

DISSERTATION

Silber-Nanopartikel mit definierter Morphologie
Darstellung, Eigenschaften und biologische Wirkung

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Dipl.-Chem. Jens Nicolai Helmlinger

Fakultät für Chemie der Universität Duisburg-Essen

Institut für Anorganische Chemie

2015

*Selbst bei einer Teetasse stellt es einen großen Unterschied dar,
ob du sie bloß hinwirfst, oder ob du sie bis zum Schluss in der Hand führst,
um sie abzusetzen.*

Sawaki Kōdō

Autor: Jens Nicolai Helmlinger
geb. am 05.04.1987

Angefertigt an: Universität Duisburg-Essen
Fakultät für Chemie
Institut für Anorganische Chemie
Arbeitsgruppe Prof. Dr. Epple

Bearbeitungszeit: Oktober 2012 bis Dezember 2015

Tag der Disputation: 15. April 2016

Gutachter: Prof. Dr. Matthias Epple
Prof. Dr. Malte Behrens
Prof. Dr. Robert Dinnebier

Vorsitzende: Prof. Dr. Karin Stachelscheid

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Motivation.....	1
2 Theoretische Grundlagen.....	5
2.1 Nanopartikel und Kolloide.....	5
2.1.1 Definition.....	5
2.1.2 Eigenschaften.....	8
2.1.3 Stabilität.....	10
2.1.4 Synthesemethoden.....	13
2.2 Silber Nanopartikel.....	15
2.2.1 Methoden zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln.....	15
2.2.2 Biologische Wirkung von Silber-Nanopartikeln.....	16
2.3 Formkontrollierte Synthese von metallischen Nanopartikeln.....	18
2.3.1 Kristallisation von metallischen Nanopartikeln.....	18
2.3.2 Thermodynamische und kinetische Kontrolle über Kristallkeime.....	19
2.3.3 Selektion von Kristallisationskeimen durch oxidatives Ätzen.....	20
2.3.4 Wachstum von Kristallisationskeimen zu Nanopartikeln.....	21
3 Geräte und Methoden.....	23
3.1 Synthesemikrowelle.....	23
3.2 Mikroskopische Methoden.....	23
3.2.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	24
3.2.2 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM/HRTEM).....	25
3.2.3 Fluoreszenzmikroskopie (FM).....	28
3.2.4 Konfokale Laserscanningmikroskopie (CLSM).....	29
3.2.5 Rasterkraftmikroskopie (AFM).....	30
3.3 Größenbestimmung kolloidal dispergierter Partikel.....	32
3.3.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS) und ζ -Potential.....	32
3.3.2 Analytische Scheibenzentrifugation (DCS).....	35
3.4 Spektroskopische Methoden.....	37
3.4.1 Ultraviolett-spektroskopie (UV/Vis).....	37
3.4.2 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS).....	38

3.4.3 Röntgenpulverdiffraktometrie (PXRD).....	40
3.5 Übersicht über die verwendeten Analyse- und Laborgeräte.....	45
3.6 Übersicht über die verwendeten Chemikalien.....	47
4 Experimentaltteil.....	48
4.1 Allgemeine Arbeitstechniken.....	48
4.2 Glucose-Synthese von Silber-Nanopartikeln.....	49
4.2.1 Kleine Silber-Nanopartikel durch Glucose-Synthese mit Natriumsulfid...49	
4.2.2 Einfluss verschiedener Lösemittel/Additive auf die Glucose-Synthese...50	
4.3 Vergleich Haushaltsmikrowelle mit Synthesemikrowelle.....	51
4.4 Synthese von Silber-Nanokugeln in der Mikrowelle.....	51
4.5 Synthese von Silber-Nanoplättchen in der Mikrowelle.....	52
4.6 Synthese von Silber-Nanowürfeln durch Hydrothermalreaktion.....	53
4.7 Synthese von Silber-Nanowürfeln durch oxidatives Ätzen.....	54
4.8 Synthese von Silber-Nanostäbchen mit dem Polyolprozess.....	55
4.9 Stabilität von Silber-Nanopartikeln im biologischen Medium.....	56
4.10 Untersuchung der Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln.....	56
4.11 Biologische Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln.....	57
4.11.1 Kultivierung humaner mesenchymaler Stammzellen.....	57
4.11.2 Inkubation von hMSC mit Silber-Nanopartikeln.....	57
4.11.3 Antimikrobielle Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln.....	58
5 Ergebnisse und Diskussion.....	59
5.1 Glucose-Synthese von Silber-Nanopartikeln.....	59
5.1.1 Ausbeuteuntersuchung der Glucose-Synthese.....	70
5.1.2 Einfluss verschiedener Lösemittel und Additive.....	76
5.1.3 Einfluss des Polymers Polyvinylpyrrolidon.....	83
5.2 Mikrowellen-Synthese von Silber-Nanopartikeln.....	89
5.2.1 Grundlagen der Mikrowellen-Synthese.....	89
5.2.2 Mechanismen der Mikrowellen-Heizung.....	91
5.2.3 Mikrowellen-Synthese von metallischen Nanopartikeln.....	92
5.2.4 Vergleich einer Haushaltsmikrowelle mit einer Synthesemikrowelle.....	94
5.2.5 Synthese von sphärischen Silber-Nanopartikeln.....	99
5.2.6 Synthese von plättchenförmigen Silber-Nanopartikeln.....	111

5.3	Reproduzierbarkeit von Silber-Nanopartikel-Synthesen.....	122
5.4	Polyolprozess zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln.....	125
5.4.1	Darstellung von Silber-Nanowürfeln durch oxidatives Ätzen.....	125
5.4.2	Darstellung von Silber-Nanostäbchen durch Seeding mit Silberchlorid	140
5.5	Überblick über die hergestellten Silber-Nanopartikel.....	149
5.6	Texturanalyse anhand von Polfiguren.....	152
5.7	Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln.....	158
5.8	Biologische Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln.....	165
6	Zusammenfassung.....	174
7	English Summary.....	177
8	Literaturverzeichnis.....	180
9	Anhang.....	181
9.1	Abkürzungsverzeichnis.....	181
9.2	Publikationsliste.....	183
9.3	Eidesstattliche Erklärung.....	184
9.4	Lebenslauf.....	185
9.5	Danksagung.....	186

1 Einleitung und Motivation

Silber ist ein weiß glänzendes Metall mit einem Schmelzpunkt von 962 °C und einem Siedepunkt von 2215 °C. Zusammen mit Kupfer, Gold und Roentgenium steht es in der 11. Gruppe des Periodensystems der Elemente und zählt zu den sog. Münzmetallen. Es kristallisiert unter Normalbedingungen in der kubisch-dichtesten Kugelpackung (vgl. Abbildung 1.1). Aufgrund seiner hohen Duktilität lässt es sich gut zu filigranen Folien und Drähten verarbeiten. Von allen bekannten Metallen besitzt Silber die höchste elektrische und thermische Leitfähigkeit.^[1,2]

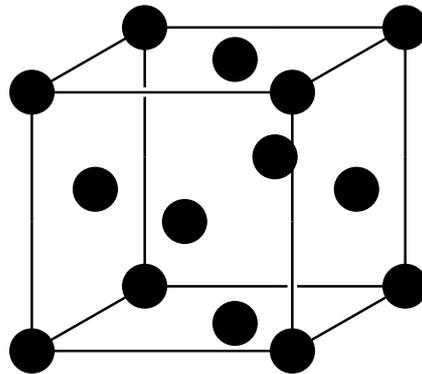


Abbildung 1.1.: Elementarzelle der kubisch-dichtesten Kugelpackung.

In der Natur kommt Silber als edles Metall ($E_0 \text{ Ag/Ag}^+ = +0.7991 \text{ V}$) sowohl gediegen als auch gebunden, hauptsächlich in Form von sulfidischen Erzen, vor. Wichtige Vertreter sind z.B. *Argentit* Ag_2S , *Pyrargyrit* Ag_3SbS_3 und *Proustit* Ag_3AsS_3 . Die bedeutendsten Lagerstätten finden sich in Mexiko, Nevada (USA), Südamerika sowie Kanada.^[1,2] Großtechnisch wird es im Wesentlichen als Nebenprodukt bei der Herstellung von Blei und Kupfer gewonnen. Aus silberhaltigen Erzen kann es mittels Cyanidlaugerei als $[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$ isoliert und anschließend mit Zink reduziert werden. Die Aufreinigung erfolgt elektrolytisch im sog. Moebius-Verfahren.^[1,2]

Bedingt durch seine hohe Korrosionsbeständigkeit und relative Seltenheit ist Silber schon seit der Antike hauptsächlich als wertvolles Schmuck- und Zahlungsmittel in Gebrauch. Ausgrabungen in Kleinasien und dem Ägäischen Meer lassen vermuten,

1. Einleitung und Motivation

dass die Gewinnung des elementaren Metalls aus silberhaltigen Erzen durch Reduktion mit Blei erstmals um ca. 3000 v. Chr. gelungen ist.^[1,3] Neben besonderen optischen und elektronischen Eigenschaften besitzt Silber auch eine antibakterielle Wirkung.^[4] Aufgrund zunehmender Resistenzen bakterieller Erreger und der damit verbundenen Probleme bei der Bekämpfung von Infektionskrankheiten^[5,6] ist es eine interessante „anorganische“ Alternative zu klassischen Antibiotika, insbesondere als Desinfektionsmittel und bei der Beschichtung medizinischer Oberflächen und Implantate.^[7-9] Bereits im Altertum wurde Silber deshalb, natürlich ohne Wissen über die zugrunde liegenden mikrobiologischen Vorgänge, von Persern, Griechen, Römern und Ägyptern zur Lagerung und zum Transport von Wasser und Lebensmitteln eingesetzt.^[4,10] Heutzutage ist bekannt, dass die antibakterielle Wirkung eng mit der durch oxidative Prozesse induzierten Freisetzung von Silber-Ionen aus dem Metall verknüpft ist.^[11-15] Die Toxizität beruht dabei auf einer Schädigung von essentiellen Zellorganellen des Bakteriums sowie auf einer Störung des intrazellulären Stoffwechsels.^[16] Zusätzlich wird auch die Bildung reaktiver Sauerstoffmetabolite beobachtet.^[17] Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die freigesetzten Silber-Ionen im biologischen Medium zu Silberchlorid weiterreagieren, welches vermutlich die dominierende toxische Spezies ist.^[18] Es wird angenommen, dass die Freisetzungskinetik von Silber-Ionen mit der spezifischen Oberfläche des Metalls korreliert, weshalb neben der Anwendung von metallischem Silber, z.B. als Bestandteil von Zahn-Legierungen^[19], insbesondere nanopartikuläres (kolloidales) Silber von akademischem und wirtschaftlichem Interesse ist.^[4] So werden Silber-Nanopartikel in der medizinischen Forschung und Klinik z.B. als Biosensoren^[20] oder zur antimikrobiellen Beschichtung von Produkten wie Kathetern, Verbänden, Pflastern, Skalpellen und Nadeln eingesetzt.^[21-28] Aber auch außerhalb des medizinischen Sektors finden sich zahlreiche Anwendungen für Silber-Nanopartikel, z.B. in der Katalyse,^[29,30] der Photonik,^[31-33] der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie (SERS),^[34,35] bei der Energiespeicherung und -umwandlung^[36] oder als Bestandteil von Kosmetika, Sport- und Funktionstextilien.^[37-42]

Bei „Nanosilber“ handelt es sich im weitesten Sinne um sehr kleine Silber-Partikel, die sich an der Grenze zwischen isoliertem Molekül (Cluster) und makroskopischem Bulk-Material befinden und sich aufgrund ihrer geringen Größe in ihren Eigen-

schaften zum Teil fundamental von diesem unterscheiden.^[43] Die Synthese erfolgt üblicherweise durch Reduktion eines ionischen Vorläufers aus wässrigem oder organischem Medium in Anwesenheit von stabilisierenden Polymeren. Entscheidend für die Größe und Morphologie der gebildeten Partikel sind zahlreiche Faktoren wie z.B. die Konzentration der Edukte, die Reaktionstemperatur und -zeit sowie die Wahl des Reduktionsmittels und des stabilisierenden Polymers. Bereits kleinste Änderungen in den Reaktionsbedingungen oder minimale Verunreinigungen der Edukte können sich dramatisch auf die Qualität des Produkts auswirken. Xia *et al.* geben einen Überblick über die Darstellung von Silber-Nanopartikeln mit definierter Morphologie und beschreiben verschiedene Mechanismen, mit denen der Kristallisationsprozess beeinflusst werden kann, um maßgeschneiderte Partikel mit gewünschter Größe und Form zu erhalten.^[44-48]

Während die toxische Wirkung von Silber-Nanopartikeln gegenüber Bakterien allgemein anerkannt ist und kommerziell genutzt wird, und weiterhin Partikel mit unterschiedlicher Form zumindest im Labormaßstab zugänglich sind, ist bislang fast nichts über den Einfluss der Morphologie auf die Auflösungskinetik und die biologische Wirkung solcher Partikel bekannt. Aufgrund der beschriebenen Labilität gegenüber kleinsten und zum Teil nicht kontrollierbaren Einflüssen kommt es in der Laborpraxis oft zu erheblichen Problemen mit der Reproduzierbarkeit und Verlässlichkeit literaturbekannter Synthesen.^[49,50] Erschwerend kommt hinzu, dass die oftmals komplexen biologischen Experimente besondere Anforderungen an die Qualität, Reinheit und Menge der zu untersuchenden Partikel stellen: Größe und Form müssen mit verschiedenen analytischen Methoden charakterisiert werden, um belastbare Ergebnisse zu erhalten.^[51] Nebenprodukte, Gegenionen und sonstige Verunreinigungen, die im biologischen System stören könnten, müssen durch sorgsame Aufreinigung entfernt werden. Die Partikel müssen für den Zeitraum des Experiments unter physiologischen Bedingungen im Zellkulturmedium stabil sein, und schließlich muss auch die Konzentration hoch genug sein, um eine toxische Wirkung und damit einen messbaren Effekt zu erzielen.^[52]

Ziel dieser Arbeit ist die Etablierung reproduzierbarer, nasschemischer Synthesemethoden zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln mit definierter Morphologie, die

1. Einleitung und Motivation

die oben genannten Kriterien erfüllen und damit für biologische Folgeuntersuchungen geeignet sind. Dabei sollen bereits literaturbekannte Synthesevorschriften so modifiziert werden, dass sie den beschriebenen Ansprüchen genügen und ggf. neue Synthesewege erarbeitet werden. Die Partikel sollen sorgsam aufgereinigt, mittels verschiedener Analysemethoden umfassend charakterisiert und im biologischen Experiment hinsichtlich ihrer Toxizität gegenüber prokaryotischen und eukaryotischen Zellen untersucht werden. Begleitend dazu soll die Auflösungskinetik verschieden geformter Partikel in wässrigem Medium in Abhängigkeit von ihrer Morphologie bestimmt werden. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, sollen Größe, Ladung und Funktionalisierung möglichst konstant gehalten werden.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Nanopartikel und Kolloide

2.1.1 Definition

Unter dem Begriff „Nanopartikel“ (gr. *nanos*, „Zwerg“)^[53] versteht man kleine, mit dem bloßen Auge nicht sichtbare Teilchen in der Größenordnung weniger Nanometer ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Damit befinden sie sich im Übergangsbereich zwischen isolierten Atomen bzw. Molekülen und dem makroskopischen Festkörper, von dem sich ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften typischerweise fundamental unterscheiden.^[54,55] Sie sind auch kleiner als beispielsweise Zellen, Bakterien oder Viren (vgl. Abbildung 2.1) und daher oftmals dazu in der Lage, mit diesen zu interagieren oder die Zellmembran zu penetrieren, was sie insbesondere für die biomedizinische Forschung und die Anwendung in der Diagnostik und Therapie interessant macht.^[56-58]

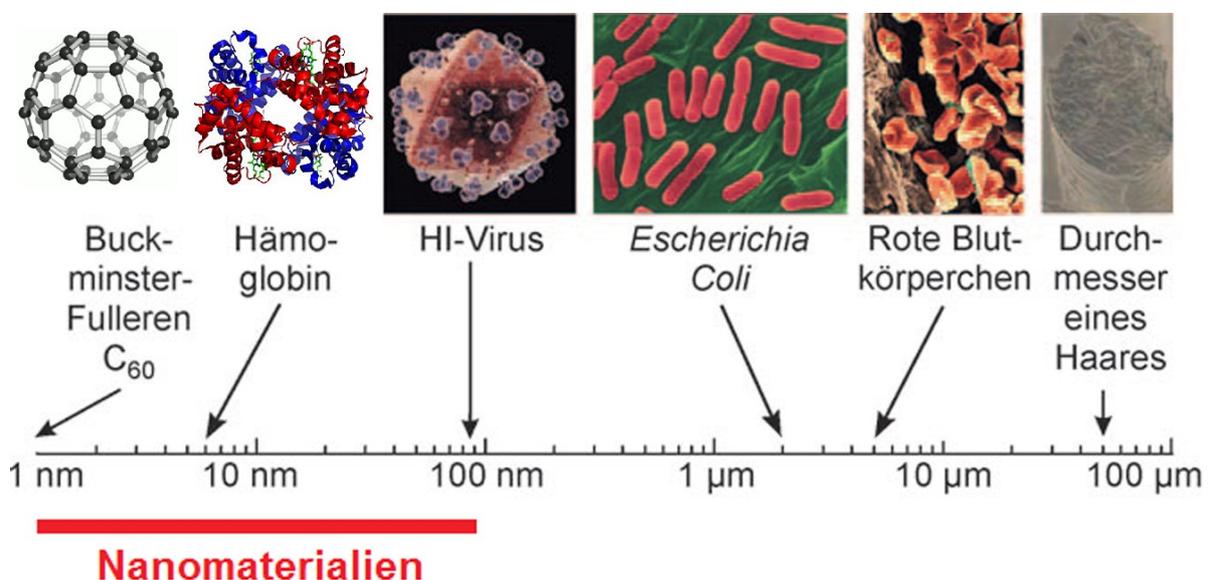


Abbildung 2.1.: Längenskala zur Einordnung von Nanopartikeln nach Feldmann *et al.*^[59]

Der exakte Größenbereich, in dem ein Teilchen als Nanopartikel beschrieben werden kann, variiert je nach Betrachtungsweise. Die ISO-Norm „DIN ISO/TS 27687:2008“

2. Theoretische Grundlagen

definiert einen Nanopartikel als Teilchen, dessen drei äußere Abmessungen im Bereich zwischen 1 nm und 100 nm liegen. Andere Definitionen schließen auch dünne Stäbchen oder Filme ein, wenn deren Ausdehnung zumindest in einer Dimension nicht größer als 100 nm ist.^[54] Häufig wird diese Grenze allerdings weniger streng ausgelegt und der Begriff „Nanopartikel“ auch für Sub-Mikropartikel mit Abmessungen > 100 nm verwendet, so lange sich deren Eigenschaften signifikant von denen des Bulk-Materials unterscheiden.^[54]

Eine Klassifikation von Nanopartikeln kann z.B. nach ihrer zugrundeliegenden Materialklasse vorgenommen werden. So unterscheidet man etwa zwischen kohlenstoffhaltigen Partikeln (z.B. Fullerene, Carbon Nanotubes),^[60-62] Halbleitern bzw. Quantum Dots (z.B. Si, CdTe, CdS, CdSe),^[63,64] metallischen (z.B. Au, Ag, Pt, Fe)^[45] und oxidischen Partikeln (z.B. SiO₂, TiO₂, CaO, ZnO).^[65]

Der Begriff „Kolloid“ (gr. *Kόλλα*, „Leim“ und *-oeidēs*, „ähnlich“)^[53] beschreibt ein Zweiphasensystem, in dem kleinste Teilchen, z.B. Nanopartikel, fein verteilt in einem Dispersionsmittel vorliegen. Die dispergierten Teilchen sind so klein, dass sie nicht sedimentieren und dem Kolloid demnach typische chemisch-physikalische Eigenschaften einer echten Lösung verleihen, während andererseits klar abgegrenzte Partikel mit definierter Phasengrenze unterscheidbar sind. Kolloide können nach der Größe der dispergierten Partikel klassifiziert werden (vgl. Tabelle 2.1).^[1,66]

Dispersitätsgrad	Partikelgröße
Grobdispers	> 1.000 nm
Kolloiddispers	10 - 100 nm
Molekulardispers	< 1 nm

Tabelle 2.1.: Klassifizierung von Kolloiden anhand der Größe der dispergierten Teilchen.^[1]

Sowohl für die dispergierten Partikel als auch für das Dispersionsmittel sind die drei Aggregatzustände flüssig, fest und gasförmig denkbar, wodurch sich zahlreiche Kombinationsmöglichkeiten ergeben (vgl. Tabelle 2.2). Im Falle von flüssigen Tröpfchen in einem flüssigen Medium spricht man z.B. von einer Emulsion (z.B. Milch), während man einen Feststoff in flüssiger Phase als Dispersion bezeichnet.

Dispersionsmittel	Disperse Phase	Kolloid
gasförmig	flüssig	Nebel
gasförmig	fest	Rauch
flüssig	gasförmig	Schaum
flüssig	flüssig	Emulsion
flüssig	fest	Dispersion, Suspension
fest	gasförmig	Festschaum
fest	flüssig	Festemulsion
fest	fest	Legierung

Tabelle 2.2.: Klassifizierung von Kolloiden anhand der Aggregatzustände von Dispersionsmittel und disperser Phase.^[1]

Nach Staudinger ist eine Einteilung von Kolloiden auch anhand ihrer thermodynamischen und strukturellen Eigenschaften möglich. Es wird dabei unterschieden zwischen Dispersions-, Molekül- und Assoziationskolloiden. Dispersionskolloide sind thermodynamisch instabil, die dispergierten Teilchen verhalten sich gegenüber dem Medium hydrophob und neigen zur Aggregation, weshalb eine Stabilisierung durch geeignete Liganden erforderlich ist (vgl. Kapitel 2.1.3). Molekülkolloide und Assoziationskolloide sind hingegen thermodynamisch stabil und hydrophil. Sie unterscheiden sich in der Art ihrer Bindung: Molekülkolloide (z.B. Polymere wie Polysaccharide oder Polypeptide) sind kovalent verknüpft, während es sich bei Assoziationskolloiden um spontane und reversible Zusammenlagerungen von Tensiden zu Mizellen handelt.^[1,66]

Die in dieser Arbeit verwendeten Silber-Nanopartikel sind hydrophob und häufig in flüssiger, wässriger oder organischer Phase dispergiert, damit zählen sie zur Klasse der Dispersionskolloide. Die in den folgenden Kapiteln beschriebenen Eigenschaften, Stabilisierungs- und Synthesemethoden werden daher am Beispiel von Dispersionskolloiden bzw. metallischen Nanopartikeln erläutert, auch wenn die zugrunde liegenden Konzepte oft von allgemeiner Natur sind.

2.1.2 Eigenschaften

Betrachtet man näherungsweise einen sphärischen Nanopartikel mit dem Radius r , so ergibt sich aus geometrischen Überlegungen für das Verhältnis von Oberfläche A zu Volumen V der Term:

$$\frac{A}{V} = \frac{4\pi r^2}{\frac{4}{3}\pi r^3} = \frac{3}{r} \quad (\text{Gleichung 1})$$

Daraus folgt, dass die spezifische Oberfläche mit abnehmendem Partikelradius proportional zu r^{-1} steigt. Der wesentliche und charakteristische Unterschied von Nanopartikeln im Vergleich zum makroskopischen Festkörper ist ihre deutlich höhere spezifische Oberfläche. Daraus resultiert eine erhöhte chemische Reaktivität und eine zunehmende Bedeutung von Oberflächenladungen und -kräften, während der Einfluss von Massekräften (Schwerkraft) gleichzeitig abnimmt. Die Eigenschaften können im Vergleich zum Bulk-Material signifikant verändert sein. Ein prominentes Beispiel dafür ist Gold: Makroskopisches Gold hat einen typischen, metallisch-gelben Glanz, während kolloidales Gold eine rubinrote Färbung aufweist. Schon lange, bevor die heutigen technischen und naturwissenschaftlichen Methoden zum grundlegenden Verständnis nanoskopischer Systeme etabliert waren, wurde kolloidales Gold bei der Herstellung roter Gläser zur Farbgebung beigemischt. Grund dafür ist die Resonanz von Oberflächenplasmonen, die dann angeregt wird, wenn der Durchmesser des beobachteten Partikels deutlich kleiner als die Wellenlänge des eingestrahlten Lichts ist. Die Oberflächen-Plasmonenresonanz ist u.a. abhängig von der Partikelgröße, der Morphologie sowie den Abständen zu anderen Partikeln^[67-71] und liegt z.B. für Silber und Gold im sichtbaren Bereich, woraus eine charakteristische Färbung der Dispersionen resultiert. Aus entsprechenden Absorptionsspektren lassen sich Informationen über die Größe, Form und den Aggregationsgrad der Partikel gewinnen.^[67-71] Ein weiteres Beispiel für eine größenabhängige Eigenschaftsänderung ist die Absenkung des Schmelzpunktes von Nanopartikeln im Vergleich zum Bulk-Material. Durch die zunehmende Oberflächenspannung bei sinkendem Partikelradius ändert sich beispielsweise der Schmelzpunkt von 1,5 nm großen Goldpartikeln von 1064 °C im makroskopischen Festkörper auf etwa 500-600 °C im nanopartikulären Zustand.^[54]

Aufgrund ihrer hohen spezifischen Oberfläche sind Dispersionskolloide thermodynamisch instabil und neigen dazu, ihre Oberfläche durch Zusammenlagerung (Agglomeration) zu minimieren. Der mathematische Zusammenhang zwischen der freien Enthalpie und der Oberfläche eines kolloidalen Systems kann mit folgender Gleichung ausgedrückt werden:

$$dG = \gamma dA_G \quad (\text{Gleichung 2})$$

G = Freie Enthalpie
 γ = Grenzflächenspannung
 A_G = Grenzfläche der Partikel

Aus Gleichung 2 folgt, dass aus der Minimierung der Grenzfläche A_G der Partikel eine Verringerung der freien Enthalpie G resultiert. Die Agglomeration ist also ein Prozess, der freiwillig (exergonisch) abläuft. Über die Zeit kommt es bei Dispersionskolloiden zur Trennung der festen von der flüssigen Phase, man spricht von Alterung. Die Alterungsgeschwindigkeit hängt u.a. von der Temperatur, der Grenzflächenspannung sowie der Partikelgröße, -löslichkeit und -ladung ab. Unter dem Begriff „Ostwald-Reifung“ versteht man dabei die diffusionsvermittelte Auflösung kleinerer zugunsten größerer Partikel. Möglich ist auch ein Materieaustausch bzw. ein Aggregationsprozess durch Kollision, wobei die Stoßwahrscheinlichkeit mit der Brown'schen Molekularbewegung verknüpft ist.^[66]

In der Praxis ist eine Alterung bzw. Agglomeration von Kolloiden häufig nicht erwünscht. Durch Lagerung bei tiefen Temperaturen, allerdings oberhalb des Schmelzpunktes des Dispersionsmittels, kann die Brown'sche Molekularbewegung und damit auch die Alterungsgeschwindigkeit reduziert werden. Von fundamentaler Bedeutung dafür ist die kinetische Stabilisierung von Nanopartikeln, die durch den Zusatz geeigneter Liganden erreicht werden kann. Verschiedene Stabilisierungsmöglichkeiten und deren theoretische Grundlagen werden im folgenden Abschnitt beschrieben.

2.1.3 Stabilität

Bringt man einen metallischen Nanopartikel in einen Elektrolyten ein, so bildet sich an der Phasengrenze zwischen Partikel und Medium durch Adsorption von solvatisierten Ionen und Lösemittelmolekülen eine Ladungsschicht aus.^[72] Nach Helmholtz handelt es sich dabei um eine starre elektrische Doppelschicht, die fest mit der Partikeloberfläche assoziiert ist und keine eigenständige thermische Bewegung ausführen kann. Später wurde dieses Modell von Stern, Gouy und Chapman erweitert: Auf eine erste, starre Schicht fest assoziierter Ionen (Stern-Schicht) folgt eine diffuse, dynamische Ladungswolke, bestehend aus solvatisierten Gegenionen (vgl. Abbildung 2.2).

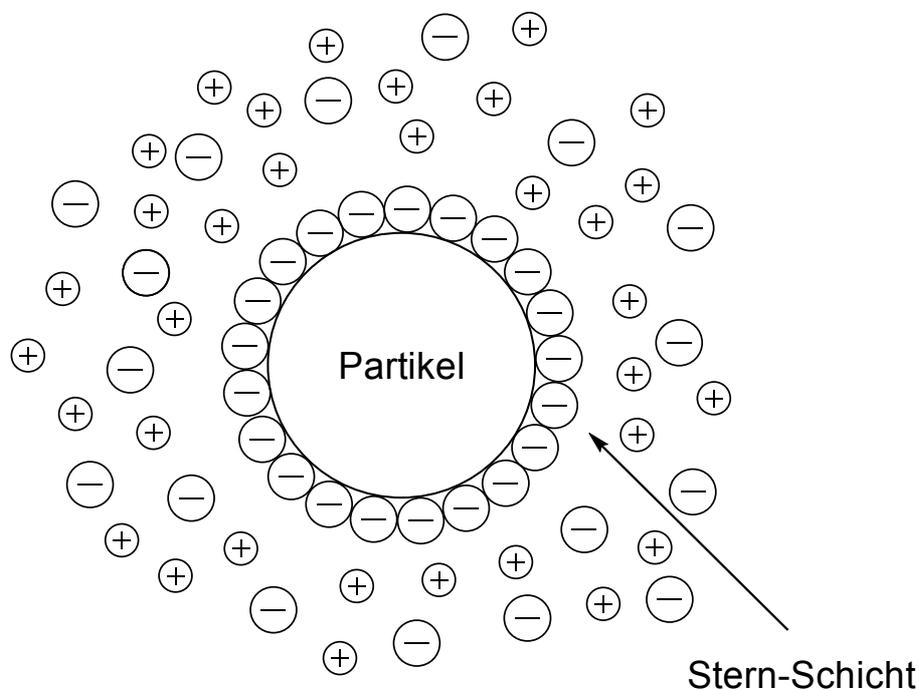


Abbildung 2.2.: Elektrische Doppelschicht nach Stern, Gouy und Chapman (schematisch).

Aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung sind Teilchen in Lösung prinzipiell einer thermischen Bewegung unterworfen. Dabei bewegen sich die fest assoziierte Stern-Schicht sowie ein Teil der diffusen Ladungswolke mit durch das Medium. Deren Radius wird als Scherradius bezeichnet, das elektrische Potential zwischen Scherradius und Dispersionsmedium heißt ζ -Potential. Da sich gleichnamig geladene Teilchen aufgrund der repulsiven elektrostatischen Wechselwirkung gegenseitig abstoßen, kann mit Hilfe des ζ -Potentials eine Aussage über die Stabilität von

Kolloiden getroffen werden. Im Allgemeinen bezeichnet man Kolloide, deren Partikel ein ζ -Potential von $> \pm 30$ mV aufweisen, als elektrostatisch stabil.^[66]

Mit Hilfe der DLVO-Theorie (nach Derjagin, Landau, Verwey und Overbeek) kann die elektrostatische Stabilität von Kolloiden ausführlicher beschrieben werden.^[73,74] Dabei werden zwei Arten von Wechselwirkungen unterschieden, die zwischen den Partikeln wirken und zur Stabilität beitragen: Attraktive Wechselwirkungen, insbesondere van-der-Waals-Kräfte, welche die Aggregation begünstigen sowie repulsive Wechselwirkungen, insbesondere elektrostatische Abstoßung zwischen gleichnamig geladenen Partikeln, welche der Aggregation entgegen wirken.

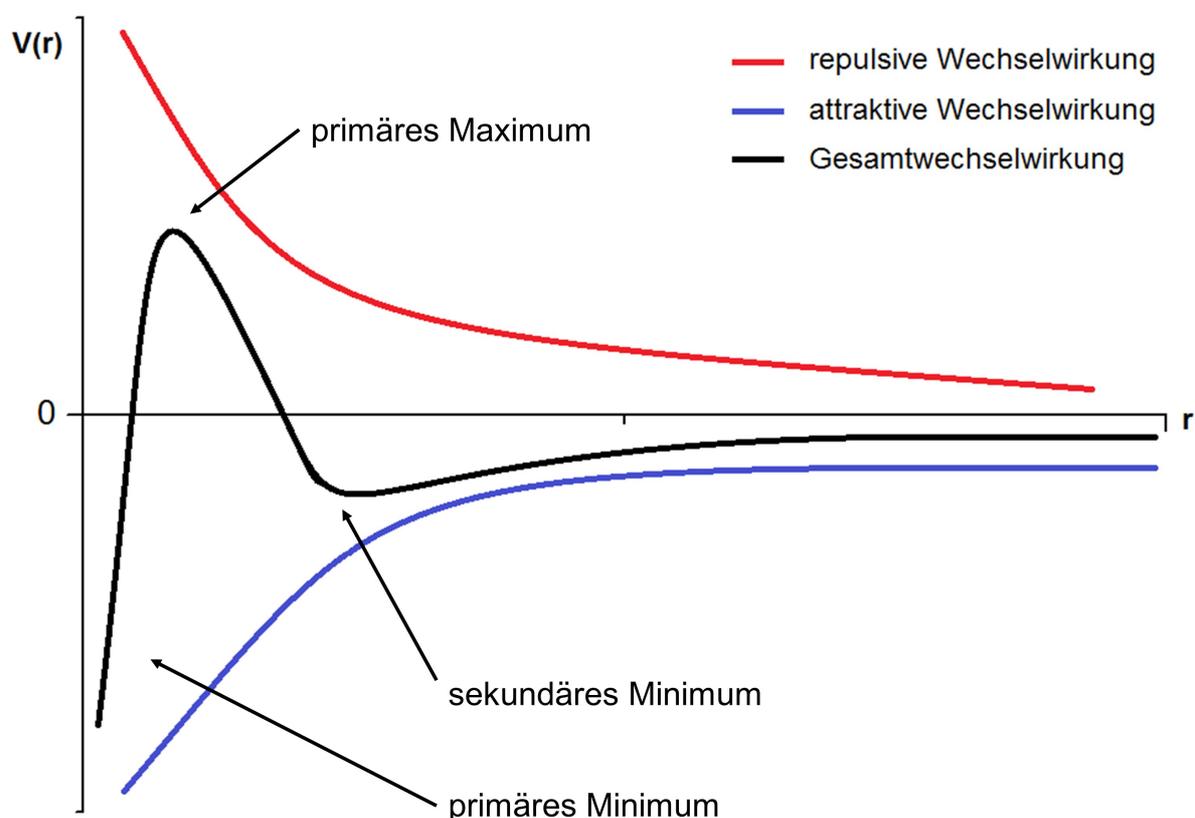


Abbildung 2.3.: Potentialverlauf eines elektrostatisch stabilisierten Kolloids in Abhängigkeit vom Abstand r der Partikel zueinander (schematisch).

Die potentielle Energie bei der Annäherung zweier solvatisierter Nanopartikel ist schematisch in Abbildung 2.3 in Abhängigkeit des Partikelabstands dargestellt. Bei großer Entfernung dominieren die repulsiven, elektrostatischen Wechselwirkungen über die attraktiven Kräfte, das Kolloid ist stabil und die Partikel liegen separiert

2. Theoretische Grundlagen

voneinander vor. Nähern sich diese nun an, so kommen die attraktiven Wechselwirkungen zum Tragen. Das System durchläuft ein sekundäres Minimum, in dem die Partikel reversibel agglomerieren. Durch Eintragung von mechanischer Energie, z.B. in Form von Ultraschall oder Schütteln der Dispersion, kann die Agglomeration aufgehoben werden. Wird allerdings das primäre Maximum überschritten, so dominieren die van-der-Waals-Kräfte deutlich. In der Folge kommt es zur Rekristallisation unter Ausbildung neuer Bindungen, und die Koagulation ist irreversibel.^[66]

Aus diesen Überlegungen heraus ist offensichtlich, dass ein Kolloid umso stabiler ist, je größer das Potential am primären Maximum ist. Eine elektrostatische Stabilisierung kann also durch Erhöhung der Ladungsdichte an der Partikeloberfläche erreicht werden. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass eine veränderte Elektrolytkonzentration im Dispersionsmittel den Gesamtbeitrag der repulsiven Wechselwirkung absenken kann, wodurch eine irreversible Koagulation begünstigt werden kann.^[66]

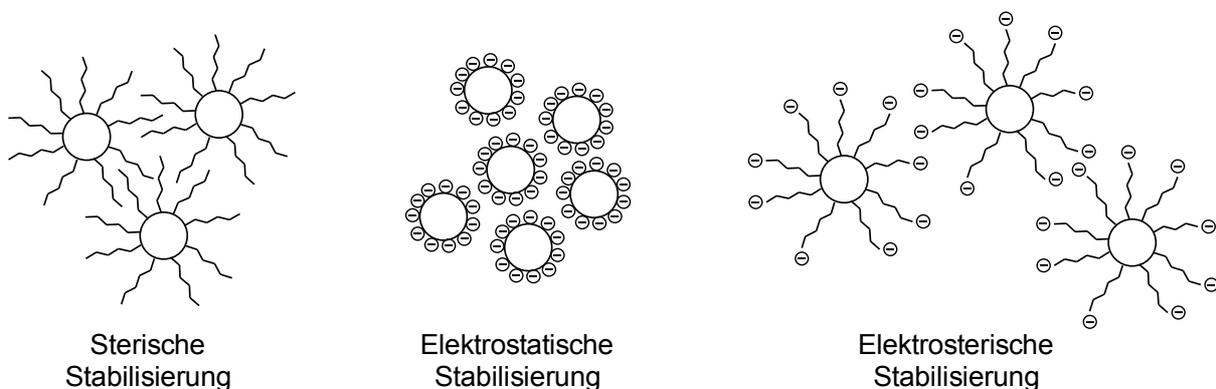


Abbildung 2.4.: Verschiedene Arten der Stabilisierung von Nanopartikeln (schematisch).

Alternativ zur elektrostatischen Stabilisierung ist es möglich, ein Kolloid durch Adsorption von geeigneten Liganden oder Polymeren auf der Partikeloberfläche sterisch zu stabilisieren (vgl. Abbildung 2.4). Nähern sich zwei sterisch stabilisierte Partikel an, so durchdringen sich die adsorbierten Polymerketten bzw. Liganden. In der Folge wird ihre Mobilität eingeschränkt, die Gesamtentropie des Systems sinkt und der Prozess wird thermodynamisch ungünstig. Die Kombination aus elektrostatischer und sterischer Stabilisierung ist die elektrosterische Stabilisierung.^[66]

2.1.4 Synthesemethoden

Methoden zur Darstellung von Nanomaterialien können prinzipiell in zwei Kategorien eingeteilt werden: Beim *Top-Down*-Verfahren geht man vom makroskopischen Festkörper aus und zerkleinert diesen, z.B. durch mechanische Mahlprozesse,^[75,76] Ultraschall,^[77,78] Lithographie^[79,80] oder Laserablation,^[81] bis die gewünschte Größe erreicht ist. Diese Prozesse sind vergleichsweise einfach und haben den Vorteil, dass häufig auf die Verwendung von Lösemitteln und stabilisierenden Polymeren verzichtet werden kann, wodurch besonders reine, ligandenfreie („nackte“) Nanopartikel zugänglich sind. Allerdings muss gerade bei mechanischen Verfahren eine mögliche Kontamination durch Abrieb berücksichtigt werden. Weiterhin ist die Anzahl der Parameter, mit denen der Herstellungsprozess modifiziert werden kann, prozessbedingt limitiert, woraus eine eingeschränkte Kontrolle über wichtige Produkteigenschaften wie z.B. eine exakte Größen- oder Formeinstellung der entstehenden Partikel resultiert. Für die Synthese von Nanopartikeln mit kontrollierter Morphologie ist das *Top-Down*-Verfahren daher oftmals nicht geeignet.

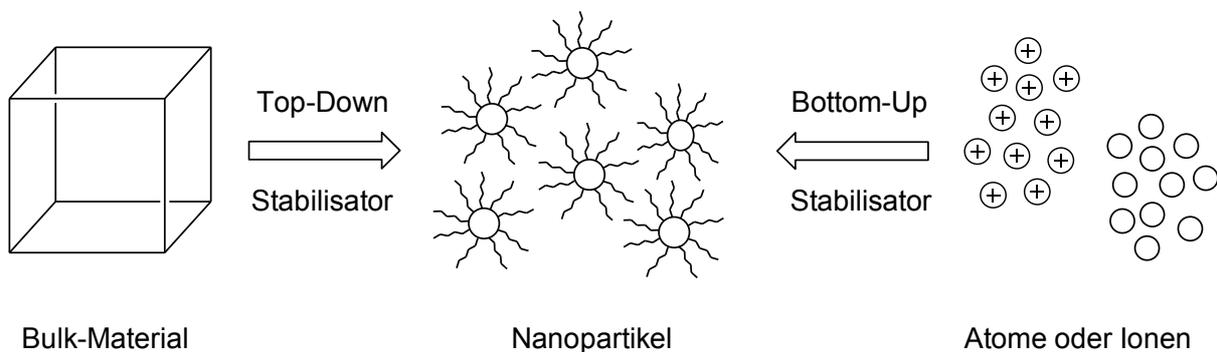


Abbildung 2.5.: Darstellung von Nanopartikeln mittels *Top-Down* und *Bottom-Up* Verfahren (schematisch).

Im Gegensatz dazu beruht das *Bottom-Up*-Verfahren auf der Zusammenlagerung atomarer oder ionischer Teilchen, wobei in einem mehrstufigen Prozess i.d.R. zunächst hochdynamische, molekulare Aggregate („Cluster“) gebildet werden, welche in einem darauf folgenden Reifungsprozess zu nanopartikulären Strukturen heranwachsen. Ein weit verbreitetes Verfahren ist hierbei die Reduktion ionischer Ausgangsstoffe, wobei das entstehende Produkt „auf dem Weg“ zum makroskopischen Bulk-Material durch geeignete Liganden, z.B. organische Polymere, abgefangen und stabilisiert wird (vgl. Abbildung 2.6).

2. Theoretische Grundlagen

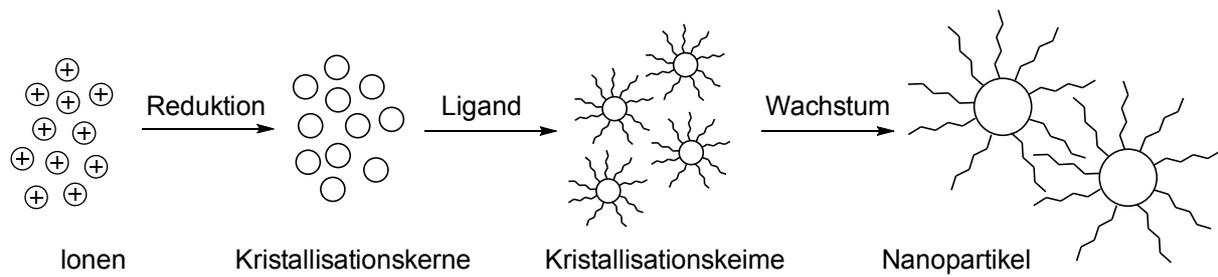


Abbildung 2.6.: Reduktion von Ionen zu Nanopartikeln in Anwesenheit eines stabilisierenden Liganden (schematisch).

Im Vergleich zum *Top-Down*-Verfahren können im *Bottom-Up*-Verfahren eine Vielzahl von Parametern, die direkten Einfluss auf das Kristallwachstum haben, besser kontrolliert werden, wodurch die Größe und Morphologie der entstehenden Partikel beeinflusst werden kann.

2.2 Silber Nanopartikel

2.2.1 Methoden zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln

Die in Kapitel 2.1.4 beschriebenen, allgemeinen Synthesemethoden können natürlich auch im Spezialfall zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln angewendet werden. Aus dem Bereich der *Top-Down*-Verfahren sind z.B. verschiedene Methoden der Lithographie,^[82,83] der Gasphasenabscheidung^[84-86] oder der Erzeugung von Silber-Nanopartikeln mittels Ultraschall^[87-89] bekannt. Ein Spezialfall ist die Laser-ablation,^[90-94] bei der das Bulk-Material zunächst durch Eintragung von Laser-Energie auf atomare Ebene zerkleinert wird und dann in einem Folgeschritt zu Nanopartikeln aggregiert. Aufgrund der limitierten Kontrolle über die Größe und Morphologie der mittels *Top-Down*-Verfahren hergestellten Nanopartikel sind jedoch *Bottom-Up*-Methoden in der Praxis weiter verbreitet. Als Silberquelle dienen dabei häufig gut lösliche Silbersalze wie Silbernitrat oder Silberacetat, die in Anwesenheit eines Stabilisators durch ein geeignetes Reduktionsmittel zu Silberatomen reduziert werden und dann in einem mehrstufigen Prozess zu nanopartikulären Strukturen aggregieren. In der Literatur wird eine Vielzahl verschiedener Kombinationen von Stabilisatoren und Reduktionsmitteln beschrieben.^[45] Am häufigsten wird der sog. Polyolprozess genutzt, der auf Fiévet *et al.* zurück geht, und mit dem Nanopartikel verschiedener Metalle und Legierungen, aber z.B. auch oxidische Partikel hergestellt werden können.^[65,95-97] Als Löse- und Reduktionsmittel werden dabei aufgrund ihrer hohen Siedepunkte, ihres temperaturabhängigen Reduktionspotentials sowie der guten Löslichkeit von Silbersalzen mehrwertige Alkohole (Polyole) verwendet, als Stabilisator wird oft Poly-*N*-Vinylpyrrolidin (PVP) zugesetzt.^[46]

Neben Alkoholen werden häufig auch Zucker,^[98-101] Metallhydride^[102-106] oder Hydrazin^[107-109] als Reduktionsmittel eingesetzt. Denkbar ist auch die Kombination von Reduktionsmittel und Stabilisator in einer Substanz, z.B. Natriumcitrat.^[110-112] Von besonderer Bedeutung ist die Darstellung sphärischer Silber-Nanopartikel in wässrigem Medium durch Reduktion von Silbernitrat mit Glucose,^[113] die in dieser Arbeit Gegenstand weiterer Untersuchungen ist. Oft verwendete Stabilisatoren (vgl. Abbildung 2.7) sind PVP, Natriumcitrat, Polyvinylalkohol (PVA)^[114,115] oder klassische Tenside wie z.B. Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB).^[100,116]

2. Theoretische Grundlagen

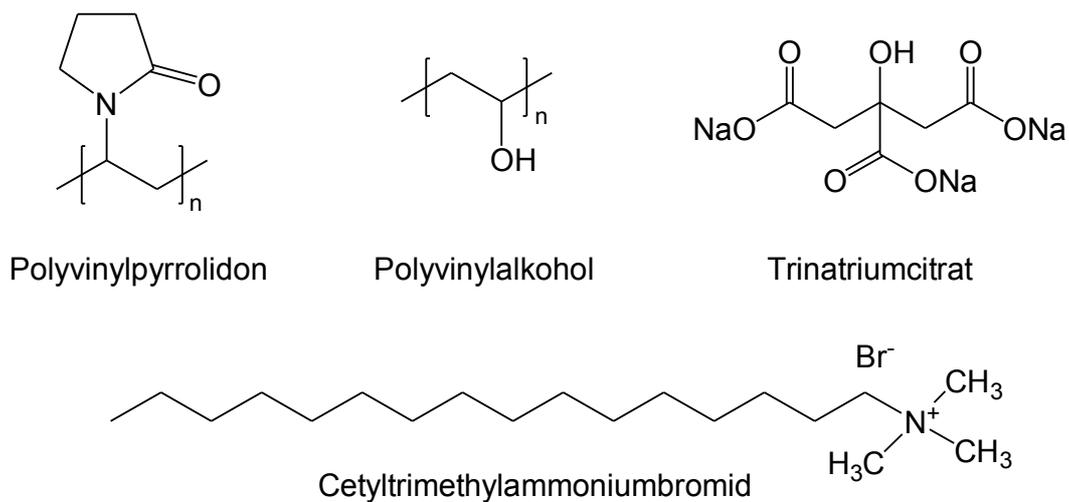


Abbildung 2.7.: Lewis-Strukturformeln häufig verwendeter Stabilisatoren bei der Synthese von Silber-Nanopartikeln.

2.2.2 Biologische Wirkung von Silber-Nanopartikeln

Im Kontext des stetigen Fortschritts im Bereich der Nanotechnologie sind in den letzten Jahrzehnten insbesondere Silber-Nanopartikel aufgrund ihrer einzigartigen optischen, elektronischen und antibakteriellen Eigenschaften in den Fokus wirtschaftlicher und wissenschaftlicher Interessen gerückt. Neben den Chancen, die sich daraus ergeben, werden vielfach auch potentielle Risiken durch die Freisetzung von Silber-Nanopartikeln ins Ökosystem diskutiert.^[117-119] Dabei wird jedoch häufig übersehen, dass kolloidales Silber keine völlig neuartige Substanzklasse ist, sondern bereits seit mehr als 100 Jahren in größeren Mengen in kommerziell erhältlichen Produkten wie z.B. in Pigmenten, Kompositen, Katalysatoren, Wasserfiltern oder auch im Bereich der Fotografie vorkommt.^[120] Trotz langjähriger Anwendung sind praktisch keine ernsthaften Erkrankungen oder gar Todesfälle bekannt, die in einen kausalen Zusammenhang mit der Exposition gegenüber Silber-Nanopartikeln gebracht werden könnten, sodass eine übertriebene Panik eher unangemessen erscheint.^[120] Dennoch sind ausführliche toxikologische Studien unabdingbar und vielfach Gegenstand aktueller Forschungen.

Die Frage nach der biologischen Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln ist eng mit deren chemisch-physikalischem Schicksal im biologischen System verknüpft. In Kapitel 1 wurden bereits sowohl die Auflösungskinetik als auch die Toxizität gegen-

über prokaryotischen und eukaryotischen Zellen erläutert, sowie bekannte und potentielle Anwendungen in der medizinischen Forschung und Klinik aufgeführt. Mittlerweile ist allgemein anerkannt, dass sich Silber-Nanopartikel in wässriger Dispersion in Gegenwart von Sauerstoff unter Freisetzung von Ag^+ -Ionen auflösen.^[11-13] Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass es in biologischen Medien durch die Anwesenheit einer Vielzahl unterschiedlicher Ionen und Biomoleküle wie z.B. Proteinen und Polysacchariden zu Redoxvorgängen, Fällungsreaktionen oder Komplexbildungen kommen kann, die die Auflösungskinetik sowie die Eigenschaften der Partikel signifikant beeinflussen können.^[15] So konnte erst kürzlich gezeigt werden, dass Ag^+ -Ionen im Zellkulturmedium in Form von Silberchlorid ausfallen. Durch die Ausbildung einer Proteincorona wird dieses auf nanopartikulärer Ebene stabilisiert und sowohl von humanen Stammzellen als auch von Bakterien aufgenommen, wobei ein toxischer Effekt beobachtet werden kann.^[18]

Aber auch reine Silber-Nanopartikel können wegen ihrer geringen Größe die Zellmembran von z.B. humanen mesenchymalen Stammzellen passieren und sich in der perinukleären Region anreichern.^[121,122] Selbst bei nicht-toxischen Konzentrationen kommt es zur Zellaktivierung^[121,123] und zur Hemmung der adipogenen und osteogenen Differenzierung.^[124] Im Allgemeinen geht man inzwischen davon aus, dass es keinen spezifischen „Nano-Effekt“ gibt, sondern dass die Nanopartikel eher als eine Art Silber-Depot wirken, aus dem aufgrund ihrer hohen spezifischen Oberfläche schnell Ag^+ -Ionen freigesetzt werden können.^[4] Ausnutzen kann man dies z.B. bei der Beschichtung von medizinischen Implantaten, um die Gefahr einer bakteriellen Kolonisierung zu vermindern.^[9] Eine umfassende Literaturstudie ergab jedoch, dass das Wirkungsspektrum gegenüber prokaryotischen und eukaryotischen Zellen in weiten Konzentrationsbereichen überlappt, sodass sich insgesamt ein eher kleines therapeutisches Fenster ergibt.^[4]

Während in den letzten Jahren umfassende Erkenntnisse über die Toxikologie von Silber-Nanopartikeln gewonnen werden konnten, bleiben dennoch einige Fragen unbeantwortet. So ist z.B. bislang unbekannt, wie schnell sich Silber-Nanopartikel in realen biologischen Systemen unter der Einwirkung verschiedener Biomoleküle tatsächlich auflösen, und auf welchem Weg sie abgebaut werden.

2.3 Formkontrollierte Synthese von metallischen Nanopartikeln

2.3.1 Kristallisation von metallischen Nanopartikeln

Die Form von Nanopartikeln ist neben ihrer chemischen Zusammensetzung, Größe und Oberflächenfunktionalisierung ein weiterer wichtiger Einflussfaktor auf ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften. So haben z.B. sowohl theoretische Rechnungen als auch experimentelle Studien gezeigt, dass die lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz stark von der Struktur des untersuchten Nanokristalls abhängt.^[69,70] Im Rahmen dieser Arbeit soll der Einfluss der Morphologie auf die biologische Wirkung von Silber-Nanopartikeln bestimmt werden. Die Herausforderung liegt dabei in der Darstellung von Partikeln mit unterschiedlicher Form, aber vergleichbarer Größe, Ladung und Funktionalisierung. In der Literatur werden verschiedene Syntheserouten beschrieben, mit mehr als 50 Publikationen alleine von der Gruppe um Xia *et al.*^[44-48] So existieren zahlreiche Vorschriften zur Darstellung von z.B. Würfeln,^[49,50,100,116,125-132] Stäbchen,^[133-141] Prismen,^[106,142-147] Scheiben bzw. Plättchen,^[148-150] Bipyramiden^[151] und Ringen.^[152] Im Folgenden soll nun näher auf die Formkontrolle bei der Synthese von Silber-Nanokristallen eingegangen werden.

Kristalle sind dreidimensionale, regelmäßig geordnete Strukturen mit einer sich periodisch wiederholenden Anordnung eines kleinsten gemeinsamen Volumenelements (Elementarzelle). Beim Vorgang der Kristallisation entsteht aus einer unregelmäßigen Anordnung der Edukte, z.B. Ionen oder Molekülen in Lösung, ein Kristall. Dabei spielen sowohl thermodynamische als auch kinetische Faktoren eine fundamentale Rolle. Während durch die Ausbildung einer hoch geordneten Struktur die Gesamtentropie des Systems sinkt, wird durch bindende Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Kristallbausteinen Gitterenthalpie gewonnen. Die Kristallisation ist insgesamt ein exergoner Prozess ($\Delta G < 0$).

Das Theorem von Wulff^[153,154] besagt, dass einkristalline Nanopartikel eines kubisch flächenzentrierten (f.c.c.) Metalls im thermodynamischen Gleichgewicht im Vakuum bzw. in einem Inertgas die Form eines abgestumpften Oktaeders annehmen. Aufgrund von veränderten thermodynamischen Bedingungen, insbesondere durch die Ausbildung von Zwillingsdefekten sowie durch anisotrope Wechselwirkungen mit

Liganden oder dem Lösemittel, kann in kondensierter Phase jedoch eine große Vielfalt verschiedener Morphologien entstehen. Der Mechanismus für die Kristallisation eines festen Partikels aus einem flüssigen Medium wurde erstmals von LaMer für die Entstehung von Schwefelkolloiden postuliert.^[155] Daran angelehnt kann das Wachstum metallischer Nanopartikel in drei Phasen unterteilt werden: Im ersten Schritt kommt es bei der Kristallisationskernbildung zur losen Zusammenlagerung der beteiligten Atome, Ionen oder Moleküle zu sog. Clustern. Dieser Prozess ist hochdynamisch und reversibel, die endgültige Morphologie ist dabei noch nicht festgelegt.^[156] Sobald der Cluster in der folgenden, zweiten Phase eine kritische Größe überschreitet, erfordern Strukturfluktuationen einen so hohen Energieaufwand, dass die Struktur fixiert wird. Es entsteht ein Kristallkeim, der schließlich im dritten Schritt weiter zum Nanokristall wächst. Kristallkeime können einkristallin oder einfach bzw. mehrfach verzwilligt sein. Bei der Synthese über einen Reduktionsprozess bleibt bislang ungeklärt, ob sich die Kristallisationskeime aus bereits reduzierten, nullwertigen Atomen bilden, oder ob schon vor Einsetzen der Reduktion eine Prenukleation unreduzierter Metallspezies einsetzt.^[45] Da Kristallisationskerne aufgrund ihrer geringen Größe sowie ihrer hohen Dynamik und Wachstumsgeschwindigkeit präparativ nur schwer zugänglich sind, ist die Kontrolle von Struktur und Wachstum der Kristallisationskeime der geeignete Ansatzpunkt, wenn die Morphologie des entstehenden Nanokristalls beeinflusst werden soll. Man unterscheidet zwischen thermodynamischer und kinetischer Kontrolle.

2.3.2 Thermodynamische und kinetische Kontrolle über Kristallkeime

Unter thermodynamischer Kontrolle entstehen bevorzugt Keime mit möglichst minimaler freier Oberflächenenergie γ . Für f.c.c.-Metalle kann die freie Oberflächenenergie der niedrigindizierten kristallographischen Flächen über die Anzahl der gebrochenen Bindungen und die Dichte der Oberflächenatome wie folgt abgeschätzt werden:^[45]

$$\gamma_{\{111\}} < \gamma_{\{100\}} < \gamma_{\{110\}}$$

Daraus ergibt sich, dass ein einkristalliner Keim eines f.c.c.-Metalls unter thermodynamischer Kontrolle bestrebt ist, den Anteil seiner $\{111\}$ -Flächen zu maximieren,

2. Theoretische Grundlagen

um seine Oberflächenenergie zu minimieren. Es entstehen bevorzugt Oktaeder und Tetraeder, die in der Realität häufig abgestumpft sind, um einen Kompromiss aus möglichst geringer Oberflächenenergie und gleichzeitig nicht zu großer Gesamtoberfläche zu erzielen. Auch einfach bzw. mehrfach verzwilligte Keime streben unter thermodynamischer Kontrolle eine Kombination aus $\{111\}$ - und $\{100\}$ -Flächen an. Da mit steigender Keimgröße auch die durch die Verzwilligung entstehende Spannungsenergie wächst, sind mehrfach verzwilligte Keime nur bei relativ geringen Keimgrößen bzw. bei langsamem Keimwachstum stabil.

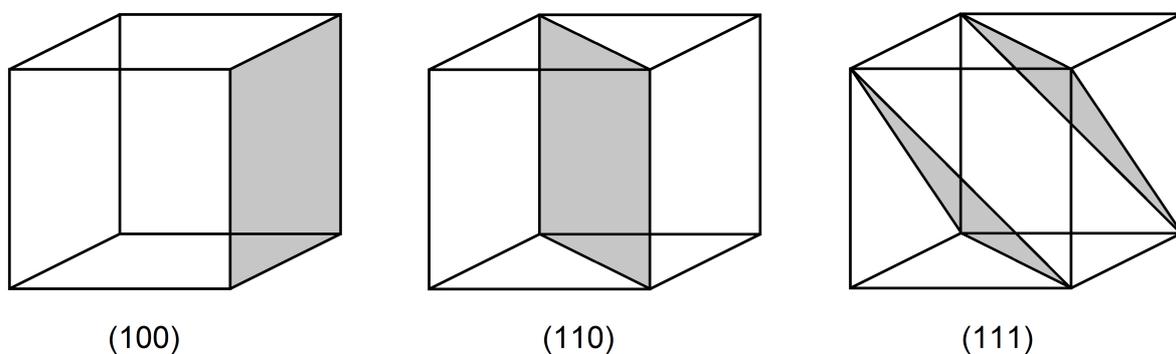


Abbildung 2.8.: *Niedrigindizierte kristallographische Flächen in einer kubischen Elementarzelle. Die symmetrieäquivalenten Flächen sind nicht gezeigt.*

Von kinetischer Kontrolle spricht man dann, wenn die Konzentration der freien Metallatome in Lösung so niedrig ist, dass sich die thermodynamisch stabilen Kristallkeime aufgrund der reduzierten Wachstumsgeschwindigkeit nicht ausbilden können und stattdessen andere Strukturen entstehen. In der Praxis erreicht man dies z.B. durch den Einsatz schwacher Reduktionsmittel^[157,158] bzw. eine Verlangsamung der Reduktion des ionischen Vorläufers.^[149] Auf diese Weise kann die Bildung mehrfach verzwilligter oder hochenergetischer, plättchenförmiger Kristallkeime bevorzugt werden.^[43]

2.3.3 Selektion von Kristallisationskeimen durch oxidatives Ätzen

Die Synthese metallischer Nanopartikel wird häufig in Gegenwart von Sauerstoff durchgeführt. Ist in der Lösung zusätzlich ein Ligand für Metallionen wie z.B. Chlorid vorhanden, so kann es zur Reoxidation bereits gebildeter Kristallisationskerne und -keime kommen,^[126,159,160] wobei insbesondere die Defektzonen verzwilligter Keime

aufgrund ihrer vergleichsweise hohen Energien anfällig sind. Auf diese Weise kann die Verteilung von einkristallinen und verzwilligten Keimen in einem gewissen Rahmen kontrolliert werden, man spricht von oxidativem Ätzen. Während dieser Prozess einerseits gezielt ausgenutzt werden kann, um über die Selektion von Kristallkeimen die Morphologie der entstehenden Nanopartikel zu steuern, muss auf der anderen Seite unfreiwilliges oxidatives Ätzen, z.B. durch Spurenverunreinigungen in den verwendeten Lösemitteln und Edukten,^[161] ausgeschlossen werden.^[43]

2.3.4 Wachstum von Kristallisationskeimen zu Nanopartikeln

Die wichtigste präparative Methode zur Steuerung des Keimwachstums ist die gezielte Zugabe von Liganden, die selektiv an verschiedene kristallographische Oberflächen binden. So ist z.B. bekannt, dass PVP über seine Sauerstoffatome bevorzugt die {100}-Flächen von Silber-Keimen komplexiert,^[162-164] während Citrat eher an den {111}-Flächen adsorbiert.^[165] Durch die Wechselwirkung zwischen Ligand und Metalloberfläche ändern sich die freien Oberflächenenergien der komplexierten Flächen und damit auch deren relative Wachstumsgeschwindigkeiten, wodurch letztendlich die Form des entstehenden Nanokristalls beeinflusst wird. Dies kann schematisch anhand eines imaginären, oktogonalen 2D-Kristalls mit unterschiedlich schnell wachsenden Kanten veranschaulicht werden.^[45,165]

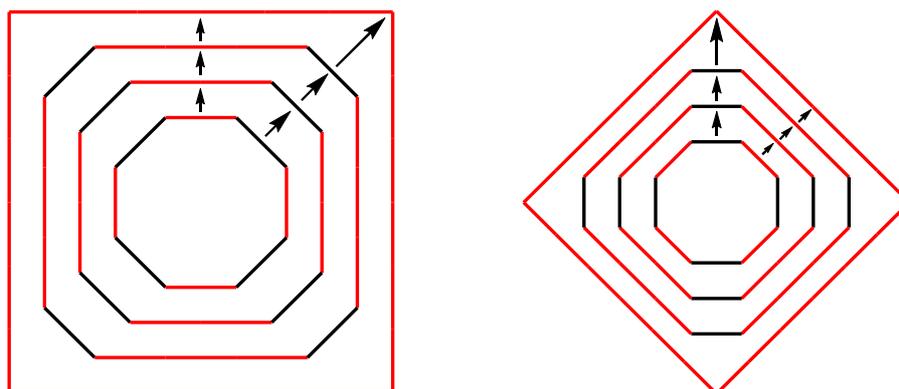


Abbildung 2.9.: Entstehung eines imaginären 2D-Kristalls aus einem oktogonalen Keim bei unterschiedlicher Wachstumsgeschwindigkeit verschiedener Kanten. Die rot markierten Kanten sind von einem Liganden komplexiert, wodurch sie langsamer wachsen und die Form des Nanokristalls festlegen. Die Wachstumsgeschwindigkeit ist mit Pfeilen veranschaulicht.^[45,165]

2. Theoretische Grundlagen

Aus Abbildung 2.9 wird ersichtlich, dass die langsam wachsenden Kanten auf Kosten der schnell wachsenden Kanten expandieren und schließlich die Endform des Kristalls bestimmen. Überträgt man dieses Modell in den dreidimensionalen Raum und betrachtet einen einkristallinen Keim eines f.c.c.-Metalls, so wird klar, dass daraus bei komplexierten {111}-Flächen bevorzugt oktaedrische Nanokristalle entstehen, während durch selektive Adsorption von Liganden an die {100}-Flächen das Wachstum von Würfeln erzwungen werden kann.^[45,47] Analog dazu können aus einfach verzwilligten Keimen regelmäßige Bipyramiden^[151,166] oder Zylinder^[167] und aus mehrfach verzwilligten Keimen Ikosaeder, Dekaaeder oder fünfeckige Nano-
stäbchen wachsen.^[136,168-170] Tabelle 2.3 gibt einen Überblick über die wichtigsten bisher bekannten Formen von Silber-Nanopartikeln, die mit dieser Methode gezielt hergestellt werden können.

Kristallkeim	Partikel-Morphologie
einkristallin	perfekter/abgestumpfter Würfel perfektes/abgestumpftes Oktaeder perfektes/abgestumpftes Tetraeder
einfach verzwilligt	regelmäßige Bipyramide Zylinder
mehrfach verzwilligt	Dekaaeder pentagonal verzwilligtes Stäbchen dreieckige/hexagonale Plättchen

Tabelle 2.3.: Die wichtigsten bekannten Morphologien von Silber-Nanopartikeln.^[45]

Der Einsatz selektiv adsorbierender Liganden ist zusammengefasst also ein geeignetes Mittel, um die Morphologie metallischer Nanopartikel präparativ zu kontrollieren. Daneben existieren weitere Methoden: So können z.B. durch den Einbau von Zwillingdefekten und Stapelfehlern in die ursprünglichen Kristallkeime ausgeprägt anisotrope Formen wie Plättchen generiert werden.^[149,158,171-173] In Anwesenheit von Tensiden bilden sich *in situ* Mizellen, innerhalb derer die Partikel wachsen.^[174,175] Auch epitaktisches Wachstum auf Impfkristallen ist möglich, wobei die Struktur des Nanokristalls durch den Impfkristall vorgegeben wird.^[141,169]

3 Geräte und Methoden

3.1 Synthesemikrowelle

Die Funktionsweise einer modernen Synthesemikrowelle sowie ihre Vorteile gegenüber einer klassischen Reaktion im Ölbad werden in Kapitel 5.2 erläutert.

Für alle in dieser Arbeit beschriebenen Mikrowellen-Synthesen wird das Gerät *Discover SP* der Firma *CEM* mit einer Frequenz von 2,45 GHz und einer Leistung von bis zu 300 W eingesetzt. Die Steuerung und Datenauswertung erfolgt über einen angeschlossenen Computer mit der Software *Synergy v1.58*. Falls nicht anders angegeben, werden die Reaktionen in 10 bzw. 35 mL Druckbehältern aus Glas mit PTFE-Verschluss im *Closed-Vessel-Modus* bei mittlerer Rührgeschwindigkeit durchgeführt. Druck und Temperatur werden durch nicht-invasive Sensoren kontinuierlich aufgezeichnet. Mittels eines externen Kameramoduls ist es möglich, den Reaktionsverlauf visuell zu überwachen. Für den Vergleich mit einer Haushaltsmikrowelle wurde zusätzlich das Modell *OMW 310-S* des Herstellers *ok.* verwendet.

3.2 Mikroskopische Methoden

Ein Mikroskop ist ein Gerät, mit dem Objekte, die aufgrund ihrer geringen Größe nicht mehr mit dem menschlichen Auge wahrgenommen werden können, vergrößert darstellt und dadurch sichtbar gemacht werden. Dies geschieht meist durch Wechselwirkung von elektromagnetischer Strahlung mit dem zu betrachtenden Objekt, wobei die maximal mögliche Auflösung d durch das Abbé-Limit beschrieben wird:

$$d = \frac{\lambda}{n \sin \alpha} \quad (\text{Gleichung 3})$$

d = Maximales Auflösungsvermögen

λ = Wellenlänge der verwendeten Strahlung

n = Brechungsindex des Mediums zwischen Objektiv und Fokus

α = Halber objektseitiger Öffnungswinkel

3. Geräte und Methoden

Das maximale Auflösungsvermögen optischer Mikroskope ist also limitiert durch die Wellenlänge der verwendeten Strahlung. Daraus folgt, dass Partikel mit einem Durchmesser von weniger als etwa 300 nm nicht mehr mit einem Lichtmikroskop abgebildet werden können. Abhilfe schafft die Elektronenmikroskopie, bei der anstelle von sichtbarem Licht beschleunigte Elektronen verwendet werden, wodurch eine Auflösung von bis zu 0,1 nm erreicht werden kann.^[176,177]

3.2.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM, engl. *scanning electron microscopy*) ist eine Methode, die hauptsächlich zur Abbildung der Form, Größe und Oberflächenstruktur von Festkörpern genutzt wird. Mit Hilfe einer Glühkathode aus einem hochschmelzenden Element wie z.B. Wolfram oder einer Feldemissionskathode wird ein Primärelektronenstrahl erzeugt, welcher durch elektromagnetische Linsen fokussiert, mit Spannungen von ca. 10-40 kV beschleunigt und dann lateral über die Probe geführt wird. Dabei kommt es durch Wechselwirkungen mit den Atomkernen und Elektronenhüllen des untersuchten Materials sowohl zur elastischen Streuung als auch zur Emission von Sekundärelektronen aufgrund von inelastischen Stößen. Die reflektierten und emittierten Elektronen werden durch einen Photomultiplier verstärkt, detektiert und in ein elektrisches Signal umgewandelt, aus dem ein Bild der Probenoberfläche erzeugt werden kann. Die Sekundärelektronen geben dabei Aufschluss über die Topographie der Probe, während die Rückstreuelektronen für den Kontrast verantwortlich sind. Bei der Untersuchung von Nanopartikeln besteht ein großer Vorteil der Elektronenmikroskopie gegenüber anderen analytischen Methoden wie z.B. der dynamischen Lichtstreuung oder der analytischen Scheibenzentrifugation darin, dass nicht nur die Größe, sondern auch die Morphologie der Partikel unmittelbar abgebildet werden kann. Da der Elektronenstrahl mit Molekülen aus der Luft wechselwirken und abgelenkt werden würde, muss die Messung im Hochvakuum durchgeführt werden. Zu diesem Zweck müssen kolloidale Proben zunächst getrocknet werden, wobei ihre Solvat- und Polymerhülle kollabiert. Im Elektronenmikroskop wird dann lediglich der (metallische) Partikelkern sowie ggf. eine dünne organische Polymerschicht auf der Oberfläche beobachtet. Aussagen über die kolloidale Stabilität von Partikeln können daher ebenso wenig abgeleitet

werden wie die Größenverhältnisse im Dispersionsmittel. Zudem müssen mögliche Trocknungsartefakte berücksichtigt werden. So kommt es z.B. häufig vor, dass sich Agglomerate von Partikeln an den Rändern der eingetrockneten Tropfen ansammeln. Wenn nichtleitende Proben im Rasterelektronenmikroskop analysiert werden sollen, so kommt es zu einer drastischen Verschlechterung der Bildqualität, da die eingestrahlten Elektronen nicht abfließen können und sich die Probe negativ auflädt. Um diesen Effekt zu minimieren, werden solche Proben daher zunächst mit einer wenige Nanometer dicken Metallschicht, z.B. aus Gold oder Palladium, bedampft (gesputtert).^[51,177]

Probenpräparation und Messung

10 µL der Probe werden in geeigneter Verdünnung auf einen polierten Silicium-Wafer getropft und bei Raumtemperatur an Luft getrocknet. Um Aufladungseffekte zu reduzieren, wird der Wafer mit Leitsilberpaste auf einen Aluminiumträger geklebt. Die Messung erfolgt im Hochvakuum an einem Rasterelektronenmikroskop vom Typ *Quanta 400 ESEM* der Firma *FEI*, bei einer Beschleunigungsspannung von 10-30 kV und einer Vergrößerung von bis zu 1.000.000x. Die maximale Auflösung bei 30 kV beträgt 2 nm. Zur Detektion wird ein Everhart-Thornley-Sekundärelektronendetektor eingesetzt. Um möglichst repräsentative Ergebnisse zu erhalten, werden die Proben immer an mindestens drei verschiedenen Stellen untersucht, neben Nahaufnahmen werden immer auch Übersichtsaufnahmen mit geringerer Vergrößerung angefertigt. Da ausschließlich metallische Partikel vermessen werden, ist ein vorheriges Sputtern der Proben nicht erforderlich. Die Analysen wurden von Herrn Smail Boukercha, Frau Ursula Giebel und Frau Dr. Kateryna Loza durchgeführt.

3.2.2 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM/HRTEM)

Im vorherigen Kapitel wurde beschrieben, dass mit der Rasterelektronenmikroskopie vorwiegend die Oberflächenbeschaffenheit einer Probe untersucht werden kann. Aufgrund der relativ geringen Energie des Primärelektronenstrahls dringt dieser nur wenige Nanometer in die Probe ein, bevor es zur elastischen oder inelastischen Streuung kommt. Die emittierten Sekundärelektronen stammen überwiegend aus oberflächennahen Atomen, woraus schließlich ein kontrastreiches topographisches

3. Geräte und Methoden

Bild erzeugt werden kann. Im Gegensatz dazu ist der Primärelektronenstrahl in der Transmissionselektronenmikroskopie wesentlich energiereicher. Die Elektronen werden aus einer Glühkathode, z.B. aus Wolfram oder Lanthanhexaborid (LaB_6), oder aus einer Feldemissionskathode freigesetzt und im Ultrahochvakuum mit Spannungen von ca. 100-400 kV durch ein geeignetes elektromagnetisches Linsensystem so beschleunigt, dass sie etwa parallel zueinander auf die Probe auftreffen. Aufgrund der hohen Energie der Elektronen ist es möglich, die Probe ähnlich wie bei der optischen Durchlichtmikroskopie zu durchstrahlen und ihre innere Struktur mit hoher Auflösung abzubilden.^[177]

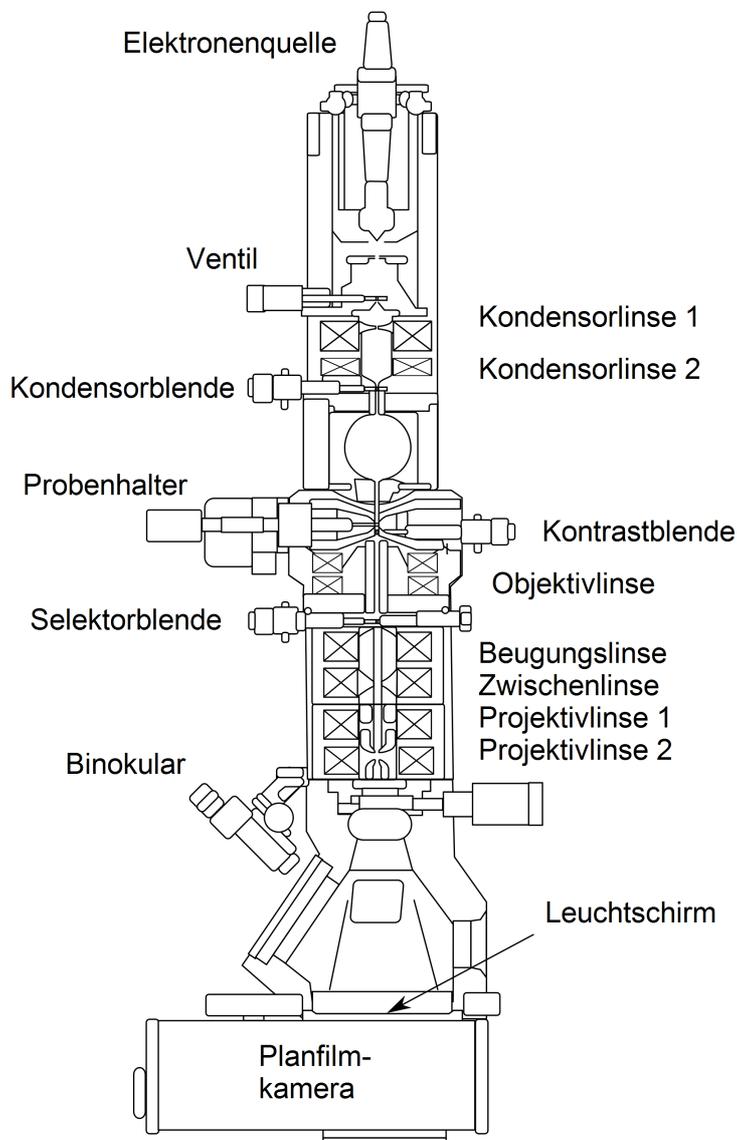


Abbildung 3.1.: Schematischer Aufbau eines Transmissionselektronenmikroskops.^[177]

Das Bild entsteht auch in der Transmissionselektronenmikroskopie durch elastische und inelastische Streuung der Primärelektronen an den Atomkernen und Elektronenhüllen des Probenmaterials. Die gestreuten Elektronen werden durch ein System aus Objektiven und Blenden geleitet und auf einem Detektorschirm photographisch oder elektronisch abgebildet. Um eine möglichst hohe Bildqualität zu erreichen, ist eine sorgfältige Probenpräparation wichtig. Analog zur Rasterelektronenmikroskopie muss die Probe getrocknet werden und im Hochvakuum stabil sein, weshalb auch im TEM keine Informationen über die Größe und Stabilität von Nanopartikeln in Dispersion gewonnen werden können. Organische Bestandteile wie z.B. Polymere verbrennen häufig unter dem hochenergetischen Elektronenstrahl und führen zu erheblichen Störungen. Weiterhin muss beachtet werden, dass der Kontrast von der Dicke der Probe abhängt. Je dünner die zu untersuchende Schicht ist, desto höher wird der Kontrast des Bildes.^[177]

Im herkömmlichen Transmissionselektronenmikroskop entsteht der Bildkontrast durch eine Änderung der Amplitude des Elektronenstrahls aufgrund von Wechselwirkungen mit dem Probenmaterial. Eine Verbesserung der Auflösung kann erreicht werden, wenn stattdessen die Phasenverschiebung zwischen Primärstrahl und Austrittselektronen detektiert und in einen Amplitudenkontrast umgewandelt wird. Mit dieser Methode lassen sich Auflösungen von $< 0,1$ nm erreichen, wodurch z.B. die Kristallstruktur einer Probe auf atomarer Ebene abgebildet werden kann. Man spricht von hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM, engl. *high resolution transmission electron microscopy*). Da die Linsen des Mikroskops ebenfalls zu einer Phasenverschiebung aufgrund von sphärischer bzw. chromatischer Aberration führen, wird im HRTEM häufig eine Aberrationskorrektur durchgeführt, um die Qualität der entstehenden Bilder zu optimieren.^[177,178]

Probenpräparation und Messung

Abhängig von der ungefähren Ausgangskonzentration werden ca. 50-200 μ L der zu untersuchenden Probe mit Reinstwasser so weit verdünnt, dass eine transparente, leicht gefärbte Suspension resultiert. Diese wird auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfernetz getropft und an der Luft getrocknet. Die Messung erfolgte an der Universität Duisburg-Essen durch Herrn Dr. Wolfgang Meyer-Zaika mit einem *Philips*

CM 200 FEG Transmissionselektronenmikroskop. HRTEM-Aufnahmen wurden am Ernst-Ruska-Centrum für Elektronenmikroskopie und -spektroskopie in Jülich von Herrn Dr. Marc Heggen sowie von Frau Dr. Kateryna Loza an einem aberrations-korrigierten *FEI Titan* und an einem *Philips CM 20* TEM bei 200-300 kV angefertigt.

3.2.3 Fluoreszenzmikroskopie (FM)

Unter Fluoreszenz versteht man die Eigenschaft eines Stoffes, nach Anregung mit Licht spontan elektromagnetische Strahlung zu emittieren. Durch die Absorption von Photonen werden Elektronen vom Grundzustand in einen angeregten Zustand angehoben. Aufgrund von Stößen mit der Umgebung kommt es zunächst zur strahlungslosen Abgabe von Energie, bis der Schwingungsgrundzustand des angeregten elektronischen Zustandes erreicht ist. Die verbleibende Energiedifferenz wird bei der Relaxation in den elektronischen Grundzustand in Form von Strahlung abgegeben. Die Wellenlänge des emittierten Fluoreszenzlichts ist gegenüber der Anregungswellenlänge in den roten Spektralbereich verschoben, also energieärmer (Stokes-Verschiebung).^[179]

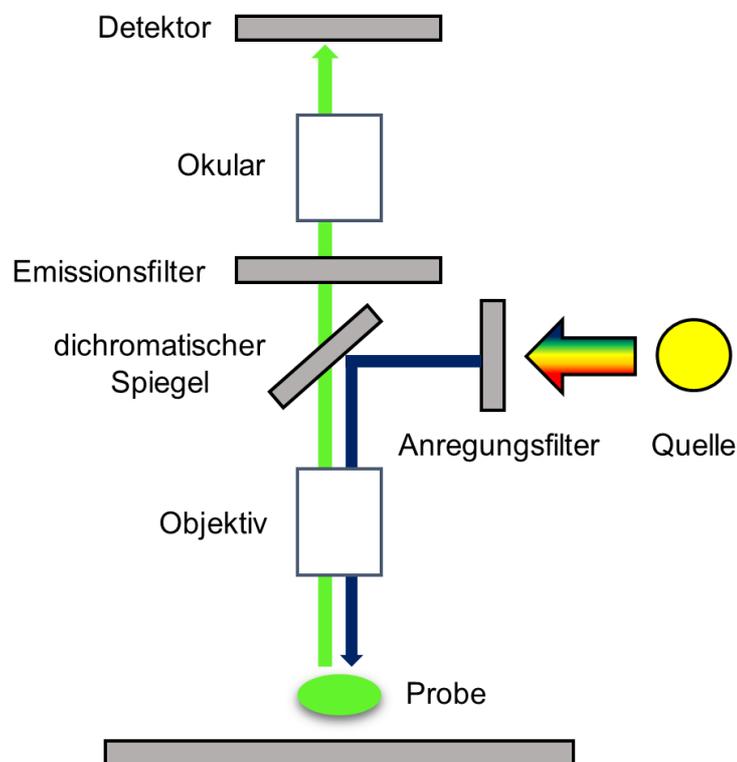


Abbildung 3.2.: Schematischer Aufbau eines Fluoreszenzmikroskops.

Diesen Effekt kann man nutzen, um fluoreszierende mikroskopische Strukturen abzubilden. So ist es z.B. möglich, bestimmte Bereiche innerhalb einer Zelle mit einem Fluoreszenzfarbstoff zu markieren. Durch einen geeigneten Anregungsfilter wird aus dem Spektralbereich der Lichtquelle diejenige Wellenlänge selektiert, die den Übergang vom Grundzustand in den angeregten Zustand des Farbstoffs induziert. Ein Emissionsfilter vor dem Okular lässt nur das rotverschobene Fluoreszenzlicht passieren, so dass die angefärbten Strukturen selektiv und mit hohem Kontrast dargestellt werden können.^[180,181]

Probenpräparation und Messung

Die FM wird zur Bestimmung der Zellviabilität nach dem Anfärben vitaler humaner mesenchymaler Stammzellen mit dem Farbstoff Calcein-AM genutzt. Dabei wird ein *Olympus MVX10* Mikroskop eingesetzt. Die Auswertung geschieht durch digitale Phasenanalyse mit der Software *Adobe Photoshop 7.0*. Alle Messungen wurden von Frau Prof. Dr. Christina Sengstock am Universitätsklinikum Bochum durchgeführt.

3.2.4 Konfokale Laserscanningmikroskopie (CLSM)

Mit einem konfokalen Laserscanningmikroskop (CLSM, engl. *confocal laser scanning microscope*) kann die Oberfläche einer Probe durch einen fokussierten Laserstrahl abgerastert werden. Die Intensität des reflektierten oder durch Fluoreszenzanregung emittierten Lichts (vgl. Kapitel 3.2.3) wird nacheinander an unterschiedlichen Punkten der Probe gemessen. Das Gesamtbild wird anschließend aus einer Kombination der Einzelbilder zusammengesetzt. Durch eine Lochblende wird Licht, welches außerhalb vom Fokus des Strahls emittiert wird, herausgefiltert, sodass die Hintergrundstrahlung reduziert und Schnittbilder mit hohem Kontrast erzeugt werden.^[181]

Probenpräparation und Messung

Mit Hilfe der CLSM wird die intrazelluläre Anreicherung von Silber-Nanopartikeln in humanen mesenchymalen Stammzellen untersucht. Die Zellkerne werden dabei mit dem Farbstoff Hoechst3334 blau angefärbt. Die Aufnahmen werden mit einem *Zeiss LSM700* Mikroskop mit einem Öl-Immersion-Objektiv mit 40-facher Vergrößerung von Frau Prof. Dr. Christina Sengstock am Universitätsklinikum Bochum angefertigt.

3.2.5 Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Während die bisher vorgestellten mikroskopischen Methoden ein Abbild des zu untersuchenden Objektes durch Bestrahlung mit elektromagnetischen Wellen erzeugen, zählt die Rasterkraftmikroskopie (AFM, engl. *atomic force microscopy*) zu den sog. Rastersondenmikroskopen. Das Messprinzip beruht auf der mechanischen Wechselwirkung zwischen der Probenoberfläche und einer feinen Spitze, die an einem Federarm (engl. *cantilever*) befestigt ist. Im Verlauf der Messung wird die Spitze sequentiell in geringem Abstand über die Probe geführt. Dabei wird der Federarm abgestoßen und ausgelenkt. Die Auslenkung kann gemessen werden, indem ein Laserstrahl an der Spitze des Federarms reflektiert und mit einer segmentierten Photodiode detektiert wird (vgl. Abbildung 3.3).

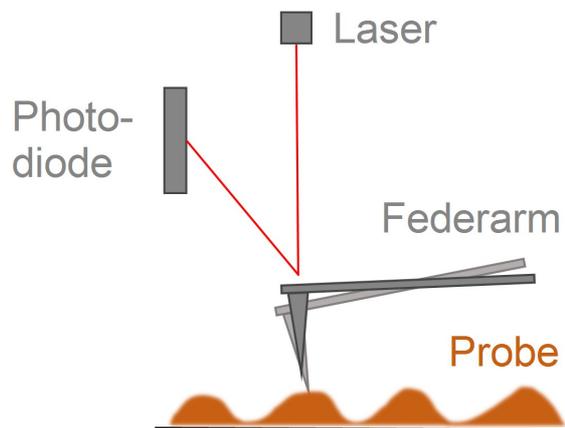


Abbildung 3.3.: Messprinzip eines Rasterkraftmikroskops im Kontakt-Modus (schematisch).

Auf diese Weise kann eine Abbildung der Probenoberfläche mit einer lateralen Auflösung von < 10 nm erzeugt werden. Man unterscheidet verschiedene Messmodi:

- Kontakt-Modus (engl. *contact-mode*): Die Messspitze und die Probenoberfläche stehen im direkten mechanischen Kontakt zueinander. Entweder wird die Kraft (*constant-force-mode*) oder die Höhe (*constant-height-mode*) konstant gehalten, der jeweils andere Parameter wird gemessen.
- Nicht-Kontakt-Modus (engl. *non-contact-mode*): Der Federarm wird durch eine externe Kraft zur Schwingung angeregt und in einigem Abstand über die Probe geführt. Durch Wechselwirkung mit der Probenoberfläche kommt es zur Frequenzverschiebung, die detektiert werden kann.

- Intermittierender Modus (engl. *intermittent-contact-mode* bzw. *tapping-mode*): Der intermittierende Modus ist eine Mischform aus dem Kontakt-Modus und dem Nicht-Kontakt-Modus. Der Federarm wird ebenfalls über eine externe Kraft zur Schwingung angeregt und so über die Probe geführt, dass die Spitze sie immer wieder kurz berührt. Dadurch kommt es zu einem Energieverlust der Schwingungsamplitude, durch den die Oberfläche abgebildet werden kann.

Die Rasterkraftmikroskopie eignet sich insbesondere zur Analyse von Oberflächenstrukturen und kann genutzt werden, um Höhenprofile nanoskaliger Schichten zu erstellen. Bei der Messung können jedoch auch verschiedene Störungen auftreten. Die Methode ist besonders empfindlich gegenüber externen Schwingungen, weshalb das Mikroskop auf einem schwingungs isolierten Tisch betrieben werden muss. Bei metallischen Proben kann es vorkommen, dass der Laserstrahl von der Probenoberfläche reflektiert wird und unerwünschte Interferenzen erzeugt. Auch statische Aufladungseffekte oder Artefakte durch beschädigte Probenspitzen sind in der Praxis häufig auftretende Probleme.^[182,183]

Probenpräparation und Messung

Alle Messungen wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Christoph Groß-Heitfeld an der Universität Duisburg-Essen durchgeführt. 10 µL der Probe werden in geeigneter Verdünnung auf einen Objektträger aus Glas getropft und bei Raumtemperatur an Luft getrocknet. Die Analyse erfolgt an einem *JKP Nanowizard* Rasterkraftmikroskop im Intermittent-Contact-Modus. Dabei werden die Spitzen *Pointprobe NCH* der Firma *Nanoworld* verwendet. Die Datenaufbereitung erfolgt mit der Software *JKP Data Processing Version spm-4.3.49*.

3.3 Größenbestimmung kolloidal dispergierter Partikel

Während mit mikroskopischen Methoden hauptsächlich die Eigenschaften von getrockneten Partikeln untersucht werden können, liefern diese keine Informationen über die Größe der Solvathülle und die kolloidale Stabilität von suspendierten Nanopartikeln. Zu diesem Zweck ist häufig eine weitere Charakterisierung im Medium erforderlich, wobei z.B. die Brown'sche Molekularbewegung (DLS) oder die Sedimentation in einem zentrifugalen Kraftfeld (DCS) ausgenutzt wird.

3.3.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS) und ζ -Potential

Die Dynamische Lichtstreuung (DLS, engl. *dynamic light scattering*) ist eine analytische Methode zur Bestimmung der Größenverteilung und Dispersität kolloidaler Systeme. Das Verfahren beruht auf der Brown'schen Molekularbewegung. Hierbei handelt es sich um die statistische Wärmebewegung von Teilchen in Lösung (Diffusion). Die Diffusionsgeschwindigkeit nimmt mit steigendem Partikeldurchmesser ab und ist weiterhin von der Temperatur und Viskosität des Lösemittels abhängig. Der Zusammenhang zwischen hydrodynamischem Partikelradius und Diffusionskoeffizient wird durch die Stokes-Einstein-Gleichung beschrieben:

$$r_H = \frac{k_B T}{6\pi D \eta} \quad (\text{Gleichung 4})$$

r_H = Hydrodynamischer Partikelradius

k_B = Boltzmann-Konstante

T = Temperatur des Mediums in Kelvin

η = Viskosität des Mediums

D = Diffusionskoeffizient

Die Probe wird mit Laserlicht bestrahlt, welches an den sich bewegenden Partikeln gestreut (Tyndall-Effekt) und mit einem Detektor im Winkel von 173° gemessen wird. Da sich die Partikel in ständiger Bewegung relativ zur Lichtquelle befinden, kommt es nach dem Dopplereffekt zu einer Frequenzverschiebung und zu konstruktiven sowie destruktiven Interferenzen. Aus der zeitabhängigen Veränderung der Streulichtintensität kann die Diffusionskonstante und damit nach Gleichung 4 auch der

hydrodynamische Partikelradius mit Hilfe einer sog. Autokorrelationsfunktion berechnet werden. Die Partikel werden dabei in erster Näherung als sphärisch betrachtet, im Fall von anisotropen Morphologien muss eine komplexe Anpassung der Autokorrelationsfunktion durchgeführt werden, wobei neben der Translationsbewegung auch die Rotationsbewegung der Teilchen berücksichtigt werden muss.^[184] Im Fall einer monodispersen Partikelgrößenverteilung hat die Autokorrelationsfunktion einen exponentiellen Verlauf, bei polydispersen Partikeln weicht sie davon ab und muss mit Hilfe einer Reihenentwicklung angenähert werden. Daraus lässt sich ein Polydispersitätsindex (PDI) ableiten, der zwischen 0 und 1 definiert ist und ein Maß für die Größenverteilung der Partikel darstellt. Proben mit einem PDI zwischen 0 und 0,3 können als monodispers beschrieben werden, ab einem PDI von ca. 0,5 spricht man von einem polydispersen System.^[66]

Allgemein gilt, dass die Streulichtintensität proportional zur sechsten Potenz der Partikeldurchmesser ist. Bei der Interpretation der Daten muss daher berücksichtigt werden, dass das Streulicht kleiner Partikel in einer inhomogenen Probe vom wesentlich intensiveren Signal größerer Partikel maskiert werden kann, was zu einer Verfälschung der Ergebnisse führt. Während in der dynamischen Lichtstreuung ohne Anpassung der Autokorrelationsfunktion keine Aussagen über die Morphologie der Partikel getroffen werden können, hat die Methode den Vorteil, dass die Probe nicht getrocknet werden muss und somit Informationen über die kolloidale Stabilität der Partikel im Dispersionsmedium gewonnen werden können. Im Vergleich zu elektronenmikroskopischen Methoden wird nicht der Durchmesser des Partikelkerns, sondern der hydrodynamische Radius gemessen, weshalb zum Teil deutlich größere Werte erhalten werden. In der Praxis hat es sich als sinnvoll erwiesen, eine umfassende Charakterisierung mit Hilfe verschiedener analytischer Methoden durchzuführen und die Ergebnisse miteinander zu vergleichen.^[51,66]

Durch Anlegen einer Spannung an die Elektroden der Küvette kann im gleichen Gerät häufig auch das ζ -Potential (vgl. Kapitel 2.1.3) bestimmt werden. Bedingt durch ihre Ladung wandern die Partikel im elektrischen Feld durch die Dispersion zur jeweils entgegengesetzt geladenen Elektrode. Es stellt sich ein Gleichgewicht zwischen der induzierten elektrostatischen Anziehung und der entgegengesetzt

3. Geräte und Methoden

wirkenden Viskosität des Dispersionsmittels ein. Die resultierende Wanderungsgeschwindigkeit kann über die Fluktuation der Streulichtintensität gemessen werden. Aus der Wanderungsgeschwindigkeit und der elektrischen Feldstärke kann nach Gleichung 5 die sog. elektroforetische Mobilität berechnet werden:

$$U_E = \frac{v}{E} \quad (\text{Gleichung 5})$$

U_E = Elektroforetische Mobilität

v = Wanderungsgeschwindigkeit

E = elektrische Feldstärke

Mit Hilfe der Henry-Gleichung erhält man daraus schließlich das ζ -Potential:

$$U_E = \frac{2\epsilon\zeta f_{(ka)}}{3\eta} \quad (\text{Gleichung 6})$$

U_E = Elektroforetische Mobilität

ϵ = Dielektrizitätskonstante des Mediums

η = Viskosität des Mediums

ζ = Zeta-Potential

$f_{(ka)}$ = Henry-Funktion

Die Henry-Funktion kann in wässrigem Medium bei moderater Elektrolytkonzentration nach Smoluchowski mit einem Wert von 1,5 angenommen werden. In Medien mit niedrigeren Dielektrizitätskonstanten als Wasser gilt die Hückel-Näherung, und der Wert wird auf 1,0 gesetzt.^[66,185]

Probenpräparation und Messung

Die Probe wird mit Reinstwasser oder Zellkulturmedium auf eine Konzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ (bezogen auf Silber) verdünnt und in eine Einweg-Küvette aus Polystyrol vom Typ *DTS1060* überführt. Die Messung erfolgt im Rückstreuwinkel von 173° bei Raumtemperatur an einem *Zetasizer Nano ZS ZEN 3600* der Firma *Malvern*. Die Daten werden zur Auswertung in die Software *OriginPro 9.0.0G* importiert und die Absorptionsmaxima auf eine relative Intensität von 1 normiert.

3.3.2 Analytische Scheibenzentrifugation (DCS)

Die Partikelgrößenbestimmung mittels Analytischer Scheibenzentrifugation (DCS, engl. *differential centrifugal sedimentation*) beruht auf der unterschiedlichen Sedimentationsgeschwindigkeit von Nanopartikeln verschiedener Größe in einem zentrifugalen Kraftfeld. Dabei bringt man die kolloidal dispergierten Partikel mittig in eine mit hoher Geschwindigkeit rotierende Scheibe ein, die mit einem hochviskosen Medium befüllt ist. Durch die Zentrifugalkraft werden sie nach außen hin beschleunigt und von einem Detektor, z.B. durch Lichtabsorption eines Laser-Strahls, erfasst.

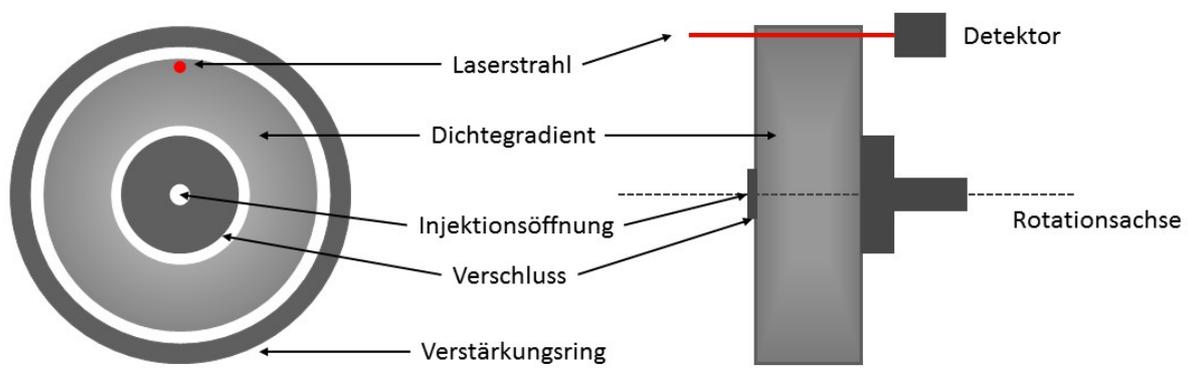


Abbildung 3.4.: Schematischer Aufbau einer Analytischen Scheibenzentrifuge von vorne (links) und von der Seite (rechts).^[186]

Da sich Teilchen mit unterschiedlicher Größe verschieden schnell durch das Medium bewegen, kann bei bekannter Viskosität des Mediums und bekannter Dichte der Teilchen ihre Größe nach Stokes ermittelt werden:

$$D = \sqrt{\frac{18 \eta \ln\left(\frac{R_f}{R_0}\right)}{(\rho_p - \rho_f) \omega^2 t}} \quad (\text{Gleichung 7})$$

D = Partikeldurchmesser

η = Viskosität des Mediums

R_f = Scheibenradius am Detektor

R_0 = Scheibenradius am Injektionspunkt

ρ_p = Dichte des Partikels

ρ_f = Dichte des Mediums

3. Geräte und Methoden

ω = Winkelgeschwindigkeit der Scheibe

t = Sedimentationszeit von R_0 nach R_f

Die Trennwirkung kann zusätzlich verstärkt werden, wenn anstelle eines homogenen Mediums eine Dichtegradient verwendet wird. Um die gemessene Sedimentationszeit einem Partikeldurchmesser zuordnen zu können, wird üblicherweise vor jeder Messung eine Kalibration mit einem Standard bekannter Größe durchgeführt.^[186]

Ein wesentlicher Vorteil der Analytischen Scheibenzentrifugation liegt darin, dass die Sedimentationszeit t nach Gleichung 7 proportional zum Quadrat des Teilchendurchmessers D ist. Aus diesem Grund können auch sehr kleine Teilchen von der Methode erfasst werden. Während z.B. bei der Elektronenmikroskopie immer nur ein kleiner Ausschnitt der Probe betrachtet wird, können mittels DCS größere Probenvolumina untersucht werden. Wie auch bei der Dynamischen Lichtstreuung werden die Solvathülle sowie auf der Partikeloberfläche angebrachte Liganden mit vermessen. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass organische Liganden und Polymere häufig eine geringere Dichte als der metallische Kern des Partikels aufweisen. Dadurch ist die tatsächliche Dichte des Partikels kleiner als der Wert ρ_p , der Partikeldurchmesser wird unterschätzt. Besonders bei sehr kleinen Partikeln, die eine im Verhältnis zum Kern große Ligandenhülle aufweisen, muss dieser Effekt bei der Interpretation der Daten berücksichtigt werden.^[51]

Probenpräparation und Messung

Die zu untersuchende Probe wird mit Reinstwasser so weit verdünnt, bis eine transparente und leicht gefärbte Suspension entsteht. 100 μL dieser Suspension werden an einer *DC 24000* Scheibenzentrifuge der Firma CPS Instruments bei einer Rotationsgeschwindigkeit von 24.000 upm vermessen. Der Dichtegradient wird zuvor mit zwei Saccharoselösungen unterschiedlicher Konzentration eingestellt. Zur Kalibration wird ein Poly(vinylchlorid)latex-Standard mit einer mittleren Partikelgröße von 371 nm eingesetzt. Die Datenauswertung erfolgt mit der Software *OriginPro 9.0.0G*, wobei die gemessene Intensität auf 1 normiert wird.

3.4 Spektroskopische Methoden

Grundlage aller spektroskopischen Methoden ist die Wechselwirkung von Materie mit elektromagnetischen Wellen. Die zu untersuchende Probe wird bestrahlt, wobei es zur elastischen bzw. inelastischen Streuung oder Absorption kommen kann. Durch einen geeigneten Detektor wird ein Spektrum aufgezeichnet, in dem die Intensität der Strahlung gegen ihre Energie (Wellenlänge) oder ihren Beugungswinkel aufgetragen wird. Daraus lassen sich Informationen z.B. über die Struktur oder Zusammensetzung der Probe gewinnen. Liegen scharfe, voneinander separierte Maxima vor, so spricht man von einem Linienspektrum, andernfalls von einem kontinuierlichen Spektrum. In der Praxis treten häufig auch Mischformen auf.

3.4.1 Ultraviolett-spektroskopie (UV/Vis)

In der UV/Vis-Spektroskopie wird die Probe mit ultraviolettem bzw. sichtbarem Licht ($\lambda \approx 200-800 \text{ nm}$) bestrahlt. In diesem Spektralbereich können Valenzelektronen durch Absorption von ihrem Grundzustand in einen höherenergetischen Zustand angeregt werden und durch spontane oder induzierte Emission relaxieren. Die Wellenlänge der Strahlung wird kontinuierlich variiert und es wird ein entsprechendes Absorptionsspektrum aufgezeichnet. Bestimmte (chromophore) funktionelle Gruppen absorbieren Licht bei charakteristischen Wellenlängen, sodass aus der Position der Maxima eine Identifizierung erfolgen kann. Da die Absorption nach dem Lambert-Beer'schen-Gesetz proportional zur Konzentration der Probe ist, können nach Aufnahme einer Kalibrationsgeraden auch quantitative Aussagen getroffen werden:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon c d \quad (\text{Gleichung 8})$$

A = Absorption

I_0 = Intensität des eingestrahltten Lichts

I = Intensität des austretenden Lichts

ϵ = Substanzspezifischer Absorptionskoeffizient

c = Konzentration der Probe

d = Dicke der Küvette

3. Geräte und Methoden

Durch Beugung, Streuung oder Reflexion kann die Berechnung der Absorption verfälscht werden. Aus diesem Grund wird gleichzeitig eine Blindprobe des Lösemittels gemessen und eine Absorptionskorrektur durchgeführt. Die Probe wird in eine Küvette überführt, die für Licht aus dem zu untersuchenden Wellenlängenbereich vollständig durchlässig ist und in einen Strahlengang eingebracht. Als Lichtquelle dienen häufig Deuterium- oder Xenonlampen. Mit Hilfe eines Monochromators wird die Wellenlänge durchgestimmt, der Lichtstrahl wird über einen Spiegel abwechselnd durch die Probe und die Referenz geleitet und im Detektor wieder vereint. Die Intensität beider Signale wird verglichen und aufgezeichnet.^[71,187,188]

Mit Hilfe der UV/Vis-Spektroskopie kann auch die lokalisierte Oberflächen-Plasmonenresonanz metallischer Nanopartikel (vgl. Kapitel 2.1.2) angeregt werden, wodurch Informationen über die Größe, Form und den Agglomerationsgrad der Partikel gewonnen werden können.

Probenpräparation und Messung

Die zu untersuchende Probe wird mit Reinstwasser auf eine Konzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ (bezogen auf Silber) verdünnt. Die Messung erfolgt an einem *Cary 300 Bio* Spektrometer der Firma *Varian* in einem Wellenlängenbereich von 300-800 nm. Dabei wird der Modus *Baseline Correction* verwendet und gegen eine Blindprobe gemessen. Die Daten werden mit der Software *OriginPro 9.0.0G* ausgewertet, die Absorptionsmaxima werden auf eine relative Intensität von 1 normiert.

3.4.2 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

Die Atomabsorptionsspektroskopie ist ein spektroskopisches Verfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Elementen. Physikalische Grundlage ist die Resonanzabsorption von Atomen durch elektromagnetische Strahlung im Bereich des sichtbaren Lichts. Die zu untersuchende Probe wird in eine Luft-Acetylen-Flamme gesprüht und dadurch in die Gasphase überführt und atomisiert. Alternativ kann die Probe auch in einem elektrisch leitenden Graphitrohr durch Anlegen einer Spannung atomisiert werden, wodurch höher konzentrierte Probenmengen erzeugt werden können und die Empfindlichkeit der Methode erhöht wird. Die Bestrahlung erfolgt schließlich durch eine Hohlkathodenlampe, wobei die

Kathode aus dem zu untersuchenden Element besteht. Durch Wechselwirkung mit der eingestrahlten elektromagnetischen Welle kommt es zur Anregung von Elektronen aus dem Grundzustand in einen angeregten Zustand. Die elektronischen Übergänge weisen charakteristische, elementspezifische Energien auf, die nach Planck mit einer definierten Frequenz korrelieren:

$$E = h \cdot \nu \quad \text{(Gleichung 9)}$$

E = Energie der elektromagnetischen Welle

ν = Frequenz der elektromagnetischen Welle

h = Planck'sches Wirkungsquantum

Durch Absorption charakteristischer Wellenlängen wird die Strahlung geschwächt, und es entsteht ein Linienspektrum. Ein Detektor misst die Intensitätsdifferenz zwischen einfallendem und austretendem Licht. Da die Schwächung des Lichts direkt proportional zur Anzahl der absorbierenden Atome und damit zur Konzentration der Probe ist, kann die Konzentration nach Gleichung 8 mit dem Gesetz von Lambert und Beer bestimmt werden. Dabei muss zunächst eine Kalibriergerade erstellt werden, bei der Proben mit bekannter Konzentration gemessen und mit den entsprechenden Intensitäten verknüpft werden.^[187,188]

Probenpräparation und Messung

Ein definiertes Volumen der zu untersuchenden Probe, üblicherweise 500 µL, wird in konz. Salpetersäure gelöst und mit Reinstwasser auf 10 mL verdünnt. Der Silbergehalt wird im Labor für Mikroanalytik der Fakultät für Chemie an der Universität Duisburg-Essen nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005 quantitativ mittels AAS an einem *M-Series Spektrometer* der Firma *Thermo Electron* bestimmt. Die Nachweisgrenze für Silber beträgt dabei 0,1 mg L⁻¹. Bei bekanntem Gesamtvolumen der untersuchten Suspension kann aus der ermittelten Konzentration die Ausbeute bezogen auf Silber berechnet werden.

3.4.3 Röntgenpulverdiffraktometrie (PXRD)

Bei der Röntgenpulverdiffraktometrie (PXRD, engl. *powder X-ray diffraction*) handelt es sich um eine physikalische Methode zur Strukturaufklärung kristalliner Festkörper. Grundlage dafür ist die elastische Beugung elektromagnetischer Wellen an den Elektronenhüllen der zu untersuchenden Probe. Damit es überhaupt zur Beugung kommen kann, muss die Wellenlänge der verwendeten Strahlung in der Größenordnung der Abstände zwischen den Atomen liegen (Beugungsbedingung). Ist die Strahlung zu energiearm, so werden z.B. Rotations- und Schwingungsfreiheitsgrade angeregt, bei zu energiereicher Strahlung kommt es vorwiegend zu Ionisationsprozessen. Der typische Atomabstand in Festkörpern liegt im Bereich einiger hundert Picometer, weshalb sich insbesondere Röntgenstrahlung für solche Beugungsexperimente eignet.

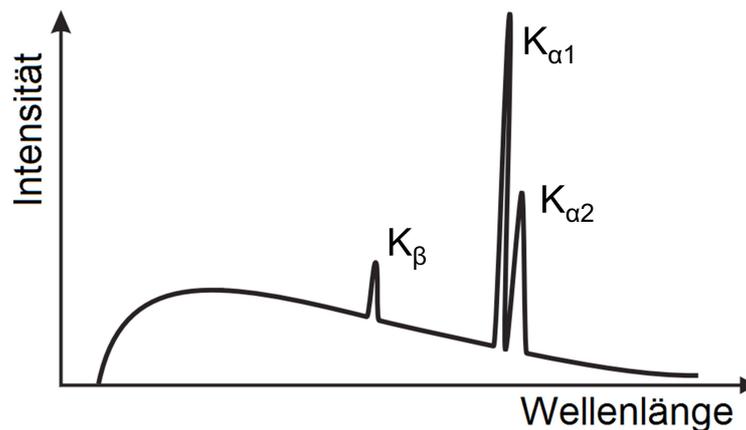


Abbildung 3.5.: Schematisches Emissionsspektrum einer Röntgenröhre mit Kupfer-Anode. Die charakteristische Röntgenstrahlung kommt durch elektronische Übergänge aus p -Orbitalen der L - und M -Schale in die K -Schale zustande und überdeckt die kontinuierliche Bremsstrahlung.

Zur Erzeugung von Röntgenstrahlung wird in einem Diffraktometer eine sog. Röntgenröhre verwendet. Dabei handelt es sich um eine zylindrische Vakuumröhre, an die eine Spannung von 20-50 kV angelegt wird. Aus einer Wolfram-Glühkathode werden bei ca. 1200-1800 °C thermisch angeregte Elektronen freigesetzt und in Richtung einer wassergekühlten Anode beschleunigt. Treffen sie dort auf, so wird ihre kinetische Energie beim Abbremsen in Form von Wärme und kontinuierlicher Röntgenstrahlung (Bremsstrahlung) frei. Es kommt aber auch zu inelastischen Stößen mit Elektronen aus den inneren Schalen des Anodenmaterials, das aus

möglichst elementreinen Metallen, häufig z.B. Kupfer oder Molybdän, besteht. Die inneren Elektronen werden herausgeschlagen, und es bleibt eine Leerstelle zurück, welche unmittelbar im Anschluss von einem höherenergetischen Elektron aufgefüllt wird. Da die Elektronen diskrete Energieniveaus besitzen, besitzt auch die bei diesem Übergang freiwerdende Energie in Form von Röntgenstrahlung eine charakteristische Wellenlänge (charakteristische Röntgenstrahlung). Das Gesamtspektrum setzt sich zusammen aus einer Überlagerung von Bremsstrahlung und charakteristischer Strahlung (vgl. Abbildung 3.5). Die Ausbeute an Röntgenquanten nimmt mit der Ordnungszahl des Elements, aus dem die Anode besteht, zu. Da für die Analyse Strahlung mit möglichst diskreter Wellenlänge benötigt wird, werden die Bremsstrahlung und die K_{β} -Strahlung mit Hilfe eines Monochromators herausgefiltert. Die K_{α} -Strahlung wird mit präzise einstellbarem Winkel auf die zu untersuchende Probe gelenkt, an der Elektronenhülle der Atome gebeugt und von einem Detektor erfasst. Es gilt Einfallswinkel = Ausfallswinkel.

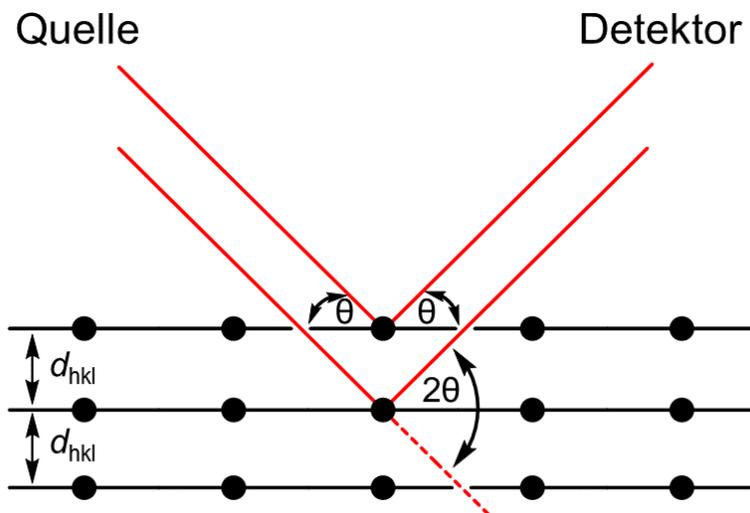


Abbildung 3.6.: *Beugung von Röntgenstrahlung an einer Netzebenenschar (schematisch). Der untere Strahl legt einen um $2d_{hkl} \sin \theta$ längeren Weg zurück.*

Da Röntgenstrahlen eine höhere Energie als sichtbares Licht besitzen, können sie tiefer in das bestrahlte Material eindringen, die Absorption ist geringer. Dadurch kommt es zu Interferenzen zwischen den Strahlen, die an verschiedenen Netzebenen (Atomlagen) gebeugt werden. Bei einer amorphen Probe ohne Fernordnung löschen sich die gebeugten Strahlen durch destruktive Interferenzen vollständig aus.

3. Geräte und Methoden

Liegt allerdings ein kristalliner Stoff vor, in dem die Netzebenen einen regelmäßigen Abstand von d besitzen, so kann eine konstruktive Interferenz dann beobachtet werden, wenn die Wegdifferenz der interferierenden Strahlen einem ganzzahligen Vielfachen ihrer Wellenlänge entspricht (vgl. Abbildung 3.6). Da λ bekannt ist und θ gemessen wird, kann d mit Hilfe der Bragg'schen Gleichung berechnet werden:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{Gleichung 10})$$

n = Beugungsordnung

λ = Wellenlänge der Strahlung

d = Netzebenenabstand

θ = Beugungswinkel

Bestrahlt man eine Probe mit monochromatischem Röntgenlicht, dann findet eine konstruktive Interferenz an den Kristallflächen statt, die so orientiert sind, dass die Bragg'sche Gleichung exakt erfüllt wird. Ein fein gemörstertes Pulver eines kristallinen Feststoffs besteht aus einer großen Anzahl an kleinen, einkristallinen Bereichen (Kristalliten), die vollkommen zufällig zueinander orientiert sind. Auch bei konstruktiver Interferenz wird die Strahlung in alle Raumrichtungen gestreut, und man beobachtet einen Kegelmantel mit einem halben Öffnungswinkel von 2θ . In einem Röntgenpulverdiffraktogramm wird die Intensität der gebeugten Strahlung gegen 2θ aufgetragen. Die Lage der Reflexe ist charakteristisch für die Netzebenenabstände innerhalb eines kristallinen Materials, so dass im Rahmen einer sog. Phasenanalyse Aussagen über Identität und Reinheit der Probe getroffen werden können. Hierzu werden die Reflexlagen verschiedenen kristallographischen Flächen zugeordnet (indiziert) und mit einer Datenbank verglichen. Weiterhin ist es möglich, die Gitterkonstante a zu berechnen, wenn d aus Gleichung 10 bekannt ist. Im kubischen System gilt:

$$a = \frac{d}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}} \quad (\text{Gleichung 11})$$

Bei sehr kleinen, nanopartikulären Proben können aufgrund der geringen Anzahl paralleler Netzebenen nur wenige Wellen konstruktiv miteinander interferieren, es

kommt zu einer Reflexverbreiterung. Mit Hilfe der Scherrer-Gleichung kann in diesem Fall aus der Halbwertsbreite eines Reflexes die Kristallitgröße berechnet werden:

$$\Delta_{2\theta} = \frac{K \lambda}{L \cos \theta} \quad (\text{Gleichung 12})$$

$\Delta_{2\theta}$ = Halbwertsbreite des Reflexes

K = Scherrer-Formfaktor

λ = Wellenlänge der Strahlung

L = Kristallitgröße senkrecht zu den Netzebenen

θ = Beugungswinkel

Sowohl die Phasenanalyse, als auch die Bestimmung von Gitterparametern und Kristallitgrößen kann deutlich genauer durchgeführt werden, wenn das experimentell ermittelte Diffraktogramm verfeinert wird. Dies gilt insbesondere dann, wenn mehrere Phasen parallel vorliegen und einander überdecken. Eine häufig genutzte Methode ist das nach Hugo Rietveld benannte Rietveld-Verfahren, in dem ein theoretisches Anfangsmodell durch Ausgleichsrechnung und Anpassung struktureller sowie instrumenteller Parameter an das experimentelle Diffraktogramm angeglichen wird.^[189-191]

Die relative Intensität der Reflexe zueinander hängt von verschiedenen Faktoren ab und ist, wie auch die Reflexlage, für perfekte Pulver mit statistisch orientierten Kristalliten in internationalen Datenbanken tabelliert. Sind die Kristallite aber z.B. durch gerichtetes Wachstum nicht mehr zufällig, sondern mit einer Vorzugsorientierung auf dem Probenträger angeordnet, so macht sich dies durch eine Veränderung der relativen Intensitäten (Textur) im Diffraktogramm bemerkbar. In einigen Fällen kann die Textur einer kristallographischen Fläche derart stark ausgeprägt sein, dass alle weiteren Reflexe vollständig überdeckt werden und eine Phasenanalyse nicht mehr möglich ist. Abhilfe schafft dann eine Messung im streifenden Einfall (GIXRD, engl. *grazing incidence X-ray diffraction*), bei der der Einfallswinkel der Röntgenstrahlung relativ zur Probenoberfläche auf $< 3^\circ$ gesenkt wird, wodurch die Textur erheblich reduziert werden kann.

Texturen sind jedoch nicht immer unerwünscht, sondern können auch wertvolle Informationen über die Entstehung und die Eigenschaften eines kristallinen Materials

3. Geräte und Methoden

enthalten. Zur besseren Veranschaulichung können stereographische Projektionen (Polfiguren) erstellt werden. Während moderne Diffraktometer häufig in der sog. Bragg-Brentano-Geometrie betrieben werden, in der sich Röntgenquelle und Detektor in einem Theta-Theta-Goniometerkreis aufeinander zubewegen und so die winkelabhängige Streulichtintensität messen, wird der Beugungswinkel θ bei der Aufzeichnung einer Polfigur im Bereich der zu erwartenden Reflexion fixiert. Stattdessen wird die Intensität im Winkel φ um den Probenhalter aufgezeichnet, während dieser mit dem Winkel χ aus der Ebene gekippt wird. Die Polfigur ist dann eine graphische Darstellung der Intensität in Abhängigkeit von beiden Winkeln.^[189-191]

Probenpräparation und Messung

Die zu analysierende Suspension wird auf einen einkristallinen Silicium-Probenträger getropft und bei Raumtemperatur an Luft getrocknet. Alle kristallographischen Untersuchungen werden an einem *PANalytical Empyrean* Röntgendiffraktometer mit Cu K α Strahlung ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$; 40 kV; 40 mA) durchgeführt. Die Pulverdiffraktogramme werden in Bragg-Brentano-Geometrie von 5 bis 90 $^{\circ}2\theta$ mit einer Schrittweite von 0,05 $^{\circ}2\theta$ aufgezeichnet. Polfiguren werden mit dem Programm *X'Pert Texture 1.2* von *PANalytical* erstellt. Aufgrund der starken Vorzugsorientierung der {200}-Flächen von Silber-Nanowürfeln werden diese im streifenden Einfall (GIXRD) mit einem Winkel von 1 $^{\circ}$ relativ zur Probenoberfläche gemessen. Die Kristallitgröße sowie die Gitterparameter wurden durch Rietveld-Verfeinerung mit der Software *TOPAS 4.2* der Firma *Bruker* von Herrn Dr. Oleg Prymak bestimmt. Dabei wurde Lanthanhexaborid (LaB $_6$) vom *National Institute of Standards and Technology* (NIST) als Standard-Referenzmaterial verwendet.

3.5 Übersicht über die verwendeten Analyse- und Laborgeräte

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die genutzten Analyse- und Laborgeräte sowie über die wichtigsten verwendeten Verbrauchsmaterialien.

Gerät	Hersteller und Typenbezeichnung
2-Well LabTek™ Glasträger	Thermo Fisher Scientific
Analysenwaage	Sartorius LA 310 S
Analytische Scheibenzentrifuge	CPS Instruments Disc Centrifuge DC 24000
Atomabsorptionsspektroskopie	Thermo Electron M-Series Spektrometer
Dialysemembran	Spectra/Por Biotech CE MWCO 100kDa
Dynamische Lichtstreuung	Malvern Zetasizer Nano ZS ZEN 3600
Fluoreszenzmikroskop	Olympus MVX10
Gefäße zur Probenaufbewahrung	Eppendorf Tubes 5.0 mL PCR clean Sarstedt Tubes 15 mL / 50 mL sterile
Haushaltsmikrowelle	ok. OMW 310-S
Heizrührplatte	IKA RET basic mit IKA ETS-D6 Thermofühler
Konfokales Laserrastermikroskop	Zeiss LSM700
Multirührplatte	IKA RO 15
Rasterelektronenmikroskop	FEI Quanta 400 FEG
Reinstwasseraufbereitung	Elga LabWater Purelab flex2 Elga LabWater Purelab Ultra Bioscience
Rasterkraftmikroskop	JPK Nanowizard, Intermittent-Contact
Röntgendiffraktometer	PANalytical Empyrean
Spritzenvorfilter	IVA 71630703 0,45 µm Cellulose-Filter
Synthesemikrowelle	CEM Discover SP
Transmissionselektronenmikroskop	Philips CM 20 und CM 200 FEG FEI Titan 300 kV
Trübheitsphotometer	BioMérieux Densicheck
Ultraschallbad	Elma S 10 Elmasonic

3. Geräte und Methoden

Gerät	Hersteller und Typenbezeichnung
Ultraschalldisperser	Hielscher UP50H
Ultrazentrifuge	Thermo Electron Sorvall WX Ultra Series
Ultrazentrifugenrotor	Beckman Type 70 Ti
Ultrazentrifugenröhrchen	Seton Polypropylen Röhrchen 25 x 89 mm
UV/Vis-Küvetten	Hellma Quarzglasküvetten 3,5 mL
UV/Vis-Spektrometer	Varian Cary 300 Bio
Vortexmischer	Scientific Industries Vortex-Genie 2
Zentrifugen	Hettich Rotofix 32 A Heraeus Laborfuge 300

Tabelle 3.1.: Übersicht über Analysen- und Laborgeräte sowie wichtige Verbrauchsmaterialien.

3.6 Übersicht über die verwendeten Chemikalien

Folgende Chemikalien wurden zur Durchführung der beschriebenen Experimente verwendet. Falls nicht explizit angegeben, wurde keine Aufreinigung vorgenommen.

Chemikalie	Hersteller	Produkt #	Reinheit
Aceton	Fisher Chemical	200-662-2	≥ 99,98 %
Ammoniaklösung 30 %	Carl Roth	CP17.1	-
Cetyltrimethylammoniumbromid	Sigma Aldrich	H9151	≥ 99,0 %
Ethanol abs.	Fisher Chemical	200-578-6	≥ 99,99 %
2-Ethoxyethanol	Sigma Aldrich	128082	≥ 99,0 %
Ethylenglycol wasserfrei	Sigma Aldrich	324558	≥ 99,8 %
Ethylenglycol	VWR Chemicals	24041.297	≥ 99,9 %
Diethylenglycol	Sigma Aldrich	32160	≥ 99,0 %
D-Glucose	Sigma Aldrich	G7528	≥ 99,5 %
Natriumchlorid	VWR Chemicals	27810.295	≥ 99,9 %
Natriumhydrogensulfid	Sigma Aldrich	161527	-
Natriumhydroxid-Lösung 0,1 M	Waldeck	291925	-
Natriumsulfid-Nonahydrat	Sigma Aldrich	431648	≥ 99,99 %
Natriumtetrafluoroborat	Fluka	75523	-
Polyvinylpyrrolidon $M_w = 10\text{k g mol}^{-1}$	Sigma Aldrich	PVP10	-
Polyvinylpyrrolidon $M_w = 29\text{k g mol}^{-1}$	Sigma Aldrich	234257	-
Polyvinylpyrrolidon $M_w = 40\text{k g mol}^{-1}$	Sigma Aldrich	81420	-
Polyvinylpyrrolidon $M_w = 55\text{k g mol}^{-1}$	Sigma Aldrich	856568	-
Salpetersäure 65 %	Bernd Kraft	05119.4100	-
Salzsäure 0,1 M	Waldeck	S 8	-
Silbernitrat	Carl Roth	7908.1	≥ 99,9 %
Silbertrifluoracetat	Sigma Aldrich	482307	≥ 99,99 %
Trinatriumcitrat-Dihydrat	AppliChem	A3901,1000	≥ 99,0 %

Tabelle 3.2.: Übersicht über die verwendeten Chemikalien mit Herstellern/Reinheitsangaben. Die von den Kooperationspartnern genutzten Chemikalien sind nicht aufgeführt.

4 Experimentaltteil

4.1 Allgemeine Arbeitstechniken

Der Kristallisationsprozess metallischer Nanopartikel wird durch zahlreiche, zum Teil schwer kontrollierbare Faktoren beeinflusst. So können z.B. Verunreinigungen mit Fremdionen, insbesondere Cl^- , Fe^{2+} und Fe^{3+} , nachweislich selbst in Spuren von wenigen ppm einen drastischen Einfluss auf die Morphologie des Produkts haben.^[161] Neben der Reaktionstemperatur und der Konzentration der Edukte spielen auch Parameter wie die Größe und Oberfläche der verwendeten Kolben und Magnetührstäbchen, die Rührgeschwindigkeit und die Heizrate eine entscheidende Rolle.^[49,50] Dynamische Prozesse in Lösung, z.B. die vorzeitige Reduktion ionischer Silberverbindungen durch Einwirkung von Licht oder das Entweichen gasförmiger Komponenten aus Na_2S - oder HCl -Lösungen, müssen berücksichtigt und reduziert werden. Daher ist eine saubere und durchdachte Arbeitsweise sowie eine sorgfältige Dokumentation unbedingte Voraussetzung für die reproduzierbare Synthese von Silber-Nanopartikeln mit einheitlicher Morphologie. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf folgenden Gesichtspunkten:

- Um die Eintragung von Eisen zu vermeiden, werden bei der Einwaage der Edukte Glasspatel anstelle von Metallspateln verwendet.
- Kolben und Magnetührstäbchen werden zur Reinigung vor jeder Benutzung für ca. 15 min mit *aqua regia* und anschließend mit Reinstwasser ausgekocht.
- Es werden keine Stammlösungen verwendet. Feste Edukte werden unmittelbar vor der geplanten Reaktion gelöst und unter Lichtausschluss gelagert.
- Zum Ansetzen von Lösungen und Lagern der Produkte werden ausschließlich Einweg-Gefäße aus Polypropylen ohne Weichmacher verwendet.

In früheren Arbeiten wurde gezeigt, dass sich Silber-Nanopartikel in Gegenwart von Sauerstoff in wässriger Lösung unter Abgabe von Ag^+ allmählich auflösen.^[12,15] Aus diesem Grund werden alle Produkte in Argon-gesättigtem Reinstwasser gelagert.

4.2 Glucose-Synthese von Silber-Nanopartikeln

Die Reduktion von Silbernitrat durch Glucose in Anwesenheit von Polyvinylpyrrolidon wurde erstmals von Wang *et al.* beschrieben^[113] und ist eine seit Jahren etablierte und gut untersuchte Methode^[192] zur Synthese quasi-sphärischer Silber-Nanopartikel.

2,00 g D-Glucose (11,10 mmol) und 1,00 g Polyvinylpyrrolidon (9,00 mmol bezogen auf die molare Masse des Monomers; $M_w = 40.000 \text{ g mol}^{-1}$) werden in 40 mL Reinstwasser gelöst und für 45 min bei 90 °C gerührt. Um Verdampfungsverluste zu reduzieren, wird der Kolben dabei mit einem Uhrglas abgedeckt. Anschließend wird 1 mL einer frisch hergestellten, 2,94 molaren Silbernitrat-Lösung *schnell* zugegeben. Die Lösung färbt sich zunächst hellgelb, später grünlich oder rötlich und wird zunehmend trüb. Nach 60 min bei 90 °C wird die Reaktion beendet und mit Eiswasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Die entstandenen Silber-Nanopartikel werden zunächst mit Aceton, dann zwei mal mit Reinstwasser gewaschen und jeweils bei 29.400 g ($20.000 \text{ U min}^{-1}$) für 30 min zentrifugiert. Zum Redispergieren wird, falls erforderlich, ein Ultraschallbad eingesetzt. Das Produkt wird in Reinstwasser gelagert. Die Ausbeute wird mittels Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt.

4.2.1 Kleine Silber-Nanopartikel durch Glucose-Synthese mit Natriumsulfid

Besonders kleine Silber-Nanopartikel mit Durchmessern von ca. 20 nm können durch Zusatz von Natriumsulfid zur Glucose-Synthese hergestellt werden.

2,00 g D-Glucose (11,10 mmol) und 1,00 g Polyvinylpyrrolidon (9,00 mmol bezogen auf die molare Masse des Monomers; $M_w = 40.000 \text{ g mol}^{-1}$) werden in 40 mL Reinstwasser gelöst und bei 90 °C gerührt, der Kolben wird dabei mit einem Uhrglas abgedeckt. Nach 45 min werden 20 μL einer 0.1 millimolaren $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{ H}_2\text{O}$ -Lösung *schnell* in die heiße Lösung gespritzt. Anschließend wird 1 mL einer frisch hergestellten, 2,94 molaren Silbernitrat-Lösung im Verlauf von 4 min mit Hilfe einer Spritzenpumpe mit einer Durchflussgeschwindigkeit von $0,25 \text{ mL min}^{-1}$ zugegeben. Es kommt zu einer intensiven Rotfärbung. Nach 60 min wird die Reaktion beendet und mit Eiswasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Aufarbeitung erfolgt wie bei der herkömmlichen Glucose-Synthese durch mehrfaches Waschen mit Aceton bzw. Reinstwasser und Ultrazentrifugation bei 29.400 g ($20.000 \text{ U min}^{-1}$) für 30 min.

4.2.2 Einfluss verschiedener Lösemittel/Additive auf die Glucose-Synthese

Der Einfluss verschiedener Lösemittel und Additive auf die Größe und Morphologie der Silber-Nanopartikel aus der Glucose-Synthese wurde im Rahmen einer Vertiefungsarbeit von Herrn Stephan Luther untersucht. Die Reaktion wurde dabei wie in Kapitel 4.2 beschrieben durchgeführt und es wurden zusätzlich folgende Parameter verändert oder ergänzt:

- Statt Reinstwasser wurde als Lösemittel Ethylenglycol bei 90 °C bzw. Ethanol bei 70 °C verwendet. Die Edukte konnten nicht vollständig gelöst werden, bzw. es entsteht nur ein grobdispenser Niederschlag. Beide Ansätze wurden verworfen.
- Nach Erhitzen der Glucose/PVP-Lösung bei 90 °C für 45 min in Reinstwasser wurden 300 µL bzw. 100 µL einer 0,1 molaren Salzsäure-Lösung zugegeben. Die AgNO₃-Lösung wurde mit Hilfe einer Spritzenpumpe mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 0,25 mL min⁻¹ im Verlauf von 4 min zugetropft.
- Nach Erhitzen der Glucose/PVP-Lösung bei 90 °C für 45 min in Ethylenglycol wurden 100 µL bzw. 20 µL einer 0,1 molaren Salzsäure-Lösung zugegeben. Die AgNO₃-Lösung wurde mit Hilfe einer Spritzenpumpe mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 0,25 mL min⁻¹ im Verlauf von 4 min zugetropft.
- Nach Erhitzen der Glucose/PVP-Lösung bei 90 °C für 45 min in Reinstwasser wurden 200 µL einer 2,74 millimolaren CTAB-Lösung zugegeben. Die AgNO₃-Lösung wurde schnell mit einer Pipette eingespritzt.
- Nach Erhitzen der Glucose/PVP-Lösung bei 90 °C für 45 min in Reinstwasser wurden 14,1 µL einer 0,1 molaren NaOH-Lösung zugegeben. Die AgNO₃-Lösung wurde schnell mit einer Pipette eingespritzt.
- Zusammen mit 2,00 g Glucose und 1,00 g Polyvinylpyrrolidon wurden 323 mg (2,94 mmol) NaBF₄ als Modellsystem für ein schwach koordinierendes Anion in 40 mL Reinstwasser gelöst und für 45 min bei 90 °C unter Rühren erhitzt. Die AgNO₃-Lösung wurde schnell mit einer Pipette eingespritzt.

Alle Ansätze wurden durch mehrfaches Waschen mit Aceton und Reinstwasser sowie Ultrazentrifugation bei 29.400 g (20.000 U min⁻¹) für 30 min aufgearbeitet.

4.3 Vergleich Haushaltsmikrowelle mit Synthesemikrowelle

Die Geschwindigkeit einer modernen Synthesemikrowelle (*CEM Discover SP*) beim Aufheizen von Reinstwasser wird mit der Geschwindigkeit einer handelsüblichen Haushaltsmikrowelle (*ok. OMW 310-S*) verglichen. Die experimentellen Arbeiten wurden von Frau Nicole Busch im Rahmen ihrer Vertiefungsarbeit durchgeführt. In beiden Geräten werden jeweils 50 mL Reinstwasser bei einer Leistung von 120 W bzw. 230 W von Raumtemperatur (ca. 25 °C) ausgehend zum Sieden erhitzt. In der Haushaltsmikrowelle wird das Wasser in ein Becherglas mit einem Fassungsvermögen von 100 mL gegeben, dieses wird in der Mitte des Drehtellers platziert und zur Temperaturmessung mit Hilfe eines Thermometers kurzfristig entnommen. In der Synthesemikrowelle wird ein 100 mL Rundhalskolben verwendet, es wird zusätzlich gerührt. Die Temperatur kann mit Hilfe des Infrarot-Sensors nicht-invasiv gemessen und digital aufgezeichnet werden. Es wird jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt, die Messintervalle betragen 10 s.

4.4 Synthese von Silber-Nanokugeln in der Mikrowelle

Eine alternative Methode zur Darstellung quasi-sphärischer Silber-Nanopartikel ist die Reduktion von Silbernitrat durch Diethylenglycol in der Synthesemikrowelle. 30 mg Silbernitrat (0,18 mmol) und 20 mg Polyvinylpyrrolidon (0,18 mmol bezogen auf die molare Masse des Monomers; $M_w = 55.000 \text{ g mol}^{-1}$) werden vollständig in 5 mL Diethylenglycol gelöst. Die Lösung färbt sich dabei leicht gelb, was die Entstehung erster Kristallisationskeime anzeigt. Das Reaktionsgefäß wird mit einer PTFE-Kappe verschlossen und in die Mikrowelle überführt. Nach 1 min Rühren bei Raumtemperatur wird im Verlauf von ca. 120 s bei maximal möglicher Leistung auf 160 °C erhitzt. Die Reaktionszeit beträgt 1-60 min, wobei optimale Ausbeuten bei 20 min erreicht werden können. Nach Abschluss der Reaktion wird die entstandene Suspension mit Druckluft auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Reinstwasser verdünnt. Die Partikel werden für 30 min bei 66.000 g (30.000 U min^{-1}) zentrifugiert, mit Hilfe eines Ultraschallbades in Reinstwasser redispersiert und erneut bei gleichen Bedingungen zentrifugiert. Dieser Vorgang wird insgesamt dreimal wiederholt. Die gereinigten Partikel werden in Reinstwasser gelagert.

4.5 Synthese von Silber-Nanoplättchen in der Mikrowelle

Die Darstellung von plättchenförmigen Silber-Nanopartikeln erfolgt nach Darmanin *et al.* in der Synthesemikrowelle.^[193] 120 mg Polyvinylpyrrolidon (1,08 mmol bezogen auf die molare Masse des Monomers; $M_w = 10.000 \text{ g mol}^{-1}$) werden für 5 min bei 120 °C in 6 mL 2-Ethoxyethanol gelöst. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden 8 mg (47 μmol) Silbernitrat zugegeben und im Ultraschallbad behandelt, bis die Lösung vollständig homogen ist. Eine leichte Gelbfärbung zeigt die Entstehung erster Kristallisationskeime an. Die Reaktionslösung wird in die Synthesemikrowelle überführt und im Verlauf von ca. 15 min unter konstantem Rühren auf 140 °C erhitzt. Um eine möglichst lineare Heizrate zu erreichen, wird die Mikrowellenleistung zunächst auf 25 W limitiert und ab ca. 90 °C, abweichend von Darmanin *et al.*, sukzessive auf bis zu 200 W erhöht. Nach ca. 2 min kann mit Hilfe des Kameramoduls eine transparente rosa Färbung beobachtet werden, welche sich im weiteren Reaktionsverlauf intensiviert und immer trüber wird (vgl. Abbildung 4.1).

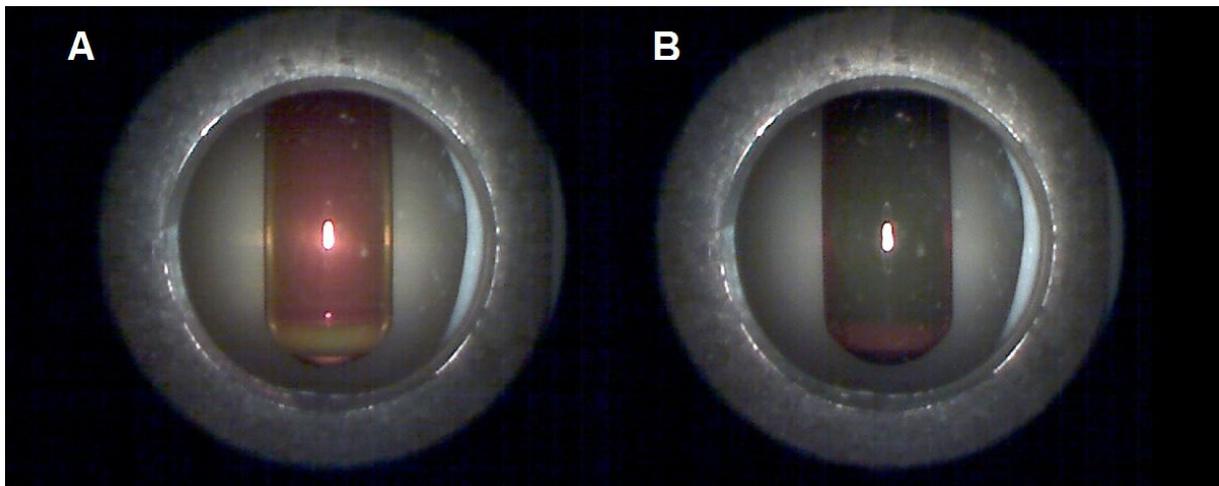


Abbildung 4.1.: Reaktionslösung nach 2 min (A) und 15 min (B) Erhitzen mit 25-200 W.

Nach Erreichen der Zieltemperatur wird für weitere 20 min bei 140 °C erhitzt. Anschließend wird das Reaktionsgefäß mit Druckluft auf Raumtemperatur abgekühlt. Zur Aufarbeitung wird die entstandene Suspension mit Aceton versetzt, in ein Ultrazentrifugenröhrchen überführt und bei 6.000 g (9.000 U min^{-1}) für 30 min zentrifugiert. Der Niederschlag wird mit Hilfe von Ultraschall in abs. Ethanol redispersiert, erneut zentrifugiert, mit Reinstwasser gewaschen und schließlich in Reinstwasser gelagert.

4.6 Synthese von Silber-Nanowürfeln durch Hydrothermalreaktion

Nach Yam *et al.* können Silber-Nanowürfel auf Basis einer CTAB-modifizierten Silberspiegelreaktion im Hydrothermalverfahren hergestellt werden.^[100,116] Die experimentelle Durchführung wird in der Literatur beschrieben,^[100] wurde jedoch unter verschiedenen Gesichtspunkten optimiert und wird daher nochmals im Detail erläutert.

Zunächst werden 510 mg (3 mmol) Silbernitrat in ca. 50 mL Reinstwasser gelöst und dann so lange eine 1,0 molare Ammoniaklösung zugetropft, bis sich die intermediär entstehenden Silberhydroxid-Niederschläge wieder vollständig aufgelöst haben. Die nun klare, farblose Silberdiammin-Stammlösung wird auf 100 mL aufgefüllt. Davon werden 2,5 mL in ein Polypropylen-Röhrchen gegeben und unter heftigem Rühren mit 13 mL einer 11,5 millimolaren CTAB-Lösung versetzt. Anschließend werden 2,5 mL einer 20 millimolaren Glucose-Lösung hinzugefügt und für ca. 1 min weiter gerührt. Die gesamte Reaktionslösung wird in einen Edelstahlautoklaven mit einer Kapazität von 22 mL und einer PTFE-Innenauskleidung überführt. Der Autoklav wird versiegelt und für 8 h bei 120 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Produkt zunächst zur Abtrennung größerer Agglomerate grob filtriert, die weitere Aufreinigung erfolgt anschließend durch mehrfaches Waschen mit Reinstwasser und Zentrifugation bei 2665 g (4.000 U min^{-1}) für 30 min.

4.7 Synthese von Silber-Nanowürfeln durch oxidatives Ätzen

Die Synthese würfelförmiger Silber-Nanopartikel erfolgt durch oxidatives Ätzen in Gegenwart von Chlorid-Ionen und Sauerstoff nach einer Vorschrift von Xia *et al.*^[126]

6 mL wasserfreies Ethylenglycol werden in einem 50 mL Einhals-Rundkolben für 60 min bei 140 °C unter Rühren erhitzt, wobei es von entscheidender Bedeutung ist, den Rundkolben nicht zu verschließen und so die Eintragung von Sauerstoff aus der Raumluft zu ermöglichen. Es werden 30 µL einer 0,10 molaren Salzsäure-Maßlösung in Wasser mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette zugegeben. Währenddessen werden 80 mg Silbernitrat (0,47 mmol) und 80 mg Polyvinylpyrrolidon (0,72 mmol bezogen auf die molare Masse des Monomers; $M_w = 55.000 \text{ g mol}^{-1}$) vollständig in je 5 mL Ethylenglycol gelöst. Unmittelbar nach Zugabe der Salzsäure-Maßlösung werden die Silbernitrat- und Polyvinylpyrrolidon-Lösungen frisch vermischt, geschüttelt und 6 mL der resultierenden Lösung *schnell* in die Reaktionslösung gespritzt. Es kommt sofort zur Bildung eines neblig-weißen Niederschlags, der sich im weiteren Verlauf zunächst rosa, dann gelb und schließlich zunehmend ockerbraun färbt. Der Kolben wird mit einem Stopfen mit PTFE-Fett luftdicht verschlossen. Nach 20 h bei 140 °C wird die Reaktion abgebrochen und mit Eiswasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Die gebildeten Silber-Nanopartikel werden mit Aceton versetzt, bei 29.400 g (20.000 U min⁻¹) für 30 min zentrifugiert und anschließend in Reinstwasser redispergiert. Um stäbchenförmige Partikel abzutrennen, die bei der Reaktion als Nebenprodukte entstehen können, wird die Suspension über einen Spritzenfilter aus Cellulose (Porengröße 0,45 µm) filtriert. Zur weiteren Aufarbeitung wird zweimal mit Reinstwasser gewaschen, bei identischen Bedingungen zentrifugiert und schließlich in Reinstwasser redispergiert.

Die exakte Einhaltung des Versuchsprotokolls sowie die Verwendung sehr sauberer bzw. neuer Kolben und Magnetrührstäbchen ist kritisch für das Gelingen der Reaktion. Alle Gefäße werden vor ihrer Verwendung mit heißem *aqua regia* und anschließend gründlich und mehrfach mit Reinstwasser gespült.

4.8 Synthese von Silber-Nanostäbchen mit dem Polyolprozess

Stäbchenförmige Silber-Nanopartikel können nach Buhro *et al.* in einem modifizierten Polyolprozess durch heterogene Nukleation von Silber an *in situ* gebildeten AgCl-Keimen dargestellt werden.^[141]

334 mg Polyvinylpyrrolidon (3,00 mmol bezogen auf die molare Masse des Monomers; $M_w = 55.000 \text{ g mol}^{-1}$) werden in 20 mL Ethylenglycol gelöst und unter Rühren für 5 min bei 180 °C in einem 50 mL Einhals-Rundkolben bei geöffnetem Gefäß erhitzt. Zur Erzeugung der AgCl-Keime werden je 50 µL einer 0,43 molaren Lösung von Silbernitrat und Natriumchlorid schnell und gleichzeitig mit Hilfe zweier Eppendorf-Pipetten in die heiße Lösung gespritzt. Es wird für weitere 25 min offen bei 180 °C unter Rühren erhitzt. Anschließend werden 10 mL einer 0,12 molaren Silbernitrat-Lösung tropfenweise über eine Spritzenpumpe mit einer Rate von 25 mL h⁻¹ zugegeben. Die Reaktionslösung färbt sich zunächst milchig weiß, dann zunehmend grau. Sobald silbrig-graue Wirbel in der Suspension zu erkennen sind, wird die verbleibende Silbernitrat-Lösung manuell mit erhöhter Geschwindigkeit im Verlauf von 1 min zugegeben. Es wird für weitere 15 min bei 180 °C gerührt. Um die Reaktion zu beenden, wird der Kolben mit Eiswasser auf Raumtemperatur abgekühlt und das Produkt mit 100 mL Reinstwasser verdünnt. Die Partikel werden bei 666 g (2.000 U min⁻¹) für 30 min zentrifugiert und in 5 mL Reinstwasser redispergiert. Zur Abtrennung der Silberchlorid-Keime werden 0,5 mL 30%ige Ammoniaklösung zugegeben, geschüttelt und bei 666 g (2.000 U min⁻¹) für 20 min zentrifugiert. Dabei agglomerieren die Stäbchen zu einem Pellet, welches mit einem Ultraschalldisperser (Amplitude 90 %, Zeit 2-5 min, Frequenz 0,7) redispergiert wird. Es wird dreimal mit Reinstwasser gewaschen und unter identischen Bedingungen zentrifugiert. Das Produkt wird in Reinstwasser gelagert.

4.9 Stabilität von Silber-Nanopartikeln im biologischen Medium

Die Stabilität von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie im biologischen Medium kann mittels Dynamischer Lichtstreuung (vgl. Kapitel 3.3.1) untersucht werden. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen, werden die Bedingungen dabei so gewählt, dass sie einem typischen Zellexperiment möglichst nahe kommen. Die zu untersuchenden Partikel werden in einer wässrigen Lösung mit hoher Konzentration ($\geq 500 \mu\text{g mL}^{-1}$) vorgelegt und mit Zellkulturmedium (RPMI + 10 % FBS + Penicillin/Streptomycin) auf $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ verdünnt. Aus dieser Lösung werden nach Lagerung bei Raumtemperatur für 1 h sowie nach Lagerung bei 37°C im Brutschrank für 24 h DLS-Daten aufgenommen und verglichen.

4.10 Untersuchung der Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln

Es werden Dialyseschläuche der *Fa. Spectrumlabs* aus Cellulose-Ester mit einem MWCO von 100 kDa verwendet. Diese sind vom Hersteller zur Stabilisierung in 0,05%iger Natriumazid-Lösung eingelegt und werden daher vor ihrer Anwendung durch zweistündiges Rühren in Reinstwasser und mehrfaches Spülen sorgfältig gereinigt. Anschließend werden je 4 mL der zu analysierenden Nanopartikel mit einer Silberkonzentration von $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ eingefüllt. Die Dialyseschläuche werden mit Klammern aus Kunststoff verschlossen, erneut mehrfach abgespült und in Polypropylen-Gefäße überführt. Als Medium werden 396 mL Reinstwasser verwendet, wobei für alle Proben die selbe Charge Wasser eingesetzt wird. Sauerstoffsättigung, pH-Wert und Temperatur des Dialysemediums werden gemessen und protokolliert. Zur Minimierung statistischer Fehler wird für jede Partikelcharge eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Die Proben werden bei geschlossenem Gefäß für 30 Tage parallel gerührt. Nach 5, 24, 48, 72, 96, 168, 240, 336, 528 und 696 Stunden werden je 9 mL Probenvolumen entnommen und mit 1 mL konz. Salpetersäure verdünnt. Der Silbergehalt wird mittels AAS bestimmt. Als Kontrollexperiment werden alle Dialyseschläuche nach Ablauf von 30 Tagen zerschnitten und je 20 mL konz. Salpetersäure zum Medium zugefügt, sodass die verbleibende Menge Silber in Lösung geht. Nach 5 Tagen Rühren wird der Silbergehalt erneut mittels AAS bestimmt und die Ergebnisse werden verglichen.

4.11 Biologische Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln

Alle biologischen Untersuchungen wurden in Kooperation mit Herrn Prof. Dr. Manfred Köller und Frau Prof. Dr. Christina Sengstock in der Abteilung für chirurgische Forschung am Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum durchgeführt.

4.11.1 Kultivierung humaner mesenchymaler Stammzellen

Humane mesenchymale Stammzellen (hMSC, 3. bis 7. Passage, *Lonza, Walkersville Inc.*, MD, USA) werden in RPMI1640 Zellkulturmedium (*Life Technologies*, Darmstadt, Deutschland) mit 10% FCS (*Life Technologies*) und 0,3 g L⁻¹ L-Glutamin (*Life Technologies*) bei 37 °C in humider Atmosphäre mit einem Anteil von 5% CO₂ kultiviert. Abhängig von der Proliferation werden alle 7-14 Tage Subkulturen angefertigt. Adhärenz Zellen werden mit PBS-Lösung (*Life Technologies*) gewaschen und im Verlauf von 5 min bei 37 °C mit 0,2 mL cm⁻² Trypsin (0,25%) und Ethylendiamintetraacetat (EDTA, 0,05%, *Sigma-Aldrich*, Taufkirchen, Deutschland) von der Zellkulturflasche (*Becton Dickinson GmbH*, Heidelberg, Deutschland) abgelöst. Anschließend werden die hMSC gesammelt und zweimal mit RPMI1640/FCS gewaschen.

4.11.2 Inkubation von hMSC mit Silber-Nanopartikeln

Die humanen mesenchymalen Stammzellen werden unter Zellkulturbedingungen mit Silber-Nanopartikeln unterschiedlicher Morphologien und Konzentrationen inkubiert. Zur Bestimmung der Viabilität werden die Zellen 24 h nach der Inkubation zwei mal mit RPMI gewaschen, im Verlauf von 30 min bei 37 °C mit Calcein-Acetoxy-methylester (Calcein-AM, *Calbiochem*, Schwalbach, Deutschland) angefärbt, nochmals mit RPMI gewaschen und mittels Fluoreszenzmikroskopie (Olympus MVX10, *Olympus*, Hamburg, Deutschland) analysiert. Nur lebende Zellen weisen eine grüne Fluoreszenz auf, die durch Phasenanalyse digital ausgewertet werden kann (*Adobe Photoshop 7.0*). Weiterhin wird die Freisetzung von Interleukin-8 nach 24 h Inkubation im Überstand mittels ELISA-Test bestimmt.

Die intrazelluläre Anreicherung von Silber-Nanopartikeln nach Inkubation in hMSC wird durch konfokale Laserscanningmikroskopie (CLSM, engl. *confocal laser*

scanning microscopy) untersucht. Zu diesem Zweck werden die hMSC subkonfluent auf einem 2-Well *LabTek™* Glasträger (*Thermo Fisher Scientific*, Langenselbold, Deutschland) ausgesät, gewaschen und für 24 h unter Zellkulturbedingungen mit $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ Silber-Nanopartikeln inkubiert. Anschließend werden die Zellkerne mit dem Farbstoff Hoechst3334 ($162 \mu\text{M}$) in reinem RPMI1640 innerhalb von 5 min bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ blau angefärbt. Es wird dreimal mit RPMI1640 gewaschen, bevor die Zellen auf einen Glasträger aufgebracht werden. Mit einem Öl-Immersions-Objektiv mit 40-facher Vergrößerung werden CLSM-Aufnahmen (LSM700, *Zeiss*) angefertigt und mit einer Software (*Zeiss 2010*) ausgewertet.

4.11.3 Antimikrobielle Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln

Die antimikrobielle Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie wird am Beispiel von *Staphylococcus aureus* (DSMZ 1104, *Life Technologies GmbH*, Karlsruhe, Deutschland) untersucht. Bakterienkulturen werden über Nacht angelegt und die Zellzahl wird mittels Trübheitsmessung (*Densichek*, *bioMérieux*, Lyon, Frankreich) nach der McFarland Skala bestimmt.

Die minimale bakterizide Konzentration (MBC, engl. *minimum bactericidal concentration*) wird in RPMI1640 mit 10 % FCS und $0,3 \text{ g L}^{-1}$ L-Glutamin ermittelt. Die MBC ist definiert als die niedrigste Konzentration von Silber, bei der koloniebildende Einheiten (CFU, engl. *colony forming units*) auf der Agarplatte vollständig verhindert werden. Zu diesem Zweck werden je $50 \mu\text{L}$ verschieden konzentrierter Nanopartikel-Stammlösungen auf Bakterienkulturen mit einer Anzahl von 10^2 bis 10^5 Bakterien pro Milliliter gegeben. Die Inkubation erfolgt über Nacht bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in RPMI/10 % FCS. Die MBC wird anhand von Aliquoten zu je $100 \mu\text{L}$ der über Nacht inkubierten Bakterien auf Blutagarplatten bestimmt.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Glucose-Synthese von Silber-Nanopartikeln

Eine einfache Methode zur Darstellung von quasi-sphärischen Silber-Nanopartikeln ist die Reduktion von Silbernitrat durch Glucose in Anwesenheit von Polyvinylpyrrolidon in wässriger Lösung. Die Synthese geht auf eine Publikation von Wang *et al.* zurück^[113] und wurde von Banerjee *et al.* in Hinblick auf das Kristallwachstum in Abhängigkeit von der Reaktionszeit näher untersucht.^[192] Die gebildeten Kolloide sind aufgrund ihrer hohen Konzentration, Stabilität und Qualität hervorragend für biologische Experimente geeignet und sowohl *in vitro* als auch *in vivo* etabliert.^[52]

Für die vorliegende Arbeit wurden Silber-Nanopartikel mittels Glucose-Synthese hergestellt, durch mehrfaches Waschen mit Reinstwasser gereinigt und mit verschiedenen analytischen Methoden charakterisiert.

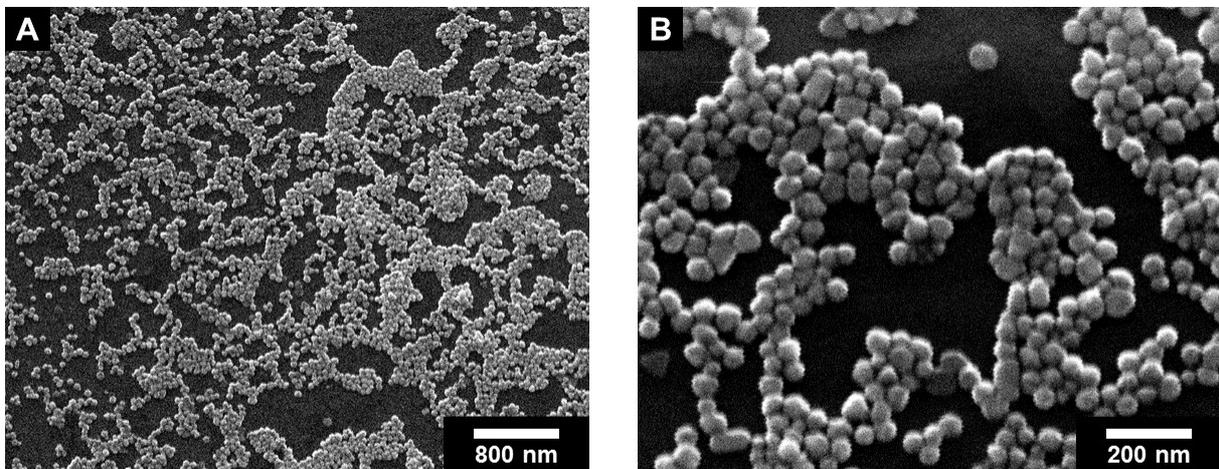


Abbildung 5.1.: REM-Aufnahmen der mittels Glucose-Synthese hergestellten Ag-Nanopartikel.

Abbildung 5.1 zeigt typische rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen bei einer Beschleunigungsspannung von 30 kV. Auf der linken Übersichtsaufnahme sieht man bei 50.000-facher Vergrößerung, dass die Partikel eine monodisperse Größenverteilung aufweisen und sehr homogen erscheinen. Das rechte Bild wurde bei 200.000-facher Vergrößerung aufgenommen und ermöglicht eine nähere

5. Ergebnisse und Diskussion

Betrachtung der Größe und Morphologie. Die Partikel sind weitgehend sphärisch, jedoch zum Teil leicht deformiert und weichen somit von einer idealen Kugel ab. Als Nebenprodukte liegen vereinzelt Prismen und kurze Stäbchen vor. Der Durchmesser der abgebildeten Partikel wurde digital vermessen und beträgt ca. 40-70 nm. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die in Lösung vorliegende Hydrathülle bei der Aufzeichnung der elektronenmikroskopischen Bilder im Hochvakuum kollabiert, die gemessene Größe entspricht also dem metallischen Kern und der darauf befindlichen organischen Polymerschicht.

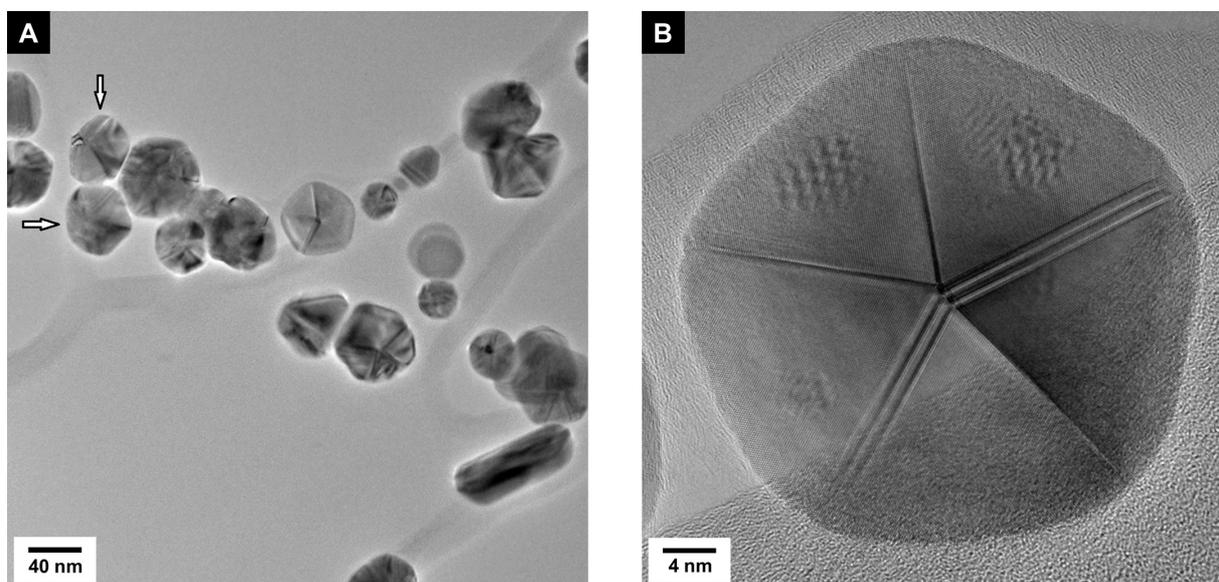


Abbildung 5.2.: HRTEM-Aufnahmen der Silber-Nanopartikel aus der Glucose-Synthese.

In Kooperation mit Herrn Dr. Marc Heggen wurden am Ernst Ruska-Centrum des Forschungszentrums Jülich HRTEM-Aufnahmen bei einer Beschleunigungsspannung von 300 kV angefertigt. In guter Übereinstimmung zu den Daten aus der Rasterelektronenmikroskopie haben die metallischen Partikelkerne durchschnittliche Größen von ca. 40 nm. Aufgrund der hohen Auflösung kann die Morphologie nun genauer abgebildet werden. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Partikel in den meisten Fällen nicht einkristallin, sondern mehrfach verzwilligt vorliegen. Neben vereinzelt Stäbchen und Prismen werden häufig auch fünffach verzwilligte, dekaedrische Partikel beobachtet (vgl. Abbildung 5.2B). Diese können nach Xia *et al.* aus fünf tetraedrischen Silber-Einkristallen konstruiert werden, die mit jeweils vier {111}-Flächen terminiert und über zwei solche Flächen verbrückt sind.^[45] Aus diesem

geometrischen Modell kann geschlossen werden, dass die Partikel nicht perfekt sphärisch sind, sondern eher die Form einer gewölbten Scheibe haben. In Abbildung 5.2A sind im oberen Bildabschnitt zwei Partikel mit einem Pfeil markiert, die auf einem anderen, größeren Partikel zum Liegen kommen und den Eindruck dieser anisotropen Verzerrung unterstützen. Eine ausführlichere Diskussion der inneren Struktur sowie der Phasengrenzen erfolgt in Kapitel 5.4.2 im Rahmen der Synthese von Silber-Nanostäbchen.

Um Informationen über die Größenverteilung und kolloidale Stabilität der Partikel in Lösung zu erhalten, wurde eine weitere Charakterisierung mittels DLS durchgeführt sowie das ζ -Potential in Reinstwasser bestimmt.

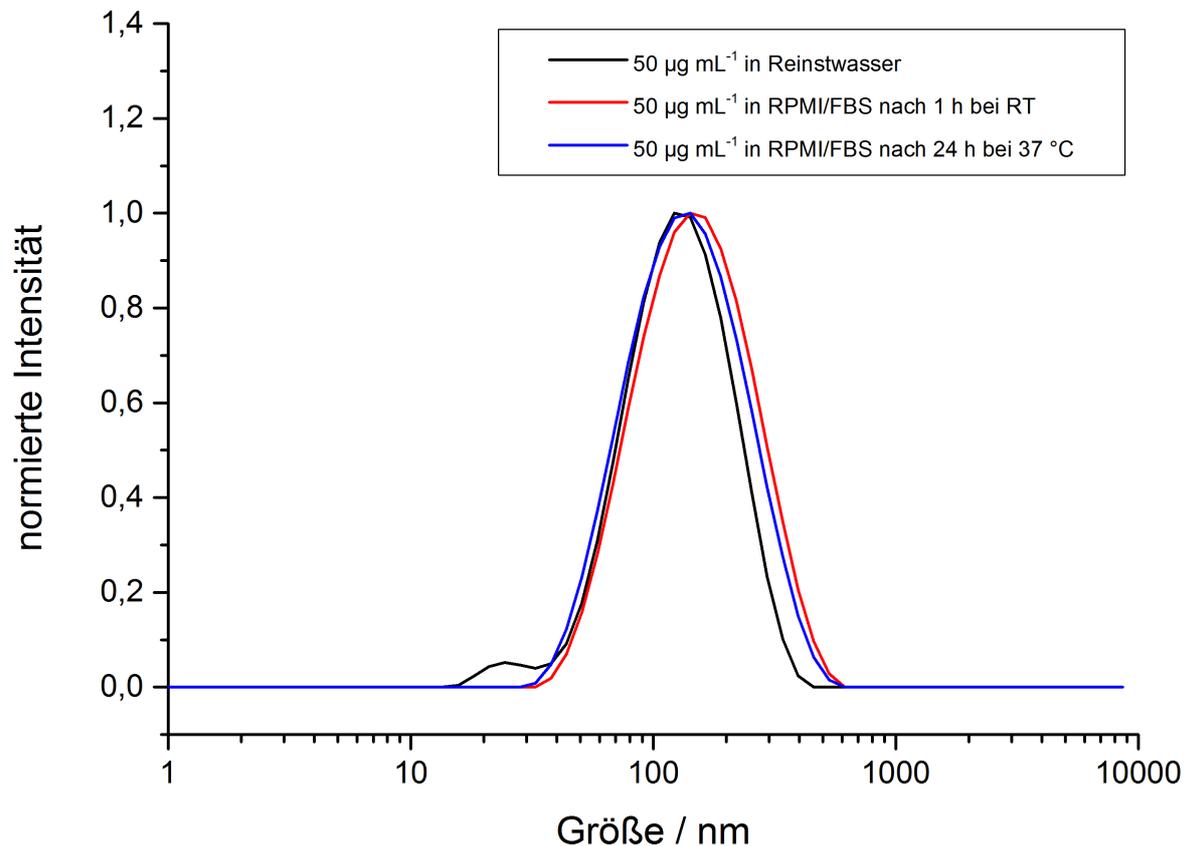


Abbildung 5.3.: Größenverteilung der durch Glucose-Synthese hergestellten Ag-Nanopartikel in wässrigem Medium sowie in Zellkulturmedium, bestimmt mittels DLS.

In Abbildung 5.3 ist die durch Dynamische Lichtstreuung ermittelte Partikelgrößenverteilung dargestellt. Es wurden zwei Suspensionen mit einer Konzentration von je $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ Silber in Reinstwasser und Zellkulturmedium (RPMI/FBS) hergestellt. Die

5. Ergebnisse und Diskussion

Suspension in Reinstwasser wurde sofort vermessen, die Suspension im Zellkulturmedium nach 1 h Lagerung bei Raumtemperatur und nochmals nach 24 h bei 37 °C im Brutschrank. Die mittleren Partikelgrößen und der PDI sind in Tabelle 5.1 aufgetragen.

Medium	Durchmesser	PDI
Reinstwasser	108 nm	0,21
RPMI/FBS nach 1 h bei RT	122 nm	0,25
RPMI/FBS nach 24 h bei 37 °C	113 nm	0,24

Tabelle 5.1.: *Mittlere Partikelgröße und PDI der mittels Glucose-Synthese hergestellten Ag-Nanopartikel in Reinstwasser sowie Zellkulturmedium.*

In Reinstwasser liegt eine bimodale Partikelgrößenverteilung vor, mit einem primären Maximum bei 140 nm und einem Artefakt bei 25 nm. Das sekundäre Maximum weist eine erheblich geringere Intensität auf als das primäre Maximum und ist in RPMI/FBS nicht zu beobachten. Auch in den HRTEM-Aufnahmen sind vereinzelt kleinere Partikel mit einer Größe von ca. 25 nm zu sehen (vgl. Abbildung 5.2A). Insgesamt beträgt der PDI jedoch 0,21 und liegt damit unterhalb des Grenzwerts von 0,3, sodass in Übereinstimmung zu den REM-Daten von einem monodispersen System gesprochen werden kann.

Im Mittel erscheinen die Partikel in Reinstwasser mit 108 nm erheblich größer als im Elektronenmikroskop. Dies kann im Wesentlichen auf zwei Effekte zurückgeführt werden: Zum einen wird bei der DLS-Messung der hydrodynamische Radius gemessen, also zusätzlich zum metallischen Kern auch die Hydrathülle um die Partikel. Zum anderen ist ein spezifischer Nachteil dieser Messmethode, dass die Streulichtintensität größerer Partikel gegenüber kleineren überbewertet wird (vgl. Kapitel 3.3.1). Die Radienvergrößerung in der DLS kann allerdings auch auf eine leichte Agglomeration der Partikel hinweisen.

Interessant für biologische Untersuchungen ist insbesondere der Einfluss des Zellkulturmediums auf die Partikelgröße und Stabilität. Weder in Reinstwasser noch in RPMI/FBS kommt es zur nennenswerten Agglomeration. Auch nach 24 h bei 37 °C im Brutschrank sind die Partikel stabil und daher für Zellexperimente geeignet. Im

Medium ist eine leichte Vergrößerung der Radien zu beobachten, welche durch die Ausbildung einer Proteinkorona auf der Partikeloberfläche erklärt werden kann. Diese Daten sollten allerdings nicht überinterpretiert werden, da das Zellkulturmedium eine andere Viskosität und einen anderen Brechungsindex als Reinstwasser aufweist und keine Korrektur durchgeführt wurde. Dennoch ist zumindest ein direkter Vergleich zwischen den Partikeln im Medium nach 1 h bei Raumtemperatur und nach 24 h bei 37 °C möglich. Auch hier kann keine nennenswerte Agglomeration beobachtet werden, die Größenverteilungen unterscheiden sich nicht signifikant.

Das ζ -Potential beträgt in Reinstwasser -6,4 mV, bei anderen Chargen wurden Werte von bis zu -30 mV gemessen. Dies spricht für eine gewisse elektrostatische Stabilisierung der Partikel, welche bereits während der Synthese mit Polyvinylpyrrolidon funktionalisiert werden.

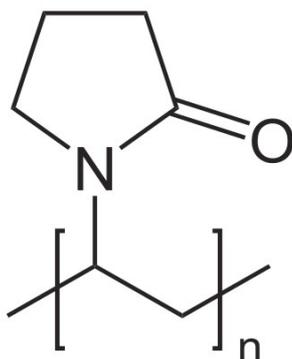


Abbildung 5.4.: Lewis-Strukturformel von Polyvinylpyrrolidon.

Polyvinylpyrrolidon ist ladungsneutral (vgl. Abbildung 5.4) und koordiniert über die freien Elektronenpaare am Sauerstoff an die Oberfläche des metallischen Partikelkerns.^[162,194] Das negative ζ -Potential kann über die Adsorption geladener Gegenionen, z.B. NO_3^- , an das Polymer erklärt werden. Insgesamt resultiert aufgrund des ebenfalls zu berücksichtigenden sterischen Anspruchs des Polymers eine elektrosterische Stabilisierung.

5. Ergebnisse und Diskussion

Die Partikelgröße in Reinstwasser wurde weiterhin mittels DCS untersucht.

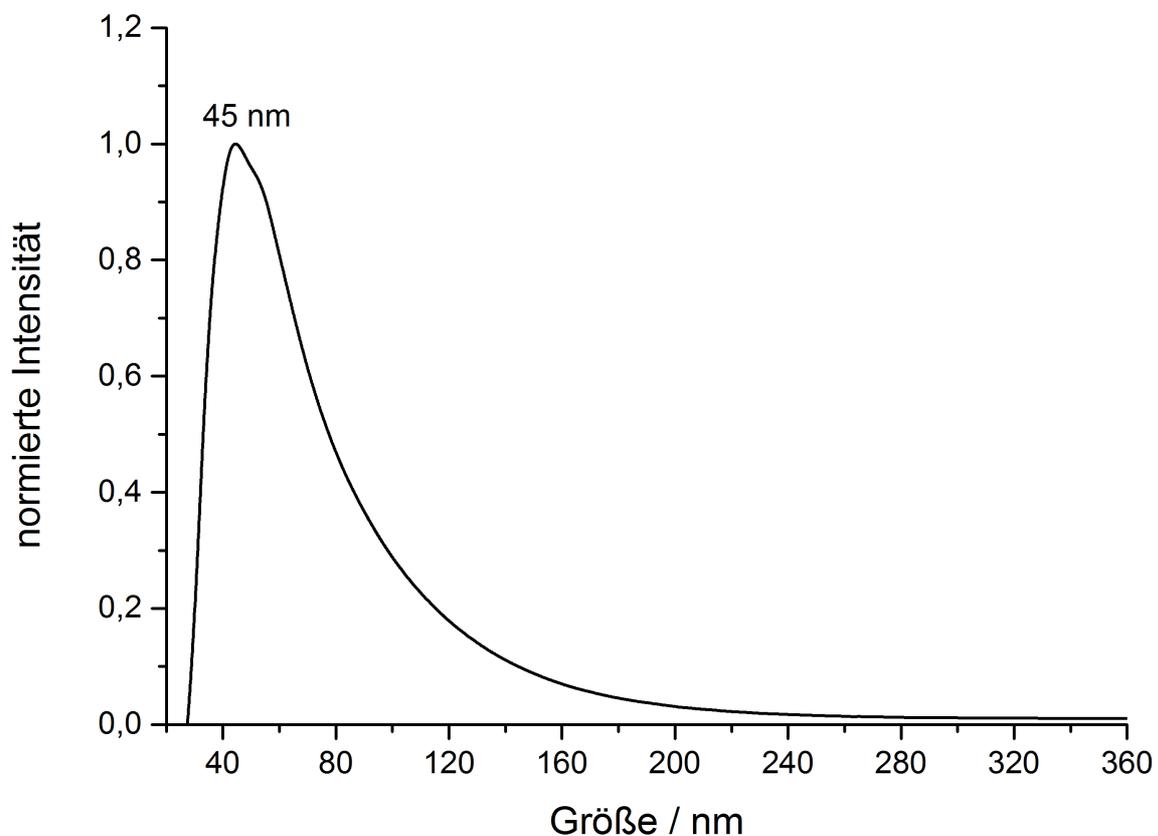


Abbildung 5.5.: Größenverteilung der durch Glucose-Synthese hergestellten Ag-Nanopartikel in Reinstwasser, bestimmt mittels analytischer Scheibenzentrifugation.

Es ergibt sich eine monomodale Größenverteilung mit einem Maximum bei 45 nm (vgl. Abbildung 5.5). Dieser Wert liegt in guter Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopisch ermittelten Partikelradien, weicht allerdings deutlich von den DLS-Daten ab. Wie auch bei der Dynamischen Lichtstreuung berücksichtigt die Analytische Scheibenzentrifugation die Hydrathülle. Während bei der DLS die Partikelgröße indirekt über die Brown'sche Molekularbewegung errechnet wird, macht sich die DCS die unterschiedliche Sedimentationsgeschwindigkeit verschieden großer Partikel in einem zentrifugalen Kraftfeld zunutze. Eine kritische Größe ist hierbei die Dichte. Bei metallischen Nanopartikeln wird zur Berechnung der Radien häufig die Dichte des reinen Metalls herangezogen, während die tatsächliche Dichte im Falle einer organischen Funktionalisierung in der Regel davon abweicht. Die Folge davon ist eine Unterschätzung der realen Partikelgröße.

Die optischen Eigenschaften von Silber-Nanopartikeln können mittels UV/Vis-Spektroskopie untersucht werden und liefern Erkenntnisse über die Größe, Morphologie und den Aggregationsgrad in Lösung. Die Extinktionsspektren zeigen üblicherweise ein scharfes Maximum zwischen 400 und 500 nm. Mit steigenden Partikelradien wird die primäre Bande breiter und in Richtung größerer Wellenlängen verschoben. Auch agglomerierte Partikel oder anisotrope Verzerrungen führen zu einer Rotverschiebung im Spektrum oder zum Auftreten neuer Absorptionsbanden aufgrund der Richtungsabhängigkeit der Plasmonenresonanz. Ab einem Durchmesser von ca. 80 nm kann eine zweite Bande im Bereich zwischen 380 und 450 nm beobachtet werden, welche auf die Quadrupol-Resonanz der größer werdenden Partikel zurückgeführt werden kann.^[102,195]

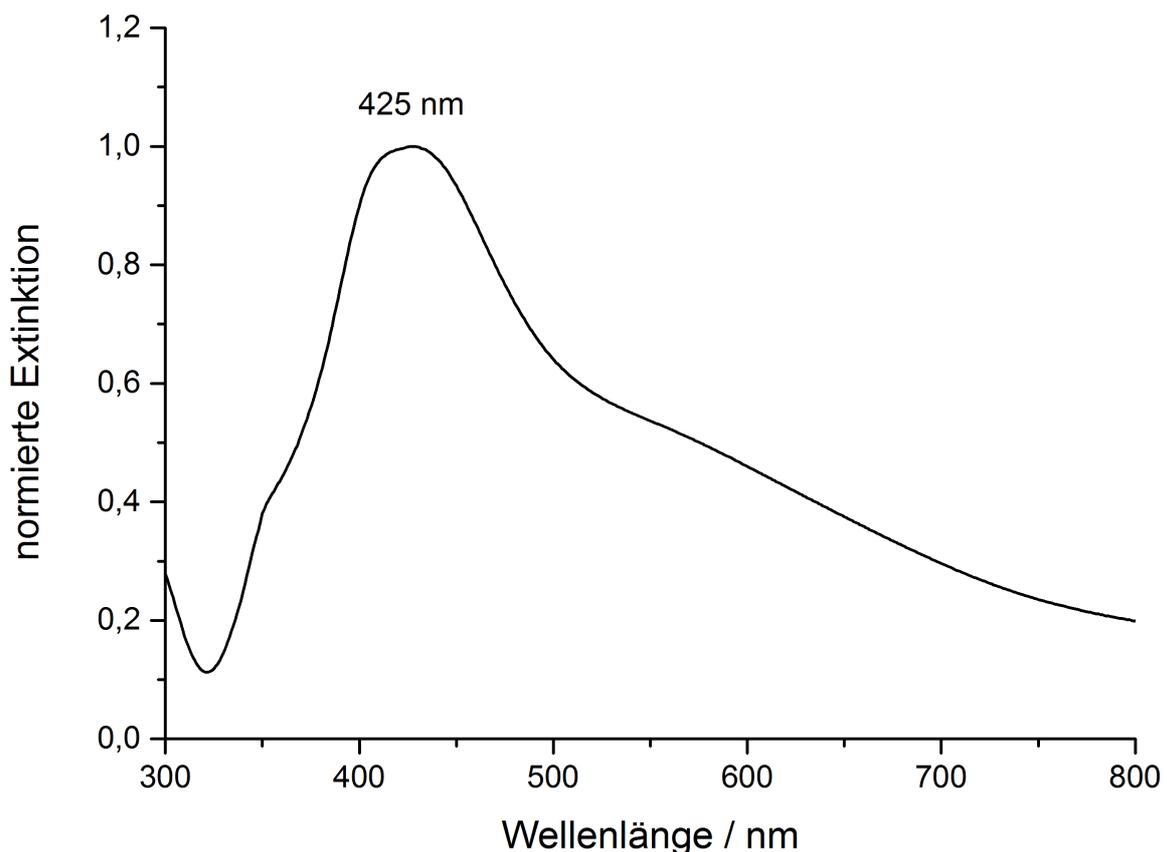


Abbildung 5.6.: UV/Vis-Spektrum der durch Glucose-Reaktion hergestellten Ag-Nanopartikel.

In Abbildung 5.6 ist das Extinktionsspektrum der mittels Glucose-Reaktion hergestellten Silber-Nanopartikel aufgetragen. Das Spektrum zeigt eine breite Bande mit einem Maximum bei 425 nm. Diese ist typisch für sphärische Silber-Nanopartikel. Ein

5. Ergebnisse und Diskussion

Vergleich mit Literaturspektren^[195] weist auf eine ungefähre Größe von ca. 60 nm hin, was in guter Übereinstimmung mit den durch Elektronenmikroskopie ermittelten Durchmessern des metallischen Partikel-Kerns steht. Die Bande ist nicht scharf, sondern läuft mit zunehmender Wellenlänge flach aus. Da sowohl die DLS- als auch die DCS-Daten gegen eine nennenswerte Agglomeration sprechen und auch kein sichtbarer Bodensatz ausfällt, müssen andere Ursachen für die hohe Intensität im roten Spektralbereich in Betracht gezogen werden. Anhand der REM-Bilder ist zu sehen, dass als Nebenprodukt der Synthese ein geringer Anteil prismatischer Silberpartikel entsteht. Isoliert zeigen diese im UV/Vis-Spektrum Extinktionsmaxima zwischen ca. 600 und 800 nm, was die Bandenverbreiterung erklären kann.^[142] Weiterhin lassen die HRTEM-Aufnahmen sowie die Daten aus der Pulverdiffraktometrie und aus der Rasterkraftmikroskopie (siehe unten) vermuten, dass die Partikel nicht ideal rund sind, sondern eher verzerrt vorliegen, wobei die kristallographischen {111}-Flächen eine Vorzugsorientierung aufweisen. Auch eine solche anisotrope Verzerrung kann ein Grund für die breit auslaufende Bande sein.

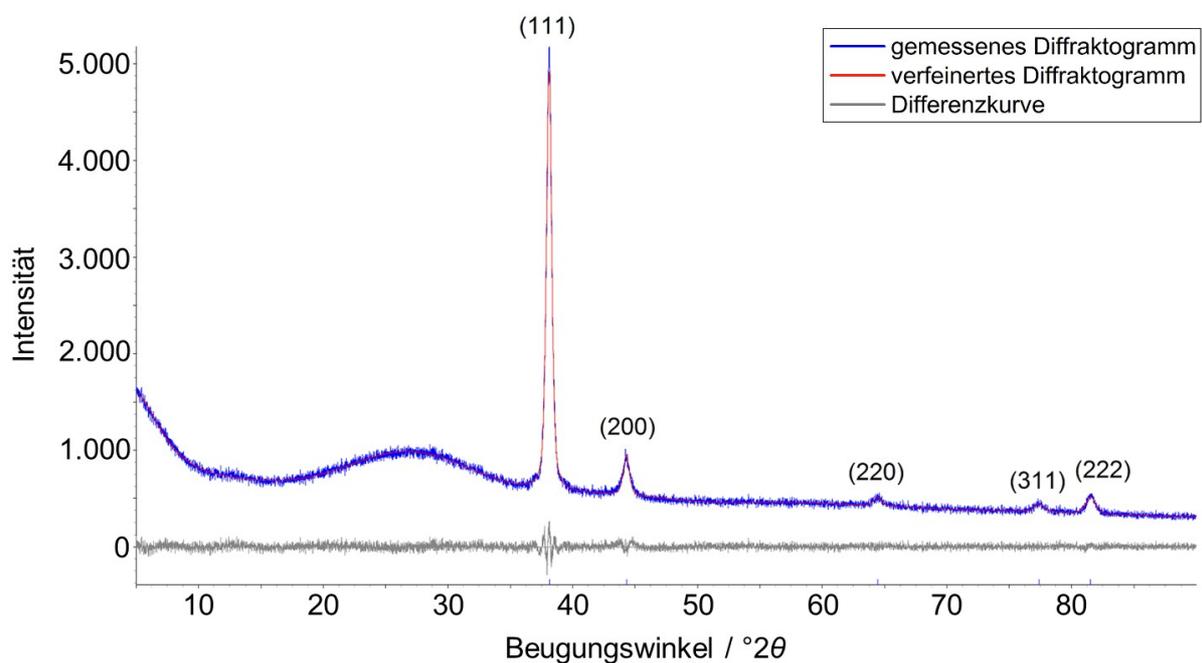


Abbildung 5.7.: Pulverdiffraktogramm der durch Glucose-Reaktion hergestellten Nanopartikel.

Zur weiteren Abklärung der Reinheit und inneren Struktur der Partikel wurde ein Pulverdiffraktogramm angefertigt und mit Hilfe der Rietveld-Methode durch Herrn

Dr. Oleg Prymak verfeinert (vgl. Abbildung 5.7). Im Rahmen einer Phasenanalyse wurden die gemessenen Reflexe indiziert, den verschiedenen Kristallflächen im kubisch-flächenzentrierten Silber zugeordnet und mit Literaturdaten verglichen (vgl. Tabelle 5.2).^[196] Als Referenz wurde dabei die ICDD-PDF4 Datenbank (Eintrag #04-0783) herangezogen.

Reflex gemessen $^{\circ}2\theta$	Reflex Literatur $^{\circ}2\theta$	Kristallfläche Millersche Indizes
38,08	38,117	(111)
44,27	44,279	(200)
64,42	64,428	(220)
77,31	77,475	(311)
81,47	81,539	(222)

Tabelle 5.2.: Zuordnung der Reflexe im Pulverdiffraktogramm für Silber-Nanopartikel aus der Glucose-Reaktion zu den kristallographischen Flächen aus der ICDD-PDF4 Datenbank (Eintrag #04-0783).

Die gemessenen Reflexlagen stehen in guter Übereinstimmung zu den Literaturdaten. Weitere, nicht-indizierbare Reflexe sind nicht vorhanden, sodass insgesamt phasenreines Silber ohne Verunreinigungen vorliegt. Bezüglich der relativen Reflexintensitäten ist eine deutliche Vorzugsorientierung der {111}-Flächen zu beobachten. Im Zusammenhang mit den oben diskutierten HRTEM-Aufnahmen unterstützt dieser Befund die Vermutung, dass die Partikel in überwiegender Mehrheit die Form von mehrfach verzwilligten Tetraedern mit gerichteten {111}-Flächen haben. Auf eine Bestimmung der Gitterparameter und Kristallitgrößen wurde verzichtet, da diese bereits von Banerjee *et al.* für vergleichbare Partikel berechnet wurden.^[192]

Es wurde eine weitere Charakterisierung mittels Rasterkraftmikroskopie durchgeführt, um mehr Informationen über die genaue Morphologie der Partikel zu erhalten. Zu diesem Zweck wurde eine Verdünnungsreihe der kolloidal suspendierten Partikel in Reinstwasser angefertigt, auf einen Objektträger aus Glas getropft und an Luft getrocknet. Die Messungen wurden von Herrn Dr. Christoph Groß-Heitfeld durchgeführt.

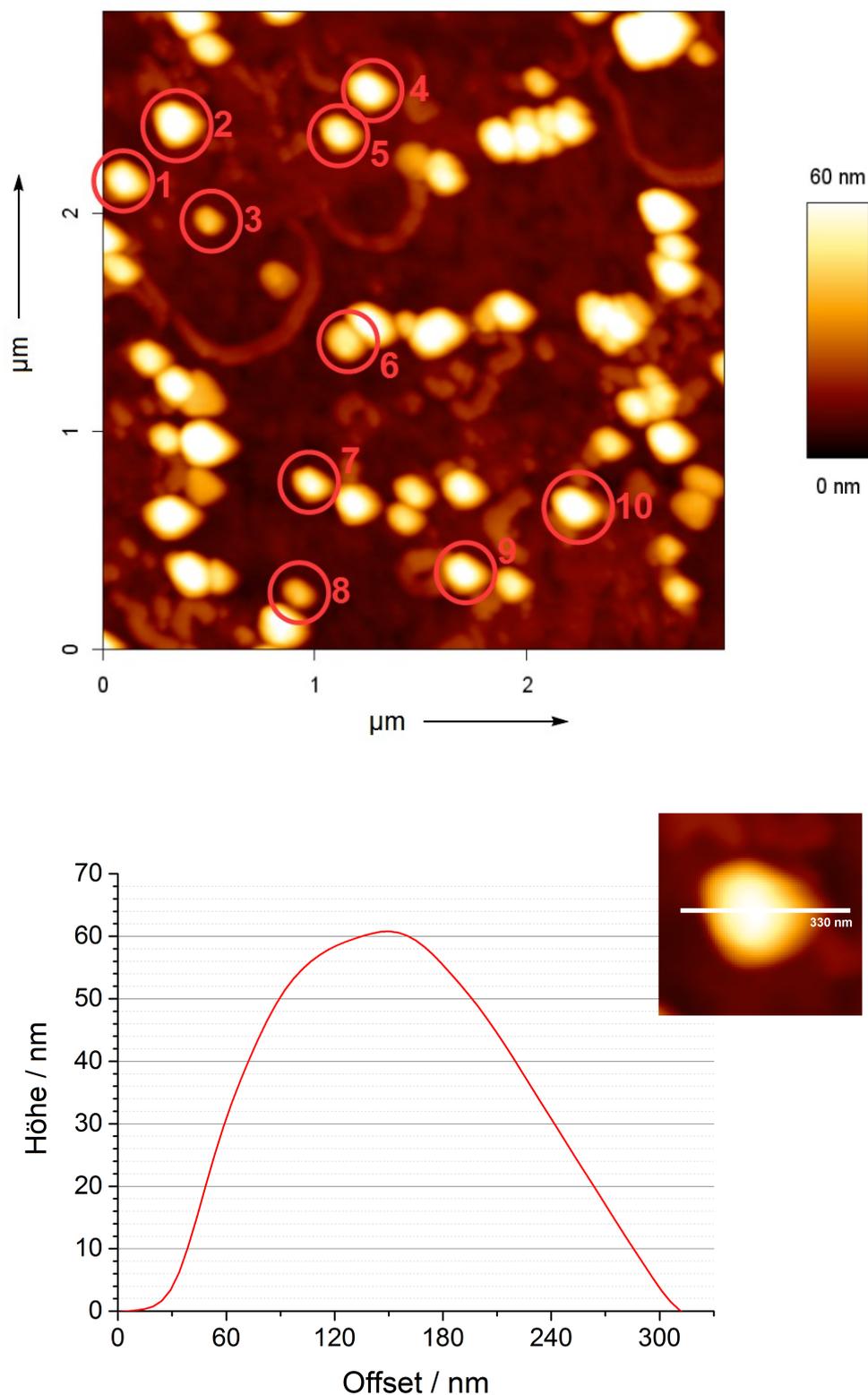


Abbildung 5.8.: AFM-Aufnahme der mittels Glucose-Reaktion hergestellten Ag-Nanopartikel. In der Übersichtsaufnahme (oben) wurden 10 Partikel markiert, deren Halbwertsbreite und Höhenprofil einzeln vermessen wurde (unten).

Abbildung 5.8 zeigt eine typische rasterkraftmikroskopische Aufnahme der Silber-Nanopartikel aus der Glucose-Synthese. Insgesamt erscheinen die Partikel weitgehend homogen und monodispers. Morphologisch kommt es zu Abweichungen von der idealen Kugelsymmetrie. Dieser Eindruck deckt sich mit den bisherigen Beobachtungen. Es wurden je 10 Partikel ausgewählt und deren Halbwertsbreite und Höhenprofil digital vermessen. Ein exemplarisches Höhenprofil ist Abbildung 5.8 unten aufgetragen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.3 zusammengefasst.

#	Breite / nm	Höhe / nm	Verhältnis
1	150	50	3,0 : 1
2	150	60	2,5 : 1
3	100	30	3,3 : 1
4	150	55	2,7 : 1
5	150	50	3,0 : 1
6	140	40	3,5 : 1
7	150	50	3,0 : 1
8	130	30	4,3 : 1
9	150	55	2,7 : 1
10	175	60	2,9 : 1
Ø	145	48	3,0 : 1

Tabelle 5.3.: Größe der markierten Silber-Nanopartikel aus der AFM-Auswertung (vgl. Abb. 5.8).

Zunächst fällt auf, dass das Verhältnis von Partikelbreite zu -höhe im statistischen Mittel 3:1 beträgt und damit erheblich vom Idealwert 1:1 für sphärische Partikel abweicht. Geht man davon aus, dass die Partikel im Fall einer anisotropen Verzerrung bevorzugt mit der größeren Fläche auf dem Probenträger liegen, stützt dies weiter die Annahme einer eher diskusförmigen Morphologie. Die Daten sollten jedoch nicht überinterpretiert werden, da es durch Wechselwirkungen zwischen der Partikeloberfläche und der Spitze des Federarms zu einer Verzerrung in z-Richtung kommen kann, wodurch die Höhen-Auflösung der Methode ungenau wird. Die gemessene Breite von durchschnittlich 145 nm liegt in der Größenordnung der durch

5. Ergebnisse und Diskussion

DLS ermittelten Durchmesser. Im Vergleich zu den durch REM bestimmten Partikelgrößen von 40-70 nm ist dieser Wert sehr hoch. Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass eine Anzahl von nur 10 ausgewerteten Partikeln statistisch nicht sehr aussagekräftig ist, zumal tendenziell eher große und gut sichtbare Partikel ausgewählt wurden, während ebenfalls anwesende, kleinere Partikel im Substrat einsinken bzw. nicht klar abgegrenzt werden konnten.

Zusammengefasst wurden phasenreine, monodisperse Silber-Nanopartikel durch Reduktion von Silbernitrat mit Glucose in wässrigem Medium dargestellt und mit verschiedenen analytischen Methoden charakterisiert. Für die durchschnittliche Größe erhält man erwartungsgemäß je nach angewandeter Methode unterschiedliche Werte.^[51] Diese bewegen sich zwischen 40 und 70 nm für den metallischen Kern und ca. 108 nm für den hydrodynamischen Durchmesser. Anhand der elektronenmikroskopischen Aufnahmen konnte gezeigt werden, dass die Partikel größtenteils mehrfach verzwilligt vorliegen. Die genaue Morphologie kann nicht zweifelsfrei aufgeklärt werden. Neben vereinzelt auftretenden Stäbchen und flachen Plättchen hat die überwiegende Anzahl der Partikel jedoch eine verzerrte, quasi-sphärische oder diskusförmige Gestalt. Im Pulverdiffraktogramm wird eine Vorzugsorientierung der {111}-Flächen beobachtet. Die Nanopartikel sind mit Polyvinylpyrrolidon funktionalisiert und sowohl in Reinstwasser als auch im Zellkulturmedium für mindestens 24 Stunden bei 37 °C stabil, wodurch sie gut für biologische Experimente geeignet sind. Das ζ -Potential beträgt -6,4 mV.

5.1.1 Ausbeuteuntersuchung der Glucose-Synthese

Zur Bestimmung der Ausbeute sowie der relativen Verluste von Silber bei der Aufreinigung wurden zu folgenden Zeitpunkten während und nach der Glucose-Synthese Proben mit einem Volumen von jeweils 500 μ L entnommen:

- Vor der Reaktion unmittelbar nach Zugabe der Silbernitrat-Lösung
- Nach Abschluss der Reaktion aus der Reaktionslösung
- Nach jeder Zentrifugation aus dem Überstand (nach Verdünnen)
- Nach jeder Zentrifugation aus dem Zentrifugat (nach Verdünnen)

Die Proben wurden in 2,5 mL konz. Salpetersäure gelöst und mit 2 mL Reinstwasser verdünnt. Der Silbergehalt wurde mittels Atomabsorptionsspektroskopie (vgl. Kapitel 3.4.2) bestimmt und graphisch in Abbildung 5.9 aufgetragen.

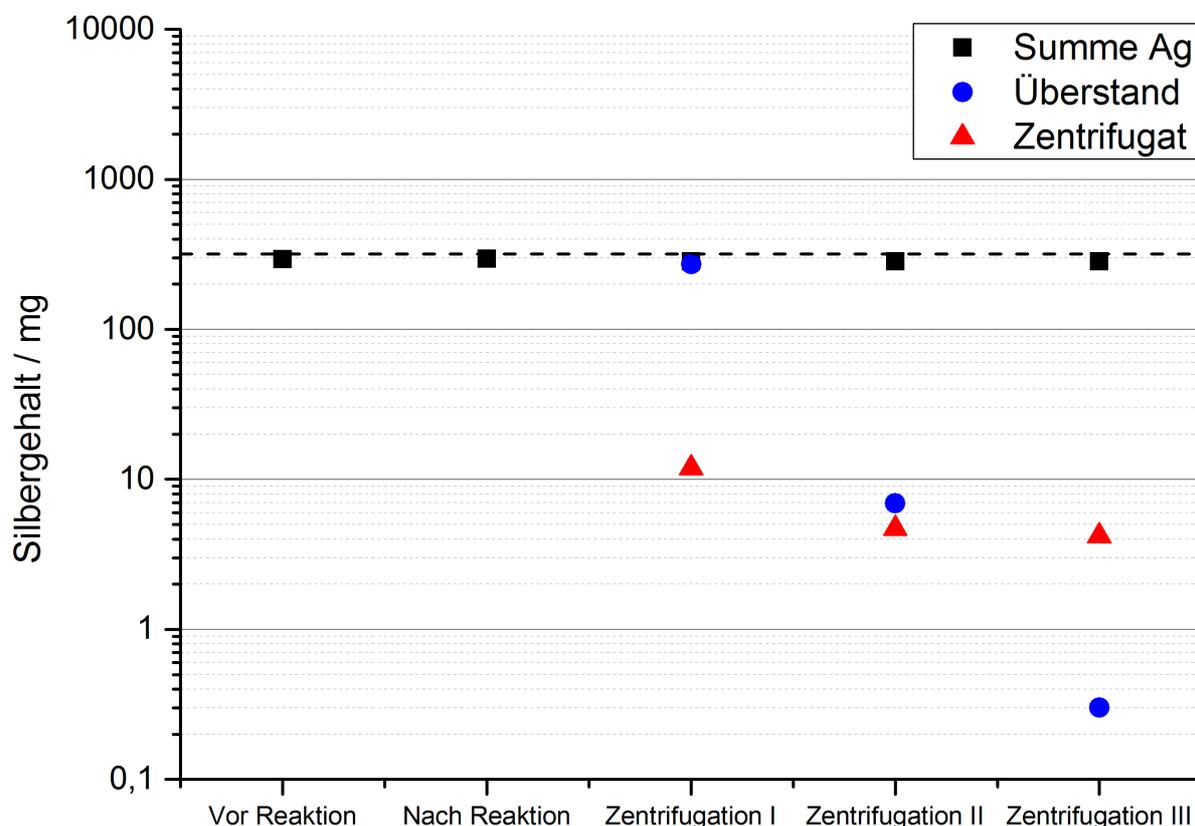


Abbildung 5.9.: Verteilung des Silbergehalts vor, während und nach der Glucose-Reaktion.

Die gestrichelte schwarze Linie zeigt den theoretischen Maximalwert von 318 mg Silber in der Reaktionslösung, entsprechend der Einwaage von 500 mg (2,94 mmol) Silbernitrat. Nach Abschluss der Reaktion wurden die Nanopartikel durch dreimaliges Ultrazentrifugieren und Redispergieren in Reinstwasser aufgearbeitet. Die roten Dreiecke in Abbildung 5.9 symbolisieren den Silbergehalt im jeweiligen Zentrifugat, die blauen Kreise den Verlust im Überstand. Die schwarzen Quadrate entsprechen der Gesamtmenge an Silber vor und nach der Reaktion, und ab „Zentrifugation I“ der Summe aus allen Zentrifugaten und Überständen.

Erwartungsgemäß geht insgesamt kein Silber verloren, d.h. die Gesamtmenge in allen Zentrifugaten und Überständen nach der Aufreinigung entspricht unter Berücksichtigung der Messgenauigkeit sowie statistischer Fehler der Einwaage von 318 mg

5. Ergebnisse und Diskussion

Silber. Nach dem letzten Reinigungsschritt konnte eine kolloidale Suspension mit einem Silbergehalt von 4,2 mg isoliert werden, dies entspricht einer Ausbeute von lediglich 1,3 % bezogen die eingesetzte Menge Silbernitrat. Da die Partikelgröße und -form nicht vollständig homogen ist, ist es nicht möglich, aus diesem Wert die Anzahl der gebildeten Silber-Nanopartikel in hinreichender Genauigkeit zu berechnen.

Bei näherer Betrachtung wirft die geringe Ausbeute von 1,3 % diverse Fragen auf. D-Glucose ist ein gutes Reduktionsmittel und kann unter Abgabe von Elektronen zu D-Gluconsäure bzw. D-Glucuronsäure oxidiert werden (vgl. Abbildung 5.10). Bereits seit dem 19. Jahrhundert nutzt man die Abscheidung eines Silberspiegels (Reduktion von Ag^+ zu Ag) aus ammoniakalischer Silbernitrat-Lösung bei der Tollens-Probe zum Nachweis von Glucose bzw. im weiteren Sinne zum Nachweis reduzierender funktioneller Gruppen.^[197]

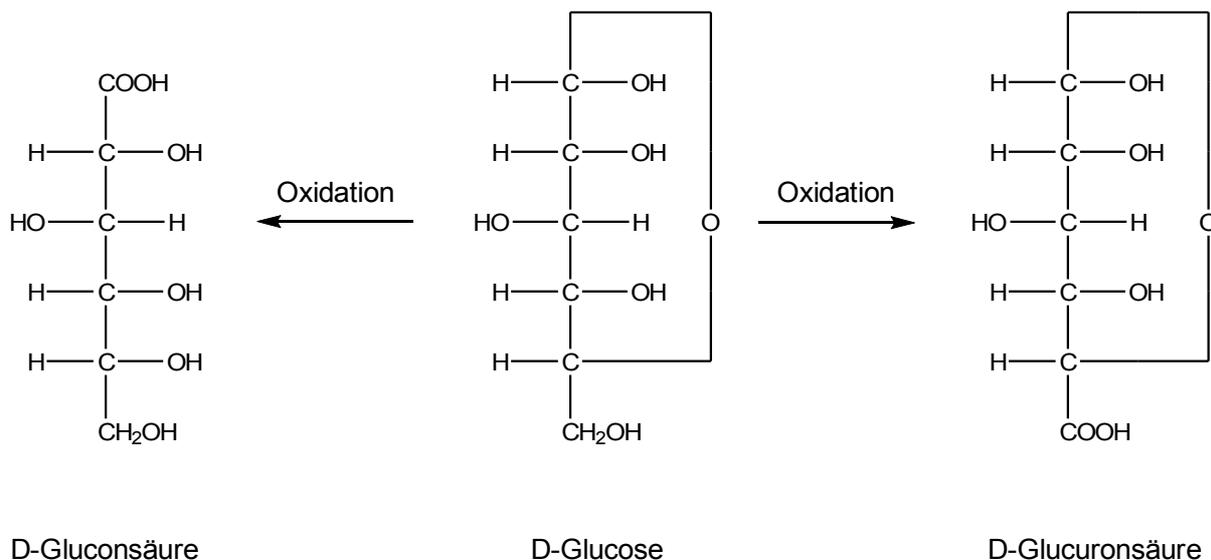


Abbildung 5.10.: Oxidation von D-Glucose zu D-Gluconsäure bzw. D-Glucuronsäure.

Obwohl Glucose also prinzipiell ein gutes Reduktionsmittel für Silber-Ionen ist und bei den gegebenen Reaktionsbedingungen im Überschuss vorliegt, wird aus Abbildung 5.9 ersichtlich, dass > 90 % des eingesetzten Silbers im ersten Zentrifugationsschritt nicht sedimentieren und mit dem Überstand verworfen werden. Dafür gibt es prinzipiell zwei denkbare Erklärungen:

- Die Silber-Ionen werden zwar vollständig zu Silberpartikeln reduziert, diese

sind jedoch in überwiegender Mehrheit so klein, dass die Zentrifugalkräfte der Ultrazentrifuge nicht ausreichen, um eine Sedimentation zu erreichen.

- Aufgrund einer kinetischen Hemmung oder eines störenden Einflusses, z.B. durch das Polymer PVP, verläuft die Reduktion unvollständig und ein wesentlicher Teil des Silbers bleibt in Form von Ag^+ -Ionen in Lösung zurück.

Es wurden verschiedene Folgeexperimente durchgeführt, um die genaue Ursache für die geringe Ausbeute aufzuklären. Abbildung 5.11 zeigt eine TEM-Aufnahme von Silber-Nanopartikeln aus der Glucose-Reaktion nach vollständiger Aufarbeitung.

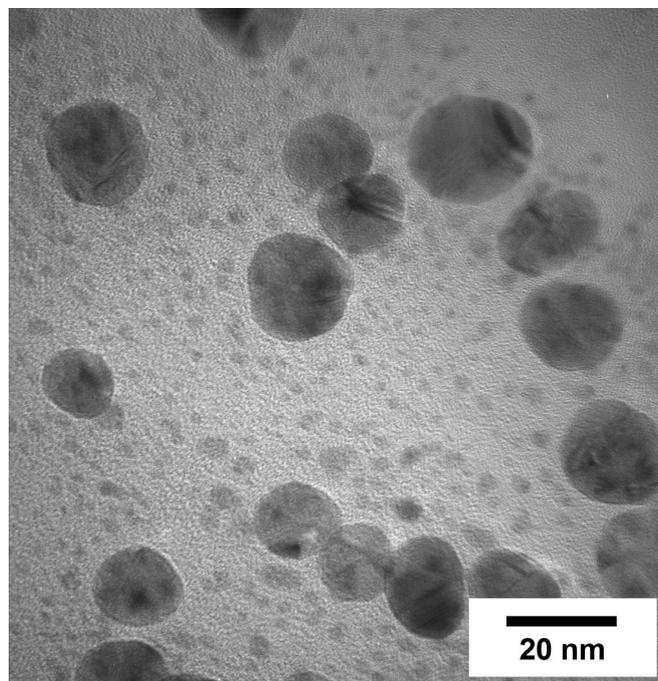


Abbildung 5.11.: TEM-Aufnahme von Ag-Nanopartikeln aus der Glucose-Synthese.

Neben einigen größeren Partikeln mit Durchmessern von ca. 20 nm sind im Hintergrund deutlich eine Vielzahl von kugelförmigen Bildpunkten in der Größenordnung von < 5 nm zu erkennen. Dies spricht zunächst für die Hypothese der Bildung sehr kleiner Partikel, die durch Ultrazentrifugation nicht vollständig abgetrennt werden können. Bei der Interpretation dieser Daten muss jedoch berücksichtigt werden, dass der Bildausschnitt sehr stark vergrößert ist und selektiv ausgewählt wurde, um das beschriebene Phänomen zu veranschaulichen. Tatsächlich liefert er keinen repräsentativen Eindruck über die Gesamtprobe. Die Beobachtung

5. Ergebnisse und Diskussion

von kleinen, kontrastreichen Punkten mit Durchmessern < 5 nm wird bei der TEM-Analyse von Silber-Nanopartikeln häufig beobachtet und ist bisher nicht vollständig erklärbar. Es ist durchaus möglich, dass es sich hier um ein Messartefakt handelt oder dass die Partikel während der Lagerung auf dem Objektträger gealtert sind. Diese These wird dadurch gestützt, dass in den in Kapitel 5.1 vorgestellten HRTEM-Aufnahmen, die unmittelbar nach Eintrocknen der Probe gemessen wurden, kein vergleichbares Phänomen auftritt. Weiterhin ist zu beachten, dass die TEM-Aufnahme in Abbildung 5.11 nach vollständiger Aufarbeitung durch Ultrazentrifugation angefertigt worden ist. Eine direkte Analyse des Zentrifugationsüberstandes bzw. der Reaktionslösung ist aufgrund störender organischer Bestandteile und Nebenprodukte leider nicht möglich.

Die Sedimentationsgeschwindigkeit von Nanopartikeln in der Ultrazentrifuge kann nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$t = \frac{k_{adj}}{s} = k \left(\frac{70000}{v} \right)^2 \left(d \left(\frac{\rho_P - \rho_M}{\eta} \right) \right)^{-1} \quad (\text{Gleichung 13})$$

t = Sedimentationsgeschwindigkeit

k = k-Faktor für maximale Rotorgeschwindigkeit

k_{adj} = k-Faktor für Rotorgeschwindigkeit v

s = Svedberg-Faktor

v = Rotorgeschwindigkeit

d = Partikeldurchmesser

ρ_P = Dichte des Partikels

ρ_M = Dichte des Mediums

η = Viskosität des Mediums

Nach Gleichung 13 ergibt sich für Silber-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 5 nm bei einer Rotorgeschwindigkeit von $20.000 \text{ U min}^{-1}$ eine Sedimentationszeit von ca. 4 Stunden. Sollte es sich also tatsächlich um kleine Silber-Nanopartikel handeln, so dürften diese bei den gewählten Zentrifugeneinstellungen theoretisch nicht sedimentiert sein, ihr Auftreten wäre dann durch Verschleppen von Partikeln aus der Stammlösung beim Redispergieren des Zentrifugats zu erklären.

Zur Abklärung wurden Silber-Nanopartikel mittels Glucose-Reaktion hergestellt. Zunächst wurden die großen Partikel ($> 20 \text{ nm}$) bei $20.000 \text{ U min}^{-1}$ von der Reaktionslösung abgetrennt. Anschließend wurde das Zentrifugat gesammelt und erneut bei einer Rotorgeschwindigkeit von $40.000 \text{ U min}^{-1}$ zentrifugiert. Die Sedimentationszeit für Silberpartikel mit einem Durchmesser von 5 nm beträgt bei diesen Einstellungen nach Gleichung 13 ca. 60 min . Im Experiment hat sich nach dieser Zeit kein weiteres Zentrifugat abgesetzt, der Überstand ist klar und farblos. Es wurde ein UV/Vis-Spektrum vom Überstand angefertigt und mit je einem Referenzspektrum von Silbernitrat und Polyvinylpyrrolidon in Reinstwasser verglichen (vgl. Abbildung 5.12).

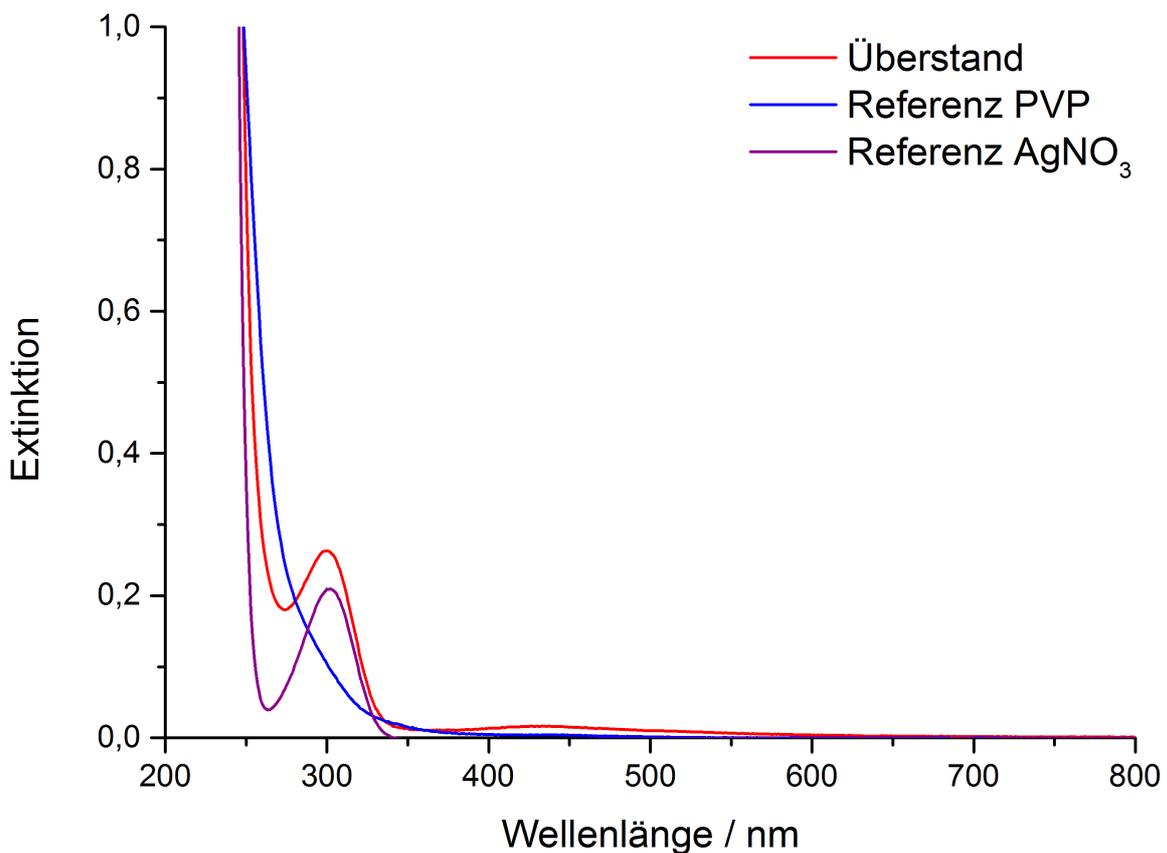


Abbildung 5.12.: UV/Vis-Spektrum des klaren, farblosen Überstandes der Glucose-Synthese nach Ultrazentrifugation bei $40.000 \text{ U min}^{-1}$ im Vergleich mit einem AgNO_3 und einem Polyvinylpyrrolidon-Referenzspektrum.

Das Spektrum des Überstands gleicht dem AgNO_3 -Referenzspektrum, das Signal bei 300 nm ist typisch für solvatisierte Ag^+ -Ionen.^[162] Die charakteristische Absorptionsbande für sphärische Silber-Nanopartikel bei $400\text{-}500 \text{ nm}$ wird nicht beobachtet.

5. Ergebnisse und Diskussion

Zudem führt die Zugabe einiger Tropfen frisch hergestellter, wässriger Natriumborhydrid-Lösung zum Überstand zur sofortigen Bildung eines schwarzen, klumpigen Niederschlags unter Wasserstoffentwicklung. Da Natriumborhydrid ein starkes Reduktionsmittel ist, spricht dies in Verbindung mit den Erkenntnissen aus der Ultrazentrifugation sowie der UV/Vis-Spektroskopie insgesamt eher dafür, dass die Reduktion mit Glucose unvollständig verlaufen ist und ein Großteil des Silbers in Form von Ag^+ -Ionen in der Reaktionslösung verbleibt.

Die genauen Ursachen dafür wurden nicht weiter untersucht. In Kapitel 5.1.3 wird diskutiert, welchen Einfluss das Polymer PVP auf die Reduktion von Silbernitrat bei der Glucose-Synthese hat. Dabei zeigt sich, dass PVP wahrscheinlich das eigentliche Reduktionsmittel ist und die Anwesenheit von Glucose keine, bzw. nur eine untergeordnete Rolle spielt. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse darf der Einfluss von Glucose auf die Ausbeute der Reaktion nicht überbewertet werden.

Insgesamt bleibt festzuhalten, dass die Glucose-Synthese mit einer Ausbeute von lediglich ca. 1 % bezogen auf die eingesetzte Menge Silber nicht effizient bzw. wirtschaftlich ist. Dennoch können auf diese Weise sphärische Silber-Nanopartikel in hoher Qualität und Reinheit hergestellt werden, die umfangreich charakterisiert sind und sich im Labormaßstab hervorragend für weitere Untersuchungen, z.B. im biologischen Kontext, eignen.

5.1.2 Einfluss verschiedener Lösemittel und Additive

Im Rahmen der Vertiefungsarbeit von Herrn Stephan Luther wurde untersucht, wie sich eine Veränderung des Lösemittels und die Zugabe verschiedener Additive bei der Glucose-Synthese auf die Größe und Morphologie der Silber-Nanopartikel auswirkt. Dabei wurden an Stelle von Wasser solche Lösemittel getestet, die bei erhöhter Temperatur selbst eine reduzierende Wirkung haben. Xia *et al.* konnten zeigen, dass der Zusatz von Spurenmengen Na_2S bzw. NaHS bei der Polyolsynthese zur Bildung von Ag_2S -Kristallisationskeimen führt, die die Reduktion von Ag^+ katalysieren und zur Entstehung würfelförmiger Nanopartikel beitragen.^[50,127] Auch die Rolle von HCl wird diskutiert, wobei angenommen wird, dass sich in Anwesenheit von AgNO_3 *in situ* HNO_3 bildet, wodurch es zum selektiven Ätzen kommen kann.^[126]

Über den Einfluss leicht löslicher Silbersalze wie z.B. AgBF_4 auf die Partikeleigenschaften ist bislang hingegen wenig bekannt.^[198,199] In Anlehnung an diese Arbeiten wurden als Additive bei der Glucose-Synthese Salze und Säuren gewählt, deren Anionen mit Silber entweder schwer lösliche (z.B. AgCl , Ag_2S) oder leicht lösliche (z.B. AgBF_4) Verbindungen bilden.^[3] Die Additive wurden mit Ausnahme von NaBF_4 jeweils vor der Zugabe von AgNO_3 , aber nach vollständiger Lösung von Glucose und PVP bei 90 °C in geeigneter Verdünnung zur Reaktion hinzugefügt. Tabelle 5.4 gibt einen Überblick über alle untersuchten Kombinationen verschiedener Lösemittel und Additive. Die eingesetzte AgNO_3 -Stoffmenge betrug jeweils 2,94 mmol.

Lösemittel	Additiv	Kommentar
Wasser	-	Standard-Synthese als Referenz
Ethylenglycol	-	weniger Dreiecke und Stäbchen
Ethanol	-	keine ausreichende Löslichkeit der Edukte
Wasser	10 μmol HCl	Entstehung würfelförmiger AgCl-Partikel
Wasser	30 μmol HCl	Entstehung würfelförmiger AgCl-Partikel
Wasser	0,55 μmol CTAB	grobkörniger, schwarzer Niederschlag
Wasser	1,4 μmol NaOH	verzerrte, kugelförmige Partikel
Wasser	2 μmol Na_2S	monodisperse Ag-Nanopartikel < 20 nm
Wasser	2,94 mmol NaBF_4	kein signifikanter Einfluss
Ethylenglycol	2 μmol HCl	sphärische Partikel
Ethylenglycol	10 μmol HCl	Entstehung würfelförmiger AgCl-Partikel

Tabelle 5.4.: Überblick über alle untersuchten Kombinationen von Lösemitteln und Additiven und deren Einfluss auf die Glucose-Synthese von Silber-Nanopartikeln.

Ethanol siedet bereits bei 78 °C, weshalb die Reaktionstemperatur auf 70 °C gesenkt werden musste. Bei diesen Bedingungen lösen sich die Edukte jedoch nicht vollständig, der Ansatz wurde verworfen. Verwendet man anstelle von Wasser als Lösemittel Ethylenglycol, so kann beobachtet werden, dass die Ausbeute an Kugeln steigt, während die typischerweise als Nebenprodukte gebildeten, dreieckigen und stäbchenförmigen Partikel weniger häufig vorkommen (vgl. Abbildung 5.13A). Der Zusatz des Tensids Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) führt nach wenigen

5. Ergebnisse und Diskussion

Minuten zur Bildung eines grobkörnigen, schwarzen Niederschlags (vermutlich agglomeriertes Silber oder Silberbromid) bei gleichzeitiger Entfärbung der Lösung, der Ansatz wurde verworfen. Wird die Reaktion durch Zugabe von verdünnter NaOH-Lösung im schwach alkalischen Bereich durchgeführt, so ist eine leichte Verbesserung der Ausbeuten zu beobachten, allerdings nimmt die Qualität der Partikel ab und es kommt zu anisotropen, unregelmäßigen Verzerrungen (vgl. Abbildung 5.13B). Natriumtetrafluoroborat hat selbst in einer zu Silbernitrat äquimolaren Konzentration keinen signifikanten Einfluss auf die Größe und Morphologie der Nanopartikel.

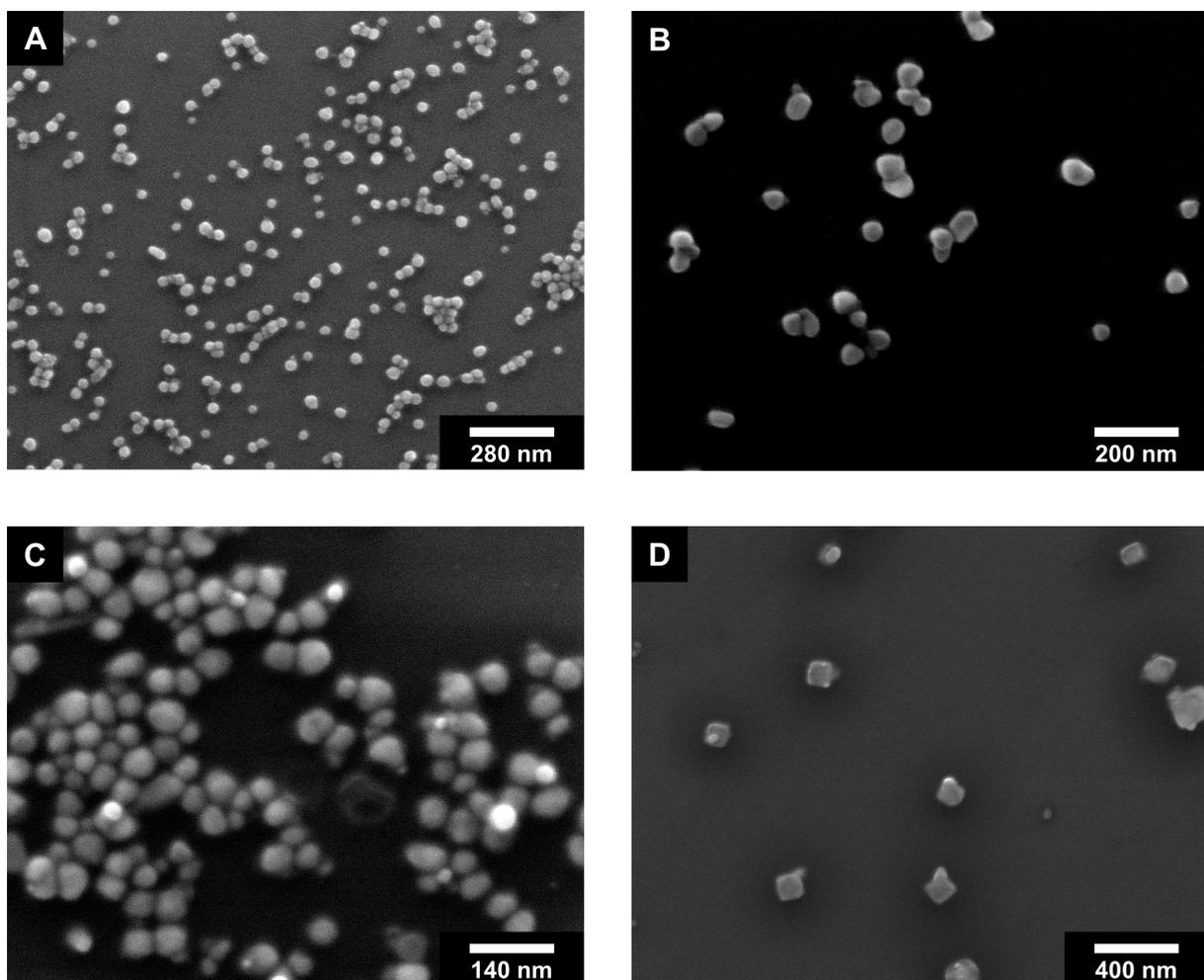


Abbildung 5.13.: REM-Aufnahmen von Silber-Nanopartikeln aus der Glucose-Synthese (A) im Lösemittel Ethylenglycol, (B) nach Zusatz von 1,4 μmol NaOH, (C) nach Zusatz von 2,94 mmol NaBF_4 und (D) nach Zusatz von 10 μmol HCl in Wasser.

Sowohl in Reinstwasser als auch in Ethylenglycol entstehen in Anwesenheit geringer Mengen HCl würfelförmige Strukturen, die an der Oberfläche oft mit kugelförmigen

Partikeln besetzt sind (vgl. Abbildung 5.13D). Im Rasterelektronenmikroskop kommt es unter Einwirkung des Elektronenstrahls zur Zersetzung dieser Aggregate. Die Zusammensetzung wurde mittels Röntgenpulverdiffraktometrie untersucht.

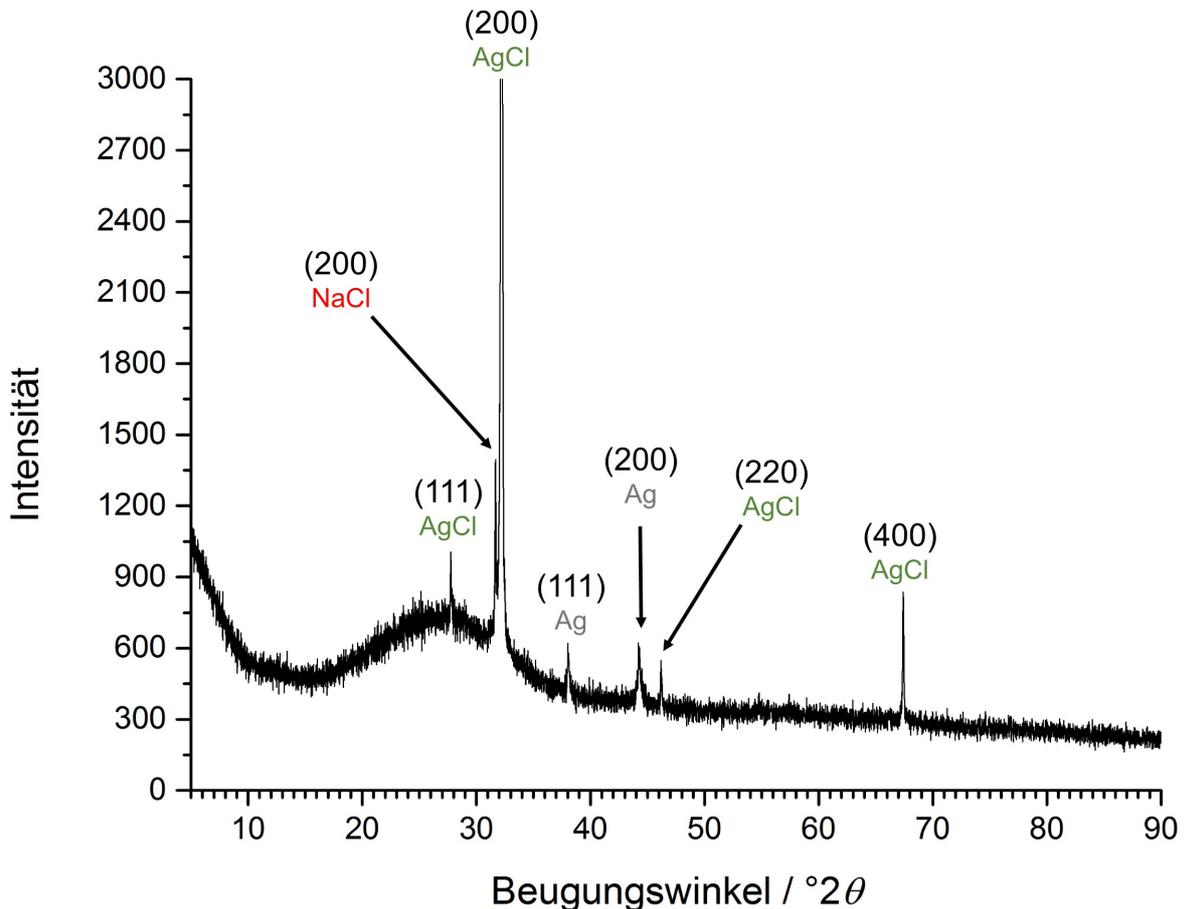


Abbildung 5.14.: Pulverdiffraktogramm der würfelförmigen Nanopartikel, die nach Zugabe von $10 \mu\text{mol}$ HCl zur Glucose-Synthese in Reinstwasser erhalten wurden. Da der (200)-Reflex von AgCl eine starke Textur aufweist, wurde das Diffraktogramm im Bereich geringer Intensitäten vergrößert abgebildet, sodass alle Reflexe deutlich zu erkennen sind.

Die experimentell ermittelten Reflexe wurden indiziert und mit den ICDD-PDF4 Einträgen für Silber (#04-0783), Silberchlorid (#031-1238) und Natriumchlorid (#05-0628) verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.5 dargestellt. Neben Silber ist auch ein signifikanter Anteil an Silberchlorid entstanden. Weiterhin tritt bei $31,68^\circ 2\theta$ ein Reflex auf, der durch einen Datenbankabgleich am ehesten den kristallographischen {200}-Flächen von Natriumchlorid zugeordnet werden kann. Dies weist auf eine geringfügige Kontamination mit Natrium hin. Aufgrund der geringen Partikel-

5. Ergebnisse und Diskussion

durchmesser sind die Signale verbreitert. Der Reflex bei $32,20^\circ 2\theta$ entspricht den kristallographischen {200}-Flächen von Silberchlorid und ist stark texturiert. Diese Vorzugsorientierung kann dadurch erklärt werden, dass die Würfel mit sechs symmetrieäquivalenten {200}-Flächen terminiert sind, auf denen sie auf dem Probenträger zum Liegen kommen. Es entsteht eine zweidimensionale Anordnung, die einem Nanofilm ähnelt. Die Netzebenen sind nicht mehr statistisch verteilt, sondern gerichtet orientiert.

Reflex gemessen $^\circ 2\theta$	Reflex Literatur $^\circ 2\theta$	Phase nach PDF4	Kristallfläche Millersche Indizes
27,76	27,831	AgCl	(111)
31,68	31,693	NaCl	(200)
32,20	32,244	AgCl	(200)
38,05	38,117	Ag	(111)
44,26	44,279	Ag	(200)
46,19	46,234	AgCl	(220)
67,41	67,473	AgCl	(400)

Tabelle 5.5.: Vergleich der experimentell ermittelten Reflexe aus dem Pulverdiffraktogramm in Abbildung 5.14 mit den ICDD-PDF4 Einträgen für Silber, AgCl und NaCl sowie Zuordnung der kristallographischen Flächen.

Da die Reflexlage der orientierten {200}-Flächen eindeutig der Phase Silberchlorid zugeordnet werden kann, kann man daraus schließen, dass es sich bei den würfelförmigen Partikeln in Abbildung 5.13D um AgCl-Nanopartikel handelt, deren Oberflächen vermutlich mit kugelförmigen Silberpartikeln bedeckt sind.

Mit keinem der getesteten Lösemittel oder Additive konnten wohldefinierte Silber-Nanopartikel mit einer von der Kugelform abweichenden Morphologie hergestellt werden. Interessant ist allerdings, dass die Zugabe geringer Mengen Natriumsulfid zu einer deutlichen Verringerung der Partikelgröße führt und gleichzeitig die Bildung dreieckiger bzw. stäbchenförmiger Nebenprodukte vollständig verhindert wird. Es entstehen monodisperse Silberpartikel mit einer Größe von ca. 15-20 nm (vgl. Abbildung 5.15A). Im Transmissionselektronenmikroskop ist zu erkennen, dass

die Partikel eine nahezu perfekte Kugelsymmetrie aufweisen und entweder einkristallin oder verzwillingt vorliegen können (vgl. Abbildung 5.15B).

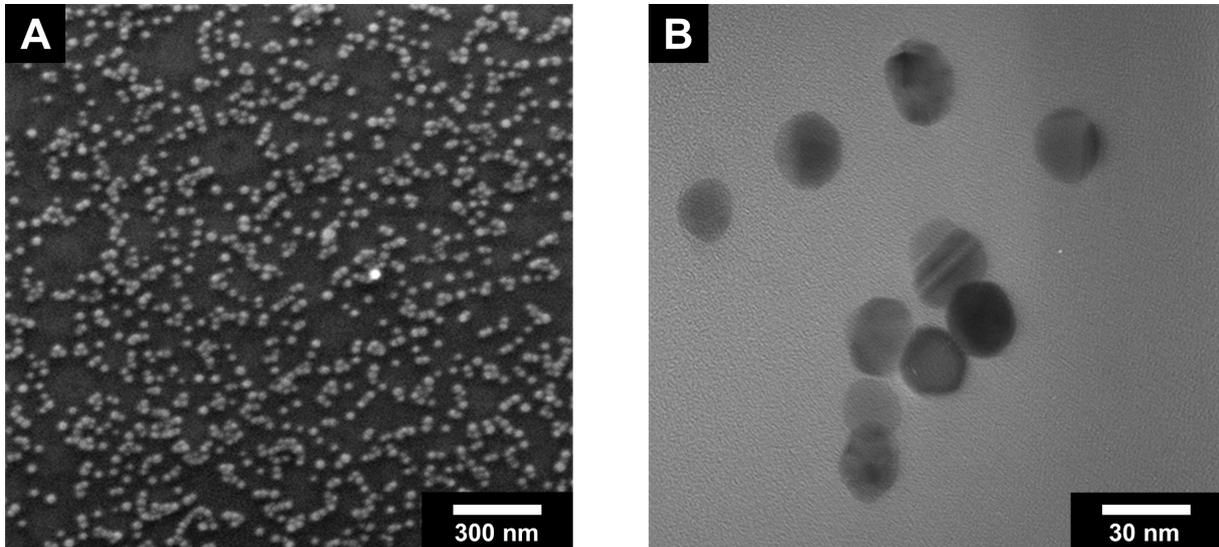


Abbildung 5.15.: (A) REM und (B) TEM-Aufnahme der Partikel aus der Glucose-Synthese nach Zusatz von Na_2S . Der Durchmesser beträgt ca. 15-20 nm.

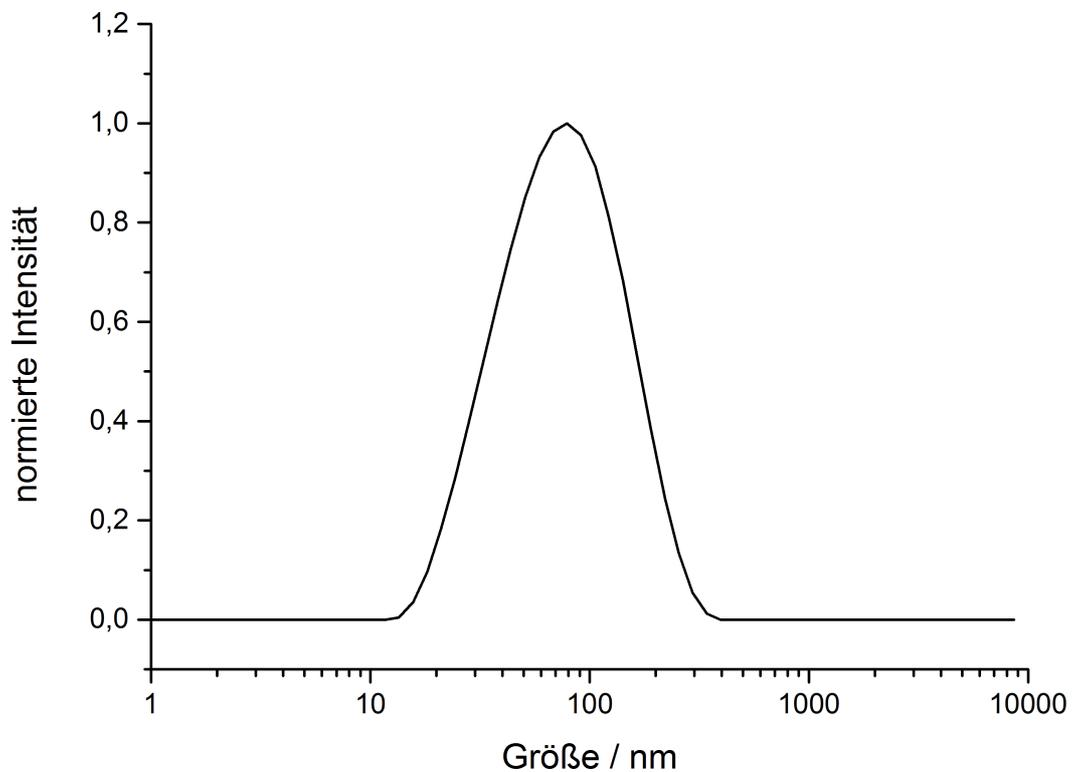


Abbildung 5.16.: Größenverteilung der durch Glucose-Synthese und Zusatz von Na_2S hergestellten Silber-Nanopartikel, bestimmt mittels DLS.

5. Ergebnisse und Diskussion

Der hydrodynamische Durchmesser wurde mittels DLS bestimmt (vgl. Abbildung 5.16) und ist mit ca. 60 nm erwartungsgemäß erheblich größer als der des metallischen Kerns. Der PDI beträgt 0,28 und das ζ -Potential -12,1 mV, die Partikel sind also monodispers und schwach elektrostatisch stabilisiert. Zur Abklärung der Phasenreinheit wurde ein Pulverdiffraktogramm erstellt (Daten nicht gezeigt). Alle gemessenen Reflexe können den ICDD-PDF4-Datenbankwerten für kubisch flächenzentriertes Silber zugeordnet werden, eine Verunreinigung mit Ag_2S oder eine Vorzugsorientierung wird nicht beobachtet.

5.1.3 Einfluss des Polymers Polyvinylpyrrolidon

Bereits während der herkömmlichen Glucose-Synthese fiel auf, dass unter ansonsten identischen Reaktionsbedingungen nicht nur die Kettenlänge, sondern auch die Charge des verwendeten Polymers PVP einen deutlichen Einfluss auf die Farbe der entstehenden Kolloide hat (vgl. Abbildung 5.17).

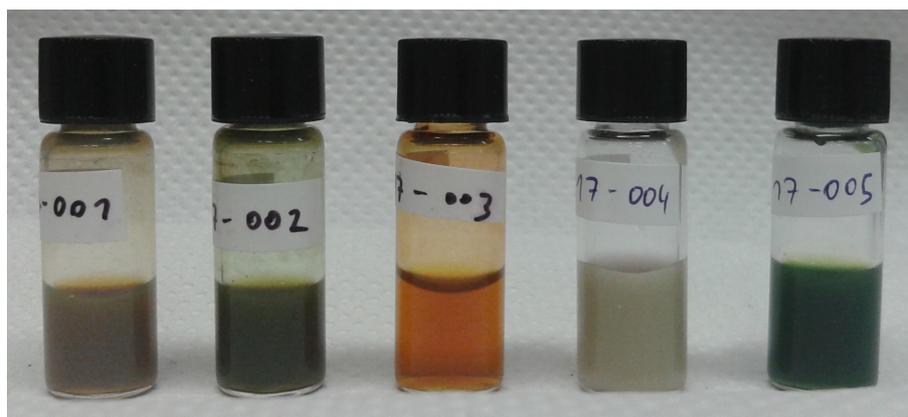


Abbildung 5.17.: Farbe verschiedener Kolloide aus der Glucose-Synthese ($c_{Ag} = 0,3 \text{ mg mL}^{-1}$), wenn PVP aus unterschiedlichen Chargen bzw. mit unterschiedlichen Kettenlängen verwendet wird.

Da die Farbe eines Kolloids durch die lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz der enthaltenen Nanopartikel erklärt werden kann, und diese mit der Größe und Form der Partikel im Zusammenhang steht (vgl. Kapitel 2.1.2), wurde angenommen, dass PVP bei der Glucose-Synthese nicht nur als stabilisierendes Polymer wirkt, sondern auch einen direkten Einfluss auf das Wachstum der Partikel hat.

PVP M_w	PVP Charge	Morphologie REM	Durchmesser REM	Durchmesser DLS
40k g mol ⁻¹	#BCBJ1123V	Kugeln/Dreiecke	50-70 nm	76 nm
40k g mol ⁻¹	#098K0011	Kugeln/Dreiecke	50-70 nm	69 nm
40k g mol ⁻¹	#BCBB7859	Kugeln/Dreiecke	30-50 nm	72 nm
29k g mol ⁻¹	#STBC3488V	inhomogen	80-120 nm	118 nm
55k g mol ⁻¹	#MKBK0843V	Kugeln/Dreiecke	30-50 nm	57 nm

Tabelle 5.6.: Größe und Morphologie der in Abbildung 5.17 gezeigten Kolloide, bestimmt mittels REM und DLS.

5. Ergebnisse und Diskussion

Zur Abklärung dieser Vermutung wurden die in Abbildung 5.17 gezeigten Kolloide mittels Rasterelektronenmikroskopie und dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Die Ergebnisse werden in Tabelle 5.6 verglichen.

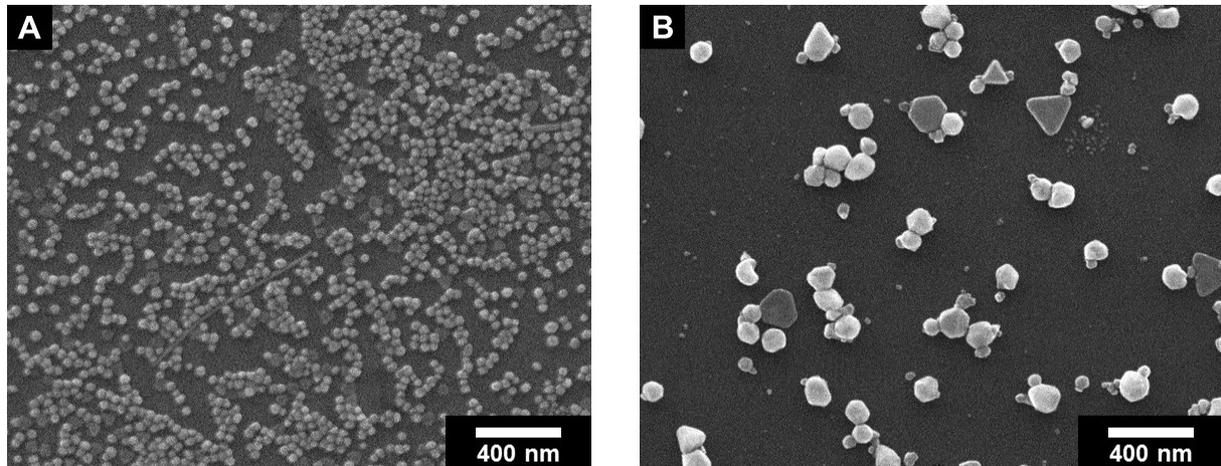


Abbildung 5.18.: REM-Aufnahmen von Silber-Nanopartikeln aus der Glucose-Synthese mit (A) PVP $M_w = 55.000 \text{ g mol}^{-1}$ und (B) PVP $M_w = 29.000 \text{ g mol}^{-1}$.

In Abbildung 5.18 sind typische REM-Aufnahmen der Partikel aus der Glucose-Synthese mit veränderten Polyvinylpyrrolidon-Kettenlängen dargestellt. Experimentell hat sich zudem gezeigt, dass kurzkettige Polymere bei der Aufreinigung leichter entfernt werden können als langkettige, weshalb die Partikel in Abbildung 5.18A einen höheren Polymeranteil auf der Metalloberfläche aufweisen und daher im REM verschwommener erscheinen als die Partikel in Abbildung 5.18B. Insgesamt ergeben sich aus diesen Daten folgende Erkenntnisse:

- Die Kettenlänge des Polyvinylpyrrolidons hat einen deutlichen Einfluss auf die Größe und Morphologie der Partikel. Bei kurzen Kettenlängen entstehen eher größere, polydisperse Partikel mit inhomogenen Formen, während bei langen Polymerketten bevorzugt monodisperse Kugeln gebildet werden.
- Auch bei gleichbleibender Kettenlänge kann es bei unterschiedlichen Chargen desselben Herstellers zu deutlichen Abweichungen in der Größe der Partikel kommen, woraus u.a. völlig veränderte Farben der Kolloide resultieren.
- Der beste Kompromiss aus experimenteller Handhabung, einheitlich kugelförmiger Morphologie und monodisperser Größenverteilung wird mit PVP $M_w = 40.000 \text{ g mol}^{-1}$ (Chargen #BCBJ1123V und #098K0011) erzielt.

In einem Kontrollexperiment wurde die „Glucose-Reaktion“ ohne das Reduktionsmittel Glucose durchgeführt, es wurde also lediglich Polyvinylpyrrolidon in Reinstwasser gelöst und zusammen mit Silbernitrat erhitzt. Auch in diesem System kommt es unmittelbar nach dem Zutropfen der Silbernitrat-Lösung zu einer Gelbfärbung, die sich analog zur herkömmlichen Glucose-Synthese im weiteren Reaktionsverlauf intensiviert und schließlich ins bräunlich-graue verdunkelt. Nach 60 min bei 90 °C konnte eine kolloidale Suspension isoliert werden, die nach vollständiger Aufarbeitung durch Waschen mit Reinstwasser und Ultrazentrifugation mit verschiedenen Methoden charakterisiert wurde.

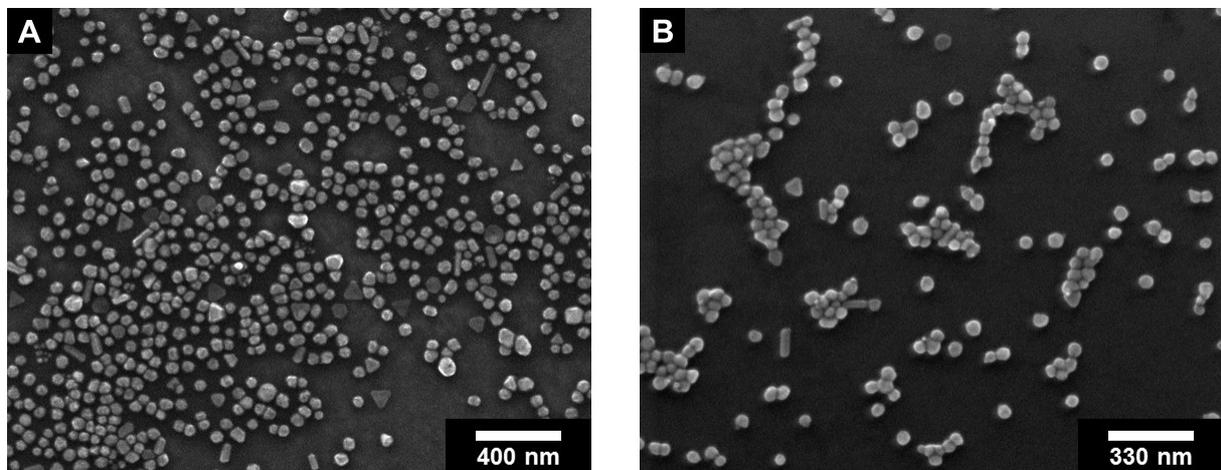


Abbildung 5.19.: REM-Aufnahmen von Partikeln (A) aus der herkömmlichen Glucose-Synthese mit PVP $M_w = 40.000 \text{ g mol}^{-1}$ und (B) aus dem Kontrollexperiment ohne Glucose

Im Rasterelektronenmikroskop ist zu erkennen, dass Silber-Nanopartikel entstanden sind, die sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Form den Partikeln gleichen, die bei der Standard-Synthese in Anwesenheit von Glucose entstehen (vgl. Abbildung 5.19). Die Gesamtmasse an kolloidalem Silber nach der Aufarbeitung wurde mittels Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt und beträgt 2,92 mg Ag, entsprechend einer Ausbeute von 0,92 %, bezogen auf die eingewogene Menge Silber. Dieser Wert liegt in der gleichen Größenordnung wie die Ausbeute von 1,3 % in Anwesenheit von Glucose (vgl. Kapitel 5.1.1). Auch die Werte für die durchschnittlichen hydrodynamischen Radien in der DLS (108 nm mit Glucose bzw. 78 nm ohne Glucose), den PDI (0,21 bzw. 0,27) sowie die Absorptionsmaxima im UV/Vis-Spektrum (425 nm bzw. 420 nm) sind vergleichbar (vgl. Abbildung 5.20).

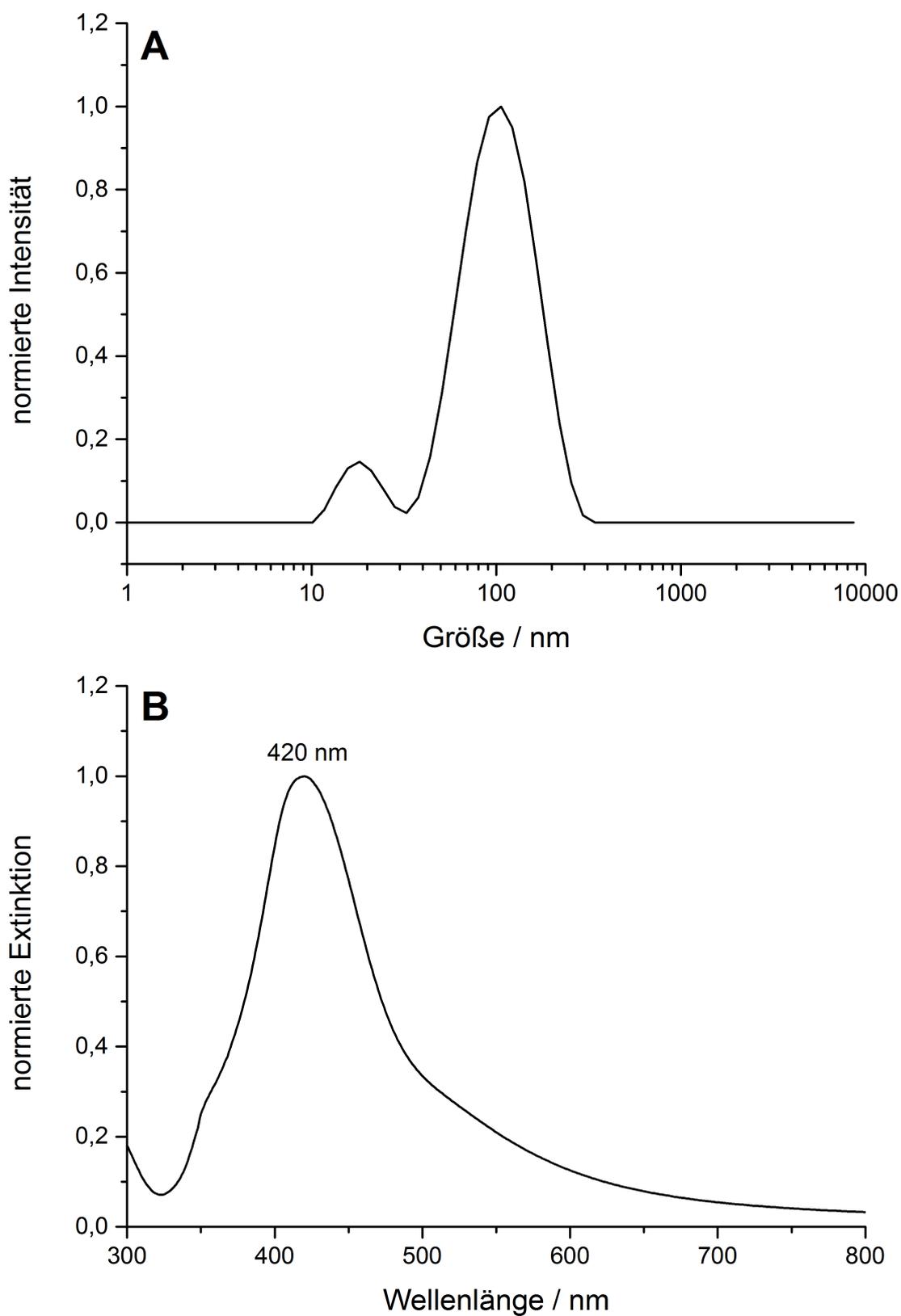


Abbildung 5.20.: Nanopartikel aus der Reaktion von Silbernitrat mit PVP ohne Glucose (A) Größenverteilung in Reinstwasser (DLS), (B) UV/Vis-Spektrum.

Allerdings wird in der dynamischen Lichtstreuung eine bimodale Partikelgrößenverteilung mit einem primären Maximum bei 111 nm und einem Artefakt bei 19 nm beobachtet, während bei der Standard-Synthese mit Glucose eine monomodale Verteilung auftritt. Ein Grund dafür ist nicht feststellbar, im REM können keine kleinen Partikel mit Durchmessern < 20 nm nachgewiesen werden.

Zusammengefasst kann festgestellt werden, dass die Reduktion von Silbernitrat in wässrigem Medium bei $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ auch ohne Glucose mit gleichbleibender Qualität, Form, Größe und Ausbeute der Partikel gelingt. Eine Blindprobe, in der auch PVP entfernt und lediglich Silbernitrat in Wasser erhitzt wurde, blieb negativ. Das eigentliche Reduktionsmittel ist also das Polymer PVP, wodurch sich auch die in Kapitel 5.1.1 diskutierten schlechten Ausbeuten der Synthese besser erklären lassen. Unklar bleibt allerdings, warum Glucose bei den gegebenen Reaktionsbedingungen nicht als Reduktionsmittel fungiert und keinen bemerkbaren Einfluss auf die Synthese hat. Eine mögliche Erklärung wäre z.B., dass der Ligand PVP in einem so frühen Stadium der Kristallisation mit den Keimen wechselwirkt und diese derart abschirmt, dass eine Reaktion mit Glucose vollständig kinetisch gehemmt ist.

Die reduktive Wirkung von Polyvinylpyrrolidon wird in der Literatur kritisch diskutiert, wobei der genau Mechanismus der Reduktion von Ag^+ zu Silber-Nanopartikeln noch nicht vollständig aufgeklärt werden konnte. Bereits 2005 konnten Qiao *et al.* mittels UV/Vis-Spektroskopie beweisen, dass eine wässrige Lösung von Silbernitrat mit Glucose bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ selbst über einen Zeitraum von 50 h nicht reagiert. Unmittelbar nach Zugabe von PVP wird jedoch ein Farbumschlag beobachtet, im Absorptionsspektrum schrumpft die Intensität des Ag^+ -Signals bei ca. 300 nm und es entsteht eine neue Bande mit einem Maximum bei 420 nm, was für die Bildung von Silber-Nanopartikeln spricht. Als Ursache wird vorgeschlagen, dass sich intermediär ein H(PVP)^+ -Komplex bildet, welcher die Reduktion von AgNO_3 durch Glucose beschleunigt. Dass Glucose gar nicht an der Reaktion beteiligt sein könnte, wurde allerdings nicht in Betracht gezogen.^[162] Als mildes Reduktionsmittel zur Synthese metallischer Nanopartikel in wässrigem Medium wurde Polyvinylpyrrolidon erstmals gezielt von Xia *et al.* eingesetzt. Es konnte gezeigt werden, dass die Reaktion aufgrund des niedrigen Reduktionspotentials von PVP kinetisch kontrolliert werden kann, wodurch

5. Ergebnisse und Diskussion

thermodynamisch ungünstige Morphologien wie z.B. Nanoplättchen selektiv in hoher Ausbeute dargestellt werden können.^[148,160] Großtechnisch wird PVP durch radikalische Polymerisation in Anwesenheit von Wasserstoffperoxid hergestellt, es ist deshalb durch Hydroxylgruppen terminiert.^[200] Xia nimmt an, dass diese unter geeigneten Bedingungen oxidiert werden können.^[158,171] Dagegen spricht, dass selbst bei hohen Polymerkonzentrationen nicht genug Elektronen zur Verfügung stehen würden, um signifikante Mengen von Silber-Ionen zu Nanopartikeln zu reduzieren. Hoppe *et al.* schlagen daher einen Mechanismus vor, in dem verschlepptes Wasserstoffperoxid aus der Synthese im Zusammenspiel mit PVP intermediär hochreaktive Radikale formt, von denen letztendlich die reduktive Wirkung ausgeht.^[201] Neuere, durch Infrarot- (IR) und Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) gestützte Studien lassen indes vermuten, dass PVP über das Sauerstoffatom der Carbonylfunktion stark an Ag^+ -Ionen koordiniert und diese in unmittelbarer Nähe zum Stickstoffatom fixiert, von dem gleichzeitig, bedingt durch diese Wechselwirkung, Elektronendichte aus der p - π -Konjugation abgezogen wird. Dadurch können letztendlich unter Ringöffnung Elektronen vom Stickstoffatom des Polyvinylpyrrolidons auf Ag^+ übertragen werden und dieses reduzieren.^[194]

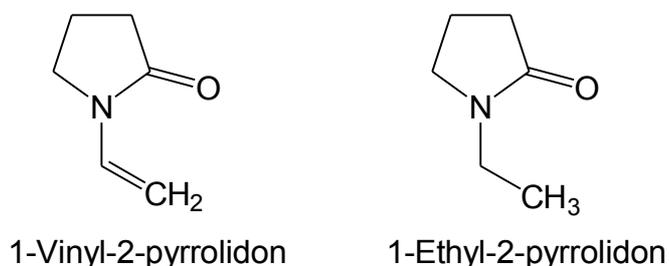


Abbildung 5.21.: Lewis-Strukturformeln von 1-Vinyl-2-pyrrolidon und 1-Ethyl-2-pyrrolidon.

Im Kontext der Examensarbeit von Herrn Stephan Luther wurde der Mechanismus der Reduktion mit PVP weiter untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Kettenlänge des Polymers keinen signifikanten Einfluss auf die Silber-Ausbeute hat, was gegen die Hypothese der Oxidation von Hydroxyl-Endgruppen spricht. Das Monomer von PVP, 1-Vinyl-2-pyrrolidon (vgl. Abbildung 5.21) war dazu in der Lage, Ag^+ -Ionen zu reduzieren, während 1-Ethyl-2-pyrrolidon nicht mit Silbernitrat reagiert. Eine Beteiligung der C=C-Doppelbindung an der Reduktion, z.B. durch nicht umgesetzte Monomereinheiten im PVP, kann nicht ausgeschlossen werden.^[202]

5.2 Mikrowellen-Synthese von Silber-Nanopartikeln

5.2.1 Grundlagen der Mikrowellen-Synthese

Mikrowellen sind elektromagnetische Wellen mit einer Frequenz von ca. 300 MHz bis 300 GHz, entsprechend einer Wellenlänge von 1 mm bis 1 m.^[203] Technisch werden sie üblicherweise in einem sog. Magnetron erzeugt. Dabei handelt es sich um eine Glühkathode, welche zentral in einer als Anode dienender, zylinderförmigen Vakuumkammer eingebracht ist. Beim Anlegen einer Spannung werden Elektronen emittiert, die das Magnetfeld axial durchlaufen. Es entsteht eine rotierende Elektronenwolke. Diese bewegt sich über lamellenförmige Flügel, die an der Innenseite der Anode angebracht sind, wodurch ein hochfrequentes Feld erzeugt wird. Mit Hilfe einer Antenne werden alle Wellen einer gewünschten Frequenz ausgeleitet, während die übrigen Wellen innerhalb des Magnetrons verbleiben und dort z.B. in Wärme umgewandelt werden.^[204]

Mikrowellen befinden sich im elektromagnetischen Spektrum zwischen Radiowellen und dem fernen Infrarot. Im Gegensatz zu hochfrequenter Strahlung wie z.B. Röntgenstrahlung ist ihre Energie nicht ausreichend, um chemische Bindungen zu brechen oder Elektronen aus der Atomhülle herauszuschlagen.^[205] Sie ist jedoch dazu geeignet, Moleküle zur Rotation anzuregen und dadurch Wärme zu erzeugen. Aufgrund dieser Eigenschaft werden Mikrowellengeräte in großen Mengen kommerziell sowohl für die Industrie als auch für den Hausgebrauch hergestellt und zum schnellen und gleichmäßigen Erwärmen von Speisen und Getränken eingesetzt.^[206]

Auch in der synthetischen und analytischen Chemie werden Mikrowellengeräte als Alternative zum konventionellen Erhitzen verwendet.^[207,208] Während erste Arbeiten hauptsächlich aus dem Bereich der organischen Chemie stammen,^[209,210] existiert mittlerweile auch eine Vielzahl von Veröffentlichungen über die mikrowellen-basierte Synthese anorganischer Funktionsmaterialien.^[211,212]

Klassische Methoden wie beispielsweise die Verwendung von Wasser- oder Ölbädern als wärmeübertragenden Medien haben zahlreiche Nachteile: Sie sind relativ langsam, energetisch ineffizient und abhängig von einer Vielzahl schwer beeinflussbarer Parameter, wie z.B. der Wärmeleitfähigkeit der Reaktionslösung und

5. Ergebnisse und Diskussion

der Konvektionsströme im Heiz- und Reaktionsmedium. Weiterhin findet die Wärmeübertragung beim konventionellen Heizen meist von einer äußeren Heizquelle hin zu einem darin eingebrachten Reaktionsgefäß statt, wodurch systembedingt ein ggf. unerwünschter Temperaturgradient entsteht (vgl. Abbildung 5.22).^[206,212]

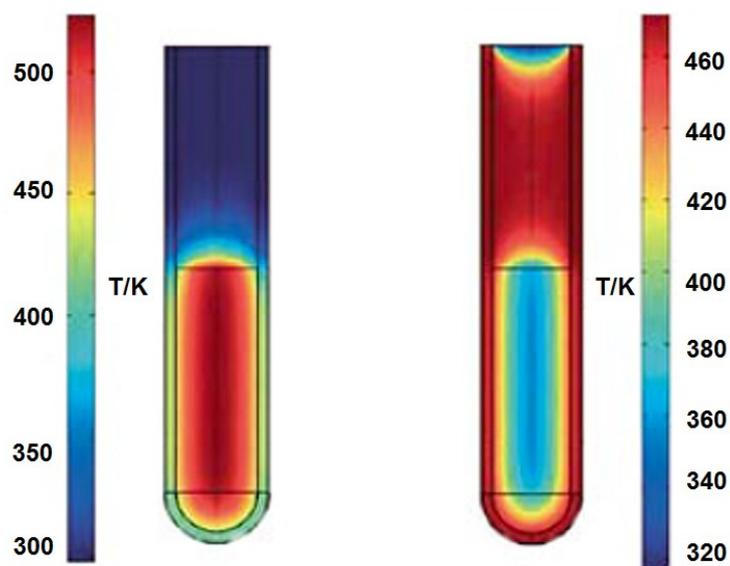


Abbildung 5.22.: Temperaturprofil einer Lösung nach jeweils 1 min Erhitzen mittels Mikrowellen-Strahlung (links) und im Ölbad (rechts). Die Lösung im Ölbad wird graduell über die Gefäßwand erwärmt, während sie sich im Mikrowellen-Ofen gleichmäßig von Innen heraus aufheizt.^[213]

Heizen sich die Gefäßwände schneller als das darin eingebrachte Reaktionsgemisch auf, so müssen auch Zersetzungs- und Ablagerungsprozesse der Edukte an der Gefäßwand in Betracht gezogen werden. Durch die Verwendung einer Mikrowelle können diese Nachteile vermieden oder zumindest minimiert werden, wodurch nicht nur eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit um mehrere Größenordnungen, sondern auch eine bessere Kontrolle über den Reaktionsverlauf und damit auch eine zuverlässigere Reproduzierbarkeit synthetischer Prozesse erreicht werden kann.^[206] Weitere Vorteile der Mikrowellen-Synthese sind oftmals höhere Ausbeuten sowie eine bessere Selektivität durch reduzierte Bildung unerwünschter Nebenprodukte.^[212]

5.2.2 Mechanismen der Mikrowellen-Heizung

Prinzipiell kann beim Erhitzen mit Mikrowellen-Strahlung zwischen zwei verschiedenen Mechanismen unterschieden werden: Die „dipolare Polarisation“ tritt auf, wenn sich ein elektrischer Dipol, z.B. das verwendete Lösemittel, nach dem elektrischen Feld der von außen eingestrahlten Mikrowelle auszurichten versucht. Aufgrund der Oszillation dieses Feldes kommt es zu einer kontinuierlichen Neuorientierung der Dipole, wodurch Reibungswärme frei wird (vgl. Abbildung 5.23).^[211,214]

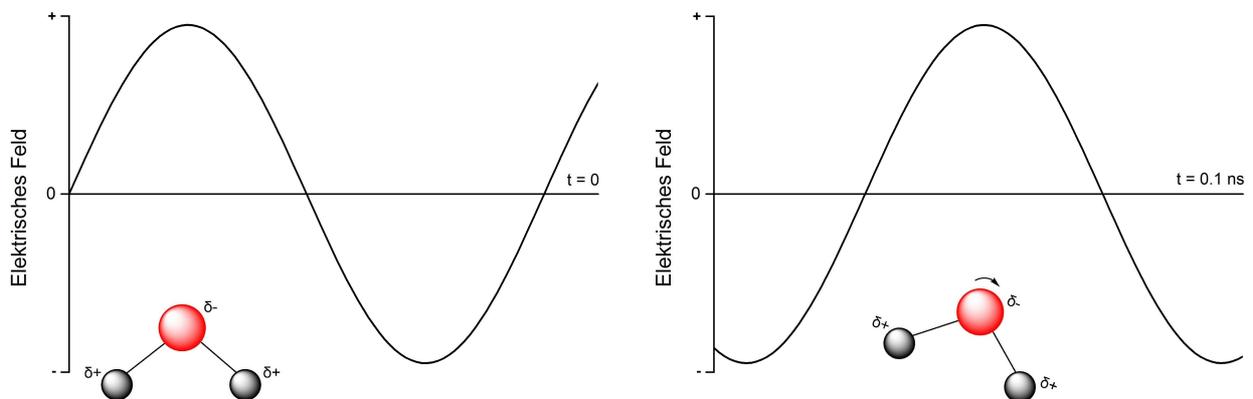


Abbildung 5.23.: Mechanismus der dipolaren Polarisation (schematisch). Ein dipolares Wassermolekül richtet sich im oszillierenden, elektrischen Feld der Mikrowelle ständig neu aus. Durch die Rotation wird Wärme frei.^[204]

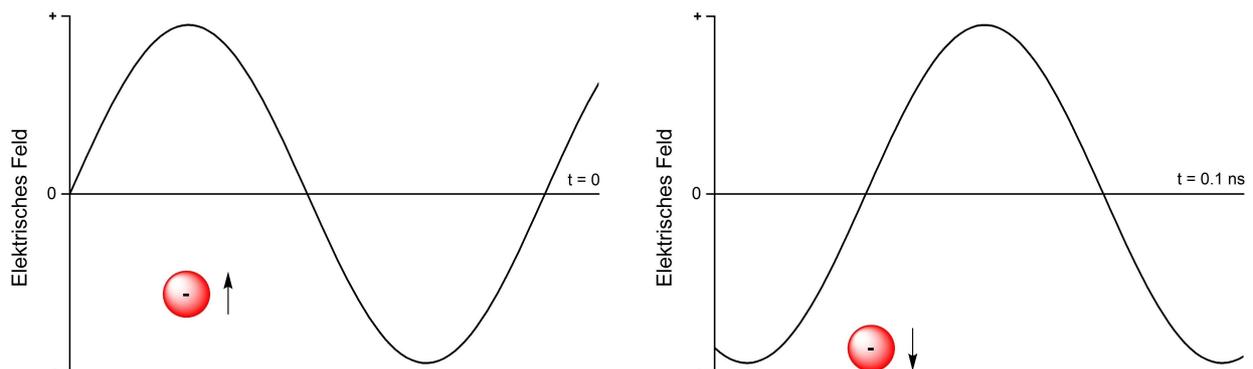


Abbildung 5.24.: Mechanismus der Ionenleitung (schematisch). Ein negativ geladenes Teilchen wird von der positiven Komponente des elektrischen Feldes angezogen und von der negativen Komponente abgestoßen. Durch Stöße mit den Lösemittelmolekülen wird Wärme erzeugt.^[204]

Befinden sich geladene Teilchen in Lösung, so folgen diese, ähnlich wie die Dipole bei der dipolaren Polarisierung, dem oszillierenden äußeren Feld und erzeugen Wärme durch Kollision mit Nachbarmolekülen. Man spricht von „Ionenleitung“ (vgl. Abbildung 5.24).^[211]

5.2.3 Mikrowellen-Synthese von metallischen Nanopartikeln

Ähnlich wie viele konventionelle Syntheserouten zur Darstellung metallischer Nanopartikel beruhen die meisten bekannten mikrowellenbasierten Verfahren auf der Reduktion ionischer Vorstufen in Lösung. Häufig verwendet werden dabei Wasser und Alkohole (z.B. Ethylenglycol), wobei im wässrigen Medium ein geeignetes Reduktionsmittel verwendet werden muss, während Alkohole bei erhöhter Temperatur selbst reduzierend wirken können. Oftmals werden Additive wie Polymere oder Tenside zugesetzt, um die Größe und Morphologie der entstehenden Partikel zu beeinflussen. Ein wesentlicher Unterschied zur klassischen Synthese im Ölbad besteht darin, dass das Lösemittel unter Einwirkung von Mikrowellenstrahlung in sehr kurzer Zeit (< 1 min) aufgeheizt werden kann, woraus eine wesentlich kürzere Nukleationsphase resultiert.^[211,215]

In der Literatur werden eine Vielzahl von verschiedenen Methoden zur Darstellung von metallischen Nanopartikeln in der Mikrowelle beschrieben.^[211,212,216] So gelingt beispielsweise die phasenreine und gut reproduzierbare Synthese binärer intermetallischer Phasen des Systems Bi-M (M = Ni, Rh, Pd, Ir) durch einen mikrowellenbasierten Polyolprozess, wobei Partikel mit einheitlicher Größe und Morphologie hergestellt werden können.^[217-221] Diese weisen interessante größenabhängige Eigenschaften wie z.B. eine exzellente katalytische Aktivität,^[219] die Fähigkeit zur reversiblen Interkalation von Sauerstoff bei Raumtemperatur^[217] oder die Koexistenz von Ferromagnetismus und Supraleitfähigkeit^[220] auf. Bekannt sind beispielsweise auch Core-Shell-Partikel,^[222-225] tensidvermittelte Reaktionen^[226-228] und Reduktionen im wässrigen Medium in Anwesenheit stabilisierender Polymere.^[229]

Speziell Silber-Nanopartikel können z.B. durch mikrowelleninduzierte Reduktion von Silbernitrat mit Ethanol^[230] oder „grünen“ Reagenzien wie Aminosäuren^[231] oder Zuckern^[232] hergestellt werden. Am häufigsten verbreitet sind Variationen des

klassischen Polyolprozesses, bei denen mehrwertige Alkohole als Löse- und Reduktionsmittel dienen. Die gebildeten Partikel sind meistens sphärisch oder stäbchenförmig, jedoch oft nicht homogen bzw. nicht vollständig charakterisiert.^[233-236]

Über die kontrollierte Synthese von Silber-Nanopartikeln mit homogener, nicht-sphärischer Morphologie ist bisher hingehen wenig bekannt. So berichten Saraf *et al.* über eine Methode zur Darstellung von Silber-Würfeln mit einer Kantenlänge von ca. 450-500 nm in Gegenwart von Gold-Keimen. Eine Schlüsselrolle spielt dabei der Polyelektrolyt Polystyrolsulfonat, welcher die Bildung würfelförmiger Partikel unterstützt und als Ag^+ -Reservoir dient.^[237] Kleinere Nanowürfel sind in einem modifizierten Polyolprozess nach Jiang *et al.* durch Zusatz von Na_2S und die *in situ* Bildung von Ag_2S -Keimen zugänglich.^[238] Ebenfalls mit Hilfe eines modifizierten Polyolprozesses gelang es den Gruppen um Guittard und Rossi, plättchenförmige Silberpartikel darzustellen, deren Höhe durch das verwendete Lösemittel 2-Ethoxyethanol kontrolliert werden kann.^[193] Zhao *et al.* konnten zeigen, dass die Partikelbildung unter Einwirkung von Mikrowellenstrahlung beschleunigt wird. Allerdings wird das Lösemittel bei 160 °C vorgeheizt und die Reaktionslösung wird nur kurz bestrahlt, wobei außer der verwendeten Mikrowellenleistung keine weiteren experimentellen Parameter angegeben werden.^[239] Tusji *et al.* beschreiben eine Methode, bei der in Anwesenheit von PtCl_6^{2-} -Keimen die Morphologie von Silber-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Kettenlänge des eingesetzten Polymers PVP beeinflusst werden kann. Die Partikel fallen hierbei jedoch typischerweise als Mischungen an.^[240-243] Ähnliche Ergebnisse präsentieren Liu *et al.* unter Verwendung von Goldkeimen.^[244,245]

5.2.4 Vergleich einer Haushaltsmikrowelle mit einer Synthesemikrowelle

Übliche Haushaltsmikrowellengeräte werden mit einer Frequenz von 2,45 GHz, entsprechend einer Wellenlänge von 12,25 cm, betrieben. Da die Beugung an den Gerätewänden berücksichtigt werden muss, kommt es zu konstruktiven und destruktiven Interferenzen. Es entstehen *hot spots* und *cold spots*, also Bereiche unterschiedlicher Energiedichte. Während dieser Effekt im Hausgebrauch zu vernachlässigen ist, ergeben sich für die präparative Chemie erhebliche Probleme. Auch können wichtige Parameter wie Druck, Temperatur und Leistung in konventionellen Haushaltsgeräten nicht oder nur ungenau kontrolliert werden. Eine Möglichkeit zum Rühren der Reaktionsmischung ist nicht gegeben, und darüber hinaus bestehen Sicherheitsrisiken beim Umgang mit brennbaren Lösemitteln und toxischen Reaktanden. Im Vergleich dazu sind moderne Synthesemikrowellengeräte explizit für Arbeiten mit Gefahrstoffen ausgelegt und mit magnetischen Rührern versehen. Druck und Temperatur im Reaktionsgefäß können über nicht-invasive Sensoren kontinuierlich abgelesen, protokolliert und mittels Variation der eingestrahlten Leistung kontrolliert werden. Häufig sind die Geräte so konstruiert, dass Interferenzen in der Mikrowellen-Kavität vermieden werden, wodurch eine gleichmäßige Energiedichte im gesamten Reaktionsraum und folglich eine bessere Reproduzierbarkeit gewährleistet werden kann.^[204,212]

Im Rahmen der Vertiefungsarbeit von Frau Nicole Busch wurden die Vorteile einer modernen Synthesemikrowelle (*CEM Discover SP*) im Vergleich zu einer herkömmlichen Haushaltsmikrowelle (*ok. OMW 310-S*) untersucht. Als Modellsystem wurden dabei 50 mL Reinstwasser von Raumtemperatur bis zum Siedepunkt erhitzt und die Temperatur-Zeit-Kurven im Intervall von 10 s bestimmt. Es wurde jeweils eine Dreifachbestimmung bei einer Leistung von 120 bzw. 230 W durchgeführt.

Der theoretische Siedezeitpunkt kann dabei aus der Ausgangsleistung der Mikrowelle und der Wärmekapazität von Wasser anhand von folgendem Zusammenhang berechnet werden:

$$t = \frac{m \cdot c \cdot \Delta T}{P \cdot \eta} \quad (\text{Gleichung 14})$$

- t = Theoretischer Siedezeitpunkt
 m = Masse des Reinstwassers
 c = spezifische Wärmekapazität von Reinstwasser
 ΔT = Differenz zwischen Anfangs- und Endtemperatur
 P = Verwendete Leistungsstufe der Mikrowelle
 η = Wirkungsgrad

Nach Gleichung 14 ergibt sich bei einer Leistung von 120 W bzw. 230 W eine theoretische Heizdauer von 134 s bzw. 70 s. Da es sich jeweils um Ausgangsleistungen handelt, wurde der Wirkungsgrad bereits berücksichtigt, sodass für η der Wert 1 gesetzt wurde.

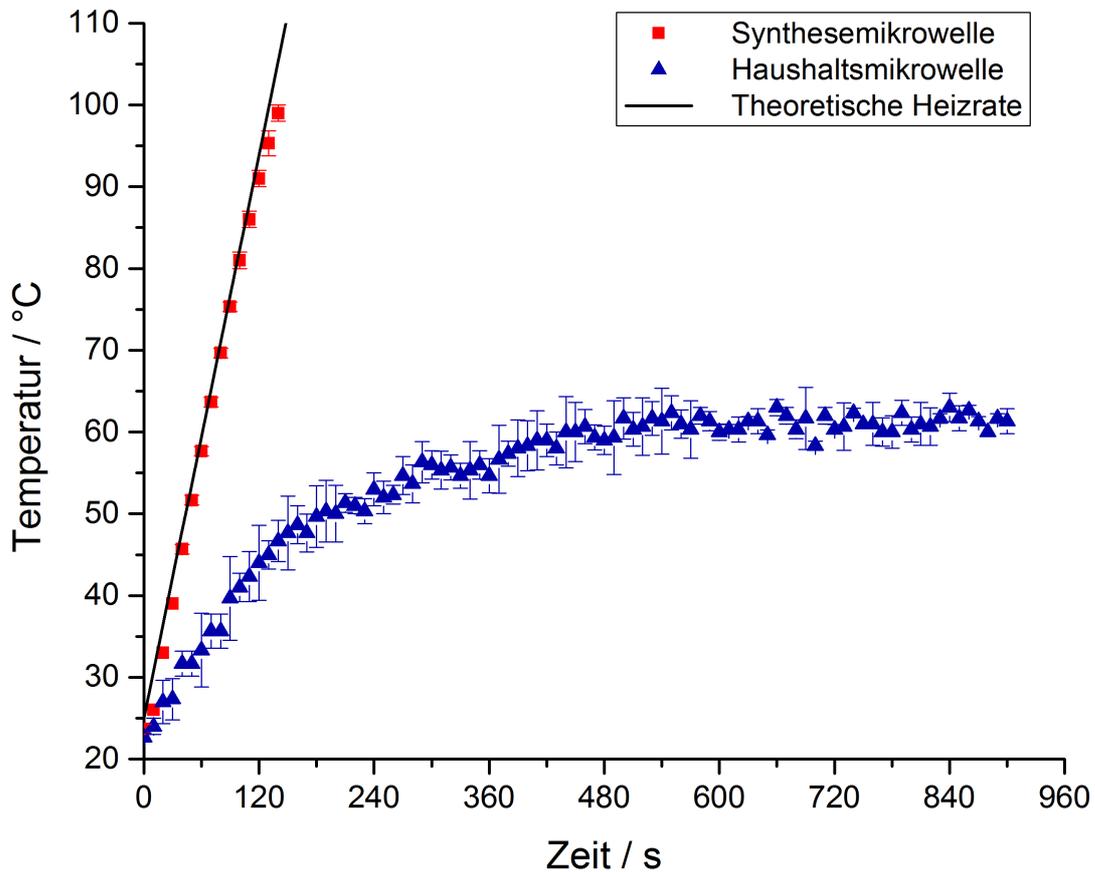


Abbildung 5.25.: Temperatur-Zeit-Kurve beim Erhitzen von 50 mL Reinstwasser bei 120 W in der Haushaltsmikrowelle bzw. Synthesemikrowelle im Vergleich zur theoretischen Heizrate, die sich aus Gleichung 14 ergibt.

5. Ergebnisse und Diskussion

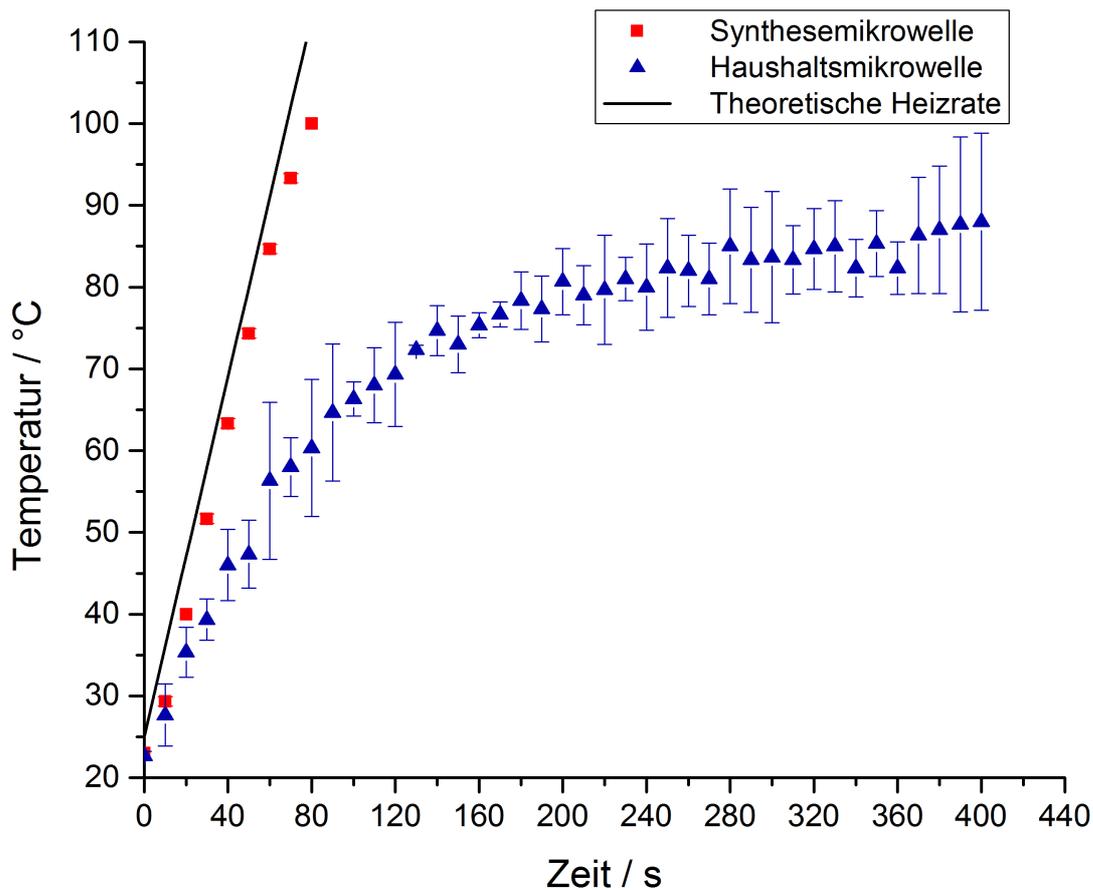


Abbildung 5.26.: Temperatur-Zeit-Kurve beim Erhitzen von 50 mL Reinstwasser bei 230 W in der Haushaltsmikrowelle bzw. Synthesemikrowelle im Vergleich zur theoretischen Heizrate, die sich aus Gleichung 14 ergibt.

Die Temperatur-Zeit-Kurven sind in Abbildung 5.25 und 5.26 dargestellt. Die experimentell ermittelte Heizkurve steigt in der Synthesemikrowelle für beide Leistungsstufen viel steiler als in der Haushaltsmikrowelle an und stimmt nahezu mit der aus Gleichung 14 berechneten theoretischen Kurve (schwarze Linie) überein. Gleichzeitig ist die Standardabweichung deutlich geringer als in der Haushaltsmikrowelle. In der Synthesemikrowelle siedet das Wasser bei 120 W nach 139 s, bei 230 W nach 80 s, die Abweichung gegenüber den theoretischen Werten beträgt also nur 5 bzw. 10 s. In der Haushaltsmikrowelle beträgt die höchste gemessene Temperatur bei 120 W 63 °C und bei 230 W 88 °C, der Siedepunkt wird im Verlauf von 900 s bzw. 400 s nicht erreicht. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Probe zur Temperaturmessung aus der Haushaltsmikrowelle entnommen werden muss, was den Aufheizvorgang unterbricht und zu einer Abkühlung führt, während

die Temperatur in der Synthesemikrowelle kontinuierlich digital abgelesen werden kann. Um diesen Effekt zu minimieren, wurde in einem Kontrollexperiment das Ableseintervall in der Haushaltsmikrowelle auf 60 s erhöht.

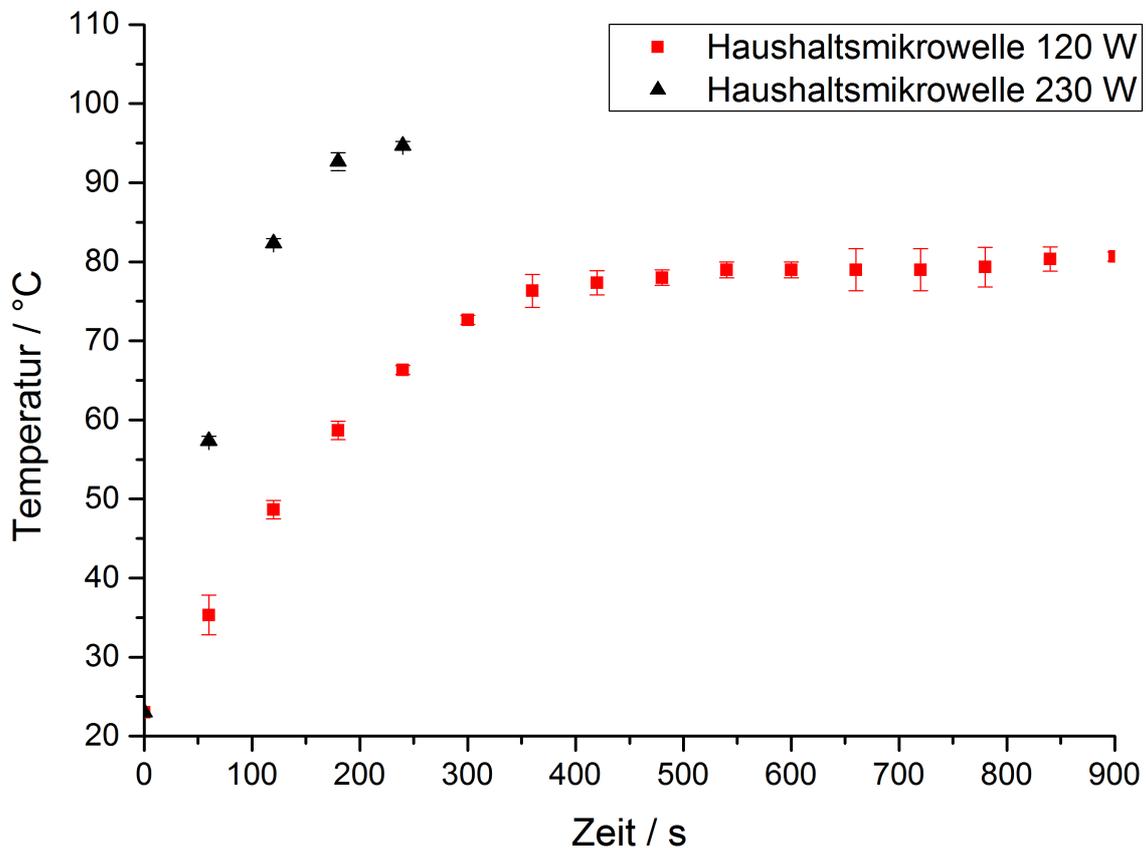


Abbildung 5.27.: Temperatur-Zeit-Kurve beim Erhitzen von 50 mL Reinstwasser bei 120 W bzw. 230 W in der Haushaltsmikrowelle mit einem Messintervall von 60 s.

Aus Abbildung 5.27 wird ersichtlich, dass das Ableseintervall einen signifikanten Effekt auf die Heizkurven hat. Bei einem Intervall von 60 s und einer Leistung von 120 W beträgt die maximal gemessene Temperatur 81 °C und liegt somit um 18 °C höher als bei einem Intervall von 10 s. Bei 230 W und einem Intervall von 60 s siedet das Wasser nach 240 s. Beide Kurven steigen steiler an als bei den 10 s Intervallen. Ein direkter Vergleich zwischen beiden Geräten ist aufgrund der zahlreichen, eingangs erläuterten technischen Unterschiede mit dem verwendeten Modellsystem nur eingeschränkt möglich. Zudem muss berücksichtigt werden, dass in der Synthesemikrowelle bei gleicher Ausgangsleistung aufgrund des kleineren Garraums wesentlich höhere Leistungsdichten (W cm^{-2}) als in der Haushaltsmikrowelle erzielt

5. Ergebnisse und Diskussion

werden. Dennoch wird deutlich, dass die Synthesemikrowelle für präparative Arbeiten zahlreiche Vorteile bietet, z.B. die Möglichkeit der nicht-invasiven, kontinuierlichen Temperaturmessung und das eingebaute Rührwerk. Theoretisch berechnete Heizraten können experimentell nahezu erreicht werden.

5.2.5 Synthese von sphärischen Silber-Nanopartikeln

Mit Hilfe der in Kapitel 5.1 vorgestellten Glucose-Synthese können wohldefinierte, quasi-sphärische Silber-Nanopartikel hergestellt werden, welche aufgrund ihrer hohen Stabilität und Qualität hervorragend für biologische Anwendungen geeignet sind. Diese Syntheseroute hat jedoch drei fundamentale Nachteile, die bereits ausführlich diskutiert wurden und nicht gänzlich vermieden werden können:

- Sehr geringe Ausbeuten in der Größenordnung von nur ca. 1-5 %, bezogen auf die eingewogene Menge Silber.
- Unklarheit, ob die Partikel wirklich sphärisch oder eher diskusförmig vorliegen.
- Unvermeidliche Verunreinigungen mit Silber-Nanoprismen und Stäbchen.

Während die geringe Ausbeute im Labormaßstab üblicherweise vernachlässigbar ist und durch eine größere Anzahl an Experimenten kompensiert werden kann, führt die unvermeidbare Entstehung prismatischer und stäbchenförmiger Nebenprodukte bzw. die unklare Morphologie ggf. zu Problemen. Dies gilt insbesondere dann, wenn der Einfluss der Form auf verschiedene Eigenschaften, wie z.B. die Auflösungskinetik oder die Wirksamkeit im biologischen System, untersucht werden soll. Zwar liegen die Nebenprodukte anteilig im Bereich von < 10 %, dennoch wäre eine sauberere und effizientere Syntheseroute wünschenswert, zumal eine nachträgliche Auftrennung zwischen Partikeln mit vergleichbarer Größe, aber unterschiedlicher Form präparativ nicht realisierbar ist.

Aus diesem Grund wurde eine mikrowellenbasierte Synthese entwickelt, mit der sphärische Silber-Nanopartikel mit höherer Ausbeute und besserer Reinheit bezogen auf die Morphologie dargestellt werden können. Analog zu den Partikeln aus der Glucose-Synthese wurden die so hergestellten Nanopartikel durch mehrfaches Waschen mit Reinstwasser und anschließende Ultrazentrifugation gereinigt und unter Zuhilfenahme verschiedener festkörper- und kolloidchemischer Methoden ausführlich charakterisiert. Die Rasterelektronenmikroskopie wurde bei einer Beschleunigungsspannung von 25 bzw. 30 kV und einer Vergrößerung von 50.000x bzw. 200.000x durchgeführt. In der Übersichtsaufnahme (vgl. Abbildung 5.28A) zeigen sich nach 20 min Reaktionszeit abgegrenzte, monodisperse Partikel mit ausschließlich

5. Ergebnisse und Diskussion

sphärischer Morphologie. Wie schon bei der Glucose-Synthese sind die Partikel aber leicht deformiert und nicht perfekt kugelförmig, im Unterschied dazu werden jedoch weder Prismen noch Stäbchen beobachtet. In der Vergrößerung bestätigt sich dieser Eindruck (vgl. Abbildung 5.28B).

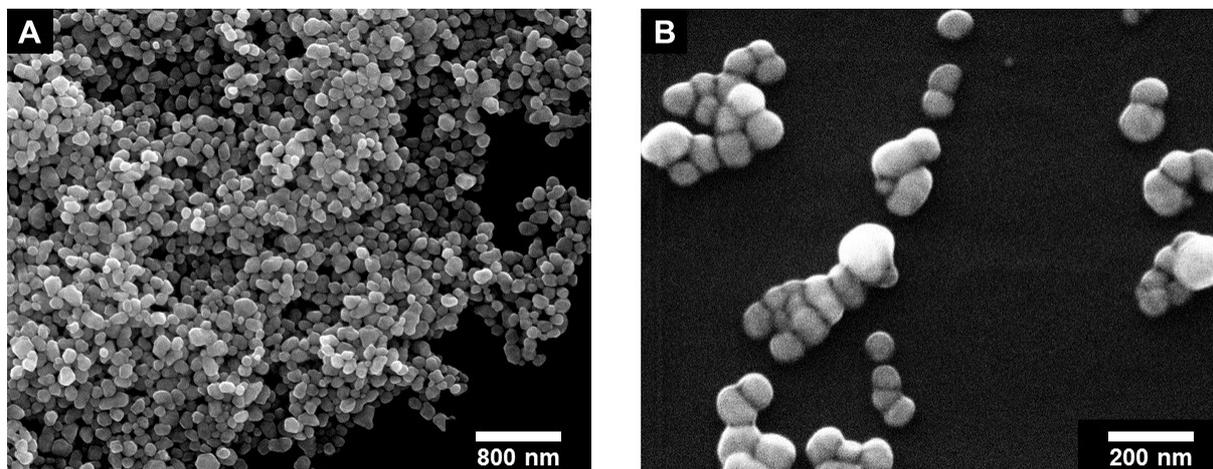
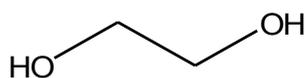


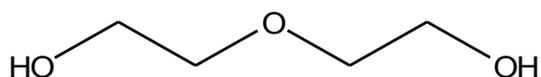
Abbildung 5.28.: REM-Aufnahmen der in der Mikrowelle hergestellten, sphärischen Ag-Nanopartikel nach einer Reaktionszeit von 20 min bei 160 °C in Diethylenglycol.

Mit einem Durchmesser von ca. 120-180 nm ist der metallische Kern der Partikel erheblich größer als der Kern der Partikel aus der Glucose-Synthese, der einen Durchmesser von ca. 40-70 nm aufweist.

Um weitere Informationen über die Entstehung und das Wachstum der Partikel zu erhalten, wurde die Reaktion zu verschiedenen Zeitpunkten gestoppt, und es wurden REM- und AAS-Proben angefertigt. Weiterhin wurde der Einfluss des Lösemittels untersucht, indem statt Diethylenglycol das in der Polyolsynthese üblichere Ethylenglycol eingesetzt wurde (vgl. Abbildung 5.29).



Ethylenglycol



Diethylenglycol

Abbildung 5.29.: Lewis-Strukturformeln von Ethylenglycol und Diethylenglycol.

Abbildung 5.30 zeigt die Größe und Morphologie der Silber-Nanopartikel nach verschiedenen Reaktionszeiten bei 160 °C in der Mikrowelle in Diethylenglycol.

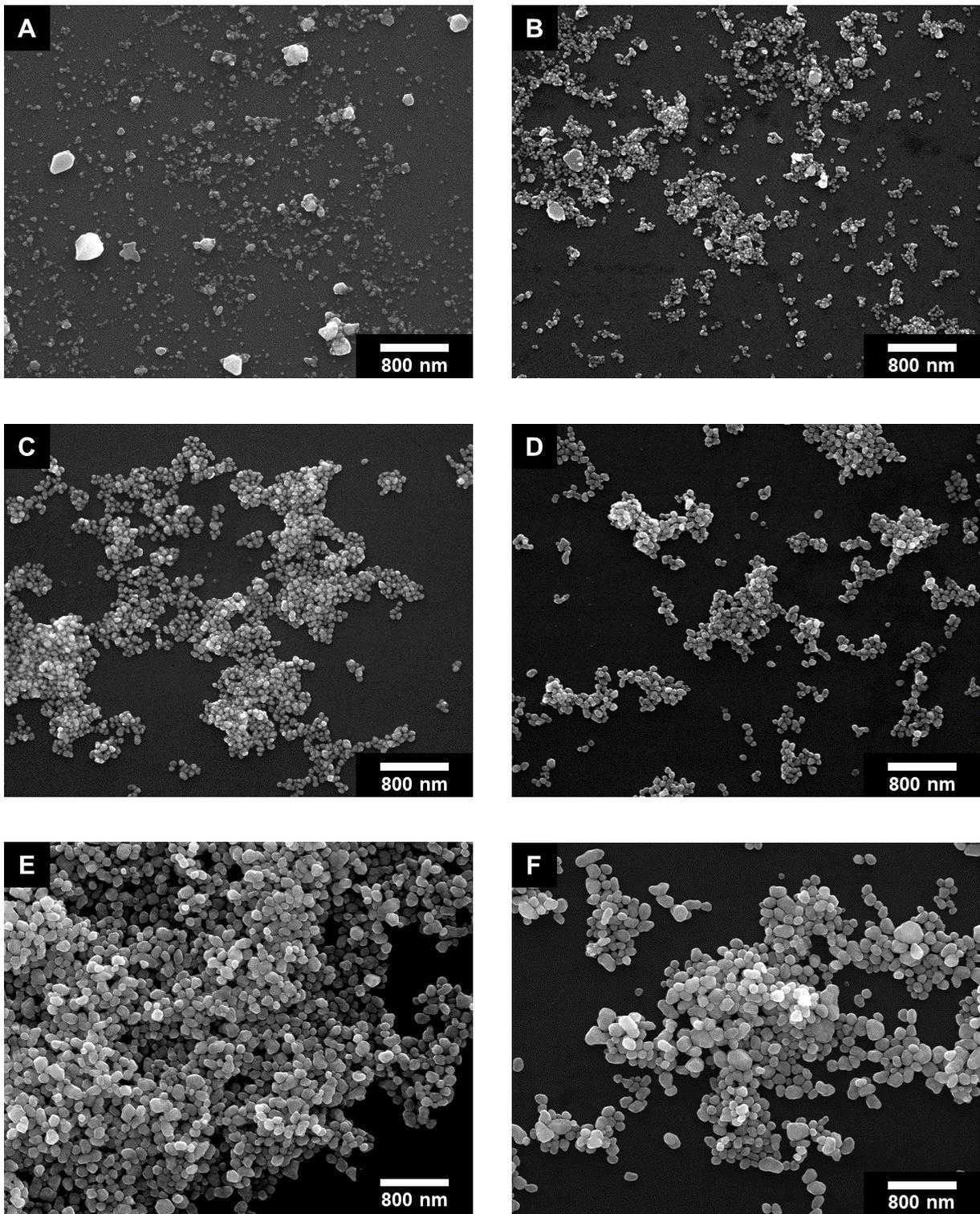


Abbildung 5.30.: REM-Aufnahmen der in der Mikrowelle hergestellten, sphärischen Ag-Nanopartikel nach einer Reaktionszeit von (A) 1 min, (B) 2 min, (C) 5 min, (D) 10 min, (E) 20 min und (F) 60 min bei 160 °C in Diethylenglycol.

Alle Aufnahmen wurden bei 50.000-facher Vergrößerung und einer Spannung von 25 kV angefertigt. Interessanterweise ist die Größe und Form der Partikel zu Beginn

5. Ergebnisse und Diskussion

der Reaktion sehr inhomogen und wird im weiteren Verlauf zunehmend homogen. Nach einer Reaktionszeit von 1 min haben sich zum Teil bis zu 400 nm große, irregulär geformte Partikel gebildet, während daneben eine Vielzahl an kleinen Partikeln mit Durchmessern < 20 nm entstanden ist (vgl. Abbildung 5.30A). Nach 2 min sind die kleinen Partikel auf ca. 40 nm angewachsen, nach wie vor können jedoch auch große Partikel beobachtet werden können (Abb. 5.30B). Diese „verschwinden“ im weiteren Reaktionsverlauf, während die kleinen Partikel zunehmend homogen wachsen. Nach 5-10 min erreichen sie eine Größe von ca. 40 nm (Abb. 5.30C-D), nach 20 min 120-180 nm (Abb. 5.30E) und nach 60 min 160-220 nm (Abb. 5.30F). Dieses Verhalten weist auf einen komplexeren Reaktionsmechanismus hin, in welchem sich die zunächst vorliegenden, ca. 400 nm großen Partikel im Laufe der Zeit zugunsten der kleineren Partikel auflösen.

Verwendet man statt Diethylenglycol als Löse- und Reduktionsmittel Ethylenglycol, so entsteht unter ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen nach 20 min eine inhomogene und eher polydisperse Partikelverteilung (vgl. Abbildung 5.31).

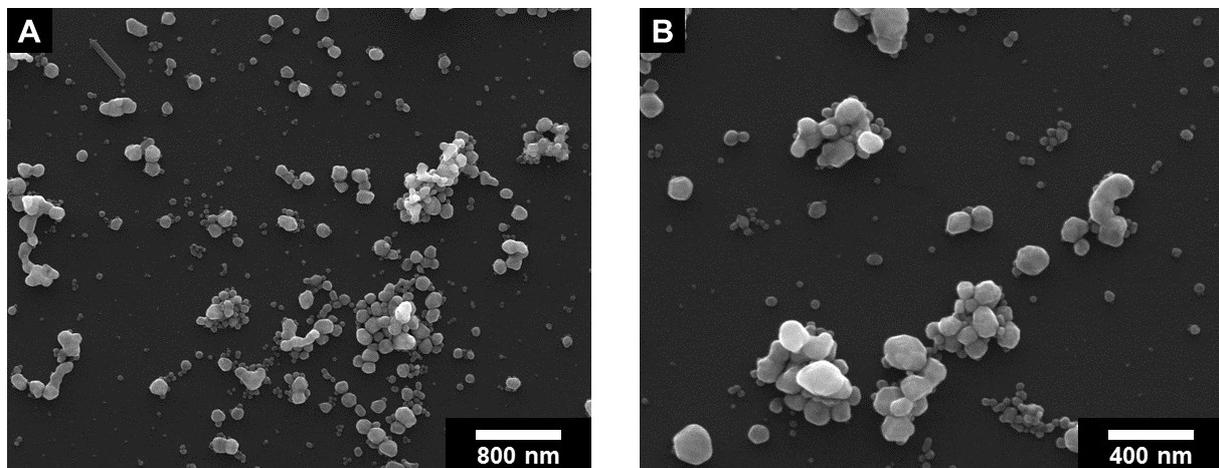


Abbildung 5.31.: REM-Aufnahmen der in der Mikrowelle hergestellten, sphärischen Ag-Nanopartikel nach einer Reaktionszeit von 20 min bei 160 °C in Ethylenglycol.

Zusätzlich können auch vereinzelt Abweichungen von der sphärischen Morphologie, z.B. in Form von Stäbchen, beobachtet werden. Aus diesem Grund wurde auf eine umfassendere Charakterisierung dieser Partikel verzichtet und im Weiteren die Synthese in Diethylenglycol bevorzugt.

Die Ausbeute in Diethylenglycol wurde parallel zu den oben diskutierten REM-Analysen nach einer Reaktionszeit von je 0, 1, 2, 5, 10, 20 und 60 min bei 160 °C in der Mikrowelle mittels AAS untersucht. Die Reaktionszeit „0“ bedeutet dabei, dass die Lösung sofort nach Erreichen der Zieltemperatur von 160 °C mit Hilfe von komprimierter Luft auf Raumtemperatur abgekühlt wurde. Da die Anzahl der Partikel nicht auf einfachem Weg bestimmt werden kann, beziehen sich die Ausbeuten auf den nach der jeweiligen Reaktionszeit durch Ultrazentrifugation abtrennbaren Silber-Anteil in Relation zur eingesetzten Gesamtmasse Silber.

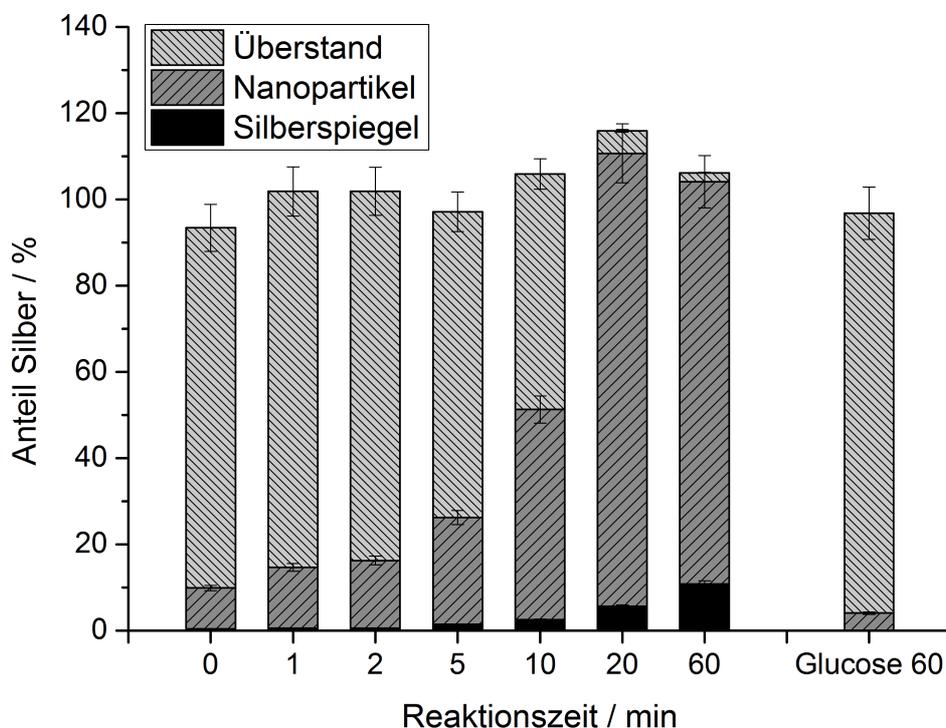


Abbildung 5.32.: Relative Anteile von Silber in den Nanopartikeln, dem Überstand sowie im an der Kolbenwand anfallenden Silberspiegel nach verschiedenen Reaktionszeiten bei 160 °C in Diethylenglycol in der Mikrowelle sowie Vergleich mit der Ausbeute der Glucose-Synthese.

Eine graphische Auftragung der jeweiligen Silber-Anteile (vgl. Abbildung 5.32) zeigt, dass die Reaktion nach 20 min vollständig abgeschlossen ist und dass das eingesetzte Silber im Rahmen der Fehlergenauigkeit der Messung fast quantitativ zu zentrifugierbaren Partikeln reduziert worden ist. Die Ausbeute beträgt zu diesem Zeitpunkt $20,0 \pm 1,3$ mg Silber (≥ 98 %). Im Überstand befinden sich insbesondere zu Beginn der Reaktion noch nicht umgesetzte Ag^+ -Ionen bzw. sehr kleine, nicht

5. Ergebnisse und Diskussion

zentrifugierbare Cluster (Kristallisationskeime). Bereits nach wenigen Minuten kommt es zudem zur Ausbildung eines Silberspiegels an der Gefäßwand, der bei Reaktionszeiten von ≥ 10 min durch weitere Ablagerung von Silber-Nanopartikeln stetig anwächst. Aus diesem Grund kann eine Reaktionszeit von 10-20 min, je nach gewünschter Partikelgröße und Ausbeute, als optimal betrachtet werden. Nach spätestens 20 min sollte die Reaktion jedoch gestoppt werden, um eine weitere Abscheidung von Silber am Gefäß zu unterbinden. Im direkten Vergleich mit der Glucose-Synthese (vgl. Abbildung 5.32 rechts) zeigt sich, dass in der Mikrowelle bei ähnlicher Größe und optimierter Morphologie der Partikel eine wesentlich verbesserte Ausbeute erzielt werden kann.

Aus den genannten Gründen wurden für alle weiteren Analysen sphärische Silber-Nanopartikel ausgewählt, die bei einer Reaktionszeit von 20 min im Lösemittel Diethylenglycol in der Mikrowelle dargestellt wurden.

Zur Aufklärung der inneren Struktur der Partikel wurden hochauflösende transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen bei einer Spannung von 300 kV durch Herrn Dr. Marc Heggen am Forschungszentrum Jülich angefertigt.

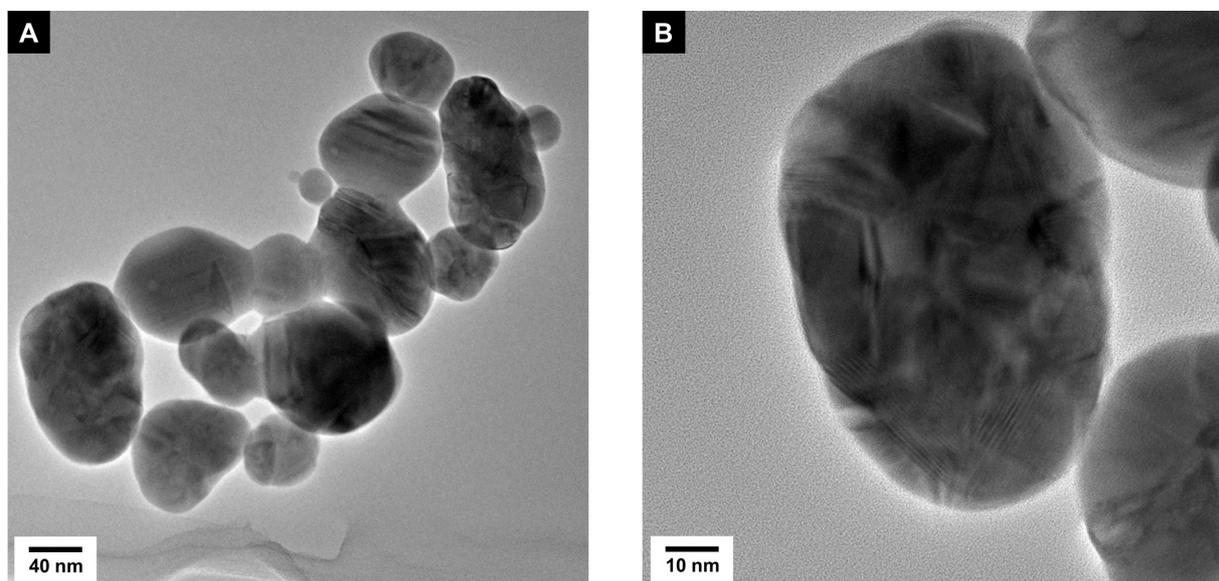


Abbildung 5.33.: HRTEM-Aufnahmen der in der Mikrowelle hergestellten, sphärischen Ag-Nanopartikel nach einer Reaktionszeit von 20 min bei 160 °C in Diethylenglycol.

Die Durchmesser erscheinen hier etwas kleiner als im REM und liegen im Bereich von ca. 40-80 nm. Aufgrund der starken Vergrößerung und der demzufolge geringen Anzahl an beobachteten Partikeln kann dieser Wert jedoch nicht als repräsentativ angesehen werden. Insbesondere in der Nahaufnahme (vgl. Abbildung 5.33B) ist gut zu sehen, dass die Partikel stark verzwilligt vorliegen. Aufgrund der Vielzahl an Körnern können häufig Moiré-Effekte beobachtet werden, also scheinbar grobe Raster, die durch die Überlappung kleinerer Raster entstehen. Auffällig ist weiterhin, dass die Partikel in der Übersichtsaufnahme häufig verwachsen bzw. versintert erscheinen (vgl. Abbildung 5.33A). Dies lässt zunächst vermuten, dass die Partikel auch in Dispersion agglomeriert vorliegen.

Zur Abklärung einer möglichen Agglomeration sowie zur Bestimmung der hydrodynamischen Radien wurden DLS-Messungen in Reinstwasser sowie im Zellkulturmedium durchgeführt und das ζ -Potential bestimmt.

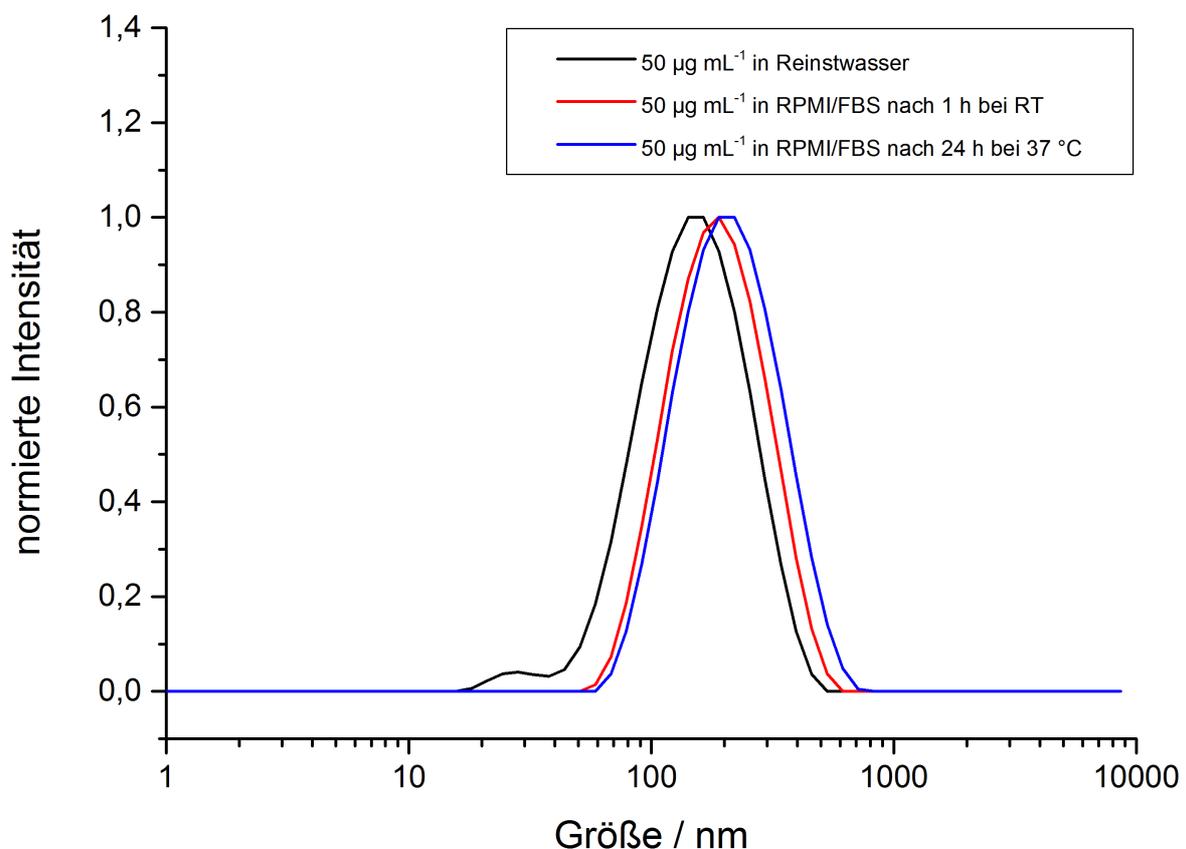


Abbildung 5.34.: Größenverteilung der durch Mikrowellen-Synthese hergestellten Ag-Nanokugeln in wässrigem Medium sowie in Zellkulturmedium, bestimmt mittels DLS.

5. Ergebnisse und Diskussion

Die Partikelgrößenverteilung ist in Abbildung 5.34 dargestellt, wobei die Messungen wie in Kapitel 5.1 beschrieben bei Silber-Konzentrationen von je $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ sowohl in Reinstwasser als auch in RPMI/FBS durchgeführt wurden. Zusammengefasst ergeben sich für die mittleren Partikelgrößen sowie für den PDI folgende Werte:

Medium	Durchmesser	PDI
Reinstwasser	128 nm	0,21
RPMI/FBS nach 1 h bei RT	164 nm	0,18
RPMI/FBS nach 24 h bei 37 °C	178 nm	0,21

Tabelle 5.7.: *Mittlere Partikelgröße und PDI der durch Mikrowellen-Synthese hergestellten Ag-Nanopartikel in Reinstwasser sowie Zellkulturmedium.*

Sowohl die in Abbildung 5.34 aufgetragene Partikelgrößenverteilung als auch der PDI von 0,21 in Reinstwasser lassen nicht auf eine nennenswerte Agglomeration schließen. In Dispersion können die Partikel als monodispers beschrieben werden, sie sind nicht aggregiert. Eventuell handelt es sich bei der im TEM beobachteten „Verklebung“ also nur um vereinzelt Partikel, oder diese liegen lediglich aufeinander und erscheinen somit irrtümlicherweise verwachsen. Ähnlich wie auch bei den Partikeln aus der Glucose-Synthese wird eine bimodale Verteilung in Reinstwasser beobachtet, wobei das sekundäre Maximum eine wesentlich geringere Intensität besitzt als das Primäre. Der durchschnittliche hydrodynamische Durchmesser von 128 nm liegt in guter Übereinstimmung zu den Radien, die mittels Elektronenmikroskopie ermittelt wurden. In RPMI/FBS sind die Partikel über 24 h bei 37 °C stabil, es fallen keine Agglomerate aus. Allerdings kommt es zu einer Vergrößerung der hydrodynamischen Radien. Dieser Effekt wurde bereits in Kapitel 5.1 diskutiert und kann durch die Ausbildung einer Proteinkorona, bzw. durch Unterschiede im Brechungsindex und der Viskosität des verwendeten Mediums erklärt werden. In Reinstwasser sind die Partikel elektrosterisch durch PVP stabilisiert, das ζ -Potential ist mit -2,8 mV schwach negativ.

Weiterhin wurde eine Partikelgrößenbestimmung mittels analytischer Scheibenzentrifugation in Reinstwasser durchgeführt. Es ergibt sich eine monomodale, aber relativ breite Größenverteilung mit einem Maximum bei 123 nm (vgl. Abbildung 5.35).

Dieser Wert stimmt hervorragend mit den Werten aus der Elektronenmikroskopie sowie mit dem hydrodynamischen Durchmesser von 128 nm aus der DLS überein. Die breite Verteilung lässt auf eine eher polydisperse Probe schließen.

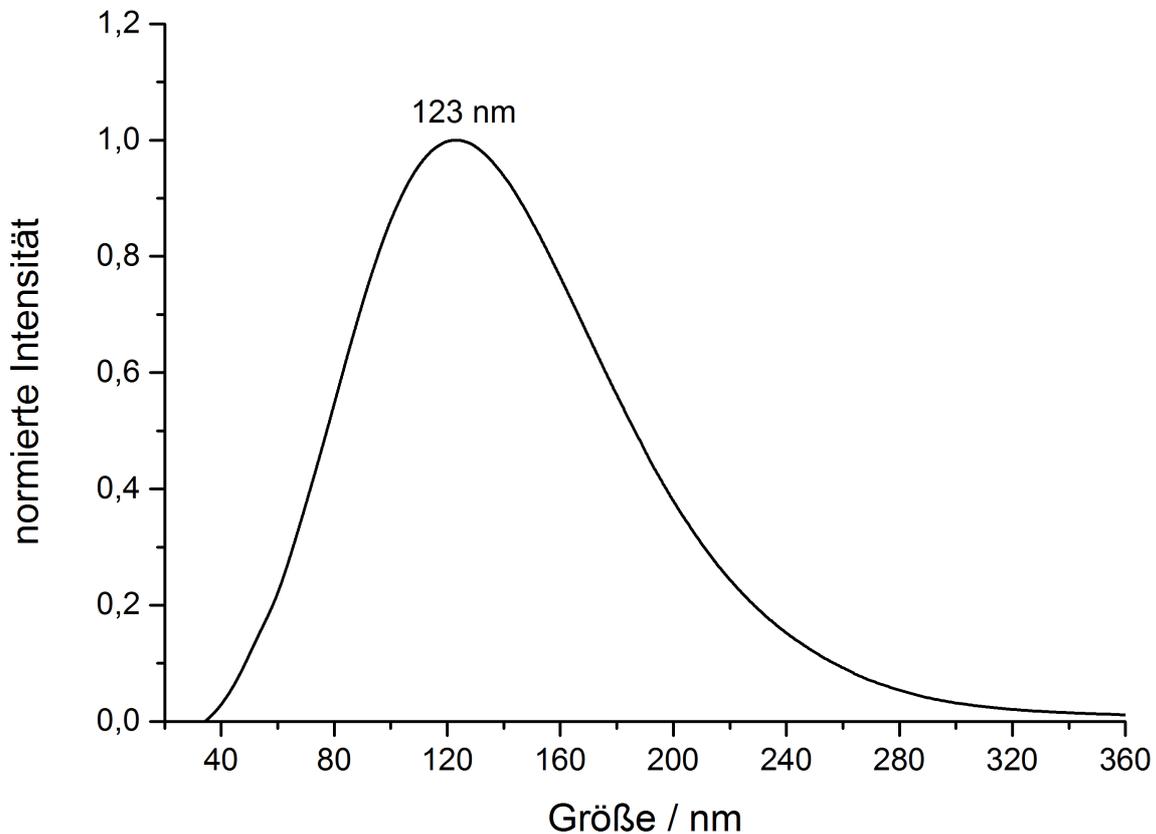


Abbildung 5.35.: Größenverteilung der durch Mikrowellen-Synthese hergestellten, sphärischen Ag-Nanopartikel in Reinstwasser, bestimmt mittels DCS.

Auch im UV/Vis-Spektrum zeigt sich eine breit auslaufende Extinktionsbande (vgl. Abbildung 5.36), die diesen Eindruck bestätigt. Zusammengenommen stehen diese Befunde in gewissem Widerspruch zu den Ergebnissen aus der DLS, die eher auf eine monodisperse Partikelverteilung hindeuten. Da die Partikel in der Rasterelktronenmikroskopie ebenfalls monodispers erscheinen, selbst im Zellkulturmedium bei erhöhter Temperatur über mehrere Stunden stabil sind und die breite UV/Vis-Bande auch durch die vorhandenen Abweichungen von der idealen Kugelsymmetrie erklärt werden können, ist insgesamt eine monodisperse Verteilung wahrscheinlicher. Das Extinktionsmaximum im UV/Vis-Spektrum liegt mit 418 nm erwartungsgemäß im Bereich sphärischer Silber-Nanopartikel.

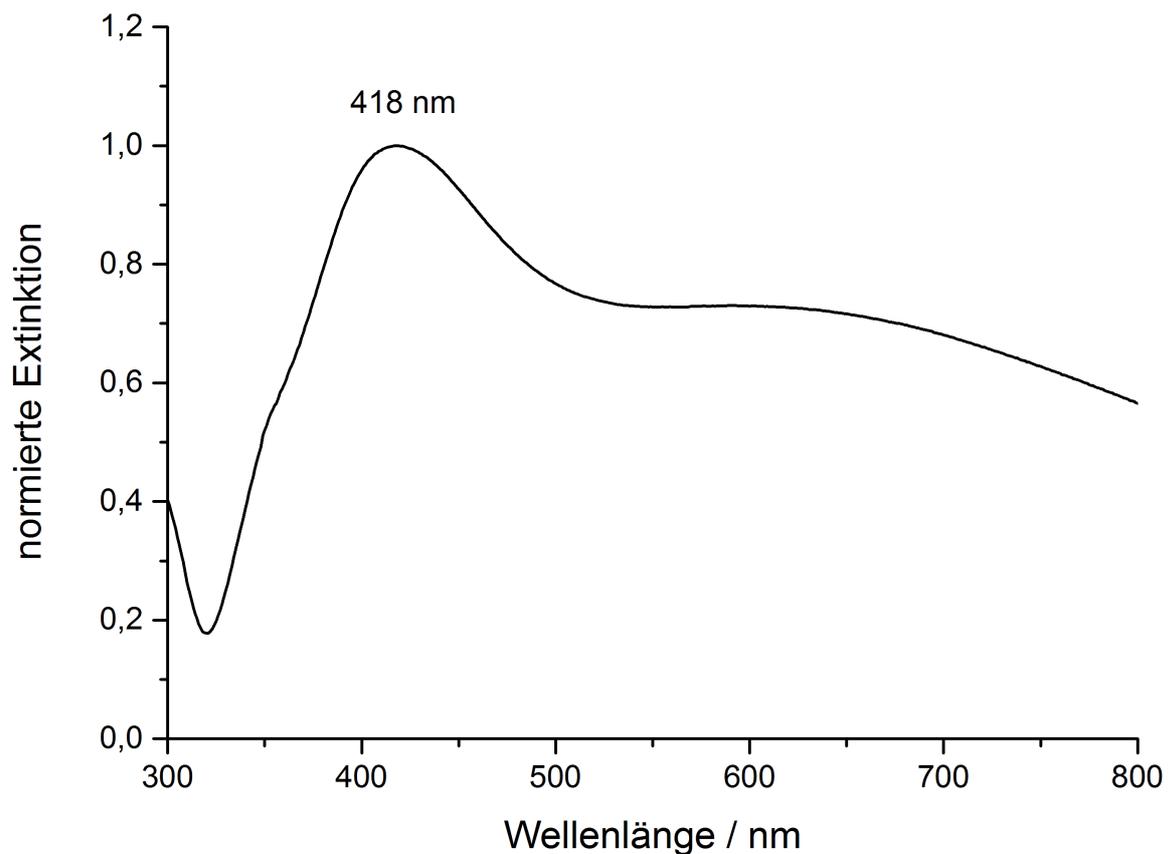


Abbildung 5.36.: UV/Vis-Spektrum der durch Mikrowellen-Synthese hergestellten, sphärischen Ag-Nanopartikel.

Die getrockneten Partikel wurden in Kooperation mit Herrn Dr. Oleg Prymak mittels Röntgenpulverdiffraktometrie in Bragg-Brentano-Geometrie untersucht. Zunächst wurde eine Rietveld-Verfeinerung durchgeführt (vgl. Abbildung 5.37) Anschließend wurden die verschiedenen kristallographischen Flächen indiziert. Die ermittelten Reflexlagen sind in Tabelle 5.8 aufgelistet und stimmen gut mit den Literaturdaten für f.c.c.-Silber (ICDD-PDF4 #04-0783) überein. Bei $31,18^\circ 2\theta$ taucht ein weiterer Reflex auf, der den kristallographischen $\{200\}$ -Flächen von kubisch-flächenzentriertem Silberchlorid zugeordnet werden kann, welches vermutlich durch eine Spurenverunreinigung mit Chlorid entstanden ist. Ansonsten sind die Partikel phasenrein. Über die Bragg-Gleichung wurde der Netzebenenabstand d und daraus mit Hilfe von Gleichung 11 die Gitterkonstante a berechnet. Für a ergibt sich in perfekter Übereinstimmung zur Literatur (ICDD-PDF4 #04-0783) ein Wert von $4,086(1) \text{ \AA}$. Erwartungsgemäß kommt es auch für die Partikel aus der Mikrowellen-Synthese aufgrund ihrer geringen Größe zu einer Reflexverbreiterung. Aus der Halbwertsbreite

des (111)-Reflexes wurde mit der Scherrer-Gleichung (vgl. Kapitel 3.4.3) und unter Verwendung eines Formfaktors von $K = 0,89$ die Kristallitgröße zu 22 nm bestimmt. Dieser Wert repräsentiert nur im Fall eines einkristallinen Partikels den gesamten Partikeldurchmesser, für polykristalline Partikel entspricht die Kristallitgröße dem Durchmesser der einzelnen Domänen. Mittels HRTEM wurde bereits gezeigt, dass die hergestellten Nanopartikel mehrfach verzwilligt sind (vgl. Abbildung 5.33). Die berechnete Kristallitgröße von 22 nm stimmt in erster Näherung gut mit den erkennbaren Größen der Domänen von ca. 20 nm überein.

Weiterhin bemerkenswert ist, dass die Intensität des (111)-Reflexes eine sehr leichte Textur aufweist, es existiert also eine schwache Vorzugsorientierung für die symmetrieäquivalenten $\{111\}$ -Flächen. Da die $\{111\}$ -Flächen im kubisch-flächenzentrierten Gittersystem die niedrigste freie Oberflächenenergie besitzen (vgl. Kapitel 2.3.2), spricht dieses Ergebnis dafür, dass die Reaktion in der Mikrowelle unter thermodynamischer Kontrolle abgelaufen ist und dass die Partikel nicht perfekt sphärisch vorliegen, sondern eine facettierte Oberfläche haben.

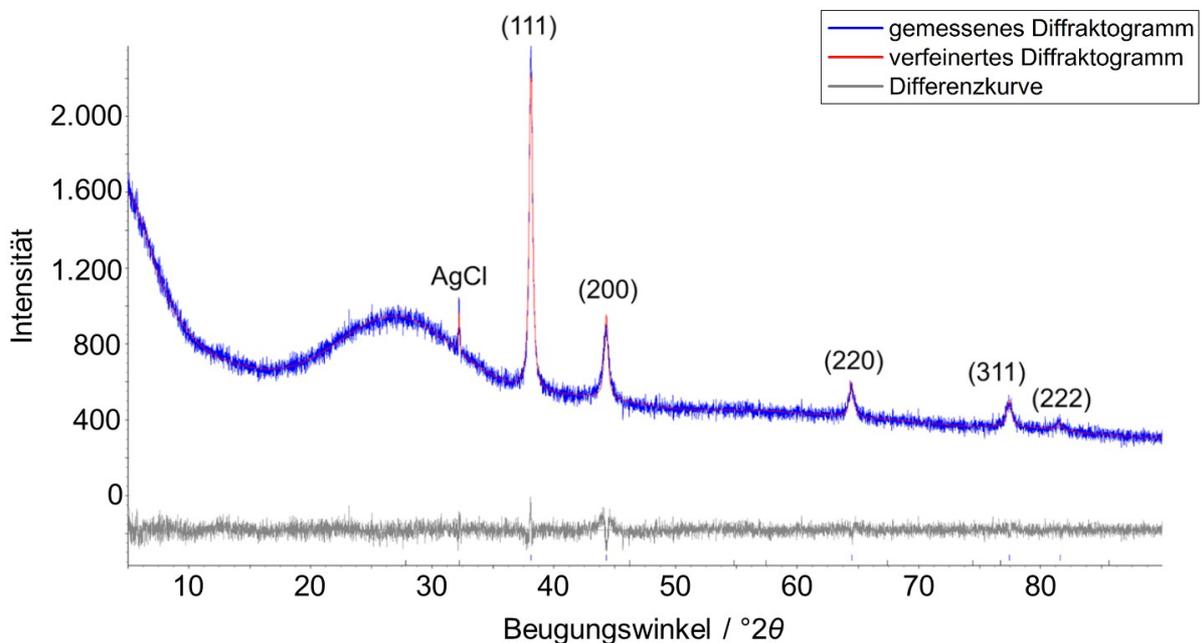


Abbildung 5.37.: Pulverdiffraktogramm der sphärischen Silber-Nanopartikel aus der Mikrowelle nach Rietveld-Verfeinerung und Indizierung der kristallographischen Flächen.

5. Ergebnisse und Diskussion

Reflex gemessen $^{\circ}2\theta$	Reflex Literatur $^{\circ}2\theta$	Phase nach PDF4	Kristallfläche Millersche Indizes
31,18	32,244	AgCl	(200)
38,08	38,117	Ag	(111)
44,24	44,279	Ag	(200)
64,42	64,428	Ag	(220)
77,35	77,475	Ag	(311)
81,46	81,599	Ag	(222)

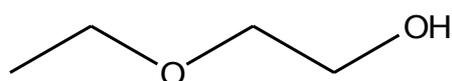
Tabelle 5.8.: Zuordnung der experimentell ermittelten Reflexe aus dem Pulverdiffraktogramm für Silber-Nanopartikel aus der Mikrowellen-Reaktion zu den entsprechenden Kristallflächen und Literaturdaten (ICDD-PDF4).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass mit Hilfe einer modifizierten Polyolsynthese in der Mikrowelle phasenreine, sphärische Silber-Nanopartikel hergestellt werden können. Im direkten Vergleich mit der Glucose-Synthese liegen keine Verunreinigungen durch Stäbchen und/oder Prismen vor. Die Ausbeute ist abhängig von der Reaktionszeit und nach 20 min bei 160 °C mit $\geq 98\%$, bezogen auf die zentrifugierbare Menge Silber, nahezu quantitativ. Auch die Partikelgröße ist abhängig von der Reaktionszeit und kann deshalb in einem gewissen Rahmen kontrolliert werden. Das Partikelwachstum wurde mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie zu verschiedenen Zeitpunkten der Reaktion beobachtet und lässt auf einen interessanten Mechanismus schließen, in dem sich zunächst große Partikel bilden, die sich im weiteren Verlauf zugunsten kleinerer Partikel auflösen. Diethylenglycol ist als Lösemittel besser geeignet als Ethylenglycol.

Nach 20 min in der Mikrowelle erhält man elektrosterisch stabilisierte, monodisperse Silber-Nanopartikel mit einer Größe von ca. 120-180 nm. Diese sind über 24 Stunden bei 37 °C im Zellkulturmedium stabil und daher für biologische Folgeuntersuchungen geeignet. Das ζ -Potential beträgt -2,8 mV und ist somit schwach negativ. Die Struktur wurde weiterhin mittels HRTEM und Röntgenbeugung aufgeklärt, dabei zeigt sich eine leichte Vorzugsorientierung der kristallographischen {111}-Flächen sowie eine polykristalline Zusammensetzung mit Kristallitgrößen von ca. 22 nm.

5.2.6 Synthese von plättchenförmigen Silber-Nanopartikeln

Aufgrund ihrer hohen spezifischen Oberfläche sind plättchenförmige Silber-Nanopartikel thermodynamisch ungünstig. Die Synthese muss daher unter kinetischer Kontrolle geführt werden, d.h. es muss ein möglichst mildes Reduktionsmittel gewählt werden. Darmanin *et al.* konnten zeigen, dass das Reduktionspotential von Ethylenglycol im Polyolprozess herabgesetzt werden kann, indem eine Hydroxylgruppe alkyliert wird, so dass es dort nicht mehr oxidiert werden kann.^[193]



2-Ethoxyethanol

Abbildung 5.38.: Lewis-Strukturformel von 2-Ethoxyethanol.

Die Länge der Alkylkette hat dabei einen entscheidenden Einfluss auf die Form der Partikel, wobei sich 2-Ethoxyethanol (vgl. Abbildung 5.38) als am geeignetsten für die selektive Synthese plättchenförmiger Partikel erweist.^[193] Gegenüber Darmanin *et al.* wurde die Leistung der Mikrowelle beim Aufheizen der Reaktionslösung in der hier vorgestellten Synthese sukzessive von 25 W auf 200 W erhöht, da die Zieltemperatur von 140 °C ansonsten nicht in einer angemessenen Zeit erreicht werden kann. Die hergestellten Partikel wurden sorgfältig durch Waschen mit Aceton, Ethanol und Reinstwasser gereinigt und ausführlich charakterisiert.

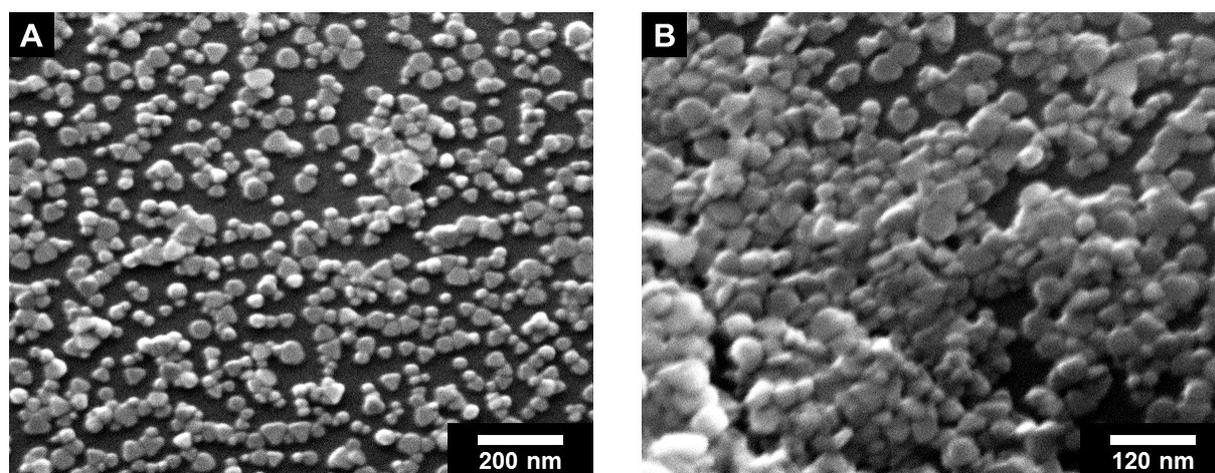


Abbildung 5.39.: REM-Aufnahmen der Silber-Nanoplättchen aus der Mikrowellensynthese nach einer Reaktionszeit von 35 min bei 140 °C in 2-Ethoxyethanol.

5. Ergebnisse und Diskussion

Im Rasterelektronenmikroskop erscheinen die Partikel bei einer Beschleunigungsspannung von 30 kV und einer Vergrößerung von 200.000x bzw. 300.000x monodispers (vgl. Abbildung 5.39). Die Ausdehnung des metallischen Kerns beträgt in der xy-Ebene ca. 20-40 nm, damit sind die Partikel kleiner als die Kugeln aus der Glucose- bzw. Mikrowellensynthese und die Auflösungsgrenze des Rasterelektronenmikroskops ist allmählich erreicht. In der Vergrößerungsaufnahme erkennt man einige Partikel, die auf der Kante zum Liegen gekommen sind. Eine zuverlässige Bestimmung der Größe in z-Richtung (Höhe) ist aber, bedingt durch die schlechte Auflösung, nicht möglich. In der Ebene sind die Partikel weitgehend dreieckig, teilweise auch rund. Aus den vorliegenden REM-Aufnahmen kann nicht ermittelt werden, ob und zu welchem Anteil auch sphärische Partikel vorliegen.

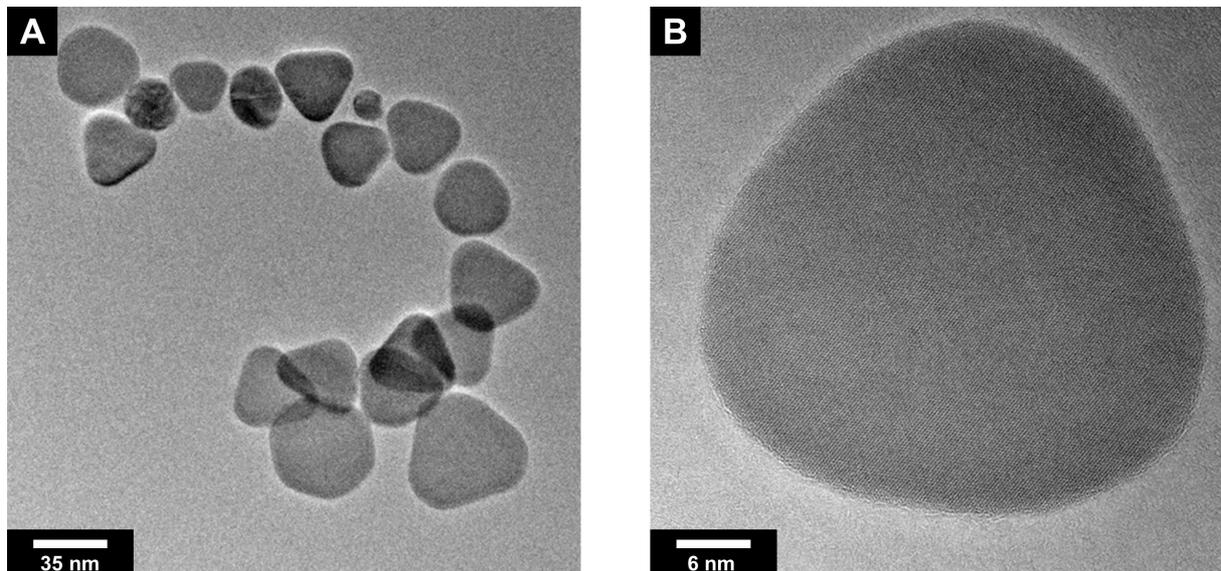


Abbildung 5.40.: HRTEM-Aufnahmen der Silber-Nanoplättchen aus der Mikrowellensynthese.

Aufgrund der beschriebenen Limitationen wurden zur weiteren Strukturaufklärung HRTEM-Aufnahmen bei 300 kV durch Frau Dr. Kateryna Loza am Forschungszentrum Jülich angefertigt (vgl. Abbildung 5.40). In guter Übereinstimmung zu den oben beschriebenen Ergebnissen aus der Rasterelektronenmikroskopie sowie zu den von Darmanin *et al.* präsentierten TEM-Bildern^[193] haben die Partikel eine abgerundet dreieckige oder hexagonale, flache Form mit einer Breite von 20-40 nm. Die Höhe beträgt nach Darmanin *et al.* ca. 10-15 nm.^[193] Weiterhin ist nun deutlich zu erkennen, dass die meisten Partikel einkristallin vorliegen und nicht verzwilligt sind.

Die hydrodynamischen Radien sowie die kolloidale Stabilität der Plättchen in Reinstwasser und in RPMI/FBS wurden für Silber-Konzentrationen von 50 mg mL^{-1} wie in Kapitel 5.1 beschrieben mittels DLS bestimmt. Für die mittleren Partikelgrößen und den PDI ergeben sich folgende Werte:

Medium	Durchmesser	PDI
Reinstwasser	48 nm	0,33
RPMI/FBS nach 1 h bei RT	60 nm	0,30
RPMI/FBS nach 24 h bei 37 °C	57 nm	0,31

Tabelle 5.9.: *Mittlere Partikelgröße und PDI der durch Mikrowellen-Synthese hergestellten Ag-Nanoplättchen in Reinstwasser sowie Zellkulturmedium.*

Bei der Interpretation der Daten muss berücksichtigt werden, dass bei der DLS für die Berechnung der Partikelgrößen von einer sphärischen Morphologie der Partikel ausgegangen wird, aufgrund der bestehenden Anisotropie sind die Daten also fehlerbehaftet. Dennoch stimmt der ermittelte hydrodynamische Durchmesser von 48 nm in Reinstwasser gut mit den elektronenmikroskopischen Daten für die Ausdehnung in der Ebene überein und ist erwartungsgemäß aufgrund der Solvathülle etwas größer als der metallische Kern. Der PDI liegt mit ca. 0,3 sowohl in Reinstwasser als auch im Zellkulturmedium an der Grenze zwischen einer monodispersen und einer polydispersen Verteilung. Da die Plättchen sowohl im Elektronenmikroskop als auch in der DCS (siehe unten) monodispers erscheinen, kann hier davon ausgegangen werden, dass der relativ hohe PDI durch die Abweichungen von der Kugelsymmetrie mitverursacht wird. Die Partikelgrößenverteilung ist in Abbildung 5.41 dargestellt.

5. Ergebnisse und Diskussion

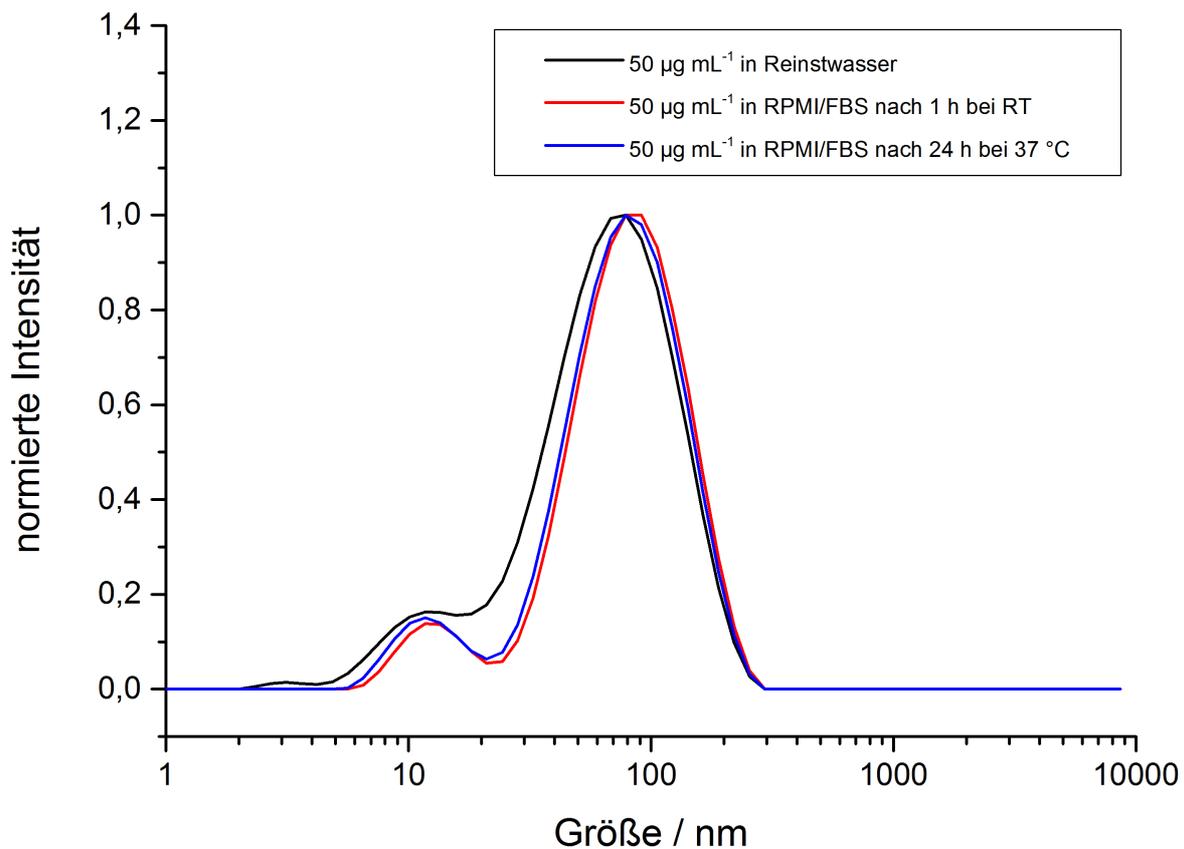


Abbildung 5.41.: Größenverteilung der durch Mikrowellen-Synthese hergestellten Ag-Nanoplättchen in wässrigem Medium sowie in Zellkulturmedium, bestimmt mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Man erhält unabhängig vom Medium eine bimodale Partikelgrößenverteilung mit einem primären Maximum bei ca. 80 nm und einem sekundären Maximum bei ca. 10 nm. Interessant ist, dass der Wert von 80 nm unter Berücksichtigung der Solvathülle in etwa mit der Breite der Partikel korreliert werden kann, während 10 nm der durch Darmanin *et al.* bestimmten Höhe entspricht. Es ist aber auch denkbar, dass tatsächlich verschieden große Partikel vorliegen, so sind z.B. in Abbildung 5.40A vereinzelt sehr kleine Partikel mit Durchmessern < 20 nm zu beobachten. Dadurch könnte auch der relativ hohe PDI von 0,33 erklärt werden. Im Zellkulturmedium kommt es nach 24 h bei 37 °C nicht zur nennenswerten Agglomeration, es ist lediglich die übliche Radienvergrößerung aufgrund der Anlagerung von Proteinen bzw. der Abweichungen in den physikalischen Parametern des Lösemittels zu beobachten. Demzufolge sind die Plättchen für den Einsatz im Zellexperiment geeignet. Das ζ -Potential in Reinstwasser beträgt -7,3 mV.

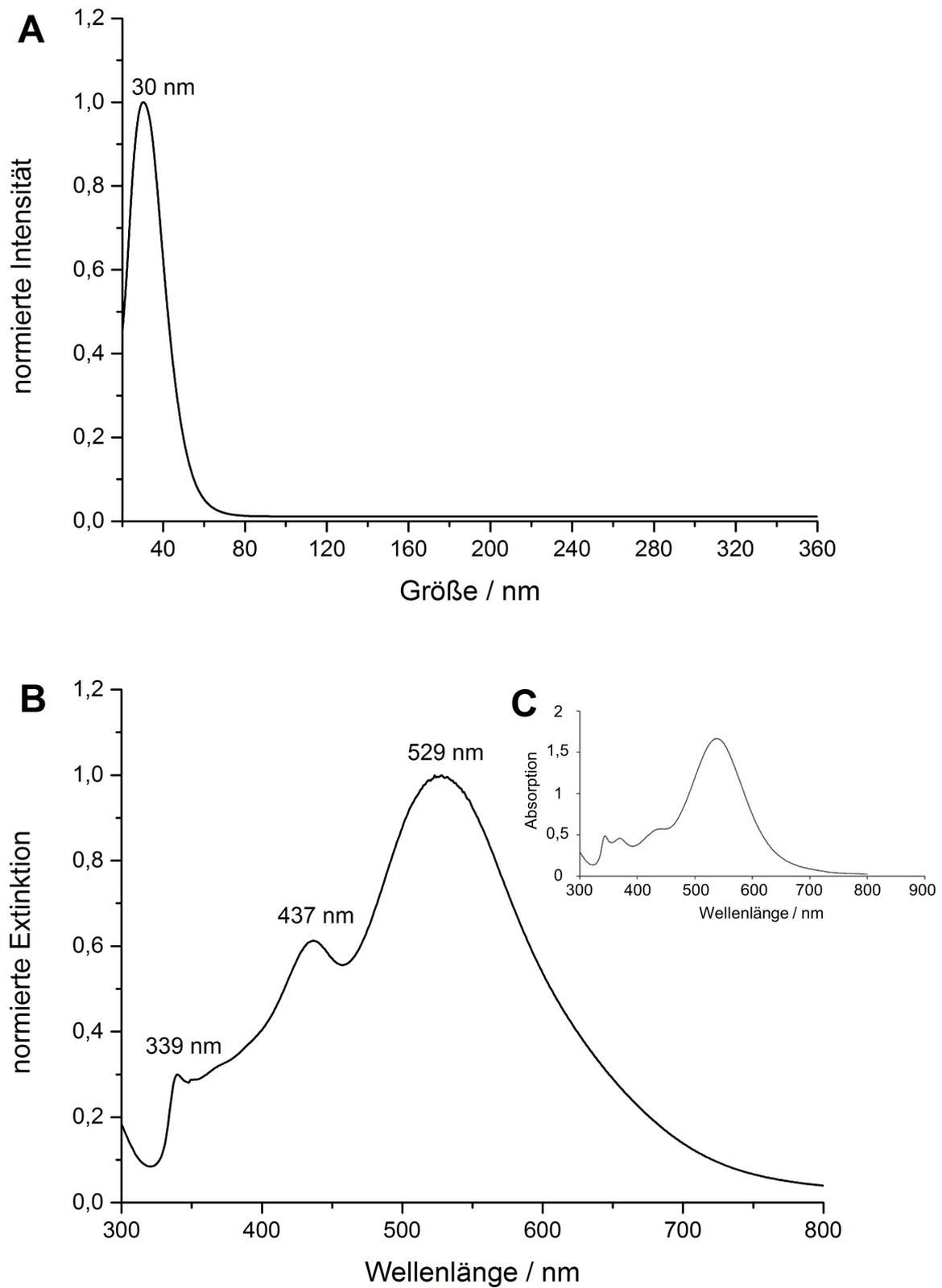


Abbildung 5.42.: (A) Größenverteilung der Silber-Nanoplättchen, bestimmt mittels DCS in H_2O .
(B) Experimentell ermitteltes UV/Vis-Spektrum der Silber-Nanoplättchen.
(C) UV/Vis-Spektrum der Silber-Nanoplättchen nach Darmanin et al.^[193]

5. Ergebnisse und Diskussion

Bei der Analyse mittels analytischer Scheibenzentrifugation ergibt sich eine schmale, monomodale Partikelgrößenverteilung mit einem Maximum bei 30 nm (vgl. Abbildung 5.42A). Dieser Wert liegt in guter Übereinstimmung zum Durchmesser in xy-Richtung aus der Elektronenmikroskopie. Auch bei der DCS wird von einer sphärischen Morphologie ausgegangen, im Gegensatz zur DLS ist hier allerdings keine bimodale Verteilung zu beobachten. Die schmale Bande spricht für ein monodisperses System.

Das experimentell ermittelte UV/Vis-Spektrum stimmt gut mit dem von Darmanin *et al.* publizierten Spektrum überein (vgl. Abbildung 5.42B und C).^[78] Die Absorptionsbanden bei 529 nm und bei 339 nm können der *in-plane* Quadrupol-Resonanz bzw. der *out-of-plane* Quadrupol-Resonanz zugeordnet werden und sind charakteristisch für flache, prismatische Silber-Nanopartikel.^[246,247] Die Bande bei ca. 370 nm für die *out-of-plane* Dipol-Resonanz ist im experimentell aufgezeichneten Spektrum nur schwach angedeutet, während sie im Literaturvergleich deutlich zu erkennen ist. Weiterhin tritt in beiden Spektren ein Maximum bei ca. 430-450 nm auf, welches auf eine nicht quantifizierbare Verunreinigung mit sphärischen Silber-Nanopartikeln hinweisen könnte.

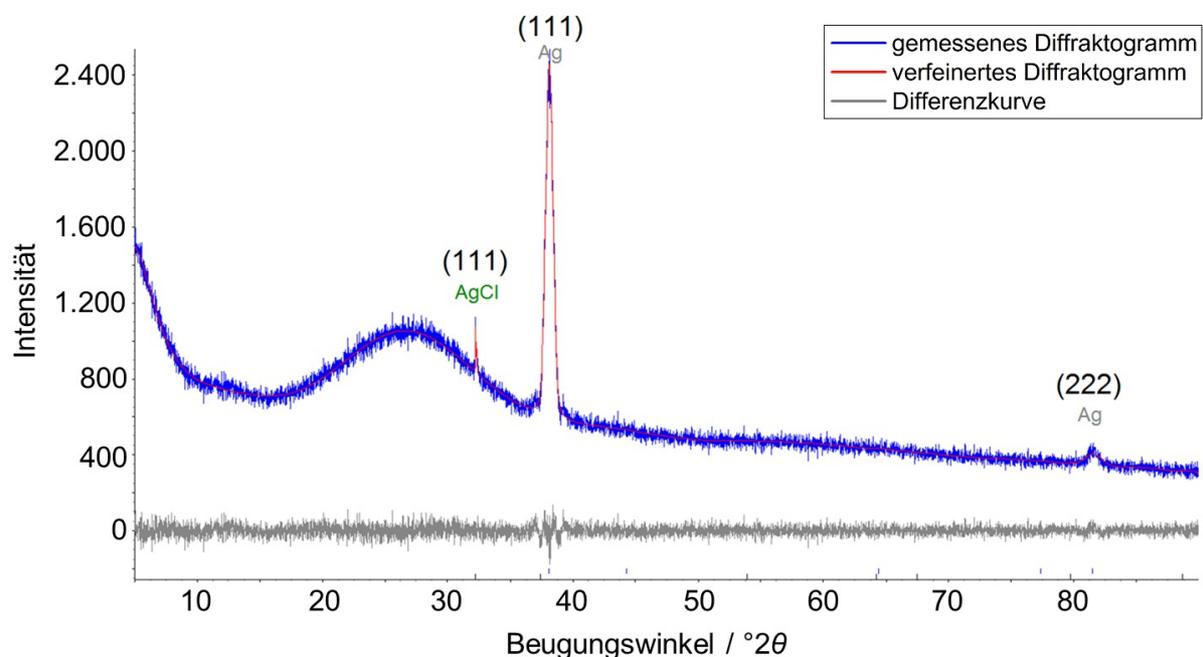


Abbildung 5.43.: Pulverdiffraktogramm der plättchenförmigen/prismatischen Silber-Nanopartikel nach Rietveld-Verfeinerung und Indizierung der kristallographischen Flächen.

Die Röntgenpulverdiffraktometrie gibt weiteren Aufschluss über die Reinheit, Zusammensetzung und Morphologie der Partikel. Die Probe wurde in wässriger Suspension auf einen einkristallinen Silicium-Probenträger getropft und an der Luft getrocknet. Das experimentell aufgezeichnete Diffraktogramm wurde von Herrn Dr. Oleg Prymak mit der Rietveld-Methode verfeinert (vgl. Abbildung 5.43).

Reflex gemessen $^{\circ}2\theta$	Reflex Literatur $^{\circ}2\theta$	Phase nach PDF4	Kristallfläche Millersche Indizes
32,23	32,167	AgCl	(111)
38,09	38,117	Ag	(111)
81,48	81,539	Ag	(222)

Tabelle 5.10.: Zuordnung der experimentell ermittelten Reflexe aus dem Pulverdiffraktogramm für Silber-Nanoplättchen aus der Mikrowelle zu den entsprechenden Kristallflächen und Literaturdaten (ICDD-PDF4).

Aus dem Netzebenenabstand d wurde die Gitterkonstante a berechnet, der Wert von 4,09(1) Å stimmt gut mit dem Literaturwert von 4,086(1) Å (ICDD-PDF4 #04-0783) überein. Die Reflexe wurden, soweit möglich, indiziert und mit den Literaturwerten für Silber (ICDD-PDF4 #04-0783) und Silberchlorid (#031-1238) abgeglichen (vgl. Tabelle 5.10). Dabei können die Reflexe bei 38,09 $^{\circ}2\theta$ und 81,48 $^{\circ}2\theta$ den kristallographischen {111} bzw. {222}-Flächen von f.c.c.-Silber zugeordnet werden. Daneben findet sich ein weiterer, scharfer Reflex bei 32,23 $^{\circ}2\theta$, der eine Spurenverunreinigung mit kubisch-flächenzentriertem Silberchlorid andeutet. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass ein entsprechender Reflex auch schon bei der Mikrowellensynthese von sphärischen Silber-Nanopartikeln zu beobachten war, bei herkömmlichen Reaktionen im Ölbad allerdings nicht auftritt. Da alle verwendeten Chemikalien laut Herstellerangaben chloridfrei waren, kommt eventuell eine Verunreinigung durch die Mikrowellen-Reaktionsgefäße in Betracht.

Für beide Phasen liegt eine deutliche Vorzugsorientierung der {111}-Flächen vor, wobei die anderen erwarteten Reflexe, abgesehen von dem Signal bei 81,5 $^{\circ}2\theta$ für die {222}-Flächen von Silber, überdeckt werden. Die elektronenmikroskopischen Bilder lassen vermuten, dass die Plättchen größtenteils mit ihrer glatten, langen

5. Ergebnisse und Diskussion

Fläche auf dem Probenträger zum Liegen kommen. Aufgrund ihrer kollektiven Anordnung wird als Resultat die beobachtete Textur verursacht (vgl. Abbildung 5.44).

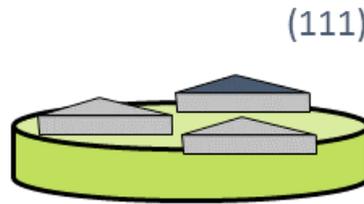


Abbildung 5.44.: Anordnung der Nanoprismen auf dem PXRD-Probenträger mit Zuordnung der {111}-Flächen (schematisch).

Die Vorzugsorientierung kann genutzt werden, um mit Hilfe der Scherrer-Gleichung (vgl. Kapitel 3.4.3) aus der Halbwertsbreite der Reflexe die Kristallitgröße in [111]-Richtung zu bestimmen, die bedingt durch die gerichtete Anordnung sowie durch die einkristalline Struktur der Dicke der Plättchen entspricht. Mit einem K -Faktor von 0,89 wurde ein Wert von 15 nm berechnet. Dieses Ergebnis bestätigt die von Darmanin *et al.* aus TEM-Bildern geschätzte Dicke von ca. 10-15 nm.^[193] Da auch die {111}-Flächen der vermuteten Silberchlorid-Phase stark texturiert sind, ist es wahrscheinlich, dass diese ebenfalls mit einer Vorzugsorientierung kristallisiert und gerichtet auf dem Probenträger angeordnet ist. Der zugehörige Reflex bei $32,23^\circ 2\theta$ ist nicht verbreitert, sondern im Gegenteil sehr scharf. Aus diesem Grund handelt es sich vermutlich nicht um nanopartikuläres Silberchlorid, sondern eher um größere Aggregate. Bei diesen Überlegungen muss allerdings berücksichtigt werden, dass ein einzelner Reflex keine ausreichende Evidenz für das Vorliegen einer bestimmten Phase ist, sodass auch eine andere, nicht identifizierbare Verunreinigung in Frage kommen könnte.

Um die mit der Scherrer-Gleichung berechnete Dicke der Plättchen durch weitere experimentelle Daten abzusichern, wurde zusätzlich eine Charakterisierung mittels Rasterkraftmikroskopie durchgeführt. Es wurde eine Verdünnungsreihe in Reinstwasser vorbereitet, anschließend wurden die Partikel in verschiedenen Konzentrationen auf einen Glasträger gegeben und an der Luft getrocknet. Die Messungen wurden in Kooperation mit Herrn Dr. Christoph Groß-Heitfeld durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.45 graphisch dargestellt.

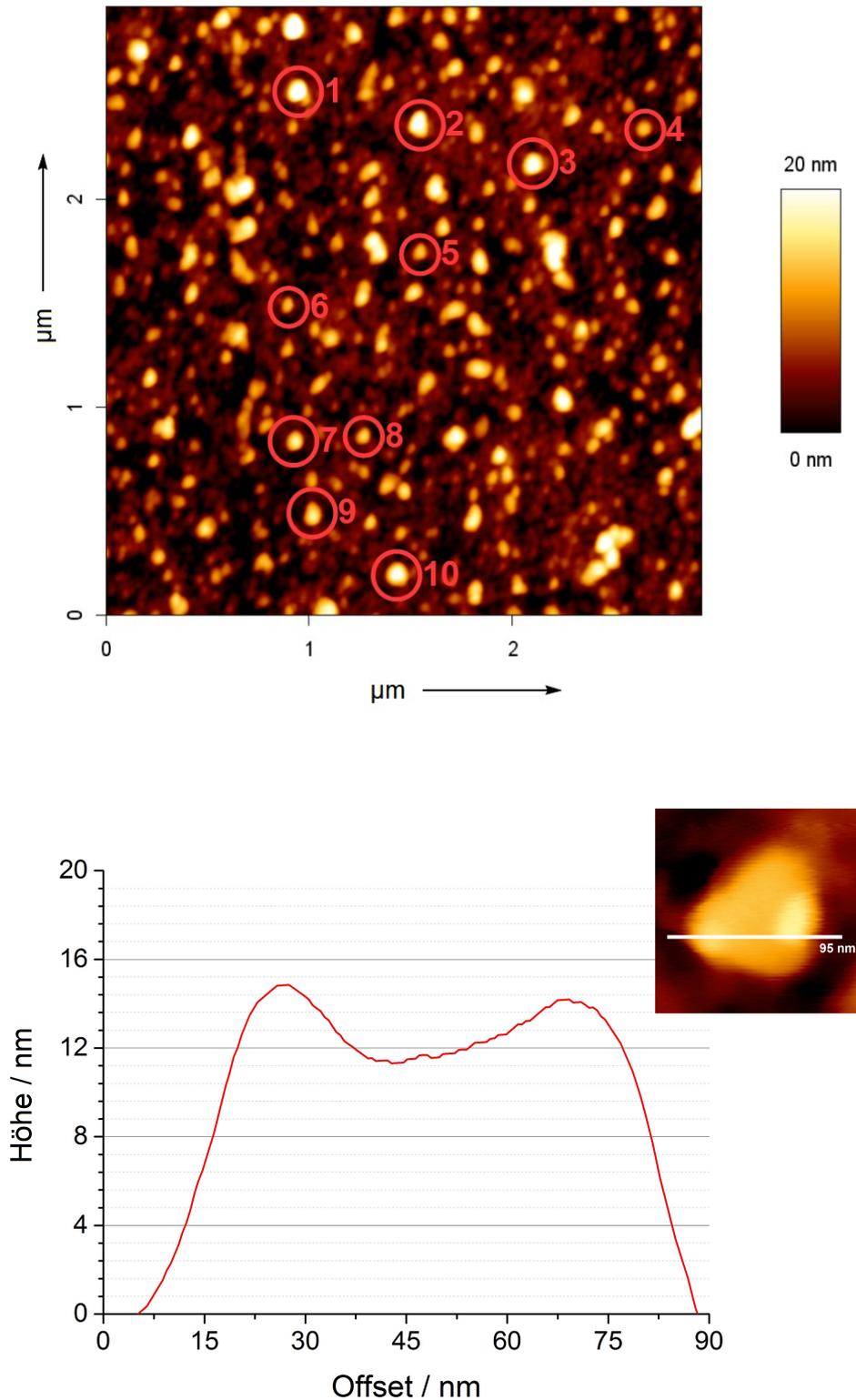


Abbildung 5.45.: AFM-Aufnahme der in der Mikrowelle hergestellten Ag-Nanoplättchen. In der Übersichtsaufnahme (oben) wurden 10 Partikel markiert, deren Halbwertsbreiten und Höhenprofile einzeln vermessen wurden (unten).

5. Ergebnisse und Diskussion

In der Übersichtsaufnahme (vgl. Abbildung 5.45) erscheinen die Partikel homogen und monodispers. Im Vergleich zu der AFM-Aufnahme von Silber-Nanokugeln aus der Glucose-Synthese weisen sie eine deutlich geringere Höhe auf (vgl. Kapitel 5.1).

#	Breite / nm	Höhe / nm	Verhältnis
1	100	22	4,5 : 1
2	75	20	3,8 : 1
3	80	20	4,0 : 1
4	80	12	6,7 : 1
5	70	12	5,8 : 1
6	50	12	4,2 : 1
7	80	15	5,3 : 1
8	80	12	6,7 : 1
9	80	15	5,3 : 1
10	100	20	5,0 : 1
Ø	80	16	5,0 : 1

Tabelle 5.11.: Größe der markierten Silber-Nanopartikel aus der AFM-Auswertung (vgl. Abb. 5.45).

Zur weiteren Analyse wurden einzelne Partikel ausgewählt, markiert und ihre Halbwertsbreite sowie ihr Höhenprofil digital ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.11 zusammengefasst. Die Partikel weisen in der xy-Ebene einen Durchmesser von ca. 70-100 nm auf. Dieser Wert ist aufgrund der geringen Anzahl an ausgewerteten Partikeln nicht repräsentativ und gegenüber den mittels REM, TEM, DLS und DCS ermittelten Radien erhöht. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass manuell eher größere Partikel ausgewählt wurden, um die Messung zu erleichtern, der tatsächliche Durchschnittswert sollte also < 80 nm sein. Die durchschnittliche Partikelhöhe beträgt ca. 16 nm und bestätigt damit sowohl die berechneten Kristallitgrößen aus dem Pulverdiffraktogramm als auch den von Darmanin *et al.* aus TEM-Aufnahmen geschätzten Wert von etwa 10-15 nm.^[193] Wie bereits in Kapitel 5.1 erläutert, ist die Höhenmessung aufgrund der empfindlichen Spitze des Rasterkraftmikroskops fehlerbehaftet. Dennoch ist ein deutlicher

Unterschied zu den durch Glucose-Synthese hergestellten Silber-Nanokugeln zu erkennen, deren Verhältnis von Partikelbreite zu -höhe im statistischen Mittel 3:1 beträgt und damit signifikant unter dem für die Plättchen ermittelten Verhältnis von 5:1 liegt.

Zusammengefasst wurden plättchenförmige, prismatische Silber-Nanopartikel mit der Methode von Darmanin *et al.* in der Synthesemikrowelle hergestellt. Der Durchmesser des metallischen Partikelkerns beträgt 20-40 nm, die Höhe ca. 15 nm. Die Partikel sind mit PVP stabilisiert, haben ein negatives ζ -Potential von -7,3 mV und sind sowohl in Reinstwasser als auch in RPMI/FBS bei 37 °C über 24 h stabil und daher für Zellkulturexperimente geeignet. Im UV/Vis-Spektrum zeigen sich für Prismen typische Absorptionsbanden, die der *in-plane* und *out-of-plane* Quadrupol-Resonanz zugeordnet werden können. Im Pulverdiffraktogramm ist eine deutliche Textur der {111}-Flächen zu beobachten. Die Höhe der Partikel wurde unter Ausnutzung ihrer spezifischen Orientierung auf dem Probenträger mit Hilfe der Scherrer-Gleichung berechnet und mittels Rasterkraftmikroskopie verifiziert. Das Ergebnis von ca. 15 nm stimmt gut mit der durch Darmanin *et al.* aus der Transmissionselektronenmikroskopie geschätzten Höhe überein.

5.3 Reproduzierbarkeit von Silber-Nanopartikel-Synthesen

Während die zugrunde liegenden chemischen Reaktionen bei der Synthese von Nanopartikeln, z.B. die Reduktion von Ag^+ -Ionen zu Silber in Anwesenheit eines Stabilisators, zumeist einfach und leicht verständlich sind, sind die dabei ablaufenden physikalischen Vorgänge hochkomplex und bis heute nicht vollständig verstanden.^[45] Die kritische Phase der Kristallkeimbildung, in der die Form des späteren Nanokristalls determiniert wird (vgl. Kapitel 2.3), ist ein hochdynamischer Prozess, der mit keiner der derzeit verfügbaren experimentellen Methoden exakt beobachtet werden kann.^[248] Über die exakten, dabei ablaufenden Mechanismen gibt es zwar zahlreiche plausible Theorien, aber keine experimentell fundierten Beweise, aus denen sich ein generelles Synthesekonzept ableiten lassen könnte.^[45,47]

Ein Großteil der publizierten Methoden zur formkontrollierten Synthese metallischer Nanopartikel beruht daher eher auf empirischen Beobachtungen als auf einem konzeptionellen Verständnis. Daraus ergeben sich in der Praxis erhebliche Probleme mit der zuverlässigen Reproduzierbarkeit solcher Reaktionen. Xia *et al.* konnten zeigen, dass sich z.B. bei der Kristallisation von Silber-Nanowürfeln eine Vielzahl verschiedener und teils unkonventioneller Reaktionsparameter drastisch auf die Qualität und Morphologie der gebildeten Nanopartikel auswirken können. So spielen Faktoren wie z.B. die exakte Größe und Form der verwendeten Reaktionsgefäße und Magnetührstäbchen, Spurenverunreinigungen der Lösemittel und Reaktanden im Bereich < 1 ppm, möglicher Abrieb von Eisen aus Metallspateln oder geringste Abweichungen in der Reaktionstemperatur eine nicht zu vernachlässigende Rolle und können die Form der Partikel maßgeblich beeinflussen.^[50] In einer vergleichenden Studie haben Khlebtsov *et al.* den Einfluss weiterer, schwer kontrollierbarer Parameter, z.B. den Oxidationsgrad des Lösemittels bei der Polyolsynthese oder mögliche Spureneintragungen von Metallen aus der Oberfläche der verwendeten Glasgefäße, herausgearbeitet. Eine hohe Reproduzierbarkeit konnte auch bei strikter Kontrolle der Temperatur, der Konzentration und stöchiometrischen Verhältnisse der Edukte sowie der Reaktionszeit erst dadurch erreicht werden, dass selbst neue, saubere Glasgeräte vor ihrer Anwendung zunächst sorgfältig mit *aqua regia* gereinigt wurden.^[49]

Die Erkenntnisse aus diesen Studien lassen sich prinzipiell auf nahezu alle Methoden übertragen, mit denen metallische Nanopartikel mit kontrollierter Morphologie hergestellt werden sollen. Da in jedem Labor aus praktischen Gründen unter leicht anderen Bedingungen und mit Chemikalien verschiedener Hersteller und Chargen, bzw. unterschiedlichen Reaktionsgefäßen und Verbrauchsmaterialien gearbeitet wird, die meisten Synthesen aber labil gegenüber solchen kleinsten Veränderungen sind, kommt es in der Praxis häufig zu nicht vorhersehbaren Abweichungen in Form und Qualität der hergestellten Partikel. Aus diesen Gründen ist es nicht nur sinnvoll, sondern sogar absolut erforderlich, sämtliche Arbeitsschritte genau zu dokumentieren und im Rahmen einer Publikation mit zu veröffentlichen, wenn eine verlässliche Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sichergestellt werden soll. Dennoch wird die experimentelle Durchführung in der Praxis häufig leider nur oberflächlich oder manchmal sogar unvollständig bzw. fehlerhaft beschrieben.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Vielzahl verschiedener, literaturbekannter Synthesen ausprobiert, von denen die meisten allerdings nicht oder nur unter erheblicher Optimierung der Reaktionsbedingungen reproduziert werden konnten. Häufig weicht entweder die Morphologie der Partikel deutlich ab, oder es entstehen Mischungen unterschiedlicher Formen, die nicht voneinander getrennt werden können. Manchmal war es zwar möglich, die beschriebenen Partikel herzustellen und z.B. mittels REM und UV/Vis-Spektroskopie nachzuweisen, jedoch kam es bei der Aufarbeitung zur Zersetzung, weshalb eine weitere Charakterisierung und Anwendung im biologischen Medium nicht in Betracht gezogen werden konnte. In einigen Fällen fehlten wichtige Informationen wie z.B. die Leistung der verwendeten Synthesemikrowelle,^[237] oder es kam bei den gegebenen Bedingungen zu Nebenreaktionen wie z.B. der vollständigen Ausfällung von Silber in Form von Ag_2S .^[239]

Auf eine erschöpfende Diskussion nicht erfolgreicher Synthesen wird an dieser Stelle verzichtet. Stattdessen werden häufig auftretende Probleme im folgenden Kapitel anhand von ausgewählten, konkreten Beispielen bei der Darstellung von Silber-Nanowürfeln diskutiert. Weiterhin gibt Tabelle 5.12 einen Überblick über alle getesteten, aber nicht reproduzierbaren Literaturstellen.

5. Ergebnisse und Diskussion

Erwartete Form	Literaturstelle	Kommentar
Würfel	<i>J. Phys. Chem. B</i> 2005 , 109, 5497.	*
Würfel	<i>Chem. Phys. Lett.</i> 2006 , 432, 491.	-
Würfel	<i>Nanotechnology</i> 2008 , 19, 065604.	-
Würfel	<i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2010 , 132, 8552.	-
Würfel	<i>Chem. Phys. Lett.</i> 2011 , 501, 414.	*
Würfel	<i>Coll. J.</i> 2012 , 74, 99.	-
Würfel	<i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2013 , 135, 1941.	-
Plättchen	<i>Nano Lett.</i> 2003 , 3, 675.	-
Prismen	<i>Science</i> 2001 , 294, 1901.	#
Prismen	<i>Adv. Mater.</i> 2005 , 17, 412.	#
Prismen	<i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2007 , 46, 4917.	-
Prismen	<i>J. Chem. Educ.</i> 2010 , 87, 1098.	#
Stäbchen	<i>Chem. Commun.</i> 2001 , 617.	-
Stäbchen	<i>Adv. Funct. Mater.</i> 2014 , 14, 183.	-

Tabelle 5.12.: Überblick über die in dieser Arbeit getesteten, aber nicht reproduzierbaren Syntheseverfahren aus der Literatur.

Kommentare

- Es entstehen keine nennenswerten Mengen an Partikeln oder die Partikel sind inhomogen und weichen von der in der Literatur beschriebenen Form ab.
- # Es entstehen Partikel, die in ihrer Form und Größe in etwa den Angaben der Literatur entsprechen. Der Nachweis gelang mit mittels REM und UV/Vis. Bei der Aufarbeitung kommt es jedoch zur vollständigen Zersetzung.
- * Die Literaturvorschrift ist offensichtlich fehlerhaft. Es fehlen wichtige Angaben, das Löslichkeitsprodukt der Edukte wird überschritten oder es laufen konkurrierende Nebenreaktionen ab, die vom Autor nicht diskutiert wurden.

5.4 Polyolprozess zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln

5.4.1 Darstellung von Silber-Nanowürfeln durch oxidatives Ätzen

Die Synthese von Silber-Nanowürfeln ist ein gutes Beispiel für die in Kapitel 5.3 diskutierte schlechte Reproduzierbarkeit vieler literaturbekannter Methoden. So schlagen z.B. Yam *et al.* eine tensidvermittelte Hydrothermalreaktion vor, mit der monodisperse Würfeln mit einer Kantenlänge von 55 ± 5 nm hergestellt werden können. Der Zusatz von Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) erfüllt dabei mehrere Funktionen: Neben der sterischen Stabilisierung der gebildeten Nanopartikel trägt es auch zur kinetischen Kontrolle der Morphologie bei, indem Silber in Form von AgBr aus dem Gleichgewicht entzogen und mit fortschreitender Reduktion langsam wieder zur Verfügung gestellt wird. Weiterhin spielen auch die selektive Komplexierung unterschiedlicher kristallographischer Flächen sowie die Bildung von Mizellen (vgl. Kapitel 2.3.4) eine entscheidende Rolle.^[100,116] Trotz sorgfältiger Durchführung der Experimente konnten die Partikel jedoch nicht in ausreichender Qualität und Ausbeute reproduziert werden.

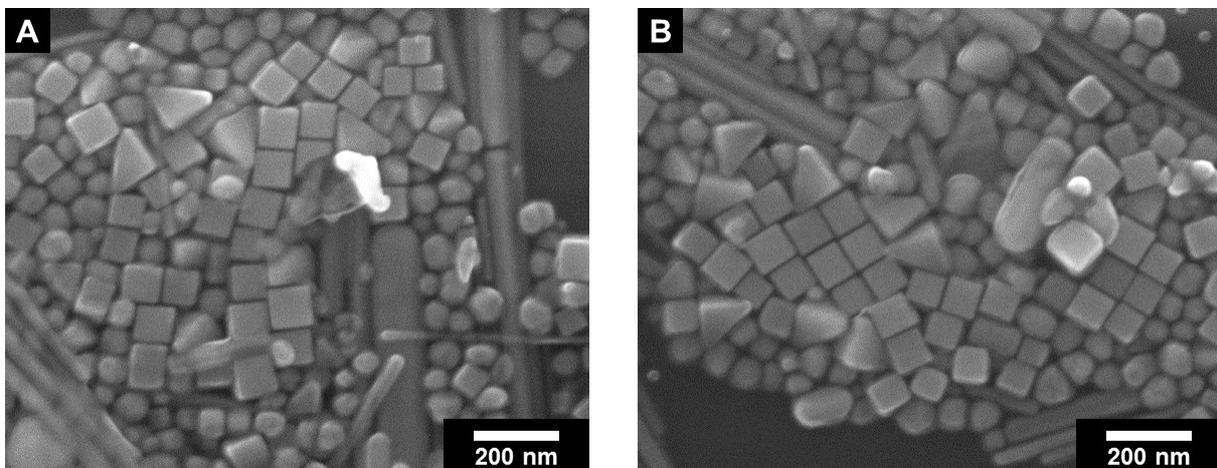


Abbildung 5.46.: REM-Aufnahmen der durch Hydrothermalsynthese^[100] hergestellten Silber-Nanopartikel nach Optimierung der Reaktionsparameter. Es sind zwar Würfel entstanden, allerdings liegen daneben auch zahlreiche andere Formen wie z.B. Kugeln, Stäbchen und Tetraeder vor.

Gibt man, wie in der Literatur beschrieben,^[100] das Tensid CTAB erst nach der Glucose-Lösung zu, so setzt die Reduktion des Silberdiamminkomplexes $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$ verfrüht ein und in der Folge entstehen Partikel mit unregelmäßiger Form. Weiterhin problematisch ist, dass die Autoren eine 50 millimolare ($18,2 \text{ g L}^{-1}$)

5. Ergebnisse und Diskussion

CTAB-Stammlösung verwenden,^[100] während die Löslichkeit von CTAB in Wasser bei ca. 20 °C lediglich 3,1 g L⁻¹ beträgt.^[249] Da es aus praktischen Gründen nicht möglich war, eine stark schäumende Suspension mit sichtbarem Bodensatz sinnvoll einzusetzen, wurde die Vorschrift unter mehreren Gesichtspunkten optimiert (vgl. Kapitel 4.6). Durch die vorgenommenen Veränderungen war es zwar möglich, einen hohen Anteil an Silber-Nanowürfeln herzustellen (vgl. Abbildung 5.46), diese konnten jedoch nicht sauber von den als Nebenprodukten entstandenen weiteren Formen wie z.B. Kugeln, Stäbchen und Tetraedern abgetrennt werden.

Neuere Arbeiten von Xia *et al.* beruhen auf einem modifizierten Polyolprozess, in dem Silbertrifluoracetat als Silberquelle und Diethylenglycol als Lösemittel dient. Die Form der Partikel wird hierbei kinetisch kontrolliert, indem ein Polyol mit niedrigerem Reduktionspotential als Ethylenglycol verwendet und dadurch ein langsames Wachstum erzwungen wird.^[132] Die Reaktionsgeschwindigkeit und die Qualität der gebildeten Partikel können weiter verbessert werden, indem durch Zugabe von Spuren Mengen an Na₂S oder NaHS *in situ* Ag₂S generiert wird, welches die Reduktion von Ag⁺ katalysiert.^[50,127] Auch diese Vorschrift konnte allerdings nicht erfolgreich reproduziert werden (vgl. Abbildung 5.47).

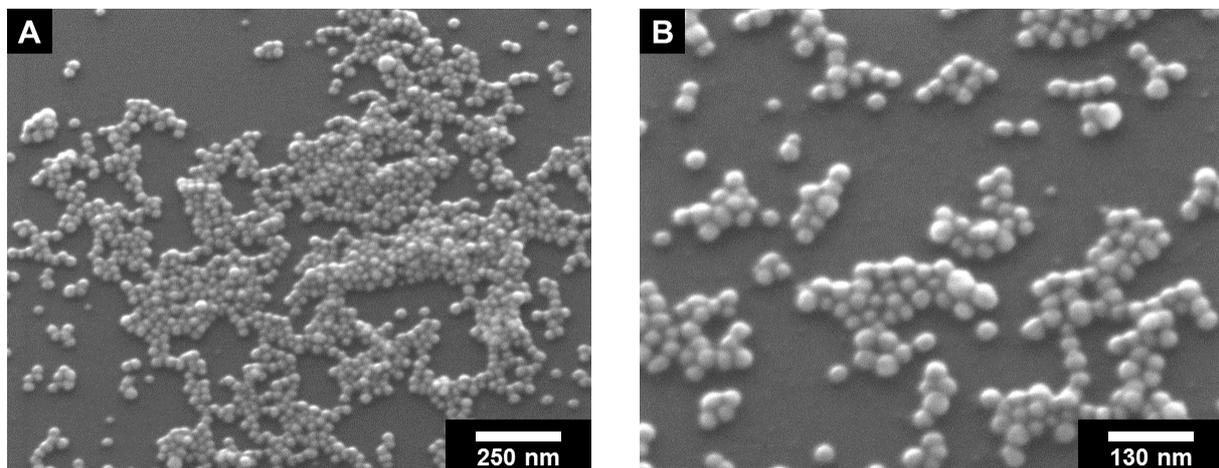


Abbildung 5.47.: REM-Aufnahmen der Nanopartikel aus der Synthese von Xia *et al.*^[132] Es entstehen zwar homogene, monodisperse Partikel in der Größe von < 100 nm, diese sind jedoch nicht würfelförmig, sondern weitgehend sphärisch.

Letztendlich erfolgreich war eine Methode, die auf dem selektiven Ätzen verzwilligter Kristallisationskeime beruht. Im Polyolprozess wird Silbernitrat durch das

Lösemittel Ethylenglycol reduziert. Dabei entstehen zunächst Kristallisationskerne mit fluktuierender Struktur, aus denen dann sowohl einkristalline als auch verzwilligte Keime wachsen (vgl. Kapitel 2.3). Xia *et al.* postuliert,^[126] dass durch den Zusatz geringer Mengen HCl zur Reaktionslösung *in situ* HNO₃ erzeugt werden kann, wodurch die gebildeten Keime teilweise wieder gelöst werden:



Aufgrund ihrer wesentlich höheren Anzahl an Oberflächen- und Gitterdefekten sind die verzwilligten Keime deutlich reaktiver und dadurch anfälliger für das oxidative Ätzen durch HNO₃ als die einkristallinen Keime. Im Optimalfall werden die verzwilligten Keime vollständig reoxidiert, während die einkristallinen Keime selektiv zu würfelförmigen Partikeln wachsen können, wenn zusätzlich ihre {100}-Flächen durch den Liganden PVP komplexiert sind (vgl. Kapitel 2.3.4).^[126]

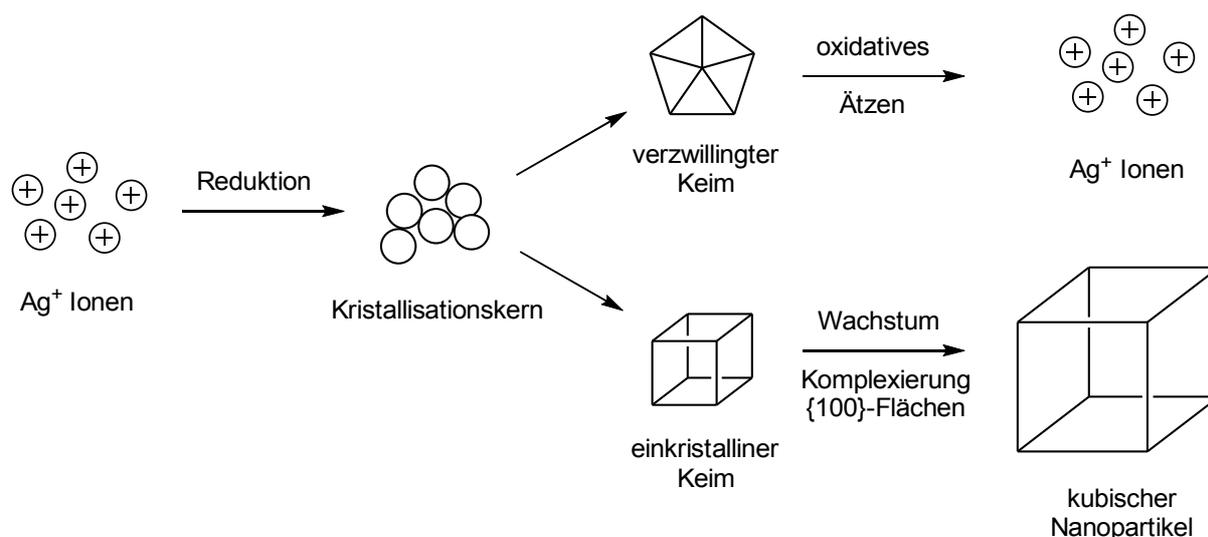


Abbildung 5.48.: Mechanismus des selektiven Ätzens, angelehnt an Xia *et al.* (schematisch).^[126]

Obwohl mit dieser Methode mehrfach Silber-Nanowürfel in hoher Qualität hergestellt werden konnten, kann auch hier eine extreme Empfindlichkeit gegenüber kleinsten und zum Teil nicht genau kontrollierbaren Störungen im Reaktionsablauf beobachtet werden. Besonders kritisch ist dabei vermutlich der durch die Raumluft eingetragene Anteil an Sauerstoff, der zum oxidativen Ätzen beitragen kann^[159] und von Xia *et al.* nicht näher quantifiziert wurde. In einem einfachen Experiment wurde die Reaktion zehnmal unter exakt den gleichen Bedingungen nach Xia *et al.* durchgeführt.^[126]

5. Ergebnisse und Diskussion

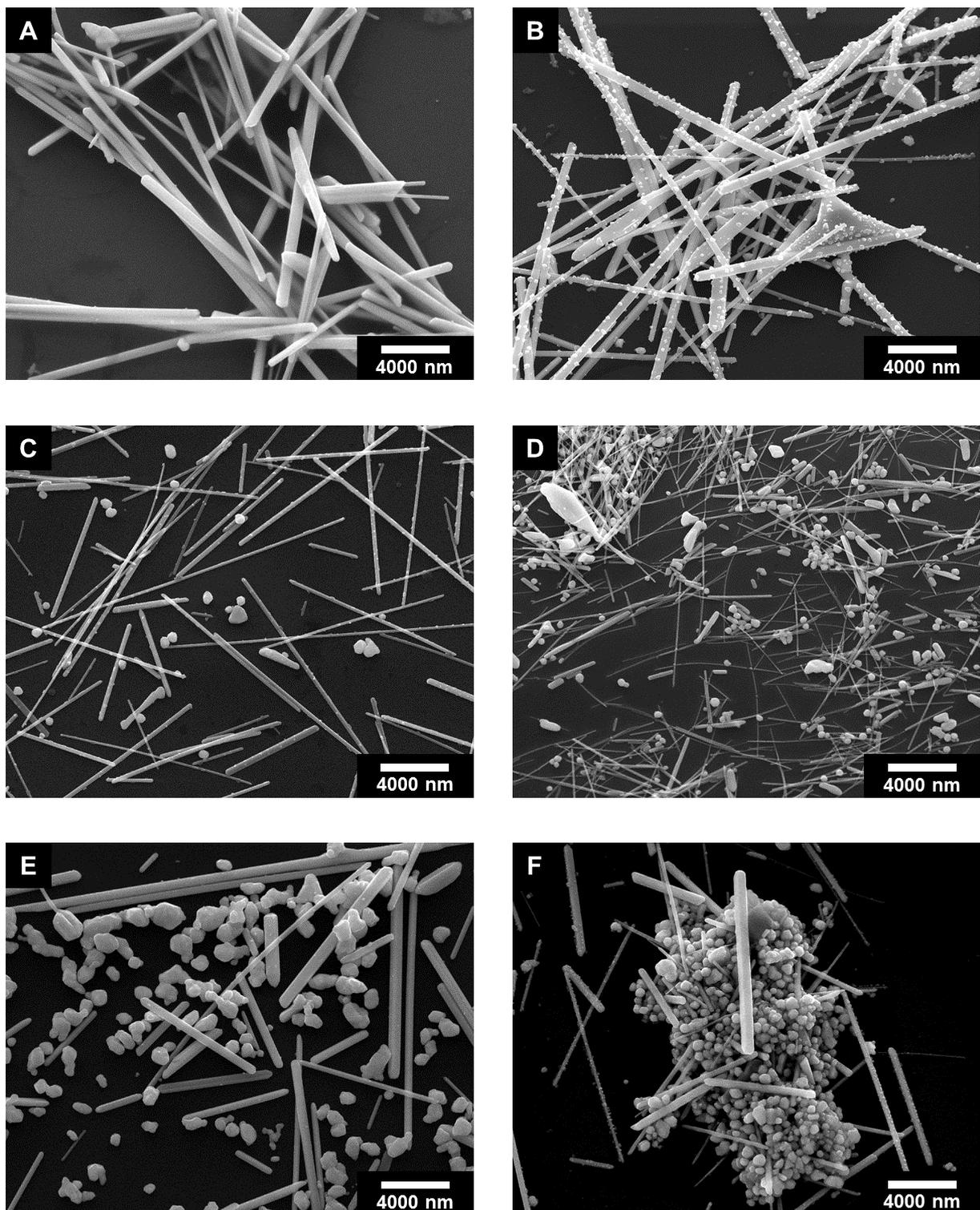


Abbildung 5.49.: Ausgewählte REM-Aufnahmen der durch oxidatives Ätzen nach Xia *et al.* hergestellten Nanopartikel.^[126] Die Bilder stammen aus unterschiedlichen Ansätzen, die aber jeweils unter exakt den gleichen Bedingungen durchgeführt wurden. Größe und Form der Partikel variieren und sind nicht vorhersagbar. Es entstehen z.B. nahezu reine (A) oder durch Kugeln bedeckte (B) Stäbchen, aber auch Mischungen unterschiedlicher Zusammensetzung (B-F).

Die gebildeten Nanopartikel wurden gereinigt, analysiert und verglichen. Form und Größe der Partikel variieren erheblich, obwohl die Reaktionsbedingungen innerhalb der Versuchsreihe nicht verändert wurden. Es entstehen unterschiedliche Mischungen von Stäbchen, bedeckten Stäbchen und Kugeln, jedoch keine Würfel (vgl. Abbildung 5.49).

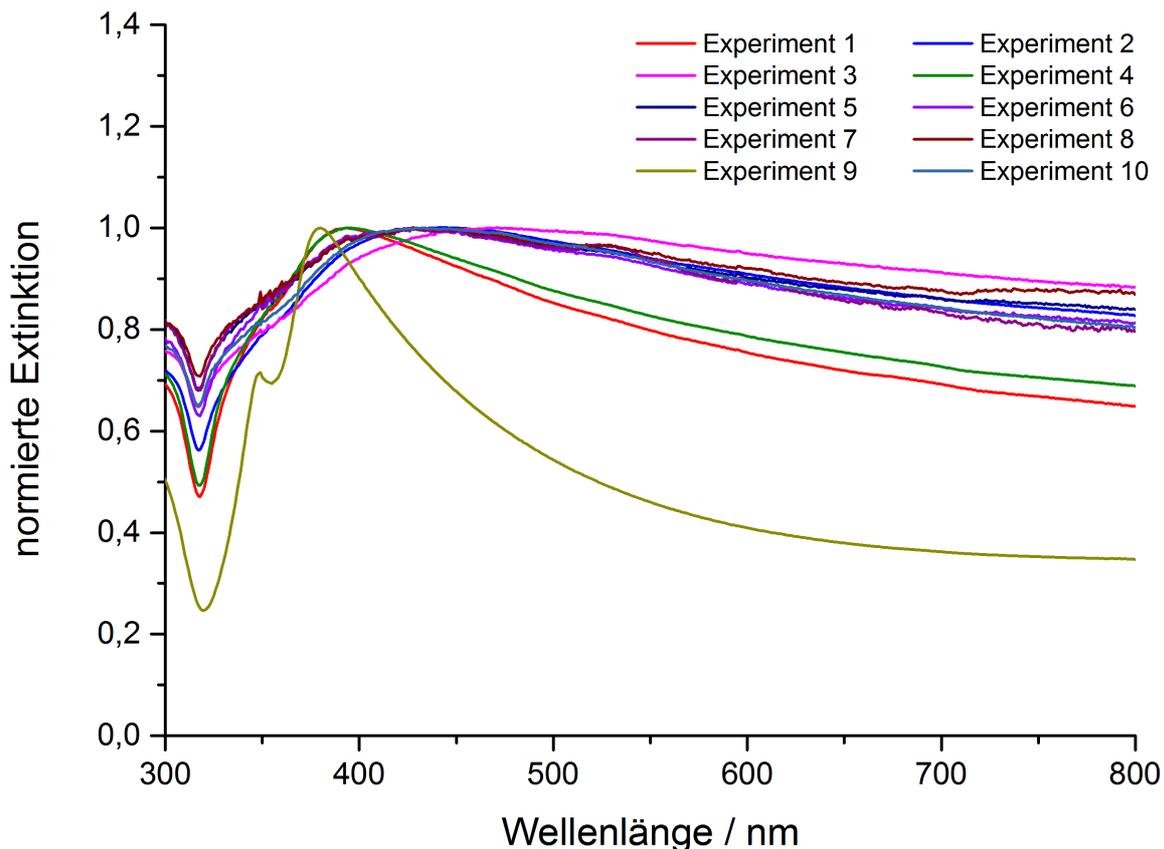


Abbildung 5.50.: UV/Vis-Spektren der nach Xia *et al.*^[126] hergestellten Partikel unter zehnmal exakt den gleichen Reaktionsbedingungen.

Die unterschiedliche Zusammensetzung der Kolloide kann auch im UV/Vis-Spektrum beobachtet werden. In den Experimenten 1, 4 und 9 ist ein deutlich höherer Anteil an kugelförmigen Partikeln entstanden als in den übrigen Experimenten, wodurch die Absorptionsbande bei ca. 400 nm schärfer wird und bei steigender Wellenlänge steiler abfällt (vgl. Abbildung 5.50).

Aus diesem Versuch können zwei wichtige Erkenntnisse gewonnen werden: Erstens ist die Reaktion hochempfindlich und unter den von Xia *et al.* beschriebenen Bedingungen nicht reproduzierbar, die Ursachen für die Streuung der Partikelgrößen und

5. Ergebnisse und Diskussion

-formen sind aber unbekannt. Zweitens entstehen keine Würfel, was zu der Annahme führt, dass das selektive Ätzen nicht nur von der HCl-Zugabe, sondern insbesondere auch vom Sauerstoffgehalt in der Reaktionslösung abhängt. Nach weiterer Optimierung war es möglich, folgende besonders kritische Parameter zu identifizieren:

- Selbst neuwertige Kolben und Magnetrührstäbchen müssen vor Gebrauch mit siedendem *aqua regia* und anschließend mehrfach mit siedendem Reinstwasser gespült werden, um Spurenverunreinigungen von Metallen auf der Oberfläche vollständig zu entfernen.^[49,161]
- Vor Zugabe der Edukte muss das Lösemittel Ethylenglycol für 60 min bei 140 °C und *offenem Kolben* gerührt werden. Dadurch wird gewährleistet, dass genug Sauerstoff für das oxidative Ätzen der mehrfach verzwilligten Kristallisationskeime zur Verfügung steht.
- Um eine möglichst homogene Keimbildung zu erreichen und gleichzeitig die vorzeitige Reduktion von Silbernitrat durch PVP oder Ethylenglycol zu verhindern, werden die Eduktlösungen frisch angesetzt, unmittelbar vor ihrer Zugabe vermischt und möglichst zügig in die Reaktionslösung gespritzt.

Mit besonderem Augenmerk auf diese Parameter und bei exakter Einhaltung der Synthesevorschrift (vgl. Kapitel 4.7) ist es möglich, Kolloide mit einem hohen Anteil an würfelförmigen Partikeln zu erzeugen. Als Nebenprodukt entstehen dabei dennoch häufig auch Stäbchen mit einer Länge von $> 1 \mu\text{m}$.

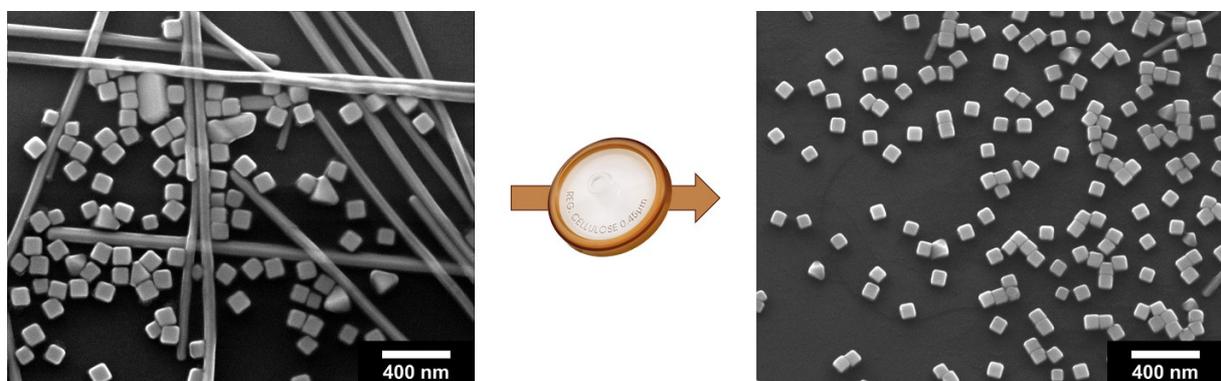


Abbildung 5.51.: Abtrennung der Stäbchen von den Würfeln durch Filtration über Cellulose.

Da Würfel unter den gegebenen Reaktionsbedingungen durch selektive Komplexbildung der {100}-Flächen mit dem Liganden PVP aus einkristallinen Keimen wachsen, ist die Bildung von Stäbchen vermutlich auf ein unvollständiges oxidatives Ätzen zurückzuführen. Es verbleiben verzwillingte Keime in Lösung, deren Wachstum an den {100}-Seitenflächen ebenfalls durch PVP inhibiert wird. In der Folge entstehen Stäbchen, die jedoch in einem einfachen Reinigungsschritt durch Filtration über einen Cellulose-Spritzenfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm abgetrennt werden können (vgl. Abbildung 5.51), während die Würfel klein genug sind, um den Filter ungehindert zu passieren. Zur Entfernung von Lösemittel- und Polymerresten wird darüber hinaus mehrfach mit Reinstwasser gewaschen und zentrifugiert.

Morphologie, Größe, Phasenreinheit und kolloidale Stabilität der so hergestellten Silber-Nanowürfel wurden mit verschiedenen Methoden ausführlich untersucht.

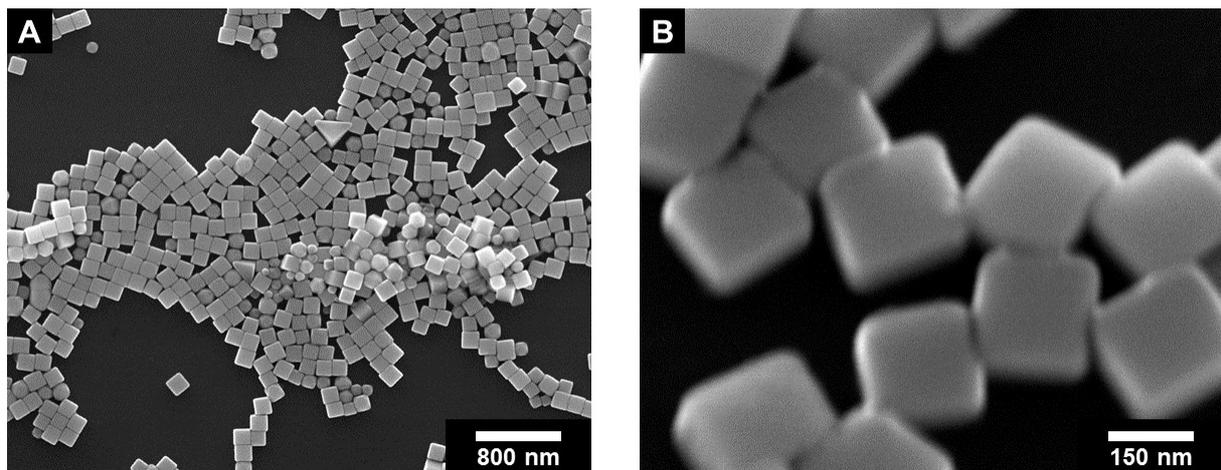


Abbildung 5.52.: REM-Aufnahmen der vollständig aufgereinigten Silber-Nanowürfel.

Im Rasterelektronenmikroskop ist bei 25 bzw. 30 kV und 50.000-facher bzw. 400.000-facher Vergrößerung deutlich zu erkennen, dass die Partikel nach Filtration und weiterer Aufarbeitung homogen, monodispers und größtenteils würfelförmig sind (vgl. Abbildung 5.52). Als Nebenprodukte kommen vereinzelt, jedoch zu einem sehr geringen Anteil, auch Tetraeder und Kugeln vor. Die Kantenlänge der Würfel beträgt ca. 140-180 nm. Aufgrund der limitierten Auflösung des Rasterelektronenmikroskops bei derart starker Vergrößerung können keine Aussagen darüber getroffen werden, ob die Kanten scharf oder abgeflacht sind, wie es z.B. von Yam *et al.* bei den Würfeln aus der Hydrothermalsynthese beobachtet wurde.^[116]

5. Ergebnisse und Diskussion

Weiterhin können, bedingt durch die geringe Eindringtiefe des Elektronenstrahls in das Material, mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie keine Informationen über die innere Zusammensetzung der Partikel gewonnen werden. Aus diesem Grund wurden zur weiteren Abklärung der Kristallinität sowie der Beschaffenheit der Kanten transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen bei einer Beschleunigungsspannung von 200 kV angefertigt (vgl. Abbildung 5.53).

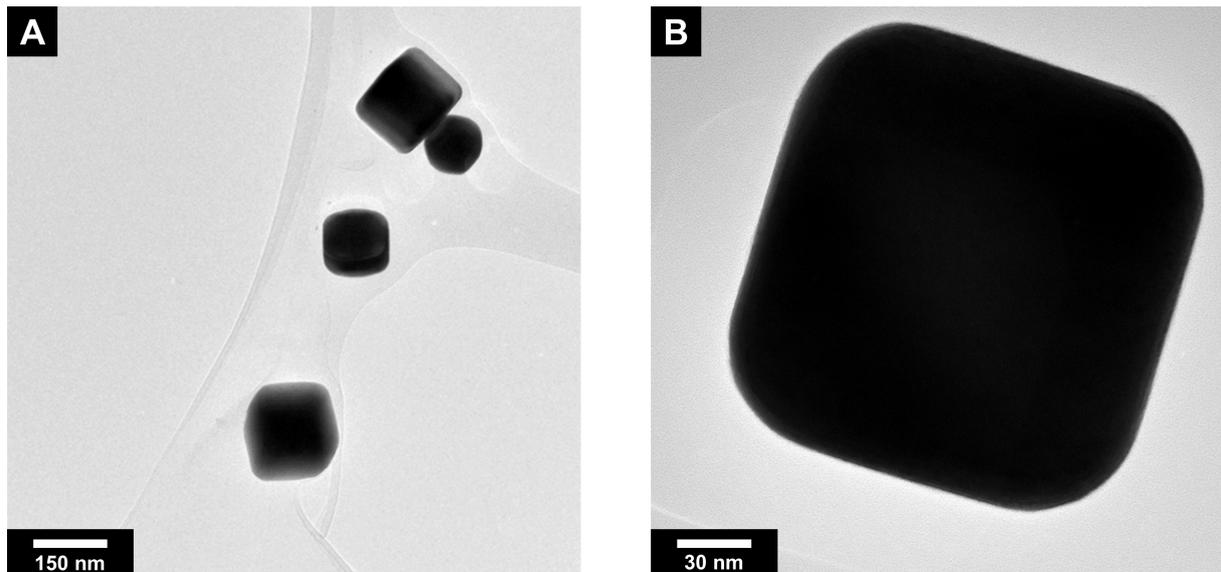


Abbildung 5.53.: TEM-Aufnahmen der vollständig aufgereinigten Silber-Nanowürfel.

Sowohl in der Übersichtsaufnahme als auch bei stärkerer Vergrößerung kann die würfelförmige Morphologie der Partikel bestätigt werden. In guter Übereinstimmung zu den im REM ermittelten Kantenlängen hat der Würfel in Abbildung 5.53B eine Abmessung von 170 ± 5 nm, die Ecken und Kanten sind deutlich abgerundet. Da der Gitterparameter a für kubisch-flächenzentriertes Silber bekannt ist ($4,086(1)$ Å, ICDD-PDF4 #04-0783), ist es möglich, durch Translation die Anzahl der Elementarzellen n in jede symmetrieäquivalente Richtung $\langle 100 \rangle$ abzuschätzen:

$$n_{\langle 100 \rangle} = \frac{170 \text{ nm}}{a} = 416$$

Aufgrund der daraus resultierenden großen Anzahl an Atomlagen erscheinen die Partikel im TEM sehr kontrastreich und intransparent, weshalb nicht mit Sicherheit bestimmt werden kann, ob die Partikel einkristallin oder verzwillingt vorliegen.

Die Bestimmung der hydrodynamischen Radien von Silber-Nanopartikeln mittels dynamischer Lichtstreuung wurde bereits ausführlich im Kontext der Charakterisierung von Kugeln und Plättchen in den vorangegangenen Kapiteln diskutiert. Analog dazu wurden auch die Nanowürfel mit einer Konzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ (bezogen auf Silber) in Reinstwasser sowie in RPMI/FBS analysiert. Die Partikelgrößenverteilung ist in Abbildung 5.54 aufgetragen.

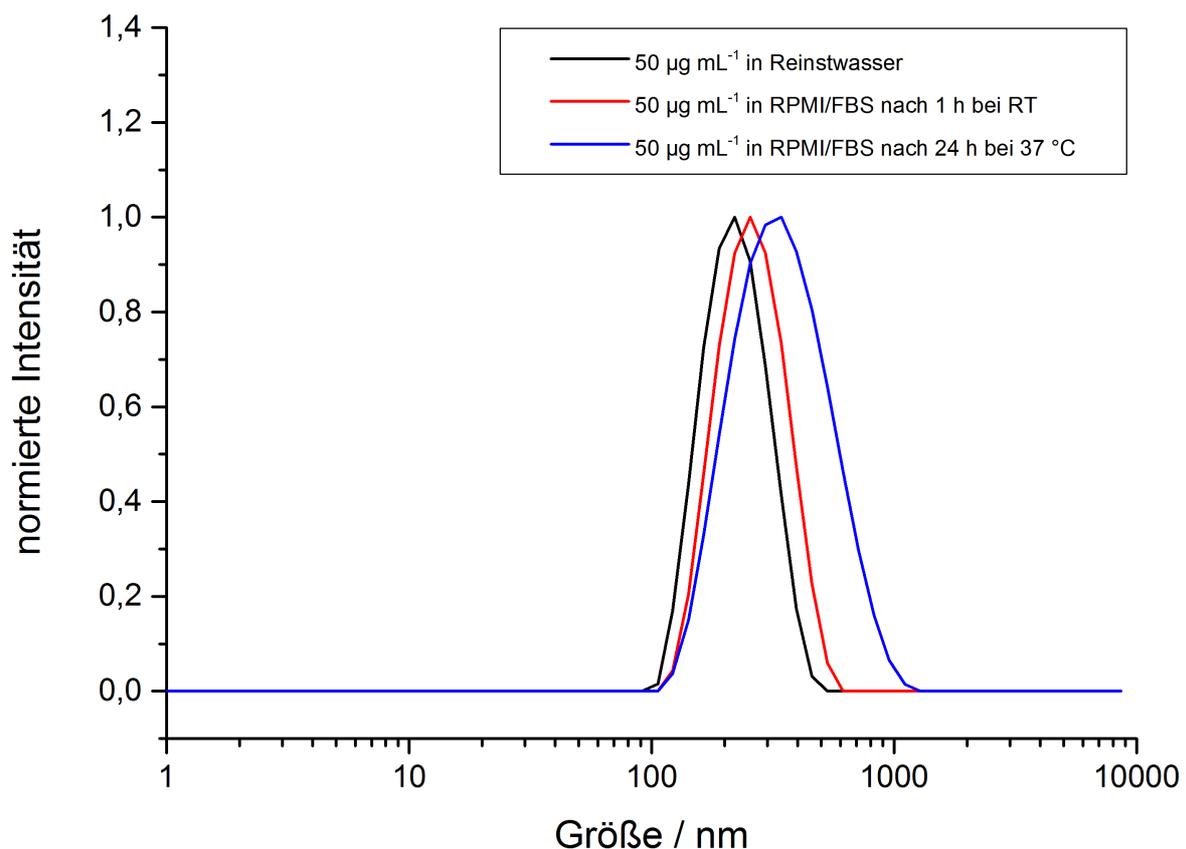


Abbildung 5.54.: Größenverteilung der Silber-Nanowürfel in wässrigem Medium sowie in Zellkulturmedium, bestimmt mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Medium	Durchmesser	PDI
Reinstwasser	211 nm	0,07
RPMI/FBS nach 1 h bei RT	240 nm	0,11
RPMI/FBS nach 24 h bei 37 °C	306 nm	0,20

Tabelle 5.13.: Mittlere Partikelgröße und PDI der Silber-Nanowürfel in Reinstwasser sowie in Zellkulturmedium.

5. Ergebnisse und Diskussion

Die daraus bestimmten mittleren Partikeldurchmesser sowie der jeweilige PDI sind in Tabelle 5.13 gegenübergestellt. Erwartungsgemäß kommt es aufgrund der Adsorption von Proteinen an der Partikeloberfläche zu einer Radienvergrößerung im Zellkulturmedium. Sowohl in Reinstwasser als auch in RPMI/FBS wird eine monomodale Größenverteilung beobachtet. Der PDI in Reinstwasser beträgt 0,07 und spricht für ein streng monodisperses System. Auch nach 24 h bei 37 °C im Zellkulturmedium steigt er lediglich auf 0,20 an, die Partikel sind also stabil und agglomerieren nicht. Das ζ -Potential beträgt -10,8 mV.

Im Gegensatz zur DLS wird bei der analytischen Scheibenzentrifugation eine bimodale Partikelgrößenverteilung erhalten (vgl. Abbildung 5.55). Kürzlich konnte gezeigt werden, dass diese Methode im Fall einer Mischung von zwei unterschiedlich großen Partikelsystemen eine höhere Auflösung als die DLS besitzt.^[51]

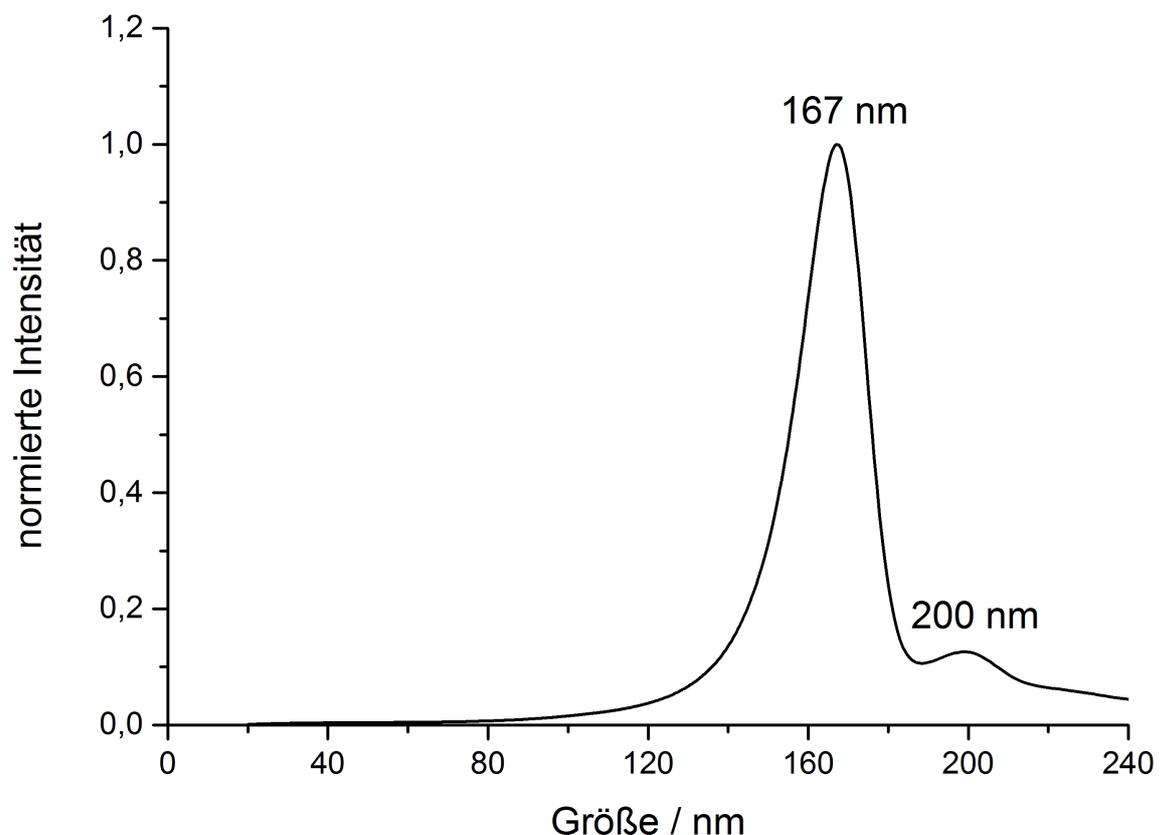


Abbildung 5.55.: Größenverteilung der Ag-Nanowürfel in Reinstwasser, bestimmt mittels DCS.

Die beiden Maxima bei 167 nm bzw. 200 nm liegen jedoch sehr nah beieinander, zudem ist die Intensität des primären Maximums deutlich höher als die des sekundären Maximums, weshalb insgesamt von einer relativ monodispersen Größenverteilung ausgegangen werden kann. Weiterhin muss bei der Interpretation dieser Daten beachtet werden, dass die leicht anisotrope Verzerrung der Würfel bei der Berechnung der Partikelradien aus der Sedimentationsgeschwindigkeit im zentrifugalen Kraftfeld nicht berücksichtigt wurde, weshalb die Ergebnisse leicht fehlerbehaftet sind. Dennoch stimmen die ermittelten Größen von 160-200 nm gut mit den Werten aus der Elektronenmikroskopie und der DLS überein.

Würfelförmige Silber-Nanopartikel sind insbesondere für ihre potentielle Anwendung in der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie (SERS) von Interesse, weshalb ihre optischen Eigenschaften sehr gut untersucht sind.^[130,250-252]

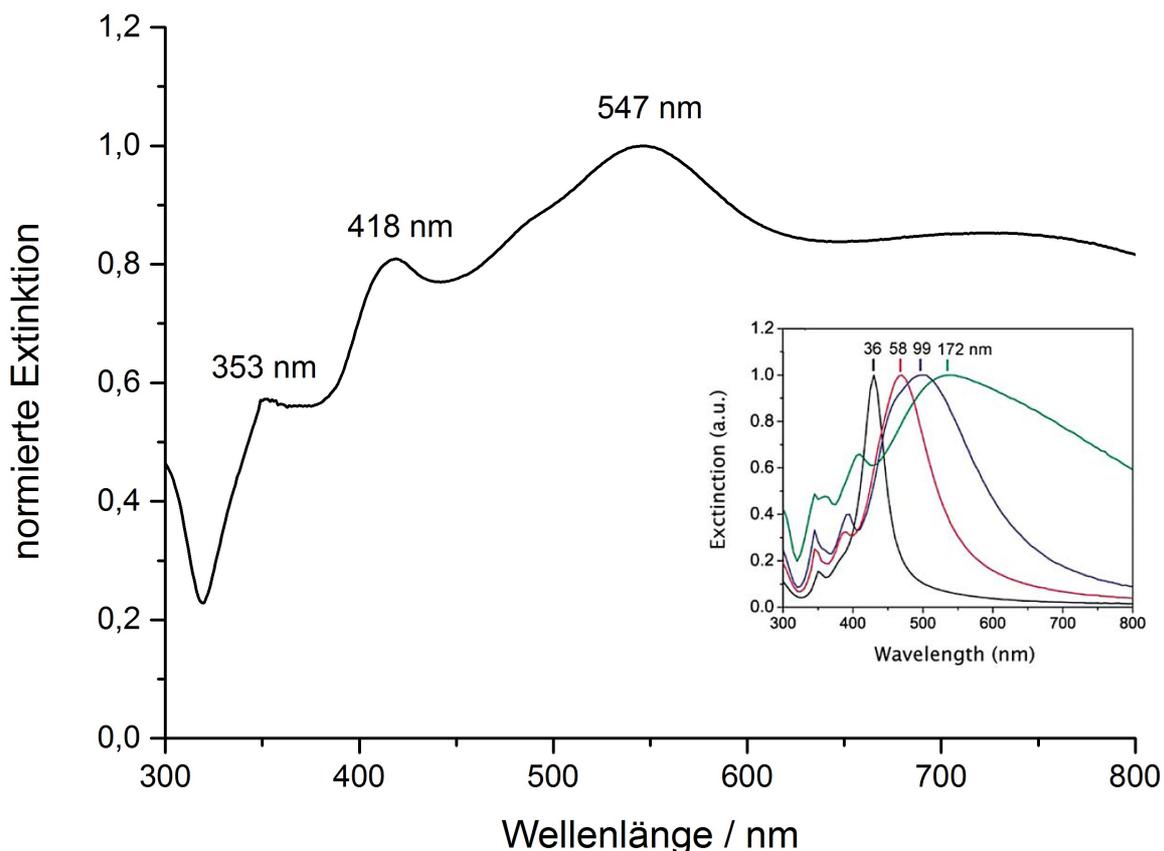


Abbildung 5.56.: Experimentell ermitteltes UV/Vis-Spektrum der Silber-Nanowürfel (groß) und Literaturspektrum für Silber-Nanowürfel mit unterschiedlichen Kantenlängen nach Xia et al.^[130] (klein).

5. Ergebnisse und Diskussion

Das experimentell ermittelte UV/Vis-Spektrum stimmt gut mit literaturbekannten Spektren^[120] für Silber-Nanowürfel mit vergleichbaren Kantenlängen überein (vgl. Abbildung 5.54) und ist aufgrund seiner charakteristischen Absorptionsbanden ein weiterer, eindeutiger Beweis für die Größe und Morphologie der Partikel. Die Signale bei 547 nm bzw. 418 nm können der Dipol-Resonanz bzw. der Quadrupol-Resonanz der Würfel zugeordnet werden, während es sich bei der Bande bei 353 nm um ein Mischsignal handelt.^[253]

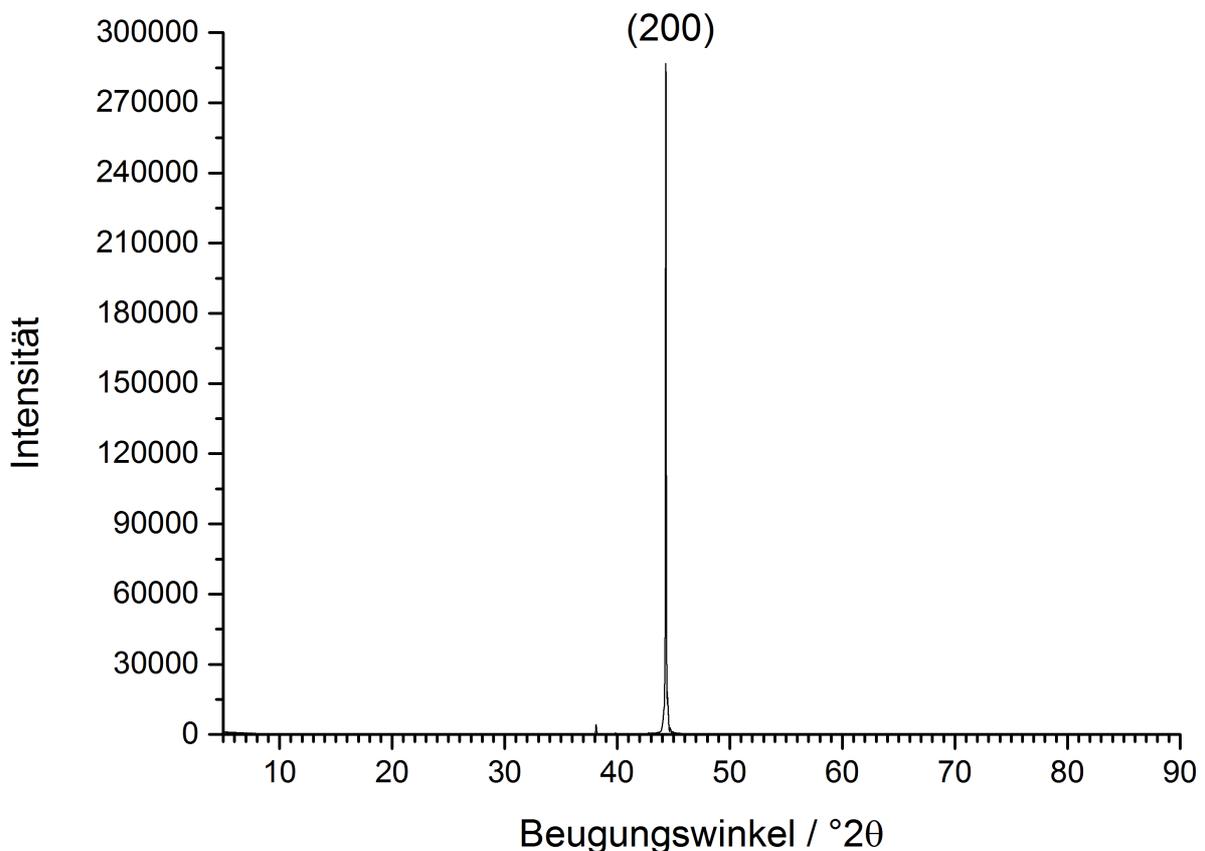


Abbildung 5.57.: Experimentell bestimmtes Röntgenpulverdiffraktogramm der Silber-Nanowürfel in Bragg-Brentano-Geometrie.

Auch für die Silber-Nanowürfel wurde ein Röntgenpulverdiffraktogramm erstellt. Die Probe wurde auf einem einkristallinen Probenträger präpariert und in Bragg-Brentano-Geometrie gemessen. Dabei zeigt sich eine so starke Vorzugsorientierung der {200}-Flächen, dass alle weiteren Reflexe überdeckt werden und eine Phasenanalyse nicht möglich ist (vgl. Abbildung 5.57). Aus diesem Grund wurde zusätzlich eine Messung im streifenden Einfall (GIXRD) mit einem Beugungswinkel von 1° relativ zur

Probenoberfläche durchgeführt. Bei dieser Methode werden die Partikel von der Seite beobachtet, wodurch Textureffekte reduziert werden. Das so ermittelte Pulverdiffraktogramm wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Oleg Prymak mit der Rietveld-Methode verfeinert.

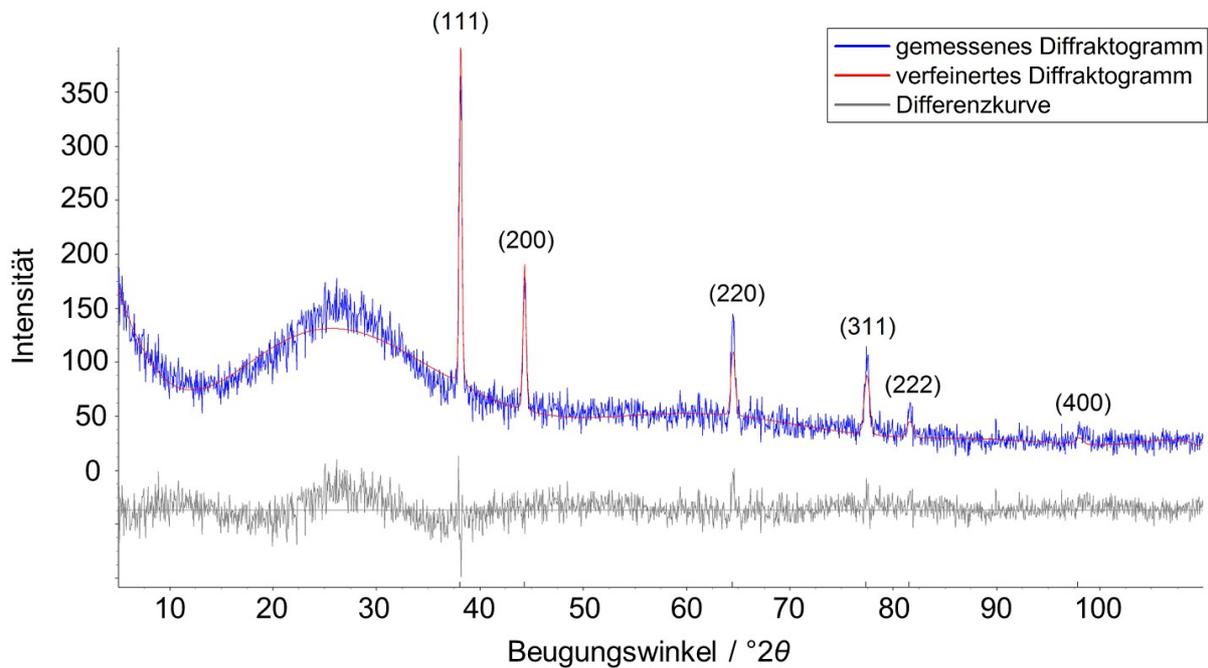


Abbildung 5.58.: Röntgenpulverdiffraktogramm der Silber-Nanowürfel nach Messung im streifenden Einfall und anschließender Rietveld-Verfeinerung.

Reflex gemessen $^{\circ}2\theta$	Reflex Literatur $^{\circ}2\theta$	Kristallfläche Millersche Indizes
38,13	38,117	(111)
44,32	44,279	(200)
64,43	64,428	(220)
77,41	77,475	(311)
81,55	81,539	(222)

Tabelle 5.14.: Zuordnung der experimentell ermittelten Reflexe aus dem Pulverdiffraktogramm (GIXRD) für Silber-Nanowürfel zu den entsprechenden Kristallflächen und Literaturdaten (ICDD-PDF4).

5. Ergebnisse und Diskussion

Die Textur ist nun vollständig verschwunden, und es werden alle erwarteten Reflexe für kubisch-flächenzentriertes Silber beobachtet, sodass eine Phasenanalyse möglich ist (vgl. Abbildung 5.58). Die kristallographischen Flächen wurden indiziert und mit der Literaturdatenbank verglichen (ICDD-PDF4 #04-0783), die Ergebnisse sind in Tabelle 5.14 aufgelistet. Alle Reflexe können zugeordnet werden, neben Silber liegt keine weitere Phase vor. Weiterhin wurde die Gitterkonstante a anhand von Gleichung 10 aus dem Netzebenenabstand d berechnet. Das Ergebnis von 4,088(1) Å stimmt gut mit dem tabellierten Wert von 4,086(1) Å überein (ICDD-PDF4 #04-0783).

Ähnlich wie bei den Silber-Nanoplättchen aus der Mikrowellensynthese gezeigt wurde, kann die starke Textur in kristallographischer [100]-Richtung durch eine bevorzugte Orientierung der Nanopartikel auf dem Probenträger erklärt werden. Aus den REM-Bildern wird ersichtlich, dass die Würfel auf der glatten Oberfläche eines Silicium-Einkristalls in überwiegender Mehrheit auf ihrer flachen Seite zum Liegen kommen (vgl. Abbildung 5.52). Eine vergleichbare Anordnung kann daher auch auf dem PXR-D-Probenträger erwartet werden, schematisch ist dies in Abbildung 5.59 veranschaulicht. Die {200}-Netzebenen sind nun nicht mehr statistisch verteilt, sondern besitzen eine Vorzugsorientierung, die zu dem stark texturierten Reflex bei $44,32^\circ 2\theta$ in Bragg-Brentano-Geometrie führt. Diese Beobachtung wurde bereits durch Yam *et al.*^[116] und Xia *et al.*^[127] in der Literatur beschrieben.

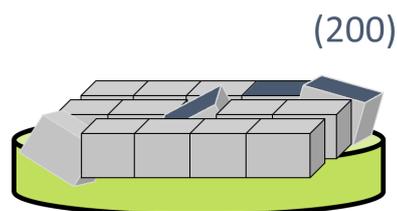


Abbildung 5.59.: Anordnung der Nanowürfel auf dem PXR-D-Probenträger mit Zuordnung der {200}-Flächen (schematisch). Die meisten Würfel liegen auf den Flächen, so dass eine Vorzugsorientierung entsteht.

Mit Hilfe der Scherrer-Gleichung (vgl. Kapitel 3.4.3) kann nun aus der Halbwertsbreite des (200)-Reflexes mit einem K -Faktor von 0,89 die Kristallitgröße in [100]-Richtung ermittelt werden. Es ergibt sich ein Wert von 203 nm, der in guter Übereinstimmung zu den elektronenmikroskopisch bestimmten Kantenlängen von 140-180 nm für die

Silber-Nanowürfel steht. Da die berechneten Kristallitgrößen in der gleichen Größenordnung wie die Partikeldurchmesser liegen, kann angenommen werden, dass die Partikel eine einkristalline Struktur aufweisen und nicht verzwilligt sind. Diese Ergebnisse bestätigen die eingangs diskutierte Theorie, dass die würfelförmigen Partikel nach Entfernen der mehrfach verzwilligten Keime durch oxidatives Ätzen aus einkristallinen Keimen entstanden sind.

Zusammengefasst wurden in einem modifizierten Polyolprozess nach Xia *et al.* phasenreine Silber-Nanowürfel mit einer Kantenlänge von 140-180 nm nach oxidativem Ätzen mehrfach verzwilligter Keime hergestellt. Eine entscheidende Rolle bei der Synthese spielt die selektive Komplexierung der kristallographischen {100}-Flächen durch den Liganden PVP, wodurch ein gerichtetes Wachstum induziert wird. Dennoch ist die Reaktion von einer Vielzahl schwer kontrollierbarer Parameter abhängig und erfordert eine große präparative Sorgfalt. Die aufgereinigten Silber-Nanowürfel sind mit einem PDI von 0,07 monodispers, der hydrodynamische Durchmesser beträgt 211 nm. Durch elektrosterische Stabilisierung mit PVP kommt es auch in RPMI/FBS nach 24 h bei 37 °C nicht zur Agglomeration. Im Röntgenpulverdiffraktogramm zeigt sich eine starke Textur der {200}-Flächen, die durch die gerichtete Anordnung der Würfel auf dem Probenträger erklärt werden kann.

5.4.2 Darstellung von Silber-Nanostäbchen durch Seeding mit Silberchlorid

Wie die meisten Metalle besitzt auch Silber eine hochsymmetrische, kubisch-flächenzentrierte Kristallstruktur. Bei der Synthese stark anisotroper Morphologien wie Nanostäbchen oder -drähten aus isotropen Lösemitteln ist es daher erforderlich, ein gerichtetes Wachstum durch externe Einflüsse zu induzieren. Neben vorstrukturierten Templaten, z.B. porösen Materialien,^[254,255] finden dabei insbesondere Polymere wie PVP, CTAB oder Citrat aufgrund ihrer selektiven Komplexierung unterschiedlicher kristallographischer Flächen (vgl. Kapitel 2.3.4) Anwendung. Die am weitesten verbreitete Synthesemethode ist auch hier der Polyolprozess, da die Form der Partikel durch die genaue Kontrolle der Reaktionsbedingungen eingestellt werden kann. Präparativ können im Wesentlichen zwei Herangehensweisen unterschieden werden: Zweistufige Prozesse, in denen heterogene Keime wie z.B. Platin^[137,215,256] bzw. Silberchlorid-Nanopartikel^[141,240] zugegeben oder *in situ* erzeugt werden, sowie Reaktionen ohne Zugabe von Heterokeimen.^[163]

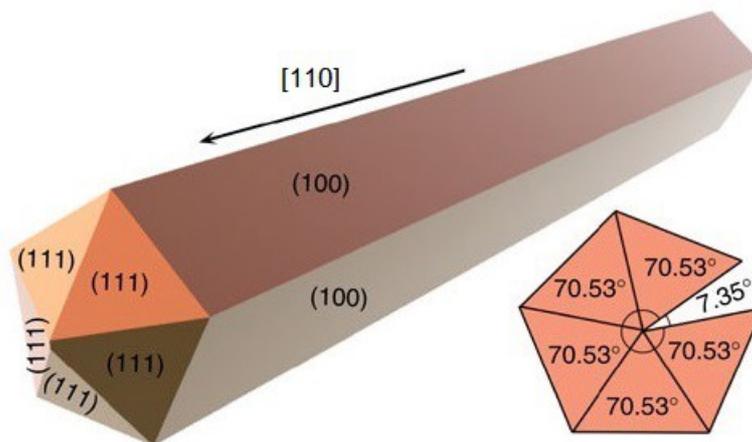


Abbildung 5.60.: Schematische Zeichnung eines Silber-Nanostäbchens mit fünfzähliger Grundfläche nach Sun *et al.*^[257] Die {100}-Seitenflächen werden durch Komplexierung mit PVP abgeschirmt, während sich Ag⁺-Ionen an den {111}-Flächen anlagern.

In der Literatur finden sich zahlreiche Beweise dafür, dass Silber-Nanostäbchen in der Regel eine pentagonale Schnittfläche haben und aus dem anisotropen Wachstum dekaedrischer Kristallkeime in [110]-Richtung entstehen.^[163,164] Es wird angenommen, dass das Polymer PVP selektiv die {100}-Seitenflächen der Keime komplexiert und dort die Anlagerung von Silber-Ionen aus der Lösung verhindert, so dass diese sich bevorzugt auf den frei zugänglichen und energetisch höher

liegenden $\{111\}$ -Zwillingskanten abscheiden, wo sie schließlich reduziert werden. Der dekaedrische Keim kann aus einer Kombination von fünf einkristallinen Tetraedern konstruiert werden, die jeweils über zwei $\{111\}$ -Zwillingsflächen miteinander verbunden sind. Der theoretische Winkel zwischen zwei $\{111\}$ -Tetraederflächen beträgt $70,53^\circ$, sodass sich eine Lücke von $7,35^\circ$ ergibt, die durch die Ausbildung von Stapelfehlern und Zwillingsdefekten gefüllt werden muss (vgl. Abbildung 5.60).^[163,164]

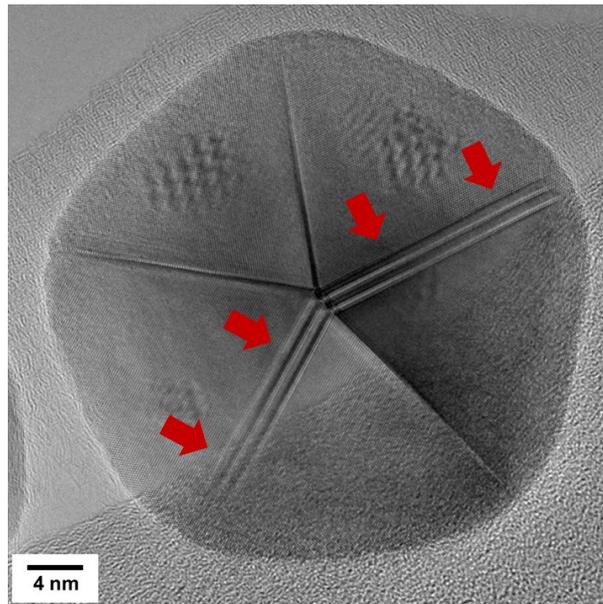


Abbildung 5.61.: HRTEM-Aufnahme eines pentagonal verzwilligten Nanopartikels aus der Glucose-Synthese. Die Stapelfehler sind deutlich zu erkennen und wurden zur besseren Veranschaulichung mit roten Pfeilen markiert.

Pentagonal verzwilligte Keime treten bei der Darstellung von Silber-Nanopartikeln aufgrund ihrer geringen Oberflächenenergie häufig auf und wurden auch schon bei der Glucose-Synthese mittels HRTEM beobachtet (vgl. Abbildung 5.61). Wegen ihrer hohen Defektkonzentration sind sie besonders anfällig gegenüber oxidativem Ätzen, weshalb die Synthese von Stäbchen und Drähten in der Praxis oft unter Inertgas^[159] oder in Anwesenheit redoxaktiver Salze^[161,258] durchgeführt wird.

In dieser Arbeit wurden Silber-Nanostäbchen nach Buhro *et al.*^[141] durch heterogene Nukleation von Silber auf *in situ* gebildeten, würfelförmigen AgCl-Keimen dargestellt. Von allen getesteten Methoden erwies sich die hier vorgestellte als am zuverlässigsten und am besten reproduzierbar. Nach Abschluss der Reaktion können die zur Nukleation benötigten AgCl-Keime durch Waschen mit wässriger NH_3 -Lösung

5. Ergebnisse und Diskussion

aufgelöst werden, während die Silber-Nanostäbchen diesen Prozess unbeschädigt überstehen. Um außerdem überschüssiges Polymer, Lösemittel sowie Gegenionen zu entfernen, wurde im Anschluss mehrfach mit Reinstwasser gewaschen und das Produkt durch Zentrifugation abgetrennt.

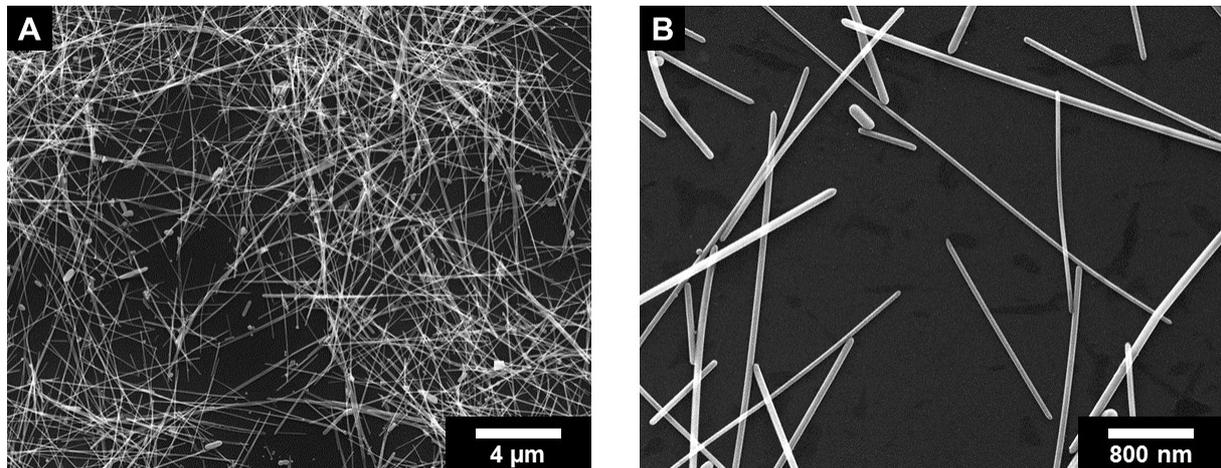


Abbildung 5.62.: REM-Aufnahmen der Silber-Nanostäbchen nach vollständiger Aufarbeitung.

Nach vollständiger Aufarbeitung wurden die Partikel im Rasterelektronenmikroskop bei einer Beschleunigungsspannung von 25 kV und einer 10.000-fachen bzw. 50.000-fachen Vergrößerung untersucht (vgl. Abbildung 5.62). In der Übersichtsaufnahme ist zu erkennen, dass erwartungsgemäß Stäbchen entstanden sind, es kommen nur wenige kugelförmige Nebenprodukte vor. Das Verhältnis von Länge zu Breite ist überwiegend sehr groß, die Stäbchen erreichen eine Länge von bis zu 20 µm und sind im Durchschnitt ca. 50-100 nm dick. Allerdings werden vereinzelt auch eher kurze, dickere Partikel beobachtet. Die in der Literatur beschriebene fünfzählige Symmetrie der Schnittflächen^[163,164] kann im REM nicht abgebildet werden.

Bei der Bestimmung der hydrodynamischen Partikelradien ist die starke Anisotropie der Stäbchen ein fundamentales Problem. Sowohl in der dynamischen Lichtstreuung als auch in der analytischen Scheibenzentrifugation wird zur Berechnung der Partikelgröße in erster Näherung eine sphärische Morphologie angenommen. Zudem sedimentieren die Stäbchen aufgrund ihrer Größe in der Scheibenzentrifuge auch bei geringen Umdrehungsgeschwindigkeiten so schnell, dass mit dieser Methode keine aussagekräftigen Daten erhalten werden konnten.

Nach Pecora *et al.* ist es prinzipiell möglich, mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung Informationen über nicht-sphärische Partikel zu gewinnen, wenn diese auch eine anisotrope Polarisierbarkeit aufweisen. Neben der Translationsbewegung muss zusätzlich auch die Rotationsbewegung berücksichtigt werden, sodass sich verschiedene Diffusionskoeffizienten ergeben.^[184] Experimentell können zwei klar unterscheidbare Relaxationszustände beobachtet werden. So konnten z.B. Lang *et al.* den Formfaktor von Gold-Nanostäbchen abschätzen und mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen korrelieren.^[259] Voraussetzung ist allerdings sowohl eine komplexe Anpassung der Autokorrelationsfunktion als auch eine Variation der Messgeometrie, was im Rahmen dieser Arbeit nicht geleistet werden konnte. Dennoch wurden die Stäbchen mittels DLS in herkömmlicher Messgeometrie sowohl in Reinstwasser als auch in RPMI/FBS analysiert.

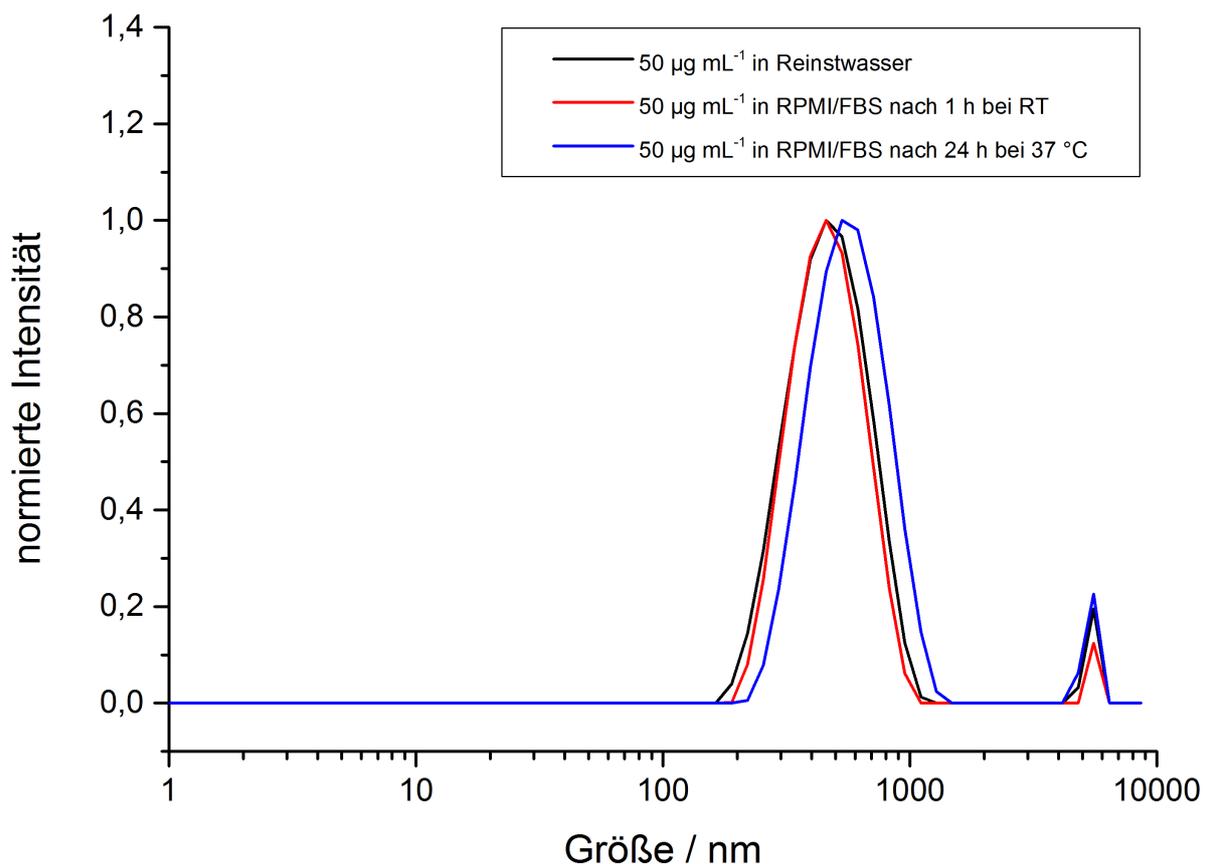


Abbildung 5.63.: Größenverteilung der Silber-Nanostäbchen, bestimmt mittels DLS.

5. Ergebnisse und Diskussion

Es ergibt sich eine bimodale Partikelgrößenverteilung (vgl. Abbildung 5.63). Aufgrund der beschriebenen Probleme sind die erhaltenen Daten jedoch stark fehlerbehaftet und liefern keine verlässliche Aussage über die tatsächliche Partikelgröße. Bemerkenswert ist allerdings, dass es, analog zu den bisherigen Beobachtungen bei den Kugeln, Plättchen und Würfeln im Zellkulturmedium zu einer Radienvergrößerung, vermutlich durch Ausbildung einer Proteincorona, kommt. Beide Maxima verschieben sich nach 24 h bei 37 °C in RPMI/FBS nach rechts, es entsteht aber kein neues Maximum. Daraus, und aus der Tatsache, dass kein makroskopischer Bodensatz ausfällt, kann geschlossen werden, dass die Stäbchen auch im Zellkulturmedium kolloidal stabil und daher für biologische Experimente prinzipiell geeignet sind. Das ζ -Potential in Reinstwasser beträgt -20,2 mV und spricht ebenfalls für eine elektrosterische Stabilisierung.

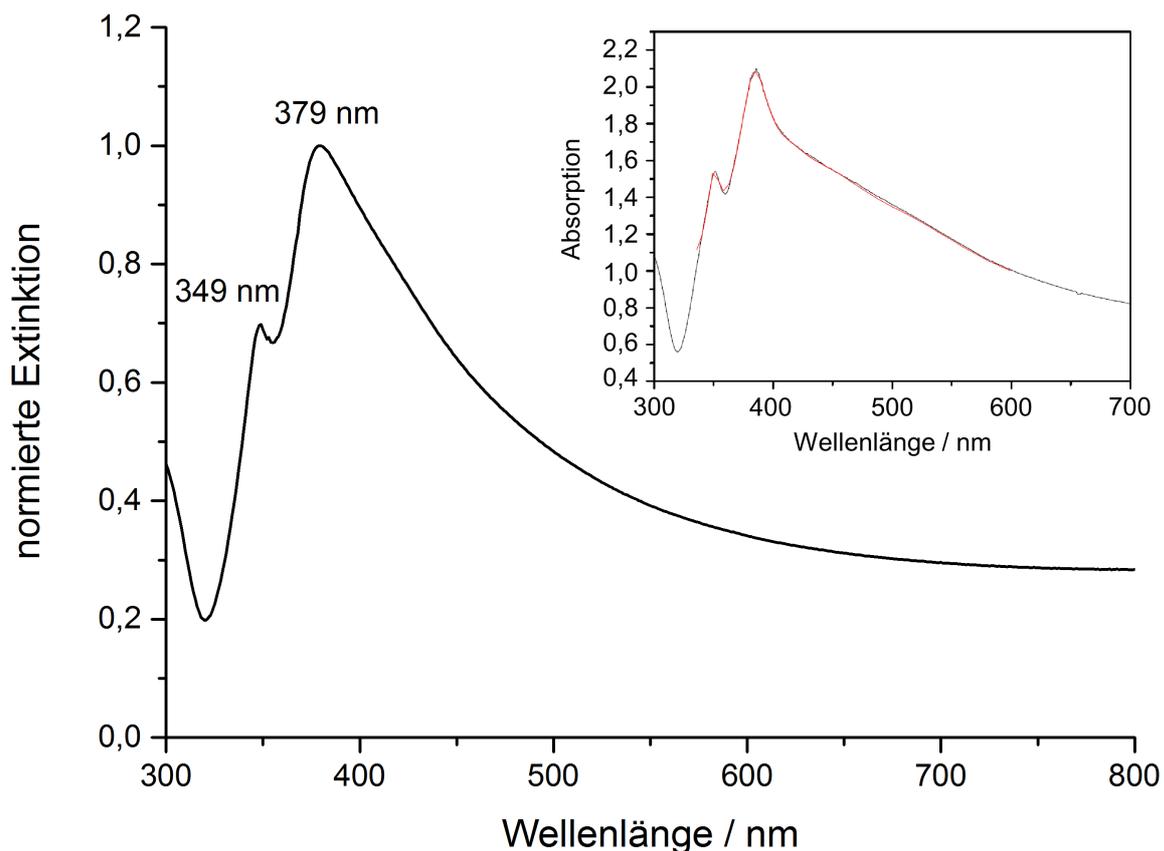


Abbildung 5.64.: Experimentell ermitteltes UV/Vis-Spektrum der Silber-Nanostäbchen (groß) und Literaturspektrum nach Xie et al.^[164] (klein).

Das UV/Vis-Spektrum wurde bei einer Konzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ (bezogen auf Silber) in Reinstwasser aufgenommen. Aufgrund der morphologieabhängigen, spezifischen Oberflächen-Plasmonenresonanz von Silber-Nanopartikeln gibt es zwei charakteristische Absorptionsbanden bei 379 nm für die *out-of-plane* Quadrupol-Resonanz und bei 349 nm für die *out-of-plane* Dipol-Resonanz der {100}-Seitenflächen (vgl. Abbildung 5.64). Das experimentell bestimmte Spektrum weist eine hohe Übereinstimmung mit literaturbekannten Spektren vergleichbarer Partikel auf.^[164]

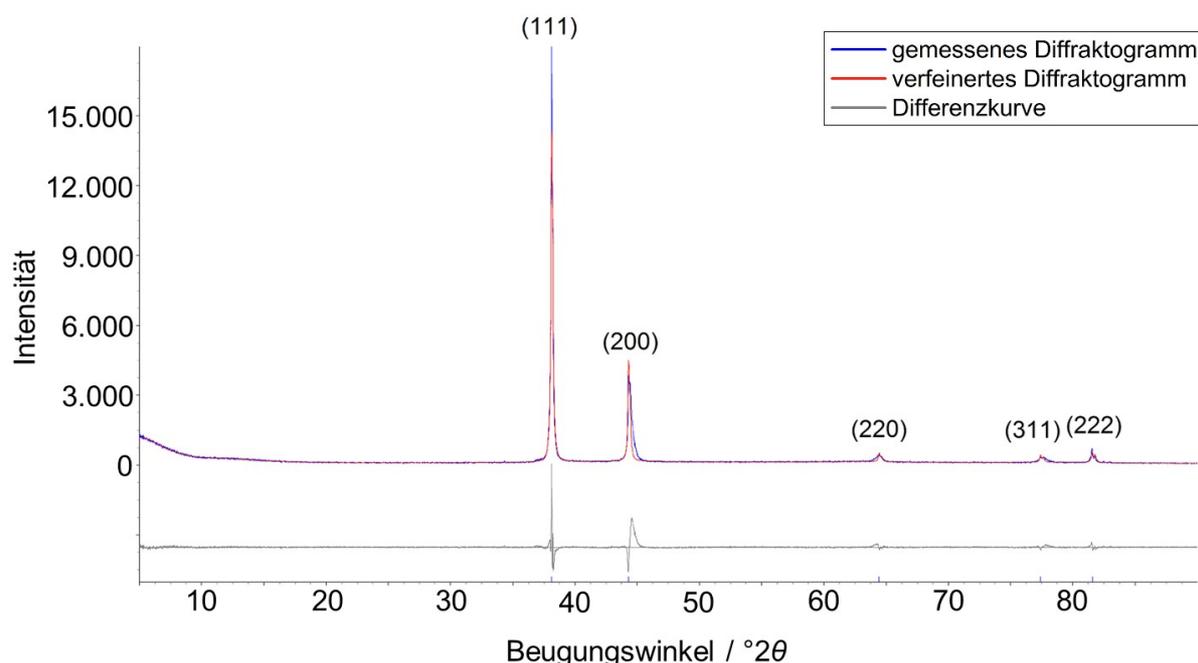


Abbildung 5.65.: Verfeinertes und indiziertes Pulverdiffraktogramm der Silber-Nanostäbchen.

Das Pulverdiffraktogramm der Silber-Nanostäbchen nach Rietveld-Verfeinerung (vgl. Abbildung 5.65) wurde indiziert und mit dem ICDD-PDF4 Eintrag #04-0783 für kubisch-flächenzentriertes Silber abgeglichen. Alle gefundenen Reflexe sowie der berechnete Gitterparameter von $a = 4,085(1) \text{ \AA}$ stimmen gut mit den Literaturwerten überein, es tritt keine Nebenphase auf. Die AgCl-Keime wurden also vollständig bei der Aufarbeitung mit NH_3 -Lösung entfernt. Wie bereits durch Gao *et al.* beschrieben, liegt eine deutliche Vorzugsorientierung der kristallographischen {111}- und {200}-Flächen vor.^[164] Aufgrund der stark anisotropen Morphologie der Stäbchen sind diese horizontal auf dem Probenträger angeordnet, so dass ihre Höhe mit Hilfe der Scherrer-Gleichung berechnet werden kann. In guter Übereinstimmung zu dem durch REM bestimmten Durchmesser von 50-100 nm ergibt sich ein Wert von 77 nm.

5. Ergebnisse und Diskussion

Reflex gemessen $^{\circ}2\theta$	Reflex Literatur $^{\circ}2\theta$	Kristallfläche Millersche Indizes
38,11	38,117	(111)
44,37	44,279	(200)
64,38	64,428	(220)
77,47	77,475	(311)
81,51	81,539	(222)

Tabelle 5.15.: Zuordnung der experimentell ermittelten Reflexe aus dem Pulverdiffraktogramm für Silber-Nanostäbchen zu den entsprechenden Kristallflächen und Literaturdaten (ICDD-PDF4).

Weiterhin wurde im Zusammenhang mit der Examensarbeit von Herrn Stephan Luther untersucht, ob die Größe und Form der Silber-Nanostäbchen über eine Variation der zugegebenen Menge des Polymers PVP kontrolliert werden kann. Zu diesem Zweck wurde eine Versuchsreihe angesetzt, in der die Reaktion mit unterschiedlichen Mengen PVP (40, 60, 80, 150, 200 und 334 mg) bei ansonsten gleichen Bedingungen durchgeführt wurde. Die gebildeten Partikel wurden durch Zentrifugation vom Lösemittel getrennt und mittels Rasterelektronenmikroskopie und UV/Vis-Spektroskopie analysiert. In den REM-Aufnahmen (vgl. Abbildung 5.66) ist deutlich zu erkennen, dass sowohl die Homogenität als auch das Verhältnis von Länge zu Breite der Stäbchen mit steigender Menge PVP zunehmen. Bei 40, 60 und 80 mg PVP erreichen die Stäbchen eine Dicke von bis zu 1000 nm und werden bis zu 10 μm lang, es liegen zudem einige kugelförmige oder deformierte Partikel als Nebenprodukte vor. Daraus ergibt sich die Vermutung, dass die zugesetzte Menge an Polymer nicht ausreicht, um die {100}-Seitenflächen der Stäbchen vollständig zu bedecken. Es können sich weiterhin Silber-Ionen bzw. Atome aus der Lösung anlagern. Bei 150 mg PVP beträgt die Dicke der Stäbchen im Mittel ca. 200 nm, bei 334 mg PVP nur noch 50-100 nm, gleichzeitig nimmt die Menge der gebildeten Nebenprodukte ab und es treten nur noch sehr vereinzelt kurze Stäbchen mit Längen $< 5 \mu\text{m}$ auf. Die Seitenflächen der Kristallkeime werden nun also wahrscheinlich vollständig mit PVP bedeckt, wodurch ein anisotropes Wachstum stark bevorzugt ist.

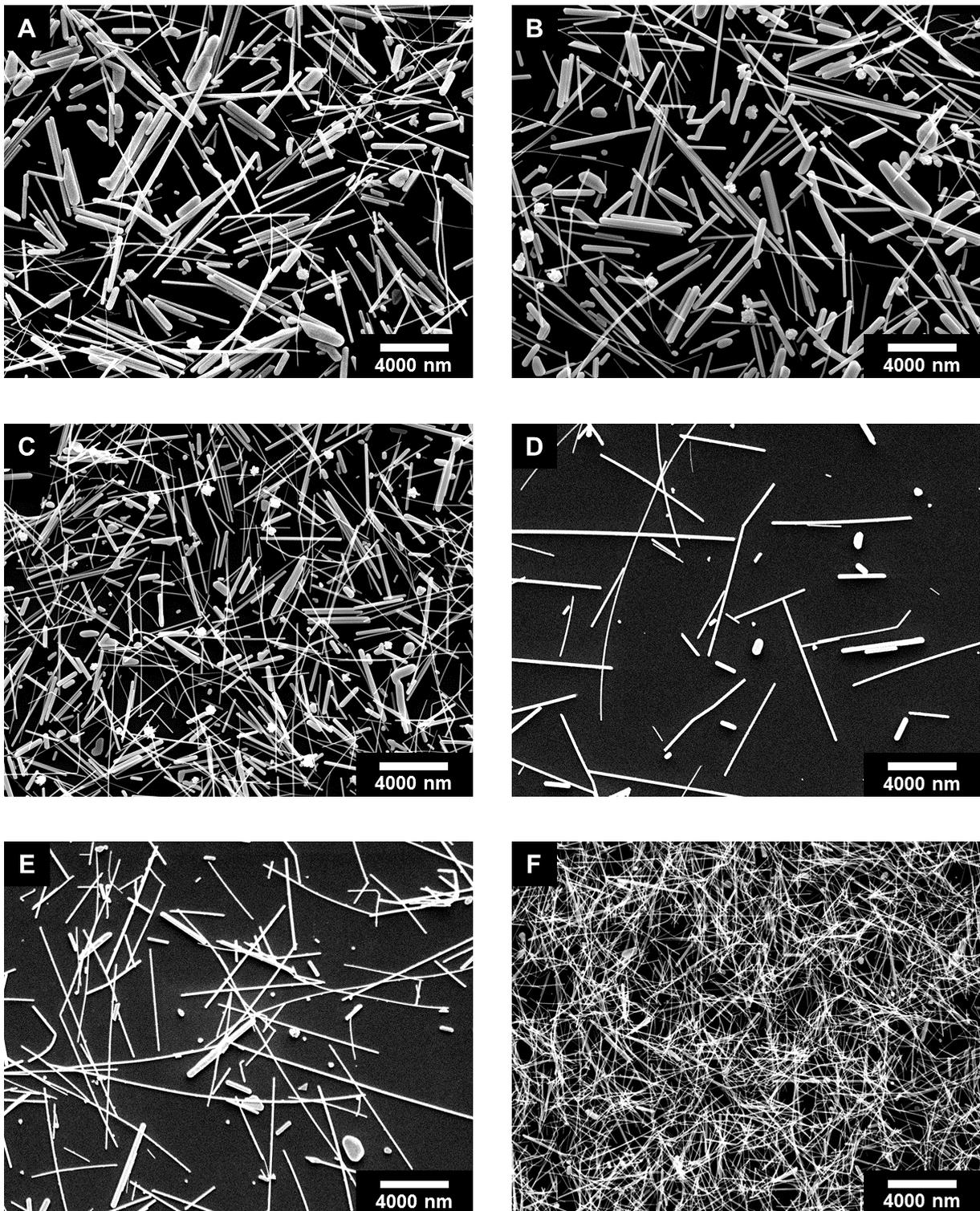


Abbildung 5.66.: REM-Aufnahmen von Silber-Nanostäbchen aus der Synthese nach Buhro *et al.*^[141] mit (A) 40 mg, (B) 60 mg, (C) 80 mg, (D) 150 mg, (E) 200 mg, und (F) 334 mg Polyvinylpyrrolidon.

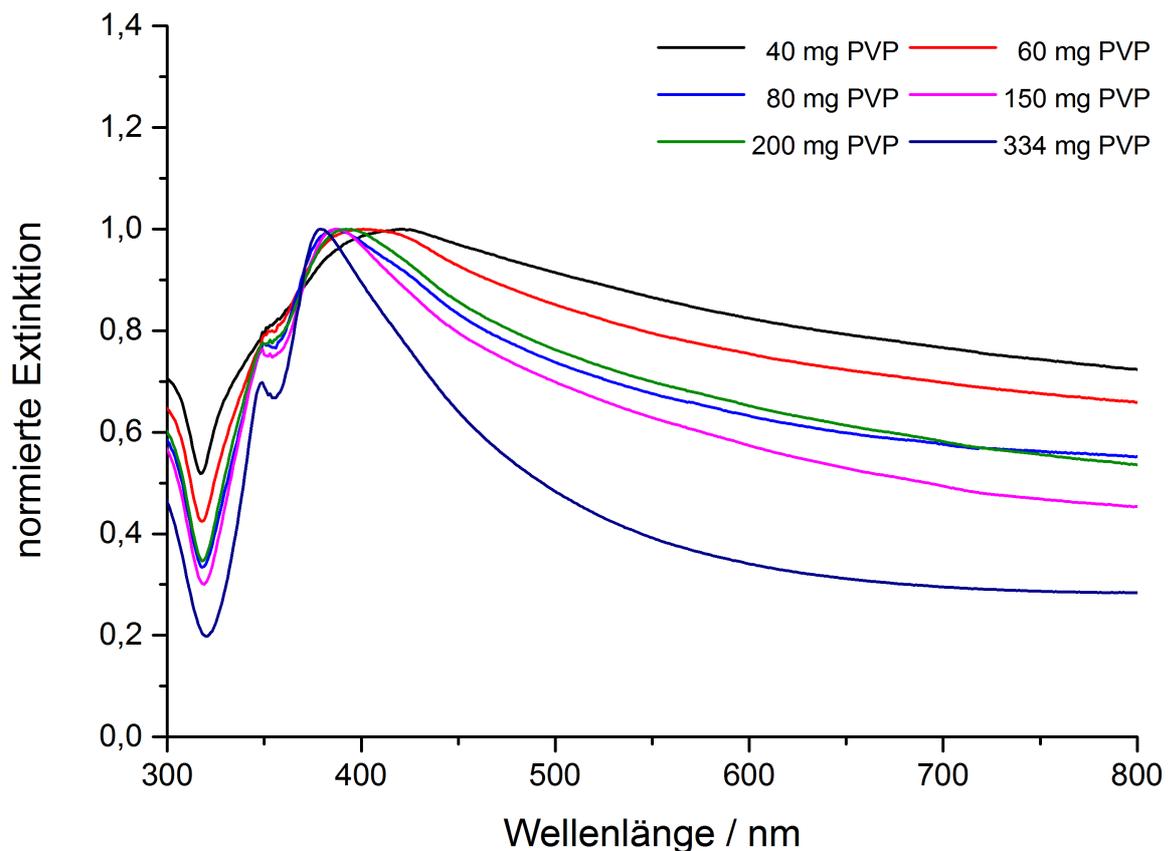


Abbildung 5.67.: UV/Vis-Spektrum der Silber-Nanostäbchen mit unterschiedlichen Mengen PVP.

Die UV/Vis-Spektren der verschiedenen Ansätze zeigen alle zwei Maxima bei ca. 350 nm für die *out-of-plane* Dipol-Resonanz und bei ca. 380-420 nm für die *out-of-plane* Quadrupol-Resonanz der Silber-Nanostäbchen. Auffällig ist jedoch, dass die Absorptionsbanden bei ca. 380-420 nm im Fall von größeren PVP-Mengen deutlich schmaler sind als im Fall von kleineren PVP-Mengen. Dies spricht im Einklang mit den REM-Daten dafür, dass die Partikelform- und -größe mit zunehmender Polymerkonzentration homogener wird.

Zusammengefasst wurden Silber-Nanostäbchen bzw. -drähte mit einem Durchmesser von 50-100 nm und einer Länge von bis zu 20 μm nach der Methode von Buhro *et al.*^[141] durch heterogenes Aufwachsen von Silber auf *in situ* erzeugten AgCl-Kristallisationskeimen hergestellt. Die Partikel weisen ein ζ -Potential von -20,2 mV auf und sind in Reinstwasser und Zellkulturmedium stabil. Im Pulverdiffraktogramm kann eine Vorzugsorientierung der {100}- und {111}-Flächen beobachtet werden. Das Verhältnis von Länge zu Breite hängt von der eingesetzten Menge an PVP ab.

5.5 Überblick über die hergestellten Silber-Nanopartikel

Während in den vorangegangenen Kapiteln ausführlich auf die Synthese und Charakterisierung verschieden geformter Silber-Nanopartikel eingegangen wurde, soll nun der Zusammenhang zwischen der Morphologie und den Eigenschaften einiger ausgewählter Partikelsysteme diskutiert werden. Von besonderem Interesse ist dabei der Einfluss der Morphologie auf die biologische Wirksamkeit und in diesem Kontext auch auf die Auflösungskinetik in wässrigem Medium.

Es wurde bereits gezeigt, dass kleinste und teilweise nicht beeinflussbare Änderungen bzw. Störungen im Reaktionsverlauf zu erheblichen Abweichungen bei der Partikelgröße, -form und -qualität führen können. Um solche Abweichungen zwischen verschiedenen Partikelchargen auszuschließen und eine möglichst hohe Vergleichbarkeit der Ergebnisse sicherzustellen, wurden fünf Stammlösungen hergestellt, ausführlich charakterisiert und für alle folgenden Experimente verwendet.

Diese sind im Einzelnen:

- Sphärische Silber-Nanopartikel aus der Glucose-Synthese
- Sphärische Silber-Nanopartikel aus der Mikrowellen-Synthese
- Plättchenförmige Silber-Nanopartikel aus der Mikrowellen-Synthese
- Kubische Silber-Nanopartikel aus dem Polyolprozess
- Stäbchenförmige Silber-Nanopartikel aus dem Polyolprozess

Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die wichtigsten analytischen Daten dieser Partikel nochmals in Abbildung 5.68 und Tabelle 5.16 zusammengefasst.

Alle Stammlösungen wurden vollständig mit Argon gesättigt und unter Lichtausschluss gelagert, um eine vorzeitige Auflösung bzw. unerwünschte Alterung der Partikel auszuschließen. Die Silber-Konzentrationen wurden mittels AAS bestimmt und vor den jeweiligen Experimenten mit Reinstwasser auf die gewünschten Arbeitskonzentrationen verdünnt. Nach ca. 6 Monaten wurden die Konzentrationen der Stammlösungen kontrolliert, die Werte blieben erwartungsgemäß unverändert.

5. Ergebnisse und Diskussion

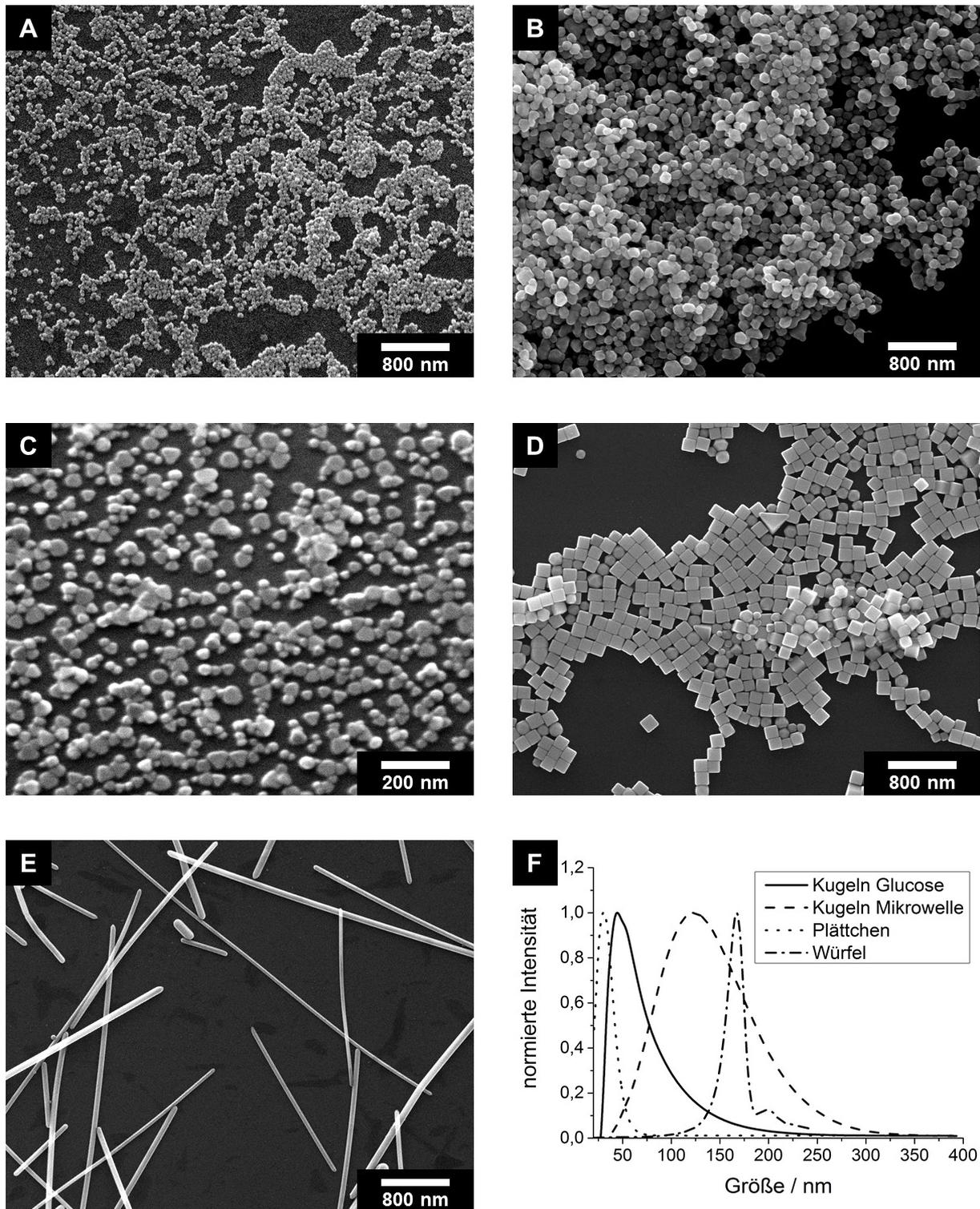


Abbildung 5.68.: Repräsentative REM-Aufnahmen von (A) Silber-Nanokugeln aus der Glucose-Synthese, (B) Silber-Nanokugeln aus der Mikrowelle, (C) Silber-Nanoplättchen (D) Silber-Nanowürfeln und (E) Silber-Nanostäbchen. Abbildung 5.68 (F) zeigt die durch analytische Scheibenzentrifugation ermittelten Größenverteilungen für alle Partikel bis auf Stäbchen, die aufgrund ihrer Größe zu schnell sedimentieren und daher nicht bestimmt werden konnten.

	Größe REM/TEM	Größe DLS	Größe DCS	PDI	ζ-Potential
Kugeln Glucose	40-70 nm	108 nm	45 nm	0,21	- 6,4 mV
Kugeln Mikrowelle	120-180 nm	128 nm	123 nm	0,21	- 2,8 mV
Plättchen	Breite: 20-40 nm Höhe: ca. 10 nm	48 nm	30 nm	0,33	- 7,3 mV
Würfel	140-180 nm	211 nm	167 nm	0,07	- 10,8 mV
Stäbchen	Länge: bis 20 μ m Breite: 50-100 nm	-	-	0,45	- 20,2 mV

Tabelle 5.16.: Größe, PDI und ζ -Potential der Nanopartikel-Stammlösungen.

5.6 Texturanalyse anhand von Polfiguren

In Kooperation mit Herrn Dr. Oleg Prymak wurden die in Kapitel 5.5 vorgestellten Silber-Nanopartikel mit Ausnahme der kugelförmigen Partikel aus der Glucose-Synthese ausführlicher mit verschiedenen Methoden der Röntgenbeugung untersucht. Die experimentell ermittelten Pulverdiffraktogramme wurden mit Hilfe der Rietveld-Methode verfeinert und bereits im Rahmen der vollständigen Charakterisierung der Partikel in den entsprechenden Abschnitten dieser Arbeit diskutiert. In diesem Zusammenhang wurde jeweils auch eine Phasenanalyse durchgeführt und der Gitterparameter a bestimmt. Weiterhin wurden die Kristallitgrößen berechnet und mit den Partikeldurchmessern in Korrelation gesetzt.

Aufgrund ihrer gerichteten Anordnung auf dem Probenträger zeigen alle analysierten Partikel mehr oder minder starke Texturen im Pulverdiffraktogramm. Die Vorzugsorientierung kann genutzt werden, um weitere Informationen über die Struktur und das Wachstum der Partikel zu erhalten. Zu diesem Zweck wurden stereographische Projektionen bzw. Polfiguren für die kristallographischen (111), (200), (220) und (311)-Flächen der verschiedenen Partikel aufgezeichnet (vgl. Abbildung 5.69 und 5.70). Die Intensität ist dabei in Abhängigkeit von dem Rotationswinkel um den Probenträger φ sowie von dem Kippwinkel des Probenträgers χ aufgetragen, der Beugungswinkel θ wird im Bereich der erwarteten Reflexion konstant gehalten.^[260] Während diese Technik in der Materialwissenschaft weit verbreitet ist,^[261] wird sie nur selten zur Charakterisierung von kristallinen Nanopartikeln mit anisotropen Morphologien eingesetzt. So beschreiben z.B. Paris *et al.* die kristallographische Orientierung mineralischer Nanopartikel in humanen Wirbelknochen mittels Polfigurenanalyse.^[262] Die Methode wurde ebenfalls zur Analyse der nanopartikulären, binären Salze ZnFe_2O_4 ^[263] und CuInS_2 ^[264] sowie zur Bestimmung der Ausrichtung von nanoskopischen Cobalt- und Nickelkristallen in einer Zinkoxid-Matrix eingesetzt.^[265] Für kubisch-flächenzentrierte Metalle gibt es einige Publikationen über Nickel-Nanowürfel^[266] und Silber-Beschichtungen.^[267-269] Im Rahmen dieser Arbeit wird nun erstmals eine vergleichende Polfigurenanalyse mit Silber-Nanopartikeln verschiedener Morphologien vorgestellt.

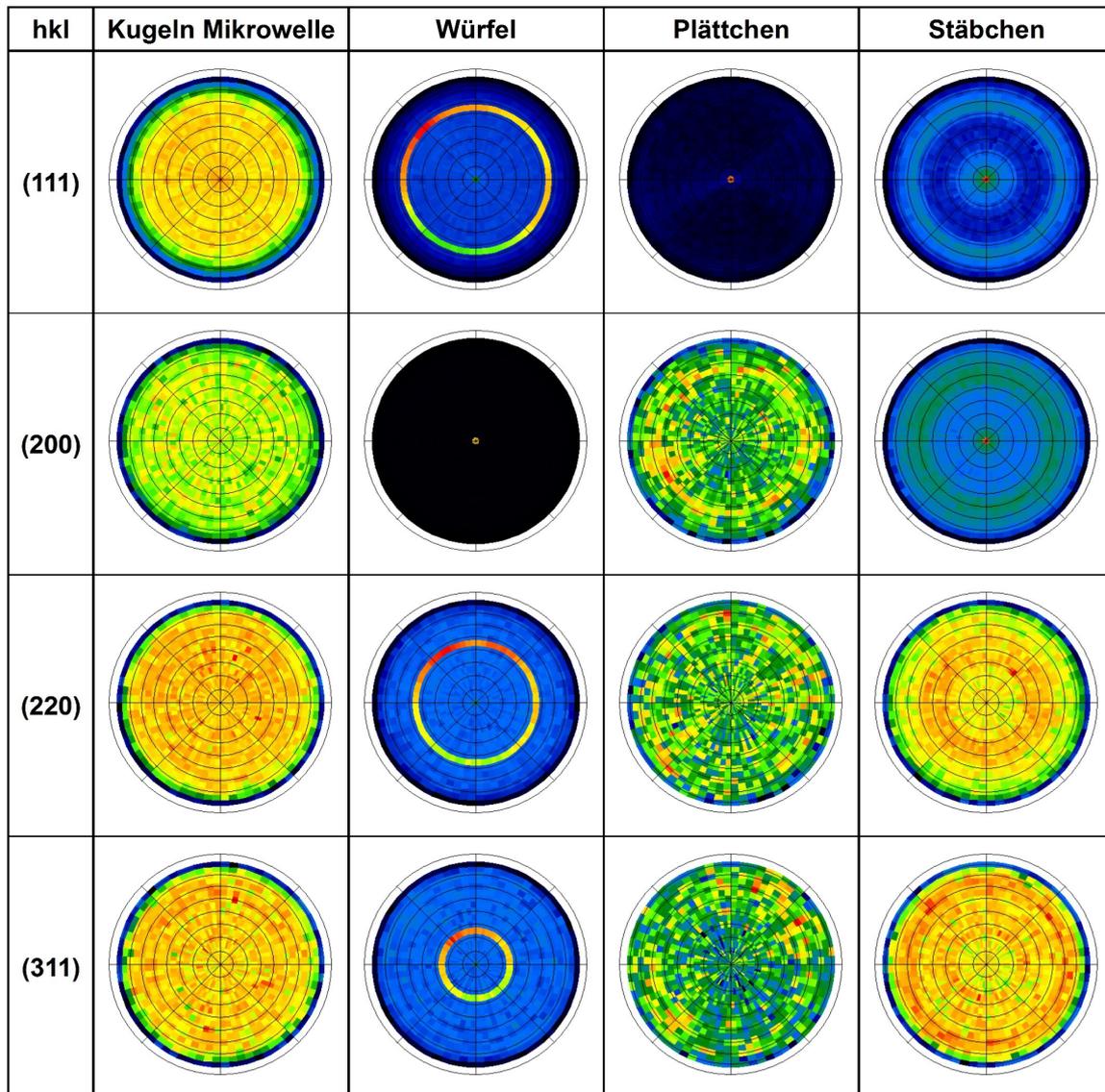
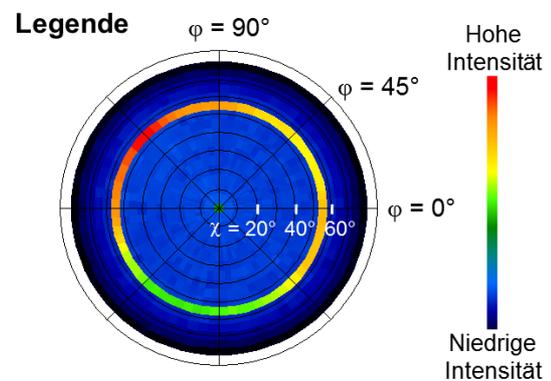


Abbildung 5.69.: 2D-Polfiguren von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Form für die verschiedenen Beugungsebenen im f.c.c. Kristallsystem.

Die vom Mittelpunkt ausgehenden Kreise kennzeichnen den Kippwinkel χ und sind um jeweils 10° voneinander entfernt. Der Winkel φ beschreibt die Drehachse des Proben Tellers.



5. Ergebnisse und Diskussion

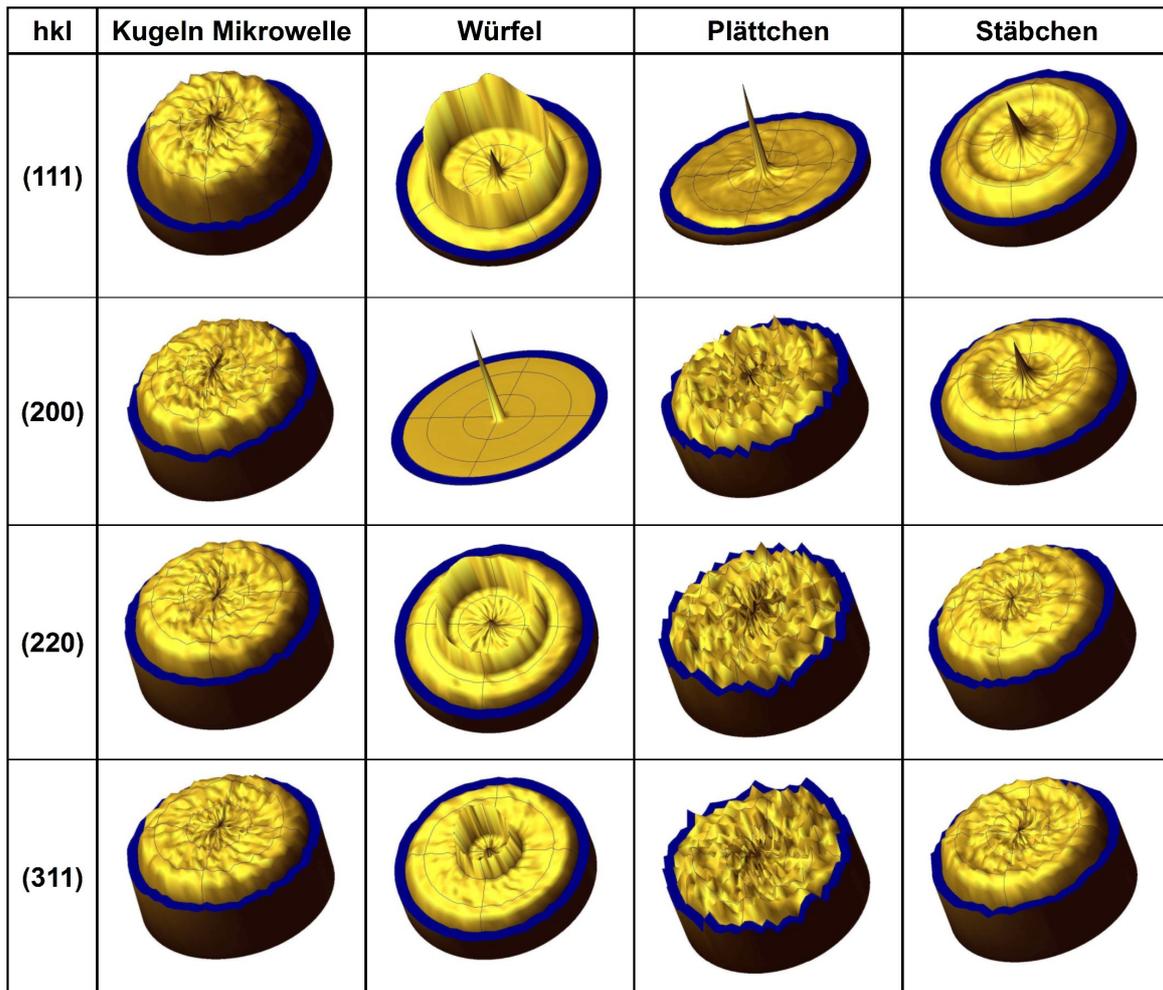


Abbildung 5.70.: 3D-Polfiguren von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie für die verschiedenen Beugungsebenen im kubisch-flächenzentrierten Ag-Kristall.

Perfekt sphärische Partikel sollten sich auf einem glatten Probenträger vollständig zufällig anordnen, sodass keine Vorzugsorientierung entsteht. Sowohl im Pulverdiffraktogramm (vgl. Abbildung 5.37) als auch in der Polfiguren-Analyse ist jedoch im Gegensatz dazu eine gegenüber der theoretischen Intensität (ICDD-PDF4 #04-0783) erhöhte Gesamtintensität des (111)-Reflexes zu beobachten, während für keine der vier untersuchten kristallographischen Flächen eine Intensitätsänderung in Abhängigkeit vom Kippwinkel χ auftritt. Bereits im REM und TEM wurde beobachtet, dass die Kugeln aus der Mikrowelle nicht perfekt rund, sondern verzerrt bzw. abgeflacht sind (vgl. Abbildungen 5.28 und 5.33). Wenn sie deshalb bevorzugt auf {111}-Flächen zum Liegen kommen, ansonsten aber keine Periodizität aufweisen, entsteht daraus die beschriebene Textur ohne Abhängigkeit von χ .

Die Silber-Nanowürfel kommen, bedingt durch ihre geometrische Gestalt, bevorzugt auf ihren {200}-Flächen zum Liegen. Im Gegensatz zu den kugelförmigen Partikeln weisen sie zudem eine regelmäßige, periodische Anordnung auf. Aus diesem Grund tritt in der (200)-Polfigur bei einem Kippwinkel von $\chi = 0^\circ$ eine starke Intensitätsspitze auf, die stark abfällt, sobald die {200}-Flächen aus der Beugungsebene gekippt werden und die Bragg-Bedingung nicht mehr erfüllen.

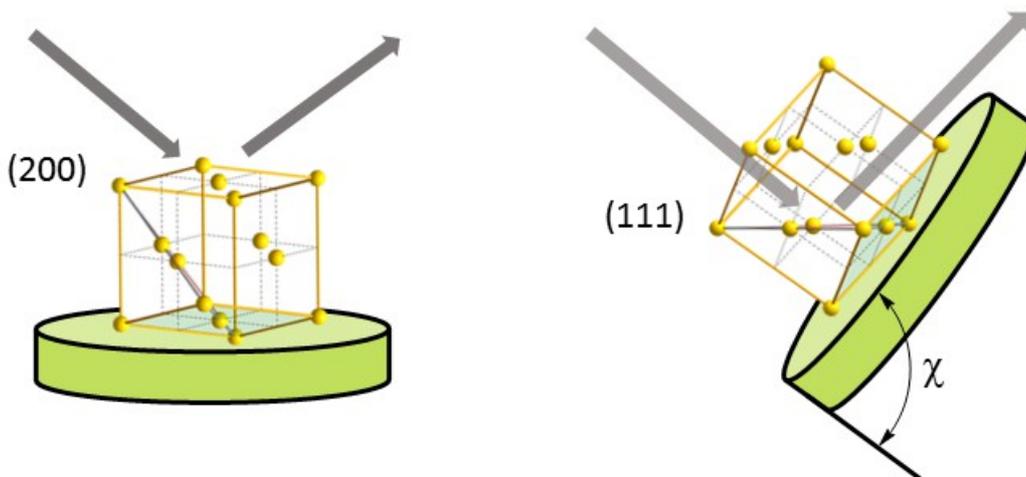


Abbildung 5.71.: Schematische Erklärung der Polfiguren für Silber-Nanowürfel. Bei einem Kippwinkel von $\chi = 0^\circ$ stehen aufgrund der gerichteten Orientierung der Würfel auf dem Probenträger hauptsächlich die {200}-Flächen in Bragg-Reflexion. In der (111)-Polfigur kann dann ein plötzlicher Anstieg der Intensität beobachtet werden, wenn der Probenteller so weit gekippt wird, dass die {111}-Flächen in Bragg-Reflexion stehen.

Die (111)-Polfigur weist bei $\chi = 0^\circ$ lediglich eine kleine Intensitätsspitze auf, die durch einige wenige Würfel erklärt werden kann, die derart auf einer Kante liegen, dass ihre {111}-Flächen die Bragg-Bedingung erfüllen. Der größte Teil der Würfel liegt jedoch auf den {200}-Flächen und erzeugt erst dann eine messbare Intensität, wenn der Probenteller mit dem Winkel χ so weit gekippt wird, dass die {111}-Ebenen in Reflexion stehen (vgl. Abbildung 5.71 rechts). Ein analoges Erklärungsmodell gilt auch für die (220)- und (311)-Polfiguren. Der Winkel Φ zwischen zwei kristallographischen Flächen im f.c.c.-Kristallsystem kann mit Hilfe der folgenden Gleichung berechnet werden:

$$\cos \phi = \frac{h_1 h_2 + k_1 k_2 + l_1 l_2}{\sqrt{h_1^2 + k_1^2 + l_1^2} \cdot \sqrt{h_2^2 + k_2^2 + l_2^2}} \quad (\text{Gleichung 15})$$

5. Ergebnisse und Diskussion

So beträgt z.B. der Winkel zwischen der (200)-Fläche und der (111)-Fläche $54,8^\circ$. Dieser Wert entspricht genau dem Kippwinkel χ von ca. 55° , bei dem experimentell in der (111)-Polfigur eine zylinderförmige Textur beobachtet werden kann.

Analoge Berechnungen wurden jeweils auch für die Winkel zwischen den (200) und (220) sowie den (200) und (311) Flächen durchgeführt. Die theoretisch bestimmten Kippwinkel stimmen nahezu perfekt mit den beobachteten Kippwinkeln überein, bei denen in den entsprechenden Polfiguren der Würfel ein zylinderförmiger Intensitätsanstieg auftritt (vgl. Tabelle 5.17).

Polfigur/Fläche	Φ berechnet	χ gemessen
(111)	$54,8^\circ$	55°
(200)	0°	0°
(220)	45°	45°
(311)	$25,3^\circ$	25°

Tabelle 5.17.: Berechnete Winkel Φ zwischen der (200) Ebene und den (111), (200), (220) sowie (311) Ebenen im Vergleich mit den gemessenen Kippwinkeln aus den jeweiligen Polfiguren der Silber-Nanowürfel.

Wie bereits mehrfach erklärt wurde, sind Silber-Nanoplättchen aufgrund ihrer hohen spezifischen Oberfläche thermodynamisch ungünstig. Die Synthese erfolgt daher unter kinetischer Kontrolle, indem ein schwächeres Reduktionsmittel als Ethylenglycol verwendet wird. Es resultiert ein anisotropes Wachstum in kristallographischer [111]-Richtung, die entstehenden Plättchen enden auf {111}-Flächen und richten sich, ähnlich wie die Würfel, geordnet auf der Oberfläche des Probenträgers aus (vgl. Kapitel 5.2.6). In guter Übereinstimmung dazu wird in der (111)-Polfigur eine starke Textur bei einem Kippwinkel von $\chi = 0^\circ$ beobachtet, während alle weiteren Polfiguren der Plättchen keine Textureffekte aufweisen und eine ähnliche Intensitätsverteilung wie die quasi-sphärischen Partikel besitzen.

Für die Silber-Nanostäbchen ist die Situation komplizierter. Sowohl in der (111)- als auch in der (200)-Polfigur tritt eine Intensitätsspitze bei $\chi = 0^\circ$ sowie eine charakteristische, wellenförmige Intensitätsverteilung bei $\chi \approx 45-65^\circ$ auf. Die Polfiguren für die kristallographischen (220)- und (311)-Flächen sind nicht texturiert und gleichen

denen der kugelförmigen Partikel aus der Mikrowellen-Synthese. Aufgrund ihrer Länge kann davon ausgegangen werden, dass die Stäbchen horizontal auf dem Probenträger liegen und nicht stehen. Diese Annahme wurde auch im REM bestätigt (vgl. Abbildung 5.62). Mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie wurde versucht, den Querschnitt der Stäbchen weiter aufzuklären.

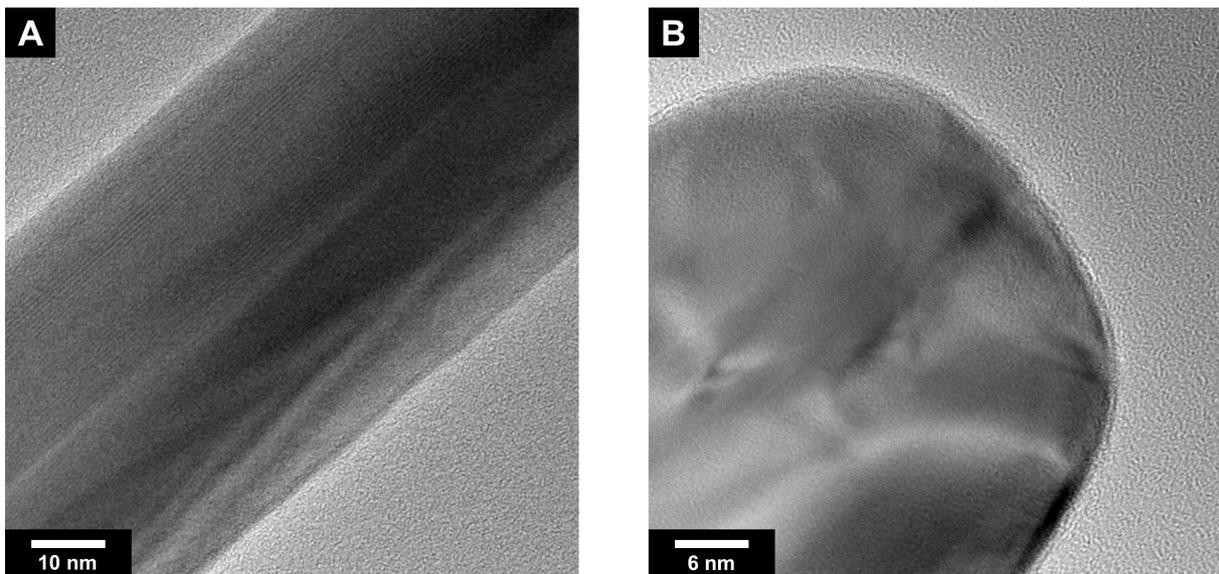


Abbildung 5.72.: HRTEM-Abbildungen von Silber-Nanostäbchen nach Buhro *et al.*^[141]

Abbildung 5.72A und 5.72B zeigen jeweils denselben Partikel, wobei einmal ein Ausschnitt aus dem mittleren Teil und einmal das Ende des Stäbchens abgebildet sind. Der Durchmesser beträgt in guter Übereinstimmung zu den REM-Daten ca. 50 nm. Weitere Aussagen über die Symmetrie des Querschnitts können aus den vorliegenden Abbildungen jedoch nicht getroffen werden, es ist lediglich zu erkennen, dass die Stäbchen nicht einkristallin vorliegen, sondern verzwilligt sind. Da die Synthese durch heterogenes Wachstum von Silber auf Silberchlorid-Keimen erfolgt ist, kann der in Kapitel 5.4.2 diskutierte Bildungsmechanismus nicht ohne weiteres auf die hier untersuchten Partikel übertragen werden. Insbesondere war es nicht möglich, den in der Literatur für vergleichbare Partikel vorgestellten, pentagonalen Querschnitt^[257,270-272] im TEM nachzuweisen, die Spitze der Stäbchen erscheint in Abbildung 5.72B sogar eher rund. Aus diesen Gründen können die ermittelten Polfiguren für die Nanostäbchen nicht vollständig interpretiert werden, bestätigt ist lediglich eine Textur für die kristallographischen {111}- und {200}-Flächen.

5.7 Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln

Der Einfluss der Morphologie auf die Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln wurde durch die von Kittler *et al.* und Diendorf *et al.* etablierte Dialysemethode untersucht.^[12,15] Diese konnten in früheren Arbeiten zeigen, dass sich Silber-Nanopartikel in Reinstwasser durch Einwirkung von Luftsauerstoff allmählich unter Freisetzung von Ag⁺-Ionen auflösen, wohingegen sie unter Argon-Atmosphäre langfristig stabil sind. Die freigesetzten Silberionen sind so klein, dass sie eine Dialysemembran aus Cellulose-Ester passieren und im umgebenden Medium mittels AAS detektiert werden können, während die größeren Nanopartikel durch die Membran zurückgehalten werden.^[12,15]

Dieses Experiment wurde nun unter vergleichbaren Bedingungen auf die in Kapitel 5.5 vorgestellten Silber-Nanopartikel mit unterschiedlicher Morphologie erweitert (vgl. Kapitel 4.10). Als Dialysemedium wurde für alle Partikel Reinstwasser (pH = 4,8; O₂-Sättigung = 93,3 %; Temperatur = 25 ± 2 °C) verwendet. Die gelöste Masse Silber zum Zeitpunkt t kann durch folgenden Zusammenhang berechnet werden:

$$m_t = c_t V_t + m_{ent} \quad (\text{Gleichung 16})$$

- m_t = Gelöste Masse Silber zum Zeitpunkt t der Probennahme
- c_t = Silberionen-Konzentration im Medium zum Zeitpunkt t
- V_t = Volumen des Mediums zum Zeitpunkt t
- m_{ent} = Bisher für Analysen entnommene Masse Silber

Setzt man den erhaltenen Wert nach Gleichung 17 in Relation zur im Gesamtsystem vorhandenen Silbermenge, so ergibt sich daraus der zum Zeitpunkt t gelöste Massenanteil in Prozent.

$$m_{gel} = \left(\frac{m_t}{m_{ges}} \right) \cdot 100\% \quad (\text{Gleichung 17})$$

- m_{gel} = Gelöster Massenanteil Silber zum Zeitpunkt t der Probennahme
- m_t = Gelöste Masse Silber zum Zeitpunkt t der Probennahme
- m_{ges} = Gesamtmasse Silber im System (Schlauch + Medium)

Zu Beginn des Experiments wurden $m_{ges} = 400 \mu\text{g}$ Silber im Dialyseschlauch vorgelegt. Daraus lässt sich folgendes Auflösungsdiagramm konstruieren:

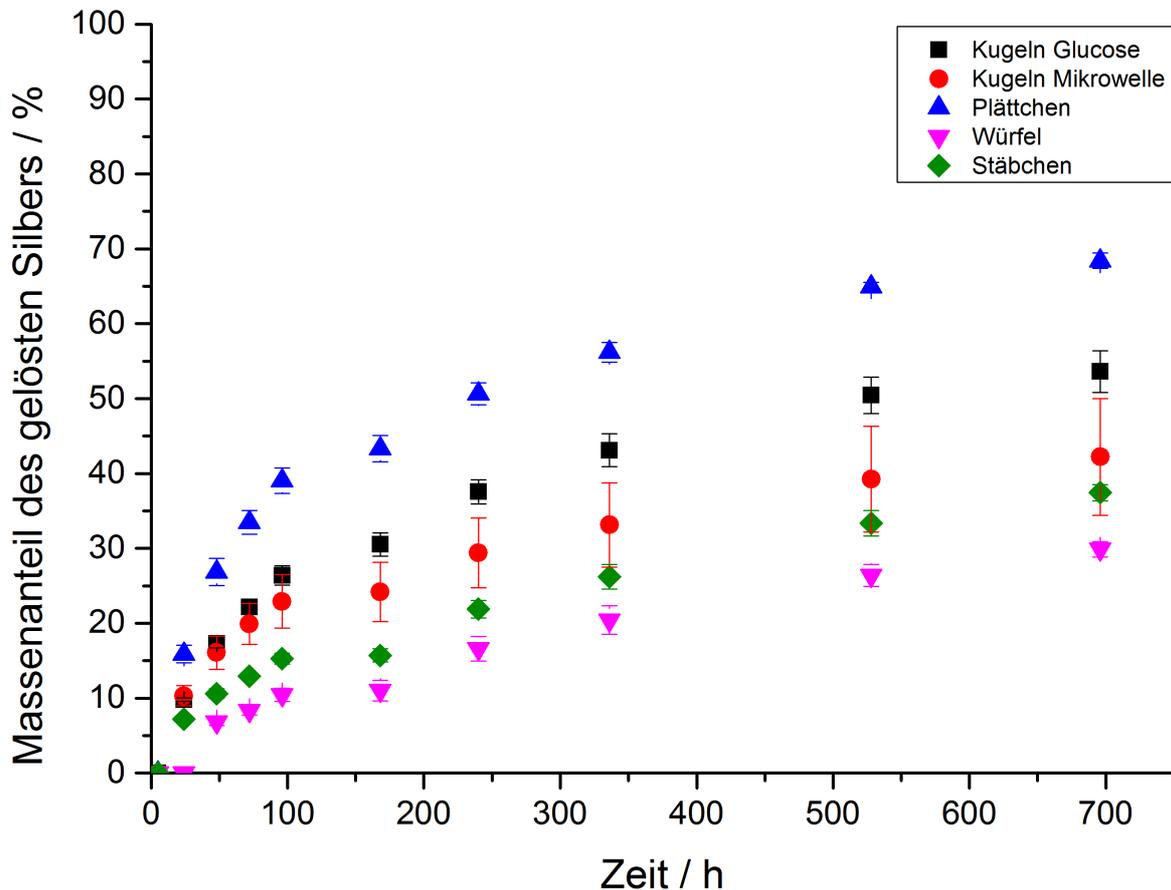


Abbildung 5.73.: Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie in Reinstwasser; Werte bezogen auf die vorgelegte Menge Silber.

Nach Ablauf von 30 Tagen wurden die Dialyseschläuche aufgeschnitten und die verbliebene Menge Silberpartikel durch Zugabe von 20 mL konzentrierter Salpetersäure in Lösung gebracht. Der Silbergehalt im Medium wurde mittels AAS bestimmt und zu den bislang entnommenen Silbermengen addiert. Für m_{ges} ergibt sich daraus für jede Probe ein zweiter, experimentell bestimmter Wert m_{ges2} (vgl. Tabelle 5.18).

5. Ergebnisse und Diskussion

	Kugeln Glucose	Kugeln Mikrowelle	Plättchen	Würfel	Stäbchen
Probe 1	384 µg	342 µg	391 µg	336 µg	342 µg
Probe 2	378 µg	374 µg	395 µg	325 µg	307 µg
Probe 3	362 µg	375 µg	394 µg	340 µg	341 µg

Tabelle 5.18.: Summe aus entnommener und nach Abschluss der Experimente im Dialyseschlauch verbleibender Silbermenge. Zum Teil weichen die Werte relativ stark von der Einwaage (400 µg) ab. Insbesondere bei den Stäbchen und Würfeln wurden auch nach Zugabe von Salpetersäure schwarze Silberniederschläge an der Stelle der Verschluss-Clips beobachtet, die folglich nicht detektiert werden konnten.

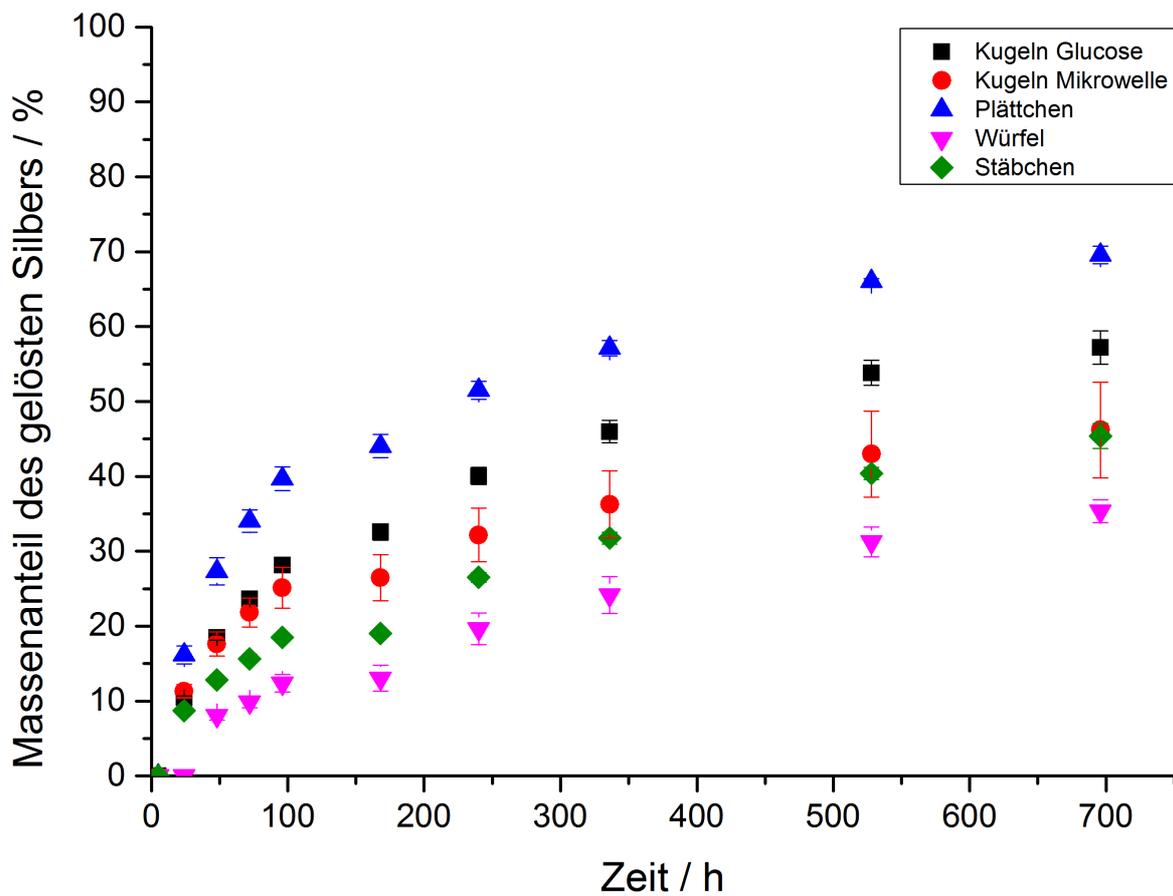


Abbildung 5.74.: Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie in Reinstwasser; Werte bezogen auf m_{ges2} aus Tabelle 5.18.

Die ermittelten Werte für m_{ges2} nach Abschluss der Experimente liegen im Bereich von 300 bis 400 μg Silber (vgl. Tabelle 5.18) und stehen damit in guter Übereinstimmung mit der zu Beginn zugegebenen Gesamtmenge von 400 μg Silber für jede Probe. Die Abweichung der Daten in Richtung zu geringer Silbermengen lässt sich zum einen durch den relativ hohen Gesamtfehler bei der Berücksichtigung von insgesamt elf entnommenen AAS-Proben erklären. Zum anderen wurde auch noch nach Zugabe der konzentrierten Salpetersäure an manchen Dialyseschläuchen, insbesondere an den Stellen, an denen die Verschluss-Clips angebracht waren, eine leichte Schwarzfärbung beobachtet. Dies spricht für einen gewissen Anteil ungelöster Silberniederschläge, die folglich nicht detektiert werden konnten.

Verwendet man nun in Gleichung 17 für m_{ges} statt der eingesetzten Silbermenge von 400 μg die experimentell ermittelten Werte m_{ges2} , so ergibt sich daraus ein korrigiertes Auflösungsdiagramm (vgl. Abbildung 5.74). Beide Diagramme ähneln sich trotz des beschriebenen Silberverlusts am Verschluss des Dialyseschlauchs in ihrer Tendenz und Aussage, wobei der prozentuale Anteil an gelöstem Silber in Diagramm 5.74 aufgrund der geringeren Werte für m_{ges2} erwartungsgemäß höher ist. Die Auflösungskinetik von Silber-Nanopartikeln unterscheidet sich signifikant in Abhängigkeit von ihrer Morphologie. Nach 696 Stunden (29 Tagen) hat sich am meisten Silber aus den Plättchen gelöst ($68 \pm 1 \%$ bezogen auf m_{ges} , bzw. $70 \pm 1 \%$ bezogen auf m_{ges2}). Es folgen die sphärischen Partikel aus der Glucose-Synthese ($54 \pm 3 \%$ bzw. $57 \pm 2 \%$) sowie aus der Mikrowellen-Synthese ($42 \pm 8 \%$ bzw. $46 \pm 6 \%$) mit vergleichbaren Werten und anschließend die Nanostäbchen ($37 \pm 1 \%$ bzw. $45 \pm 2 \%$). Am schlechtesten lösen sich die Silber-Nanowürfel unter den gegebenen Bedingungen nach 29 Tagen in Reinstwasser ($30 \pm 1 \%$ bzw. $35 \pm 2 \%$). Diese Tendenz ist bereits nach 24 Stunden zu beobachten und setzt sich im weiteren Verlauf des Experiments fort.

Aufgrund der unterschiedlichen experimentellen Bedingungen (pH-Wert und Sauerstoffgehalt des Dialysemediums, Größe, Morphologie und Funktionalisierung der verwendeten Partikel etc.) lassen sich die erhaltenen Ergebnisse nur eingeschränkt mit der Literatur vergleichen. Am ehesten eignet sich ein Vergleich mit Kittler *et al.*, die unter ähnlichen Bedingungen für die Auflösung von sphärischen Silber-

5. Ergebnisse und Diskussion

Nanopartikeln aus der Glucose-Synthese nach ca. 700 Stunden in Reinstwasser (25 °C; Ausgangskonzentration von 0,1 mg mL⁻¹) einen Wert von ca. 52 % ermitteln konnten.^[12] Dieser stimmt sehr gut mit dem hier bestimmten Wert von 53,6 ± 2,8 % überein.

Bei der Interpretation der Ergebnisse stellt sich nun die Frage, warum sich Plättchen schneller, Stäbchen und Würfel hingegen langsamer als Kugeln auflösen. Mögliche Ursachen dafür können die unterschiedliche Größe, Ladung, Form sowie die Anzahl der (Zwillings-)defekte der jeweiligen Partikel sein. Alle untersuchten Partikel sind mit dem gleichen Liganden (PVP) funktionalisiert und weisen ein negatives ζ-Potential auf, weshalb insbesondere das Oberflächen/Volumen-Verhältnis für die Auflösungskinetik von Interesse ist. Dieses soll im Folgenden grob abgeschätzt werden, wobei die Stäbchen und Plättchen in erster Näherung als Zylinder betrachtet werden und für die Kugeln und Würfel von einer unverzerrten, idealen Geometrie ausgegangen wird. Für die Partikelradien und -längen bzw. -höhen werden plausible Mittelwerte aus den REM-Aufnahmen eingesetzt. Es ergeben sich folgende Formeln und Werte:

	Kugeln Glucose	Kugeln Mikrowelle	Plättchen	Würfel	Stäbchen
Volumen (V)	$4/3\pi r^3$	$4/3\pi r^3$	$\pi r^2 h$	a^3	$\pi r^2 h$
Oberfläche (O)	$4\pi r^2$	$4\pi r^2$	$2\pi r^2 + 2\pi r h$	$6a^2$	$2\pi r^2 + 2\pi r h$
Radius (r)	30 nm	75 nm	20 nm	-	50 nm
Höhe (h)	-	-	15 nm	-	4000 nm
Kante (a)	-	-	-	160 nm	-

Tabelle 5.19.: Formeln und Werte für die Abschätzung der Partikelvolumina und Oberflächen.

Daraus können Volumen, Oberfläche, spezifische Oberfläche und mit Hilfe der eingesetzten Konzentrationen auch die normierte Auflösungsrate berechnet werden:

	Kugeln Glucose	Kugeln Mikrowelle	Plättchen	Würfel	Stäbchen
Volumen / nm ³	1,13·10 ⁵	1,77·10 ⁶	1,88·10 ⁴	4,10·10 ⁶	3,14·10 ⁷
Oberfläche / nm ²	1,13·10 ⁴	7,07·10 ⁴	4,40·10 ³	1,54·10 ⁵	1,27·10 ⁶
Oberfläche/Volumen / nm ⁻¹	0,100	0,040	0,234	0,038	0,040
Partikelkonzentration / mL ⁻¹	8,43·10 ¹⁰	5,39·10 ⁹	5,06·10 ¹¹	2,33·10 ⁹	3,03·10 ⁸
abs. Oberfläche / m ² mL ⁻¹	9,54·10 ⁻⁴	3,81·10 ⁻⁴	2,22·10 ⁻³	3,58·10 ⁻⁴	3,86·10 ⁻⁴
Aufgelöste Menge Ag pro Zeit / µg mL ⁻¹ s ⁻¹	2,14·10 ⁻⁵	1,68·10 ⁻⁵	2,73·10 ⁻⁵	1,19·10 ⁻⁵	1,49·10 ⁻⁵
Ag Auflösungsrate pro Zeit und Oberfläche / ng s ⁻¹ m ⁻²	22	44	12	33	39

Tabelle 5.20.: Abschätzung von Volumen, Oberfläche, spezifischer Oberfläche und Silber-Auflösungsrate der untersuchten Nanopartikel aus den Werten aus Tabelle 5.19.

Da die realen Partikelmaße und -geometrien deutlich von den angenommenen Vereinfachungen abweichen, sind die so berechneten Werte stark fehlerbehaftet. Dennoch kann die spezifische Oberfläche zumindest qualitativ abgeschätzt werden. Es ergibt sich folgende Reihe:

Plättchen > Kugeln Glucose > Kugeln Mikrowelle ≈ Stäbchen > Würfel

Vergleicht man die geschätzten spezifischen Oberflächen mit den experimentell bestimmten Auflösungskurven (vgl. Abbildung 5.73 und 74), so ergibt sich eine gute Übereinstimmung dahingehend, dass sich die Partikel mit größerer spezifischer Oberfläche schneller auflösen als die Partikel mit kleinerer spezifischer Oberfläche. Daraus folgt die Vermutung, dass die Oxidation von Ag zu Ag⁺ an der Oberfläche der Partikel der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei der Auflösung von Silber-Nanopartikeln im wässrigen Medium ist. Normiert man weiterhin die Auflösungsrate auf die Oberfläche, so erhält man Werte zwischen 12 und 44 ng s⁻¹ m⁻², wobei ein möglicher Einfluss der verschiedenen kristallographischen Flächen vernachlässigt wird. Zum Vergleich wurde die normierte Auflösungsrate eines Silberbarrens mit

5. Ergebnisse und Diskussion

einer Abmessung von $50 \cdot 28 \cdot 2,2$ mm unter Zuhilfenahme der von Diendorf *et al.* bestimmten Auflösungskinetik in Reinstwasser^[273] berechnet. Das Ergebnis beträgt $2 \text{ ng s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ und ist demzufolge etwa eine Größenordnung kleiner. Eine mögliche Erklärung ist die höhere Anzahl von Oberflächendefekten in Nanopartikeln im Vergleich zum makroskopischen Festkörper.

5.8 Biologische Wirksamkeit von Silber-Nanopartikeln

In Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Manfred Köller und Frau Prof. Dr. Christina Sengstock von der Abteilung für chirurgische Forschung am Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum wurde die biologische Wirksamkeit der in Kapitel 5.5 vorgestellten Silber-Nanopartikel untersucht.

Wie bereits ausführlich diskutiert wurde (vgl. Kapitel 2.2.2), ist die antimikrobielle Wirkung von kolloidalem Silber bereits seit langem bekannt.^[120] Silber-Nanopartikel werden heutzutage in einer Vielzahl verschiedener, kommerziell erhältlicher Produkte auf dem medizinischen Sektor,^[21-28] aber z.B. auch in Kosmetika und Funktionstextilien eingesetzt.^[37-42] Einer der vielversprechendsten Anwendungsbereiche ist die Beschichtung medizinischer Oberflächen und Implantate, wodurch die initiale Bildung eines bakteriellen Biofilms sowie daraus resultierende Infektionen verhindert werden können.^[9] In vielen Fällen ist ein direkter Kontakt zwischen Silber-Nanopartikeln und menschlichem Gewebe unvermeidlich oder sogar erwünscht, weshalb umfassende toxikologische Studien notwendig sind. Von besonderem Interesse ist dabei die Evaluation des therapeutischen Fensters, in dem die Partikel wirksam gegen Bakterien sind, ohne zugleich menschliche Zellen zu schädigen bzw. Stoffwechselprozesse negativ zu beeinflussen. Während zunächst ein spezifischer „Partikeleffekt“ nicht ausgeschlossen werden konnte, gibt es mittlerweile gute Argumente dafür, dass die Toxizität hauptsächlich auf der intrazellulären Freisetzung von Ag^+ -Ionen aus den Silber-Nanopartikeln beruht.^[274,275] Eine kritische Größe ist also die Auflösungskinetik, die direkt mit der Partikelgröße korreliert werden kann. So konnten z.B. Sotiriou *et al.* und Martínez-Castañón *et al.* zeigen, dass kleinere Partikel schneller Ionen freisetzen und dadurch toxischer auf Zellen wirken als größere Partikel.^[276,277] In Kapitel 5.7 wurde diskutiert, dass neben der Größe auch die Form der Partikel einen signifikanten Einfluss auf ihre Auflösungskinetik hat. Bisher gibt es jedoch nur wenige Arbeiten, in denen der toxische Effekt von Silber-Nanopartikeln in Abhängigkeit von ihrer Form untersucht wird. In einer aktuellen Studie von Hong *et al.* werden Silber-Nanowürfel mit Kugeln und Stäbchen in der Größenordnung von jeweils ca. 60 nm verglichen, wobei die Toxizität gegenüber *Escherichia coli* mit der spezifischen Oberfläche der Partikel abnimmt. Eine Gegenüberstellung der Wirkung

5. Ergebnisse und Diskussion

auf eukaryotischen Zellen wurde allerdings nicht durchgeführt, zudem liegen keine experimentellen Daten über die Ionenfreisetzung der Partikel vor.^[278] Im Widerspruch zu den Ergebnissen von Hong *et al.* konnten Actis *et al.* keinen Einfluss der Partikelmorphologie auf die Viabilität von *Staphylococcus aureus* und humanen fetalen Osteoblasten nach Inkubation mit Silber-Nanokugeln, -plättchen und -würfeln in der Größenordnung von ca. 25-80 nm feststellen.^[279] Eine Korrelation zwischen Toxizität und Morphologie bzw. spezifischer Partikeloberfläche wird ebenfalls von Favi *et al.* sowie von Pal *et al.* diskutiert.^[280,281]

Insgesamt sind die bisher in der Literatur vorgestellten Daten noch nicht konsistent, obwohl ein Trend dahingehend beobachtet werden kann, dass die Form bzw. Oberflächenstruktur der Partikel einen Einfluss auf die Toxizität gegenüber Bakterien zu haben scheint. Ziel dieser Arbeit ist daher, die vermuteten Zusammenhänge zwischen Partikelmorphologie, Oberflächenstruktur, Auflösungskinetik und Toxizität gegenüber verschiedenen Zelltypen unter möglichst vergleichbaren Parametern zu untersuchen und mit experimentellen Daten zu beweisen. Um eine Verfälschung der Ergebnisse durch störende Nebenprodukte aus der Synthese oder durch vorzeitige Freisetzung von Ag⁺-Ionen zu vermeiden, wurden alle Partikel vor der Inkubation durch mehrfaches Waschen mit Reinstwasser gereinigt, mittels Ultrazentrifugation gesammelt und in Argon-gesättigtem Reinstwasser unter Ausschluss von Licht gelagert. Als Modellsysteme wurden humane mesenchymale Stammzellen (hMSC) für eukaryotische Zellen und *Staphylococcus aureus* für prokaryotische Zellen verwendet. In beiden Fällen wurde RPMI1640 mit 10 % FCS als Zellkulturmedium eingesetzt. Dies stellt zum einen eine hohe Vergleichbarkeit der Ergebnisse sicher, zum anderen ist RPMI/FCS ein bewährtes Standardmedium für Säugetierzellen und ein gutes Modell für *in vivo* Bedingungen. Mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung wurde bereits gezeigt, dass alle verwendeten Partikel bei 37 °C für mindestens 24 h in RRMI/FCS stabil sind, ohne dass es zur nennenswerten Agglomeration kommt.

Zunächst wurde die Aufnahme der Partikel in humane mesenchymale Stammzellen untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Zellen bei 37 °C für 24 h in Gegenwart der Silber-Nanopartikel mit einer Konzentration von je 12,5 µg mL⁻¹ (bezogen auf Silber) kultiviert und anschließend mittels konfokaler Laserscanningmikroskopie (CLSM)

analysiert (vgl. Abbildung 5.75). Die Zellkerne wurden dabei mit dem blauen Fluoreszenzfarbstoff Hoechst33342 angefärbt. Es ist deutlich zu erkennen, dass alle Partikel unabhängig von ihrer Morphologie dazu in der Lage sind, die Zellmembran zu penetrieren. Im Folgenden kommt es zu einer perinukleären Aggregation, die in Abbildung 5.75 durch weiße Pfeile veranschaulicht ist.

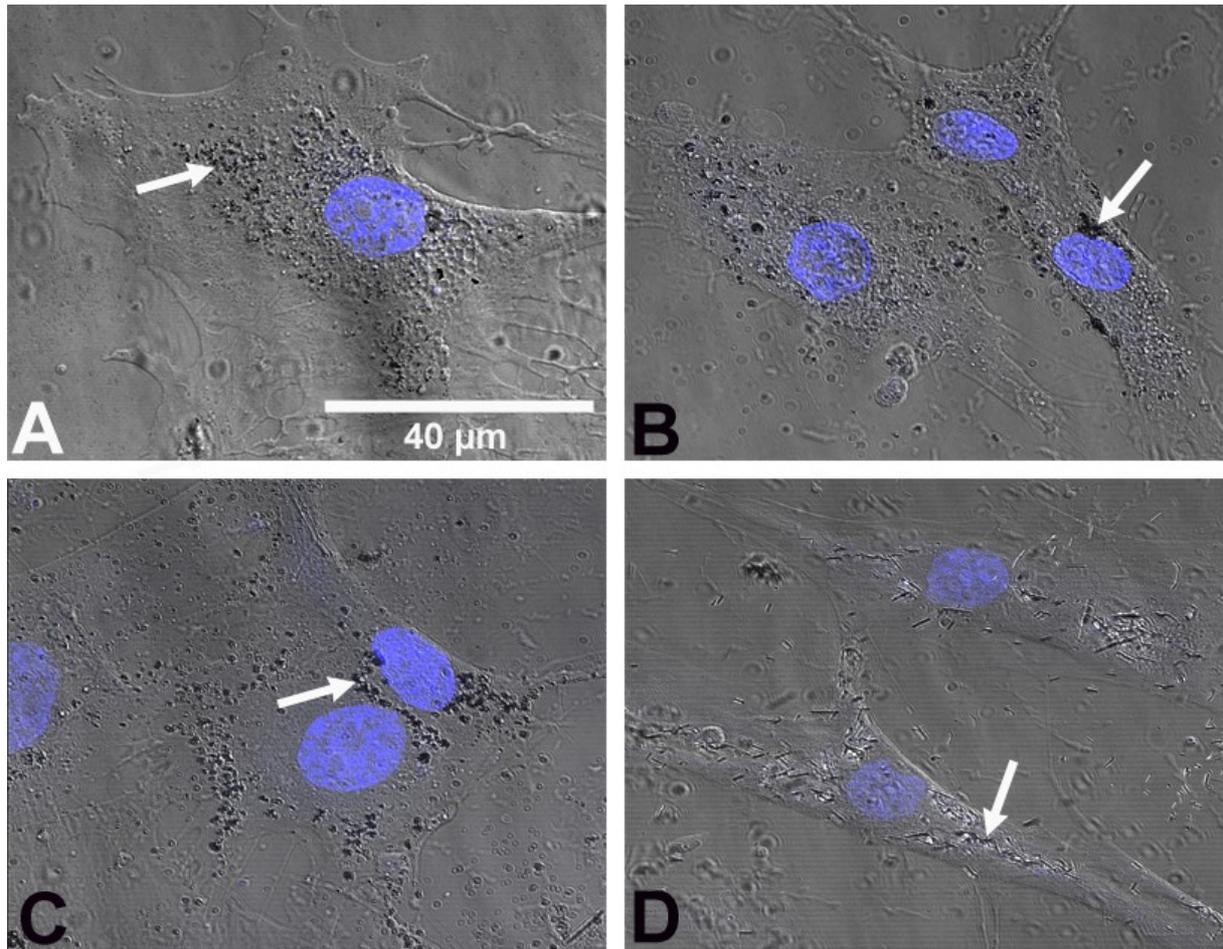


Abbildung 5.75.: CLSM-Aufnahmen von Silber-Nanopartikeln in hMSC nach 24 h bei 37 °C unter Zellkulturbedingungen. Die Zellkerne sind durch den blauen Fluoreszenzfarbstoff Hoechst33342 markiert. Weiße Pfeile veranschaulichen die perinukleäre Aggregation. (A) Plättchen, (B) Kugeln Mikrowelle, (C) Würfel, (D) Stäbchen.

5. Ergebnisse und Diskussion

Eine weitere nützliche Methode zur Bestätigung der Aufnahme von Nanopartikeln durch Zellen ist die Durchflusszytometrie. Bei diesem Verfahren werden die Zellen in hohem Tempo an einem Laserstrahl vorbei geleitet. Das eingestrahlte Licht wird dabei gestreut, wobei die Streulichtintensität u.a. von der Dichte der Zelle und damit auch von der Menge und Größe der aufgenommenen Partikel abhängt. Auf diese Weise können innerhalb kurzer Zeit repräsentative Informationen über eine große Anzahl von Zellen gewonnen werden.^[282,283]

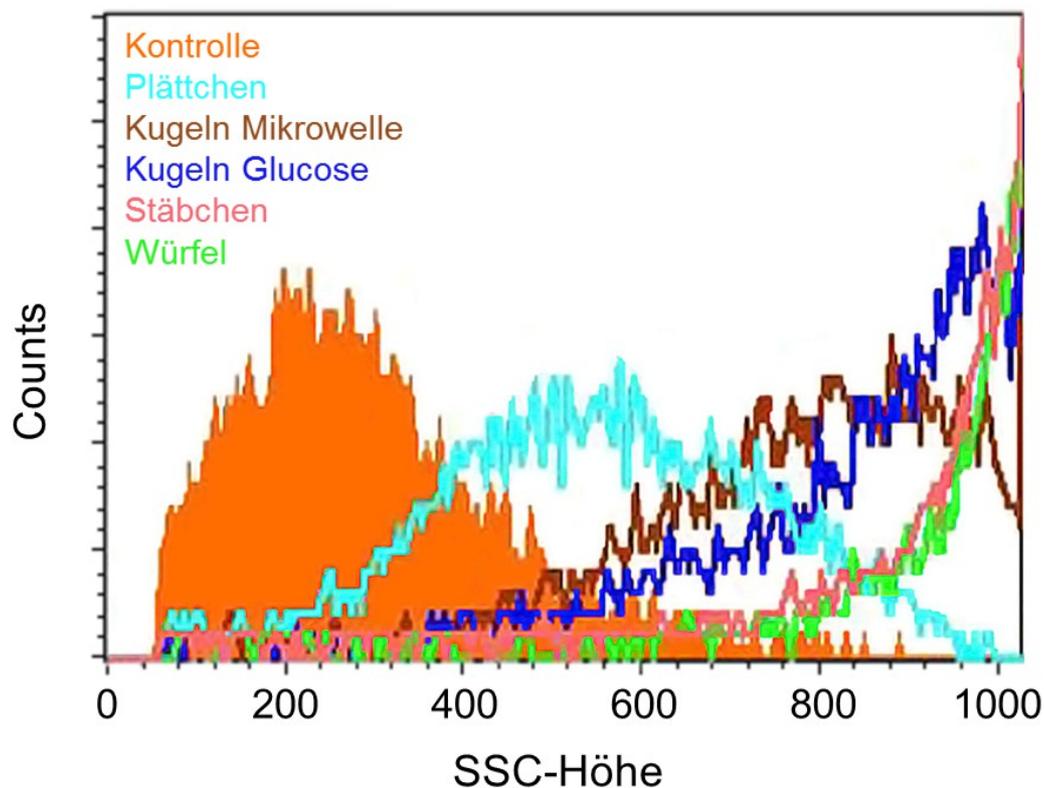


Abbildung 5.76.: Repräsentatives Durchflusszytometrie-Histogramm für das Seitwärtsstreulicht von Silber-Nanopartikeln mit verschiedener Morphologie sowie einer Kontrolle.

Abbildung 5.76 zeigt die Ergebnisse für humane mesenchymale Stammzellen nach Inkubation mit Silber-Nanopartikeln unterschiedlicher Morphologie (Konzentration $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ bezogen auf Silber) für 24 h bei 37°C unter Zellkulturbedingungen. Auf der x-Achse ist das Seitwärtsstreulicht (SSC, engl. *side scattered light*) aufgetragen, die y-Achse kann im weiteren Sinne als Zellanzahl interpretiert werden. Die gemessenen Werte korrelieren gut mit der Größe der aufgenommenen Partikel (vgl. Tabelle 5.16). Je größer die Partikel sind, desto weiter wird das SSC-Signal nach rechts verschoben.

Zur Bestimmung der Zellviabilität wurden humane mesenchymale Stammzellen für 24 h bzw. 3 d bei 37 °C unter Zellkulturbedingungen mit den verschiedenen Silber-Nanopartikeln inkubiert. Dabei wurden Konzentrationen von 2,5 µg mL⁻¹, 5 µg mL⁻¹, 12,5 µg mL⁻¹, 25 µg mL⁻¹ und 50 µg mL⁻¹ (bezogen auf die Menge an Silber) verwendet. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Zellen zur Entfernung überschüssiger Partikel mehrfach gewaschen und mit Calcein-Acetoxy-methylester versetzt. Calcein-AM weist selbst keine Fluoreszenz auf. Es diffundiert durch die Zellmembran in das Zytoplasma und wird dort enzymatisch unter Einwirkung von Esterasen gespalten. Das freigesetzte Calcein kann innerhalb der Zelle mit Calcium-Ionen zu einem grün fluoreszierenden Komplex reagieren. Da tote Zellen über keine aktiven Esterasen verfügen, werden nur lebende Zellen durch den Fluoreszenzfarbstoff markiert. Mittels Fluoreszenzmikroskopie und anschließender digitaler Phasenanalyse kann die Menge an lebenden Zellen quantifiziert werden.^[284,285]

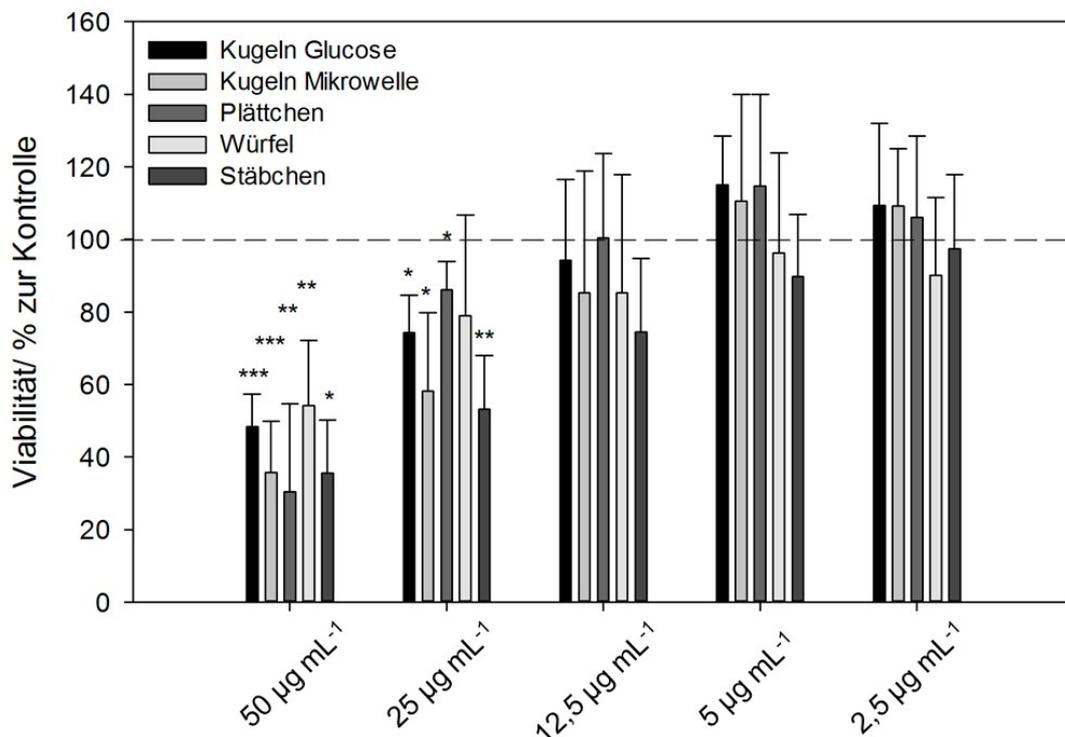


Abbildung 5.77.: Einfluss von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie auf die Viabilität von humanen mesenchymalen Stammzellen nach einer Inkubationszeit von 24 h bei 37 °C unter Zellkulturbedingungen. Die Viabilität wurde durch Anfärbung mit Calcein-AM und anschließende Phasenanalyse bestimmt. (*) Signifikanz gegenüber Kontrolle (* $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$).

5. Ergebnisse und Diskussion

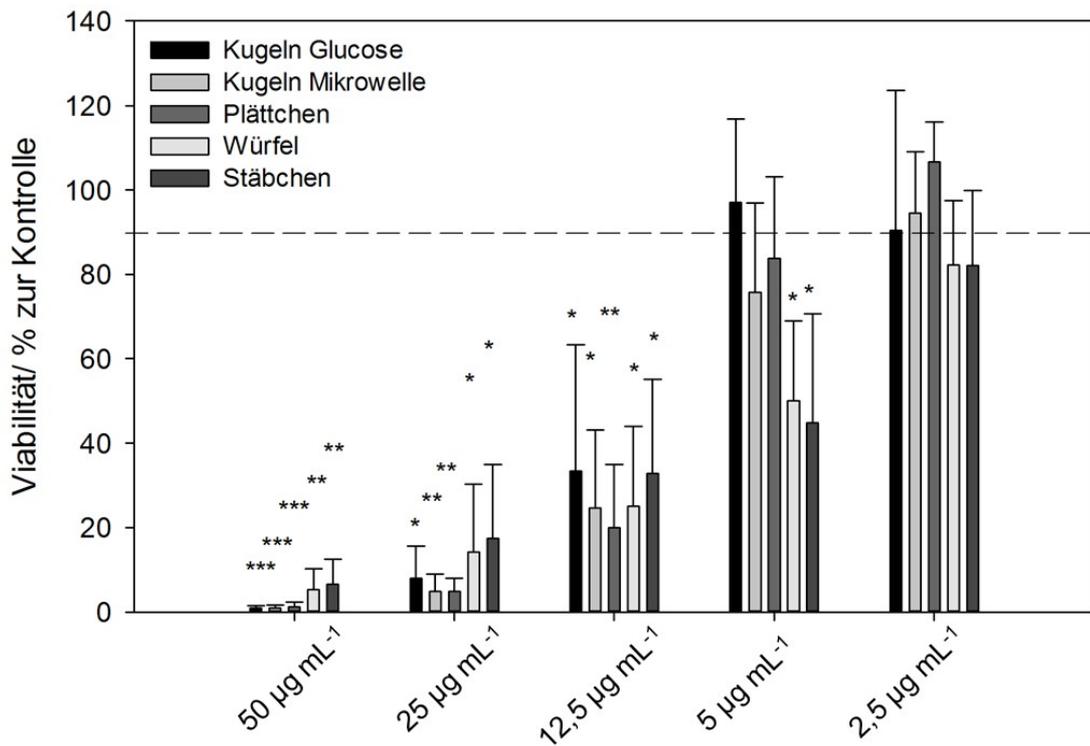


Abbildung 5.78.: Einfluss von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie auf die Viabilität von humanen mesenchymalen Stammzellen nach einer Inkubationszeit von 72 h bei 37 °C unter Zellkulturbedingungen. Die Viabilität wurde durch Anfärbung mit Calcein-AM und anschließende Phasenanalyse bestimmt. (*) Signifikanz gegenüber Kontrolle (* $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$).

In Abbildung 5.77 bzw. 5.78 sind die Viabilitäten der hMSC nach Inkubation für 24 h bzw. 72 h gegenüber der unbehandelten Kontrolle (gestrichelte Linie) aufgetragen. Um statistisch aussagekräftige Daten zu erhalten, wurde für jede Partikelsorte und Konzentration eine Vierfachbestimmung durchgeführt. Wie es bereits mehrfach am Beispiel von sphärischen Partikeln in der Literatur beschrieben wurde,^[124,274] zeigen die Silber-Nanopartikel eine konzentrationsabhängige Toxizität. Nach 24 h Inkubation wird ein toxischer Effekt ab einer Konzentration von $\geq 12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ beobachtet, bei der höchsten getesteten Konzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ leben nach dieser Zeit nur noch ca. 50 % der Zellen im Vergleich zur Kontrolle. Nach 72 h Inkubation tritt schon bei geringeren Konzentrationen von $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ eine signifikante Toxizität auf, bei $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ist die Viabilität gegenüber der Kontrolle um ca. 50 % reduziert und bei $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ sind fast alle Zellen tot. Besonders interessant ist, dass die Morphologie der Partikel unter den getesteten Bedingungen weder nach 24 h noch nach 72 h einen statistisch relevanten Einfluss auf die Toxizität gegenüber hMSC hat.

Weiterhin wurde die Freisetzung von Interleukin-8 (IL-8) nach Inkubation der hMSC für 24 h bei 37 °C mit unterschiedlichen Partikelsorten gemessen. IL-8 ist ein regulatorisch wirkendes Protein und zählt zur Klasse der Cytokine. Im Fall einer Entzündung ist es an der Rekrutierung von Leukozyten, insbesondere neutrophilen Granulozyten beteiligt^[286] und spielt zudem als Angiogenesefaktor eine Rolle bei der Bildung von Blutgefäßen.^[287] Die freigesetzte Menge IL-8 kann auch bei subtoxischen Silberkonzentrationen als Marker für eine erhöhte Zellaktivität herangezogen werden.

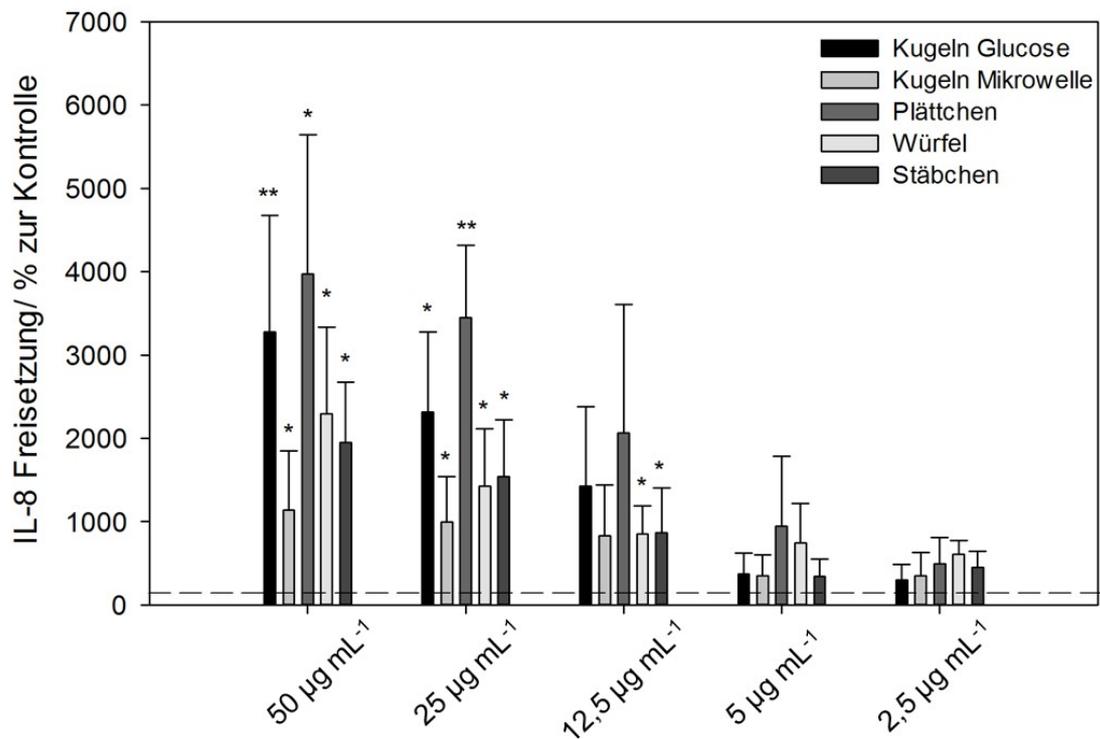


Abbildung 5.79.: Einfluss von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie auf die Freisetzung von Interleukin-8 aus humanen mesenchymalen Stammzellen. (*) Signifikanz gegenüber Kontrolle (* $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$).

Aus Abbildung 5.79 wird ersichtlich, dass die IL-8 Konzentration für alle Partikelsorten gegenüber der Kontrolle erhöht ist. Die Cytokinkonzentration nimmt mit steigender Partikelkonzentration auf bis zu 4000 % der Kontrolle zu. Dies deutet darauf hin, dass die Silber-Nanopartikel eine Aktivierung von Signalpfaden innerhalb der Zellen induzieren und zu einer Stressreaktion führen. Eine statistisch signifikante Abhängigkeit der IL-8 Freisetzung von der Morphologie der Partikel kann allerdings nicht beobachtet werden. Insgesamt scheint die Form der Partikel eine untergeordnete Rolle für ihre Toxizität gegenüber hMSC zu haben.

5. Ergebnisse und Diskussion

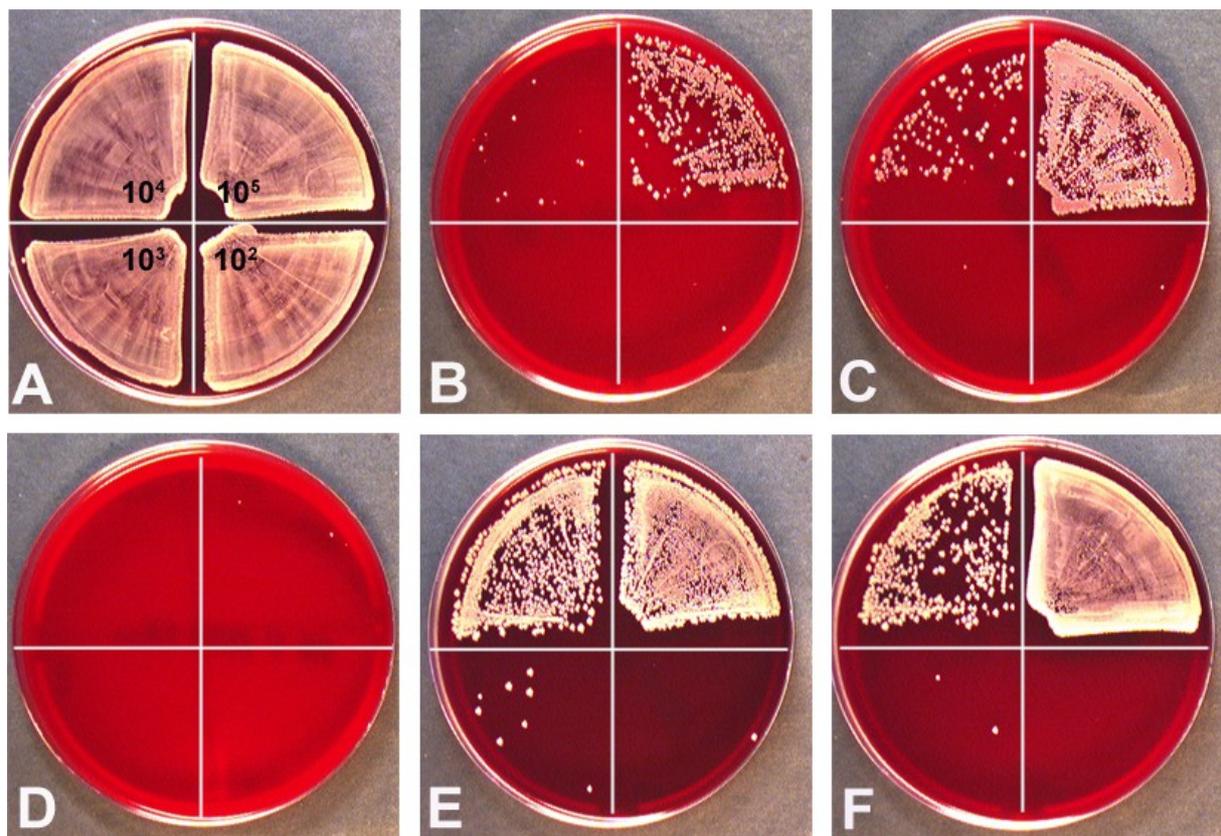


Abbildung 5.80.: Einfluss von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie auf die Viabilität von *S. aureus*. Die Bakterien (10^2 - 10^5 mL⁻¹) wurden für 24 h bei 37 °C mit Silber-Nanopartikeln (Konzentration 25 µg mL⁻¹ bezogen auf Silber) inkubiert und zur Bestimmung der MBC auf Blutagarplatten ausgestrichen. (A) Kontrolle, (B) Kugeln Glucose, (C) Kugeln Mikrowelle, (D) Plättchen, (E) Würfel, (F) Stäbchen.

	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$
Kugeln Glucose	> 50 µg mL ⁻¹	≥ 50 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹	≥ 12,5 µg mL ⁻¹
Kugeln MW	> 50 µg mL ⁻¹	≥ 50 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹
Plättchen	≥ 50 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹
Würfel	> 50 µg mL ⁻¹	> 50 µg mL ⁻¹	≥ 50 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹
Stäbchen	> 50 µg mL ⁻¹	≥ 50 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹	≥ 25 µg mL ⁻¹

Tabelle 5.21.: Minimale bakterizide Konzentration von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie, bestimmt anhand von *S. aureus*.

Die antimikrobielle Wirksamkeit der Silber-Nanopartikel wurde am Beispiel von *Staphylococcus aureus* untersucht. Da die kolloidal suspendierten Partikel aufgrund ihrer lokalisierten Oberflächen-Plasmonenresonanz eine Färbung aufweisen, konnte die minimale Hemmkonzentration (MHK) nicht bestimmt werden. Stattdessen wurde die minimale bakterizide Konzentration (MBC) ermittelt. Zu diesem Zweck wurden Bakterienkulturen mit einer Anzahl von 10^2 bis 10^5 Zellen pro mL für 24 h bei 37 °C in RPMI/FCS mit Silber-Nanopartikeln unterschiedlicher Morphologien und Konzentrationen inkubiert. Anschließend wurden die Zellen auf Blutagarplatten ausgestrichen und erneut für 24 h bei 37 °C inkubiert. Abbildung 5.80 zeigt die Kolonialisierung exemplarisch am Beispiel einer Silberkonzentration von $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, die MBC ist in Tabelle 5.21 zusammengestellt. Alle getesteten Silber-Nanopartikel zeigen eine antimikrobielle Wirksamkeit, die von der Anzahl der inkubierten Bakterien abhängt. Dieses Phänomen ist als „Inoculum-Effekt“ bekannt^[274,288] und wurde bereits für β -Lactam-Antibiotika beschrieben.^[289] Zusätzlich besteht auch im Gegensatz zu den eukaryotischen Zellen eine Abhängigkeit von der Morphologie der untersuchten Silber-Nanopartikel. Die Toxizität nimmt in folgender Reihenfolge ab:

Plättchen > Kugeln Glucose > Kugeln Mikrowelle > Stäbchen > Würfel

Die Ergebnisse können sehr gut mit der Auflösungskinetik bzw. mit der spezifischen Oberfläche der Partikel (vgl. Kapitel 5.7) korreliert werden. In der Literatur wurde am Beispiel von sphärischen Gold-Nanopartikeln mit Durchmessern von ca. 16 nm gezeigt, dass diese gut mit der Oberfläche von *Salmonella typhimurium* wechselwirken können, allerdings nicht dazu in der Lage sind, die Zellmembran zu penetrieren.^[290] Auf Basis dieser Ergebnisse liegt die Vermutung nahe, dass auch die hier untersuchten Silber-Nanopartikel nicht von Bakterien aufgenommen werden und dass die antimikrobielle Wirksamkeit hauptsächlich von der Ag^+ -Ionenfreisetzung abhängt.

Zusammengefasst zeigen alle getesteten Silber-Nanopartikeln erwartungsgemäß einen konzentrationsabhängigen toxischen Effekt gegenüber *S. aureus* sowie gegenüber hMSC als Modellsysteme für prokaryotische bzw. eukaryotische Zellen. Während bei den Bakterien ein Zusammenhang zwischen Partikelmorphologie und Toxizität besteht, der mit der Auflösungskinetik der Partikel korreliert werden kann, ist dies für hMSC nicht der Fall.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Dissertation wurden verschiedene Methoden zur Darstellung von Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie, aber vergleichbarer Größe, Ladung und Funktionalisierung erarbeitet. Primäres Ziel war die Anwendung im biologischen System, woraus sich besondere Anforderungen an die Reinheit, Konzentration und Stabilität der Partikel ergaben.

Zunächst wurde die bereits etablierte Glucose-Methode zur Synthese sphärischer Silber-Nanopartikel in wässrigem Medium genauer untersucht. Von besonderem Interesse war dabei die Fragestellung, ob die Form der Partikel durch den Zusatz geeigneter Additive oder durch die Wahl eines anderen Lösemittels beeinflusst werden kann. In diesem Zusammenhang stellte sich heraus, dass geringe Mengen Sulfid bei der Synthese zu einer erheblichen Absenkung der Partikelradien führen. Eine Kontrolle der Morphologie konnte jedoch mit keiner der getesteten Variationen erzielt werden. Weiterhin wurde festgestellt, dass die Charge und Kettenlänge des verwendeten Polymers PVP einen signifikanten Einfluss auf die Beschaffenheit der Partikel hat, und dass das Polymer das eigentliche Reduktionsmittel ist, während die Anwesenheit von Glucose praktisch vernachlässigbar ist. Die mittels Glucose-Synthese hergestellten Partikel haben eine Größe von ca. 40-70 nm und besitzen eine polykristalline, mehrfach verzwilligte Kristallstruktur.

Durch den Einsatz einer Synthesemikrowelle konnte eine alternative Methode zur Darstellung sphärischer Nanopartikel mit einem Durchmesser von ca. 120-180 nm entwickelt werden. Vorteil ist, dass im Vergleich zur Glucose-Synthese wesentlich höhere, nahezu quantitative Ausbeuten bei gleichzeitig erheblich kürzerer Reaktionszeit erzielt werden können, und dass keine prismatischen oder stäbchenförmigen Nebenprodukte entstehen. Mit Hilfe der Synthesemikrowelle konnten auch plättchenförmige Partikel mit einer Höhe von ca. 10-15 nm und einer Breite von ca. 20-40 nm hergestellt werden. Die Methode beruht auf einer Publikation von Darmanin *et al.*^[193] und verläuft unter kinetischer Kontrolle, wobei die Wachstumsgeschwindigkeit der

Partikel durch die Verwendung eines schwachen Reduktionsmittels niedrig gehalten wird. Da die Höhe der Plättchen in der Originalvorschrift lediglich aus TEM-Bildern geschätzt wurde, wurden zusätzlich umfassende AFM- und PXRD-Messungen durchgeführt und mit sphärischen Partikeln aus der Glucose-Synthese verglichen.

Besonders herausfordernd war die Synthese kubischer Silber-Nanopartikel mit einer Kantenlänge von ca. 140-180 nm. In diesem Zusammenhang wurden häufig auftretende Probleme bei der Reproduzierbarkeit vermeintlich einfacher Reaktionen diskutiert. Als besonders kritische Parameter stellten sich der Sauerstoffgehalt sowie die Oberfläche der verwendeten Glasgeräte heraus. Die gezielte Darstellung kubischer Silber-Nanopartikel gelang schließlich durch eine Kombination aus oxidativem Ätzen polykristalliner Keime und selektiver Inhibierung der kristallographischen {100}-Flächen durch das Polymer PVP, basierend auf einer Vorschrift nach Xia *et al.*^[126] Weiterhin wurden auch stäbchenförmige Silber-Nanopartikel durch heterogene Nukleation von Silber auf *in situ* erzeugten AgCl-Kristallisationskeimen hergestellt, wobei eine Methode von Buhro *et al.* angewendet wurde.^[141]

Alle synthetisierten Partikel wurden sorgfältig durch mehrfaches Waschen mit Reinstwasser gereinigt und anschließend mittels Ultrazentrifugation aufkonzentriert. Es wurde eine umfassende Charakterisierung mit verschiedenen mikroskopischen, spektroskopischen und kolloidchemischen Analysemethoden durchgeführt, um möglichst viele Informationen über die Größe, Morphologie, Zusammensetzung und Funktionalisierung der Partikel zu erhalten. Besonders herauszuheben sind hierbei verschiedene Methoden der Röntgenbeugung, insbesondere die Polfigurenanalyse, die erstmals an Silber-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie durchgeführt wurde und aufgrund der häufig auftretenden Texturen der Partikel wertvolle Erkenntnisse über deren kristallographische Zusammensetzung liefert.

Die Auflösungskinetik der Silber-Nanopartikel mit unterschiedlicher Morphologie in Reinstwasser und in Gegenwart von Sauerstoff wurde in einem Dialyseexperiment im Verlauf von 29 Tagen bestimmt. Dabei konnte eine Korrelation zwischen Partikeloberfläche und Ag⁺-Ionenfreisetzung beobachtet werden: Partikel mit größerer spezifischer Oberfläche setzen schneller Silber-Ionen frei als solche mit geringerer

6. Zusammenfassung

spezifischer Oberfläche. Durch dynamische Lichtstreuung konnte weiterhin gezeigt werden, dass alle beschriebenen Partikel im Zellkulturmedium bei 37 °C für mindestens 24 h stabil und daher für die Anwendung im biologischen System geeignet sind.

Die biologische Wirkung der umfassend charakterisierten Silber-Nanopartikel wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Köller und Frau Prof. Dr. Sengstock am Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum untersucht. Als Modellsysteme wurden humane mesenchymale Stammzellen (hMSC) für eukaryotische Zellen und *Staphylococcus aureus* für prokaryotische Zellen verwendet. Mittels konfokaler Laserscanningmikroskopie und Durchflusszytometrie konnte nachgewiesen werden, dass alle Partikel unabhängig von ihrer Morphologie von hMSC aufgenommen werden. Erwartungsgemäß wurde ein konzentrationsabhängiger, toxischer Effekt auf die Stammzellen beobachtet, die Form der Partikel hatte dabei jedoch keinen signifikanten Einfluss. Im Gegensatz dazu konnte bei der Toxizität gegenüber Bakterien eine Abhängigkeit von der Morphologie nachgewiesen werden, die mit der Auflösungskinetik bzw. mit der spezifischen Oberfläche der Nanopartikel korreliert werden kann.

7 English Summary

In this work, silver nanoparticles with different shapes but comparable size and identical surface functionalization were prepared. The primary objective was the application in biological media, resulting in specific requirements concerning the purity, concentration and stability of the particles.

First, the well-established glucose-reduction method for the synthesis of spherical silver nanoparticles in aqueous solution was investigated in detail. It was particularly interesting whether the shape of the particles could be influenced by the addition of suitable additives or by choosing a different solvent. In this regard, it was found that the particle diameter decreased dramatically when small amounts of sulfide were added during the synthesis. However, it was not possible to achieve a shape control of the particles in any of tested synthesis. Furthermore, it was found that the charge and the chain length of the polymer PVP had a significant effect on the nature of the particles, and that actually the polymer (PVP) was the reducing agent whereas the presence of glucose was practically negligible. The particles produced by glucose reduction had a size of approximately 40-70 nm and a polycrystalline, multiple twinned crystal structure.

An alternative method for the preparation of spherical silver nanoparticles with a diameter of about 120-180 nm was established with a microwave-based synthesis. In comparison to the thermal glucose reduction, much higher and almost quantitative yields were achieved in considerably shorter reaction times. No prismatic or rod-like byproducts were observed. It was also possible to prepare silver nanoplatelets with a height of 10-15 nm and a width of 20-40 nm in the microwave-based synthesis. This method was based on a publication by Darmanin *et al.*^[193] that occurs under kinetic control, whereby the growth rate of the particles is constrained by a weakly reducing agent (2-ethoxyethanol). Because the height of the platelets was only estimated from TEM images in the original reference, extensive AFM and PXRD measurements were

7. English Summary

performed, and the results were compared with spherical particles from the glucose synthesis.

The synthesis of uniform cubic silver nanoparticles with an edge length of approximately 140-180 nm was particularly challenging. In this context, common problems with the reproducibility of apparently simple reactions were discussed. The oxygen content of the solvent as well as the surface of the glass vessels turned out to be highly critical parameters. The selective preparation of cubic silver nanoparticles was finally achieved by a combination of oxidative etching and selective inhibition of the crystallographic {100}-faces by the polymer PVP, based on a publication by Xia *et al.*^[126] Finally, rod-shaped silver nanoparticles were produced by heterogeneous nucleation of silver on *in situ* generated AgCl nuclei, using a method of Buhro *et al.*^[141]

All synthesized particles were thoroughly cleaned by multiple washing with ultrapure water and subsequently isolated by ultracentrifugation. They were extensively characterized with various microscopic, spectroscopic and colloidal methods in order to obtain as much as possible information about size, morphology, composition and surface functionalization. One of the most powerful available methods was X-ray powder diffraction, in particular pole figure analysis that was performed on silver nanoparticles with different shapes. Due to the frequent occurrence of X-ray textures, this method provided valuable insights into the crystallographic composition of the particles.

The dissolution in ultrapure water was analyzed for 29 days by dialysis and found to be proportional to the specific surface area for the silver nanoparticles. Furthermore, a good colloidal dispersability of the nanoparticles in ultrapure water and cell culture medium was demonstrated by dynamic light scattering, i.e. all particles were suitable for an application in biological systems (cell cultures). The biological effect of comprehensively characterized silver nanoparticles was studied in collaboration with Prof. Dr. Köller and Prof. Dr. Sengstock (Bochum). Human mesenchymal stem cells (hMSC) were used as a model system for eukaryotic cells, and the bacterial strain *staphylococcus aureus* was used as a model for prokaryotic cells. Using confocal laser

scanning microscopy and flow cytometry, it was shown that all particles were taken up by hMSC, regardless of their morphology. As expected, a concentration-dependent toxic effect was observed on the stem cells, but the shape of the particles had no significant effect. In contrast, a dependence on the particle morphology was found in the toxicity against bacteria which can be correlated with the dissolution kinetics of the nanoparticles.

8 Literaturverzeichnis

- [1] A. F. Holleman, E. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 102. Aufl., Walter de Gruyter, Berlin, **2007**.
- [2] E. Riedel, C. Janiak, *Anorganische Chemie*, 7. Aufl., Walter de Gruyter, Berlin, **2007**.
- [3] D. R. Lide (Hrsg.), *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press, Boca Raton, Florida, **2005**.
- [4] S. Chernousova, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1636-1653.
- [5] W. V. Kern, K. de With, *Bundesgesundheitsblatt* **2012**, *55*, 1418-1426.
- [6] V. M. D'Costa, K. M. McGrann, D. W. Hughes, G. D. Wright, *Science* **2006**, *311*, 374-377.
- [7] K. Markowska, A. M. Grudniak, K. I. Wolska, *Acta Biochim. Pol.* **2013**, *60*, 523-30.
- [8] W. Zimmerli, *J. Intern. Med.* **2014**, *276*, 111-119.
- [9] D. Campoccia, L. Montanaro, C. R. Arciola, *Biomaterials* **2006**, *27*, 2331-2339.
- [10] J. W. Alexander, *Surg. Infect.* **2009**, *10*, 289-292.
- [11] J. Liu, D. A. Sonshine, S. Shervani, R. H. Hurt, *ACS Nano* **2010**, *4*, 6903-6913.
- [12] S. Kittler, C. Greulich, J. Diendorf, M. Köller, M. Epple, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 4548-4554.
- [13] J. Liu, R. H. Hurt, *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 2169-2175.
- [14] A. B. Lansdown, *Curr. Probl. Dermatol.* **2006**, *33*, 17-34.
- [15] K. Loza, J. Diendorf, C. Sengstock, L. Ruiz-Gonzalez, J. M. Gonzalez-Calbet, M. Vallet-Regi, M. Koller, M. Epple, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 1634-1643.
- [16] W. K. Jung, H. C. Koo, K. W. Kim, S. Shin, S. H. Kim, Y. H. Park, *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 2171-2178.

- [17] G. Grass, C. Rensing, M. Solioz, *Appl. Environ. Microb.* **2011**, *77*, 1541-1547.
- [18] K. Loza, C. Sengstock, S. Chernousova, M. Koller, M. Epple, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 35290-35297.
- [19] J. C. Wataha, *J. Prosthet. Dent.* **2000**, *83*, 223-234.
- [20] P. D. Howes, R. Chandrawati, M. M. Stevens, *Science* **2014**, *346*, 1247390.
- [21] D. M. Eby, H. R. Luckarift, G. R. Johnson, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 1553-1560.
- [22] K. N. J. Stevens, S. Croes, R. S. Boersma, E. E. Stobberingh, C. van der Marel, F. H. van der Veen, M. L. W. Knetsch, L. H. Koole, *Biomaterials* **2011**, *32*, 1264-1269.
- [23] K. Vasilev, J. Cook, H. J. Griesser, *Expert Rev. Med. Devices* **2009**, *6*, 553-567.
- [24] D. R. Monteiro, L. F. Gorup, A. S. Takamiya, A. C. Ruvollo-Filho, E. R. d. Camargo, D. B. Barbosa, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2009**, *34*, 103-110.
- [25] F. Furno, K. S. Morley, B. Wong, B. L. Sharp, P. L. Arnold, S. M. Howdle, R. Bayston, P. D. Brown, P. D. Winship, H. J. Reid, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *54*, 1019-1024.
- [26] M. Beattie, J. Taylor, *J. Clin. Nurs.* **2011**, *20*, 2098-2108.
- [27] M. L. W. Knetsch, L. H. Koole, *Polymers* **2011**, *3*, 340-366.
- [28] X. Chen, H. J. Schluesener, *Toxicol. Lett.* **2008**, *176*, 1-12.
- [29] X.-Y. Dong, Z.-W. Gao, K.-F. Yang, W.-Q. Zhang, L.-W. Xu, *Catal. Sci. Technol.* **2015**, *5*, 2554-2574.
- [30] Z.-J. Jiang, C.-Y. Liu, L.-W. Sun, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 1730-1735.
- [31] M.-S. Hu, H.-L. Chen, C.-H. Shen, L.-S. Hong, B.-R. Huang, K.-H. Chen, L.-C. Chen, *Nat. Mater.* **2006**, *5*, 102-106.
- [32] H. Choi, S.-J. Ko, Y. Choi, P. Joo, T. Kim, B. R. Lee, J.-W. Jung, H. J. Choi, M. Cha, J.-R. Jeong, I.-W. Hwang, M. H. Song, B.-S. Kim, J. Y. Kim, *Nat. Photonics* **2013**, *7*, 732-738.

8. Literaturverzeichnis

- [33] M. Kauranen, A. V. Zayats, *Nat. Photonics* **2012**, *6*, 737-748.
- [34] Y. Lu, S. Feng, X. Liu, L. Chen, *J. Nanomater.* **2013**, *2013*, 984831.
- [35] K. G. Stamplecoskie, J. C. Scaiano, V. S. Tiwari, H. Anis, *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 1403-1409.
- [36] S. Linic, P. Christopher, D. B. Ingram, *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 911-921.
- [37] A. Hebeish, M. E. El-Naggar, M. M. G. Fouda, M. A. Ramadan, S. S. Al-Deyab, M. H. El-Rafie, *Carbohydr. Polym.* **2011**, *86*, 936-940.
- [38] R. Dastjerdi, M. Montazer, *Colloids Surf. B* **2010**, *79*, 5-18.
- [39] M. Pollini, F. Paladini, A. Licciulli, A. Maffezzoli, L. Nicolais, A. Sannino, *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, *125*, 2239-2244.
- [40] H. J. Lee, S. Y. Yeo, S. H. Jeong, *J. Mater. Sci.* **2003**, *38*, 2199-2204.
- [41] M. Pollini, M. Russo, A. Licciulli, A. Sannino, A. Maffezzoli, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2009**, *20*, 2361-2366.
- [42] B. Simoncic, B. Tomsic, *Text. Res. J.* **2010**, *80*, 1721-1737.
- [43] B. Corain (Hrsg.), G. Schmid (Hrsg.), N. Toshima (Hrsg.), *Metal Nanoclusters in Catalysis and Materials Science: The Issue of Size Control*, 1. Aufl., Elsevier, Amsterdam, **2007**.
- [44] B. Wiley, Y. Sun, Y. Xia, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1067-1076.
- [45] Y. N. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 60-103.
- [46] B. Wiley, Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 454-463.
- [47] Y. Xia, X. Xia, H.-C. Peng, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7947-7966.
- [48] Y. Xia, X. Xia, Y. Wang, X. Shuifen, *MRS Bull.* **2013**, *38*, 335-344.
- [49] E. V. Panfilova, B. N. Khlebtsov, A. M. Burov, N. G. Khlebtsov, *Coll. J.* **2012**, *74*, 99-109.
- [50] S. E. Skrabalak, L. Au, X. D. Li, Y. N. Xia, *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 2182-2190.

- [51] D. Mahl, J. Diendorf, W. Meyer-Zaika, M. Epple, *Colloids Surf. A* **2011**, 377, 386-392.
- [52] S. Ahlberg, A. Antonopoulos, J. Diendorf, R. Dringen, M. Epple, R. Flock, W. Goedecke, C. Graf, N. Haberl, J. Helmlinger, F. Herzog, F. Heuer, S. Hirn, C. Johannes, S. Kittler, M. Koller, K. Korn, W. G. Kreyling, F. Krombach, J. Lademann, K. Loza, E. M. Luther, M. Malissek, M. C. Meinke, D. Nordmeyer, A. Pailliant, J. Raabe, F. Rancan, B. Rothen-Rutishauser, E. Ruhl, C. Schleh, A. Seibel, C. Sengstock, L. Treuel, A. Vogt, K. Weber, R. Zellner, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2014**, 5, 1944-65.
- [53] D. (Hrsg.), *Duden: Die deutsche Rechtschreibung*, 26. Aufl., Bibliographisches Institut, Berlin, **2013**.
- [54] G. Schmid, *Nanoparticles. From Theory to Application*, 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
- [55] S. Becht, S. Ernst, R. Bappert, C. Feldmann, *Chem. Unserer Zeit* **2010**, 44, 14-23.
- [56] K. Riehemann, S. W. Schneider, T. A. Luger, B. Godin, M. Ferrari, H. Fuchs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 872-897.
- [57] A. S. Thakor, S. S. Gambhir, *Ca-Cancer J. Clin.* **2013**, 63, 395-418.
- [58] I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, 64, 24-36.
- [59] H. Goesmann, C. Feldmann, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 1402-1437.
- [60] H. Liu, T. Ye, C. Mao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6473-6475.
- [61] C. W. Isaacson, M. Kleber, J. A. Field, *Environ. Sci. Technol.* **2009**, 43, 6463-6474.
- [62] A. Bachtold, P. Hadley, T. Nakanishi, C. Dekker, *Science* **2001**, 294, 1317-1320.
- [63] A. P. Alivisatos, *Science* **1996**, 271, 933-937.
- [64] K. Grieve, P. Mulvaney, F. Grieser, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, 5, 168-172.
- [65] C. Feldmann, H.-O. Jungk, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 372-374.
- [66] H. D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer, Berlin, **2002**.
- [67] K. A. Willets, R. P. Van Duyne, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, 58, 267-297.

8. Literaturverzeichnis

- [68] E. Petryayeva, U. J. Krull, *Anal. Chim. Acta* **2011**, 706, 8-24.
- [69] A. L. González, C. Noguez, G. P. Ortiz, G. Rodríguez-Gattorno, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 17512-17517.
- [70] I. O. Sosa, C. Noguez, R. G. Barrera, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 6269-6275.
- [71] C. S. S. R. K. (Hrsg.), *UV-VIS and Photoluminescence Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, 1. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, **2013**.
- [72] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, 3. Aufl., Academic Press, San Diego, **2011**.
- [73] E. J. W. Verwey, *J. Phys. Colloid. Chem.* **1947**, 51, 631-636.
- [74] B. Derjaguin, *Acta. Phys.-Chim.* **1939**, 10, 333.
- [75] J. F. de Carvalho, S. N. de Medeiros, M. A. Morales, A. L. Dantas, A. S. Carriço, *Appl. Surf. Sci.* **2013**, 275, 84-87.
- [76] D. W. Zhang, C. H. Chen, J. Zhang, F. Ren, *Chem. Mater.* **2005**, 17, 5242-5245.
- [77] P. Nag, S. Banerjee, Y. Lee, A. Bumajdad, Y. Lee, P. S. Devi, *Inorg. Chem.* **2012**, 51, 844-850.
- [78] J. Kis-Csitári, Z. Kónya, I. Kiricsi, *Functionalized Nanoscale Materials, Devices and Systems*, Springer Netherlands, **2008**.
- [79] A. Nerea, C.-R. Ana, B. Joan, B. Xavier, L. Amilcar, B. Xavier, P.-M. Francesc, *Nanotechnology* **2015**, 26, 445302.
- [80] C. L. Haynes, R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 5599-5611.
- [81] Y. Wang, Y. Xia, *Nano Lett.* **2004**, 4, 2047-2050.
- [82] J. C. Hulteen, D. A. Treichel, M. T. Smith, M. L. Duval, T. R. Jensen, R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 3854-3863.
- [83] X. Zhang, E. M. Hicks, J. Zhao, G. C. Schatz, R. P. Van Duyne, *Nano Lett.* **2005**, 5, 1503-1507.

- [84] D. Mitrakos, J. Jokiniemi, U. Backman, C. Housiadas, *J. Nanopart. Res.* **2008**, *10*, 153-161.
- [85] A. Gutsch, H. Mühlenweg, M. Krämer, *Small* **2005**, *1*, 30-46.
- [86] G. A. Sotiriou, C. O. Blattmann, S. E. Pratsinis, *MRS Online Proc. Libr.* **2013**, *1509*, mrsf12-1509-cc12-02.
- [87] H. Xu, K. S. Suslick, *ACS Nano* **2010**, *4*, 3209-3214.
- [88] M. Darroudi, A. Khorsand Zak, M. R. Muhamad, N. M. Huang, M. Hakimi, *Mater. Lett.* **2012**, *66*, 117-120.
- [89] B. Kumar, K. Smita, L. Cumbal, A. Debut, R. N. Pathak, *Bioinorg. Chem. Appl.* **2014**, 784268.
- [90] T. Tsuji, K. Iryo, N. Watanabe, M. Tsuji, *Appl. Surf. Sci.* **2002**, *202*, 80-85.
- [91] T. Tsuji, D. H. Thang, Y. Okazaki, M. Nakanishi, Y. Tsuboi, M. Tsuji, *Appl. Surf. Sci.* **2008**, *254*, 5224-5230.
- [92] B. Gökce, D. D. van't Zand, A. Menéndez-Manjón, S. Barcikowski, *Chem. Phys. Lett.* **2015**, *626*, 96-101.
- [93] P. Wagener, S. Ibrahimkuty, A. Menzel, A. Plech, S. Barcikowski, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 3068-3074.
- [94] N. L. Pacioni, C. D. Borsarelli, V. Rey, A. V. Veglia, *Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles*, in *Silver Nanoparticle Applications*. 2015, Springer International Publishing. p. 13-46.
- [95] F. Bonet, V. Delmas, S. Grugeon, R. Herrera Urbina, P. Y. Silvert, K. Tekaia-Elhsissen, *Nanotstr. Mater.* **1999**, *11*, 1277-1284.
- [96] F. Fievet, J. P. Lagier, B. Blin, B. Beaudoin, M. Figlarz, *Solid State Ionics* **1989**, *32/33*, 198-205.
- [97] G. Viau, F. Fiévet-Vincent, F. Fiévet, *Solid State Ionics* **1996**, *84*, 259-270.
- [98] L. Ortega-Arroyo, E. S. Martin-Martinez, M. A. Aguilar-Mendez, A. Cruz-Orea, I. Hernandez-Pérez, C. Glorieux, *Starch/Stärke* **2013**, *65*, 814-821.

8. Literaturverzeichnis

- [99] C. Pettegrew, Z. Dong, M. Z. Muhi, S. Pease, M. A. Mottaleb, M. R. Islam, *ISRN Nanotechnol.* **2014**, 2014, 480284.
- [100] D. Yu, V. W.-W. Yam, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 5497-5503.
- [101] P. Raveendran, J. Fu, S. L. Wallen, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 13940-13941.
- [102] R. Desai, V. Mankad, S. K. Gupta, P. K. Jha, *Nanosci. Nanotechnol. Lett.* **2012**, 4, 30-34.
- [103] B. Sengupta, C. M. Ritchie, J. G. Buckman, K. R. Johnsen, P. M. Goodwin, J. T. Petty, *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 18776-18782.
- [104] L. Shang, R. M. Dörlich, V. Trouillet, M. Bruns, G. U. Nienhaus, *Nano Res.* **2012**, 5, 531-542.
- [105] L. Mulfinger, S. D. Solomon, M. Bahadory, A. V. Jeyarajasingam, S. A. Rutkowsky, C. Boritz, *J. Chem. Educ.* **2007**, 84, 322-325.
- [106] C. Xue, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 2082-2084.
- [107] U. Nickel, A. zu Castell, K. Pöpl, S. Schneider, *Langmuir* **2000**, 16, 9087-9091.
- [108] Y. Li, Y. Wu, B. S. Ong, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 3266-3267.
- [109] V. V. Tatarchuk, A. P. Sergievskaya, T. M. Korda, I. A. Druzhinina, V. I. Zaikovsky, *Chem. Mater.* **2013**, 25, 3570-3579.
- [110] N. G. Bastús, F. Merkoçi, J. Piella, V. Puntès, *Chem. Mater.* **2014**, 26, 2836-2846.
- [111] M. R. Das, R. K. Sarma, S. Borah, R. Kumari, R. Saikia, A. B. Deshmukh, M. V. Shelke, P. Sengupta, S. Szunerits, R. Boukherroub, *Colloids Surf. B* **2013**, 105, 128-136.
- [112] P. C. Lee, D. Meisel, *J. Phys. Chem.* **1982**, 86, 3391-3395.
- [113] H. S. Wang, X. L. Qiao, J. G. Chen, S. Y. Ding, *Colloids Surf. A* **2005**, 256, 111-115.
- [114] A. N. Ananth, S. C. G. K. Daniel, T. A. Sironmani, S. Umapathi, *Colloids Surf. B* **2011**, 85, 138-144.

- [115] D. Pencheva, R. Bryaskova, T. Kantardjiev, *Mater. Sci. Eng., C* **2012**, 32, 2048-2051.
- [116] D. Yu, V. W.-W. Yam, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13200-13201.
- [117] A. Elder, H. Yang, R. Gwiazda, X. Teng, S. Thurston, H. He, G. Oberdörster, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 3124-3129.
- [118] R. J. Griffitt, J. Luo, J. Gao, J.-C. Bonzongo, D. S. Barber, *Environ. Toxicol. Chem.* **2008**, 27, 1972-1978.
- [119] S. F. Hansen, E. S. Michelson, A. Kamper, P. Borling, F. Stuer-Lauridsen, A. Baun, *Ecotoxicology* **2008**, 17, 438-447.
- [120] B. Nowack, H. F. Krug, M. Height, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, 45, 1177-1183.
- [121] C. Greulich, J. Diendorf, J. Geßmann, T. Simon, T. Habijan, G. Eggeler, T. A. Schildhauer, M. Epple, M. Köller, *Acta Biomater.* **2011**, 7, 3505-3514.
- [122] C. Greulich, J. Diendorf, T. Simon, G. Eggeler, M. Epple, M. Köller, *Acta Biomater.* **2011**, 7, 347-354.
- [123] C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, G. Muhr, M. Köller, *Langenbecks Arch. Chir.* **2009**, 394, 495-502.
- [124] C. Sengstock, J. Diendorf, M. Epple, T. A. Schildhauer, M. Köller, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2014**, 5, 2058-2069.
- [125] Y. Sun, Y. Xia, *Science* **2002**, 298, 2176-2179.
- [126] S. H. Im, Y. T. Lee, B. Wiley, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 2154-2157.
- [127] A. R. Siekkinen, J. M. McLellan, J. Chen, Y. Xia, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, 432, 491-496.
- [128] M. Rycenga, J. M. McLellan, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 2416-2420.
- [129] J. Zeng, Y. Zheng, M. Rycenga, J. Tao, Z. Y. Li, Q. Zhang, Y. Zhu, Y. N. Xia, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 8552-8553.
- [130] Q. Zhang, W. Li, C. Moran, J. Zeng, J. Chen, L.-P. Wen, Y. Xia, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 11372-11378.

8. Literaturverzeichnis

- [131] H. Mehenni, L. Sinatra, R. Mahfouz, K. Katsiev, O. M. Bakr, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 22397-22403.
- [132] Y. Wang, Y. Zheng, C. Z. Huang, Y. Xia, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 1941-1951.
- [133] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *Chem. Commun.* **2001**, 617-618.
- [134] C. J. Murphy, N. R. Jana, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 80-82.
- [135] J. Q. Hu, Q. Chen, Z. X. Xie, G. B. Han, R. H. Wang, B. Ren, Y. Zhang, Z. L. Yang, Z. Q. Tian, *Adv. Funct. Mater.* **2004**, *14*, 183-189.
- [136] C. Ni, P. A. Hassan, E. W. Kaler, *Langmuir* **2005**, *21*, 3334-3337.
- [137] G. Yan, J. Peng, S. Li, L. Lifeng, Y. Xiaoqin, Z. Zhenping, L. Dongfang, W. Jianxiong, Y. Huajun, Z. Zengxing, Z. Xiaowei, D. Xinyuan, Z. Weiya, W. Gang, X. Sishen, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2005**, *38*, 1061-1067.
- [138] C. Chang, W. Li, J. Guohua, Y. Qiang, W. Jianjun, Y. Haojie, C. Tao, W. Chiliang, C. Xu, *Nanotechnology* **2006**, *17*, 466-474.
- [139] R. Gunawidjaja, C. Jiang, H. Ko, V. V. Tsukruk, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 2895-2899.
- [140] S. K. Arumugam, T. P. Sastry, B. Sreedhar, A. B. Mandal, *J. Biomed. Mater. Res. A* **2007**, *80A*, 391-398.
- [141] W. M. Schuette, W. E. Buhro, *ACS Nano* **2013**, *7*, 3844-3853.
- [142] R. Jin, Y. Cao, C. A. Mirkin, K. L. Kelly, G. C. Schatz, J. G. Zheng, *Science* **2001**, *294*, 1901-1903.
- [143] G. S. Métraux, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 412-415.
- [144] Y. Xiong, I. Washio, J. Chen, M. Sadilek, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4917-4921.
- [145] D. Aherne, D. M. Ledwith, M. Gara, J. M. Kelly, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 2005-2016.
- [146] A. J. Frank, N. Cathcart, K. E. Maly, V. Kitaev, *J. Chem. Educ.* **2010**, *87*, 1098-1101.

- [147] A. Knauer, J. M. Köhler, *Chem. Ing. Tech.* **2013**, *85*, 467-475.
- [148] E. Hao, K. L. Kelly, J. T. Hupp, G. C. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15182-15183.
- [149] Y. Xiong, A. R. Siekkinen, J. Wang, Y. Yin, M. J. Kim, Y. Xia, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 2600-2602.
- [150] S. Chen, Z. Fan, D. L. Carroll, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 10777-10781.
- [151] B. J. Wiley, Y. Xiong, Z.-Y. Li, Y. Yin, Y. Xia, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 765-768.
- [152] A. A. Zinchenko, K. Yoshikawa, D. Baigl, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 2820-2823.
- [153] G. Wulff, *Z. Kristallogr.* **1901**, *34*, 449-530.
- [154] G. D. Barmparis, Z. Lodziana, N. Lopez, I. N. Remediakis, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, *6*, 361-368.
- [155] V. K. LaMer, R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4847-4854.
- [156] D. J. Smith, A. K. Petford-Long, L. R. Wallenberg, J. O. Bovin, *Science* **1986**, *233*, 872-875.
- [157] Y. Wang, S. Xie, J. Liu, J. Park, C. Z. Huang, Y. Xia, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 2276-2281.
- [158] I. Washio, Y. Xiong, Y. Yin, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1745-1749.
- [159] B. Wiley, T. Herricks, Y. Sun, Y. Xia, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1733-1739.
- [160] H. Huang, L. Zhang, T. Lv, A. Ruditskiy, J. Liu, Z. Ye, Y. Xia, *ChemNanoMat* **2015**, *1*, 246-252.
- [161] B. Wiley, Y. Sun, Y. Xia, *Langmuir* **2005**, *21*, 8077-8080.
- [162] H. S. Wang, X. Qiao, J. Chen, X. Wang, S. Y. Ding, *Mater. Chem. Phys.* **2005**, *94*, 449-453.
- [163] Y. Sun, B. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 955-960.

8. Literaturverzeichnis

- [164] Y. Gao, L. Song, P. Jiang, L. F. Liu, X. Q. Yan, Z. P. Zhou, D. F. Liu, J. X. Wang, H. J. Yuan, Z. X. Zhang, X. W. Zhao, X. Y. Dou, W. Y. Zhou, G. Wang, S. S. Xie, H. Y. Chen, J. Q. Li, *J. Cryst. Growth* **2005**, *276*, 606-612.
- [165] X. Xia, J. Zeng, Q. Zhang, C. H. Moran, Y. Xia, *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 21647-21656.
- [166] Y. Xiong, H. Cai, Y. Yin, Y. Xia, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *440*, 273-278.
- [167] B. J. Wiley, Z. Wang, J. Wei, Y. Yin, D. H. Cobden, Y. Xia, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 2273-2278.
- [168] X. Huang, N. Zheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4602-4603.
- [169] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1389-1393.
- [170] Y. Sun, B. Gates, B. Mayers, Y. Xia, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 165-168.
- [171] Y. Xiong, I. Washio, J. Chen, H. Cai, Z.-Y. Li, Y. Xia, *Langmuir* **2006**, *22*, 8563-8570.
- [172] Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 675-679.
- [173] V. Germain, J. Li, D. Inger, Z. L. Wang, M. P. Pileni, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 8717-8720.
- [174] L. K. Shrestha, R. G. Shrestha, N. Vilanova, C. Rodriguez-Abreu, K. Ariga, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2014**, *14*, 2238-2244.
- [175] J. Gao, C. M. Bender, C. J. Murphy, *Langmuir* **2003**, *19*, 9065-9070.
- [176] H. Plattner, J. Hentschel, *Zellbiologie*, 4. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2011**.
- [177] C. Colliex, *Elektronenmikroskopie - Eine anwendungsbezogene Einführung*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **2008**.
- [178] H. Alexander, *Physikalische Grundlagen der Elektronenmikroskopie*, 1. Aufl., Teubner-Verlag, Stuttgart, **1997**.
- [179] P. W. Atkins, J. de Paula, *Physikalische Chemie*, 4. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.

- [180] J.-C. G. Bünzli, *Interface Focus* **2013**, 3, 20130032.
- [181] D. B. Murphy, M. W. Davidson, *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*, 2. Aufl., Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, **2013**.
- [182] *The NanoWizard AFM Handbook*, Version 1.3, JPK Instruments, **2005**.
- [183] G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber, E. Weibel, *Phys. Rev. Lett.* **1982**, 49, 57-61.
- [184] S. R. Aragón, R. Pecora, *J. Chem. Phys.* **1976**, 64, 2395-2404.
- [185] *Zetasizer Nano User Manual*, Malvern Instruments, **2004**.
- [186] *Introduction to Differential Sedimentation*, CPS Instruments Europe, **2015**.
- [187] M. Otto, *Analytische Chemie*, 4. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2011**.
- [188] G. Schwedt, *Analytische Chemie: Grundlagen, Methoden und Praxis*, 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.
- [189] R. Allmann, *Röntgenpulverdiffraktometrie*, 2. Aufl., Springer, Berlin, **2003**.
- [190] L. Smart, E. Moore, *Einführung in die Festkörperchemie*, 2. Aufl., Vieweg Verlag, Wiesbaden, Braunschweig, **1997**.
- [191] L. Spieß, G. Teichert, R. Schwarzer, H. Behnken, C. Genzel, *Moderne Röntgenbeugung*, 2. Aufl., Vieweg+Teubner, Wiesbaden, **2009**.
- [192] S. Banerjee, K. Loza, W. Meyer-Zaika, O. Prymak, M. Epple, *Chem. Mater.* **2014**, 26, 951-957.
- [193] T. Darmanin, P. Nativo, D. Gilliland, G. Ceccone, C. Pascual, B. De Berardis, F. Guittard, F. Rossi, *Colloids Surf. A* **2012**, 395, 145-151.
- [194] C. Wu, B. P. Mosher, K. Lyons, T. Zeng, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, 10, 2342-2347.
- [195] S. J. Oldenburg, *Silver Nanoparticles: Properties and Applications*, Sigma-Aldrich, <http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/nanomaterials/silver-nanoparticles.html>, **2015**.

8. Literaturverzeichnis

- [196] S. Bykkam, M. Ahmadipour, S. Narisngam, V. Kalagadda, S. Chidurala, *Adv. Nanopart.* **2015**, *4*, 1-10.
- [197] P. Y. Bruice, *Organische Chemie*, 5. Aufl., Pearson Studium, München, **2007**.
- [198] Y. W. Kim, D. K. Lee, K. J. Lee, B. R. Min, J. H. Kim, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **2007**, *45*, 1283-1290.
- [199] S. W. Kang, J. Hong, J. H. Kim, Y. S. Kang, *Macromol. Res.* **2011**, *19*, 413-416.
- [200] V. Bühler, *Polyvinylpyrrolidone Excipients for Pharmaceuticals*, 1. Aufl., Springer-Verlag, Heidelberg, **2005**.
- [201] C. E. Hoppe, M. Lazzari, I. Pardiñas-Blanco, M. A. López-Quintela, *Langmuir* **2006**, *22*, 7027-7034.
- [202] S. Luther, *Examensarbeit*, Universität Duisburg-Essen, **2015**.
- [203] R. Holze, *Römpp Enzyklopädie Online, Artikel RD-13-02372*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2010**.
- [204] C. O. Kappe, D. Dallinger, S. S. Murphree, *Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists*, Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [205] D. A. C. Stuerge, P. Gaillard, *J. Microwave Power Electromagn. Energy* **1996**, *31*, 87-101.
- [206] N. Leadbeater, C. McGowan, *Clean, Fast Organic Chemistry: Microwave-assisted laboratory experiments*, CEM Publishing, Matthews, North Carolina, **2006**.
- [207] R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge, J. Rousell, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 279-282.
- [208] R. J. Giguere, T. L. Bray, S. M. Duncan, G. Majetich, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4945-4948.
- [209] C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6284.
- [210] A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 164-178.

- [211] M. Baghbanzadeh, L. Carbone, P. D. Cozzoli, C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11312-11359.
- [212] I. Bilecka, M. Niederberger, *Nanoscale* **2010**, *2*, 1358-1374.
- [213] J.-S. Schanche, *Mol. Diversity* **2003**, *7*, 291-298.
- [214] C. Gabriel, S. Gabriel, E. H. Grant, B. S. J. Halstead, D. M. P. Mingos, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 213-224.
- [215] M. Tsuji, Y. Nishizawa, M. Hashimoto, T. Tsuji, *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 370-371.
- [216] M. Tsuji, M. Hashimoto, Y. Nishizawa, M. Kubokawa, T. Tsuji, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 440-452.
- [217] M. Heise, B. Rasche, A. Isaeva, A. I. Baranov, M. Ruck, K. Schäfer, R. Pöttgen, J.-P. Eufinger, J. Janek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7344-7348.
- [218] M. Heise, J.-H. Chang, R. Schönemann, T. Herrmannsdörfer, J. Wosnitza, M. Ruck, *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 5640-5646.
- [219] D. Köhler, M. Heise, A. I. Baranov, Y. Luo, D. Geiger, M. Ruck, M. Armbrüster, *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 1639-1644.
- [220] T. Herrmannsdörfer, R. Skrotzki, J. Wosnitza, D. Köhler, R. Boldt, M. Ruck, *Phys. Rev. B* **2011**, *83*, 140501.
- [221] R. Boldt, A. Grigas, M. Heise, T. Herrmannsdörfer, A. Isaeva, S. Kaskel, D. Köhler, M. Ruck, R. Skrotzki, J. Wosnitza, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2012**, *638*, 2035-2043.
- [222] Y. He, H.-T. Lu, L.-M. Sai, W.-Y. Lai, Q.-L. Fan, L.-H. Wang, W. Huang, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 13370-13374.
- [223] R. Harpeness, A. Gedanken, *Langmuir* **2004**, *20*, 3431-3434.
- [224] M. Tsuji, N. Miyamae, S. Lim, K. Kimura, X. Zhang, S. Hikino, M. Nishio, *Cryst. Growth Des.* **2006**, *6*, 1801-1807.
- [225] M. Miyakawa, N. Hiyoshi, M. Nishioka, H. Koda, K. Sato, A. Miyazawa, T. M. Suzuki, *Nanoscale* **2014**, *6*, 8720-8725.

8. Literaturverzeichnis

- [226] V. Abdelsayed, A. Aljarash, M. S. El-Shall, Z. A. Al Othman, A. H. Alghamdi, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 2825-2834.
- [227] M. B. Mohamed, K. M. AbouZeid, V. Abdelsayed, A. A. Aljarash, M. S. El-Shall, *ACS Nano* **2010**, *4*, 2766-2772.
- [228] H. L. Nguyen, L. E. M. Howard, S. R. Giblin, B. K. Tanner, I. Terry, A. K. Hughes, I. M. Ross, A. Serres, H. Burckstummer, J. S. O. Evans, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 5136-5143.
- [229] A. Pal, S. Shah, S. Devi, *Colloids Surf. A* **2007**, *302*, 51-57.
- [230] A. Pal, S. Shah, S. Devi, *Mater. Chem. Phys.* **2009**, *114*, 530-532.
- [231] S.-H. Yu, M. Zhang, K. Wang, S.-B. Wang, B. Hu, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 11169–11174.
- [232] E. Filippo, A. Serra, D. Manno, *Colloids Surf. A* **2009**, *348*, 205-211.
- [233] H. Katsuki, S. Komarneni, *J. Mater. Res.* **2003**, *18*, 747-750.
- [234] G. Dzido, A. B. Jarzębski, *J. Nanopart. Res.* **2010**, *13*, 2533-2541.
- [235] H. Jiang, K.-S. Moon, Z. Zhang, S. Pothukuchi, C. P. Wong, *J. Nanopart. Res.* **2006**, *8*, 117-124.
- [236] S. Komarneni, D. Li, B. Newalkar, H. Katsuki, A. S. Bhalla, *Langmuir* **2002**, *18*, 5959-5962.
- [237] S. Kundu, V. Maheshwari, S. Niu, R. F. Saraf, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 065604.
- [238] D. Chen, X. Qiao, X. Qiu, J. Chen, R. Jiang, *Nanotechnology* **2010**, *21*, 025607.
- [239] T. Zhao, J.-B. Fan, J. Cui, J.-H. Liu, X.-B. Xu, M.-Q. Zhu, *Chem. Phys. Lett.* **2011**, *501*, 414-418.
- [240] M. Tsuji, K. Matsumoto, P. Jiang, R. Matsuo, X. Tang, K. S. N. Kamarudin, *Colloids Surf. A* **2008**, *316*, 266-277.
- [241] M. Tsuji, Y. Nishizawa, K. Matsumoto, N. Miyamae, T. Tsuji, X. Zhang, *Colloids Surf. A* **2007**, *293*, 185-194.

- [242] M. Tsuji, K. Matsumoto, N. Miyamae, T. Tsuji, X. Zhang, *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 311-320.
- [243] M. Tsuji, Y. Nishizawa, K. Matsumoto, M. Kubokawa, N. Miyamae, T. Tsuji, *Mater. Lett.* **2006**, *60*, 834-838.
- [244] F.-K. Liu, P.-W. Huang, Y.-C. Chang, C.-J. Ko, F.-H. Ko, T.-C. Chu, *Cryst. Growth Des.* **2005**, *273*, 439-445.
- [245] F.-K. Liu, P.-W. Huang, T.-C. Chu, F.-H. Ko, *Mater. Lett.* **2005**, *59*, 940-944.
- [246] C. Xue, G. S. Métraux, J. E. Millstone, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8337-8344.
- [247] J. E. Millstone, S. J. Hurst, G. S. Métraux, J. I. Cutler, C. A. Mirkin, *Small* **2009**, *5*, 646-664.
- [248] D. W. Oxtoby, *Nature* **2000**, *406*, 464-465.
- [249] J. M. Pollard, A. J. Shi, K. E. Göklen, *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 230-236.
- [250] R. Das, S. Sarkar, *Optical Materials* **2015**, *48*, 203-208.
- [251] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 668-677.
- [252] X. Zhou, G. Liu, J. Yu, W. Fan, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 21337-21354.
- [253] F. Zhou, Z.-Y. Li, Y. Liu, Y. Xia, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 20233-20240.
- [254] B. Sun, X. Jiang, S. Dai, Z. Du, *Mater. Lett.* **2009**, *63*, 2570-2573.
- [255] E. Abdullayev, K. Sakakibara, K. Okamoto, W. Wei, K. Ariga, Y. Lvov, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 4040-4046.
- [256] Y. Sun, Y. Yin, B. T. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 4736-4745.
- [257] Y. Sun, Y. Ren, Y. Liu, J. Wen, J. S. Okasinski, D. J. Miller, *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 971.
- [258] K. E. Korte, S. E. Skrabalak, Y. Xia, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 437-441.

8. Literaturverzeichnis

- [259] J. Rodríguez-Fernández, J. Pérez-Juste, L. M. Liz-Marzán, P. R. Lang, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 5020-5025.
- [260] K. Nagao, E. Kagami, *Rigaku J.* **2011**, *27*, 6-14.
- [261] J. L. Baker, L. H. Jimison, S. Mannsfeld, S. Volkman, S. Yin, V. Subramanian, A. Salleo, A. P. Alivisatos, M. F. Toney, *Langmuir* **2010**, *26*, 9146-9151.
- [262] D. Jaschouz, O. Paris, P. Roschger, H.-S. Hwang, P. Fratzl, *J. Appl. Crystallogr.* **2003**, *36*, 494-498.
- [263] S. Zhou, K. Potzger, H. Reuther, G. Talut, F. Eichhorn, J. von Borany, W. Skorupa, M. Helm, J. Fassbender, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2007**, *40*, 964-969.
- [264] M. Kruszynska, H. Borchert, J. Parisi, J. Kolny-Olesiak, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15976-15986.
- [265] S. Zhou, K. Potzger, J. von Borany, R. Grötzschel, W. Skorupa, M. Helm, J. Fassbender, *Phys. Rev. B* **2008**, *77*, 035209.
- [266] A. P. LaGrow, B. Ingham, S. Cheong, G. V. M. Williams, C. Dotzler, M. F. Toney, D. A. Jefferson, E. C. Corbos, P. T. Bishop, J. Cookson, R. D. Tilley, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 855-858.
- [267] J. D. Driskell, S. Shanmukh, Y. Liu, S. B. Chaney, X. J. Tang, Y. P. Zhao, R. A. Dluhy, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 895-901.
- [268] Y.-Y. Choi, T.-Y. Seong, *Superlattices Microstruct.* **2014**, *73*, 342-349.
- [269] S. Y. Sayed, *CrystEngComm* **2014**, *16*, 10028-10033.
- [270] H. Chen, Y. Gao, H. Zhang, L. Liu, H. Yu, H. Tian, S. Xie, J. Li, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 12038-12043.
- [271] Q. Nian, M. Saei, Y. Xu, G. Sabyasachi, B. Deng, Y. P. Chen, G. J. Cheng, *ACS Nano* **2015**, *9*, 10018-10031.
- [272] S. E. H. Murph, C. J. Murphy, A. Leach, K. Gall, *Cryst. Growth Des.* **2015**, *15*, 1968-1974.
- [273] J. Diendorf, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2012**.

- [274] C. Greulich, D. Braun, A. Peetsch, J. Diendorf, B. Siebers, M. Epple, M. Köller, *RSC Adv.* **2012**, 2, 6981-6987.
- [275] Z.-M. Xiu, Q.-B. Zhang, H. L. Puppala, V. L. Colvin, P. J. J. Alvarez, *Nano Lett.* **2012**, 12, 4271-4275.
- [276] G. A. Sotiriou, S. E. Pratsinis, *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2011**, 1, 3-10.
- [277] G. A. Martínez-Castañón, N. Niño-Martínez, F. Martínez-Gutierrez, J. R. Martínez-Mendoza, F. Ruiz, *J. Nanopart. Res.* **2008**, 10, 1343-1348.
- [278] X. Hong, J. Wen, X. Xiong, Y. Hu, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, 1-9.
- [279] L. Actis, A. Srinivasan, J. L. Lopez-Ribot, A. K. Ramasubramanian, J. L. Ong, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2015**, 26, 1-7.
- [280] P. M. Favi, M. M. Valencia, P. R. Elliott, A. Restrepo, M. Gao, H. Huang, J. J. Pavon, T. J. Webster, *J. Biomed. Mater. Res., Part A* **2015**, 103, 3940-3955.
- [281] S. Pal, Y. K. Tak, J. M. Song, *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, 73, 1712-1720.
- [282] H. Suzuki, T. Toyooka, Y. Ibuki, *Environ. Sci. Technol.* **2007**, 41, 3018-3024.
- [283] B. Stringer, A. Imrich, L. Kobzik, *Cytometry* **1995**, 20, 23-32.
- [284] S. A. Weston, C. R. Parish, *J. Immunol. Methods* **1990**, 133, 87-97.
- [285] W. Xiu Ming, P. I. Terasaki, G. W. Rankin Jr, D. Chia, Z. Hui Ping, S. Hardy, *Hum. Immunol.* **1993**, 37, 264-270.
- [286] M. Bickel, *J. Periodontol.* **1993**, 64, 456-460.
- [287] D. J. Brat, A. C. Bellail, E. G. Van Meir, *Neuro. Oncol.* **2005**, 7, 122-133.
- [288] K. I. Udekwu, N. Parrish, P. Ankomah, F. Baquero, B. R. Levin, *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, 63, 745-757.
- [289] I. Brook, *I. Clin. Infect. Dis.* **1989**, 11, 361-368.
- [290] S. Wang, R. Lawson, P. C. Ray, H. Yu, *Toxicol. Ind. Health* **2011**, 27, 547-554.

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
CFU	koloniebildende Einheiten (engl. <i>colony forming units</i>)
CLSM	Konfokale Laserscanningmikroskopie (engl. <i>confocal laser scanning microscopy</i>)
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
DCS	Analytische Scheibenzentrifugation (engl. <i>differential centrifugal sedimentation</i>)
DEG	Diethylenglycol
DLS	Dynamische Lichtstreuung (engl. <i>dynamic light scattering</i>)
DLVO	Theorie von Derjagin, Landau, Verwey und Overbeek
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl. <i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i>)
EG	Ethylenglycol
ELISA	engl. <i>enzyme linked Immunosorbent Assay</i>
f.c.c.	Kubisch flächenzentriert (engl. <i>face centered cubic</i>)
FCS/FBS	Fetales Kälberserum (engl. <i>fetal calf serum</i> bzw. <i>fetal bovine serum</i>)
FM	Fluoreszenzmikroskopie

GIXRD	Röntgendiffraktometrie mit streifendem Einfall (engl. <i>grazing incidence X-ray diffraction</i>)
hMSC	Humane mesenchymale Stammzellen (engl. <i>human mesenchymal stem cells</i>)
HRTEM	Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (engl. <i>high resolution transmission electron microscopy</i>)
MBC	Minimale bakterizide Konzentration (engl. <i>minimum bactericidal concentration</i>)
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (engl. <i>phosphate buffered saline</i>)
PDI	Polydispersitätsindex
ppm	„Teile von einer Millionen“ (engl. <i>parts per million</i>)
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVP	Polyvinylpyrrolidon
PXRD	Röntgenpulverdiffraktometrie (engl. <i>powder X-ray diffraction</i>)
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i> (Zellkulturmedium)
RT	Raumtemperatur (ca. 20-25 °C)
SERS	Oberflächenverstärkte Raman-Streuung (engl. <i>surface enhanced Raman scattering</i>)
SSC	Seitwärtsstreulicht (engl. <i>side scattered light</i>)
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
UV/Vis	Ultraviolett / Visible
XRD	Röntgendiffraktometrie (engl. <i>X-ray diffraction</i>)

9.2 Publikationsliste

Publikationen in wissenschaftlichen Fachzeitschriften

J. Helmlinger, M. Heise, M. Heggen, M. Ruck, M. Epple, "A rapid, high-yield and large-scale synthesis of uniform spherical silver nanoparticles by a microwave-assisted polyol process", *RSC Adv.* **2015**, *5*, 92144.

J. Helmlinger, N. Busch, M. Epple, "Gold-Nanopartikel aus der Mikrowelle – ein Schulversuch für eine Doppelstunde", *Prax. Naturwiss., Chem. Sch.* **2015**, *64*, 37.

S. Ahlberg, A. Antonopulos, J. Diendorf, R. Dringen, M. Epple, R. Flöck, W. Goedecke, C. Graf, N. Haberl, J. Helmlinger, F. Herzog, F. Heuer, S. Hirn, C. Johannes, S. Kittler, M. Köller, K. Korn, W. G. Kreyling, F. Krombach, J. Lademann, K. Loza, E. M. Luther, M. Malissek, M. C. Meinke, D. Nordmeyer, A. Pailliant, J. Raabe, F. Rancan, B. Rothen-Rutishauser, E. Rühl, C. Schleh, A. Seibel, C. Sengstock, L. Treuel, A. Vogt, K. Weber, R. Zellner, "PVP-coated, negatively charged silver nanoparticles: A multi-center study of their physicochemical characteristics, cell culture and in vivo experiments", *Beilstein J. Nanotechnol.* **2014**, *5*, 1944–1965.

C. Schrenk, J. Helmlinger, A. Schnepf, " $\{\text{Sn}_{10}[\text{Si}(\text{SiMe}_3)_3]_5\}^-$: An Anionic Metalloid Tin Cluster from an Isolable Sn^{I} Halide Solution", *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2012**, *638*, 589-593.

Posterbeiträge auf wissenschaftlichen Tagungen

17. Vortragstagung der Wöhler-Vereinigung für Anorganische Chemie, 24.-26.09.2014, Saarbrücken, J. Helmlinger, M. Heise, M. Ruck, M. Epple, "Mikrowellenbasierte Synthese von Silber-Nanopartikeln"

Abschlussstagung des DFG-Schwerpunktprogramms SPP1313, 03.-05.03.2014, Fulda, J. Helmlinger, K. Loza, S. Ristig, A. Rostek, B. Schütze, M. Epple, "Survey on Analysis Tools for the Characterization of Inorganic Nanoparticles: Size and Morphology"

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, 26.-28.09.2013, Erlangen, J. Helmlinger, M. Epple, "Biologische Wirkung von kolloidalem Silber: Nanopartikel mit definierter Morphologie"

Wissenschaftsforum Chemie, 01.-04.09.2013, Darmstadt, J. Helmlinger, M. Epple, "Formkontrolle von Silber-Nanopartikeln: Ein chaotisches System?"

9.3 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Silber-Nanopartikel mit definierter Morphologie - Darstellung, Eigenschaften und biologische Wirkung“

selbstständig verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen verwendet zu haben. Ferner erkläre ich, dass ich die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form bei keiner anderen Fakultät eingereicht habe.

Essen, im Dezember 2015

Jens Helmlinger

9.4 Lebenslauf

Aus Gründen des Datenschutzes ist der Lebenslauf in der elektronischen Fassung dieser Arbeit nicht enthalten.

9.5 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlich bei allen Personen bedanken, die mich auf dem Weg zu meiner Promotion begleitet und mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben. Ich habe während meiner Zeit an der Universität Duisburg-Essen viele fachliche und persönliche Ziele erreicht, was ohne die herausragende Unterstützung durch meine Vorgesetzten, Kollegen, Freunde und Familie nicht in dieser Form möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt dabei zunächst Herrn Prof. Dr. Matthias Epple für die großartige Betreuung während der vergangenen Jahre, für den gewährten Freiraum bei der Ausgestaltung meines Promotionsthemas sowie für sein stetes Vertrauen, seine Loyalität und die Möglichkeiten zur Teilnahme an zahlreichen Tagungen und Forschungsaufenthalten.

Meinen Kooperationspartnern vom Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum, Herrn Prof. Dr. Manfred Köller und Frau Prof. Dr. Christina Sengstock, danke ich für die Durchführung und Auswertung der biologischen Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. Michael Ruck und Herrn Dr. Martin Heise danke ich für ihre Gastfreundschaft im Rahmen meiner Forschungsaufenthalte an der TU Dresden, sowie für die inspirierende Einführung in die moderne Mikrowellen-Synthesetechnik.

Herrn Dr. Christoph Groß-Heitfeld danke ich für die Durchführung der AFM-Messungen, Herrn Dr. Marc Heggen vom Ernst-Ruska-Centrum in Jülich für die hervorragenden HRTEM-Aufnahmen der Silber-Nanopartikel.

Bei Herrn Dr. Oleg Prymak möchte ich mich für die Leitung des AC-F Praktikums und für sein Vertrauen in meine Fähigkeiten bedanken. Außerdem danke ich ihm, Herrn Jürgen Gündel-Graber (†) und Herrn Dr. Christoph Wölper für die Einarbeitung in die Röntgenpulverdiffraktometrie und die Durchführung zahlreicher Messungen.

Mein herzlicher Dank gilt allen Kollegen aus dem Arbeitskreis für die immer angenehme, freundschaftliche und entspannte Arbeitsatmosphäre und die große Hilfsbereitschaft bei allen kleinen und größeren Problemen des Laboralltags. Ganz

9. Anhang

besonders danke ich Frau Dr. Kateryna Loza, Herrn Smail Boukercha und Frau Ursula Giebel für die Aufnahme unzähliger REM-Bilder, Frau Veronika Hiltenkamp, Frau Kerstin Brauner und Herrn Robin Meya für die Durchführung der AAS-Messungen sowie Herrn Dr. Wolfgang Meyer-Zaika für die TEM-Messungen.

Bei Frau Carola Fischer, Frau Sabine Bollmann und Frau Sabine Kiefer bedanke ich mich für die verlässliche Unterstützung bei sämtlichen bürokratischen und technischen Fragestellungen.

Herrn Dr. Simon Ristig danke ich für die Einarbeitung in das komplexe Gebiet der Synthese und Analyse metallischer Nanopartikel und dafür, dass er stets ein äußerst kompetenter und hilfsbereiter Ansprechpartner war.

Den Kollegen Herrn Dr. Sven Range, Herrn Dr. Simon Ristig, Herrn Dr. Johannes Rüsing, Herrn Benjamin Schütze, Frau Sabrina Daumann und Herrn Tim Unterschemmann danke ich für die hervorragende und unbürokratische Zusammenarbeit im Anorganisch-Chemischen Fortgeschrittenenpraktikum. Auch meinen Studenten, Vertiefern und Examens-Kandidaten, besonders Herrn Stephan Luther, Frau Nicole Busch und Frau Denise Rein danke ich für ihr Interesse und ihre fleißige Arbeit.

Nicht zuletzt danke ich meinen Labornachbarn Herrn Dr. Sven Backhaus und Frau Alwina Lübke sowie Herrn Benjamin Schütze und allen Mitarbeitern aus dem Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Schulz für die vielen gemeinsam erlebten Stunden und das „Freitags-Nachmittags-Seminar“. Durch euch habe ich das Ruhrgebiet kennen gelernt, und ohne euch wäre es sicher nur halb so lustig geworden! Besonders danke ich Herrn Dominik Naglav dafür, dass mir neben seiner Freundschaft auch sein nahezu unerschöpfliches Fachwissen und seine Bereitschaft zum Anpacken so manches mal aus der Klemme geholfen haben. Und für die vielen ausgeliehenen Werkzeuge, Magneten, Kolben und sonstigen Gerätschaften.

Am Ende bleibt die Familie, und alle meine treuen Freunde, ohne die all dies nicht möglich gewesen wäre. Ich danke euch dafür, dass ihr mich immer auf meinem Weg begleitet.