina, L. V.; Demshina, V. A.; Magat, L. M., *Fiz. Metallov Metalloved.* **1973**, *35* (1), 92-97.
343. Weller, D.; Moser, A.; Folks, L.; Best, M. E.; Wen, L.; Toney, M. F.; Schwickert, M.; Thiele, J. U.; Doerner, M. F., *Magnetics, IEEE Transactions on* **2000**, *36* (1), 10-15.
344. Massalski, T. B. O. H. A. S. M. I., *Binary alloy phase diagrams*. ASM International: Materials Park, Ohio, 1990.
345. Fredriksson, P.; Sundman, B., *Calphad* **2001**, *25* (4), 535-548.
346. Nandwana, V.; Elkins, K. E.; Poudyal, N.; Chaubey, G. S.; Yano, K.; Liu, J. P., *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111* (11), 4185-4189.
347. Beck, W.; Souza, C. G. S.; Silva, T. L.; Jafelicci, M.; Varanda, L. C., *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115* (21), 10475-10482.
348. Yu, A. C. C.; Mizuno, M.; Sasaki, Y.; Kondo, H., *Applied Physics Letters* **2004**, *85* (25), 6242-6244.
349. Kevin, E.; Daren, L.; Narayan, P.; Vikas, N.; Zhiqiang, J.; Kanghua, C.; Liu, J. P., *Journal of Physics D: Applied Physics* **2005**, *38* (14), 2306.

350. Li, D. R.; Poudyal, N.; Nandwana, V.; Jin, Z. Q.; Elkins, K.; Liu, J. P., *Journal of Applied Physics* **2006**, *99* (8).
351. Rong, C.-b.; Poudyal, N.; Chaubey, G. S.; Nandwana, V.; Skomski, R.; Wu, Y. Q.; Kramer, M. J.; Liu, J. P., *Journal of Applied Physics* **2007**, *102* (4), -.
352. Lee, D. C.; Smith, D. K.; Heitsch, A. T.; Korgel, B. A., *Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry)* **2007**, *103* (0), 351-402.
353. Kim, J.; Rong, C.; Liu, J. P.; Sun, S., *Advanced Materials* **2009**, *21* (8), 906-909.
354. Rong, C.-B.; Poudyal, N.; Chaubey, G. S.; Nandwana, V.; Liu, Y.; Wu, Y. Q.; Kramer, M. J.; Kozlov, M. E.; Baughman, R. H.; Liu, J. P., *Journal of Applied Physics* **2008**, *103* (7), 07E131-07E131-3.
355. Sun, J.; Simon, S. L., *Thermochimica Acta* **2007**, *463* (1-2), 32-40.
356. Klapper, A. Einfluss äußerer Felder auf das Wachstum von Mesokristallen aus FePt@MnO-Nanodimeren. RWTH Aachen, 2012.
357. Shevchenko, E. V.; Talapin, D. V.; Kotov, N. A.; O'Brien, S.; Murray, C. B., *Nature* **2006**, *439* (7072), 55-59.
358. Talapin, D. V.; Shevchenko, E. V.; Bodnarchuk, M. I.; Ye, X.; Chen, J.; Murray, C. B., *Nature* **2009**, *461* (7266), 964-967.
359. Dong, A.; Chen, J.; Vora, P. M.; Kikkawa, J. M.; Murray, C. B., *Nature* **2010**, *466* (7305), 474-477.
360. *GADDS V4.1.19 (Computer Software)*. Bruker AXS: Madison, 2004.
361. Coelho, A. A., *TOPAS-Academic V4.1 (Computer Software)*. Coelho Software: Brisbane, 2007.
362. Schrader, R.; Büttner, G., *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie* **1963**, *320* (5-6), 205-219.
363. Domenges, B.; Goreaud, M.; Labbe, P.; Raveau, B., *Acta Crystallographica Section B* **1982**, *38* (6), 1724-1728.
364. Lagarec, K.; Rancourt, D. C. *Mössbauer spectral analysis software for Windows*, 1.0; 1998.

Curriculum Vitae

