

---

## Einleitung

---

Das menschliche Auge kann Strukturen bis zu einer Größe von knapp unter einem Millimeter unterscheiden.<sup>[1]</sup> Alles Kleinere blieb über lange Zeit hinweg nur der Vorstellungskraft überlassen. Bereits der griechische Philosoph Demokrit stellte in seiner Atomtheorie die Hypothese auf, dass die Welt aus kleinsten, unsichtbaren und unteilbaren Bausteinen bestehe.<sup>[2]</sup> Der Wunsch, das Unsichtbare sichtbar zu machen, führte im 17. Jahrhundert zur Erfindung und Entwicklung von Mikroskopen. Erstmals konnten Strukturen beobachtet werden, die für das bloße Auge unsichtbar waren. Klassische optische Mikroskope stoßen jedoch an eine physikalische Auflösungsgrenze bei etwa  $0,2\ \mu\text{m}$ .<sup>[3]</sup> Hier gelang dem deutschen Physiker Ernst Ruska 1931 mit der Entwicklung des Elektronenmikroskops ein entscheidender Durchbruch. Erstmals war die Beobachtung von Objekten auf der Nanoskala möglich.<sup>[4]</sup> Moderne Transmissionselektronenmikroskope können heute Auflösungen von bis zu  $0,1\ \text{nm}$  erreichen, was die Beobachtung atomarer Strukturen ermöglicht. Ebenso wurden moderne optische Verfahren (z. B. STED-Mikroskopie) entwickelt, die auf Basis von Licht Auflösungen von  $< 100\ \text{nm}$  realisieren können.<sup>[5]</sup> Diese Fortschritte schufen die Grundlage für die moderne Nanotechnologie, in der u. a. Nanopartikel mit Dimensionen von einem bis zu hundert Nanometern eine zentrale Rolle spielen. Ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften unterscheiden sich oft deutlich von denen makroskopischer Materialien. Nanopartikel zeichnen sich durch eine große Oberfläche aus und können charakteristische optische und magnetische Eigenschaften aufweisen.<sup>[6,7]</sup> Ein Beispiel hierfür sind nanoskalige Halbleiterpartikel, sogenannte Quantenpunkte, deren geringe Größe quantenmechanische Effekte hervorruft. Ihre Emissionsfarbe kann über die Partikelgröße gezielt eingestellt werden.<sup>[8]</sup> Eine Vielzahl an Variationsmöglichkeiten macht Nanopartikel für zahlreiche Anwendungen (z. B. im Bereich der Katalyse, der Medizin etc.) interessant. In der Grundlagenforschung ist es daher nicht nur ein Ziel, die Nanowelt sichtbar zu machen, sondern sie auch gezielt zu strukturieren, um spezifische

Eigenschaften auf der Makroskala zu erreichen. In der vorliegenden Arbeit wurden unter diesem Aspekt verschiedene Nanopartikel hergestellt und charakterisiert.

Wirkstoffhaltige Nanopartikel stellen in der medizinischen Forschung einen innovativen Ansatz zur präzisen und nebenwirkungsarmen Behandlung dar.<sup>[9,10]</sup> Aufgrund ihrer nanoskaligen Größe können sie gezielt in bestimmte Zellen oder Gewebe gelangen, was die Wirksamkeit von Therapien erhöht. Die in der Literatur beschriebenen Nanopartikel zeichnen sich häufig durch einen relativ niedrigen Wirkstoffgehalt aus, der typischerweise unter 10 Gew.-% liegt. Der verbleibende Anteil des Partikelmaterials erfüllt keinen medizinischen Zweck und kann Nebenwirkungen verursachen. Ein Ziel dieser Arbeit ist die Synthese wirkstoffhaltiger Nanopartikel mit einem hohen Wirkstoffgehalt (> 50 Gew.-%). Zusätzliche Herausforderung dabei ist die Durchführung einer größenkontrollierten Synthese zur Realisierung kleiner Partikelgrößen (< 100 nm). Ebenfalls wichtig ist eine hohe kolloidale Stabilität (Zeta-Potential < -30 mV oder > 30 mV) der Nanopartikel in Wasser. Insbesondere lipophile Wirkstoffe zeigen aufgrund einer geringen Wasserlöslichkeit oftmals eine schlechte Biodistribution, lagern sich bevorzugt in Fettgewebe oder der Leber ab und gelangen nur unzureichend zum beabsichtigten Wirkort. Der Einbau lipophiler Wirkstoffe in Nanopartikel ist ein vielversprechender Ansatz, um deren Biodistribution zu verbessern und das Auftreten von Nebenwirkungen zu verringern. Zusätzlich bietet der Einsatz von Nanopartikeln die Möglichkeit, therapeutische und diagnostische Ansätze zu verknüpfen. Hierbei kommen beispielsweise Nanopartikel zum Einsatz, die neben einem Wirkstoff auch einen fluoreszierenden Farbstoff beinhalten. Dadurch kann der Transport des Wirkstoffs zum Wirkort mittels optischer Bildgebung verfolgt werden.<sup>[11,12]</sup> Fluoreszierende Nanopartikel bieten zusätzlich eine vielversprechende Möglichkeit, als Sensoren eingesetzt zu werden, um biologisch relevante Moleküle (z. B. Peptide, DNA, Antikörper) und Ionen (z. B.  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  etc.) nachzuweisen.

Nanopartikuläre Metalle weisen ein hohes Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis auf und bieten dadurch in der heterogenen Katalyse ein großes Anwendungspotential.<sup>[13]</sup> Ihre hohe Reaktivität resultiert aus dem großen Anteil an Oberflächenatomen, die an chemischen Reaktionen teilnehmen können. Im Vergleich zu Volumenmetallen zeigen sie außerdem einen niedrigeren Schmelzpunkt. Auch ihre optischen, magnetischen und elektrischen Eigenschaften können sich von denen der Volumenmetalle unterscheiden. Bislang wurden hauptsächlich edle Metalle in nanoskaliger Form hergestellt und untersucht.<sup>[14,15]</sup> Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist die Synthese und Charakterisierung von Nanopartikeln unedler Metalle. Herausforderung dabei ist das Arbeiten unter inerten Bedingungen. Unedle Metalle weisen eine starke Oxophilie auf und bilden Oxide und Hydroxide bei

---

Gegenwart von Sauerstoff bzw. Feuchtigkeit. Eine Passivierung der Nanopartikel durch eine Oxid- bzw. Hydroxidschicht an der Oberfläche muss deshalb verhindert werden. Ebenso dürfen die Nanopartikel nur mit inerten Lösungsmitteln in Kontakt kommen. Alkohole können beispielsweise mit unedlen Metallen Alkoholate bilden. Außerdem ist auch bei der Synthese von Nanopartikeln unedler Metalle auf eine Größenkontrolle Wert zu legen, damit Partikelgrößen  $< 100$  nm mit einer engen Verteilung erreicht werden. Von solchen Nanopartikeln wird eine außerordentlich hohe Reaktivität erwartet, die möglicherweise in Folgereaktionen zur Synthese neuartiger Koordinationsverbindungen genutzt werden kann.



---

## Analytische Methoden

---

Zur Charakterisierung von Nanomaterialien werden verschiedene analytische Methoden angewendet, um grundlegende Fragen nach Struktur, Größe und Zusammensetzung zu beantworten. Weiterhin werden in der vorliegenden Arbeit Nanopartikel vorgestellt, die bestimmte Funktionalitäten (Wirkstofftransport, Fluoreszenz, Reaktivität etc.) adressieren. Um Aussagen über die Eignung für diese Zwecke treffen zu können, sind ergänzende analytische Untersuchungen notwendig. Das folgende Kapitel gibt eine Übersicht über die verwendeten Methoden und Messinstrumente und zeigt auf, welche Informationen jeweils gewonnen werden können.

### 2.1 Elektronenmikroskopie

Zur Visualisierung kleinster Partikel und Strukturen eignet sich die Elektronenmikroskopie. Das Auflösungsvermögen klassischer Lichtmikroskope ist physikalisch begrenzt. Die maximal erreichbare Auflösung wird auch als *Abbe*-Limit bezeichnet. Nach Formel 2.1 ist mithilfe des sichtbaren Spektrums (380–780 nm) nur eine Auflösung von bis zu 0,2  $\mu\text{m}$  möglich.<sup>[3]</sup>

$$(2.1) \quad d = \frac{\lambda}{2 \cdot n \cdot \sin \alpha}$$

$d$	Erzielbare Auflösung
$\lambda$	Wellenlänge
$n \cdot \sin \alpha$	Numerische Apertur

Eine höhere Auflösung kann beispielsweise mittels beschleunigter Elektronen erreicht werden. Deren Wellenlänge kann über den Welle-Teilchen-Dualismus nach *de Broglie* (Gleichung 2.2) berechnet werden.

		$h$	Plancksches Wirkungsquantum
		$p$	Impuls
(2.2)	$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{m_0 \cdot v} = \frac{h}{\sqrt{2 \cdot m_0 \cdot e \cdot U}}$	$m_0$	Ruhemasse
		$v$	Geschwindigkeit
		$e$	Elementarladung
		$U$	Beschleunigungsspannung

Bei den in der Elektronenmikroskopie üblicherweise angewendeten Beschleunigungsspannungen (1-400 kV) müssen relativistische Effekte in Bezug auf die Masse der Elektronen berücksichtigt werden. Dafür lässt sich Gleichung 2.3 aufstellen.

(2.3)	$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{\sqrt{2 \cdot m_0 \cdot e \cdot U \cdot \left(1 + \frac{e \cdot U}{2 \cdot m_0 \cdot c^2}\right)}}$	$c$	Lichtgeschwindigkeit
-------	---	-----	----------------------

Es wird ersichtlich, dass mit steigender Beschleunigungsspannung  $U$  die Wellenlänge  $\lambda$  der Elektronen abnimmt und damit nach Gleichung 2.1 das Auflösungsvermögen steigt. Somit sind mittels Elektronenmikroskopie theoretische Auflösungen im Sub-Nanometerbereich möglich. In der Praxis ist die tatsächlich erreichbare Auflösung allerdings kleiner und von Faktoren wie der Linsenaberration, Störungen durch umgebungsbedingte elektromagnetische Wellen und Bodenschwingungen abhängig.<sup>[16]</sup>

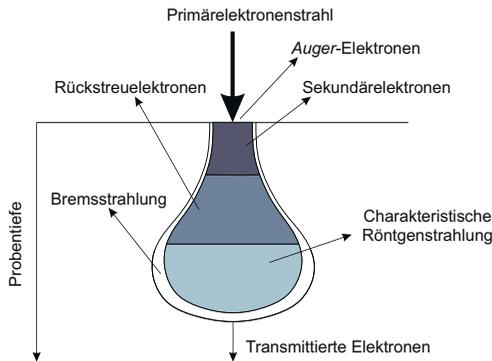


Abbildung 2.1: Wechselwirkungen beschleunigter Elektronen in einem Elektronenmikroskop mit einer Probe (Abbildung modifiziert nach[17]).

Bei Interaktion eines Elektronenstrahls mit einer Probe kommt es zu physikalischen Prozessen, die für Bildgebung und Spektroskopie eingesetzt werden können (Abbildung 2.1). Die in dieser Arbeit genutzten Wechselwirkungen werden in der Folge mit zugehöriger Messmethodik vorgestellt.

Gestreute Elektronen ermöglichen die Bildgebung in der Rasterelektronenmikroskopie. Es wird unterschieden zwischen elastisch gestreuten Elektronen (**Rückstreuelektronen**) und inelastisch gestreuten Elektronen (**Sekundärelektronen**). Bei elastischer Streuung werden Elektronen von ihrer ursprünglichen Flugbahn abgelenkt, geben aber keine Energie an die Probe ab. Eine Energieübertragung findet dagegen bei inelastischer Streuung statt. Deshalb weisen Sekundärelektronen eine niedrigere Energie als Primärelektronen auf. Weiterhin können kernnahe Elektronenfehlstellen in den durch auftreffende Elektronen ionisierten Atomen der Probe durch Relaxation energetisch höherliegender Elektronen aus äußeren Schalen aufgefüllt werden. Die dabei freigesetzte Energie kann in Form von **Röntgenquanten** oder durch Übertragung auf ein schwach gebundenes Elektron in Form von **Auger-Elektronen** emittiert werden. Da die Energie der entstehenden Röntgenstrahlung elementcharakteristisch ist, kann diese zur qualitativen und quantitativen Elementbestimmung verwendet werden. **Transmittierte Elektronen** werden in der Transmissions- und Rastertransmissionselektronenmikroskopie analysiert.

## Rasterelektronenmikroskopie

Bei der Rasterelektronenmikroskopie (REM) wird die Oberfläche einer Probe mit einem fokussierten Elektronenstrahl in einem Rasterverfahren abgetastet. Die dabei auftretenden Rückstreu- und Sekundärelektronen werden detektiert. Aus diesen Messdaten kann ein visuelles Abbild der Probenoberfläche berechnet werden.<sup>[18]</sup>

Abbildung 2.2 zeigt schematisch den Aufbau eines Rasterelektronenmikroskops. Durch eine Feldemissionskathode wird im Ultrahochvakuum ( $10^{-9}$  mbar) ein hochenergetischer Elektronenstrahl erzeugt. Mithilfe von Spulen und eines magnetischen Linsensystems wird dieser konvergent auf die Probe fokussiert.<sup>[19]</sup> Für die Bildgebung in der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Sekundärelektronen verwendet. Deren Messung erfolgte mittels eines sogenannten Inlens-Detektors, der im Linsensystem des Mikroskops integriert ist.<sup>[17]</sup>

Die in dieser Arbeit gezeigten REM-Aufnahmen wurden mit einem Supra 40VP Rasterelektronenmikroskop (Carl Zeiss, Oberkochen) mit einer  $ZrO_2/W$ -Feldemissionskathode

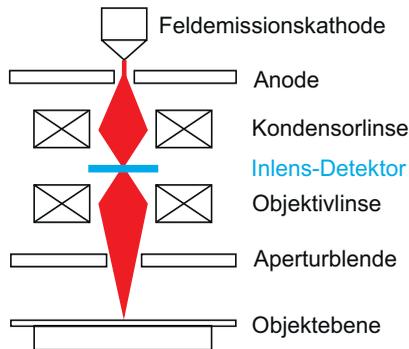


Abbildung 2.2: Schematischer Aufbau eines Rasterelektronenmikroskops. Abbildung modifiziert nach [19].

(1800 K Betriebstemperatur) aufgenommen. Hierfür wurden Beschleunigungsspannungen von 2–10 kV verwendet. Zur Probenpräparation wurden Nanopartikelsuspensionen mittels Ultraschallzerstäuber auf Siliziumwafern aufgebracht und getrocknet. Der Siliziumwafer wurde mit Silberleitlack auf einem Aluminiumträger befestigt. Die Bestimmung der Größenverteilung der Partikel erfolgte anhand statistischer Auszählungen mithilfe der Software ImageJ (Version 1.52p, National Institutes of Health, Bethesda).

## Transmissionselektronenmikroskopie

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) erfolgt eine Bildgebung auf Basis der transmittierten Elektronen (Abbildung 2.1). Der Aufbau eines Transmissionselektronenmikroskops (Abbildung 2.3) ähnelt dem eines Rasterelektronenmikroskops mit einigen Unterschieden: Der Elektronenstrahl wird mittels eines Kondensorlinsensystems so auf die Probe fokussiert, dass er die Probe nahezu parallel durchstrahlt. Eine geeignete Probendicke (< 250 nm bei 200 kV Beschleunigungsspannung) ist dabei Voraussetzung. Beim Durchgang durch die Probe werden Elektronen teilweise absorbiert und gestreut. In großem Winkel gestreute Elektronen werden von der Objektivblende aufgefangen und tragen nicht zur Bildgebung bei. Deren Anteil ist abhängig von der Probendicke und der Materialdichte. Dunkle Bereiche in TEM-Aufnahmen deuten deshalb auf dicke Probenbereiche oder Schweratome hin. Mittels Objektivlinse wird aus den transmittierten Elektronen ein Zwischenbild erzeugt, das von weiteren Linsensystemen (Zwischenlinse, Projektorlinse) vergrößert und auf einen Detektor fokussiert wird. Dieser wandelt die

Elektronenstrahlung in Licht um, das wiederum von einer CCD-Kamera aufgezeichnet werden kann.<sup>[4]</sup>

Bei Interaktion der Elektronen mit kristallinen Proben kommt es neben Streu- und Beugungseffekten (beschreibbar mit der *Bragg*-Gleichung) zusätzlich zu einer Phasenmodulation der Elektronenwelle durch das Kristallgitter. Bildgebende Medien wie Leuchtschirme oder CCD-Kameras (engl. *Charge-Coupled Device*) sind nur sensitiv für Amplitudenunterschiede (und nicht für Phasenunterschiede). Der gewünschte Amplitudenkontrast in der Bildebene kann durch Interferenz der phasenmodulierten Welle mit einer (ebenfalls phasenmodulierten) gebeugten Welle realisiert werden. Mittels Variation der Brennweite wird eine geeignete Phasenverschiebung zwischen transmittierter und gebeugter Elektronenwelle erhalten und das Kristallgitter (genauer: Atomsäulen bzw. Gitterabstände) sichtbar. Diese Methodik wird als (HR)TEM (engl. *High Resolution TEM*) bezeichnet. Voraussetzung dafür sind Aberrationskorrekturen, die das Auflösungsvermögen eines TEMs auf atomare Skala ( $< 0,1 \text{ nm}$ ) erweitern.<sup>[20]</sup>

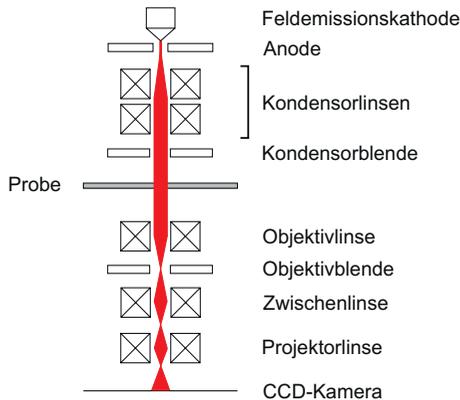


Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau eines Transmissionselektronenmikroskops. Abbildung modifiziert nach [4].

Die in dieser Arbeit gezeigten TEM-Messungen wurden von *Dr. Radian Popescu* (LEM, KIT), *Dr. Felix Jung* (AOC, KIT) und *Jens Treptow* (AOC, KIT) an einem FEI Osiris (FEI, Eindhoven) bei 200 kV oder einem FEI Titan (FEI, Eindhoven) bei 300 kV Beschleunigungsspannung durchgeführt. Zur Probenpräparation wurden Suspensionen auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfernetz (Plano, Wetzlar) getropft, welches anschließend

bei Raumtemperatur (Farb- und Wirkstoffnanopartikel) oder 120 °C (Metallnanopartikel) im Vakuum ( $10^{-3}$  mbar) getrocknet wurde. Luftempfindliche Proben wurden mit einem Transfermodul (Gatan, Pleasanton) unter inerten Bedingungen in die Elektronenmikroskope eingeschleust. Eine Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels der Software Digital Micrograph (Version 2.3, Gatan, Pleasanton) und JEMS (JEMS-SWISS, Jongny).

### Rastertransmissionselektronenmikroskopie

Eine weitere Messmethode, die moderne Elektronenmikroskope ermöglichen, ist die Rastertransmissionselektronenmikroskopie (STEM). Dabei wird die Probe, vergleichbar zur Rasterelektronenmikroskopie, von einem konvergenten Elektronenstrahl beleuchtet. Die transmittierten Elektronen werden je nach Ordnungszahl der Probenatome unterschiedlich stark gestreut. Dieser Effekt wird durch die Verwendung unterschiedlicher Detektoren ausgenutzt. Im Zentrum der Endbildebene befindet sich der Hellfelddetektor. Mit diesem wird die Intensität der wenig gestreuten Elektronen gemessen. Probenbereiche erscheinen dunkel. Der Dunkelfelddetektor sitzt leicht versetzt und misst stärker gestreute Elektronenintensitäten. Damit aufgenommene STEM-Bilder zeigen helle Probenbereiche. Noch weiter außen befindet sich der HAADF-Detektor (engl. *High Angle Annular Dark Field*). Dieser misst ausschließlich stark gestreute Elektronen und ermöglicht dadurch die Bildgebung mit einem hohen  $Z$ -Kontrast ( $Z$  = Ordnungszahl eines Elements).<sup>[20]</sup>

In dieser Arbeit gezeigte STEM-Messungen wurden von *Dr. Felix Jung* (AOC, KIT) und *Jens Treptow* (AOC, KIT) an einem FEI Osiris (FEI, Eindhoven) mit 200 kV Beschleunigungsspannung durchgeführt. Die Probenpräparation erfolgte analog zur TEM-Präparation. Für die Auswertung der Ergebnisse wurde die Software TEM Imaging & Analysis (Version 4.6, FEI, Eindhoven) genutzt.

### Energiedispersive Röntgenspektroskopie

Die Energie der bei Interaktion des Elektronenstrahls mit der Probe auftretenden Röntgenstrahlung ist charakteristisch für das zugrundeliegende Element. Mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDXS) kann dieser in einem Elektronenmikroskop auftretende Effekt zur Identifizierung von Elementen in einer Probe genutzt werden. Für die Messung eignen sich Halbleiterdetektoren. Diese basieren auf namensgebenden Halbleiterkristallen, in denen ein elektrisches Feld erzeugt wird. Beim Auftreffen eines Röntgenquants werden