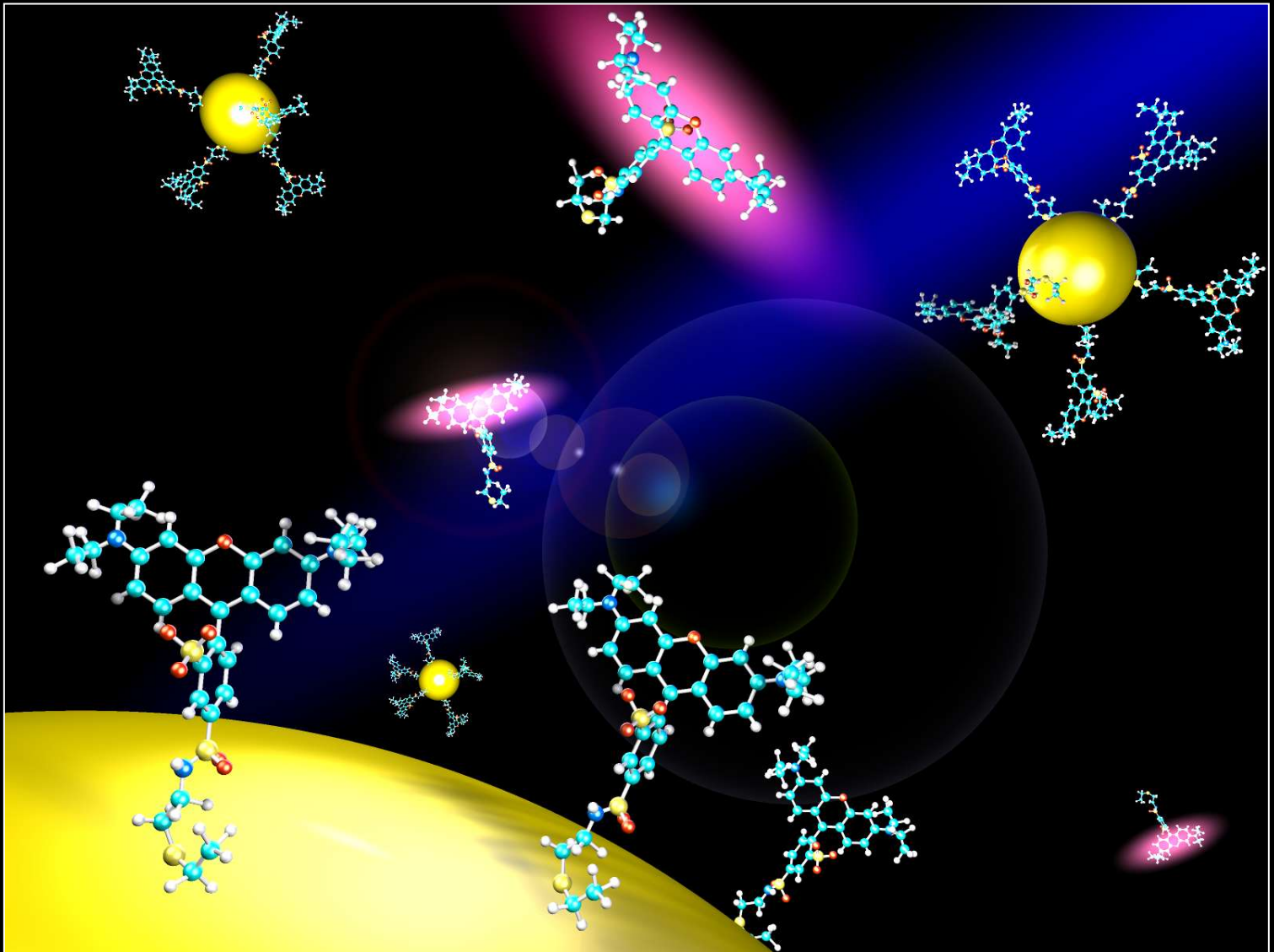


# Optische Charakterisierung von Hybridsystemen aus Gold Nanopartikeln und Farbstoffmolekülen





**Optische Charakterisierung  
von  
Hybridsystemen  
aus  
Gold Nanopartikeln und Farbstoffmolekülen**

Dissertation der Fakultät für Physik

der

Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt von  
**Eric Dulkeith**

aus Dallas/Texas/USA

München, den 28.06.2004

1. Gutachter: Prof. Dr. Jochen Feldmann
2. Gutachter: Prof. Dr. Khaled Karrai

Tag der mündlichen Prüfung: 27.10.2004

Die Vorderseite des Einbands zeigt eine graphische 3-D Simulation von Lissamin-Farbstoffen, welche eine starke Fluoreszenzauslöschung erfahren, sobald sie an die Oberfläche von Gold Nanopartikeln gebunden haben. Die Farbstoffe, welche frei in Lösung sind, zeigen eine unbeeinflusste Fluoreszenzintensität. Das Bild wurde mit den Programmen *HyperChem* und *Cinema 4D* erstellt.





## Veröffentlichungen

- *Fluorescence Quenching of Dye Molecules near Gold Nanoparticles: Radiative and Nonradiative Effects*  
E. Dulkeith, A. C. Morteani, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, S. Levi, F. C. J. M. van Veggel, D. N. Reinhoudt, M. Moeller, and D. I. Gittins  
**Physical Review Letters**, 89, 203002 (2002)
  - *Plasmon Emission in Photoexcited Gold Nanoparticles*  
E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, G. von Plessen, D. I. Gittins, S. Mayya, F. Caruso  
**Physical Review B**, 70, 201440 (2004)
  - *Distance Dependence of Fluorescence Quenching by Gold Nanoparticles*  
E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, A. M. Javier, M. Seitz, and W. J. Parak  
**Nanoletters**, eingereicht (2004)
  - *Time Resolved Fluorescence Measurements of Fluorophores Close to Metal Nanoparticles*  
T. A. Klar, E. Dulkeith, J. Feldmann,  
**Topics of Fluorescence Spectroscopy**, Vol. 8 (ed. by C. Geddes, J. R. Lakowicz, Kluwer), in Druck (2004)
  - *Lateral patterning of CdTe nanocrystal films by the electric field directed layer-by-layer assembly method*  
M. Gao, J. Sun, E. Dulkeith, N. Gaponik, U. Lemmer, and J. Feldmann  
**Langmuir**, 18, 4098-4102 (2002)
  - *Terpyridine metal complexes as building blocks for extended functional metallo-supramolecular assemblies and polymers*  
U. S. Schubert, C. Eschbaumer, P. Andres, H. Hofmeier, C.H. Weidl, E. Herdtweck, E. Dulkeith, A. Morteani, N.E. Hecker, and J. Feldmann  
**Synthetic Metals** 121, 1249 (2001)
- 

## Vorträge zu Konferenzen, Workshops und Seminaren

- *Three members of the nanoparticle zoo: gold-, semiconductor- and gold-molecule systems – some insights revealed by fluorescence spectroscopy*  
IBM TJ Watson Research Center, Physical Science Department, Yorktown Heights, NY, USA, Jan. 2004
- *Molecular fluorescence in the vicinity of gold nanoparticles*  
E. Dulkeith, A. C. Morteani, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann et al.  
CLEO/QELS Conference on Lasers and Electro-Optics/Quantum Electronics and Laser Science, Baltimore MD, USA, June 2003
- *Fluorescence Quenching of Dye Molecules near Gold Nanoparticles: Radiative and Nonradiative Effects*  
E. Dulkeith, A. C. Morteani, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann et al.  
MRS-Material Research Society Fall Meeting, Boston MA, USA, December 2002

- *Theory and Applications of FRET*  
Workshop on Applications in Photonics-2002, Rietzler, Austria, September 2002
  - *Fluorescence Quenching of Dye Molecule – Gold Nanoparticle Composite Systems: Radiative and Non-radiative Rates*  
E. Dulkeith, T. Niedereichholz, A. C. Morteani, T. A. Klar, and J. Feldmann  
**ICL'02**-International Conference on Luminescence and optical Spectroscopy, Budapest, Hungary, 2002,
  - *Fluorescence quenching in the vicinity of metal nanoparticles*  
E. Dulkeith, A. Morteani, C. Soennichsen, J. Feldmann, S. Riethmueller, J.P. Spatz, and M. Moeller  
**APS**-Annual March Meeting, Seattle WA, March 2001
  - *Time-resolved FRET measurements with nanoparticles for biological applications*  
E. Dulkeith, G. Raschke, C. Soennichsen, A. Morteani, J. Feldmann  
**ESF**-European Scientific Foundation, Summer school on ultra fast phenomena, March 2001, Corsica, France
  - *Wechselwirkungen von Gold Nanopartikeln mit oberflächengebundenen Farbstoffen*  
**Roche Diagnostics** Germany Holding GmbH, Penzberg, Germany, November 2001
  - *Fluorescence quenching in the vicinity of metal nanoparticles*  
**SFB486** Workshop (Manipulation of Matter on the Nanometer Scale), Ringsberg, Germany, April 2001
-





# INHALTSVERZEICHNIS

	<b>Kurzfassung</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>7</b>
2.1	<b>Optische Eigenschaften von Gold Nanopartikeln</b>	<b>7</b>
2.1.1	Optische Anregungen im sichtbaren Spektralbereich	
2.1.2	Die dielektrische Funktion von Gold	
2.1.3	Dämpfungsmechanismen der Plasmonoszillation	
2.1.4	Elektrodynamische und quasistatische Modellierung	
2.2	<b>Optische Eigenschaften organischer Moleküle</b>	<b>16</b>
2.2.1	$\pi$ -konjugierte Elektronensysteme von Molekülen	
2.2.2	Elektronische und vibronische Zustände	
2.2.3	Zerfallsraten und Quantenausbeute	
2.3	<b>Interaktionen zwischen Metallen und organischen Molekülen</b>	<b>21</b>
2.3.1	Auslöschung oder Erhöhung der Fluoreszenz?	
2.3.2	Farbstoff-Farbstoff	
2.3.3	Farbstoff-Metallfilm	
2.3.4	Farbstoff-Nanopartikel	
2.3.5	Limitationen und nichtlokale Effekte	
2.3.6	Elektronentransfer	
<b>3</b>	<b>Experimentelle Methoden</b>	<b>47</b>
3.1	<b>Zeitintegrierte Spektroskopie</b>	<b>47</b>
3.1.1	Transmissionsspektroskopie	
3.1.2	Fluoreszenzspektroskopie	
3.2	<b>Zeitaufgelöste Spektroskopie</b>	<b>49</b>
3.2.1	Experimenteller Aufbau und Lasersystem	
3.2.2	Zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen	
3.2.3	Streak Kamera	
<b>4</b>	<b>Hybride Nanopartikel-Farbstoff Systeme</b>	<b>57</b>
4.1	<b>Nanopartikel</b>	<b>58</b>
4.1.1	Synthese	
4.1.2	Charakterisierung	
4.2	<b>Abstandshalter</b>	<b>60</b>
4.2.1	Ankergruppen	
4.2.2	Alkyl-Ketten	
4.2.3	DNA-Ketten	
4.3	<b>Farbstoffe</b>	<b>65</b>
4.3.1	Verwendete Farbstoffe	
4.3.2	Charakterisierung	
4.4	<b>Hybridsysteme</b>	<b>69</b>
4.4.1	Oberflächenbedeckung mit Alkyl-Ketten	
4.4.2	Oberflächenbedeckung mit DNA-Ketten	
4.4.3	Oberflächenpassivierte Gold Nanopartikel	

---

<b>5</b>	<b>Fluoreszenzauslöschung in Nanopartikel-Farbstoff Systemen</b>	<b>77</b>
5.1	<b>Parameter: Partikelgröße</b>	<b>79</b>
	5.1.1 Experimentelle Ergebnisse	
	5.1.2 Diskussion und Modellvergleich	
5.2	<b>Parameter: Abstand</b>	<b>87</b>
	5.2.1 Alkyl-Ketten	
	5.2.1.1 Experimentelle Ergebnisse	
	5.2.1.2 Diskussion und Modellvergleich	
	5.2.2 DNA-Ketten	
	5.2.2.1 Experimentelle Ergebnisse	
	5.2.2.2 Diskussion und Modellvergleich	

---

<b>6</b>	<b>Plasmonemission in Gold Nanopartikeln</b>	<b>105</b>
6.1	<b>Lumineszierendes Gold</b>	<b>105</b>
6.2	<b>Experimentelle Ergebnisse</b>	<b>107</b>
	6.2.1 Die Emission folgt dem Partikelplasmon	
	6.2.2 Die Quanteneffizienz der ultraschnellen Emission	
6.3	<b>Diskussion und Modellvergleich</b>	<b>114</b>
	6.3.1 Nanopartikel als thermische Strahler	
	6.3.2 Die Quanteneffizienz eines Plasmons, strahlend zu zerfallen	
	6.3.3 Die Quanteneffizienz eines e-h-Paares, ein Plasmon zu generieren	
6.4	<b>Oberflächeninduzierte Fluoreszenz aus Gold Nanopartikeln</b>	<b>126</b>
	6.4.1 Experimentelle Ergebnisse	
	6.4.2 Diskussion	

---

<b>7</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>129</b>
----------	-------------------------------------	------------

---

<b>8</b>	<b>Anhang</b>	<b>131</b>
A	<b>Numerische Berechnung nach Gersten/Nitzan in Mathematika</b>	
B	<b>Homotransfer und Dimerbildung</b>	
C	<b>Peptidbindung und Partikelsynthese</b>	
D	<b>Reabsorption und Abschwächung der Emissionen</b>	
E	<b>Anzahl absorbierter Photonen pro Gold Nanopartikel</b>	
F	<b>Relation zwischen Querschnitten und Zerfallsraten</b>	

---

<b>Literaturverzeichnis und Referenzen</b>	<b>147</b>
--	------------

---

<b>Danksagung</b>	<b>157</b>
-------------------	------------

---



## Kurzfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die optischen Eigenschaften von Hybridsystemen, bestehend aus Gold Nanopartikeln und Farbstoffen, zeitaufgelöst und zeitintegriert untersucht.

Metallische Nanopartikel besitzen gegenüber organischen Molekülen um Größenordnungen höhere Absorptionsquerschnitte und sind damit viel versprechende Akzeptoren in Energie-Transfer Systemen. Das Absorptionsspektrum von Plasmonen, d.h. der Kollektivbewegung von Leitungsbandelektronen, liegt bei Gold Nanopartikeln im sichtbaren Spektralbereich und weist damit einen guten spektralen Überlapp mit den Emissionsspektren gängiger organischer Farbstoffe auf.

Im Mittelpunkt der Arbeit steht die Fluoreszenzauslöschung von Farbstoffen, welche auf eine dipol-induzierte Kopplung der molekularen Anregung mit dem Partikelplasmon der Gold Nanopartikel zurückzuführen ist. Die experimentellen Ergebnisse belegen, dass Gold Nanopartikel mit einem Radius von nur  $1\text{ nm}$  bereits in der Lage sind, die Quanteneffizienz der oberflächengebundenen Farbstoffe um  $99,8\%$  zu verringern. Es kann zudem gezeigt werden, dass bereits ein geringer spektraler Überlapp zwischen Farbstoffemission und Plasmonresonanz ausreicht, um die Quanteneffizienz der Farbstoffe bis zu Abständen von  $16\text{ nm}$  um über  $50\%$  zu reduzieren. Derart hohe und langreichweitige Auslöschungseffizienzen werden in Energie-Transfer Systemen mit organischen Akzeptormolekülen nicht erreicht. Die Ergebnisse zeigen, dass Gold Nanopartikel-Farbstoff Hybridsysteme das Potential für eine zukünftige neue Generation von sehr effektiven Nanosensoren besitzen. Es werden für drei verschiedene Farbstoffe Serien von Hybridsystemen hergestellt, in denen stets nur ein Parameter, nämlich die Nanopartikelgröße oder der Abstand des Farbstoffes zum Nanopartikel, systematisch über eine Größenordnung geändert wird.

Die extrem effiziente Fluoreszenzauslöschung resultiert aus einem strahlungslosen Energie-Transfer zum Nanopartikel und einer gleichzeitigen Absenkung der strahlenden Rate des Farbstoffs. Die experimentell ermittelten strahlenden und nichtstrahlenden Raten der Hybridsysteme werden mit Modellrechnungen nach Gersten und Nitzan verglichen. Es zeigt sich, dass bei konstantem Molekül-abstand, aber unterschiedlichen Partikelgrößen, eine qualitative Übereinstimmung der Messergebnisse mit den Modellvorhersagen vorliegt, die absoluten Energie-Transfer Raten sich jedoch um bis zu zwei Größenordnungen unterscheiden. Diese Diskrepanz wird auf das Einwirken von nichtlokalen Effekten in unmittelbarer Nähe des Nanopartikels zurückgeführt. Die experimentellen Ergebnisse liefern einen wichtigen Beitrag zur seit langem debattierten Frage, ob überhaupt und in welchem Maße nichtlokale Effekte einen Energie-Transfer zum Gold Nanopartikel beeinflussen.

Bereits ohne oberflächengebundene Farbstoffe zeigen Gold Nanopartikel eine Photonenemission. Das spektrale Emissionsprofil ist der spektralen Form der Plasmonresonanz sehr ähnlich. Die Quanteneffizienz liegt um vier Größenordnungen über der an Goldfilmen gemessenen Emission, die auf eine direkte Rekombination von d-Bandlöchern mit sp-Bandelektronen, zurückgeführt wird. Eine radius-abhängige Messserie erlaubt zum ersten Mal eine mikroskopische Erklärung der beobachteten erhöhten Fluoreszenz: In einem mehrstufigen Prozess wird zunächst durch eine strahlungslose Elektron-Loch-Rekombination ein Partikelplasmon generiert, das anschließend innerhalb weniger Femtosekunden strahlend via Emission eines Photons zerfällt.



# 1 Einleitung

Die technologischen Fortschritte im vergangenen Jahrzehnt hinsichtlich der präzisen Herstellung und exakten Charakterisierung nanostrukturierter Materialien haben die Wissenschaft an die Schwelle einer neuen Ära gebracht: Der Möglichkeit einer gezielten Manipulation und Untersuchung von Materie auf der Nanometerskala. Der Drang „die Nanometerwelt zu erobern“ hat sich in vielen wissenschaftlichen Bereichen zu einem Forschungsschwerpunkt entwickelt. Die molekulare Nanosensorik zählt beispielsweise hierzu. Doch benötigen die Fortschritte bei der Herstellung von Nanostrukturen z.B. auf dem Gebiet der makro- und supramolekularen Chemie auch zugleich immer genauere und effizientere physikalische Analysemethoden. Weiterentwicklungen auf dem Gebiet der Nanotechnologie sind daher durch eine verstärkte interdisziplinäre Zusammenarbeit gekennzeichnet. Die Nanotechnologie wird heutzutage auch als zukunftsweisende Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts bezeichnet <sup>[1, 2]</sup>.

Die grundlegendste Methode, eine Nanostruktur zu charakterisieren, ist, den Abstand zwischen zwei Punkten der Struktur zu bestimmen. Eine elegante Methode Abstände auch unterhalb der klassischen Beugungsbegrenzung zu detektieren bietet die Fluoreszenzspektroskopie. Mitte des vergangenen Jahrhunderts erkannte Theodor Förster, dass Farbstoffmoleküle strahlungslos Energie austauschen, sofern der intermolekulare Abstand nur wenige Nanometer beträgt und das Fluoreszenzspektrum des einen Farbstoffs (Donor) mit dem Absorptionsspektrum des anderen Farbstoffs (Akzeptor) überlappt <sup>[3]</sup>. Dieser Transfer der elektronischen Anregungsenergie basiert auf einer strahlungslosen dipolinduzierten Kopplung zwischen den Molekülen. Für den Donor öffnet sich ein zusätzlicher Zerfallskanal, dessen Transferrate stark abstandsabhängig ist und die optischen Eigenschaften beider Farbstoffe ändert. Anhand der Änderungen können Abstände im Bereich von 5 nm mit einer Genauigkeit von 5 Angström nachgewiesen werden <sup>[4]</sup>. Der dipolinduzierte Energie-Transfer wird als FRET (*Förster Resonanz Energie Transfer*) bezeichnet, und gilt in vielen Bereichen der Wissenschaft, wie z.B. der Biotechnologie, Genomforschung, Molekularbiologie oder auch der biomedizinischen Forschung, als eine wichtige Methode Abstände zu messen.

So erfolgreich sich Farbstoffe als „FRET-Nanosensoren“ auch etabliert haben, ist deren Einsatzgebiet doch eingeschränkt: Während z.B. kleinere Proteine noch mit FRET untersucht werden können, ist der Abstand von Donor und Akzeptor wegen der limitierten Reichweite der Dipolkopplung bei der Untersuchung der Hybridisierung von DNA-Strängen auf nur wenige Basensequenzen beschränkt <sup>[5]</sup>. Ein anderer Nachteil ist die durch Photodegradation begrenzte Lebensdauer eines Farbstoffmoleküls. Tritt diese ein, so entspricht dies einem Totalausfall des Nanosensors <sup>[6-9]</sup>.

In den letzten Jahren besteht daher ein zunehmendes Interesse an alternativen FRET-Systemen. So versucht man, sich die Vorteile von Nanopartikeln zunutze zu machen <sup>[10-13]</sup>. Fluoreszierende Halbleiter Nanopartikel werden wegen ihrer schmalen Emissionsbanden und hohen Photostabilität als Energie-Donatoren verwendet. Metallische Nanopartikel besitzen gegenüber Farbstoffen um Größenordnungen höhere Absorptionskoeffizienten, da deren quasifreie Leitungsbandelektronen leicht zu kollektiven Oszillationen (Plasmonoszillation) angeregt werden können. Da die Energie-Transferrate direkt vom Absorptionskoeffizienten abhängt, sollten mit metallischen Nanopartikeln als Energie-Akzeptoren größere Abstände detektierbar sein. Gold Nanopartikel sind von besonderem Interesse, da

deren Plasmonresonanz in sichtbaren Spektralbereich liegt und für die optische Spektroskopie damit leicht zugänglich ist.

Während theoretische Modellierungen von Nanopartikel-Farbstoff Hybridsystemen seit über zwei Jahrzehnten vorliegen <sup>[14-16]</sup>, blieb aufgrund fehlender experimenteller Mess- und Präparationstechniken eine Bestätigung oder Negation derselben aus. Die tatsächlichen Einflüsse des Nanopartikels auf die Fluoreszenz des Farbstoffes sind bis heute im Detail noch nicht verstanden. Die Nanotechnologie von heute ist jedoch in der Lage, Proben in einer Präzision herzustellen, die es gestatten, die Parameter des Hybridsystems a) systematisch und b) unabhängig voneinander zu verändern.

Ein wichtiges Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, Hybridsysteme aus Gold Nanopartikeln mit oberflächengebundenen Farbstoffen zeitaufgelöst und zeitintegriert spektroskopisch zu charakterisieren. Um die Mechanismen der Fluoreszenzauslöschung zu erfassen, werden als Parameter die Nanopartikelgröße und der Farbstoffabstand zum Nanopartikel systematisch über je eine Größenordnung verändert und die experimentellen Ergebnisse mit Modellrechnungen nach Gersten und Nitzan verglichen <sup>[14]</sup>. In der vorliegenden Arbeit kann zum ersten Mal die Ursache einer extrem effizienten Fluoreszenzauslöschung gezeigt werden, nämlich das Zusammenwirken eines strahlungslosen Energie-Transfers vom Farbstoff zum Gold Nanopartikel sowie eine gleichzeitige Änderung der strahlenden Rate des Farbstoffs.

Gold Nanopartikel zeigen nach einer optischen Anregung im Ultravioletten bereits ohne gebundene Farbstoffe eine ultraschnelle Photonenemission im sichtbaren Spektralbereich, dessen Lebensdauer unterhalb von  $50\text{ fs}$  liegt. Die spektrale Form der Emission stimmt mit der Extinktion der Plasmonresonanz überein. Die genauen Zusammenhänge, inwieweit das Partikelplasmon am Emissionsprozess beteiligt ist sind jedoch noch ungeklärt. Die vorliegende Arbeit gibt eine Erklärung und präsentiert zeitlich und spektral aufgelöste Messungen zur Fluoreszenz.

Die Messergebnisse können mit einem Prozess erklärt werden, in dem optisch angeregte d-Bandlücken strahlungslos mit sp-Bandelektronen rekombinieren und dabei eine Plasmonoszillation erzeugen, die anschließend wiederum strahlend zerfällt. Durch die Bestimmung der Quanteneffizienz kann zum ersten Mal eine quantitative Übereinstimmung mit theoretischen Modellierungen nach Shahbazyan et al. nachgewiesen werden <sup>[17]</sup>.

Die vorliegende Arbeit ist folgendermaßen aufgebaut. In Kapitel 2 werden die optischen Eigenschaften von Gold Nanopartikeln erklärt und die unterschiedlichen, partikelgrößenabhängigen Dämpfungsmechanismen diskutiert, welche für die Dissipation der Energie des Partikelplasmons verantwortlich sind. Nach der Beschreibung der optischen Eigenschaften organischer Farbstoffmoleküle folgt zunächst ein Überblick, auf welche Weise die spektroskopischen Eigenschaften von Farbstoffen durch die unmittelbare Nähe von metallischen Oberflächen (raue und glatte Filme oder Partikel) geändert werden können: Der Farbstoff kann in seiner strahlenden und nichtstrahlenden Rate als auch in der Absorptionsrate beeinflusst werden. Es wird diskutiert, unter welchen Bedingungen metallische Oberflächen die molekulare Fluoreszenz nicht nur auslöschen, sondern entgegengesetzt, auch erhöhen können. Das ist wichtig, um eine klare Abgrenzung zu der, in dieser Arbeit vorgestellten, Fluoreszenzauslöschung zu erlangen. Gefolgt von einer Darstellung und Erläuterung des Modells nach Gersten und Nitzan, welches für die Erklärung der experimentellen Ergebnisse herangezogen wird, schließt Kapitel 2 mit einer Diskussion der Modelllimitationen und möglicher, dem Energie-Transfer entgegenwirkender, Prozesse ab.



Die experimentell angewandten Methoden finden sich in Kapitel 3. Besonderes Augenmerk wird auf zeitaufgelöste Messtechniken gelegt. Denn nur damit kann die vom Nanopartikel geänderte Zerfallsdynamik des Farbstoffs erfasst werden.

Die Synthese des Nanopartikel-Farbstoff Hybridsystems sowie deren Einzelkomponenten, finden sich in Kapitel 4 und sind ein wichtiger Teil dieser Arbeit. Eine ausführliche, experimentelle Charakterisierung zeigt, dass eine kontrollierte Änderung von Nanopartikelgröße und Abstand zwischen Farbstoff und Nanopartikel möglich ist. Um einer Applikation als neue Generation von Nanosensoren z.B. für die Biotechnologie möglichst nahe zu kommen, werden die Hybridssysteme in wässriger Lösung untersucht. Details zur Probenherstellung finden sich im Anhang dieser Arbeit.

Kapitel 5 präsentiert zeitaufgelöste Messungen an den Gold Nanopartikel-Farbstoff Hybridssystemen. Aus den Transienten können die geänderten strahlenden und nichtstrahlenden Raten bestimmt werden. Während Kapitel 5.1 den Einfluss des Nanopartikels auf die molekulare Fluoreszenz als Funktion der Partikelgröße zum Thema hat, beschäftigt sich Kapitel 5.2 mit der Änderung der Fluoreszenz bei der Variation des Abstandes des Farbstoffes zum Gold Nanopartikel. Die experimentell ermittelten strahlenden und nichtstrahlenden Raten werden mit den Modellvorhersagen von Gersten und Nitzan verglichen und diskutiert.

Kapitel 6 stellt zeitlich und spektral aufgelöste Fluoreszenzspektren von reinen Nanopartikellösungen dar. Insbesondere wird das spektrale Profil der ultraschnellen Emission als Funktion der Partikelgröße untersucht. Die Quanteneffizienz dieser Fluoreszenzemission aus Gold Nanopartikeln mit Radien von  $1 - 30 \text{ nm}$  wird bestimmt. Die experimentellen Ergebnisse werden mit den Modellvorhersagen von Shahbazyan et al. verglichen und diskutiert.

Die Arbeit endet mit einer Zusammenfassung und einem Ausblick in Kapitel 7.



## 2 Grundlagen

Die dipolinduzierte Kopplung zwischen Farbstoffen und metallischen Nanopartikeln via Energie-Transfer-Prozesse macht Hybridsysteme dieser Art zu potentiellen Kandidaten einer neuen Generation von Sensoren auf der Nanometerskala. Um jedoch Änderungen der optischen Eigenschaften des Farbstoffes richtig zu interpretieren, muss der Mechanismus der Wechselwirkung weitestgehend verstanden sein, und als Voraussetzung hierfür, die Physik der einzelnen Komponenten.

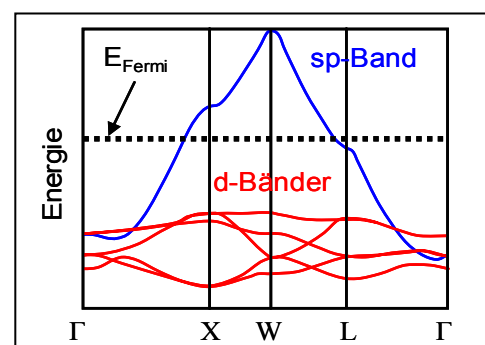
Kapitel 2 wird sich daher zunächst getrennt mit den optischen Eigenschaften und der physikalischen Beschreibung der Einzelbausteine solch eines Hybridsystems befassen, sprich der von Gold Nanopartikeln (Kapitel 2.1) und fluoreszierenden Molekülen (Kapitel 2.2). Zusammen mit einer Einführung in bereits bekannte Energie-Transfer Systeme wird es die Grundlage bilden, die elektromagnetische Kopplung zwischen Partikel und Farbstoff besser verstehen zu können. Um diese rechnerisch zu bestimmen, bedienen wir uns eines Modells von Gersten und Nitzan, welches die geänderten optischen Eigenschaften von Farbstoffen durch den Einfluss metallischer Nanopartikel modelliert. Limitationen dieser Theorie, mögliche Erweiterungen sowie potentiell konkurrierende Prozesse werden diskutiert (Kapitel 2.3).

### 2.1 Optische Eigenschaften von Gold Nanopartikeln

Das Edelmetall Gold (Au) ist ein chemisches Element der ersten Nebengruppe. Die 5d-Schale ist mit 10 Elektronen vollständig gefüllt (Edelgas-Elektronenkonfiguration). Die metallischen Eigenschaften rühren daher nur von der zur Hälfte besetzten 6s-Schale her. Die Atome gehen untereinander eine metallische Bindung ein, die zu einer freien Elektronendichte von  $n \sim 5,98 \cdot 10^{28} \text{ m}^{-3}$  führt. Im kristallinen Zustand besitzt Gold eine kubisch-flächenzentrierte Elementarzelle mit einatomiger Basis und eine Gitterkonstante von  $a = 0,41 \text{ nm}$  [18].

Die Bandstruktur (Abb. 2.1) weist 5 relativ flach verlaufende d-Bänder auf, während das einzelne s-Elektron ein bis zur Fermi-Energie aufgefülltes sp-hybridisiertes Leitungsband besetzt. Das sp-Band ist in seiner Form nahezu parabolisch [19]. Eine derartige Parabolizität findet sich ebenfalls bei freien Elektronen wieder (Energie  $E$  hängt quadratisch von der Wellenzahl  $k$  ab) [20].

In Kapitel 2.1.2 wird sich zeigen, dass der Rechenansatz zur Bestimmung der dielektrischen Funktion  $\varepsilon(\omega)$  von Metallen eben aus diesem Grund auf der Dynamik von beinahe freien (quasifreien) Elektronen beruht.



**Abb. 2.1** Bandstruktur von Gold. Während die d-Bänder relativ flach verlaufen ist das sp-Band annähernd parabolisch (nach [19]).

### 2.1.1 Optische Anregungen von Gold Nanopartikeln

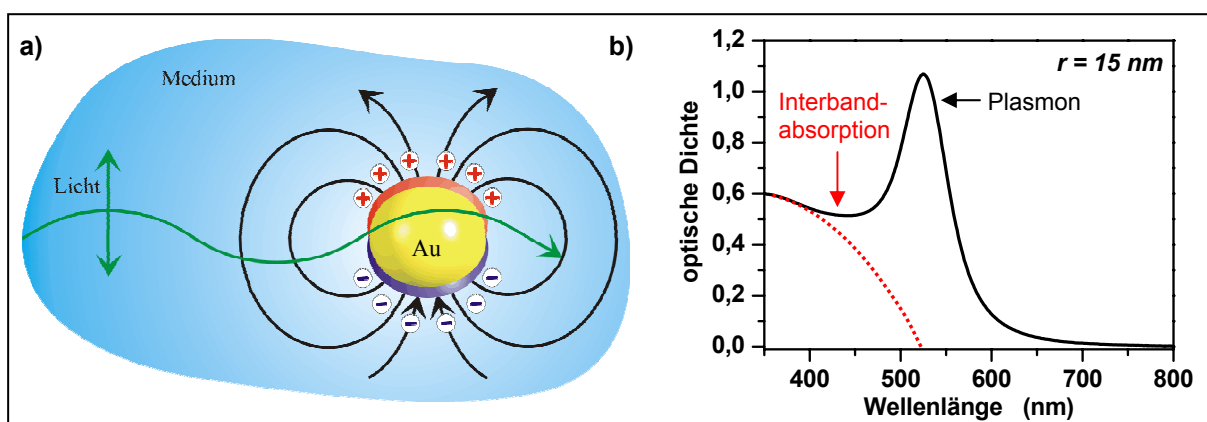
Die optischen Eigenschaften von Gold Nanopartikeln werden im sichtbaren Spektralbereich vornehmlich von zwei Arten optischer Anregungen bestimmt:

- a) *Einzel-Anregungen von Elektronen.* Sie beruhen auf optischen Übergängen einzelner 5d-Elektronen in leere Zustände des 6sp-Bandes oberhalb der Fermi-Energie. Diese sogenannten *Interbandanregungen* finden bei Nanopartikeln in gleicher Weise statt wie im Volumenmetall und setzen bei der *Interbandkante* (Au:  $2,38 \text{ eV} \sim 520 \text{ nm}$ ) ein <sup>[21]</sup>. In Messungen der optischen Dichte zeigen sich Interbandanregungen als stetig ansteigender Hintergrund, welcher unabhängig von der Partikelgröße bei etwa  $520 \text{ nm}$  einsetzt (Abb. 2.2)\*.
- b) *Kollektiv-Anregungen von Elektronen.* Das Quant dieser Anregung wird als *Partikelplasmon* bezeichnet und stellt eine Kollektivschwingung der Leitungsbandelektronen des sp-Bandes dar. Sie ist die dominante Erscheinung im sichtbaren Spektralbereich. Im klassischen Bild eines Oszillators werden die Leitungsbandelektronen in Bezug auf die festen Gitteratome durch das elektrische Wechselfeld einer einfallenden Lichtwelle mit passender Frequenz periodisch verschoben. In Phasen maximaler Lichtfeldamplitude bilden sich ein Elektronenüberschuss auf der einen Seite des Partikels und eine durch die zurückbleibenden Ionenrümpfe resultierende positive Überschussladung auf der anderen Seite (Abb. 2.2 a).

Die Situation kann als oszillierender Dipol beschrieben werden, welcher die Generation eines elektrischen Feldes um das Nanopartikel zur Folge hat. Der Dipol unterliegt verschiedenen Dämpfungsmechanismen, die entweder strahlender oder nichtstrahlender Natur sein können.

Die Rückstellkraft dieser Schwingung ist durch die Coulombanziehung zwischen Leitungselektronen und Ionenrümpfen gegeben und in guter Näherung harmonisch <sup>[22, 23]</sup>. Sofern das einfallende Lichtfeld das Nanopartikel homogen durchdringt (die Skin-Tiefe für Gold ist im Sichtbaren etwa  $35 \text{ nm}$  <sup>[21]</sup>) liegt die Situation eines angetriebenen, gedämpften, harmonischen Oszillators vor, der mit geeigneter Anregungsfrequenz in Resonanz getrieben wird.

Abbildung 2.2 b) zeigt die gemessene optische Dichte von sphärischen Gold Nanopartikeln mit einem Radius  $r = 15 \text{ nm}$  in wässriger Lösung. Die Plasmonresonanz bei  $\sim 520 \text{ nm}$  und der ansteigende Beitrag von Interbandübergängen im ultravioletten Spektralbereich sind deutlich erkennbar.



**Abb. 2.2** a) Schematische Darstellung der Kollektivanregung von Leitungselektronen in Gold Nanopartikeln, welche durch ein externes Lichtfeld angetrieben werden. b) Optische Dichte einer wässrigen Lösung von Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  mit einer Plasmonresonanz bei etwa  $\lambda = 520 \text{ nm}$ .

Im Folgenden wird die Kollektivschwingung nur als Plasmon oder Plasmonschwingung bezeichnet. *Plasmonisches* Verhalten tritt bei allen Materialien auf, deren Elektronen in erster Näherung als frei betrachtet werden können.

Die spektrale Lage der Plasmonresonanz wird von mehreren Faktoren beeinflusst. Die Coulombfelder des Plasmondipols verlaufen teilweise durch den Außenraum des Nano-partikels und können somit in Abhängigkeit der Polarisierbarkeit des umgebenden Mediums abgeschirmt werden und die Rückstellkraft abschwächen. Je größer der Brechungsindex des umgebenden Mediums, umso stärker die externe Abschirmung und die Resonanz schiebt spektral zu niedrigeren Energien<sup>[21]</sup>. Die spektrale Abhängigkeit vom umgebenden Medium ist derart sensitiv, dass sie als biomolekularer Nanosensor verwendet werden kann<sup>[24]</sup>.

Interne Abschirmungen können ebenfalls zu einer Rotverschiebung führen. In diesem Fall schirmen die polarisierbaren d-Elektronen des Valenzbandes die Coulombanziehung zwischen Ionenrümpfen und Leitungsbandelektronen ab. Die spektrale Lage der Plasmonresonanz ist damit auch vom Material des Nanopartikels abhängig<sup>[25]</sup>.

Mit zunehmender Partikelgröße kommt es zu elektromagnetischen *Retardierungseffekten*. Die Phase des generierten elektromagnetischen Feldes im Partikel ist wegen der endlichen Ausbreitungsgeschwindigkeit des antreibenden Lichtes lokal verschieden, d.h. während kleine Partikel vom Lichtfeld räumlich und zeitlich homogen durchdrungen werden, oszillieren die Leitungselektronen in größeren Partikeln zwischen Vorder- und Rückseite zueinander geringfügig phasenverschoben. Die Phasenverschiebung, zusammen mit der Abschwächung des Lichtfeldes aufgrund der limitierten Eindringtiefe, reduzieren abermals die rücktreibenden Coulombkräfte. Es existiert daher eine mit der Partikelgröße zunehmende Rotverschiebung.

Die Kollektivanregung ist streng genommen eine Plasmon-Polariton-Anregung, denn die Elektronenoszillation ist stark mit der einfallenden Lichtwelle gekoppelt. So konnte nachgewiesen werden, dass die Plasmonresonanz keine charakteristische Rotverschiebung aufweist, sofern dessen Anregung nicht optisch, sondern durch injizierte Elektronen hervorgerufen wurde. Es ist daher der polaritonische Anteil, welcher für die Rotverschiebung mit der Partikelgröße verantwortlich ist<sup>[26]</sup>.

Abgesehen von der spektralen Position der Plasmonresonanz beeinflussen verschiedene Dämpfungsmechanismen dessen Linienbreite. Diese werden uns bei der Diskussion der dielektrischen Funktion zwar schon begegnen, eine ausführliche Behandlung folgt aber erst in Kapitel 2.1.3.

### 2.1.2 Die dielektrische Funktion von Gold

Der Ansatz zur Bestimmung der dielektrischen Funktion  $\varepsilon(\omega)$  geht auf das klassische Modell von Drude-Sommerfeld zurück. Die Elektronen werden als ein Gas unabhängiger, punktförmiger und quasifreier Teilchen betrachtet, welche durch ein äußeres elektrisches Feld beschleunigt, aber durch Zusammenstöße mit Metallionen abgebremst werden. Ein wichtiger Parameter ist damit die mittlere Zeit zwischen zwei Stößen, auch *Elektron-Relaxationszeit*  $T$  genannt. Meist geht dessen Kehrwert  $\Gamma = T^{-1}$  als Dämpfungskonstante in die Bewegungsgleichungen ein. Streuprozesse sind Ursache dafür, dass die Elektronen nicht als *frei*, sondern nur als *quasifrei* bezeichnet werden.

Das Drude-Sommerfeld-Modell<sup>[27-29]</sup> bestimmt die Antwortfunktion  $\varepsilon(\omega)$  eines makroskopischen Metalls, indem zunächst das Verhalten eines *einzelnen* Elektrons im externen Feld berechnet wird. Unter obiger Annahme der Unabhängigkeit gelingt der Übertrag auf makroskopisch ausgedehnte Körper (Elektronendichte  $n$ ) durch einfache Multiplikation mit der Zahl vorhandener Elektronen.

Die Bewegungsgleichung (1-dimensional) eines einzelnen, freien Elektrons der Masse  $m_e$  und der Ladung  $e$ , welches zwar durch ein externes elektrisches Feld  $E = E_0 e^{-i\omega t}$  beschleunigt, aber durch Stöße ( $\Gamma$ ) gedämpft wird, resultiert in einer Driftbewegung des Elektrons. Da die Elektronen quasifrei sind, beschreibt die Differentialgleichung eine Relaxation *ohne* Resonanzfrequenzen:

$$\frac{\partial^2 x}{\partial t^2} + \Gamma \frac{\partial x}{\partial t} = \frac{e}{m_e} E_0 e^{-i\omega t}, \quad (2.1)$$

dessen stationäre Lösung

$$x = \frac{e}{m_e} \frac{1}{\omega^2 + i\Gamma\omega} E_0 \quad (2.2)$$

lautet. Mit  $p = ex$  als Dipolmoment erhalten wir die makroskopische Polarisation  $P = np$ . Wendet man noch den bekannten Zusammenhang  $\varepsilon = 1 + P/(\varepsilon_0 E)$  an, so ergibt sich die dielektrische Funktion  $\varepsilon(\omega)$  zu:

$$\varepsilon(\omega) = 1 - \frac{(ne^2 / \varepsilon_0 m_e)^{1/2}}{\omega^2 + i\Gamma\omega} = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\Gamma)}. \quad (2.3)$$

$\omega_p$  ist die Plasmafrequenz. Es beschreibt die Eigenfrequenz eines Elektronengases in *Abwesenheit* jeglicher Dämpfung ( $\Gamma = 0$ )<sup>[30]</sup>. Alle Elektronen bewegen sich hier in Phase. Zerlegen wir die dielektrische Funktion in Real- und Imaginäranteil ( $\varepsilon = \varepsilon_1 + i\varepsilon_2$ ) und betrachten den Fall einer geringen Dämpfung ( $\omega \gg \Gamma$ ), so vereinfacht sich  $\varepsilon(\omega)$  zu:

$$\varepsilon(\omega) \approx 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} + i\Gamma \frac{\omega_p^2}{\omega^3}. \quad (2.4)$$

Das Drude-Sommerfeld-Modell sagt trotz seiner Einfachheit die meisten Eigenschaften realer Metalle gut voraus, dennoch gibt es Diskrepanzen. In Abhängigkeit ihrer Relevanz für die physikalische Interpretation sind einige Ursachen der Abweichung, insbesondere der bei metallischen Nanopartikeln zu berücksichtigen:

- a) Da das Modell unter der Annahme der Quasifreiheit angesetzt ist, kann es *keine gebundenen Elektronen erfassen*, welche um Ihre Gleichgewichtslage schwingen<sup>[27]</sup>. Das Fehlen einer Rückstellkraft, der als weiterer Term additiv zu Gleichung (2.1) hinzugefügt werden würde, hat in zweierlei Hinsicht Konsequenzen.

Erstens werden im Dämpfungsterm nach Drude-Sommerfeld damit nur Stoßprozesse, aber keine *Strahlungsdämpfung* berücksichtigt. Oszillierende Ladungen, wie es das Plasmon darstellt, werden jedoch durch Energieabstrahlung gedämpft. Die Strahlungsdämpfung ist zwar recht gering, steigt aber bei Nanopartikeln kubisch mit dem Partikelradius und kann damit für größere Partikel durchaus signifikant zur Dämpfung beitragen (Kap. 2.1.3).

Zweitens zeigt  $\varepsilon(\omega)$  nach Drude-Sommerfeld zu höheren Energien signifikante Abweichungen von experimentellen Daten<sup>[31, 32]</sup>. Dieser Beitrag zur Polarisation, der durch *gebundene Elektronen* hervorgerufen wird, kann zwar additiv als  $\varepsilon_d(\omega)$  zur dielektrischen Funktion  $\varepsilon(\omega)$  in Gleichung 2.3 hinzugefügt werden, ist aber sehr aufwendig in dessen Modellierung<sup>[33, 34]</sup>. Der Experimentalphysiker begnügt sich daher meist mit experimentell ermittelten dielektrischen Funktionen. Zuweilen wird  $\varepsilon_d(\omega)$  auch als  $\varepsilon_\infty$  geschrieben<sup>[32]</sup>. Das soll implizieren, dass auch in Abwesenheit von äußeren Kräften das System eine endliche Reaktion zeigt<sup>[30]</sup>. Liegt nur ein Beitrag von freien Leitungselektronen vor, so ist  $\varepsilon_\infty(\omega) = 1$  (siehe auch Gl. 2.3). In Anhang F wird das Modell auf gebundene Elektronen erweitert.

- b) Die dielektrische Funktion nach Drude-Sommerfeld geht von einem Volumenmetall aus, d.h. die geometrischen Dimensionen sind bedeutend größer als die mittlere freie Weglänge der Elektronen. In sehr kleinen Nanopartikeln wird deren Oberfläche zur limitierenden Wegstrecke. Ein zusätzlicher Dämpfungsterm  $\Gamma_{surface}$ , bedingt durch *Oberflächenstreuungen* muss dann berücksichtigt werden. Dieser Punkt wird in Kapitel 2.1.3 näher diskutiert.
- c) Kräfte, die das *periodische Kristallpotential* auf die Elektronen ausüben, sind im Modell nicht berücksichtigt. Das kann dadurch kompensiert werden, indem man den Leitungselektronen anstatt der realen, freien Masse eine effektive Masse  $m^*$  (oft als optische Masse bezeichnet) zuordnet. Für Gold beträgt das Verhältnis  $m^*/m = 0,99$ . Da die Elektronen im Volumenmetall in der Tat das Ionengitter fast nicht sehen, kann diese Korrektur auch vernachlässigt werden.
- d) Eine weitere Diskrepanz resultiert aus der Abweichung des realen Leitungsbandes von einer perfekten *Parabelform*. Dies gilt insbesondere für höhere Energien (Abb. 2.1).

Eine wirklich exakte Modellierung für *Nanopartikel* würde die Inkorporation aller obiger Effekte in die dielektrische Funktion  $\varepsilon(\omega)$  mit sich ziehen. Zusätzliche Dämpfungsprozesse  $\Gamma_x$  schlugen sich im Imaginärteil von  $\varepsilon(\omega)$  nieder, während zusätzliche Polarisierungseffekte gebundener Elektronen additiv zu Gleichung 2.3 hinzugefügt würden. Streuprozesse der Elektronen untereinander  $\Gamma_{e-e}$ , mit Verunreinigungen  $\Gamma_{imp}$  oder mit Phononen  $\Gamma_{phon}$  wären zu berücksichtigen. Es liegt auf der Hand, dass eine derart umfassende Modellierung nicht nur sehr zeitaufwendig, sondern zudem auch kompliziert wäre. Gleichung 2.3 erhalte die Gestalt:

$$\varepsilon_{Au-Partikel}(\omega) = \varepsilon_d(\omega) - \frac{(\omega_p)^2}{\omega(\omega + i\Gamma_{total})}, \quad (2.5)$$

mit 
$$\Gamma_{total} = \Gamma_{inband} + \Gamma_{interband} + \Gamma_{surface} + \Gamma_{e-e} + \Gamma_{imp} + \Gamma_{phon}. \quad (2.6)$$

Es hat sich jedoch gezeigt, dass die dielektrische Funktion von Volumenmetallen  $\varepsilon(\omega)_{Au-Vol}$  auch für metallische Nanopartikel weitestgehend gültig bleibt. So bilden metallische Cluster mit mehr als 200 Atomen ( $r \sim 1,2 \text{ nm}$ ) bereits ein periodisches Metallgitter aus und können in Modellierungen bereits grob als ausgedehnte Volumenfestkörper behandelt werden<sup>[35]</sup>. Wird eine Größe von  $r > 5 \text{ nm}$  überschritten, so sind auch Oberflächenstreuungsprozesse mit akzeptablem Fehler vernachlässigbar (Kap. 6, Abb. 6.19). Wie schon erwähnt, hat es sich für die Bestimmung der dielektrischen Funktion von Nanopartikeln durchgesetzt, anstatt aufwendiger Modellierungen, experimentell gemessene dielektrische Funktionen von Volumenmetallen  $\varepsilon(\omega)_{Au-Vol}$  zu verwenden.  $\varepsilon(\omega)_{Au-Vol}$  findet sich tabelliert in der Literatur<sup>[36]</sup>. Diese können dann, bei Relevanz, um partikelgrößenabhängige Oberflächeneffekte erweitert werden. Obiger Ansatz wäre dann wie folgt:

$$\varepsilon_{Au-Partikel}(\omega) \approx \varepsilon_{Au-Vol}(\omega), \quad (2.7)$$

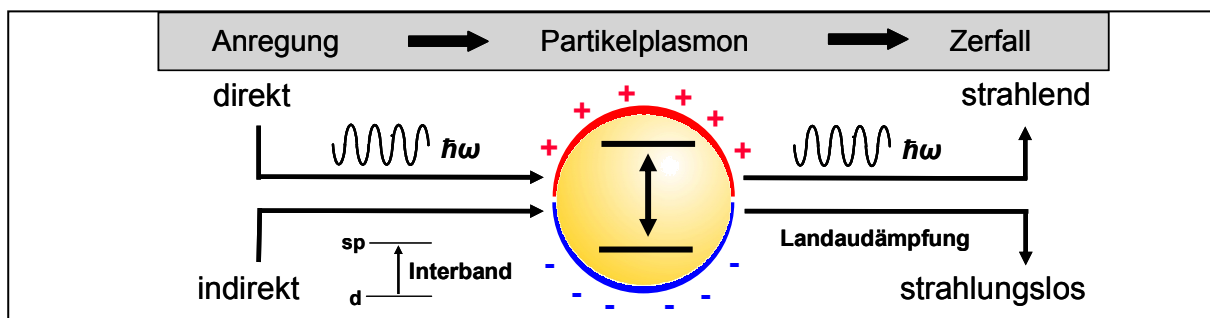
mit 
$$\Gamma_{total, Au-Partikel} = \Gamma_{total, Au-Vol} + \Gamma_{surface}. \quad (2.8)$$

### 2.1.3 Dämpfungsmechanismen der Plasmonoszillation

Das Plasmon kann als angetriebener, gedämpfter harmonischer Oszillator beschrieben werden. Die Amplitude der Oszillation schwächt sich aufgrund der Dämpfung exponentiell mit einer Zeitkonstante  $T$ . Da die Zeit  $t$  und die Frequenz  $\omega$  über eine Fourier-Transformation ineinander überführbar sind, ist die gedämpfte Oszillation im Zeitraum gleichbedeutend mit einer im Frequenzraum vorhandenen lorentzförmigen Resonanz der vollen Halbwertsbreite  $\Delta\omega = 2/T$  und einer Resonanzposition  $\omega$ . Der Zusammenhang zwischen Dephasierungszeiten  $T$  und Linienbreite  $\Gamma$  ergibt sich zu  $\Gamma \cdot T = 2\hbar$  [37]. Die Linienbreite einer Resonanz wird also über die angreifenden Dämpfungsmechanismen festgelegt. Je stärker gedämpft, umso so kürzer ist die Lebensdauer der Schwingung und umso breiter erscheint die Resonanz im Frequenzraum [38].

Wie bereits die spektrale Lage der Plasmonresonanz ist damit auch dessen spektrale Linienbreite eine Funktion der Partikelgröße. Nach einer direkten Anregung des Plasmons mit geeigneter Frequenz oder einer indirekten über Interbandanregungen (Kap. 6) stehen dem Plasmon folgende, zum Teil partikelgrößenabhängige, Zerfallswege zur Verfügung (Abb. 2.3):

- Einerseits *nichtstrahlend* durch *Elektron-Loch-Anregungen*. Man unterscheidet hier zwischen Interbandanregungen, bei der Elektronen von den 5d-Bändern ins höhere 6sp-Leitungsband gehoben werden, oder Intrabandanregungen, welche innerhalb des sp-Leitungsbandes stattfinden. Beide Anregungen werden als *Landau-Dämpfung* bezeichnet.
- Das Plasmon kann durch Photonenemission auch *strahlend* zerfallen, denn jede beschleunigte Bewegung eines geladenen Teilchens in einem äußeren Kraftfeld wird von einer *Strahlungsemission* begleitet. Die Strahlung entzieht dem System Energie und beeinflusst die darauf folgende Teilchenbewegung. Man nennt dies *Strahlungsdämpfung* [39].
- Nichtstrahlend durch Streuprozesse*. Die an der Kollektivbewegung teilnehmenden Elektronen können untereinander, mit Phononen, der Partikeloberfläche oder Verunreinigungen streuen.



**Abb. 2.3** Das Partikelplasmon kann strahlend durch Emission eines Photons oder strahlungslos durch Anregung von Elektronen zwischen den Bändern oder innerhalb desselben Bandes zerfallen.  $T^*$  Prozesse seien zunächst vernachlässigt (siehe Text).

Die Zerfalldynamik des Partikelplasmons wird mit mehreren Zerfallskonstanten beschrieben. Die Prozesse in Abschnitt a) und b) sind solche, in denen die Population der kollektiv schwingenden Elektronen abnimmt. Diese Dämpfung wird mit der *Populationszerfallszeit*  $T_1$  erfasst. Des Weiteren kann die Plasmonoszillation auch durch elastische Streuprozesse (Abschnitt c)) dephasieren. Hierbei geraten einige an der Kollektivbewegung teilnehmende Elektronen durch Streuung aus dem Gleichtakt. Dieser Prozess wird als *reine Dephasierung* bezeichnet und mit der Zeitkonstanten  $T^*$  umschrieben. Die Summe aller einwirkenden Dämpfungsprozesse wird durch die *gesamte Dephasierungszeit*  $T_2$  erfasst:

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T^*} + \frac{1}{2T_1} \quad \text{mit} \quad \Gamma = \frac{2\hbar}{T_2} \quad [\text{meV}] \quad \text{bzw.} \quad \Gamma = \frac{1}{T_2} \quad [\text{s}^{-1}]. \quad (2.9)$$



Die experimentell bestimmte Lebensdauer von Plasmonen liegt unter  $10\text{ fs}$  <sup>[40-43]</sup>. Es konnte auch bereits gezeigt werden, dass die dominanten Zerfallskanäle in Nanopartikeln die  $T_I$  Prozesse sind <sup>[44]</sup>. Der Beitrag von  $T^*$  zur Linienbreite ist üblicherweise recht gering. Es wird gegenwärtig sogar diskutiert, inwieweit er überhaupt eine Rolle spielt <sup>[45]</sup>. Wie noch anschließend gezeigt, gilt dies nicht mehr für sehr kleine Partikel, da hier *Oberflächenstreuungen* der Elektronen signifikant zur Plasmondämpfung beitragen können. Im Folgenden sei kurz auf zwei partikeltypische Dämpfungsprozesse und insbesondere deren Abhängigkeit von der Partikelgröße eingegangen.

**Strahlungsdämpfung:** In welchem Maße die Strahlungsdämpfung des Plasmons von der Größe des Partikels abhängt, lässt sich anhand der *Abraham-Lorentz-Bewegungsgleichung* erklären <sup>[46]</sup>. Sie stellt die Erweiterung des Drude-Sommerfeld-Ansatzes dar, und beschreibt, wie sich die Bewegung eines beschleunigten, aber nun *gebundenen* und geladenen Teilchens unter dem Einfluss einer Rückstellkraft und der damit auftretenden Strahlungsdämpfung  $\Gamma$  ändert. Eine ausführliche Herleitung findet sich in Anhang F. Es sei hier nur das Endresultat angegeben:

$$R_{rad} \propto V \propto r^3 . \quad (2.10)$$

$R_{rad}$  ist die strahlende Rate,  $V$  das Partikelvolumen und  $r$  der Partikelradius. Die Strahlungsdämpfung und damit die Wahrscheinlichkeit des Plasmons via Photonemission gedämpft zu werden, steigt kubisch mit dem Partikelradius.

**Oberflächenstreuungen:** Die an der Kollektivbewegung teilnehmenden Elektronen erfahren neben den  $T_I$ -Beiträgen zur Linienbreite des Plasmons auch  $T^*$ -Streuprozesse. Insbesondere für kleine Nanopartikel kann die mittlere freie Weglänge  $l_\infty$  der Elektronen die Ausmaße des Nanopartikels überschreiten. Klassisch gesehen erleiden die Elektronen Kollisionen mit der Partikeloberfläche, welcher als zusätzlicher Dämpfungsterm (Matthiessen Regel) wirkt. Die ansonsten für Partikel angewandte dielektrische Funktion  $\varepsilon(\omega)$  von massivem Gold muss diesem größenabhängigen Effekt Rechnung tragen und wird vom Radius des Partikels abhängig:

$$\varepsilon(\omega) \rightarrow \varepsilon(\omega, r). \quad (2.11)$$

Wie bereits in Gleichung 2.5 und 2.6 dargestellt, muss die gesamte Dämpfung  $\Gamma_{total}$  für kleine Partikel um einen Oberflächenstreuterm  $\Gamma_{surface}$  erweitert werden.  $\Gamma_{surface}$  hat eine  $1/r$ -Abhängigkeit, da in ihm das Verhältnis von Oberflächenstreuwahrscheinlichkeit (prop. zu  $4\pi r^2$ ) zur Zahl  $N$  der Streupartner (Elektronen im Partikel, prop. zu  $(4\pi/3)r^3$ ) eingeht <sup>[47, 48]</sup>.

Eine mögliche klassische Betrachtungsweise von  $\Gamma_{surface}$  ist folgende: Stöße der Elektronen untereinander, mit Phononen, Gitterdefekten oder Verunreinigungen limitieren die Wegstrecke, wie weit ein Elektron im Mittel ungestört durch das Metall propagieren kann. In *massivem* Gold und großen Nanopartikeln werden diese Einflüsse durch die *mittlere freie Weglänge*  $l_\infty$  zwischen den Stossprozessen erfasst ( $T_I$ -Prozesse sind anderer Natur und hier nicht berücksichtigt).  $l_\infty$  beträgt etwa  $42\text{ nm}$  <sup>[49]</sup>. Wegen des Pauli Ausschließungsprinzips sind vornehmlich nur Elektronen nahe der Fermienergie  $E_F$  involviert. Der Beitrag zur spektralen Linienbreite ist dann  $\Gamma_\infty = v_F/l_\infty$ , mit einer Fermigeschwindigkeit  $v_F = (2E_F/m^*)^{1/2}$  und  $T = 1/\Gamma_\infty$  als *Elektron-Relaxationszeit*. Ist nun der Radius  $r$  des Nanopartikels vergleichbar oder kleiner als  $l_\infty$ , so ist die Partikeloberfläche die limitierende Wegstrecke. Die Betrachtungsweise ist recht simplifiziert, denn sie geht für  $l_\infty$  von einem metallischen Volumenfestkörper aus. In Partikeln ist die mittlere freie Weglänge der an der Kollektivbewegung teilnehmenden Elektronen jedoch letztendlich durch die Lebensdauer des Plasmons limitiert. Mit einer Lebensdauer von  $4,6\text{ fs}$  für

Nanopartikel mit Radius  $r = 20 \text{ nm}$  <sup>[44]</sup> und  $v_F = 1,4 \cdot 10^6 \text{ m/s}$ , ergibt sich eine maximale Wegstrecke von etwa  $11 \text{ nm}$ . Zur Streuung können daher nur oberflächennahe Elektronen beitragen. Die partikelgrößenabhängige Oberflächendämpfung ergibt sich zu:

$$\Gamma(r) = \Gamma_\infty + \Gamma_{\text{surface}}(r) = \frac{v_F}{l_\infty} + A \cdot \frac{v_F}{r} . \quad (2.12)$$

$A$  ist ein theoretischer Korrekturparameter und beschreibt den Kohärenzverlust durch Streuprozesse <sup>[50, 51]</sup>. Er besitzt Werte in der Größenordnung von  $1$ . Für Silberpartikel liegt  $A$  zwischen  $0,1$  und  $0,7$  <sup>[52]</sup>, während an Gold Nanopartikel, je nach Modellansatz für sphärische Partikel  $A$  zwischen  $0,5 - 1,16$  variiert <sup>[53]</sup>. Werden Oberflächeneffekte in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt, so geht ein Wert von  $A = 1$  in die Rechnungen ein.

Wie sehr die Oberfläche kleiner Nanopartikel auf die Linienbreite Einfluss nimmt, illustriert folgendes Rechenbeispiel: Setzen man für Gold  $l_\infty = 42 \text{ nm}$ ,  $E_F = 5,5 \text{ eV}$ ,  $m^* \sim 0,99$ ,  $m = 9,01 \cdot 10^{-31} \text{ kg}$  und  $A = 1$  ein, so ergibt sich *ohne* Oberflächeneffekte  $\Gamma_\infty = 3,3 \cdot 10^{13} \text{ 1/sec}$  bzw.  $T_\infty = 30 \text{ fs}$ .

Berücksichtigt man nun Oberflächendämpfungen, so liefert Gleichung (2.12) für z.B.  $r = 2,5 \text{ nm}$  eine zusätzliche Streurrate von  $\Gamma_{\text{surface}} = 5,6 \cdot 10^{14} \text{ 1/sec}$  oder  $T_{\text{surface}} = 1,79 \text{ fs}$ ! Im Vergleich zu  $T_2 = 4,6 \text{ fs}$  ist die Oberflächenstreurrate nun der dominierende Dämpfungsprozess.

### 2.1.4 Elektrodynamische und quasistatische Modellierung

Nachdem die optischen Eigenschaften von Nanopartikeln, deren dielektrische Funktion  $\epsilon_{\text{Au-Part}}(\omega)$  und vorhandene Dämpfungsmechanismen erklärt wurden, fehlt noch eine Berechnungsmöglichkeit der optischen Spektren. Hier hat sich die *Mie-Theorie* als äußerst zutreffend bewährt, die von Gustav Mie schon 1908 in ihren wesentlichen Zügen hergeleitet wurde <sup>[54]</sup>. Sie erfasst die Wechselwirkung elektromagnetischer Lichtfelder mit mesoskopischen Partikeln in der Größenordnung der Wellenlänge des einfallenden Lichtes.

Die Mie-Theorie stellt eine spezielle Formulierung der Maxwellgleichungen für sphärische Randbedingungen dar. Die einfallenden elektromagnetischen Felder liegen in Multipolentwicklungen vor. Als Eingabeparameter gehen nur die dielektrischen Funktionen von Partikel und umgebender Matrix sowie die Partikelgröße ein. Partikel und Umgebung werden als optisch lineare, homogene und isotrope Medien angenommen. Die Randbedingung für die Maxwell'schen Gleichungen wird über die Stetigkeitsbedingungen der elektrischen Felder an der Partikeloberfläche festgelegt. Die Oberfläche ist als der Ort definiert, an dem die Elektronendichte  $n$  eine *scharfe Diskontinuität* aufweist, d.h. für  $r > r_{\text{part}}$  instantan auf Null fällt.

Man erhält als Lösung der Maxwell'schen Gleichungen elektromagnetische Felder verschiedener polarer und azimuthaler Ordnung  $L$  und  $M$ . Aus ihnen lassen sich Streu- und Extinktionsquerschnitte ( $\sigma_{\text{sca}}$ ,  $\sigma_{\text{ext}}$ ) sowie die elektrischen Felder im Innen- und Außenraum des Partikels berechnen. Es ergeben sich <sup>[55]</sup>:

$$\sigma_{\text{ext}} = \frac{2\pi}{|k|^2} \sum_{L=1}^{\infty} (2L+1) \text{Re}[a_L + b_L] \quad (2.13)$$

$$\sigma_{\text{sca}} = \frac{2\pi}{|k|^2} \sum_{L=1}^{\infty} (2L+1) [|a_L|^2 + |b_L|^2] \quad (2.14)$$

mit dem Absorptionsquerschnitt:  $\sigma_{\text{abs}} = \sigma_{\text{ext}} - \sigma_{\text{sca}}$

und den Koeffizienten:

$$a_L = \frac{m \psi_L(mx) \psi'_L(x) - \psi_L(x) \psi'_L(mx)}{m \psi_L(mx) \eta'_L(x) - \eta_L(x) \psi'_L(mx)} \quad (2.15)$$

$$b_L = \frac{\psi_L(mx) \psi'_L(x) - m \psi_L(x) \psi'_L(mx)}{\psi_L(mx) \eta'_L(x) - m \eta_L(x) \psi'_L(mx)} \quad (2.16)$$

Hierbei ist  $L$  die Ordnung des Multipols ( $L = 1$  Dipolterm,  $L = 2$  Quadrupol,...),  $\psi_L$  und  $\eta_L$  sind die Riccati-Bessel-Zylinderfunktionen bzw. deren  $\psi'_L$  und  $\eta'_L$  Ableitungen <sup>[56]</sup>,  $m = n_{part}/n_{medium}$  ist das Verhältnis der komplexen Brechungsindizes von Partikel und Medium und  $x = 2\pi r/\lambda$  das Verhältnis von Partikelradius  $r$  zur Wellenlänge des gestreuten Lichtes. Mit  $\varepsilon = n^2$  gehen über die Größen  $m$  und  $x$  die Eigenschaften des Partikels (Radius und dielektrischen Funktion) und die des Umgebungsmediums ein.

Obige Gleichungen gestatten es, die Extinktionsquerschnitte von Gold Nanopartikeln beliebiger Größe zu berechnen, und diese mit experimentellen Daten zu vergleichen. Rechnungen zu den Partikelproben der vorliegenden Arbeit werden mit dem Programm *McMIE*<sup>©</sup> durchgeführt <sup>[57]</sup>. Die untersuchten Gold Nanopartikel befinden sich in wässriger Lösung. Der Brechungsindex von Wasser wird für den sichtbaren Spektralbereich üblicherweise als rein real und konstant zu  $n_{wasser} = 1,33$  angesetzt <sup>[49]</sup>.

Für sehr kleine Partikel kann die Entwicklung für alle höhern Multipole ( $L > 1$ ) abgebrochen werden. Das Ergebnis wird *quasistatische Rayleigh-Näherung* genannt und vernachlässigt eine örtliche Variation des einfallenden elektrischen Feldes innerhalb des Partikels. Als Konsequenz ist die Rayleighsche Näherung nicht in der Lage Retardierungseffekte, also eine Rotverschiebung mit zunehmender Nanopartikelgröße, vorherzusagen. Von der elektrodynamischen Mie-Theorie werden sie jedoch korrekt wiedergegeben.

Inwieweit die dielektrischen Eigenschaften von sphärischen Nanopartikeln zu einer Resonanz in Absorption und Streuung führen, lässt sich anschaulicher in der quasistatischen Dipolnäherung ( $L = 1$ ) nach Rayleigh sehen. Die Näherung greift, wenn  $2r \ll \lambda$ , d.h. das Partikel sehr viel kleiner als die Lichtwellenlänge ist. Mit  $k = \omega/c$ , dem Partikelvolumen  $V_{part} = 4/3 r^3 \pi$  und der komplexen Darstellung der dielektrischen Funktion  $\varepsilon_{part}(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i \varepsilon_2(\omega)$  wird Gleichung (2.13) zu <sup>[47]</sup>:

$$\sigma_{ext, part}(\omega) = -9 \frac{\omega}{c} \varepsilon_{medium}^{3/2} V_{part} \operatorname{Im} \left( \frac{1}{\varepsilon_{part}(\omega) + 2\varepsilon_{medium}} \right) \quad (2.17)$$

$$= 9 \frac{\omega}{c} \varepsilon_{medium}^{3/2} V_{part} \frac{\varepsilon_2(\omega)}{(\varepsilon_1(\omega) + 2\varepsilon_{medium})^2 + (\varepsilon_2(\omega))^2} \quad (2.18)$$

sowie Gleichung (2.14):

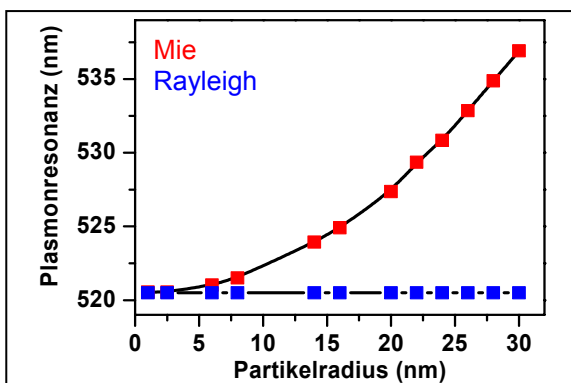
$$\sigma_{sca, part}(\omega) = 9 \frac{\omega^4}{c^4} (V_{part})^2 \left| \frac{\varepsilon_{part} - \varepsilon_{medium}}{\varepsilon_{part} + 2\varepsilon_{medium}} \right|^2 \quad (2.19)$$

Eine Resonanz der Extinktion tritt ein, wenn der Nenner minimal wird. Da  $\varepsilon_2(\omega)$  in der Umgebung der Resonanz klein ist, kann dessen Quadrat in erster Näherung vernachlässigt werden <sup>[36]</sup>. Die Resonanzbedingung für die Dipolmode des Plasmons vereinfacht sich zu:

$$\left| \varepsilon_{part}(\omega) + 2\varepsilon_{medium} \right| = \text{Minimum} \Rightarrow \varepsilon_1(\omega_{sp}) \approx -2\varepsilon_{medium} \quad (2.20)$$

Verwendet man von Beginn an einen *elektrostatischen* Ansatz, so führt dies zum gleichen Ergebnis. Es ist das klassische Beispiel einer dielektrischen Kugel, welches durch ein *zeitlich konstantes* externes Feld ein inneres, induziertes Feld erfährt. Die Rechnungen führen auf die Clausius-Mossotti-Relation, welche die atomare Polarisierbarkeit mit der makroskopischen, dielektrischen Funktion verbindet. Die Realisierung eines oszillierenden Dipols (= Zeitabhängigkeit), und damit der Fähigkeit zu streuen bzw. strahlen, wird erst nachträglich hinzugefügt. Verwendet man noch die allgemeinen Formeln für Streu- und Absorptionsquerschnitte, so folgt ebenfalls Gleichung (2.18) und (2.19) <sup>[55]</sup>.

Abbildung 2.4 vergleicht die elektrodynamische Mie-Theorie gegen die quasistatische Rayleigh-Näherung. Aufgetragen sind die berechneten spektralen Maxima der Plasmonresonanz gegen den Partikelradius. Die Nanopartikel befinden sich in wässriger Umgebung. Wie man sehen kann, ist die Rayleigh-Näherung nicht in der Lage die Rotverschiebung der Resonanz mit ansteigender Partikelgröße zu erfassen. Dieses Ungenügen des elektrostatischen Modells wird uns nochmals bei der Diskussion der Ergebnisse von Kapitel 5 begegnen.



**Abb. 2.4** Der quasistatische Ansatz von Rayleigh kann, im Gegensatz zur elektrodynamischen Mie-Theorie, die Rotverschiebung der Plasmonresonanz mit ansteigender Partikelgröße nicht erfassen.

## 2.2 Optische Eigenschaften organischer Moleküle

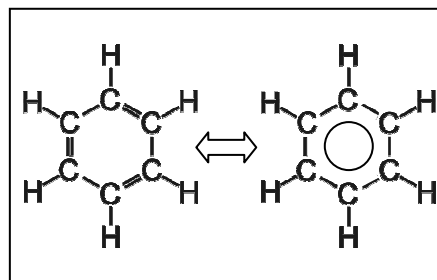
In diesem Unterkapitel wird auf die Struktur homozyklischer Ringverbindungen aus Kohlenstoffatomen eingegangen, da es das Bauprinzip fast aller organischen Farbstoffe darstellt. In derartigen Ringen lässt sich nicht mehr jedes Elektronenpaar einer Bindungsgruppe zuordnen. Diese sogenannten delokalisierten  $\pi$ -Elektronen sind für die optischen Eigenschaften von Farbstoffmolekülen im sichtbaren Spektralbereich verantwortlich. Nach einer Diskussion der Absorptions- und Emissionsspektren von Molekülen werden die zentralen Begriffe wie Raten, Zerfallzeiten und Quantenausbeute eingeführt.

### 2.2.1 $\pi$ -konjugierte Elektronensysteme von Molekülen

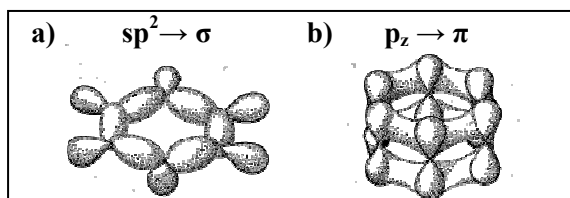
Die zentralen Bestandteile aromatisierter, organischer Moleküle in homozyklischen Ringverbindungen sind Kohlenstoff (C) und Wasserstoff (H). Das bekannteste Beispiel ist der Benzolring (Abb. 2.5). Da die verwendeten Farbstoffe in dieser vorliegenden Arbeit, vereinfacht betrachtet, aus Zusammenschlüssen mehrerer Benzolringe bestehen, sei am Benzol die Delokalisierung der  $\pi$ -Elektronen exemplarisch erklärt.

Der Benzolring besteht aus sechs gleichwertigen CH-Gruppen, welche zu einem planaren Sechseck angeordnet sind. Bei Benzol lassen sich nicht mehr alle Elektronen eindeutig einer bestimmten Bindung zwischen zwei Atomen zuordnen.

Von den vier Valenzelektronen eines C-Atoms bindet eines kovalent an das H-Atom, zwei weitere gehen als  $sp^2$ -Hybride mit den unmittelbaren C-Nachbarn Bindungen ein. Diese drei sogenannten  $\sigma$ -Bindungen liegen in einer Ebene, sind lokalisiert und maßgeblich für die sterische Struktur des Moleküls verantwortlich (Abb. 2.6). Eine Hybridisierung bedeutet, dass mit der chemischen Verbindung eine Umordnung der Elektronen des C-Atoms von  $2s^2 2p^2$  zu  $2s 2p^3$  verbunden ist<sup>[58]</sup>.



**Abb. 2.5** Die Strukturformel von Benzol ( $C_6H_6$ ). Die alternierenden Einfach- und Doppelbindungen symbolisieren die delokalisierten Elektronen. Alternativ und auch sinnvoller ist die Darstellung eines Kreises für die  $\pi$ -Elektronen.



**Abb. 2.6** a) Räumliche Ausdehnung der  $\sigma$ -Orbitale. Sie sind vornehmlich für die strukturelle Stabilität des Moleküls verantwortlich. b) Räumliche Ausdehnung der  $\pi$ -Orbitale, die das delokalisierte  $\pi$ -System bilden und das Molekül zusätzlich stabilisieren<sup>[58]</sup>.

Die verbleibenden sechs Elektronen des Ringes besetzen die  $2p_z$ -Orbitale, welche senkrecht zur Ebene der  $\sigma$ -Bindungen stehen. Die  $p_z$ -Elektronen bilden zusätzliche  $\pi$ -Bindungen aus, so dass der Benzolring aus alternierenden Einfach- und Doppelbindungen besteht. Die  $\pi$ -Elektronen sind nur schwach gebunden und bilden ein gemeinsames Molekülorbital, dessen Wellenfunktion über den gesamten konjugierten Ring delokalisiert ist.

### 2.2.2 Elektronische und vibronische Zustände

Die elektronischen Zustände von mehratomigen Molekülen können mit einer linearen Überlagerung von Atomorbitalen (*LCAO*, engl. *Linear Combination of Atomic Orbitals*) approximiert werden. Für das Molekül wird ein Hamiltonoperator angesetzt, der die kinetische Energie der beteiligten Elektronen und Kerne beschreibt, als auch Terme für die elektrostatischen Wechselwirkungen enthält.

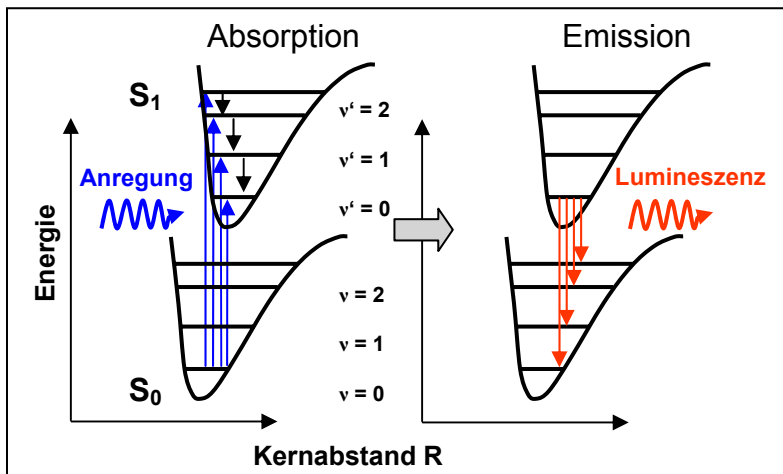
Ansätze dieser Art sind meist komplizierte Mehrkörperprobleme und lassen sich nicht mehr analytisch lösen. Man greift daher auf Näherungsmethoden zurück, um die Wellenfunktionen und Energieeigenwerte für das gesuchte Molekül zu bestimmen. Die Born-Oppenheimer-Näherung erlaubt hierbei eine Simplifizierung des Systems. Da die Kerne um mehr als drei Größenordnungen schwerer als die Elektronen sind, bewegen sie sich vergleichsweise langsam und können als statisch betrachtet werden. Dies gestattet eine Auftrennung der Gesamtwellenfunktion in die von Elektronen und Kernen. Die Energie des Systems wird mit einer geeigneten Start- bzw. Testfunktion nach der Ritzschen Variationsmethode minimiert<sup>[59]</sup>. Geeignet bedeutet, dass die Testfunktion Parameter enthält, die derart gewählt werden, damit die rechnerisch ermittelte Energie der tatsächlichen Energie (z.B. bekannt aus Experimenten) möglichst nahe kommt<sup>[60]</sup>. Man erhält auf diese Weise die elektronischen Energiezustände des Moleküls.

Ein elektronischer Übergang ist gleichbedeutend mit einer Ladungsumverteilung innerhalb der Molekülstruktur. Die Kerne erfahren eine Änderung in den wirkenden Coulombkräften und beginnen um

ihre Gleichgewichtslagen zu schwingen. Als Konsequenz ist jeder elektronische Übergang von einer Aufspaltung der Energiezustände begleitet, welche durch die Schwingungen des Atomkernes hervorgerufen wird. Dieser gegenseitige Einfluss von Kern und Elektronen wird durch die Einführung eines effektiven Potentials, welches von den Elektronen hervorgerufen wird und auf die Kerne wirkt, erfasst. Das Potential ist für jede elektronische Anregung verschieden.

In Absorptions- und Emissionsmessungen zeigt sich deshalb neben dem reinen elektronischen Übergang noch eine Vielzahl vibronischer Seitenbanden. Abbildung 2.7 illustriert die Potentialkurven der elektronischen Zustände des Singulett-Grundzustandes ( $S_0$ ) und des ersten angeregten Zustandes ( $S_1$ ). Die Schwingungsmoden des Kernsystems innerhalb der Potentiale sind mit  $v$  und  $v'$  gekennzeichnet. Die Intensität der einzelnen Übergänge wird durch das Franck-Condon-Prinzip (FCP) erklärt, bei der die Übergangswahrscheinlichkeit durch das Absolutquadrat des Überlappintegrals von Kernwellenfunktion des Grundzustandes (Anfangszustand) und angeregten Zustandes (Endzustand) bestimmt wird <sup>[61]</sup>. Das FCP nimmt die die elektronischen Übergänge als stets vertikal an. Das ist eine unmittelbare Folgerung aus der Born Oppenheimer Näherung: Wegen der obig erwähnten Massenunterschiede zwischen Kern und Elektronen kann während der Elektronenanregung der mittlere Abstand der Kerne als konstant gesehen werden.

Der  $S_1$ -Zustand ist gegenüber dem  $S_0$ -Zustand weniger stark gebunden, d.h. der Kernabstand in  $S_1$  ist etwas größer und die Potentialkurve in Abbildung 2.7 erscheint leicht nach rechts verschoben. Der Überlapp der Wellenfunktionen ist dadurch besonders hoch für höhere vibronische Banden  $S_{1,v'=n}$ . Die Relaxation aus den höheren Schwingungszuständen (*IC, engl. Internal Conversion*) in die entsprechenden Grundzustände  $v_0$  und  $v'_0$  ist jedoch derart schnell (*100 fs*), dass Absorption und Emission stets von dort stattfinden <sup>[62]</sup>. Eine weitere Konsequenz davon ist die Unabhängigkeit der Emission von der Anregungswellenlänge.



**Abb. 2.7** Molekulare potentielle Energie des Singulett Grundzustandes  $S_0$  und des ersten angeregten Zustandes  $S_1$  als Funktion des Kernabstandes. Übergänge in Absorption (blau) und Emission (rot) sind als Pfeile angedeutet. Die vibronischen Zustände der Kerne sind mit  $v$  gekennzeichnet. Nach Relaxation in den  $S_1$ -Grundzustand (schwarze Pfeile) relaxiert die Anregung unter Emission eines Photons in die Schwingungsbanden des  $S_0$ -Grundzustandes zurück.

Abbildung 2.8 zeigt das Absorptions- und Emissionsspektrum sowie die chemische Struktur von Lissamin, eines der Farbstoffe, welche in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden. Die vibronischen Seitenbanden sind deutlich zu erkennen. Bei Lissamin sind die  $\pi$ -Elektronen über drei Ringverbindungen delokalisiert. Je größer diese Konjugationslänge, umso geringer wird der energetische Abstand zwischen den  $\pi$ -Orbitalen. Die bei ursprünglich  $\sim 250 \text{ nm}$  im Ultravioletten vorhandene Absorption eines einzelnen Benzolringes verschiebt sich dadurch ins niederenergetische sichtbare Spektrum. Eine Veranschaulichung ist die Analogie zu den Energieniveaus eines Elektrons im Quantentopf, deren Abstände ebenfalls mit ansteigender Topfbreite (Delokalisierung) abnehmen.

Die spektrale Verschiebung zwischen der Absorption von  $S_0, v = 0$  und der Emission  $S_1, v = 0$  wird als *Stokes-Verschiebung* bezeichnet. Die Kerne werden zwar während der Absorption eines Photons als fest positioniert angesehen, vor der Emission stellt sich aber eine intramolekulare strukturelle Ladungsreorganisation ein, welche die Energie des Moleküls leicht absenkt. Wie stark die spektrale Verschiebung auftritt, hängt auch von der Polarisierbarkeit des Lösungsmittels ab, dessen Dipole sich ebenfalls an die geänderten Ladungsverteilungen des Moleküls anpassen <sup>[62]</sup>. Die Abregung der vibronischen Zustände führt zu einer weiteren spektralen Verschiebung (schwarze Pfeile, Abb. 2.7).

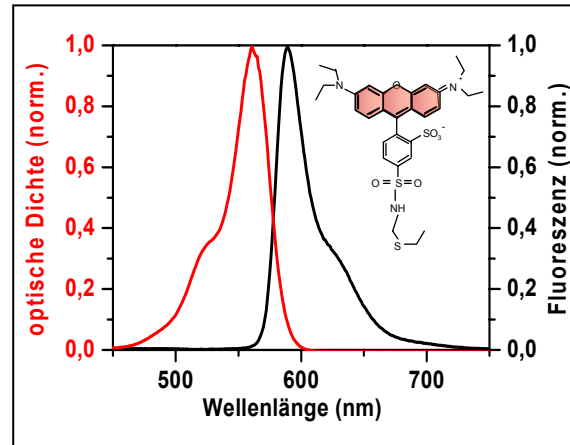


Abb. 2.8 Das Absorptions- und Emissionsspektrum von Lissamin (normiert), sowie dessen chemische Struktur mit dem  $\pi$ -System (rot).

Prinzipiell gibt es für den angeregten  $S_1$ -Zustand die Möglichkeit, in den energetisch etwas niedriger liegenden angeregten Triplett-Zustand  $T_1$  zu wechseln (*ISC, engl. intersystem crossing*). Dies ist eigentlich verboten, da Übergänge nur zwischen Zuständen gleicher Multiplizität ( $\Delta S = 0$ , Spinerhaltung) erlaubt sind. Eine starke Spin-Bahnkopplung, wie beispielsweise durch eingebettete Schwermetalle, ermöglicht jedoch eine Spinumkehr und lockert das Interkombinationsverbot etwas. Im Gegensatz zur Singulett-Emission, welche auf einer Zeitskala von Nanosekunden stattfindet, können Triplett-Anregungen bis zu einigen *100 sec* anhalten, da für die Emission ein nochmaliger Spinflip in den  $S_0$ -Grundzustand nötig ist. Die verwendeten Farbstoffe besitzen eine vernachlässigbare Spin-Bahn-Kopplung. Auf Triplett-Zustände wird daher im Folgenden nicht mehr eingegangen.

### 2.2.3 Zerfallsraten und Quantenausbeute

Durch die Absorption eines Photons befindet sich das Molekül im angeregten Zustand. Für eine Abgabe der Energie stehen ihm zwei Möglichkeiten offen: entweder durch einen *strahlenden Zerfall* (Emission eines Photons) oder durch einen *nichtstrahlenden Zerfall* (Relaxation in den Grundzustand ohne Photonemission). Beispiele für nichtstrahlende Zerfallskanäle sind die Photodissoziation, die innere Umwandlung der Energie durch Schwingungen, die Interkombination sowie der Energieübertrag auf Nachbarmoleküle (oder ein metallisches Nanopartikel).

Die Abklingdauer der Fluoreszenz wird von *allen* Zerfallsmöglichkeiten bestimmt, welche auf den angeregten Zustand wirken. Sie wird entweder als *Lebensdauer* oder *Zerfallszeit*  $\tau_{flu}$  (Abfall auf  $1/e$ ) bzw. durch ihren Kehrwert als *Zerfallsrate*  $R_{flu}$  (Zahl der Ereignisse pro Sekunde) beschrieben.

Die strahlende Rate  $R_{rad}$  umschreibt die Zahl emittierter Photonen pro Zeiteinheit in Abwesenheit strahlungsloser Prozesse. Dessen Kehrwert wird häufig auch als natürliche Lebensdauer  $\tau_n$  bezeichnet.  $R_{nonrad}$  ist entsprechend die Summe aller nichtstrahlenden Zerfallskanäle.

$N_0$  sei die Zahl der Moleküle im  $S_1$ -Zustand, angeregt durch einen Laserpuls. Da unabhängige Wahrscheinlichkeiten additiv sind, wird die Population des angeregten Zustands als Funktion der Zeit  $N = N(t)$  mit einer *Gesamtrate* von  $R_{flu} = R_{rad} + R_{nonrad}$  entleert:

$$dN(t) = -R_{flu} \cdot N(t) dt \quad \Rightarrow \quad N(t) = N_0 \cdot \exp(-R_{flu} \cdot t) \quad (2.21)$$

Die Intensität der Fluoreszenz  $I(t)$  zu einer beliebigen Zeit  $t$  ergibt sich dann aus dem Produkt der noch vorhandenen Moleküle  $N(t)$  und der Rate  $R_{rad}$  für eine Photonenemission zu

$$I(t) = R_{rad} \cdot N(t) = R_{rad} \cdot N_0 \exp(-R_{fluo} \cdot t). \quad (2.22)$$

Man sieht, dass die Fluoreszenzlebensdauer eines Ensembles von einer Molekülsorte mit *ein und demselben* angeregten Zustand unabhängig von der Anzahl und der Art der Zerfallkanäle ist, und *immer* einer *einfachen* Exponentialfunktion folgt. Abweichungen hiervon deuten meist auf die gleichzeitige Emission aus verschiedenen Zuständen, z.B. hervorgerufen durch Inhomogenitäten in der Moleküllösung (z.B. Dimerisierung), oder auf das Vorhandensein unterschiedlicher Randbedingungen (z.B. freie vs. gebundene Moleküle) hin. Ein bekanntes Beispiel ist das GFP (*engl. green fluorescent protein*), welches nach einer optischen Anregung in zwei Strukturen vorliegt. Die Emission beider Spezies führt zu einem zweifach-exponentiellen Zerfall <sup>[63]</sup>.

Als Quantenausbeute oder Quanteneffizienz  $QE$  (oft auch  $\eta$ ) bezeichnet man jenen Anteil der Moleküle, welcher strahlend zerfällt. Man erhält die  $QE$  aus dem Quotienten von strahlender Rate zur Gesamtrate:

$$QE = \eta = \frac{R_{rad} N dt}{R N dt} = \frac{R_{rad}}{R_{rad} + R_{nonrad}} = \frac{R_{rad}}{R_{fluo}}. \quad (2.23)$$

Die Quantenausbeute umschreibt das Verhältnis zwischen absorbierten und emittierten Photonen. Hat ein Molekül keinerlei strahlungslose Konkurrenzprozesse, so ist  $QE = 1$ .

Abschließend sei nochmals bemerkt, dass die experimentelle Messung der Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_{fluo}$  die Dynamik *aller* Zerfallskanäle beinhaltet:

$$\tau_{fluo}^{-1} = R_{fluo} = R_{rad} + R_{nonrad} \quad (2.24)$$

Erst die Kenntnis der  $QE$  gestattet die Aufschlüsselung in die Subprozesse, welche die Anregung entweder strahlend oder strahlungslos vernichten. Typische Farbstoffmoleküle besitzen eine natürliche Lebensdauer  $\tau_n = R_{rad}^{-1} \approx 5 \text{ ns}$ . Durch nichtstrahlende Prozesse kann die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_{fluo}$  zum Teil erheblich kürzer sein.

Im anschließenden Kapitel 2.3 beschäftigen wir uns mit dem Phänomen, dass metallische Oberflächen und insbesondere metallische Nanopartikel die Fluoreszenz von Molekülen durch das Öffnen eines strahlungslosen Zerfallskanals unter geeigneten Bedingungen beinahe vollständig auslöschen können.



### 2.3 Interaktionen zwischen Metallen und organischen Molekülen

Farbstoffe können durch Wechselwirkung mit anderen Molekülen oder metallischen Oberflächen in ihren optischen Eigenschaften (Fluoreszenzintensität und –lebensdauer) stark beeinflusst werden. Der Gedanke, diese Änderung der molekularen Fluoreszenz *kontrolliert* zu manipulieren, beschäftigt Wissenschaftler nun bald seit einem halben Jahrhundert.

Da die Änderung der molekularen Fluoreszenz unter anderem eine strenge Funktion des gegenseitigen Abstandes ist, lassen sich Farbstoffe beispielsweise als Sensoren in der Nanometerwelt einsetzen. Derartige *molekulare Reporter* erlauben anhand der geänderten optischen Eigenschaften Rückschlüsse auf strukturelle Änderungen einer Probe zu ziehen, insbesondere wenn es sich nur um wenige Nanometer handelt.

Zur Manipulation gehören aber stets zwei Beteiligte: Der *Manipulator* und der *Manipulierte*. Deren Interaktion basiert häufig auf einer *strahlungslosen*, dipolinduzierten Kopplung, die zu einem Energieübertrag (*ET*, *Energie-Transfer*) zwischen beiden führt. Abhängig davon, wer die Energie verliert oder erhält, verwendet man die Bezeichnungen *Donor* und *Akzeptor*.

Das Prinzip der dipolinduzierten, strahlungslosen Kopplung zwischen zwei Farbstoffen ist seit langem bekannt. Sie beschreibt erfolgreich die Wechselwirkung zwischen zwei Molekülen und geht in ihrer ursprünglichen Modellierung auf die Arbeiten von Theodor Förster im Jahre 1948 zurück<sup>[3, 64]</sup>. Das Modell wird als *FRET* (*engl. Förster Resonance Energy Transfer*) oder *Förster-Transfer* bezeichnet.

Inwieweit Farbstoffe mit metallischen Filmen interagieren, ist auch intensiv untersucht und modelliert worden<sup>[65-68]</sup>. Die Modellierung solcher Systeme unterscheidet sich zwar von FRET, doch konnte sie ebenfalls auf eine Dipol-Dipol-Kopplung zurückgeführt werden. Der molekulare Dipol verliert einen Teil seiner Anregungsenergie strahlungslos an seinen im Metall induzierten *Spiegel-Dipol*.

Weit weniger experimentelle Ergebnisse existieren hinsichtlich der Kopplung von Farbstoffen, welche an die Oberfläche von *metallischen Nanopartikeln* gebunden sind. Insbesondere fehlen hierbei Untersuchungen, in denen zur Klärung der zugrunde liegenden Physik stets nur ein Parameter (Abstand, Partikelgröße...) systematisch variiert wird. Wir werden in dem Kapitel sehen, dass seitens der Modellierung eines Hybridsystems, bestehend aus metallischem Nanopartikel und Farbstoff, dieses eine Art mittlere Position zwischen Farbstoff-Farbstoff- und Farbstoff-Metallfilm-Systemen einnimmt.

Die Wechselwirkung von Farbstoffen mit metallischen Oberflächen, seien es Filme oder Partikel, ist mannigfaltig. So kann der Farbstoff in seiner strahlenden und/oder nichtstrahlenden Rate stark beeinflusst werden. Seine Fluoreszenz kann nicht nur durch die Präsenz des Metalls abgeschwächt, sondern auch genau entgegengesetzt, verstärkt werden. Die Änderungen machen sich in der Zerfallsdynamik des Moleküls bemerkbar. Zeitaufgelöste Messungen an solchen Hybridsystemen sind daher unverzichtbar, denn nur diese können geänderte Zerfallsraten erfassen und erlauben somit Rückschlüsse auf die verantwortlichen physikalischen Prozesse.

Es ist daher am instruktivsten sich zunächst einen Überblick darüber zu verschaffen, *wann, wieso und warum* eine Fluoreszenz-Auslöschung oder –Erhöhung auftreten kann, und auf welche Weise sich dies in der Lebensdauer des Emitters niederschlägt (Kap. 2.3.1). Um ein besseres Verständnis für die Nanopartikel-Farbstoff Systeme zu gewinnen, werden dessen Grenzfälle kurz beleuchtet (aus pragmatischen Gründen wird im Folgenden das Partikel-Farbstoff System nur als Hybridsystem bezeichnet):

- a) Partikel ist unendlich *klein* = FRET als Kopplung von *Punkt dipolen* (Kap. 2.3.2)
- b) Partikel ist unendlich *groß* = Farbstoff befindet sich auf *Metallfilm* (Kap. 2.3.3)

Kapitel 2.3.4 beschäftigt sich mit der Modellierung der Hybridsysteme. Diese basiert auf den Arbeiten von Gerten und Nitzan und geht von einem *quasistatischen* Ansatz aus. Es hat sich gezeigt, dass die meisten Eigenschaften richtig vorhergesagt werden. Für eine vollständige Beschreibung wäre jedoch ein *elektrodynamischer* Ansatz notwendig, der zudem *nichtlokale* Effekte in unmittelbarer Nähe des Nanopartikels berücksichtigt. Wir werden diese Aspekte in Kapitel 2.3.5 etwas genauer behandeln.

Es sei daran erinnert, dass uns in Kapitel 2.1.4 bei der Modellierung der optischen Eigenschaften von Gold Nanopartikeln die gleiche Problematik begegnet ist. Erst die elektrodynamische Mie-Theorie konnte Vorhersagen für Nanopartikel treffen, welche der quasistatischen Rayleigh-Näherung verwehrt blieben. In Kapitel 2.3.6 wird abschließend ein möglicher Konkurrenzprozess, der Ladungstransfer (*CT*, engl. *charge transfer*), diskutiert, da dessen Einfluss auf die Fluoreszenzlebensdauer des Moleküls dem eines Energie-Transfers sehr ähnlich sein kann.

### 2.3.1 Auslöschung oder Erhöhung der Fluoreszenz?

Ob die Fluoreszenzlebensdauer und -intensität eines Farbstoffes sich durch die unmittelbare Nähe einer metallischen Oberfläche erhöht oder absenkt, hängt im Wesentlichen von der Geometrie des Metalls, dem Molekül-Metallabstand, der Anregewellenlänge sowie der relativen spektralen Lage von Absorption und Emission des Farbstoffes zur Extinktion des Metalls ab. In Abhängigkeit dessen können *Absorptionsrate*, *nichtstrahlende* oder *strahlende* Rate des Moleküls starken Änderungen unterliegen <sup>[69]</sup>.

**Absorptionsrate:** Die Fluoreszenz von Molekülen kann durch eine lokale Feldüberhöhung des einfallenden Lichtes in der Nähe des Partikels verstärkt werden. Wegen der annähernd harmonischen Rückstellkräfte des Ionengitters konnte das Plasmon als ein vom Lichtfeld ( $E = E_0 \cdot e^{i\omega t}$ ) getriebener, jedoch durch Streuprozesse  $\Gamma$  gedämpfter, harmonischer Oszillator betrachtet werden (Kap. 2.1.3). Durch die periodische Ladungsverschiebung der Elektronen baut sich im Partikel ein internes Feld  $E_i(\omega)$  auf. Das resultierende Gesamtfeld  $E_{lok}(\omega) = E_i(\omega) + E_0$ , welches in der unmittelbaren, lokalen Umgebung des Partikels herrscht, wird *lokales Feld* genannt. Wie bei jedem Oszillator wird auch die Amplitude des internen Feldes *maximal*, wenn die Frequenz des Lichtfeldes  $\omega$  der Eigenfrequenz  $\omega_0$  des ungedämpften Oszillators entspricht. Für schwache Dämpfungen ( $\varepsilon_2(\omega)$  klein) gilt  $\omega_{max} \sim \omega_0$ . Die Größe

$$A(\omega) = E_{lok}(\omega)/E_0 \quad (2.25)$$

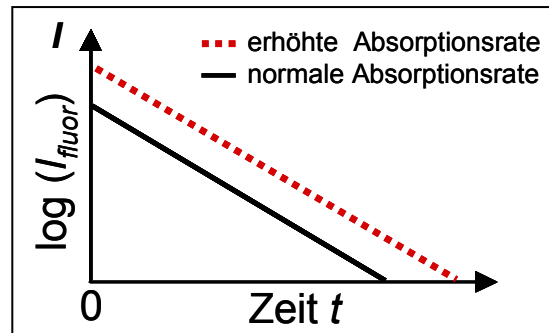
ist der *Verstärkungsfaktor* und beschreibt die lokale Feldamplitudenüberhöhung auf der Oberfläche des Partikels gegenüber der Amplitude des einfallenden Lichtfeldes. Je geringer die Dämpfung, umso höher ist die Verstärkung, bis hin zur Resonanzkatastrophe. Der Verstärkungsfaktor  $A(\omega)$  ist gleichbedeutend mit dem Gütefaktor  $Q$ , der sich aus dem Verhältnis der spektralen Resonanzlage zur Linienbreite bestimmt <sup>[70]</sup>:

$$Q = \omega_0 / \Gamma \quad (2.26)$$

Bei resonanter Anregung agiert das Plasmon also wie ein lokaler *Nano-Verstärker* des einfallenden Lichtfeldes. Befindet sich nun ein Farbstoff in der Nähe des Partikels, so führt dies zu einer erhöhten *Absorptionsrate* (engl. *enhanced absorption*) und einer entsprechend verstärkten Fluoreszenz.

Dabei wird nur die Intensität der Fluoreszenz  $I_{fluor}$  erhöht, die strahlenden und nichtstrahlenden Raten und damit die Lebensdauer und Quantenausbeute bleiben *unverändert* (Abb. 2.9) <sup>[69]</sup>.

Experimentell konnte gezeigt werden, dass der Gütefaktor einzelner, sphärischer Gold Partikel geringe Werte  $Q \sim 7 - 12$  einnimmt <sup>[40, 44]</sup>. Dies ist in gutem Einklang mit Modellierungen, die an einzelnen, sphärischen Partikeln ebenfalls eine geringe Verstärkung vorhersagen <sup>[71-74]</sup>. So würde aber die Einzelmolekülspektroskopie auf metallischen Oberflächen <sup>[75-81]</sup> oder auch fluoreszenzbasierte Analysemethoden im Bereich der Biotechnologie <sup>[82-84]</sup> von einer erhöhten Fluoreszenz durch lokal verstärkte Felder profitieren. Ebenso nichtlineare Prozesse wie z.B. oberflächenverstärkte Ramanstreuung (*SERS, engl. surface enhanced raman scattering*) <sup>[85-95]</sup>, Erzeugung höherer harmonischer Oberwellen <sup>[96, 97]</sup> und 2-Photonen-induzierte Fluoreszenz <sup>[96, 98, 99]</sup>.



**Abb. 2.9** Ist das Plasmon resonant angetrieben, so führt das lokal verstärkte Nahfeld am Orte des Partikels zu einer erhöhten Absorptionsrate. Da laut Annahme die intrinsischen Raten des Moleküls unverändert bleiben, zeigt sich in zeitaufgelösten Messungen nur eine angestiegene Fluoreszenzintensität  $I_{fluor}$  (gestrichelt) gegenüber derjenigen ohne Feldüberhöhung (durchgezogen). Die Lebensdauer bleibt unverändert.

Theoretische Modellierungen zeigen, dass der Feldverstärkungsfaktor stark von der Geometrie der metallischen Oberfläche abhängig ist. Auf Metallfilmen mit submikroskopischer Rauigkeit (sogenannte Metallinsel-Filme) werden bei einer resonanten plasmonischen Anregung Verstärkungsfaktoren von bis zu  $A(\omega_{plasmon}) = 10^4$  vorhergesagt <sup>[14, 100-108]</sup>. Die Rauigkeit gibt Anlass zu starken Oberflächenkrümmungen. Man kann hier eine einfache Analogie zu hohen elektrischen Feldern an metallischen Spitzen in Abhängigkeit ihrer Oberflächenkrümmung sehen.

Derartige Insel-Oberflächen können als eine irreguläre Anordnung unterschiedlich großer, sphärischer und ellipsoider Nanopartikel betrachtet werden, deren einzelne Plasmonresonanzen je nach intermediärem Abstand zwischen den Partikeln in entsprechend starke dipolare Wechselwirkungen treten <sup>[74]</sup>. Unter bestimmten Herstellungsbedingungen bilden sich örtlich fraktale Anordnungen von Partikeln, welche zur Ausbildung von *lokalisierten Plasmonen* führen. Die damit verbundenen lokalen Felder werden wegen ihrer extremen Stärke als *hot spots* bezeichnet <sup>[109, 110]</sup>. Eine Fluoreszenzverstärkung von Molekülen an Silber- und Gold-Inselfilmen durch eine *Erhöhung der Absorptionsrate* konnte experimentell schon gezeigt werden. Die Verstärkung lag jedoch weit unter den theoretischen Vorhersagen von mehreren Größenordnungen <sup>[77, 111-114]</sup>. Auch die Existenz von *hot spots* wurde mit SNOM-Messungen (*engl. scanning near field optical microscopy*) auf rauen Metallfilmen nachgewiesen <sup>[115]</sup>.

**Nichtstrahlende Rate:** Bei der Fluoreszenz von Molekülen in der Nähe metallischer Filme wurde nachgewiesen, dass es für die Verstärkung einen optimalen Abstand gibt <sup>[69, 111, 114, 116, 117]</sup>. Die Ursache findet sich darin, dass neben der *Fluoreszenzverstärkung* ein weiterer, konkurrierender Prozess wirkt, der jedoch *strahlungslos* zu einer *Fluoreszenzauslöschung* führt, aber dessen Einfluss mit dem Abstand stärker abfällt.

Die Auslöschung rührt daher, dass der angeregte, molekulare Dipol im Metallfilm Elektronenoszillationen induziert, die in erster Ordnung wieder als Dipol beschreibbar sind. Das Metall wirkt also als Akzeptor in einem Energie-Transfer Prozess *ET*. Im Rahmen dieser Dipol-Dipol-Wechselwirkung öffnet sich ein *zusätzlich wirkender strahlungsloser Zerfallskanal*  $R_{nonrad}$  und entzieht dem Molekül einen Teil seiner Anregung.

Unter der Annahme, dass die strahlende Rate unverändert bliebe, würde sich wie in Abbildung 2.10 zu sehen, die Lebensdauer des Farbstoffes durch einen *ET* verkürzen und die *QE* sinken (Verhältnis der Flächen unter den Kurven). Ein optimaler Abstand zwischen Metall und Farbstoff für maximale Verstärkung ist demnach ein Resultat unterschiedlicher Abstandsabhängigkeiten von fluoreszenzlöschenden und -verstärkenden Prozessen. So fällt auf *rauen Metallfilmen* die Verstärkung *A* schwächer ab als der *ET* und besitzt damit eine größere Reichweite. Der Energie-Transfer *ET* ist also nur auf kürzeren Abständen dominant ( $d < 15 \text{ nm}$ )<sup>[71]</sup>:

$$A \propto (d + r_m)^{-3} \quad \text{und} \quad ET \propto (d)^{-3} \quad (2.27)$$

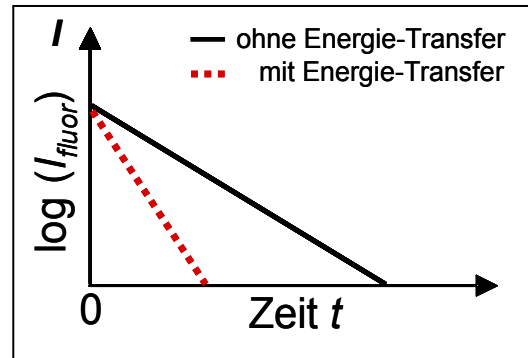
*d* ist hierbei der Abstand zwischen Molekül und Film und *r<sub>m</sub>* der *mittlere* Radius eines Partikels vom Inselfilm. Während die Feldverstärkung über die Radien von der Oberflächenkrümmung abhängt, zeigt der *ET* eine reine Abstandsabhängigkeit, da das Molekül unter dem Einfluss einer Vielzahl ihn umgebender, unterschiedlich großer Partikel steht. Das Verhalten gleicht daher eher der Situation eines kontinuierlichen Metallfilmes, als der von einzelnen Partikeln (Kap. 2.3.3). Nach Gleichung (2.27) wäre bei einem mittleren Partikelradius von beispielsweise  $r_m = 2,5 \text{ nm}$  der *ET* bei  $d = 1 \text{ nm}$  noch ein Faktor  $\sim 43$  größer als *A*, für  $d = 15 \text{ nm}$  aber gerade nur noch  $\sim 1,6$  *fach* höher.

Die Modellierung für ein *einzelnes* Partikel hingegen zeigt einen vom Partikelradius stark abhängigen, strahlungslosen Energie-Transfer *ET* (Kap. 2.3.4). Er variiert zwischen den Extremsituationen eines Punktdipols ( $r = 0$ ) und eines kontinuierlichen Metallfilmes ( $r = \infty$ )<sup>[14]</sup>:

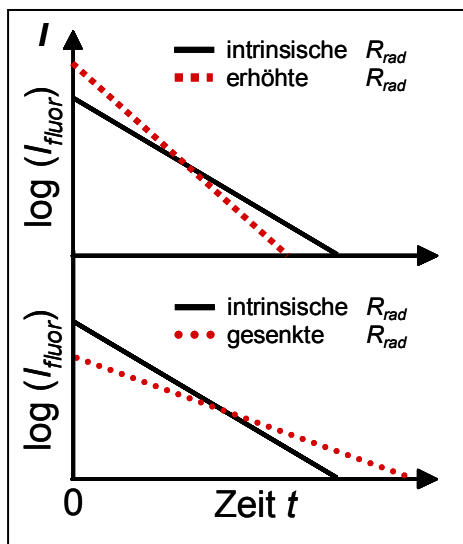
$$ET \rightarrow (d)_{\text{Au-groß}}^{-3} \quad \text{und} \quad ET \rightarrow (d)_{\text{Au-klein}}^{-6} \quad (2.28)$$

Für größtmögliche Fluoreszenzverstärkung muss das Partikelplasmon bei  $\omega_{\text{plasmon}}$  durch den Laser resonant angeregt werden. Fällt jedoch  $\omega_{\text{plasmon}}$  mit der *Emission*  $\omega_{\text{molekül}}$  des Farbstoffs spektral zusammen, so wird gleichzeitig der Energie-Transfer effizient der Verstärkung entgegenwirken. Denn eine Maximierung des Gesamtdipolmomentes, also der Strahlungsleistung von Partikel und Farbstoff bei  $\omega_{\text{molekül}}$  (Kap. 2.3.4), geht stets einher mit der gleichzeitigen Maximierung der Energie-Transferverluste zum Partikel<sup>[72]</sup>. Für eine optimale Fluoreszenzerhöhung sollte die spektrale Überlappung der Plasmonresonanz nicht mit der Farbstoffemission, sondern mit dessen Absorption vorliegen. Das konnte auch experimentell bestätigt werden<sup>[69, 96, 118]</sup>.

**Strahlende Rate:** Neben der Lebensdauerverkürzung des Moleküls durch einen additiven, strahlungslosen Zerfallskanal  $R_{\text{nonrad}}$  (Energie-Transfer), oder der Erhöhung der Gesamtintensität eines Zerfalls bei unveränderter Lebensdauer (verstärkte Absorptionsrate), kann das Molekül auch in seiner *strahlenden Rate*  $R_{\text{rad}}$  beeinflusst werden. Das vom Molekül im Partikel induzierte Plasmon entzieht dem Molekül nicht nur Energie (*ET*), sondern beginnt als *eigenständiger Oszillator bei der gleichen Wellenlänge*  $\lambda_{\text{molekül}}$  zu oszillieren (strahlen). Das Partikel *antwortet* damit auf der gleichen Frequenz. Es liegt die Situation zweier, fast ortsgleicher Emittanten, mit identischer Frequenz  $\nu_{\text{molekül}}$  vor. Das Maß der gegenseitigen Beeinflussung hängt von den Dipolübergangsmomenten  $\mu$  des Partikels und Moleküls sowie vom Abstand ab. Je nach Phasenverschiebung zwischen den beiden Antennen kann sich die strahlende Rate erhöhen oder absenken.



**Abb. 2.10** Unterliegt der Farbstoff einem zusätzlichen, strahlungslosem Zerfallskanal, wie es für einen Energie-Transfer gilt, so verkürzt sich die Fluoreszenzlebensdauer (gestrichelt) gegenüber der ungestörten Lebensdauer (durchgezogen). Die Quanteneffizienz des Farbstoffs nimmt ab (Fläche unter der Transiente sinkt).



**Abb. 2.11** Ändert sich die strahlende Rate eines Moleküls, so ist stets die Lebensdauer der Fluoreszenz betroffen. In Abwesenheit strahlungsloser Deaktivierungskanäle bleibt die Quantenausbeute erhalten. Dies entspricht der Fläche unterhalb der Transienten. Verkürzt bzw. verlängert sich die Zerfallszeit des Moleküls, hebt bzw. senkt sich die Intensität bei  $t = 0$ .

Die gemessene Fluoreszenzlebensdauer kann sich durch Änderungen der strahlenden Rate  $R_{rad}$  verlängern oder verkürzen (Abb. 2.11). Bei Abwesenheit strahlungsloser Kanäle bliebe die Quantenausbeute erhalten und die Fläche unterhalb der Kurven in Abbildung 2.11 konstant. Das bedeutet aber, dass sich die Fluoreszenzintensität zur  $t = 0$  entsprechend senken oder anheben muss. Die Abhängigkeit von  $R_{rad}$  von den Partikeleigenschaften wird mit dem Gersten-Nitzan-Modell in Kapitel 2.3.4. berechnet und diskutiert.

Die Wechselwirkungen zwischen Gold Nanopartikel und Farbstoff können ebenso zu einer Änderung des Extinktionskoeffizienten  $\sigma_{abs,molekül}$  führen. So ist bei einem 2-Niveau-System die Wahrscheinlichkeit einer spontanen Emission über den Einsteinkoeffizienten  $A$  erfasst.  $A$  ist proportional zum spektralen Integral über  $\sigma_{abs,molekül}$  <sup>[119]</sup>. Ändert sich  $\sigma_{abs,molekül}$ , so sollte sich das in der strahlenden Rate ebenfalls niederschlagen. Die Korrelation über den Einsteinkoeffizienten gilt streng genommen nur für atomare Übergänge. Es setzt die Abwesenheit dynamischer Prozesse zwischen Absorption und Emission (z.B. vibronische Relaxation) und einen *monochromatischen* Übergang mit *identischen* Emissions- und Absorptionswellenlängen voraus.

Moleküle besitzen jedoch sowohl in Absorption als auch in Emission vibronische Seitenbanden und sind zudem spektral zueinander verschoben. Die strenge Korrelation zwischen strahlender Rate und molekularem Extinktionskoeffizienten ist daher nicht gegeben, und die Berechnung gestaltet sich weit aus komplizierter <sup>[120]</sup>. Es ist nicht auszuschließen, dass  $R_{rad}$  sich zwar ändern mag,  $\sigma_{abs,molekül}$  jedoch konstant bleibt. Der umgekehrte Fall ist ebenso denkbar.

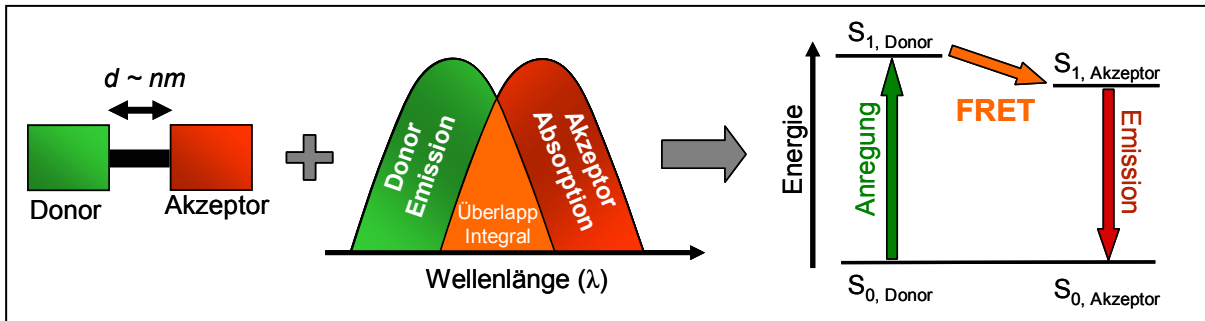
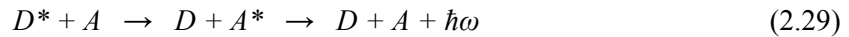
Sollte sich die Extinktion des Moleküls durch die Bindung an die Partikeloberfläche ändern, so müsste dies durch den Vergleich von Absorptionmessungen *vor und nach der Bindung* nachweisbar sein. Experimentell werden jedoch nur *additive Absorptionseffekte* von Partikel-Farbstoff Systemen berichtet, die Absorption des Partikel-Farbstoff Hybridsystems entsprach im Wesentlichen der Summe der Absorptionen der ungebundenen Einzelkomponenten. Auch waren nur geringfügige bis gar keine Änderungen in der spektralen Lage von Emission und Absorption nachweisbar <sup>[121-124]</sup>. Beides wären jedoch Indikatoren für einen veränderten Extinktionskoeffizienten.

Ein Großteil vorhin erwähnter Modellierungen geht ebenfalls von einem durch die Wechselwirkung zum Goldpartikel unveränderten  $\sigma_{abs,molekül}$  aus. Die eigenen experimentellen Resultate in Kapitel 5.2 unterstreichen diese Ergebnisse. Änderungen in der Extinktion des Moleküls konnten hingegen nachgewiesen werden, sofern der Farbstoff *ohne* chemische Bindungsgruppen und Abstandshalter *direkt (elektrostatistisch)* auf der Oberfläche haftete <sup>[125]</sup>.

Die Hybridsysteme der vorliegenden Arbeit werden außerhalb der Plasmonresonanz ( $\lambda_{plas} \sim 520 \text{ nm}$ ) angeregt ( $\lambda_{laser} \sim 400 \text{ nm}$ ). Zudem sind alle Partikel nahezu sphärisch und in wässriger Lösung (keine Inselfilme). Nach den eben beschriebenen Erkenntnissen werden lokale Feldverstärkungen und damit verbundene erhöhte Absorptionsraten gar nicht oder nur geringfügig vorhanden sein. Bei der Interpretation der Ergebnisse in Kapitel 5 wird deshalb nur von Einflüssen auf strahlende und nicht-strahlende Raten, also einer Mischung der in Abbildung 2.10 und 2.11 gezeigten Effekte ausgegangen.

### 2.3.2 Farbstoff-Farbstoff

Befinden sich zwei Farbstoffe (Donor, Akzeptor) in nur wenigen Nanometern Abstand zueinander und überlappt das Emissionsspektrum des Donors (D) mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors (A), wird die Anregungsenergie des Donors mittels einer *strahlungslosen Dipol-Dipol-Kopplung* teilweise zum Akzeptor transferiert. Der Donor wird also über den Akzeptor abgeregt (Abb. 2.12). Die theoretische Modellierung wurde erstmals von T. Förster 1948 veröffentlicht (\* = angeregt) <sup>[3, 64]</sup>:



**Abb. 2.12** Voraussetzungen für einen Energie-Transfer zwischen zwei Molekülen: Der gegenseitige Abstand darf nur wenige Nanometer betragen und die Emission des Donors muss mit der Absorption des Akzeptor spektral überlappen (geeignete gegenseitige Orientierung der Dipolmomente vorausgesetzt). Ist dies gegeben, so induziert der Donor via Dipol-Dipol-Kopplung eine Anregung im Akzeptor und es wird strahlungslos Energie transferiert. Der Akzeptor emittiert anstatt des Donors ein Photon. Der Prozess wird als *FRET* bezeichnet (*Förster Resonanz Energie-Transfer*).

Unter zwei Annahmen konnte Förster die Moleküle als *schwach gekoppelte Punktdipole* beschreiben:

- 1) Sind die Abstände der zwei Moleküle groß gegen die Bindungsabstände  $x$  der Atome ( $x$  ist der van der Waals Radius:  $\sim 1 - 2 \cdot 10^{-10} \text{ m}$  für C und H), lässt sich die *gesamte Wechselwirkungsenergie*  $V_{total}$  aller Elektronen und Kerne zwischen den Molekülen auf die Betrachtung der Coulombschen Wechselwirkung  $V_{coulomb}$  der bewegten Elektronenladungen reduzieren.
- 2) Für Molekülabstände groß gegen die Moleküldimension, kann die Reihenentwicklung der Coulombschen Wechselwirkung  $V_{coulomb}$  auf die Wechselwirkungsenergie zweier Dipole  $V_{dip-dip}$  reduziert werden.

$$V_{total} \sim V_{coulomb} \sim V_{dip-dip} \quad (2.30)$$

Im Idealfall obiger Bedingungen „sehen“ sich die beiden Moleküle nur noch als zwei volumenlose, punktförmige Dipole. Es sei bemerkt, dass in Annahme 2) mit dem Begriff der Moleküldimension nicht die realen geometrischen Dimensionen des Farbstoffes gemeint sind. Das  $\pi$ -System eines Farbstoffes mag zwar aus mehreren Benzolringen bestehen, doch ist für die Näherung als Punktdipol das Dipolübergangsmoment  $\Theta_{AE} = \mu = e \cdot r$  zwischen einem Anfangs- und Endzustand letztendlich entscheidend. Hierbei ist  $e$  die Elektronenladung und  $r$  der Abstand der Ladungsschwerpunkte innerhalb des Moleküls.  $\Theta_{AE}$  ist ein Maß für die Ladungsverschiebung im Molekül, die mit jedem Elektronenübergang verbunden ist. So entspricht das Übergangsdipolmoment eines Moleküls, das z.B. mit einer Oszillatorstärke von  $f \sim 1$  bei  $500 \text{ nm}$  durch Photonabsorption angeregt wurde, einem klassischen Dipol, bestehend aus 2 Elementarladungen im Abstand von nur etwa  $2,1 \cdot 10^{-10} \text{ m}$  <sup>[126]</sup>.

Den Dipolbeitrag errechnete Förster durch eine Multipolentwicklung über  $1/d$  von der Coulombschen Wechselwirkungsenergie  $V_{coulomb}$  und Vernachlässigung höherer Terme ( $d$  = Molekülzentrenabstand):

$$V_{dip-dip} = \frac{\kappa |\boldsymbol{\mu}_D \parallel \boldsymbol{\mu}_A|}{4\pi\epsilon_0 d_{DA}^3} \quad (2.31)$$

mit 
$$\kappa = \hat{\boldsymbol{\mu}}_D \cdot \hat{\boldsymbol{\mu}}_A - 3(\hat{\boldsymbol{\mu}}_D \cdot \hat{\boldsymbol{d}}_{DA})(\hat{\boldsymbol{\mu}}_A \cdot \hat{\boldsymbol{d}}_{DA}) \quad (2.32)$$

$\mu_D$  und  $\mu_A$  sind die Übergangsdipole des Donors und des Akzeptors und  $\kappa$  ein Orientierungsfaktor, der die gegenseitige Ausrichtung der normierten Dipole  $\hat{\boldsymbol{\mu}}_D, \hat{\boldsymbol{\mu}}_A$  und Abstände  $\hat{\boldsymbol{d}}_D$  berücksichtigt. Über die Diracsche Formel (klassisches Analogon zu Fermis quantenmechanischer goldenen Regel) und den Einsteinschen Relationen für Wahrscheinlichkeiten von spontaner Emission und Absorption kann man die Übergangswahrscheinlichkeit zwischen den Molekülen (= Energie-Transferrate  $R_{ET}$ ) mit den Spektren der Moleküle in Zusammenhang zu bringen [3, 64, 127]:

$$R_{ET} = \frac{9c^4 \kappa^2 Q E_D}{8\pi n^4 \tau_D d^6} \int_0^\infty \frac{f_D(\omega) \sigma_A(\omega)}{\omega^4} d\omega = \frac{3}{2} \frac{\kappa^2}{\tau_D} \left(\frac{r_0}{d}\right)^6 \quad (2.33)$$

$f_D(\omega)$  ist das normalisierte Fluoreszenzspektrum des Donors,  $\sigma_A(\omega)$  der Absorptionsquerschnitt des Akzeptors,  $\tau_D$  die Fluoreszenzlebensdauer des ungestörten Donors,  $n$  der Brechungsindex des umgebenden Mediums und  $c$  die Lichtgeschwindigkeit. Das Integral ist ein Maß für die Kopplungsstärke und wird Überlappintegral genannt. Hier wird ersichtlich, dass die Absorption des Donors und die Emission des Akzeptors energetisch in Resonanz sein müssen. Der Parameter  $r_0$  ist der sogenannte *Förster-Radius*. Er definiert den Abstand, wo 50 % aller Anregungen des Donors über den Akzeptor abgeregt werden. Die QE sinkt auf die Hälfte. Bei organischen Molekülen liegt der Förster-Radius  $r_0$  zwischen 2 - 8 nm [128].

Wie an Gleichung (2.31) zu sehen, hängt die Wechselwirkungsenergie, also die Stärke der Kopplung unter anderem von den Übergangsdipolmomenten des Donors und Akzeptors ab. Försters Formel gilt nur für schwache Wechselwirkungen, bei der die Wellenfunktionen der Moleküle als unabhängig betrachtet werden. Aufgrund der schwachen Kopplung werden die strahlenden Raten der Moleküle nur derart minimal beeinflusst, dass Förster sie als unverändert und konstant betrachtete. Wird jedoch die Wechselwirkung zu stark, so müssen höhere Multipol-Terme und bei Überlappung der Wellenfunktionen noch Austauschintegrale berücksichtigt werden. Die vollständige Formulierung für einen derartigen Fall wurde von Dexter hergeleitet [129].

Die Abstandsabhängigkeit von  $R_{ET} \sim (1/d)^6$  geht für Abstände von  $d < 1$  nm in eine exponentielle mit  $R_{ET} \sim \exp(-d)$  über [130]. Die Kopplung kann derart stark werden, dass Donor und Akzeptor nur noch durch eine neue, gemeinsame und kohärente Wellenfunktion sinnvoll beschrieben werden können, wie es z.B. bei LHC Systemen (*engl. light harvesting complexes*) der Fall ist [131].

In diesem Sinne ist Försters Energie-Transfer vergleichbar mit einem Energiesprung (*engl. energy hopping*) zwischen den inkohärenten Wellenfunktionen der beteiligten Moleküle. Aufgrund der extremen Abstandsabhängigkeit wird FRET schon lange und erfolgreich als Nanosensor für Abstandsmessungen verwendet [4, 132-136].



### 2.3.3 Farbstoff-Metallfilm

In Kapitel 2.3.1 wurde erläutert, dass ein angeregtes Gold Nanopartikel als eigenständiger, vom Farbstoff induzierter, plasmonischer Dipoloszillator gesehen werden kann:

- 1) Die gedämpfte Plasmonschwingung entzieht dem Molekül, ähnlich einem Förster-Transfer, die Anregungsenergie.
- 2) Das vom Farbstoff induzierte Nahfeld des Nanopartikels beeinflusst das Emissionsverhalten des Farbstoffs. Diese Rückkopplung tritt für sehr nahe Abstände  $d \ll \lambda$  auf. Da die Situation zweier gekoppelter Oszillatoren vorliegt, kann sich in Abhängigkeit der Partikelgröße und des gegenseitigen Abstandes  $d$  die Gesamtabstrahlung des Hybridsystems als Funktion der relativen Phasenverschiebung abschwächen oder verstärken.
- 3) Ist die Wellenlänge des Lasers derart gewählt, dass neben der Farbstoffanregung gleichzeitig das Partikelplasmon in Resonanz geht, so kann das lokal verstärkte Nahfeld zu einer erhöhten Absorptionsrate des Moleküls führen.

Auf glatten Metallfilmen ist die Situation etwas anders. Zwar induziert auch hier das molekulare Feld im Metallfilm eine Verschiebung der Leitungsbandelektronen, doch im Gegensatz zum Nanopartikel existiert keine Rückstellkraft, welche zu einer tatsächlichen Ladungsozillation notwendig wäre. Bei Partikeln kommt die Rückstellkraft erst durch die, in allen Raumrichtungen vorhandene und limitierende Oberfläche zustande. Der Metallfilm fungiert damit nicht als eigenständiger Oszillator, der an das Molekül *rückkoppelt*. Es kommt in sehr nahen Abständen zu glatten Metallfilmen daher weder zu einer erhöhten molekularen Absorptionsrate, noch zu geänderten strahlenden Raten.

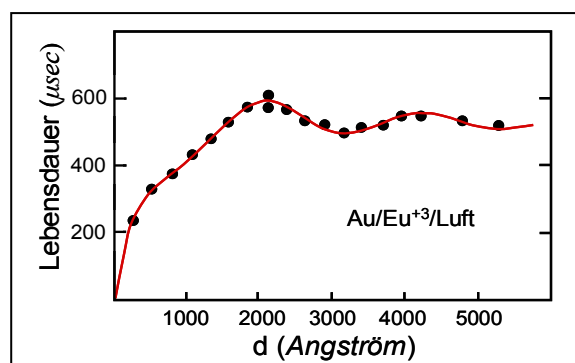
Das Molekül ist durch die metallische Oberfläche dennoch in zweierlei Hinsicht beeinflusst <sup>[65, 68]</sup>:

- 1) Für geringe Abstände  $d \ll \lambda$  ist ein Energie-Transfer vom Molekül zur Metalloberfläche vorhanden. Wie bereits erwähnt, induziert der Farbstoff zwar im Metall Elektronenverschiebungen, jedoch ohne Rückstellkräfte. Auf das Molekül wirkt der Metallfilm damit nur als zusätzlicher Dämpfungsterm (=  $R_{nonrad}$ ), nicht aber als eigenständiger Oszillator. Die induzierten Elektronenverschiebungen werden daher auch als verlustreiche Oberflächenwellen (*engl. lossy surface waves*) <sup>[137]</sup> oder Wirbelströme (*engl. eddy currents*) <sup>[138]</sup> bezeichnet und als *virtueller* Spiegeldipol, der den molekularen Feldoszillationen folgt, berechnet. Die Berechnung des Spiegeldipols verläuft analog zu der von Spiegel- bzw. Bildladungen <sup>[139]</sup>. Vereinfacht und bildlich gesprochen hat das Molekül die Leitungsbandelektronen des Metalls nur im Schlepptau, vergleichbar mit einem Pendel (= Molekül), welches durch das Eintauchen in Honig (= Elektronen des Metalls) gedämpft wird.
- 2) Die Lebensdauer des Moleküls oszilliert im *Fernfeld*  $d \geq \lambda$ , da die metallische Oberfläche wie ein Spiegel die vom Molekül emittierte Welle mit unveränderter Frequenz zurückreflektiert. Das elektrische Feld  $E_{ref}$  der reflektierten Welle treibt den molekularen Dipol zusätzlich an. Je nach Phasenverschiebung zwischen abgestrahlter und reflektierter Welle ergibt sich eine konstruktive oder destruktive Interferenz und die strahlende Rate  $R_{rad}$  des Moleküls steigt oder sinkt entsprechend. In Abhängigkeit des Abstandes  $d$  oszilliert die Fluoreszenzlebensdauer mit einer Periode von  $\lambda/2$  (Abb. 2.13). Das Molekül wechselwirkt also mit seinem eigenen Echofeld. Prinzipiell geschieht das gleiche bei Nanopartikeln, doch für Radien  $r \ll d$  und Abstände  $d \geq \lambda$  ist die Intensität der gestreuten (reflektierten) Welle am Orte des Moleküls derart gering, dass Interferenzen im Fernfeld vernachlässigt werden können.



Die Oszillation der Fluoreszenzlebensdauer von  $\text{Eu}^{3+}$  vor Metallfilmen wurde experimentell von Drexhage et al. erstmals nachgewiesen [67, 140]. Mit der Langmuir-Blodgett-Technik wurde eine Farbstoffmonolage auf Goldflächen aufgebracht. Als Abstandshalter dienten verschieden dicke Lagen von Fettsäuren. Der Abstand wurde auf diese Weise zwischen  $d = 5 - 600 \text{ nm}$  variiert. Die ersten Modellierungen zur Beschreibung der Oszillation wichen jedoch für  $d < 150 \text{ nm}$  von den experimentellen Resultaten ab, da der strahlungslose Energie-Transfer vom Molekül zu Film nicht korrekt erfasst war [66, 141, 142]. Erst das elektrodynamische Modell von Chance, Prock und Silbey (CPS) formulierte beide Wechselwirkungen richtig ( $R_{\text{rad}}$  oszillierend,  $R_{\text{nonrad}}$  dominant bei nahen Abständen) [65].

Die experimentellen Ergebnisse von Drexhage (schwarze Punkte) werden gut durch die CPS-Theorie (rote Kurve) reproduziert und sind in Abbildung 2.13 dargestellt. Die CPS-Theorie ist im Laufe der Zeit mehrfach experimentell bestätigt worden [143-148]. Es liefert die gleichen Ergebnisse wie quantenmechanische Modelle [149, 150]. Die Oszillationen für größere Abstände sowie der durch den zunehmenden Energie-Transfer beginnende Abfall ab  $d < 150 \text{ nm}$ , als auch dessen Dominanz unter  $d < 20 \text{ nm}$  werden von der CPS-Theorie richtig erfasst. Für ET wird  $R_{\text{ET}} \sim (d)^{-3}$  für *Volumenmetalle* und  $R_{\text{ET}} \sim (d)^{-4}$  für *dünne Metallfilme* vorhergesagt.



**Abb. 2.13** Die von Drexhage gemessene Lebensdauer von Europium als Funktion des Abstandes zum Goldfilm (Punkte). Erst die CPS-Theorie (rot) konnte die Oszillationen in der Lebensdauer durch Berücksichtigung von strahlungslosen und strahlenden Ratenänderungen richtig erfassen (nach [65]).

Will man metallische Filme, analog zu Nanopartikeln, als *Nano-Verstärker* für die elektrischen Felder verwenden, so ist man, wegen der fehlenden Rückstellkräfte der Leitungsbandelektronen, schlecht bedient. An glatten Metallfilmen, welche *direkt* mit Licht angeregt wurden, konnte auch bislang keine Fluoreszenzerhöhung nachgewiesen werden [77, 114, 138, 151].

Man muss entweder auf metallische Inselfilme zurückgreifen, sich der Tatsache jedoch bewusst sein, dass die CPS-Theorie hier nicht mehr greift [152] oder auf dem Metallfilm Oberflächenplasmonen unter Zuhilfenahme von Prismen oder Gittern lokal anregen [32, 151]. Derartige Methoden werden angewandt, um im k-Raum einen zusätzlichen Impuls zu erzeugen, da ansonsten die Dispersionsrelation des Oberflächenplasmons stets unterhalb der einer ebenen Lichtwelle bleibt und damit, unabhängig vom Einfallswinkel und der Frequenz, ein Plasmon optisch nicht anzuregen wäre.

### 2.3.4 Nanopartikel-Farbstoff

Besteht in einem Energie-Transfer System der Akzeptor aus einem sehr kleinen metallischen Nanopartikel, so liegt es zunächst nahe, Försters RET (Gl. 2.33) anzuwenden. Während der Abstand  $d$  noch ohne größere Fehler direkt vom Mittelpunkt des Partikels aus angesetzt werden könnte, stößt man bei größeren Partikeln bereits auf Schwierigkeiten, da die Kopplung des Farbstoffes nicht nur im Partikelzentrum stattfindet, sondern bereits an dessen Oberfläche beginnt. Für eine exakte Erfassung müsste also die molekulare Feldstärke an jedem Punkt innerhalb des Nanopartikels berechnet werden. Hier scheitert Försters Annahme eines Punktdipols. Ein weiteres Ungenügen von FRET ist angenommene Unveränderlichkeit der strahlende Rate  $R_{rad}$  des Donors. Wie in Kapitel 2.3.1 diskutiert, trifft das für den Fall eines Nanopartikels als Akzeptor nicht zu.

Im vorliegenden Kapitel wird ein Modell vorgestellt, welches sich von diesen zwei Nachteilen gelöst hat. Die Modellierung geht auf die Arbeiten von Gersten und Nitzan zurück <sup>[14]</sup>. Der quasistatische Ansatz ist, sofern das Hybridsystem und insbesondere die Partikelgröße ( $2r$ ) sehr viel kleiner als die Wellenlänge  $\lambda$  des Lichtes sind und die Partikel damit überall gleichzeitig vom Feld durchdrungen werden, gut erfüllt. Retardierungseffekte können dann vernachlässigt werden. Das Modell wird im Folgenden nur GN-Modell (Gersten-Nitzan-Modell) genannt.

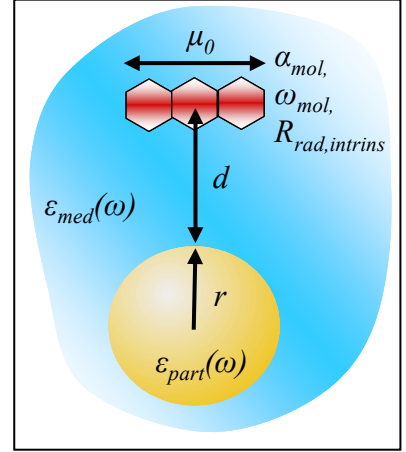
In dieser semiklassischen Bildtheorie wird das Partikel als ein vom molekularen Feld induzierter, zeitlich oszillierender Dipol betrachtet, der damit sein eigenes Strahlungsfeld besitzt. Die abgegebene Strahlungsleistung des Gesamtsystems wird als Hertz'scher Oszillator berechnet. Es berücksichtigt das *Gesamtdipolmoment*, bestehend aus dem Beitrag des Moleküls, des induzierten Partikelmomentes sowie der Rückwirkung des Partikelmomentes auf das Molekül. Die strahlende Rate des Systems kann daher trotz eines elektrostatischen Ansatzes auf diese Weise bestimmt werden.

Wegen der endlichen Leitfähigkeit  $\sigma(\omega)$  des Metalls sind Ladungsbewegungen mit der Erzeugung von Joulescher Wärme verbunden. Die Energie-Transfer Rate kann über die Ohmschen Verluste bestimmt werden, welche die induzierten Ladungsozillationen innerhalb des Partikels hervorrufen. Im Modell werden das vom Molekül induzierte Feld und dessen Verteilung innerhalb des Nanopartikels explizit für jeden Raumpunkt berechnet. Die ET-Rate ist, wie bei Förster, vom Abstand zwischen Molekül und Partikel sowie vom spektralen Überlapp der Absorption des Plasmons mit der molekularen Emission abhängig.

Ein gänzlich neuer Parameter ist das Partikelvolumen. Da metallische Nanopartikel gegenüber den organischen Molekülen eine weitaus größere Polarisierbarkeit  $\alpha$  aufweisen und zudem  $\alpha \sim r^3$  gilt, ist erstens eine sehr effiziente und zweitens eine stark partikelgrößenabhängige Kopplung zu erwarten. Welche Limitationen das GN-Modell mit sich bringt, und welche Effekte keine Berücksichtigung finden, wird anschließend in Kapitel 2.3.5 diskutiert.

Es folgt nun ein Überblick der wichtigsten Grundzüge und Annahmen des Modells (Gaußeinheiten). Für eine detaillierte Herleitung sei auf die Originalveröffentlichung und auf den mathematischen Appendix von Gersten-Nitzan verwiesen <sup>[14, 153]</sup>.

Von den zwei möglichen, linear unabhängigen Orientierungen des molekularen Punktdipols gegenüber der Partikeloberfläche wird nur der tangentielle Fall (parallel) vorgestellt, da dieser der Orientierung der verwendeten Farbstoffe entspricht. Im Fliesstext wird im Folgenden auf Vektorpfeile verzichtet. Es sei angenommen, dass die Elektronen des Partikels erst durch das Feld des Moleküls angetrieben werden. Abbildung 2.14 illustriert die Situation eines molekularen Dipols mit einer Emissionswellenlänge  $\omega_{mol}$  (bzw.  $\lambda_{mol}$ ), welcher sich im Abstand  $d$  tangential zur Oberfläche eines Partikels mit Radius  $r$  befindet. Das Molekül besitze eine Polarisierbarkeit  $\alpha_{mol}$  und im ungestörten Zustand eine Quantenausbeute  $QE_{mol}$ , eine intrinsische strahlende Rate  $R_{rad, intrins}$  und ein Dipolmoment  $\mu_0$ . Die dielektrischen Funktionen des Nanopartikels und des umgebenden Mediums seien  $\epsilon_{part}(\omega)$  bzw.  $\epsilon_{med}(\omega)$ .



**Abb. 2.14** Die GN-Modellierung geht von einem zur Oberfläche des Nanopartikels tangential orientierten molekularen Dipol aus.

Die strahlende Rate  $R_{rad}$  des Hybridsystems ergibt sich aus der Strahlungsleistung  $W$  eines Hertzschen Dipolemitters:

$$R_{rad} = \frac{W_{Hertz}}{\hbar\omega} = \frac{\omega^3}{3\hbar c^3} \cdot \left| \int_V \frac{\epsilon(\omega) - 1}{4\pi} \vec{E}_{au\beta en} d\vec{r} \right|^2 = \frac{\omega^3}{3\hbar c^3} \cdot \left| \int_V \vec{\mu}_{total} d\vec{r} \right|^2 \quad (2.34)$$

$E_{au\beta en} = E_{mol} + E_{part}$  beschreibt das Strahlungsfeld au\beta erhalb des Partikels. Mit  $D$  als Verschiebungsvektor,  $P$  der Polarisierung und  $n$  der Dipoldichte, kann mit  $D = \epsilon E = E + 4\pi P = E + 4\pi(n \cdot \mu_{total})$  die strahlende Rate in Abh\angigkeit des Gesamtdipolmomentes  $\mu_{total} = \mu_{mol} + \mu_{part}$  geschrieben werden. Die Energie-Transferrate  $R_{ET}$  entspricht der im Partikel erzeugten Jouleschen W\armeleistung  $W$ :

$$R_{ET} = \frac{W_{Joule}}{\hbar\omega} = \frac{1}{2\hbar\omega} \int_V \sigma(\omega) |\vec{E}_{innen}|^2 d\vec{r} = \frac{\text{Im} \epsilon(\omega)}{8\pi\hbar} \int_V \vec{\nabla} \Phi_{innen} \cdot \vec{\nabla} \Phi_{innen}^* d\vec{r} \quad (2.35)$$

Das Feld  $E_{innen}$  beschreibt das vom Molek\ul im Partikel induzierte Feld. Die Leitf\ahigkeit  $\sigma(\omega)$  des Partikels errechnet sich nach dem Drude-Sommerfeld-Modell aus dem Imagin\arteil der dielektrischen Funktion des Partikels zu  $\sigma(\omega) = (\omega/4\pi) \text{Im} \epsilon(\omega)$  [29].  $\sigma(\omega)$  sei als unabh\angig vom Ort im Partikel angenommen.

Zur Bestimmung der Raten ben\otigt man das Potential  $\Phi$  und das Gesamtdipolmoment des Hybridsystems. Durch Gradientenbildung  $E = -grad\Phi$  erh\alt man dann die elektrischen Felder. Die Standardmethode, mit der man \uublicherweise vorgeht, ist, zun\achst ein geeignetes Koordinatensystem einzuf\uhren, welches die Randbedingungen m\oglichst einfach formuliert. Dann wird die allgemeine L\osung der Laplaceschen Schwingungsgleichung in Form einer Reihenentwicklung nach harmonischen Funktionen gesucht. Dies sind Funktionen, welche in drei Faktoren zerfallen, von denen jeder nur von jeweils einer Koordinate abh\angt. Das entwickelte Potential des Hybridsystems ergibt sich zu:

$$\Phi_{Hybrid} = \begin{cases} \Phi_{innen} = \Phi_{part,innen} & = \sum_{n=1}^{\infty} A_n P_n(\xi) P_n(\eta) \cos \varphi & \xi \leq \xi_0 \\ \Phi_{au\beta en} = \Phi_{part,au\beta en} + \Phi_{mol} & = \sum_{n=1}^{\infty} B_n Q_n(\xi) P_n(\eta) \cos \varphi + \frac{\vec{\mu} \cdot \vec{x}}{|\vec{r} - \vec{r}_1|^3} & \xi > \xi_0 \end{cases}$$

Hierbei sind  $P_n$  und  $Q_n$  Legendrefunktionen erster und zweiter Art mit  $\eta$  und  $\varphi$  als Winkelkoordinaten und  $\xi$  als Radialkoordinate in elliptischen Kugelkoordinaten. Der Vektor  $r_l = (0, x)$  ist die Position des Moleküls, welches in  $x$ -Richtung liegt. Obige Darstellung gilt noch allgemein für elliptische Partikel, welche in Anschluss auf sphärische Partikel reduziert wird. Die genaue Form der Entwicklungsterme ergibt sich aus den Bedingungen, dass das Potential im Partikelmittelpunkt nicht unendlich werden darf sowie für große Abstände ( $\xi \rightarrow \infty$ ) gegen Null konvergieren muss. Das molekulare Dipolpotential wird ebenfalls in einer Reihenentwicklung nach Legendrefunktionen dargestellt:

$$\frac{\vec{\mu} x}{|\vec{r} - \vec{r}_l|^3} = \nabla_1 \frac{\vec{\mu} x}{|\vec{r} - \vec{r}_l|} = \nabla_1 \left( -\frac{2\vec{\mu}}{f} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n^2(n+1)^2} P_n(\xi) P_n(\eta) Q_n(\xi_1) P_n'(\eta_1) \cos \varphi \right)$$

wobei  $f$  das Verhältnis der Halbachsen des Ellipsoids beschreibt ( $f = 1$  für sphärische Partikel). Damit sind  $\xi_0 = r/f$  die Partikeloberfläche und  $\xi_l = (r+d)/f$  der Ort des Moleküls. Die Koeffizientensätze  $A_n$  und  $B_n$  ergeben sich aus den Randbedingungen. Selbige verlangen die Stetigkeit des Potentials sowie die Stetigkeit der Normalkomponente der dielektrischen Verschiebung  $D$  an der Teilchenoberfläche (bzw. Unstetigkeit der Normalen des elektrischen Feldes):

$$\begin{aligned} \Phi_{\text{innen}} &= \Phi_{\text{außen}} && \text{für} && \xi = \xi_0 \\ \varepsilon_{\text{part}}(\omega) \frac{\partial \Phi_{\text{innen}}}{\partial \xi} &= \varepsilon_{\text{med}}(\omega) \frac{\partial \Phi_{\text{außen}}}{\partial \xi} && \text{für} && \xi = \xi_0 \end{aligned}$$

Erst durch die Randbedingungen implementieren sich also die Materialeigenschaften des Systems in die Gleichungen. Für die späteren Vergleiche mit experimentellen Ergebnissen wird die Reihenentwicklung des Potentials bzw. dessen Gradient bis zur Ordnung  $n = 100$  berechnet. Das Modell berücksichtigt also, dass der molekulare Dipol im Rahmen eines Energie-Transfers im Partikel *Multipolmoden* von fast beliebig hoher Ordnung anregen kann.

Für die Berechnung der Abstrahlrate  $R_{\text{rad}}$  wird hingegen nur der dipolare Anteil des Potentials benötigt, da alle höheren Terme für  $\xi \rightarrow \infty$  gegen Null streben und zum Fernfeld nichts beitragen. In der Endformel wird sich für  $R_{\text{rad}}$  daher auch kein Summenzeichen wieder finden.

Das Gesamtdipolmoment  $\mu_{\text{total}}$  des Systems setzt sich aus dem des Moleküls  $\mu_{\text{mol}}$  und dem *induzierten* Partikelmoment  $\mu_{\text{part}}$  aufgrund des molekularen Feldes im Innern des Partikels  $E_{\text{part, innen}}$  zusammen. Ferner besteht  $\mu_{\text{mol}}$  aus zwei Teilen: Sein intrinsisches Dipolmoment  $\mu_0$ , als auch ein induziertes Moment  $\mu_{\text{induziert}}$ , welches nun vom Partikelfeld am Orte des Moleküls herrührt. Diese Komponente ist sozusagen die Antwort des Partikels auf die Störung durch das Molekül. Die Induktion verläuft daher bidirektional. Bei bekannter Polarisierbarkeit von Molekül und Partikel ergibt sich damit:

$$\mu_{\text{total}} = (\mu_{\text{mol}}) + (\mu_{\text{part}}) \quad (2.36)$$

$$\mu_{\text{total}} = (\mu_0 + \mu_{\text{induziert}}) + (\mu_{\text{part}}) \quad (2.37)$$

$$\mu_{\text{total}} = (\alpha_{\text{mol}} E_{\text{mol}} + \alpha_{\text{mol}} E_{\text{part, außen}}) + (\alpha_{\text{part}} E_{\text{part, innen}}) \quad (2.38)$$

Aus  $\mu_{\text{mol}} = \mu_0 + \alpha_{\text{mol}} E_{\text{part, außen}}$  erhält man durch Umformung:

$$\vec{\mu}_{\text{mol}} = \frac{\vec{\mu}_0}{1 - \vec{\mu}_{\text{induziert}} / \vec{\mu}_{\text{mol}}} = \frac{\vec{\mu}_0}{1 - \Delta} \quad (2.39)$$

mit: 
$$\Delta = \frac{\vec{\mu}_{\text{induziert}}}{\vec{\mu}_{\text{mol}}} = \frac{\alpha_{\text{mol}} \cdot \vec{E}_{\text{part, außen}}}{\vec{\mu}_{\text{mol}}} \quad (2.40)$$

Der Term  $\Delta$  wird als *Bildverstärkungsfaktor* (engl. *image enhancement factor*) bezeichnet. Wenn es keine Rückwirkung des Partikels auf das Dipolmoment des Moleküls gibt, also  $\mu_{\text{induziert}} = 0$ , ist  $\Delta = 0$  und das Molekül erhält sein ursprüngliches Moment  $\mu_0 = \mu_{\text{mol}}$  zurück.  $\Delta$  beschreibt also die Stärke der *Partikelantwort* und ist nur in nahen Bereichen um das Partikel von Bedeutung, dort, wo der Ansatz eines molekularen Punktdipols hinterfragt werden muss.

Für das Gesamtdipolmoment, welches in Gleichung (2.34) für  $R_{\text{rad}}$  eingeht, erhält man somit:

$$\vec{\mu}_{\text{total}} = \vec{\mu}_{\text{mol}} + \vec{\mu}_{\text{part}} = \frac{\vec{\mu}_0}{1 - \Delta} + \alpha_{\text{part}} \cdot \vec{E}_{\text{part,innen}} \quad (2.41)$$

Da das Partikelfeld  $E_{\text{part,innen}}$  aus dem Dipolfeld des Moleküls resultiert, benötigen wir  $E_{\text{mol}}$  <sup>[46]</sup>:

$$\vec{E}_{\text{mol}}(\vec{r}) = \frac{3\vec{n}(\vec{\mu}_{\text{mol}} \cdot \vec{n}) - \vec{\mu}_{\text{mol}}}{|\vec{r} - \vec{r}_1|^3} \quad (2.42)$$

$\vec{n}$  ist ein Einheitsvektor von  $r_1$  nach  $r$ . Für eine senkrechte Orientierung zum Partikel ergibt sich im Zähler  $2\mu_{\text{mol}}$  und für einen parallelen Dipol  $-\mu_{\text{mol}}$ . Wir beschränken uns weiterhin auf den letzten Fall. Für den Fall eines *sphärischen* Partikels können wir mit der Polarisierbarkeit  $\alpha$  (Clausius-Mosotti-Relation) das Dipolmoment bereits wie folgt formulieren <sup>[28]</sup>:

$$\vec{\mu}_{\text{total}} = \frac{\vec{\mu}_0}{1 - \Delta} + \frac{\epsilon_{\text{part}} - \epsilon_{\text{med}}}{\epsilon_{\text{part}} + 2\epsilon_{\text{med}}} r^3 \cdot \vec{E}_{\text{part,innen}} \quad (2.43)$$

Setzen wir das molekulare Dipolfeld am Ort des sphärischen Partikels ein, so ergibt sich mit  $r_1 = (0, x) = (0, r + d)$

$$\mu_{\text{total}} = \frac{\mu_0}{1 - \Delta} + \frac{\epsilon_{\text{part}} - \epsilon_{\text{med}}}{\epsilon_{\text{part}} + 2\epsilon_{\text{med}}} r^3 \frac{(-\mu_{\text{mol}})}{(r + d)^3} = \mu_{\text{mol}} \left( 1 - \frac{\epsilon_{\text{part}} - \epsilon_{\text{med}}}{\epsilon_{\text{part}} + 2\epsilon_{\text{med}}} \frac{r^3}{(r + d)^3} \right) \quad (2.44)$$

Das intrinsische Dipolmoment des Moleküls  $\mu_0$  kann aus der klassischen Strahlungsleistung eines Dipols berechnet werden. Intrinsisch ist äquivalent zu  $d \rightarrow \infty$ . Das Molekül spürt das Partikel also nicht mehr <sup>[154]</sup>:

$$|\mu_0| = \sqrt{3c^3 \hbar R_{\text{rad, intrins}} / \omega^3} \quad (2.45)$$

Für die Bestimmung der intrinsischen Polarisierbarkeit  $\alpha_{\text{mol}}$  wird das Molekül als Lorentzoszillator mit einer Strahlungsdämpfung  $R_{\text{rad, intrins}}$  bei der Resonanzfrequenz  $\omega$  betrachtet. Mit Gleichung (F4) und der Relation der atomaren Polarisierbarkeit in elektrischen Wechselfeldern  $\alpha = e^2 / (m \cdot \omega^2)$  <sup>[155]</sup> erhält man:

$$\alpha_{\text{mol}} = \frac{3}{2} \frac{c^3}{\omega^4} R_{\text{rad, intrins}} \quad (2.46)$$

Es stehen nun alle Dipolmomente und das Potential des Hybrid-Systems zur Verfügung. Setzt man (2.38), (2.45) und (2.46) für die Dipolmomente und Polarisierbarkeit in die Hauptgleichungen (2.34), (2.35) und (2.40) ein, bestimmt durch Gradientenbildung der Potentiale die elektrischen Felder und

reduziert das Partikel auf eine kugelsymmetrische Form, so erhält man für eine tangentielle Orientierung des Moleküls ( $\varepsilon = \varepsilon(\omega)$ ) <sup>[14]</sup>:

$$R_{rad}(r, d) = \frac{R_{rad, intrins}}{|1 - \Delta|^2} \left| 1 - \frac{\varepsilon_{part} - \varepsilon_{med}}{\varepsilon_{part} + 2\varepsilon_{med}} \left( \frac{r}{r+d} \right)^3 \right|^2 \quad (2.47)$$

$$R_{ET}(r, d) = -\frac{R_{rad, intrins}}{|1 - \Delta|^2} \left( \frac{3c^3 \varepsilon_{med}}{4\omega^3 r^3} \right) \sum_{n=1}^{\infty} (n+1)(2n+1) \operatorname{Im} \left( \frac{1}{\varepsilon_{part} + (n+1/n)\varepsilon_{med}} \right) \left( \frac{r}{r+d} \right)^{2n+4} \quad (2.48)$$

$$\Delta = R_{rad, intrins} \frac{3c^3}{4\omega^4 r^3} \sum_{n=1}^{\infty} n(n+1) \frac{\varepsilon_{part} - \varepsilon_{med}}{\varepsilon_{part} + (n+1/n)\varepsilon_{med}} \left( \frac{r}{r+d} \right)^{2n+4} \quad (2.49)$$

Anschaulicher gestalten sich die Gleichungen, sofern nur die erste Ordnung ( $n = 1$ ) berücksichtigt wird. So geht die Energie-Transferrate in eine  $(d)^{-6}$  Abhängigkeit über und der Imaginärteil entspricht der Resonanzbedingung der Extinktion nach Rayleigh. Diese Näherung ist beispielsweise für sehr kleine Partikel gültig und entspricht dann dem Förster'schen Grenzfall der GN-Modellierung.

Die Gleichungen (2.47), (2.48) und (2.49) des GN-Modells dienen als Grundlage für die Erstellung einer Programmroutine zur numerischen Berechnung der Raten <sup>[156]</sup>. Als Portal wurde die Software *Mathematika*<sup>TM</sup> verwendet. Das auf GN basierte Programm rechnet die Reihen bis zur einhundertsten Ordnung für beide Molekülorientierungen (Anhang A).

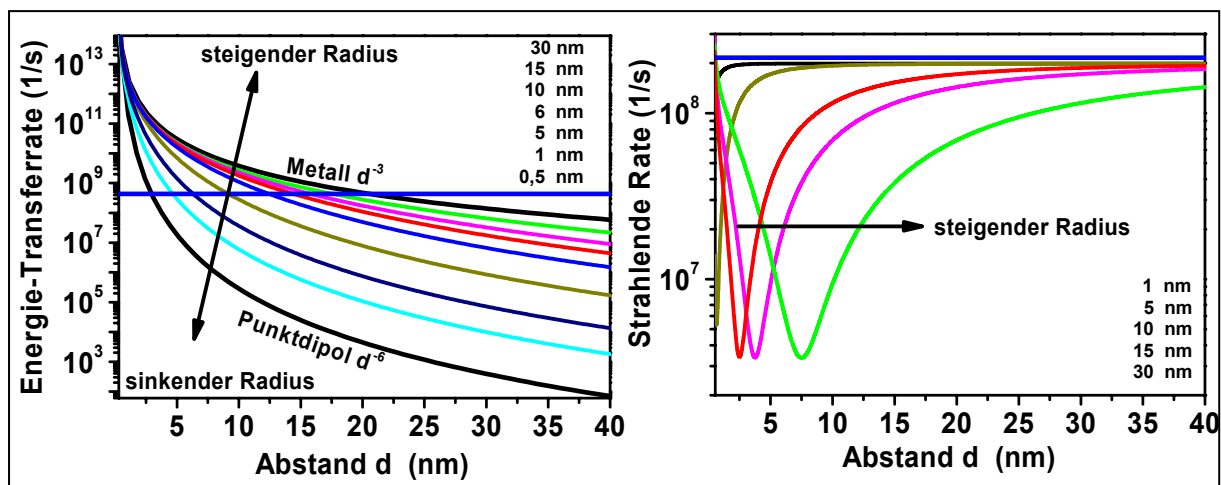
Als Eingabeparameter werden lediglich die molekulare Emissionswellenlänge  $\lambda_{mol}$ , die strahlende Rate  $R_{rad, intrins}$ , die dielektrische Funktion des Partikels  $\varepsilon_{part}$  und des umgebenden Mediums  $\varepsilon_{med}$  sowie der Partikelradius  $r$  benötigt. Als Resultat werden die strahlende und die nichtstrahlende Rate als Funktion des Abstandes ausgegeben. Die ursprüngliche GN-Modellierung wurde für Vakuum berechnet, in den obigen Gleichungen das Umgebungsmedium  $\varepsilon_{med}$  jedoch mitberücksichtigt. Alle in dieser Arbeit untersuchten Nanopartikel befinden sich in wässriger Lösung und bestehen aus Gold. Für  $\varepsilon_{med} = \varepsilon_{wasser}$  wurde ein Wert von 1,7689 gesetzt. Für  $\varepsilon_{part}(\omega)$  wurden die experimentellen Ergebnisse von Johnson und Christy <sup>[36]</sup> an Volumengold durch eine Polynomfunktion neunter Ordnung approximiert (Anhang A) und in die Programmroutine implementiert.

Alle folgenden Kalkulationen zur Veranschaulichung des Modells werden für die optischen Eigenschaften des Moleküls Lissamin durchgeführt, da es einer der drei verwendeten Moleküle der vorliegenden Arbeit ist. Lissamin besitzt ein zur Partikeloberfläche tangential orientiertes Dipolmoment und ein spektrales Emissionsmaximum bei  $\sim 595 \text{ nm}$ . Mit der experimentell gemessenen Fluoreszenzlebensdauer in wässriger Lösung von  $1,54 \text{ ns}$  und einer aus der Literatur bekannten Quantenausbeute von 33 % <sup>[157]</sup> ergibt sich die intrinsische strahlende Rate zu  $R_{rad, intrins} = 2,16 \cdot 10^8 \text{ 1/s}$ .

Abbildung 2.15 zeigt die Raten als Funktion des Molekülabstandes. Es sind die Raten  $R_{ET}$  und  $R_{rad}$  des Hybrid-Systems für verschiedene Partikelradien aufgetragen. Der Vergleich der Kurven zeigt, dass die Rate des Energie-Transfers  $R_{ET}$  stark durch die Partikelgröße bestimmt ist.

So gestaltet sich der Energie-Transfer zwar mit ansteigendem Partikelradius immer effizienter, verläuft aber auch gleichzeitig etwas flacher. Während die ET-Effizienz der kleinsten Nanopartikel für Abstände bis  $40 \text{ nm}$  sich über 10 Größenordnungen ändert, überdeckt die ET-Rate der größten Partikel nur etwa 6 Größenordnungen.

Dies lässt sich anschaulich erklären, denn jede räumliche Abweichung von einem Punktdipol gestattet einen Energie-Transfer in diese Raumdimension. Wären Molekül und Partikel beide als Punktdipol beschreibbar, so gälte wieder Försters Annahme und es ergäbe sich eine  $(d)^{-6}$  Abstandsabhängigkeit. Befindet sich der molekulare Punktdipol aber z.B. über einem Volumenmetall, so kann das molekulare Feld in alle drei Raumrichtungen in die Tiefe des Metalls Elektronenverschiebungen induzieren. Die endgültige ET-Rate ergibt sich daher erst durch eine Volumenintegration über das Metall. Als Folge hängt der Energie-Transfer selbst nur noch von  $R_{ET} \sim (d)^{-3}$  ab. Liegt hingegen ein dünner Metallfilm vor, so genügt eine zweidimensionale Integration, man erhält  $R_{ET} \sim (d)^{-4}$  (Kap. 2.2.4). Befände sich der Punktdipol vor einem dünnen metallischen Draht, so ergäbe dies eine entsprechende  $R_{ET} \sim (d)^{-5}$  Abhängigkeit. Wird die letzte Dimension reduziert, so bleibt ein metallischer Punktdipol über, der mit einer Rate von  $R_{ET} \sim (d)^{-6}$  die Fluoreszenz löscht und wieder auf Försters Punktdipol-System führt <sup>[77]</sup>.



**Abb. 2.15** Modellierter Energie-Transfer und strahlende Rate für verschiedene Partikelradien (0,5 - 30 nm) als Funktion des Abstandes. Es sind die Grenzfälle eines unendlich großen Partikels (Volumenmetall), sowie eines unendlich kleinen Partikels (Punktdipol) eingezeichnet. Die blauen Linien zeigen die intrinsische nicht-strahlende Rate  $R_{nonrad} = 4,33 \cdot 10^8$  und strahlende Rate von Lissamin mit  $R_{rad} = 2,16 \cdot 10^8$ . Details siehe Text.

Das GN-Modell muss sich also zwischen den Grenzfällen eines metallischen Punktdipols und einem metallischen Volumenkörper bewegen. Dieses Verhalten bestätigt sich in der ET-Rate von Abbildung 2.15. Es erklärt, weswegen bei größeren Partikeln der Radius offensichtlich keinen all zu starken Einfluss mehr auf die ET-Rate hat, da die Situation bereits mehr dem eines metallischen Volumenmetalls entspricht. Als Vergleich sind die Abstandsabhängigkeiten des Energie-Transfers der beiden Grenzfälle dargestellt, also dem eines unendlich kleinen Partikels (0D-Punktdipol,  $ET \sim (d)^{-6}$ , Förster) und eines unendlich großen Partikels (Volumenmetall,  $ET \sim (d)^{-3}$ , CPS).

Die blaue Linie ist die intrinsische nichtstrahlende Rate des Moleküls  $R_{nonrad,intrins} = 4,33 \cdot 10^8$  1/s. Der Schnittpunkt ist ein Maß dafür, bei welcher Partikelgröße und Abstand der ET dieselbe Effizienz besitzt, folglich die nichtstrahlenden Kanäle sich in ihrer Effizienz genau verdoppeln. So ist für z.B.  $r = 1$  nm bzw.  $30$  nm Partikel die Energie-Transfer-Rate bei etwa  $7$  nm bzw.  $26$  nm immer noch so effizient wie der intrinsische nichtstrahlende Kanal. Um einen zum Förster Radius äquivalenten GN-Radius zu erhalten, muss man die geänderten strahlenden Raten  $R_{rad}$  noch berücksichtigen. Nach Gleichung (2.23) ergäbe sich eine Absenkung der Quantenausbeute um 50 % bei  $d = 6$  nm bzw.  $d = 27$  nm. Bereits für die kleinste Partikelsorte liegt also der GN-Radius bei Abständen, wie sie rein molekulare Energie-Transfer-Systeme (Förster) nur im optimalen Falle erreichen <sup>[128]</sup>.

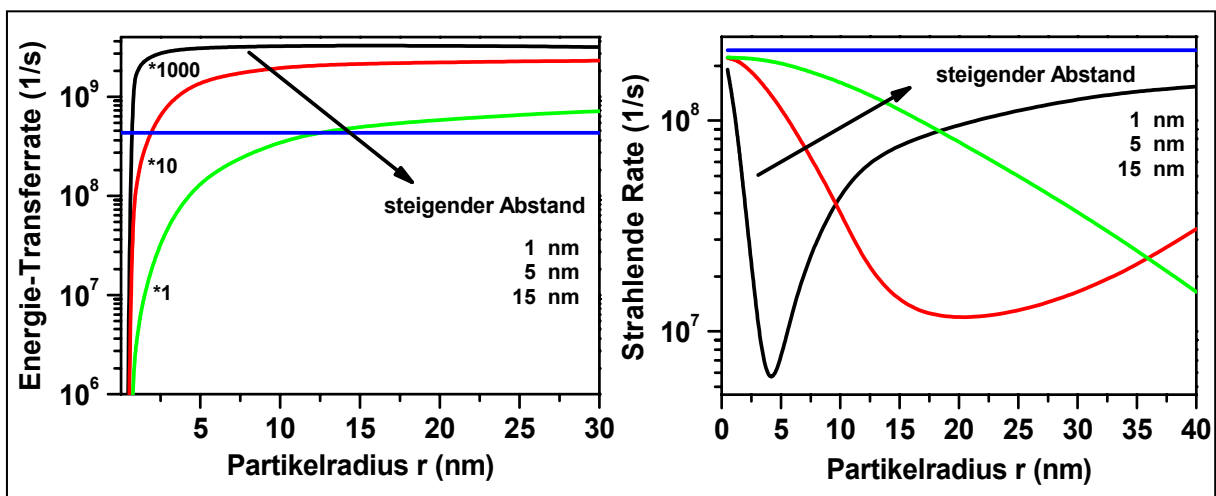
Die strahlende Rate  $R_{rad}$  in Abbildung 2.15 zeigt für alle Partikelgrößen ein ausgeprägtes Minimum. Die Rate bricht für Abstände unterhalb von  $10\text{ nm}$  um beinahe zwei Größenordnungen ein und regeneriert sich für steigenden Abstand wieder. Da die Plasmonoszillation ein unabhängiger Oszillator ist, kann der molekulare Dipol in seiner strahlenden Rate stark beeinflusst werden, insbesondere da das vom Molekül angeregte Partikel ein Strahlungsfeld bei der gleichen Frequenz wie das Molekül besitzt. Wir haben hier die Situation zweier gekoppelter Antennen, welche je nach Phasenverschiebung  $\varphi$  sich konstruktiv oder destruktiv auf das Strahlungsfeld des Hybridsystems ( $\sim R_{rad}$ ) niederschlägt. Die Stärke der Verschiebung ist eine Funktion von Partikelgröße, Abstand und Emissionswellenlänge des Moleküls. Bei fester Partikelgröße gibt es einen Molekülabstand mit maximalem destruktivem Effekt. Überschreitet das Molekül diese Distanz, so regeneriert sich die strahlende Rate wieder.

Das Strahlungsfeld sehr kleiner Partikel ist aber schon so gering, dass die Kopplung ans Molekül fast vernachlässigbar ist. Nur noch bei geringsten Abständen zeigt  $R_{rad}$  eine kleine Absenkung, ansonsten entspricht sie der intrinsischen, ungestörten Rate des Moleküls (Abb. 2.15 z.B.  $r = 0,5\text{ nm}$ , schwarze Kurve gegen blaue Linie,  $R_{rad,intrins} = 2,16 \cdot 10^8\text{ 1/s}$ ). Dieses Verhalten ist im Einklang mit Förster, denn sehr kleine Nanopartikel sollten nach und nach immer mehr als Punktdipol beschreibbar sein, welche vernachlässigbare Änderungen in  $R_{rad}$  haben.

Abbildung 2.16 zeigt die Abhängigkeit der Raten vom Radius. Es sind  $R_{ET}$  und  $R_{rad}$  des Hybridsystems für drei Abstände ( $d = 1, 5, 15\text{ nm}$ ) aufgetragen. Zur besseren Darstellung wurden die Ergebnisse für  $d = 1\text{ nm}$  und  $5\text{ nm}$  um einen Faktor  $1000$  bzw.  $10$  herabskaliert. Zunächst sieht man an den Kurven, dass die Energie-Transfer Rate umso stärker wird, je kleiner der Abstand des Moleküls ist.

Für kleine Partikelradien steigt die ET-Rate bei allen Abständen zunächst steil an, läuft aber ab Radien von  $7,5 - 20\text{ nm}$  in eine Sättigung. Dieses Verhalten ist das Analogon zu Abbildung 2.15. Ab einer gewissen Partikelgröße verliert dieselbige mehr und mehr ihren Einfluss auf die Energie-Transferrate. Man erreicht den Grenzfall eines planaren Volumenmetalls.

Dieser Effekt ist unter anderem von der limitierten Eindringtiefe des molekularen elektrischen Feldes in Metalle abhängig (Skintiefe:  $\sim 35\text{ nm}$  im Sichtbaren, <sup>[49]</sup>). Ab Radien von ungefähr  $r > 20\text{ nm}$  ist daher, un-abhängig vom Abstand, bei allen Partikeln die Sättigung erreicht.



**Abb. 2.16** Modellierter Energie-Transferrate und strahlende Rate für verschiedene Abstände vom Lissamin zum Nanopartikel ( $1, 5$  und  $15\text{ nm}$ ) als Funktion des Partikelradius. Zur besseren Darstellung sind die Transferraten um  $1, 10$  und  $1000$  herabskaliert. Die blauen Linien zeigen als Vergleich die intrinsische strahlende Rate von Lissamin mit  $R_{rad} = 2,16 \cdot 10^8$ , sowie die intrinsische nichtstrahlende Rate  $R_{nonrad} = 4,33 \cdot 10^8$ . Details siehe Text.

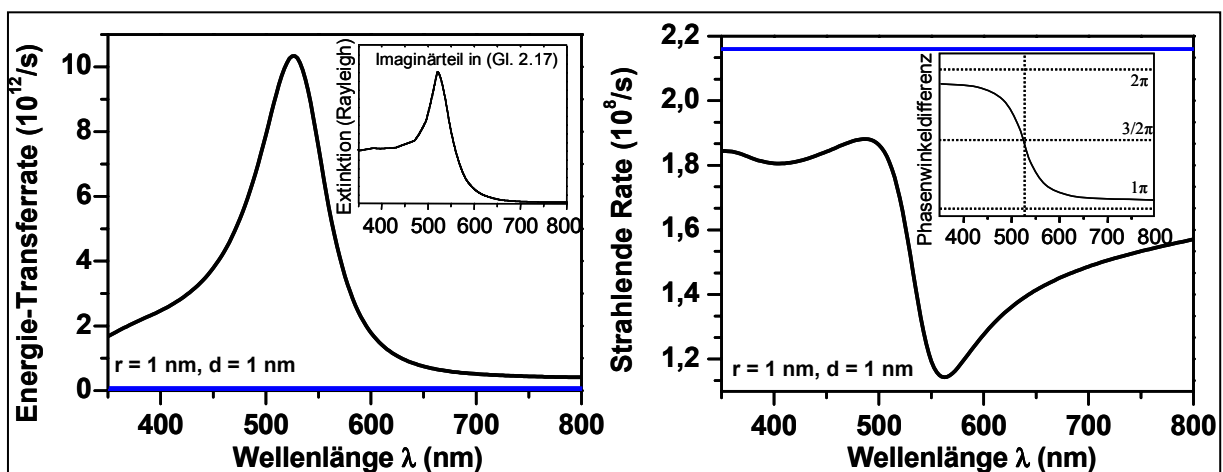


Wann die Sättigung einsetzt, ist wiederum eine Funktion des Abstandes, denn je weiter entfernt das Molekül ist, umso länger „sieht“ es das Partikel auch als solches, und nicht als Film. Dies lässt sich auf den Raumwinkel zurückführen, den das Partikel aus der Perspektive des Moleküls einnimmt und über den letztendlich für den ET integriert werden muss. Je kürzer der Abstand, umso größer wird der Winkel. Die Sättigung wird also umso schneller erreicht, je näher das Molekül sich am Partikel befindet. Das anfänglich steile Ansteigen der ET-Rate kann daher noch als reines Partikelverhalten interpretiert werden, die Abflachung zu größeren Partikeln illustriert die zunehmenden Eigenschaften eines planaren Volumenmetalls<sup>[14]</sup>. Die blaue Linie ist wieder die intrinsische Rate  $R_{nonrad, intrins}$ . Abbildung 2.16 zeigt weiterhin das Verhalten der strahlenden Rate in Abhängigkeit des Partikelradius. Auch hier sind wieder die durch die Phasenverschiebung bedingten Modulationen zu sehen. Wie bereits in Abbildung 2.15 zeigt sich die destruktive Interferenz als abhängig von Abstand und Partikelgröße. Zu jedem Abstand gibt es eine Partikelgröße, bei der die strahlende Rate des Hybrid-systems minimal wird und das Nanopartikel den Farbstoff in seiner Emission maximal behindert.

In Abbildung 2.17 sind die Raten gegen die molekulare Emissionswellenlänge aufgetragen. Das Lissamin Molekül befindet sich  $1\text{ nm}$  von der Partikeloberfläche ( $r = 1\text{ nm}$ ) entfernt.

Die Energie-Transferrate folgt in ihrer spektralen Form dem Partikelplasmon. Das Nanopartikel erfüllt seine Funktion als Akzeptor genau dann maximal, wenn die Emissionsfrequenz des Moleküls spektral auf die Plasmonresonanz fällt. Dies ist im Einklang von Försters RET mit einer vom Überlappintegral abhängigen ET-Rate. Das resonante Verhalten ist in Gleichung (2.48) des GN-Modells bereits zu erkennen, denn in erster Ordnung ( $n = 1$ ) ist der Imaginärteil formal identisch zum Imaginärteil von Gleichung (2.18), dem Extinktionsquerschnitt (Rayleigh) des Nanopartikels. Dies wird insbesondere durch dessen spektrale Übereinstimmung verdeutlicht (kleine Abbildung, links).

Ersetzt man mit der Clausius-Mosotti-Relation<sup>[158]</sup> in Gleichung (2.48)  $\epsilon$  durch  $\alpha$ , sieht man, dass die ET-Rate der Polarisierbarkeit  $\alpha$  des Nanopartikels folgt. Je größer diese ist, umso effizienter wird der Transfer. Der ET hängt dadurch stark von der frequenzabhängigen Dämpfung  $\Gamma$  des Partikels ab. Die spektrale Abhängigkeit der Energie-Transferrate wird also vornehmlich durch die Eigenschaften des Nanopartikels als Akzeptor bestimmt.



**Abb. 2.17** Berechnete Energie-Transferrate und strahlende Rate als Funktion der Emissionswellenlänge. Die Raten werden stark durch die dielektrischen Eigenschaften des Partikels beeinflusst. Die spektrale Abhängigkeit der Energie-Transferrate folgt der Extinktion des Partikels (Rayleigh, Gl. (2.17)), spiegelt daher die Polarisierbarkeit des Partikels wider (kleine Abb. links). Je besser der spektrale Überlapp ist umso effizienter wird also der Transfer. Die strahlende Rate kann als Maß für die Phasenverschiebung zwischen Partikel- und Molekülantenne gesehen werden. So ist ein qualitativ ähnlicher Verlauf zur Phasenwinkeldifferenz  $\alpha$  eines angetriebenen, gedämpften Lorentzoszillators zu sehen (kleine Abb., rechts). Die strahlende Rate bleibt bei allen Wellenlängen stets unter der intrinsischen molekularen strahlenden Rate (blaue Linie). Details siehe Text.

Im Gegensatz hierzu hängt die strahlende Rate von den Eigenschaften beider Komponenten des Hybridsystems ab. Dies lässt sich besser erkennen, wenn man den Streuquerschnitt des Nanopartikels (Rayleigh, Gl. (2.19)) mit der strahlenden Rate des GN-Modells (Gl. 2.47) vergleicht. In beiden findet sich das Betragsquadrat der Polarisierbarkeit des Partikels  $\alpha = V^2 \cdot |(\epsilon_{part} - \epsilon_{medium}) / (\epsilon_{part} + 2\epsilon_{medium})|^2$  wieder ( $V$  = Partikelvolumen). Das GN-Modell berechnet jedoch nicht nur das Dipolmoment des Partikels, sondern das gesamte Dipolmoment des Hybridsystems, bestehend aus Molekül und Partikel.

Die strahlende Rate in Abbildung 2.17 hängt von der wellenlängenabhängigen Phasenverschiebung zwischen der Eigenfrequenz des Partikels und der Erregerfrequenz des Moleküls ab. Als Vergleich ist die Phasenwinkeldifferenz  $\alpha$  eines angetriebenen, gedämpften Oszillators mit der Eigenfrequenz bei  $520 \text{ nm}$  gezeigt (kleine Abb., rechts) <sup>[38]</sup>. Die spektralen Verläufe von Phasenwinkeldifferenz und strahlender Rate sind in qualitativer Übereinstimmung. Diskrepanzen rühren daher, dass die nicht-strahlende Dämpfung  $\Gamma$  des Partikels eine Funktion der Wellenlänge ist, beim klassischen Lorentz-oszillator hingegen als konstant betrachtet wird.

Im Gegensatz zu einem mechanischen Oszillator gilt, dass das induzierte Feld der oszillierenden Elektronen für kleine Frequenzen und Dämpfungen bereits um  $180$  Grad ( $= -\pi$ ) zum antreibenden Feld phasenverschoben ist (siehe auch Gleichung (F1): für  $\Gamma \rightarrow 0$  und  $\omega \rightarrow 0$  folgt  $\vec{x} \uparrow \downarrow \vec{n}$  für  $e < 0$ ). Für ansteigende Frequenzen  $\omega$  tritt eine zusätzliche Phasenverschiebung auf, welche bei  $\omega = \omega_{plasmon}$  dann  $90$  Grad ( $= -\pi/2$ ) erreicht und für sehr hohe Frequenzen gegen  $180$  Grad ( $= -\pi$ ) konvergiert. Das Partikelfeld wird daher immer phasenverschoben zum antreibenden Molekülfeld oszillieren und die strahlende Rate des Hybridsystems absenken. Eine Erhöhung ergibt sich hingegen für ein senkrecht zur Partikeloberfläche orientiertes Molekülmoment (Gl. 2.42).

In der spektralen Abhängigkeit der Raten spiegelt sich letztendlich das Lorentz'sche Modell als Erweiterung des Drude-Sommerfeld-Modells für harmonisch schwingende, angetriebene, jedoch gedämpfte Elektronen wider.

### 2.3.5 Limitationen und nichtlokale Effekte

Der Modellansatz von Gersten und Nitzan basiert auf einigen Annahmen und Simplifizierungen. Damit z.B. der quasistatische Ansatz des GN-Modells seine Gültigkeit behält, werden alle Größen und Abstände als klein gegenüber der Wellenlänge angenommen ( $r \ll \lambda$ ,  $d \ll \lambda$ ). Unter dieser Voraussetzung können *räumliche* Änderungen des einfallenden elektrischen Feldes als minimal angesehen und daher vernachlässigt werden. Bei zunehmender Partikelgröße ist das GN-Modell jedoch nicht in der Lage Retardierungseffekte innerhalb des Partikels zu berücksichtigen. Es konnte gezeigt werden, dass die Vorhersage des GN-Modells in Übereinstimmung mit elektrodynamischen Modellierungen ist, sofern  $r$  und  $d$  kleiner oder gleich der Eindringtiefe elektromagnetischer Strahlung (Skintiefe:  $\sim 35$  nm im Sichtbaren) sind <sup>[15, 159-162]</sup>.

Die Modellierung eines Metall-Molekül Systems kann auf drei verschiedenen Ansätzen basieren: Ein *elektrostatischer*, *quasistatischer* oder *elektrodynamischer* Ansatz <sup>[160, 163]</sup>.

1) Die *elektrostatische* oder klassische Bildtheorie betrachtet das vom Partikel reflektierte molekulare Feld als statisches Bildpotential, welches auf das Molekül wieder trifft. Das Molekül reagiert also auf sein virtuelles Bild, welches durch die Metalloberfläche entsteht. Das Bildpotential wird über die elektrostatische Poisson-Gleichung berechnet, es gibt daher keine Zeitabhängigkeit. Das Strahlungsfeld des Moleküls ( $R_{rad, intrins}$ ) bleibt in seiner Dynamik unbeeinflusst <sup>[164, 165]</sup>.

2) Die *quasistatische* oder semiklassische Bildtheorie geht zwar ebenfalls von den zeitunabhängigen Maxwellgleichungen aus, doch der statischen Lösung wird die Zeitabhängigkeit nachträglich multiplikativ hinzugefügt. Erst damit können die Ladungsverschiebungen im Metall als oszillierende Dipole betrachtet werden. Sie besitzen ihr eigenes Strahlungsfeld, welches mit dem des Moleküls wechselwirkt. Das totale Strahlungsfeld wird im Rahmen eines Hertz'scher Dipols angesetzt. Das in dieser Arbeit verwendete GN-Modell ist das bekannteste Beispiel eines quasistatischen Ansatzes <sup>[14]</sup>.

3) Die *elektrodynamische* Beschreibung basiert auf den zeitabhängigen Maxwellgleichungen. Deren Lösungen berücksichtigen die Änderungen der elektromagnetischen Felder in Raum und Zeit. Die CPS-Theorie für Metallfilme basiert auf einem elektrodynamischen Ansatz. Für Partikel-Molekül-Systeme wurde eine Modellierung z.B. von Ruppin hergeleitet <sup>[166]</sup>. Im gleichen Maße, wie die Mie-Theorie die elektrodynamische Erweiterung der quasistatischen Rayleigh-Näherung ist, kann Ruppin's Ansatz als die vollwertige Beschreibung des quasistatischen GN-Modells gesehen werden. Wie aber Eingang erwähnt, sollten die Eigenschaften der vorliegenden experimentellen Proben eine quasistatische Formulierung rechtfertigen. Geringfügige Abweichungen, welche auf Retardierungseffekte zurückgeführt, und wie wir noch sehen werden, auf andere Art quantitativ erfasst werden können, stehen nicht in Relation zum erheblich größeren Arbeitsaufwand für die Computerprogrammierung einer voll elektrodynamischen Modellierung.

Auch wenn die elektrodynamische Formulierung dafür sorgt, dass die theoretische Vorhersage noch für größere Partikel zutreffend bleibt, ist ihre Gültigkeit, als auch die der quasistatischen Theorie, kritisch zu hinterfragen, sobald sich das Molekül extrem nah an der Partikeloberfläche befindet. Der Grund findet sich in sogenannten *nichtlokalen Effekten*.

Die nichtlokale Theorie berücksichtigt eine räumliche Dispersion der dielektrischen Funktion <sup>[105]</sup>. Alle obig erwähnten Modellierungen, inklusive des GN-Modells, vernachlässigen dies. Normalerweise repräsentiert die dielektrische Funktion  $\epsilon(\omega)$  die *makroskopische* Beschreibung der *mikroskopischen* atomaren Polarisierbarkeiten eines untersuchten Mediums (Clausius-Mosotti-Relation).  $\epsilon(\omega)$  stellt nur

eine über das Material gemittelte Antwortfunktion dar. Innerhalb der Probe wird sie als *räumlich* konstant betrachtet. Aufgrund dieser fehlenden Ortsabhängigkeit nennt man diesen Ansatz auch *lokale Antwort* oder viel mehr *lokal unabhängig*. Ist der Abstand zur Probe hinreichend groß, so ist eine derartige Mittelung gerechtfertigt, und  $\varepsilon(\omega)$  bleibt gültig. Auf kleinsten Längenskalen und Abständen ist die makroskopische Beschreibung jedoch nur mit Vorsicht zu verwenden.

Die nichtlokale Theorie verwendet eine ortsabhängige dielektrische Funktion  $\varepsilon(\omega, \vec{r})$ . Das bedeutet, dass der resultierende Verschiebungsvektor  $\vec{D}(\omega)$  in einem Volumenelement  $dV(\vec{r})$  zu einer Zeit  $t$  innerhalb des Partikels von den Anregungen und Feldern umliegender Volumenelemente  $dV(\vec{r}')$  möglicherweise beeinflusst ist. Die Polarisierbarkeit  $\alpha(r)$  im Volumenelement  $dV(\vec{r})$  kann also durch die Polarisation benachbarter Volumenelemente  $dV(\vec{r}')$  gestört werden. Um dies zu erfassen, muss aus der obig gemittelten, lokalen Antwortfunktion eine nichtlokale werden <sup>[28]</sup>:

$$\vec{D}(\omega, \vec{r}) = \varepsilon(\omega) \cdot \vec{E}(\omega, \vec{r}) \tag{2.50}$$

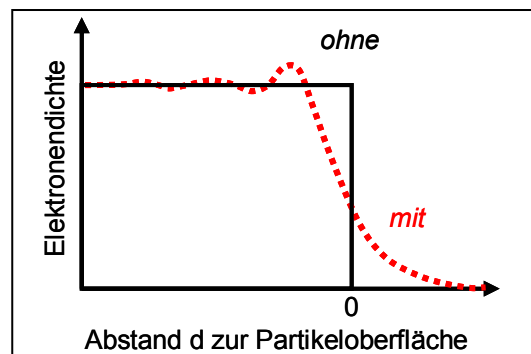


$$\vec{D}(\omega, \vec{r}) = \int \varepsilon(\omega, \vec{r} - \vec{r}') \cdot \vec{E}(\omega, \vec{r}') d\vec{r}' \tag{2.51}$$

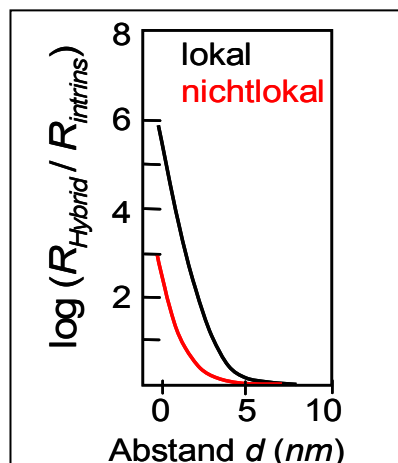
Für das Molekül im Hybridsystem bedeutet dies, dass er als *Reporter* seinen Nachbarn, das Nanopartikel, bei geeignetem geringem Abstand durchaus auch im Detail, also je nach Ort lokal verschieden, sehen kann. Die Modellierung unter Verwendung einer makroskopischen dielektrischen Funktion  $\varepsilon(\omega)$  kann unter Umständen signifikante Abweichungen von der realen Situation mit sich bringen.

Eine nichtlokale Beschreibung wird umso wichtiger, je inhomogener ein Material ist. Die stärkste Inhomogenität findet sich an den Grenzen zweier Medien, da sich dort auf nur wenigen Angström die dielektrische Funktion vom Material- auf den Vakuumwert ändert. Hier zeigt sich eine Schwäche der Maxwell'schen Gleichungen, denn für die Kalkulation der Lösungen benötigt man als Randbedingung unter anderem die Unstetigkeit der Normalkomponente des elektrischen Feldes an der Partikeloberfläche. Auch diese Annahme ist eigentlich nur gültig, sofern der Abstand genügend groß ist.

Mit quantenmechanischen Kalkulationen der elektronischen Struktur von Metallen konnte gezeigt werden, dass die Elektronendichte an der Oberfläche *nicht abrupt*, sondern *kontinuierlich* abnimmt. In Abhängigkeit der Oberflächengeometrie und des Materials kann die Elektronendichte bis zu einigen Nanometern aus dem Metall herausragen (*engl. spill out, smear out*) <sup>[167, 168]</sup> (Abb. 2.18). Dieses Verhalten kann als unmittelbare Konsequenz der Wellennatur der Elektronen gesehen werden. Das Problem nichtlokaler Theorien liegt also in der Bestimmung einer ortabhängigen dielektrischen Funktion, die meist auf quantenmechanischen Ansätzen beruht sowie nur mikroskopische Größen und nichtlokale Polarisierbarkeiten beinhalten darf. Verschiedene Gruppen haben sich mit der nichtlokalen Modellierung von Molekülen auf Filmen <sup>[169-175]</sup> oder auf Partikeln <sup>[176-180]</sup> beschäftigt.



**Abb. 2.18** Lokale Theorien gehen von einer Unstetigkeit der Felder und Elektronendichte an der Partikeloberfläche aus (schwarz). Nichtlokale Theorien berücksichtigen Elektronendichteverteilungen, welche an der Partikeloberfläche nicht abrupt, sondern kontinuierlich abnehmen (nach [167]).



**Abb. 2.19** Vergleich berechneter molekularer Zerfallsraten mit und ohne Berücksichtigung nicht-lokaler Effekte. Das Molekül emittiert unterhalb der Plasmaresonanz und ist in unmittelbarer Nähe eines Bleipartikels mit  $r = 3 \text{ nm}$ . Die Ergebnisse divergieren um 2 Größenordnungen ( $R_{\text{Hybrid}} = \text{Rate des Molekül-Partikel-Systems}$ ,  $R_{\text{intrinsic}} = \text{intrinsische molekulare Rate}$  (nach [178])).

Leung bestimmte unter anderem die Abweichungen des GN-Modells aufgrund der Vernachlässigung nichtlokaler Effekte. So wird für ein Molekül, welches energetisch unterhalb der Plasmaresonanz emittiert und etwa  $1 \text{ nm}$  von der Oberfläche eines Blei Nanopartikels mit Radius  $r = 3 \text{ nm}$  entfernt ist, eine um zwei Größenordnungen zu hohe Energie-Transferrate gegenüber nicht-lokaler Theorien vorhergesagt. Der Einfluss nichtlokaler Effekte nimmt zwar mit der Entfernung schnell ab, eine Vernachlässigung derselben (ohne größere Fehler) ist aber erst ab  $d > 5 \text{ nm}$  sinnvoll [178] (Abb. 2.19). Die Modellergebnisse verschiedener Gruppen sind divergent. Ekardt und Penzar sagen eine Erhöhung der Transferraten gegenüber dem GN-Modell voraus [176].

Bisherige experimentelle Ergebnisse zeigen ebenfalls keine klare Richtung. Mal werden nichtlokale Effekte bestätigt [145, 148, 181] oder negiert [137, 138, 144, 147, 182]. Es sei bemerkt, dass alle Experimente an metallischen Filmen durchgeführt wurden. Wie bereits erwähnt, kann der Dipol dadurch in unterschiedliche Entfernungen und Tiefen ans Metall koppeln. Um nichtlokale Effekte zu studieren, sollte die Probengeometrie so einfach und definiert wie möglich gehalten sein, z.B. ein kugelsymmetrisches Partikel mit Molekülen in festem Abstand; so wie in der vorliegenden Arbeit.

Abschließend seien noch weitere Limitationen des GN-Modells kurz erwähnt:

Das Molekül ist im Modell als monochromatischer Emitter beschrieben. Dies ist eigentlich eine grobe Vereinfachung, da alle höheren vibronischen Banden nicht in Betracht gezogen werden. Es ist jedoch gerechtfertigt, solange die internen Konversionszeiten ( $\sim 100 \text{ fs}$ ) erheblich schneller sind als die inverse Energie-Transferrate. Ist Systemen, die dies nicht erfüllen, konnte ein Energie-Transfer aus höheren vibronischen Zuständen nachgewiesen werden [127].

Das Modell berücksichtigt keine eventuellen Wechselwirkungen zwischen den Molekülen. Ein Homo-transfer (FRET zwischen identischen Molekülen) oder auch eine Dimerbildung ist möglich. Mit den experimentellen Ergebnissen in Kapitel 5 und Anhang B können derartige Interaktionen aber weitestgehend ausgeschlossen werden.

Das Modell beschreibt die Emissionseigenschaften des Moleküls, nicht aber mögliche Änderungen bei der Absorption, sprich bei der Anregewellenlänge des Moleküls. Die Absorptionsrate als auch der Absorptionskoeffizient könnten durch das Partikel beeinflusst werden. Wie bereits in Kapitel 2.3.1 diskutiert, sind diese Effekte aufgrund der Probengeometrie und der optischen Anregung außerhalb der Plasmonresonanz nur gering. In Kapitel 5 wird ein möglicher Einfluss dennoch berücksichtigt.

Es ist an sich möglich, dass der Energie-Transfer in die entgegengesetzte Richtung stattfindet. Das angeregte, schwingende und damit strahlende Partikel verliert seine Energie an das Molekül. Solch ein bidirektionaler Transfer ist im Modell nicht berücksichtigt, da dem Partikel kein intrinsisches Dipolmoment zugesprochen wurde. Es wird erst durch das Molekül induziert. Die Lebensdauer der Plasmonoszillation ist aber mit  $2 - 8 \text{ fs}$  derart kurz, dass eine effiziente Rückkopplung ausgeschlossen werden kann.

### 2.3.6 Elektronentransfer

Ladungen können zwischen organisch-anorganischen Grenzflächen transferiert werden. Ob und in welche Richtung ein Elektron zwischen einem Gold Nanopartikel und Molekül übertragen wird, hängt nicht nur von der Differenz der Austrittsarbeit und des Ionisationspotentials, sondern auch von der chemischen Struktur der Verbindungsbrücke ab. Der Elektronentransfer stellt einen zum Energie-Transfer konkurrierenden, ebenfalls nichtstrahlenden Zerfallskanal dar. Es soll in diesem Kapitel daher abgewogen werden, inwieweit sich die Fluoreszenz des Moleküls durch einen möglichen Elektronenverlust verkürzen und eine auf rein energetischer Kopplung basierende Interpretation damit verfälscht werden kann.

Ist ein Material elektrisch leitend, so können Elektronen durch Anlegen einer Potentialdifferenz zur Bewegung gebracht werden. Ein elektrischer Strom fließt. Inwieweit ein Elektron ohne angelegte Spannung von einem Metall der Sorte 1 zu einem anderen Metall der Sorte 2 übergeht, hängt von der Differenz ihrer Austrittsarbeiten  $\Delta W_{1,2}$  ab. Als Austrittsarbeit definiert man die Energie, welche nötig ist, um ein Elektron aus dem Inneren des Metalls ins Vakuum zu befördern. Man geht hierbei vom letztbesetzten elektronischen Zustand, der Fermikante, aus. Definiert man das Potential des Elektrons im Unendlichen als Null, liegt die Fermienergie  $E_F$  für Gold bei etwa  $-5,5 \text{ eV}$  <sup>[18]</sup>. Die Fermienergie wird der Ionisationsenergie bzw. Austrittsarbeit häufig gleichgesetzt. Dies ist nicht ganz korrekt, denn die Ladungsverteilungen an der Oberfläche eines Materials unterscheiden sich durch die fehlenden atomaren Nachbarn von denen im Inneren des Metalls. Wie sehr sich die Ladungsverteilung von der im Materialinneren unterscheidet, hängt davon ab, ob die Oberfläche glatt, rau oder gekrümmt ist. Die Oberfläche gibt Anlass zu elektrischen Feldern mit einem Oberflächenpotential  $W_s$ , durch die das Elektron auf dem Wege ins Vakuum transportiert werden muss. Die totale Arbeit, die für das Elektron aufgebracht werden muss, lautet dann <sup>[183]</sup>:

$$W = -E_F + W_s \quad (2.52)$$

Bringt man die zwei Metalle mit Austrittsarbeiten  $\Delta W_1$  und  $\Delta W_2$  zusammen, so folgen die Elektronen der vorhandenen Potentialdifferenz  $-e(\Phi_1 - \Phi_2) = W_1 - W_2$  bis sich ein Gleichgewicht im chemischen Potential ( $\sim$  Fermienergie) eingestellt hat. Man nennt dies *Kontaktpotential*. Die Elektronen fließen ins energetisch günstigere (= potentialniedrigere) Metall. Für Gold beträgt  $W_s$  in etwa  $-9,8 \text{ eV}$  und die Austrittsarbeit liegt damit bei  $-4,3 \text{ eV}$  <sup>[183, 184]</sup>. Man misst sie über den Nullabgleich mit einer extern angelegten Stromquelle.

Bei Molekülen bestimmt man die Photoionisationsenergie durch Anregung mit hochenergetischer Synchrotronstrahlung und gleichzeitiger Vermessung des elektrischen Stromes. Die Moleküle befinden sich z.B. als dünne wässrige Schicht auf einem kontaktierten Substrat. Für Rhodamin liegt die Photoionisationsenergie bei etwa  $6,2 \text{ eV}$  <sup>[185, 186]</sup>.

Der Elektronentransfer benötigt eine Verbindungsbrücke als Transportmedium, hängt aber von dessen Eigenschaften stark ab <sup>[187]</sup>. So kann durch entsprechende Wahl desselbigen ein Elektronentransfer ermöglicht oder auch komplett unterdrückt werden. Der Energie-Transfer hingegen, bedingt durch seine elektromagnetische Natur, findet selbst im Vakuum statt. Er ist damit bei Ladungstransferprozessen in den Wechselwirkungen zwischen Farbstoffen und Metallen stets präsent.

Ist die Brücke elektrisch leitend, so folgt die Elektronentransferrate dem Ohmschen Gesetz und nimmt mit der Zahl  $N$  der Brückenglieder stetig ab ( $\sim 1/N$ ). Das Einfügen einer elektrisch *isolierenden* Verbindungsbrücke stellt hingegen eine energetische Barriere dar. Für sehr kurze Abstände von  $\sim 1 \text{ nm}$

kann diese zumindest noch durchtunnelt werden kann. Die Transferrate hat in seiner Abstandsabhängigkeit dann einen exponentiellen Verlauf <sup>[188]</sup>. Der effektivste Elektronentransport liegt vor, wenn die elektronischen Wellenfunktionen der beiden Materialien durch einen direkten Kontakt sehr stark überlappen. Dies wird z.B. bei der „Grätzel“-Solarzelle ausgenutzt <sup>[189]</sup>.

In der Literatur bezieht sich der überwiegende Teil von Publikationen auf Ladungstransferprozesse von Molekülen auf metallischen Filmen. Man versucht hierbei die natürliche Photosynthese, welche ebenfalls auf einem ultraschnellen Elektronentransfer basiert, künstlich nachzuahmen <sup>[188, 190, 191]</sup>. Da die verwendeten Abstandshalter der Moleküle (häufig kurze Kohlenstoffketten), als auch die Wahl des Elektrodenmaterials (Gold) eine gewisse Vergleichbarkeit mit den vorliegenden Nanopartikel-Farbstoff Hybriden gestatten, ist es instruktiv zunächst kurz darauf einzugehen.

Dem optisch angeregten Farbstoff wird ein Elektron entweder über nächstliegende molekulare Nachbarn, oder direkt über eine Elektrolytflüssigkeit entzogen und an die Gegenelektrode (z.B. Platin) weitertransportiert. Die Goldelektrode, auf der die Farbstoffe gebunden sind, wird durch ein angelegtes Potential derart eingestellt, dass diese hinsichtlich ihrer Austrittsarbeit als Donor für Elektronen agiert. Der Farbstoff erhält über einen molekularen Abstandshalter (Verbindungsbrücke) zum Gold ein Elektron zurück und gelangt damit in den Grundzustand.

Die auf den Goldelektroden synthetisierten Nanostrukturen sind mittlerweile beliebig komplex geworden, mit dem Ziel, möglichst schnell und effizient dem Farbstoff die Ladung zu entziehen. Die Komponenten sind derart gewählt, dass ihre Energieniveaus kaskadenförmig Elektronen ab- und hintransportieren können. Als unmittelbare Nachbarn des Farbstoffs werden z.B. Methylviologen-Gruppen (MV) oder Kohlenstofffullerene ( $C_{60}$ ) eingesetzt. Beide sind dafür bekannt sehr negative Redoxpotentiale zu besitzen, also effiziente Elektronenakzeptoren zu sein. Damit der Farbstoff das Elektron jedoch nicht wieder an den eigentlichen *Elektronen-Rückgeber* (Goldelektrode) verliert, kann die Kohlenstoffkette mit Ferrocene-Molekülen ( $Fe(C_5H_5)_2$ ) ersetzt werden, dessen Redoxpotential wiederum unterhalb des der Goldelektrode liegt. Der Transport des Elektrons von der Elektrode zum Grundzustand des Farbstoffes ist damit eine energetisch favorisierte Einbahnstrasse <sup>[190, 192-199]</sup>. Das Ferrocene stabilisiert zudem strukturell die Kohlenstoffkette. Man erreicht also größere Abstände zwischen Farbstoff und Goldelektrode.

Aus der Perspektive eines optimierten Ladungstransfers ist dies zwar ungünstig, aber immer noch ein guter Kompromiss, denn größere Abstände senken zwar die Effizienz des Elektronentransfers, doch nicht so sehr wie die Abschwächung in kurzen Distanzen durch den stets vorhandenen, konkurrierenden Energie-Transfer zum Gold <sup>[200]</sup>.

Es scheint demnach nicht einfach zu sein ein System derart zu modellieren, dass trotz der Gegenwart des Energie-Transfers den Molekülen die Anregungen effizient in Form von Ladungen entzogen wird. Nach wie vor gilt der Energie-Transfer als Hauptursache für die Deaktivierung der molekularen Fluoreszenz in der Nähe metallischer Oberflächen <sup>[201]</sup>.

Bezüglich eines effizienten Ladungstransfers zwischen Farbstoffen und Gold Nanopartikeln finden sich in der Literatur nur wenige Publikationen. Photostrommessungen können als Charakterisierungsmethode nicht angewandt werden, da die Probe keine Schichtstruktur auf einem Substrat, sondern frei in Lösung ist.

Mittels zeitaufgelöster Absorptionsmessungen kann ein Ladungstransfer jedoch nachgewiesen werden. Dies geschieht nach der optischen „Anrege-Abfrage-Methode“. Mit einem ersten Laserpuls wird der Farbstoff in seiner Absorptionsbande angeregt. Ein zweiter Puls, der zeitlich verschiebbar ist, trifft

energetisch wieder in die Absorption des Farbstoffs. Solange sich dieser noch vollständig im angeregten Zustand befindet, kann er nicht absorbieren, und der Abfragepuls propagiert ungehindert durch das System. Erst im Laufe der Zeit, wenn der Grundzustand sich wieder bevölkert, schwächt sich der Abfragepuls in Transmission ab. Man vermisst also die Regeneration der Absorptionsbande.

Ist ein Energie-Transfer der *einzigste* nichtstrahlende Zerfallskanal, so zerfällt die Fluoreszenz mit der gleichen Zeitcharakteristik, wie sich die Absorption regeneriert. Ist jedoch ein zusätzlicher Ladungstransfer vorhanden, so wird die zeitaufgelöste Absorption eine langlebige Komponente im  $ms-\mu s$  Bereich besitzen, welches die Rückkehrzeit des ehemals molekularen Elektrons vom Nanopartikel oder Lösungsmittel widerspiegelt (Rücktransfer eines Elektrons) <sup>[191]</sup>. Solange der Rückprozess nicht stattgefunden hat, liegt der Farbstoff als Radikal-Ion vor. Es kommt zur Reorganisation der noch verbliebenen Ladungen im Molekül und neue Absorptionsbanden bilden sich aus. Deren spektralen Positionen sind meist bekannt. Weist man in zeitaufgelösten Absorptionsmessungen derartige Banden nach, so ist dies ein Indiz für einen Ladungstransfer.

Mittels dieser Methode wurde an Gold Nanopartikeln mit oberflächengebundenen Farbstoffen der Energie-Transfer als dominierender Prozess für die Fluoreszenzauslöschung nachgewiesen. In den Experimenten waren die Farbstoffe via Kohlenstoffketten in genügend hohem Abstand ( $d > 1,2 \text{ nm}$ ) zur Partikeloberfläche platziert <sup>[123, 202-204]</sup>.

Andere Gruppen haben hingegen einen Elektrontransfer zwischen Nanopartikel und Molekül nachgewiesen. So wurden Farbstoffe <sup>[205]</sup> als auch fluoreszierende II-VI-Nanopartikel <sup>[206, 207]</sup> zumeist *ohne Abstandshalter direkt* auf der Goldpartikeloberfläche elektrostatisch gebunden. Dieser Umstand macht einen Ladungstransfer sehr wahrscheinlich, da sich die Wellenfunktionen vom Partikel und Molekül stark vermischen und ein neuer Komplex hybridisiert <sup>[188]</sup>. Des Weiteren kamen Farbstoffe (Cyanine und Pyrene) zum Einsatz, die für *J-Aggregation* <sup>[205]</sup> oder *Excimerbildung* <sup>[208]</sup> bekannt sind. In J-Aggregaten reihen sich die Farbstoffdipole parallel in Kopf-zu-Fuß-Anordnung an, als Folge delokalisiert das  $\pi$ -Elektronensystem über viele Monomere hinweg. Diese J-Anordnung findet auch auf Gold Nanopartikeln statt <sup>[209]</sup>. Bei Excimern ist der Grundzustand des Monomers nicht-bindend, eine stabile Konfiguration wird erst durch Komplexbildung zwischen einem angeregtem und unangeregtem Monomer erreicht (*engl. excimer = excited dimer*). Es ist bislang nicht geklärt, inwieweit die „Exotik“ der eingesetzten Farbstoffe einen Ladungstransfer unterstützen oder nicht, und ob die starken intramolekularen Wechselwirkungen *zwischen* den Farbstoffen die Kopplungseffizienz zum Gold Nanopartikel via Energie-Transfer möglicherweise beeinflussen. Inwieweit ein Ladungstransfer stattfindet hängt also offensichtlich stark von den Eigenschaften des verwendeten Farbstoffes und dessen Art der Verankerung auf der Partikeloberfläche ab. Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Farbstoffe bilden weder Excimer noch J-Aggregate.

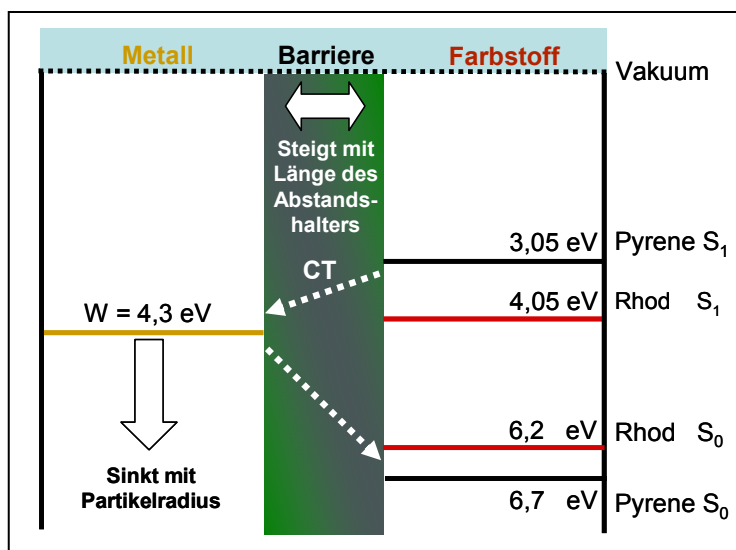
Hinsichtlich der Barriere, welche die Kohlenstoffkette darstellt, ist in der vorliegenden Arbeit nur der Farbstoff Lissamin, ein Derivat des Rhodamin B, ein möglicher Kandidat für einen Elektronentransfer, denn der Abstand seines  $\pi$ -Systems zur Partikeloberfläche beträgt nur  $1 \text{ nm}$  (Kap. 4.2, 4.3). Da die Photoionisationsenergie von Rhodamin B etwa  $6,2 \text{ eV}$  beträgt, wäre der Farbstoff unmittelbar nach einer gepulsten, optischen Anregung ( $400 \text{ nm} = 3,1 \text{ eV}$ ) noch  $6,2 - 3,1 = 3,1 \text{ eV}$  von der Dissoziationsgrenze entfernt. Da die Photoionisation von Molekülen mit den am schwächsten gebundenen  $\pi$ -Elektronen beginnt, kann die Energie von  $6,2 \text{ eV}$  dem Singulett-Grundzustand ( $S_0$ ) des Moleküls gleichgesetzt werden. Der erste angeregte Zustand ( $S_1$ ) bestimmt sich aus dem Absorptionsmaximum ( $575 \text{ nm} = 2,15 \text{ eV}$ ) des Farbstoffs zu  $6,2 - 2,15 = 4,05 \text{ eV}$ . Unter der Annahme, dass die vibronische Relaxation ( $\sim 100 \text{ fs}$ ) der schnellste vorliegende Prozess ist, sollte ein Elektronentransfer (ebenso wie der Energie-Transfer) von  $S_1, v'=0$  aus stattfinden.



Je größer der energetische Unterschied zwischen der Austrittsarbeit des Goldpartikels ( $W \sim 4,3 \text{ eV}$ ) zum  $S_1$ -Niveau des Moleküls ist, umso effektiver findet der Ladungstransfer statt.

Für Rhodamin ist die Wahrscheinlichkeit ein Elektron an das Nanopartikel abzugeben damit relativ gering, denn die Niveaus zwischen Molekül und Partikel unterscheiden sich energetisch nur geringfügig (Abb. 2.20,  $250 \text{ meV}$ ). Der Ladungstransfer wäre damit kaum mit Energiegewinn verbunden. Zudem wird die Kopplungseffizienz durch die Kohlenstoffkette reduziert. Bei Pyrenmolekülen mit einem Absorptionsmaximum von  $340 \text{ nm}$  ( $3,64 \text{ eV}$ ) und einer Ionisationsschwelle von  $\sim 6,7 \text{ eV}$  liegt die Differenz  $S_1 - W$  bereits bei  $1,25 \text{ eV}$  <sup>[185, 210, 211]</sup> (Abb. 2.20). Dies könnte eine mögliche Erklärung des beobachteten Elektronentransfers bei Pyrenen auf Gold Nanopartikeln sein <sup>[208]</sup>.

**Abb. 2.20** Austrittsarbeit von Gold Nanopartikeln gegenüber den Photoionisationsenergien von Rhodamin und Pyrene. Die energetischen Lagen des ersten angeregten Singulett-Zustandes ( $S_1$ ) favorisieren einen Elektronentransfer (CT) zum Gold bei Pyrene <sup>[208]</sup>. Kohlenstoffketten an den Farbstoffen dienen als Abstandshalter, reduzieren aber die Wahrscheinlichkeit eines Ladungstransfers. Das Partikel gibt nach unbestimmter Zeit ein Elektron an den Grundzustand des Moleküls zurück. Die Regeneration der Absorption kann daher bis zu einige  $ms$  dauern, obschon die Fluoreszenzlebensdauer nur wenige *Nanosekunden* beträgt. Weitere Details siehe Text.



Aus experimentellen Ergebnissen an konjugierten Polymeren auf Gold Nanopartikeln verschiedener Größe vermutet man unter anderem, dass der Energie-Transfer für Partikel mit Radien  $r > 1 \text{ nm}$  dominiert <sup>[212]</sup>. Möglicherweise erklärt sich dies durch das Oberflächenpotential  $W_s$  des Metalls. Da für abnehmende Radien das Oberflächen-Volumen-Verhältnis drastisch zunimmt, sollte  $W_s$  zunehmen. So befinden sich in Partikeln mit Radius  $r = 1 \text{ nm}$  bereits  $50 \%$  aller Atome an der Oberfläche. Es konnte gezeigt werden, dass bei Gold Nanorods, aufgrund ihrer höheren Oberflächenenergie, der Elektronentransfer gegenüber Nanopartikeln sehr viel stärker ist <sup>[206]</sup>. Nach Gleichung (2.53) würde  $W$  mit sinkendem Partikelradius zunehmen (Abb. 2.20).

Zusammenfassend kann man sagen, dass ein Elektronentransfer, zumindest in den Hybridsystemen der vorliegenden Arbeit, zwar generell möglich, aber wegen der geringen Differenz der molekularen Photoionisationsenergie zur Austrittsarbeit der Partikel und den elektrisch isolierenden Eigenschaften der verwendeten Abstandshalter (Alkane und DNA-Einzelstränge, Kap. 4.2) relativ unwahrscheinlich ist.



## 3 Experimentelle Methoden

Dieses Kapitel erläutert die verschiedenen Messtechniken zur Charakterisierung der synthetisierten Proben. Neben zeitintegrierten Methoden (Transmissions- und Fluoreszenzspektroskopie), besitzt die zeitaufgelöste Spektroskopie eine zentrale Schlüsselposition. In Kapitel 2 hatten wir gesehen, dass sich die Zerfallszeit von Molekülen stark ändern kann, wenn zusätzliche nichtstrahlende Zerfallskanäle für die molekulare Anregung vorhanden sind. Zeitintegrierte Meßmethoden spiegeln dies zwar in einer Absenkung der Fluoreszenzintensität wider, ein quantitativer Rückschluss darüber, wie sich die einzelnen Zerfallskanäle geändert haben mögen, ist nicht erfassbar. Erst die Transiente einer Fluoreszenz gibt Einblick in die Dynamik vorhandener strahlender und nichtstrahlender Zerfallskanäle.

### 3.1 Zeitintegrierte Spektroskopie

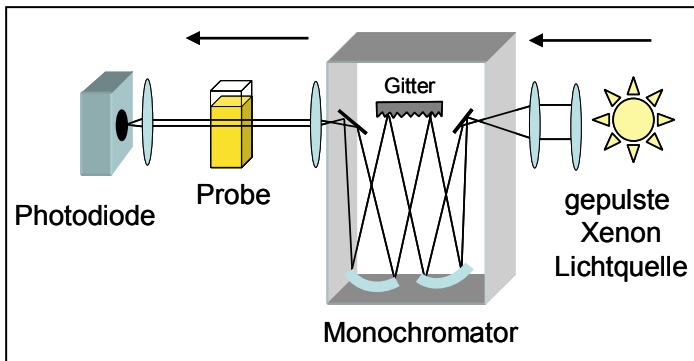
#### 3.1.1 Transmissionsexperimente

Wird eine Probe hinsichtlich ihres spektralen Transmissionsverhaltens untersucht, so wird die Intensität eines optischen Signals vor ( $I_0$ ) und hinter ( $I$ ) der Probe verglichen. Die gebräuchliche Größe in Transmissionsmessungen ist die *optische Dichte* ( $OD$ ). Sie beschreibt die Abschwächung des Anregelichtes, welches beim Propagieren durch eine Probe der Schichtdicke  $d$  mit einer Teilchenzahl  $n$  (Moleküle, Nanopartikel...) auftritt und ist als das logarithmische Verhältnis von einfallender zu transmittierter Intensität ( $OD = \log(I_0/I)$ ) definiert. Nur derjenige Teil der gemessenen Extinktion, der durch Absorption von Photonen hervorgerufen wird, steht der Probe letztendlich für elektronische Anregungen zur Verfügung. Der Rest sind Streuprozesse.

Der Extinktionsquerschnitt  $\sigma_{ext}$  setzt sich aus Streu- und Absorptionsquerschnitt,  $\sigma_{ext} = \sigma_{abs} + \sigma_{sca}$ , zusammen. Moleküle haben in der Regel sehr geringe Streuquerschnitte, meistens wird  $\sigma_{ext} \sim \sigma_{abs}$  gesetzt. Metallische Nanopartikel hingegen können in Abhängigkeit der Partikelgröße das einfallende Licht signifikant streuen. Die kleinsten Partikel mit einem Radius von  $r = 1 \text{ nm}$  besitzen in ihrer Extinktion einen Streuanteil von nur etwa  $1 \cdot 10^{-5}$ , können also als reine Absorber angesehen werden. Bei größeren Partikeln mit z.B. Radien von  $r = 20 \text{ nm}$  oder  $r = 30 \text{ nm}$  ist der gestreute Anteil des einfallenden Lichtes bereits auf  $8 \cdot 10^{-2}$  bzw.  $2 \cdot 10^{-1}$  gestiegen. Ist der Streuanteil bekannt, so kann aus der gemessenen Extinktion größerer Partikel der Anteil reiner Absorption bestimmt werden. Vergleicht man die optische Dichte  $OD$  mit dem Beer'schen Gesetz, so lässt sich bei bekanntem Extinktionsquerschnitt und Probengeometrie unmittelbar die Nanopartikel- bzw. Farbstoffdichte  $n$  entlang einer bekannten Schichtdicke  $d$  bestimmen.

$$\begin{aligned}
 OD = \log[I_0(\lambda)/I(\lambda)] & \iff I(\lambda) = I_0(\lambda) \cdot \exp(-\sigma_{ext} n d) \\
 \implies & OD = \sigma_{ext} n d / \ln(10)
 \end{aligned}
 \tag{3.1}$$

Für die Bestimmung der optischen Dichte wird das Cary50 Spektrometer der Firma Varian verwendet. Das Spektrometer besitzt als Anregequelle eine gepulste Weisslicht-Xenonlampe. Das Anregelicht wird durch einen Monochromator spektral selektiert und anschließend auf die Probe fokussiert. Das transmittierte Licht wird von einer Photodiode detektiert. Durch Änderung der Winkelstellung des internen Gitters kann somit ein spektraler Bereich von  $200 - 1100 \text{ nm}$  schrittweise abgefahren und detektiert werden. Abb. 3.1 gibt eine schematische Übersicht.

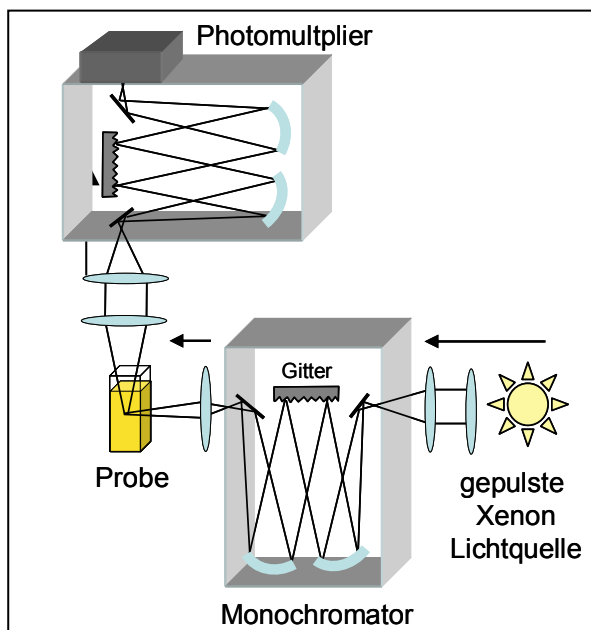


**Abb. 3.1** Aufbau des Cary Varian 50 UV-Vis Spektrometers für Transmissionsmessungen.

Als Referenz wird reines Lösungsmittel vermessen. Dadurch wird der spektrale Verlauf der Detektorempfindlichkeit, das Emissionsprofil der Xenonlampe sowie Reflexionen an der Quarzküvette erfasst und automatisch aus dem Probenspektrum korrigiert. Eine zusätzliche Dunkelmessung (abgedeckte Photodiode = 0 % Transmission) gestattet eine absolute Intensitätskalibrierung, um einen direkten Vergleich zwischen verschiedenen Proben zu ermöglichen.

#### 3.1.2 Fluoreszenzexperimente

Für zeitintegrierte Fluoreszenzmessungen von hinreichend starken Signalen wird das Cary Eclipse Fluoreszenzspektrometer der Firma Varian verwendet. Abbildung 3.2 gibt schematisch den Aufbau des Gerätes wieder. Ein Monochromator selektiert aus dem Anregelicht der Xenonlampe eine Wellenlänge. Die Probe wird optisch angeregt und dessen Emission  $90^\circ$  zum Anregestrah in einen zweiten Monochromator eingekoppelt.



**Abb. 3.2** Aufbau des Varian Cary Eclipse Spektrometers für Fluoreszenzmessungen.

Bei der Fluoreszenzmessung wird durch eine Änderung des Gitterwinkels im zweiten Monochromator der spektrale Bereich der Emission abgefahren und durch ein dahinter befindlichen Photomultiplier detektiert. Das Cary Eclipse Fluoreszenzspektrometer ist nicht für schwache Emissionssignale konzipiert worden. Es eignet sich nur bedingt für Proben, die aufgrund eines Energie Transfers eine stark unterdrückte, also sehr schwache Fluoreszenz aufweisen. Schwach emittierende Proben werden anstatt dessen mit einer bildverstärkten CCD-Kamera (*Picostar HR*, *LaVision*) zeitintegriert vermessen. Der Vorteil dieses Systems ist die sehr hohe Empfindlichkeit. Dies begründet sich durch die Verwendung eines Bildverstärkers in Kombination mit einer CCD-Kamera.

Spektral aufgefächerte, in den Bildverstärker einfallende Photonen treffen auf eine Photokathode und lösen dort Elektronen aus. Diese werden mit einer Mikrokanalplatte vervielfältigt und in Richtung eines Phosphorschirms beschleunigt. Die auftreffenden Elektronen generieren dort wieder Photonen, die von der dahinter befindlichen CCD detektiert werden. Die Fluoreszenzspektren werden anschließend mit der Gerätefunktion des Meßsystems korrigiert. Dies geschieht mittels einer Weißlichtmessung. Dazu wird eine geeichte Wolfram-Lichtquelle angewandt, dessen spektraler Intensitätsverlauf bekannt ist.

### 3.2 Zeitaufgelöste Spektroskopie

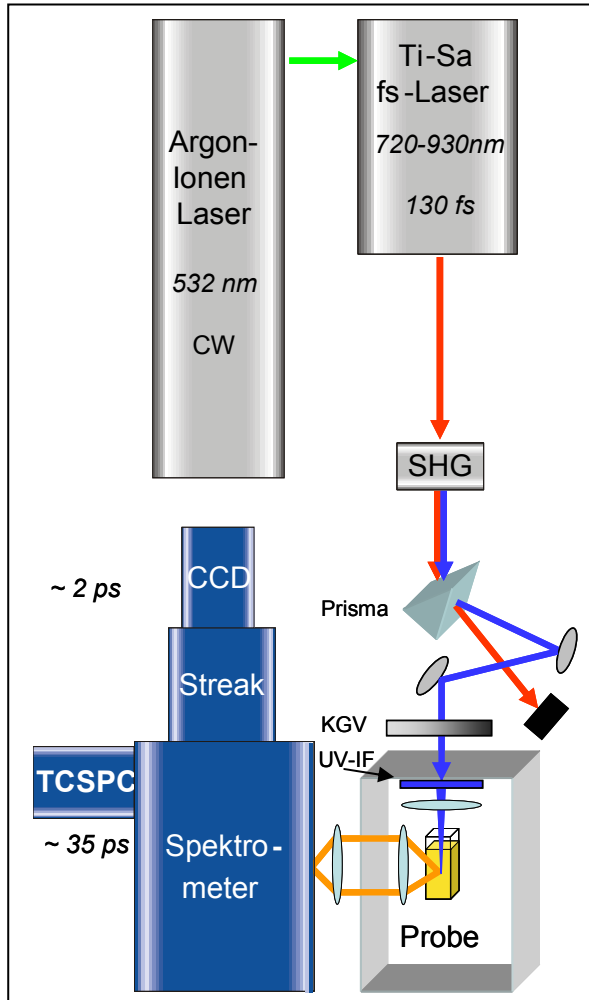
Es werden im Folgenden zwei verschiedene Detektionsmethoden vorgestellt: Zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen (TCSPC = *Time Correlated Single Photon Counting*) und Streak Kamera Messungen. Das TCSPC bietet eine Zeitauflösung von nur  $\sim 35$  ps, gestattet jedoch, die Fluoreszenz über beinahe beliebig lange, zeitliche Messfenster zu verfolgen. Fluoreszenzlebensdauern im Bereich von Nanosekunden, wie beispielsweise von den verwendeten Referenzfarbstofflösungen, können deshalb sehr exakt bestimmt werden.

Die Streak Kamera besitzt eine sehr hohe Zeitauflösung von  $\sim 2$  ps, das maximale Messfenster ist aber auf eine Länge von  $2,2$  ns begrenzt. Sie bietet sich daher für die Bestimmung von schnellen Fluoreszenzlebensdauern an. Bevor das Lasersystem und die Detektoren im Detail beschreiben werden, soll zunächst ein Überblick des vorhandenen experimentellen Aufbaus gegeben werden.

#### 3.2.1 Experimenteller Aufbau und Lasersystem

Abbildung 3.3 gibt den experimentellen Aufbau schematisch wieder. Hinter dem zur Frequenzverdopplung des Laserpulses verwendeten LBO-Kristalls befindet sich ein Quarzprisma, um die beiden Laserpulse in verschiedene Raumrichtungen zu beugen. Der kontinuierliche Graufilter (KGV) sowie ein UV-Interferenzfilter (UV-IF) sorgen dafür, dass nur der frequenzverdoppelte Anregelaser mit einer definierter Intensität in die ansonsten lichtisolierte Messkammer gelangt. Die Anregung der Probe geschieht senkrecht von oben in die Küvette, also im Lot zur Detektorebene. Hierzu wird der Laser mit einer Quarzlinse langer Brennweite ( $f = 150$  mm,  $\varnothing = 20$  mm) in die Probenlösung fokussiert. Die Fluoreszenz wird über zwei Achromat-Quarzlinsen ( $f_1 = 100$  mm,  $\varnothing = 50$  mm und  $f_2 = 200$  mm,  $\varnothing = 50$  mm, anti-reflexbeschichtet) parallelisiert und anschließend in das Spektrometer (*Chromex IS250*) eingekoppelt. Der  $f$ -Wert des Spektrometers ( $f = 4$ ) legt über die numerische Apertur  $NA$  den maximalen Öffnungswinkel  $\alpha$  der Einkopplung fest ( $f = 1/(2 \cdot NA)$ , mit  $NA = \sin \alpha$ ). An den zwei Ausgängen des Spektrometers befinden sich die in Kapitel 3.2.2 und 3.2.3 diskutierten Detektoren. Mit dem Schwenken eines einzigen, spektrometer-internen Spiegels wird der benötigte Detektor ausgewählt. Dies birgt den Vorteil, dass die gesamten experimentellen Bedingungen, wie Laserleistung, -fokussierung, Strahlführung über die Spiegel, genaue Position der Probe, Anregevolumen sowie Einkopplung der Fluoreszenz ins Spektrometer unverändert bleiben.

Die Hybridproben werden aufgrund des Energie-Transfers eine stark unterdrückte Fluoreszenz aufweisen. Für das Messsystem bedeutet dies, dass lange Integrationszeiten des Detektors nötig sind, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.



**Abb. 3.3** Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus. In die Probenkammer gelangt nur das frequenzverdoppelte Laserlicht. Die Probenemission wird entweder über den TCSPC oder die Streakkamera detektiert und an einem Computer ausgelesen.

Besonders hohe Ansprüche müssen daher an die Systemstabilität des experimentellen Aufbaus gestellt werden. Neben einer langen Vorlaufzeit des Lasersystems (thermisches Gleichgewicht mit der Umgebung) bewirkt z.B. die obige Wahl der Brennweiten, dass das Bild der Probe um einen Faktor  $V = 2$  vergrößert auf den Eingangsspalt abgebildet wird ( $V = f_2/f_1 = 200/100 = 2$ ). Dies birgt den Vorteil, dass bei Eingangsspaltbreiten des Spektrometers von  $10 - 150 \mu\text{m}$  kleine Versetzungen des Anregestrahls innerhalb der Küvette (z.B. durch leicht unterschiedliche Positionierung der Küvetten oder durch einen geringfügigen örtlichen Drift des Lasers) die detektierte Emission in ihrer Intensität am Detektor unverändert bleibt. Der Spalt schneidet stets nur den mittleren Teil des gaußförmigen, homogenen und vergrößerten Strahlprofils aus. Dies ermöglicht den genauen Vergleich absoluter Intensitäten zwischen verschiedenen Proben. Wie später noch erläutert, ist der Vergleich von entscheidender Bedeutung für die Bestimmung der strahlenden Raten. Etwa  $1,59\%$  der isotrop in alle Richtungen emittierten Fluoreszenz werden auf den Eingang des Spektrometers abgebildet. Geeignete Spektralfilter (KV 470 bzw. OG 570) unterdrücken gestreutes Anregelicht oder OH-Ramanbanden von Wasser ( $0,4 \text{ eV}$  zur Wellenlänge des Lasers versetzt).

Als Anregequelle wird ein Titan-Saphir Laser (Coherent, Mira 900) verwendet. Er wird von einem Argon-Ionen Laser (Coherent, Sabre Innova) mit  $14 \text{ W}$  Dauerstrichleistung gepumpt, dessen Hauptemissionswellenlängen bei  $514 \text{ nm}$  und  $488 \text{ nm}$  liegen. Das Verstärkungsmedium des Ti:Sa Lasers ist ein mit Titan  $3^+$  Ionen dotierter Saphir ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) Kristall. Der kontinuierliche Pumpstrahl des Argonlasers erzeugt bei den Titanionen in diesem Kristall eine Besetzungsinversion. Im Resonator des Ti:Sa Lasers kann sich eine Vielzahl von longitudinalen Moden ausbilden. Diese Moden, bzw. stehende Wellen, sind durch die Resonatorlänge  $L$  bestimmt und haben einen Frequenzabstand von  $c/2L$ . Die Anzahl der longitudinalen Moden im Resonator ist durch die Verstärkungsbandbreite, d.h. wie gut der Kristall bei einer bestimmten Wellenlänge verstärkt, festgelegt. Sie sind unabhängig voneinander, besitzen also keine feste Phasenkorrelation. Der Laser arbeitet dann im cw-Modus ( $cw = \text{continuous wave}$ ) und emittiert kontinuierlich Laserstrahlung. Durch Verwendung eines Starters (schwingfähiges Periskop) kann für kurze Zeit eine Änderung der Resonatorlänge  $L$  hervorgerufen werden. Aufgrund dieser Störung schwingt zusätzlich eine Vielzahl an Moden an. Dabei überlagern sich einige der im Resonator umlaufenden Moden, interferieren und koppeln zu einer festen Phasenbeziehung (*engl. modelocking*). Es bilden sich Intensitätsspitzen aus, die bei jedem weiterem Umlauf und Propagation durch das Verstärkungsmedium weiter verstärkt werden. Ab einer gewissen Intensitätsschwelle wirkt

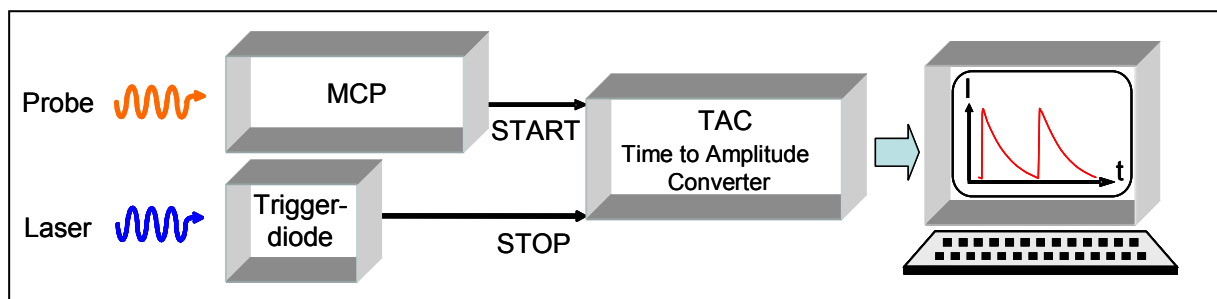
der Ti:Sa-Kristall dabei nicht mehr nur noch als Lasermedium, sondern führt aufgrund eines nichtlinearen Prozesses auch zu einer intensitätsabhängigen Selbstfokussierung – dem Kerr-Linsen-Modenkoppeln. Ein Spalt im Resonator wird nun so weit geschlossen, dass nur noch die vom Kristall fokussierten, hochenergetischen Pulse passieren können, weiter im Resonator umlaufen und verstärkt werden. Die kontinuierlichen Anteile der Laserstrahlung mit niedriger Intensität bleiben unfokussiert und werden vom Spalt geblockt. Es bildet sich ein stabiler Pulszug aus, dessen Repetitionsrate durch die Länge des Resonators gegeben ist und typischerweise  $75 - 80 \text{ MHz}$  beträgt. Bei jedem Pulsumlauf koppelt ein teildurchlässiger Spiegel etwa  $10 - 20 \%$  der Intensität aus dem Resonator aus. Das verwendete Lasersystem besitzt Pulsdauern von  $\sim 130 \text{ fs}$  und kann in seiner Emissionswellenlänge mittels eines dichroitischen Filters von  $700 \text{ nm}$  bis  $1000 \text{ nm}$  innerhalb der Verstärkungsbandbreite des Lasers kontinuierlich verändert werden.

Die energiereichen, ultrakurzen Pulse werden anschließend mit einem LBO ( $\text{LiNbO}_3$  – Lithium Niobat)-Kristall frequenzverdoppelt (*SHG = Second Harmonic Generation*, Erzeugung der zweiten Harmonischen Welle). Die Frequenzverdopplung basiert auf der Nichtlinearität der Polarisation des LBO-Kristalls <sup>[213]</sup>. Da der nichtlineare Anteil der Polarisation im Allgemeinen recht klein ist, sind lokal sehr hohe Feldstärken, wie sie die ultrakurzen Laserpulse besitzen, notwendig. Energie, Impuls, Kohärenz sowie die spektrale Halbwertsbreite des Laserlichtes bleiben bei diesem Prozess erhalten. Die Energieerhaltung bedingt, dass aus zwei Photonen mit einer Wellenlänge von z.B.  $800 \text{ nm}$ , ein einzelnes Photon der doppelten Energie, d.h. der Wellenlänge  $400 \text{ nm}$  entsteht. Der Impuls eines Photons ist durch die Ausbreitungsrichtung und den Betrag  $h/\lambda$  des Wellenvektors  $\vec{k}$  gegeben. Auch hier muss die Summe der Impulse der einfallenden Photonen gleich dem des frequenzverdoppelten, ausfallenden Photons entsprechen. Nach dem Huygenschen Wellenbild wird entlang des Strahls im Kristall an jedem Punkt Licht der doppelten Frequenz erzeugt. Die entstehenden Kugelwellen überlagern sich nach dem Superpositionsprinzip. Für konstruktive Interferenz müssen sich die Ausgangswelle und die entstehende Welle der zweiten Harmonischen im Kristall *in Phase* ausbreiten (*engl. phase matching*). Erst dann kann über die ganze Länge des Kristalls Energie von der fundamentalen in die harmonische Welle übergehen. Für die Frequenzverdopplung bedeutet dies, dass der Brechungsindex des Kristalls für beide Wellen gleich sein muss. In doppelbrechenden Kristallen, wie auch in dem verwendeten LBO-Kristall, ist der Brechungsindex abhängig von der Polarisation und der Ausbreitungsrichtung. Da die harmonische Welle senkrecht zur eingestrahnten Fundamentalen polarisiert ist, lässt sich diese Bedingung durch Änderung des Kristallwinkels erreichen. Die Konversionseffizienz liegt bei ca.  $5 - 6 \%$ . Dies bedeutet, dass ein Großteil des fundamentalen IR-Laserpulses hinter dem Kristall kollinear mit dem frequenzverdoppelten UV-Laserpuls propagiert.

#### 3.2.2 Zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen

Das zeitkorrelierte Einzelphotonenzählen – *TCSPC (Time Correlated Single Photon Counting)* zählt zu den Standardtechnologien für zeitaufgelöste Messungen im zweistelligen Pikosekundenbereich. Das hier verwendete System besitzt eine Zeitauflösung von  $35 \text{ ps}$  (*Becker+Hickl, TCP 300*). Von der Probe emittierte Photonen werden zunächst mit einer Photokathode in Elektronen konvertiert, mittels einer Mikrokanalplatte (*MCP = Micro Channel Plate*) vervielfacht und der resultierende Stromfluss detektiert. Die Korrelation zwischen Auftreffzeit des Photons und dem elektronisch detektierten Signal geschieht durch Triggerung des Detektors mit der Repetitionsrate des Lasers.

Betrachten wir zwei aufeinander folgende Laserpulse. Die optische Anregung der Probe durch *Puls 1* generiert Fluoreszenzphotonen. Das erste, durch solch ein Photon erzeugtes und detektiertes Elektron, startet im TAC (*engl. Time to Amplitude Converter*) durch gleichmäßiges Aufladen eines Kondensators eine lineare Spannungsrampe. *Puls 2* des Lasers trifft nun auf eine Triggerdiode, welches die Aufladung des Kondensators beendet und damit den Stoppimpuls für die Spannungsrampe liefert. Die Höhe der Rampe ist ein direktes Maß für die verstrichene Zeit zwischen detektiertem Photon und nachfolgendem Puls. Da das Startsignal durch das Photon der Probe, und nicht durch den Triggerpuls des Lasers ausgelöst wird, wird rückwärts aus der anliegenden Spannung auf den Zeitpunkt des Auftreffens des ersten Photons geschlossen. Der Kondensator wird auf diese Weise nur dann aufgeladen wenn auch wirklich ein Photon detektiert wird. Bei der hohen Repetitionsrate von  $76\text{ MHz}$  wäre es der Elektronik ansonsten nicht möglich, bei jedem Laserpuls den Kondensator aufzuladen und die Spannung auszulesen.



**Abb. 3.4** Funktionsweise eines Einzelphotonenzählers. Das erste eintreffende Photon der Probe startet die Spannungsrampe (TAC). Diese wird durch den darauf folgenden Impuls der Triggerdiode wieder gestoppt. Die Amplitude der Spannung ist ein direktes Maß für die Zeit des Ereignisses. Die Häufigkeit der Ereignisse als Funktion der Zeit wird an einem Computer dargestellt und gibt die Transiente wieder.

Die durchschnittliche Zahl der emittierten Photonen pro Laserpuls sollte weit unter  $1$  liegen. Denn zusätzliche Photonen, die innerhalb des gleichen Pulszyklus nach dem ersten Startphoton den Detektor erreichen, werden nicht mehr als Ereignis detektiert. Es gilt hier als Faustregel, dass pro Puls die Wahrscheinlichkeit ein Photon zu detektieren bei maximal  $1\%$  liegen sollte, um die Detektion später eintreffender Photonen nicht ungewollt zu unterdrücken.

Das Zählen einzelner Photonen kommt der Summation unkorrelierter, also unabhängiger Ereignisse gleich, und unterliegt einer Poissonverteilung. Der relative Fehler  $f$  der Messung sinkt deshalb mit der Zahl der Ereignisse  $N$  nach  $f = 1/(N)^{0.5}$ . Werden z.B.  $1000$  Photonen in einem Zeitkanal der Breite  $b = 35\text{ ps}$  detektiert, so liegt der relative statistische Fehler bereits bei nur noch  $\sim 3\%$ .

Geringfügige Schwankungen in der Linearität der Spannungsrampe können mit einer Weißlichtmessung (bei aktiver Lasertriggerung) erfasst werden. Da die Lichtquelle kontinuierlich arbeitet, ergibt sich als Zerfallskurve eine horizontale Linie, welche entsprechende Wellen und Unebenheiten aufgrund von Nichtlinearitäten aufweist. Die Mittelung vieler Weißlichtmessungen und anschließende Normierung bildet die Grundlage für die Korrekturkurve der Transiente.



#### 3.2.3 Streak Kamera

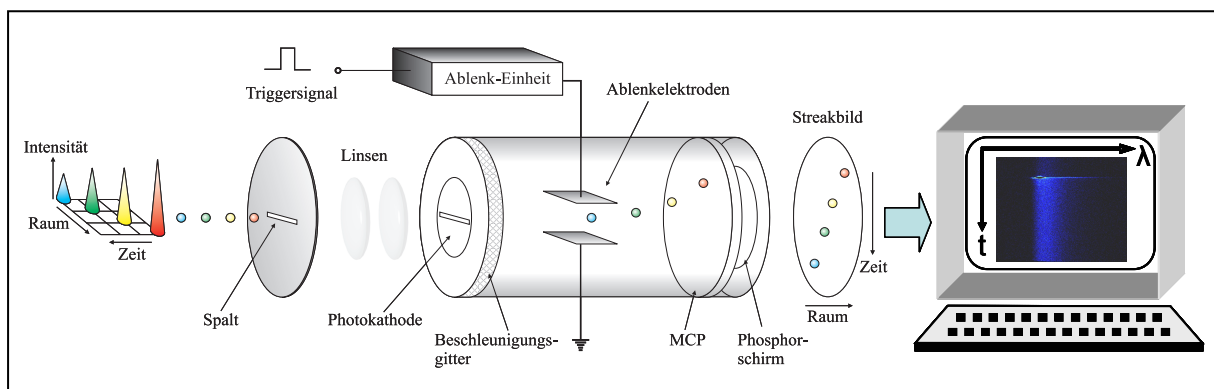
Die Zeitauflösung von Lichtdetektoren, welche auf rein elektronischer Basis arbeiten (z.B. TCSPC,  $\sim 35\text{ ps}$ ), ist unter anderem durch die endlichen Signallaufzeiten der verwendeten Elektronik sowie durch deren Schwankungen limitiert.

Liegt die Zerfallszeit von Emissionen weit unterhalb der Zeitauflösung solcher Detektoren, greift man häufig auf rein optische Methoden zurück. Die Fluoreszenz-Aufkonversion verwendet beispielsweise nichtlineare Kristalle und bedient sich der Summenfrequenzbildung zweier optischer Signale, wovon eines die Probenemission, das andere ein  $f_s$ -Laserpuls ist. Im Prinzip wird die Emission mit dem Laserpuls abgescannt. Die erreichbaren Zeitauflösungen sind dann nur noch durch die Pulslänge des verwendeten Lasersystems ( $10 - 130\text{ fs}$ ) limitiert <sup>[214]</sup>.

Die Streak Kamera füllt eine besondere Nische. Mit hochfrequenten elektrischen Feldern werden Elektronen, die aus den einfallenden Photonen generiert wurden, abgelenkt und auf einer Phosphorplatte förmlich *ausgeschmiert* (engl. *streak = schlieren, streifen, schmieren*). Zeitauflösungen von bis zu  $2\text{ ps}$  sind erreichbar.

Kombiniert mit den Messtechniken gibt es noch mathematische Entfaltungsmethoden, um die Zeitauflösung zu verbessern. Diese liefern aber nur bei hinreichend rauscharmen Transienten verwertbare Resultate <sup>[215-217]</sup>.

Betrachten wir Lichtpulse, die sich in Intensität und spektraler Lage unterscheiden, und lassen sie zeitlich versetzt auf den Eingangsspalt der Streak Kamera auftreffen (dargestellt als Punkte verschiedener Farbe in Abb. 3.5). Ein Linsensystem bildet die optischen Signale auf eine Photokathode ab. Entsprechend proportional zur Signalintensität werden Photoelektronen erzeugt, welche durch ein Gitter in Richtung MCP und Phosphorschirm beschleunigt werden. Dabei propagieren die Elektronen durch den Zwischenbereich zweier Ablenkplatten, an denen ein sinusförmig variierendes elektrisches Feld anliegt. Die Frequenz des Feldes wird durch die Repetitionsrate des Lasers bestimmt. Dies bedeutet, dass Elektronen zu verschiedenen Zeiten auch unterschiedlich stark durch das jeweilig herrschende elektrische Feld vertikal abgelenkt werden. Die elektrische Feldänderung sollte möglichst linear sein. Deshalb wird nur der Bereich um den Nulldurchgang der Sinuskurve zur Ablenkung der Elektronen verwendet. Die vertikal im Raum verteilten Elektronen treffen auf die Mikrokanalplatte und werden um einen Faktor von maximal  $3 \cdot 10^3$  vervielfacht. Ein dahinter befindlicher Phosphorschirm erzeugt erneut durch den Elektroneneinschlag Photonen, die dann mittels einer CCD-Kamera detektiert werden. Der Datensatz einer Streakmessung zeigt entlang der Ordinate die Zeitachse, während die Abszisse entweder eine räumliche (Spiegel im Spektrometer) oder spektrale Verteilung (Gitter im Spektrometer) darstellt (siehe z.B. Abb. 6.2).



**Abb. 3.5** Aufbau der Streakröhre. Photonen, welche sich in ihrer Ankunftszeit und spektralen Lage unterscheiden, lösen in der Photokathode zunächst Elektronen aus, welche anschließend durch das in der Röhre oszillierende elektrische Feld in räumlich verschiedene Orte auf den Phosphorschirm abgelenkt werden. Zeitauflösungen von  $\sim 2\text{ ps}$  sind damit erreichbar.

Es sei an dieser Stelle bemerkt, dass Licht in Wasser (Brechungsindex  $n = 1,33$ ) und im sichtbaren Spektralbereich für eine Strecke von  $2,3 \text{ mm}$  eine Laufzeit von etwa  $10 \text{ ps}$  benötigt. In Anbetracht der maximalen Zeitauflösung der Streak Kamera von  $2 \text{ ps}$ , darf die räumliche Ausdehnung des vom Laser angeregten Probenvolumens nicht größer als  $460 \mu\text{m}$  sein. Ansonsten schlagen sich Laufzeitunterschiede der Fluoreszenz innerhalb des Probenvolumens längs der Detektorebene negativ auf die Zeitauflösung nieder.

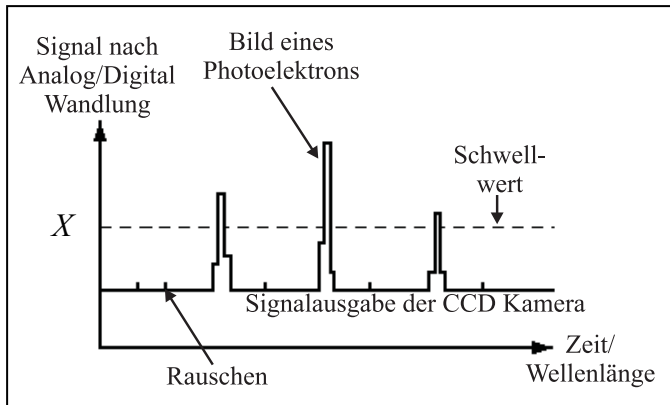
Für schwache Signalintensitäten besitzt die Streak Kamera einen Modus, der vergleichbar mit der Methode des Einzelphotonenzählens ist. Man erreicht dies durch eine geeignete Schwellwertsetzung, welche Doppelereignisse und Untergrundsignale unterbindet. Da ein Großteil der erfassten Daten der gesamten Arbeit mit dieser Einstellung durchgeführt wurde und insbesondere die Gesamteffizienz der Detektion in Kapitel 6 noch eine Rolle spielen wird, seien die wichtigsten Eckdaten kurz erläutert.

Doppelereignisse: Das von der Mikrokanalplatte verstärkte Elektronensignal eines ursprünglich *einzelnen* Photons erzeugt eine lokalisierte Intensitätsverteilung auf dem Phosphorschirm. Die weitere Abbildung auf die dahinter befindliche Pixelmatrix der CCD überdeckt damit mehrere Pixel. Die Bildverarbeitungssoftware erlaubt es, aus dieser Verteilung jedoch sehr genau den Schwerpunkt und damit den exakten, tatsächlichen Auftreffpunkt des Photons zu bestimmen. Es wird anschließend als ein *einzelnes* Ereignis registriert. Betrachten wir jetzt *zwei* Photonen. Falls sich die Abbildungen der Intensitätsverteilungen auf der CCD überlappen sollten, werden sie als ein einziges Signal registriert, obwohl das Signal von zwei verschiedenen Photonen stammt. Die Wahrscheinlichkeit für ein solches Doppelereignis muss daher so gering wie möglich gehalten werden. Bei der Streak gilt daher die Faustregel, dass pro Auslesevorgang der CCD maximal nur  $1 - 5 \%$  aller Bildpunkte belichtet sein sollten (Schwellwert  $S$ ). Jedoch nicht, um wie beim TCSPC die Detektion später eintreffender Photonen zu unterdrücken, sondern um mögliche Doppelereignisse auf dem CCD-Chip zu verhindern. Die Wahrscheinlichkeit von Doppelereignissen ist direkt korreliert mit der Fluoreszenzintensität, also besonders hoch zu Beginn der Transienten. Werden Doppelereignisse nicht berücksichtigt ist ein künstlich verlängerter Fluoreszenzzerfall die Folge, da hohe Intensitäten in der Detektion untergewichtet werden. Erfahrungswerte haben gezeigt, dass es effizienter ist, den Schwellwert nicht anhand des gesamten CCD-Bereichs zu bestimmen, sondern nur an relevanten Stellen mit hoher Signalintensität. Hieraus definiert sich die maximal verwendbare Anregeleistung. Im Photonenzähl-Modus der Streak wird die Belichtungszeit der CCD so gering wie möglich eingestellt, aber dafür sehr oft ausgelesen (typischerweise  $56 \text{ ms} * 50000$ ).

Untergrundsignale: Am Messsystem werden bereits ohne Probe Photonen an der CCD-Kamera detektiert, die in *internes* oder *externes* Rauschen zu klassifizieren sind. Durch eine weitere Schwellwertsetzung können Hintergrundsignale dieser Art (= Dunkelrauschen) fast vollständig unterdrückt werden.

Als internes Rauschen werden jene Signale bezeichnet, die innerhalb des Messsystems entstehen. Hierzu zählen beispielsweise das Ausleserauschen vom A/D-Wandler der CCD-Kamera oder Elektronen, die sich ohne auftreffendes Photon bereits thermisch aus Photokathode (Hochspannung!) gelöst haben. Der Mittelwert  $N$  über viele Einzelmessungen ( $56 \text{ ms}$ ) beträgt bei *geschlossenem* Eingangsspalt und maximal angelegter Hochspannung etwa  $300$  Ereignisse pro Pixel. Dieser Wert ist nahezu konstant und wird vornehmlich durch die Wandler-Elektronik hervorgerufen. Anhand dieser Messung kann nun ein Schwellwert  $X$  gesetzt werden. Dieser Schwellwert dient dazu, dass die Kamera nur Photonen detektiert, die tatsächlich von extern einkoppeln (Abb. 3.6).  $X$  wird durch den Mittelwert  $N$  und zusätzlich additiv durch den sechsfachen Wert der Standardabweichung  $\sigma$  definiert <sup>[218]</sup>.

Mit externem Rauschen beschreibt man an der CCD detektierte Photonen, welche von außen über den Strahlengang auf den Detektor gelangen, aber nicht von der Probe stammen. Der experimentelle Aufbau zeigt in der Regel bei einer 50000-fachen Integration von Einzelmessungen mit 56 ms etwa  $1,49 \cdot 10^6$  Ereignisse (Photonen), eine einzelne 56 ms Messung dauernde weist damit im Schnitt etwa 30 detektierte Photonen auf (für die gesamte CCD-Matrix mit aktiver Schwelle  $X$ ). Diese können durch eine Messung mit *offenem* Spalt ohne Probe immer erfasst werden.



**Abb. 3.6** Schwellwertsetzung der Streakkamera, um internes Rauschen vom Signal einfallender Photonen zu trennen. Der Schwellwert  $X$  entsteht durch die Mittelung vieler Einzelmessungen und zusätzlicher Berücksichtigung der sechsfachen Standardabweichung.

Die Aufsammeleffizienz des gesamten experimentellen Aufbaus setzt sich in gleicher Weise aus internen und externen Verlusten (bezüglich der Streak Kamera) zusammen. Externe Verluste hinsichtlich der emittierten Fluoreszenz sind der Raumwinkel, den die Linsen abdecken, die Abschwächung durch Reflexionen an Linsen und Filtern und deren verdoppelnde Abbildung des Probenvolumens mit einer Breite von  $\sim 1000 \mu\text{m}$  auf einen Eingangsspalt des Spektrometers von  $10 \mu\text{m}$ . Zusammen mit internen Verlusten im Spektrometer ergibt sich ein externer Verlustfaktor von circa  $2 \cdot 10^{-5}$ .

Interne Verluste (Streak) ergeben sich durch einen orthogonal zum Spalt des Spektrometers senkrecht stehenden Eingangsspalt der Streak Kamera ( $15 \mu\text{m}$  vertikaler Breite). Weitere Verluste entstehen durch die Einkoppeloptik zwischen Spektrometer und Streak Kamera, der Photokathodeneffizienz, dem Beschleunigungsgitter sowie dem Öffnungsverhältnis der MCP Kanäle zu den Zwischenräumen. Die Elektronenverstärkung des MCP (Faktor  $\sim 3000$ ) kompensiert jedoch einen Großteil der internen Verluste, so dass die Streak Kamera eine Effizienz von etwa  $\sim 0,1$  besitzt <sup>[218]</sup>.

Für die verwendete Geometrie des Aufbaus und Komponentenwahl ergibt sich eine Totaleffizienz von etwa  $2 \cdot 10^{-6}$ . Die Systemvermessung mit einer kalibrierten Weißlichtlampe gestattet wie beim TCSPC die experimentellen Daten von der wellenlängenabhängigen Geräteantwortfunktion zu befreien.

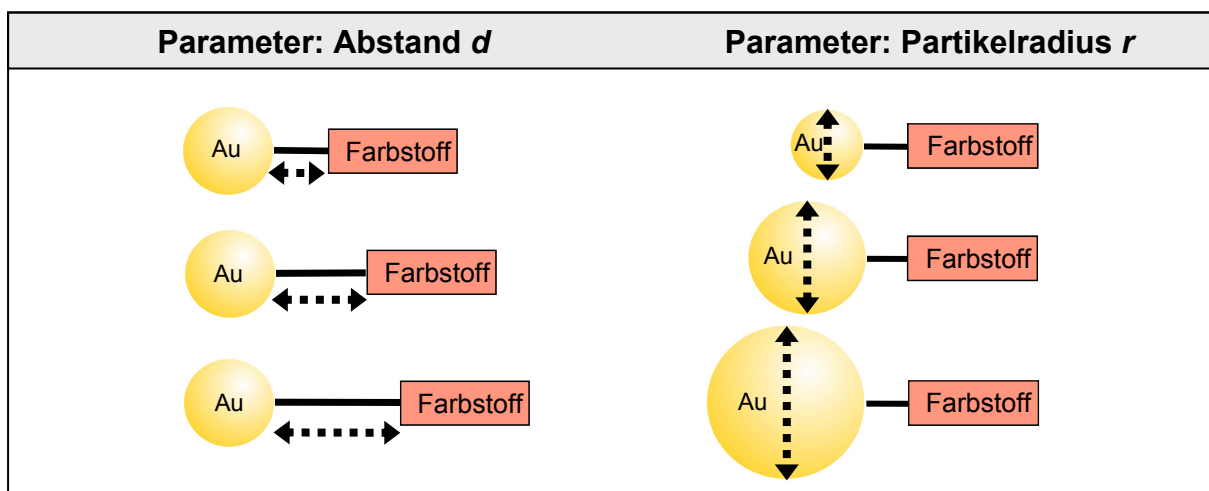


## 4 Hybride Nanopartikel-Farbstoff Systeme

Da der Energie-Transfer zwischen Molekül und Gold Nanopartikel stark vom intermediären Abstand und auch der Partikelgröße abhängt, benötigt man ein hohes Maß an Kontrolle und Präzision über die Proben. Das Ziel der Synthese ist es, ein möglichst einfaches und kontrollierbares Mustersystem herzustellen, an dem die fundamentalen Wechselwirkungen zwischen Farbstoff und Nanopartikel erfassbar sind. Um zu sehen, wie sich die optischen Eigenschaften des Farbstoffs unter der Wechselwirkung mit dem Nanopartikel ändern, werden zu Beginn dieses Kapitels zunächst die Einzelkomponenten des Hybridsystems charakterisiert.

Die Synthese und Charakterisierung der Einzelkomponenten (Kap. 4.1-3) sowie Methoden zum Nachweis der erfolgreichen Bindung zwischen Goldpartikel und Farbstoff (Kap. 4.4), sind also der Inhalt dieses Kapitels. Die Hybridsysteme werden letztendlich in zwei Serien vorliegen: 1) Farbstoffe, gebunden an Nanopartikeln *verschiedener Radien* und 2) Farbstoffe, gebunden an Nanopartikeln in *unterschiedlichen Abständen*. Abbildung 4.1 illustriert dies schematisch. Der Übersichtlichkeit wegen ist nur ein Farbstoff pro Partikel dargestellt. Alle Proben befinden sich in wässriger Lösung.

Zur Realisierung der Hybridsysteme wird auf verschiedene Farbstoffe zurückgegriffen (Kap. 4.3). Damit sollten aber auch zugleich erste Interpretationen hinsichtlich der Ratenabhängigkeit vom spektralen Überlapp erkennbar sein.



**Abb. 4.1** Die zwei untersuchten Parameter der Hybridsysteme: Partikelgrößen und Abstand der Farbstoffe zum Partikel. Das Ziel der Synthese ist es, ein einfaches Mustersystem von Nanopartikel-Farbstoff Hybriden herzustellen. Die zwei Parameter werden systematisch und unabhängig voneinander variiert. Die Partikeloberfläche kann bis zur vollständigen Bedeckung mit einer beliebigen Anzahl von Farbstoffen versehen werden. Der Anschaulichkeit halber ist in der Abbildung nur ein einzelner Farbstoff pro Partikel dargestellt.

Nach der Synthese werden in Kapitel 5 die Ergebnisse der zeitaufgelösten Messungen analysiert und mit theoretischen Modellvorhersagen verglichen. Es wird sich zeigen, dass sich durch die Variation der Parameter (Abstand, Partikelgröße) die strahlenden und nichtstrahlenden Raten vehement ändern. In den zeitintegrierten Fluoreszenzmessungen des vorliegenden Kapitels zeichnet sich dies bereits ab.

### 4.1 Nanopartikel

#### 4.1.1 Synthese

Die Herstellung von Gold Nanopartikeln in wässriger Lösung geht in den meisten Fällen auf die Methode von Turkevich zurück <sup>[219]</sup>. Goldsalz ( $\text{HAuCl}_4$ ), welches in siedendem Reinstwasser gelöst ist, wird durch das Zugabe eines Reduktionsmittels reduziert. Das Reduktionsmittel ist zugleich Stabilisator. Das Goldsalz konglomeriert zu Clustern, aus denen sich mit der Zeit Partikel herausbilden. Die endgültige Größe der Nanopartikel ist eine Funktion der Temperatur, der Reaktionszeit und insbesondere der Konzentration des Reduktionsmittels. Eine hohe Konzentration führt zu vielen kleinen Nanopartikeln, da sich eine Vielzahl an Aggregationskeimen ausbildet. Entsprechend geringe Konzentrationen ergeben wenige, dafür jedoch größere Nanopartikel.

Gold zeigt eine hohe Eigenaffinität und zählt damit zu den am schwierigsten in Lösung stabilisierbaren Materialien. Das Maß der Affinität wird durch die sogenannte Hamaker-Konstante erfasst <sup>[220]</sup>. Um der Aggregation entgegenzuwirken, werden Reduktionsmittel eingesetzt, welche eine z.B. negativ geladene organische Schicht auf der Partikeloberfläche ausbilden. Die Partikel erfahren dadurch eine gegenseitige Abstoßung. Dieser Stabilisator (bzw. das Reduktionsmittel) hat für die Partikel-Farbstoff Hybridsysteme zwei Voraussetzungen zu erfüllen:

- a) Er darf keine Eigenfluoreszenz besitzen, die mit der des später verwendeten Farbstoffes spektral überlappt.
- b) Der Farbstoff muss bei der Zugabe zu den Gold Nanopartikeln die Stabilisatoren von der Partikeloberfläche verdrängen. Die Bindungsenergie der Farbstoffterminierung hat daher größer zu sein, als jene des Stabilisators.

Von der Vielzahl möglicher Stabilisatoren (Tanninsäure, Zitronensäure, Natrium-Bor-Hydrid, Phenyl-Phosphine,...) bleibt als einziger Kandidat, der obige Bedingungen erfüllt die Zitronensäure <sup>[221]</sup>. Sie besitzt im sichtbaren Spektralbereich keine messbare Absorption und Fluoreszenz und ist nur relativ schwach an die Goldoberfläche gebunden <sup>[222]</sup>. Die verwendeten Partikelgrößen mit  $r = 1 - 30 \text{ nm}$  stammen aus verschiedenen Quellen. Gold Nanopartikel (zitratstabilisiert,  $r > 10 \text{ nm}$ ) werden von der Firma *BBI* <sup>[223]</sup> bezogen, kleinere Nanopartikel ( $r = 1 \text{ nm}, 2,5 \text{ nm}, 6 \text{ nm}$ ) werden am *Max-Planck-Institut (MPI) für Kolloid- und Grenzflächenforschung* <sup>[224]</sup> synthetisiert. Nanopartikel mit  $r = 6 \text{ nm}$  können mit einer, nach Gittins, leicht modifizierten Turkevich-Rezeptur <sup>[225]</sup> mit Zitronensäure hergestellt werden. Die Methode wurde am Lehrstuhl Feldmann übernommen, die Syntheseschritte finden sich im Anhang C.

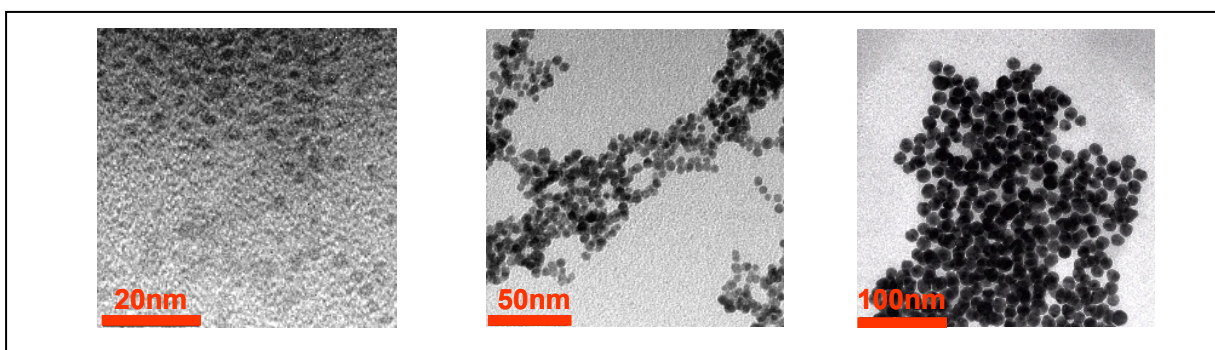
Die kleinsten Partikel können nur mit  $\text{NaBH}_4$  als sehr starkes Reduktionsmittel hergestellt werden. Da dieses aber organische Verbindungen auflöst, muss es nach der Partikelsynthese mit einer mehrtägigen Dialyse wieder durch Zitronensäure ausgetauscht werden.

Für die Synthese der Hybridproben mit DNA-Strängen als Abstandhalter (Kap. 4.4.2) werden sehr kleine Reaktionsvolumina benötigt. Die Partikellösungen werden daher durch zentrifugieren verdichtet. Die Konzentration kann nicht beliebig erhöht werden, denn die Zitronensäure zählt, wie bereits erwähnt, zu den schwachen Stabilisatoren. Eine Anleitung zur Partikelverdichtung findet sich ebenfalls im Anhang C.

Für die Hybridsysteme stehen somit Gold Nanopartikel zur Verfügung, deren Radien sich um mehr als eine Größenordnung unterscheiden; eine gute Voraussetzung, um aussagekräftige Ergebnisse über den Energie-Transfer als Funktion der Partikelgröße zu erhalten.

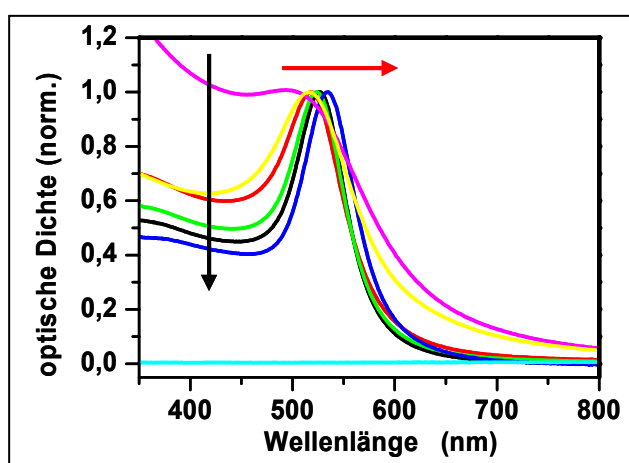
### 4.1.2 Charakterisierung

Gold Nanopartikel von *BBI* besitzen nach Herstellerangaben eine Größenverteilung von 10 – 15 %. Die Größendispersion der Gold Nanopartikel vom *Max-Planck Institut für Kolloidforschung* können mit TEM-Bilder (Transmissions-Elektronen-Miskroskop) statistisch ausgewertet werden. Die Analyse von 100 Partikeln der kleinsten Sorte (siehe Abb. 4.2, links) ergibt einen mittleren Durchmesser von etwa  $2,3 \pm 0,3 \text{ nm}$ . Die Größenverteilung der MPI-Partikel ist vergleichbar mit denen kommerzieller Hersteller und liegt ebenfalls bei 10 - 15 %. Durch Dialyse- oder Zentrifugungsverfahren kann eine weitere Größenselektion stattfinden.



**Abbildung 4.2:** TEM-Aufnahmen von Gold Nanopartikeln mit Durchmessern von 2 nm, 5 nm und 12 nm. Durch eine statistische Auswertung werden die mittlere Partikelgröße und dessen Dispersion bestimmt.

Abbildung 4.3 zeigt normierte Extinktionsspektren von Gold Nanopartikeln verschiedener Radien. Die Plasmonresonanz zwischen 510 - 535 nm ist deutlich erkennbar und weist eine Rotverschiebung mit ansteigender Partikelgröße auf (roter Pfeil). Die Spektren der zwei kleinsten Partikel zeigen eine ungewöhnlich breite Resonanz, da hier Oberflächenstreuungen schon signifikant zur Plasmondämpfung beitragen (Kap. 2.1.3). Während Interbandübergänge in Partikellösungen unterschiedlicher Größe als radiusunabhängig betrachtet werden können, steigt mit zunehmender Partikelgröße das Übergangsdipolmoment des Plasmons (Kapitel 2). Auch dies ist in den Messungen experimentell bestätigt. Die Intensität der Interbandübergänge sinkt im Vergleich zur Intensität der normierten Plasmonresonanz (schwarzer Pfeil).



**Abb. 4.3** Normierte Extinktionsspektren von Gold Nanopartikeln verschiedener Größe in wässriger Lösung. Mit zunehmender Partikelgröße findet eine Rotverschiebung der Resonanz (roter Pfeil), sowie ein Ansteigen des Übergangsdipolmomentes des Plasmons (schwarzer Pfeil, das Intensitätsverhältnis von Plasmonresonanz zu Interbandübergängen steigt mit dem Radius). Die Spektren der zwei kleinsten Partikelsorten (pink, gelb) erfahren durch Oberflächenstreuungsprozesse eine weitere Resonanzverbreiterung. Dargestellte Partikelradien: 1 nm = pink, 2,5 nm = gelb, 6 nm = rot, 15 nm = grün, 20 nm = schwarz und 30 nm = blau. Zum Vergleich ist die Absorption des Stabilisators (Zitronensäure = türkis) dargestellt.

Die Messung der optischen Dichte gestattet die Bestimmung der Partikelkonzentration  $n$ . Hierzu wird der theoretisch berechnete Extinktionskoeffizient  $\sigma_{ext}$  eines *einzelnen* Partikels (Mie-Theorie, Gl. 2.13) mit dem experimentellen Ergebnis der optischen Dichte  $OD$  eines *Ensembles* in Gleichung 3.1 eingesetzt. Die optische Dichte wird bei allen Partikelgrößen stets bei 520 nm bestimmt (Industriestandard).



Die Partikelkonzentrationen können somit, unabhängig vom Hersteller, immer direkt miteinander verglichen werden. Die experimentell bestimmten Partikelkonzentrationen liegen in derselben Größenordnung, wie die Herstellerangaben kommerzieller Gold Nanopartikel ( $r = 10, 15, 20, 30 \text{ nm}$ ). Allerdings sind die experimentell bestimmten Werte um 17 - 33 % geringer. Die Abweichungen entstehen durch Partikelverluste, die als Niederschlag an den Vorratsglasflaschen im Laufe der Lagerung sichtbar werden <sup>[226]</sup>. Die Partikelkonzentrationen sollten daher vor jeder Probensynthese bestimmt werden. Abbildung 4.4 zeigt die Partikelkonzentrationen tabellarisch und als doppellogarithmische graphische Darstellung. Die Gerade fällt kubisch mit dem Radius, denn für alle Partikelgrößen wird bei der Synthese stets das gleiche Massenverhältnis von Goldsalz zu Lösungsmittel angesetzt.

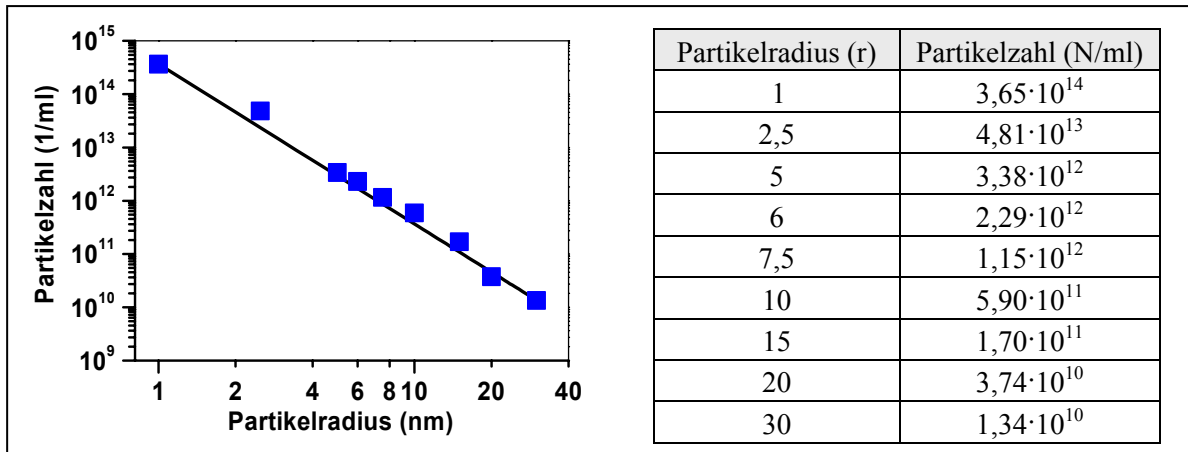


Abb. 4.4 Partikelkonzentrationen (1/ml) tabellarisch und als doppel-logarithmische Auftragung gegen den Radius. Die Gerade fällt kubisch mit dem Radius, da bei der Turkevich-Synthese aller Partikelgrößen stets die gleiche Goldsalzkonzentration verwendet wird, die Masse der Partikel aber kubisch mit ihrem Radius ansteigt.

## 4.2 Abstandshalter

Ein Molekül, welches an eine Substratoberfläche binden soll, wird in seiner Funktionalität in drei Bereiche eingeteilt: die funktionelle Gruppe (Kopfgruppe), der Abstandshalter und die Ankergruppe (Abb. 4.5). Die funktionelle Gruppe kann eine Endgruppe sein (z.B. Molekül), an der keine weitere Bindung mehr möglich ist, oder eine chemisch reaktive Gruppe zur weiteren Funktionalisierung. Die Chemie der Ankergruppe wird in Abhängigkeit des Oberflächenmaterials gewählt.

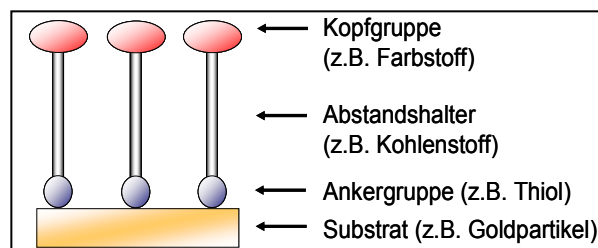


Abb. 4.5 Einteilung einer organischen Schicht in drei Bereiche: Kopfgruppe, Abstandshalter und eine Ankergruppe. Das Substrat kann entweder ein planarer Film oder eine sphärische Oberfläche (Nanopartikel) sein.

Es gibt keinen universellen Abstandshalter, der eine zuverlässige Variation über mindestens eine Größenordnung gewährleistet. So zeigen Kohlenstoffketten ab einer Länge von 16 - 18 C-Atomen eine Tendenz sich zu verbiegen und verlieren damit ihre definierte Länge <sup>[227-232]</sup>. Zur Abstandsrealisierung kommen daher zwei verschiedene Materialien zum Einsatz: Kohlenstoffketten für kurze Abstände (bis zu 3,5 nm) und DNA-Stränge für größere Abstände (bis zu 18 nm).



### 4.2.1 Ankergruppen

Alle in dieser Arbeit verwendeten Abstandshalter besitzen eine Schwefelgruppe, welche die Bindung an die Goldoberfläche bewerkstelligt. Von den Schwefelverbindungen zeigen Thiole ( $R-SH$ ), Disulfide ( $R-S-S-R$ ) und Thioether ( $R-S-R$ ) hohe Affinitäten und Bindungsenergien  $BE$  zu Gold ( $R$  = Restgruppe) <sup>[230, 231]</sup>.

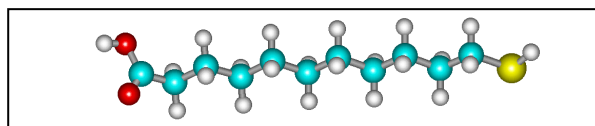
Während bei Thioethern und Disulfiden der Schwefel durch die Restgruppen  $R$  abgesättigt ist und deswegen nur eine koordinative Bindung zum Gold eingeht ( $BE = 20 - 50 \text{ kJ/mol}$ ), kann das Thiol durch Abspaltung des Wasserstoffs kovalent an die Goldoberfläche binden <sup>[233, 234]</sup>. Die  $BE$  ist die höchste und liegt bei etwa  $120 \text{ kJ/mol}$ . Für die Funktionalisierung von metallischen Oberflächen wie z.B. der Selbstorganisation geordneter, molekularer Monolagen ( $SAM = \text{Self-Assembled Monolayers}$ ) sind Thiole aus diesem Grund die am häufigsten eingesetzte chemische Ankergruppe <sup>[235-238]</sup>. Praktisch alle anderen gebräuchlichen funktionellen Ankergruppen ( $-NH_2$ ,  $-OH$ ,  $-COOH$ ,  $-CN$ , ...) zeigen eine um Größenordnungen geringere Wechselwirkung mit der Goldoberfläche. Die Affinität der Schwefelverbindungen zu Gold ist derart hoch, dass Verunreinigungen oder andere organische Schichten durch Zugabe von Thiolen oder Thioethern vollständig von der Oberfläche verdrängt werden <sup>[239-242]</sup>. Das ist von entscheidender Bedeutung für das Goldpartikel-Farbstoff Hybridsystem, da der Stabilisator der Gold Nanopartikel den Bindungsgruppen des Farbstoffankers weichen muss <sup>[243, 244]</sup>.

Die Nomenklatur für verschiedene Abstandshalter wird wie folgt definiert: Farbstoffe mit Kohlenstoffketten werden zu  $-C_{XX}$  und Farbstoffe mit DNA-Einzelsträngen zu  $-DNA_{XX}$  bezeichnet. Der Index  $XX$  steht für die Zahl der Kohlenstoffatome bzw. Basen in der Kette.

### 4.2.2 Alkyl-Ketten

Kohlenstoffketten, auch als Alkyl-Ketten bezeichnet, gehören zur Familie der gesättigten Kohlenwasserstoffe (*Alkane*). Man bezeichnet damit chemische Verbindungen, deren Moleküle nur aus Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen bestehen. Die formale Summenformel des Alkans lautet  $C_nH_{2n+2}$ . Von Interesse sind insbesondere die *azyklischen* Alkylverbindungen. Das sind Verbindungen ohne Ringschluss, deren Kette eine lineare Anreihung gebundener Methylengruppen ( $CH_2$ ) ist. *Alkyle* entstehen formal durch den Entzug von mindestens einem H-Atom aus dem Alkan. Dies tritt z.B. bei der Funktionalisierung der Kettenenden ein. Dabei werden die beiden äußeren H-Atome der Kette durch funktionelle Gruppen ersetzt. Im Gegensatz zu den *Alkenen* enthält ein Alkyl nur Einfachbindungen. Es besitzt deswegen auch kein delokalisiertes Elektronensystem, welches der Kette eine elektrische Leitfähigkeit via Ladungstransport geben könnte <sup>[245]</sup>. Abbildung 4.6 zeigt die Strukturformel einer mit Carboxyl- ( $-COOH$ ) und Thiol-Gruppen ( $-SH$ ) funktionalisierten Kohlenstoffkette.

**Abb. 4.6** 3D-Simulation der Struktur einer funktionalisierten Alkyl-Kette bestehend aus 11 Kohlenstoffatomen ( $C_{11}$ ) mit Thiol- und Carboxylterminierung. Farbcode: rot = O, türkis = C, weiß = H, gelb = S.



Die räumliche Struktur der Kette wurde mit dem Softwareprogramm *HyperChem* modelliert. Aus der Simulation (semi-empirische Kraftfeldrechnung) lässt sich die Größenausdehnung und Struktur der Ketten sowie der Farbstoffe berechnen. Hieraus ermittelt sich der Abstand des molekularen  $\pi$ -Elektronensystems zur Oberfläche des Gold Nanopartikels. Insgesamt werden vier verschiedene Kohlenstoffkettenlängen zum Einsatz kommen ( $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_{11}$ ,  $C_{16}$ ).

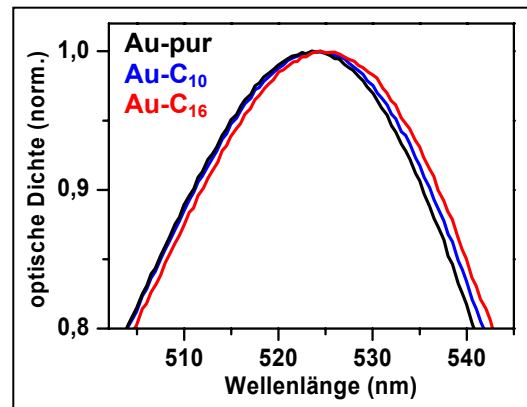
Der Abstand zum Partikel wird nicht alleine von der Kette, sondern auch von der Struktur des Farbstoffs und dem Vorhandensein chemischer Rand- und Bindungsgruppen bestimmt. In Tabelle 4.1 ist dies berücksichtigt. Die Simulationsergebnisse spiegeln daher den Abstand vom Zentrum des  $\pi$ -Systems bis zur Schwefelgruppe wider. Er wird später als Eingabeparameter des GN-Modells eingehen.

Kohlenstoffkette [-C <sub>xx</sub> ]	Abstand $\pi$ -System zu Schwefel [Å]
-C <sub>2</sub>	10,0
-C <sub>3</sub>	17,5
-C <sub>11</sub>	28,0
-C <sub>16</sub>	36,0

**Tab. 4.1** Abstand von der Oberfläche eines Nanopartikels (Thiolgruppe) bis zur Mitte des  $\pi$ -Systems des Farbstoffes.

In Kapitel 2.1 bereits diskutiert, hängt die spektrale Lage der Plasmonresonanz nicht nur vom Material und der Geometrie des Partikels, sondern auch stark vom Brechungsindex des umgebenden Mediums ab. Die Sensitivität der Plasmonresonanz auf die unmittelbare Umgebung des Partikels kann als Nachweis der erfolgreichen Bindung der Abstandshalter an die Nanopartikel verwendet werden.

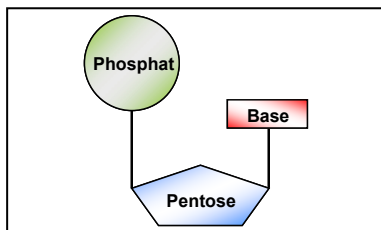
Verschiedene Kettenlängen bilden *unterschiedlich dicke Alkyl-Schichten* auf dem Nanopartikel aus. Der Brechungsindex des umgebenden Mediums wird damit eine Funktion der Kettenlänge und die Plasmonresonanz sollte eine Rotverschiebung zeigen. Abbildung 4.7 vergleicht die spektrale Lage der Plasmonresonanz von Nanopartikeln mit Radius  $r = 15 \text{ nm}$  gegen solche, bei denen C<sub>10</sub> bzw. C<sub>16</sub> thiolterminierte Alkyl-Ketten hinzugesetzt wurden. Die Verschiebung der Plasmonresonanz von  $\sim 0,7 \text{ nm}$  für die kürzere bzw.  $\sim 1,6 \text{ nm}$  für die längere Kette bestätigt die Bindung an die Goldoberfläche. Farbstoffe mit Aminoterminierung (-NH<sub>2</sub>) werden über die eine Peptidbindung an die Carboxylgruppen (-COOH) der Abstandshalter gebunden. Die genauen Syntheseschritte finden sich in Anhang C.



**Abb. 4.7** Abhängigkeit der spektralen Lage der Plasmonresonanz vom der Länge adsorbierter HS(C)<sub>n</sub>COOH Ketten. Je länger die Kette, umso größer ist die Rotverschiebung des Resonanzmaximums (C<sub>10</sub>  $\sim 0,7 \text{ nm}$ , C<sub>16</sub>  $\sim 1,6 \text{ nm}$ ) und ist ein Nachweis für die Bindung an das Partikel.

### 4.2.3 DNA-Ketten

Die Struktur der DNA (engl. *Desoxyribo-Nuclein-Acid*) wurde 1953 von James Watson und Francis Crick entschlüsselt <sup>[246]</sup>, die 1962 dafür den Nobelpreis erhielten. Als Träger der genetischen Erbinformation, stellt sie den Grundbaustein allen Lebens dar.

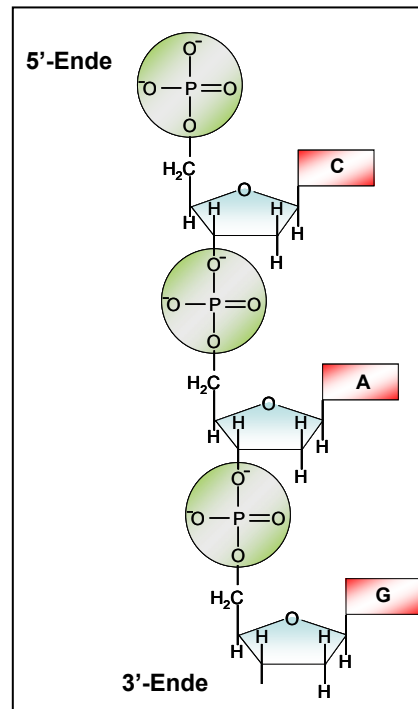


**Abb. 4.8** Bausteine des Nukleotids. Die Base trägt die Erbinformation, die Pentose (Zucker) und die Phosphatgruppe definieren die Struktur.

Die DNA ist ein lineares Polymer aus zahlreichen Nukleotiden, welche jeweils aus einer Base, einem Monosaccharid und einer Phosphatgruppe bestehen. Die Basen der DNA tragen die genetische Information, während die Zucker- und Phosphatgruppen eine strukturelle Aufgabe erfüllen. Häufig bezeichnet man den Zucker mit der Phosphatgruppe deshalb auch als DNA-Rückgrat (engl. *DNA backbone*). Insgesamt sind in der DNA nur vier verschiedene Basen (Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin = A, C, G und T) enthalten.

Jede Base ist chemisch an der Zuckergruppe zu sogenannten *Nukleosiden* verknüpft, während die Phosphatgruppen die Zuckermoleküle der verschiedenen *Nukleotide* miteinander verbinden (Abb. 4.8). Nach dem Modell von Watson und Crick ist die DNA aus zwei gegenläufigen DNA-Einzelsträngen aufgebaut.

Jeder Einzelstrang hat ein 5'- und ein 3'-Ende. Am 5'-Ende befindet sich ein Phosphatrest, am 3'-Ende eine OH-Gruppe. An jeder Phosphatgruppe befindet sich eine negative Ladung, der Einzelstrang ist also eine poly-anionische Kette (Abb. 4.9). Der Doppelstrang besitzt eine Strickleiterstruktur, bei der die zwei Holme der Leiter um eine gedachte Achse schraubenförmig gewunden sind (Doppelhelixstruktur). Die beiden Holme der Strickleiter sind das DNA-Rückgrat und die Sprossen der Strickleiter bestehen aus je zwei Basen (Basenpaar), die über Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sind (A-T mit Doppel-, G-C mit Dreifachbindungen). Die Basenpaare werden von den komplementären Basen Adenin und Thymin sowie Cytosin und Guanin gebildet. Der Zucker besteht aus 5 Kohlenstoffatomen, weswegen er auch meist nur als Pentose bezeichnet wird<sup>[247, 248]</sup>. Die Länge eines Stranges kann anhand der Zahl der Basen bestimmt werden. In der gestreckten, linearen Konformation ist bei der Doppelhelix entlang eines Stranges der Abstand zweier Basen  $\sim 0,34 \text{ nm}$ . Bei einem Einzelstrang sind wegen der fehlenden Bindungen zur komplementären Kette die Zugkräfte entlang der Kette geringer und der Basenabstand steigt auf  $\sim 0,43 \text{ nm}$ <sup>[249, 250]</sup>.



**Abb. 4.9** Der Aufbau eines DNA-Einzelstranges mit der Basensequenz Guanin, Adenin und Cytosin. Die Nukleotide sind über die negativen Phosphatgruppen verbunden (nach [247]).

In der vorliegenden Arbeit werden *DNA-Einzelstränge* (engl. *ss-DNA*, *ss* = *single stranded*) verwendet. Als Abstandshalter besitzen Einzelstränge gegenüber Doppelsträngen Vorteile, die im Folgenden kurz erwähnt werden.

Als ‚Schmelzen‘ bezeichnet man den Prozess, wenn bei Zuführung thermischer Energie die Basenbindungen eines Doppelstranges (Wasserstoffbrücken) aufbrechen und er in seine Einzelstränge zerfällt. Ein Einzelstrang als Abstandshalter kann nicht schmelzen, denn in diesem Sinne ist er es bereits. Der Schmelzpunkt der Kette ist von der Basenzahl abhängig. So liegen Doppelstränge mit 10 Basenpaaren bei Raumtemperatur meist in geschmolzener Form vor<sup>[251]</sup>.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Fluoreszenzunterdrückung von Farbstoffen via Energie-Transfer zum Gold Nanopartikel. Die DNA-Abstandshalter sollten, analog zu den Kohlenstoffketten, deshalb *elektrisch isolierend* sein, um eine Fluoreszenzunterdrückung aufgrund eines eventuellen Ladungstransfers durch den Strang auszuschließen. Gegenüber Doppelsträngen sind Einzelstränge praktisch nicht leitend<sup>[252]</sup>. Man führt dies auf das Fehlen der Wasserstoffbindungen zwischen den Basen der komplementären Stränge zurück. Das gängige Modell zur Beschreibung der Leitfähigkeit von DNA-Strängen basiert auf dem Überlapp der  $\pi$ -Orbitale von benachbarten Basenpaaren<sup>[253]</sup>. Dies führt zur Ausbildung molekularer Bänder durch die DNA. So konnte nachgewiesen werden, dass irreguläre Basenpaarsequenzen oder einzelne Fehlstellen die Leitfähigkeit durch eine Doppelhelix erheblich reduzieren<sup>[253, 254]</sup>. Doppelstränge werden daher zur Fluoreszenzauslöschung von Farbstoffen via Elek-

tronentransfer verwendet <sup>[254-260]</sup>. Bei Einzelsträngen fehlt die Mehrfachbindung zur komplementären Base, die gegenseitige Entfernung der Basen entlang der Kette ist zudem etwa 20 % größer. Eine vollständige Konjugierung entlang der Kette und ein Ladungstransport sind damit unwahrscheinlich. Tunnelprozesse auf Distanzen von 4 - 15 nm können ebenso ausgeschlossen werden <sup>[254, 259]</sup>.

DNA-Einzelstränge liegen strukturell gesehen nicht gestreckt, sondern vielmehr relativ undefiniert geknäult und flexibel vor. Wie kann man also überhaupt Einzelstränge als Abstandshalter mit fester Länge verwenden?

Vereinfacht ausgedrückt muss man sie zu einer gestreckten Konformation zwingen. Ähnlich zu selbstorganisierten molekularen Monoschichten (*SAM = Self-Assembled Monolayers*) können DNA Einzelstränge sich durch ihre gegenseitige Abstoßung strecken und ausrichten. Die Konzentration muss nur genügend hoch, d.h. der gegenseitige Abstand der Stränge genügend klein sein. Zudem muss die DNA über funktionalisierte Gruppen an eine Oberfläche verankert sein.

Parak et al. konnten mit Gel-Elektrophorese-Messungen zeigen, dass thiolterminierte Einzelstränge gerichtete Bindungen auf der Oberfläche von Gold Nanopartikeln ( $r = 5 \text{ nm}$ ) eingehen <sup>[261]</sup>. Der Einzelstrang ist durch die kovalente Bindung der Ankergruppe an der Goldoberfläche immobilisiert. Die hohe Affinität des Thiols zum Gold führt dazu, dass so viele Einzelstränge als möglich an die Partikeloberfläche binden. Abstoßungskräfte zwischen den negativen Ladungen der Phosphatgruppen zweier benachbarter Stränge favorisieren die gestreckte Geometrie der Einzelstränge auf der Partikeloberfläche.

Die Stärke der gegenseitigen Ausrichtung ist damit eine Funktion des Oberflächenbedeckungsgrades. Für eine vollständig gestreckte Form ist eine beinahe komplette Bedeckung der Partikeloberfläche notwendig. Wegen der Krümmung der Partikeloberfläche nehmen die Abstoßungskräfte an den äußeren Kettenbereichen jedoch ab. Die Wechselwirkung ist dennoch stark genug, dass Einzelstränge bis zu einer Basenzahl von 30 ~ 35 noch gestreckt auf Nanopartikel vorliegen <sup>[261]</sup>.

Die verwendeten DNA-Einzelstränge besitzen 8 bzw. 43 Basen und werden von der Firma *Metabion* bezogen <sup>[262]</sup>. Die Sequenzen der Stränge (Reihenfolge der Basen A, C, G, T) sind so gewählt, dass der Strang keine Bindungen mit sich selbst eingeht <sup>[263, 264]</sup>. Sie sind am 5'-Ende mit einer Thiolgruppe funktionalisiert, während am 3'-Ende der Farbstoff CY5 (Kap. 4.3) bereits gebunden ist.

Tabelle 4.2 gibt eine Übersicht der Abstände zwischen Gold Nanopartikel und Farbstoff mit DNA-Ketten. Die Ergebnisse gehen vom  $\pi$ -System des Farbstoffes bis zur SH-Gruppe. Die SH-Gruppe und dessen C<sub>6</sub>-Kohlenstoffkette geben stets einen additiven Abstand (0,9 nm), der in Tabelle 4.2 bereits berücksichtigt ist.

Der angegebene Abstandsbereich resultiert aus unterschiedlichen Bedeckungen der Oberfläche. Der Wert 0 bedeutet, dass ein einzelner Strang auf dem Partikel liegt, und damit kein Abstand zwischen Gold Nanopartikel und Farbstoff vorhanden ist. Bei vollständiger Bedeckung sind die Ketten in einer gestreckten Form (max. Wert). Die Bindung der DNA-Stränge an die Partikeloberfläche kann ebenfalls durch eine spektrale Rotverschiebung der Plasmonresonanz nachgewiesen werden.

**Tab. 4.2**

Zahl der Basen [-DNA <sub>xx</sub> ]	Abstand $\pi$ -System zu Schwefel [Å]
DNA <sub>8</sub>	0 - 43,4
DNA <sub>43</sub>	0 - 193,9

### 4.3 Farbstoffe

Nachdem in den vorangegangenen Unterkapiteln die verschiedenen Größen der Gold Nanopartikel sowie die aus Kohlenstoff- oder DNA-Ketten bestehenden Abstandshalter diskutiert wurden, wenden wir uns jetzt den Farbstoffen zu. Um die grundlegenden Wechselwirkungen von Nanopartikel und Molekül verstehen zu können, muss der Farbstoff als Donor in einem Energie-Transfer System gewisse Voraussetzungen zu erfüllen.

1. Ein spektraler Überlapp zwischen der Donorfluoreszenz und Absorption des Partikelplasmons.
2. Ein einfach-exponentieller Zerfall in wässriger Lösung. Die Verwendung von Donatoren, wie z.B. *II-VI* Partikel, *GFP* oder Polymere, welche mehrfach-exponentielle Zerfallszeiten aufweisen, gestaltet die Dateninterpretation nur unnötig kompliziert.
3. Die Fluoreszenzlebensdauer darf wegen der Repetitionsrate des Lasers von *80 MHz* nur wenige Nanosekunden betragen.

#### 4.3.1 Verwendete Farbstoffe

Zum Studium der Partikel-Farbstoff-Wechselwirkung werden Farbstoffe ausgewählt, welche die oben genannten Voraussetzungen erfüllen. Zwei verschiedene Rhodamine (*Tetra-Methyl-Rhodamin*), (*Lissamin-Rhodamin-Sulphonyl-Chlorid*) und Cyanin (*Cyanin-5-monofunktionalisiertes NHS-Ester*).

Abbildung 4.10 zeigt die molekularen Strukturen und molaren Massen der Farbstoffe sowie jene Parameter des Hybridsystems, welche in Kapitel 5 untersucht werden. Die bisherige Nomenklatur zur Kennzeichnung der verschiedenen Abstandshalter wird jetzt um die Farbstoffbezeichnung erweitert. Die Farbstoff-Abstandshalter-Systeme werden im Folgenden nur noch als LISS-C<sub>2</sub>, TAMRA-C<sub>XX</sub> und CY5-DNA<sub>XX</sub> bezeichnet.

LISS besitzt eine C<sub>2</sub>-Kette mit Thioether-Terminierung (C<sub>2</sub>-S-C<sub>2</sub>). Die Kette ist bereits an den Farbstoff gebunden. LISS-C<sub>2</sub> wurde von Stefano Levi an der Universität von Twente, Makromolekulare Chemie synthetisiert <sup>[233, 265]</sup>. An TAMRA befindet kein Abstandshalter. Diese müssen erst noch an den Farbstoff gebunden werden. Der Farbstoff sowie die Thiol-Alkane werden von den Firmen *Molecular Probes* und *Sigma-Aldrich* bezogen <sup>[266, 267]</sup>. Die Bindung der Ketten an den Farbstoff wird mittels einer zweistufigen Synthese (Peptidbindung) durchgeführt (Anhang C). CY5 wird mit fertig gebundenem, thiolterminiertem DNA-Strang von der Firma *Metabion* bezogen <sup>[262]</sup>. Das delokalisierte  $\pi$ -Elektronensystem ist in Abbildung 4.10 rot dargestellt.

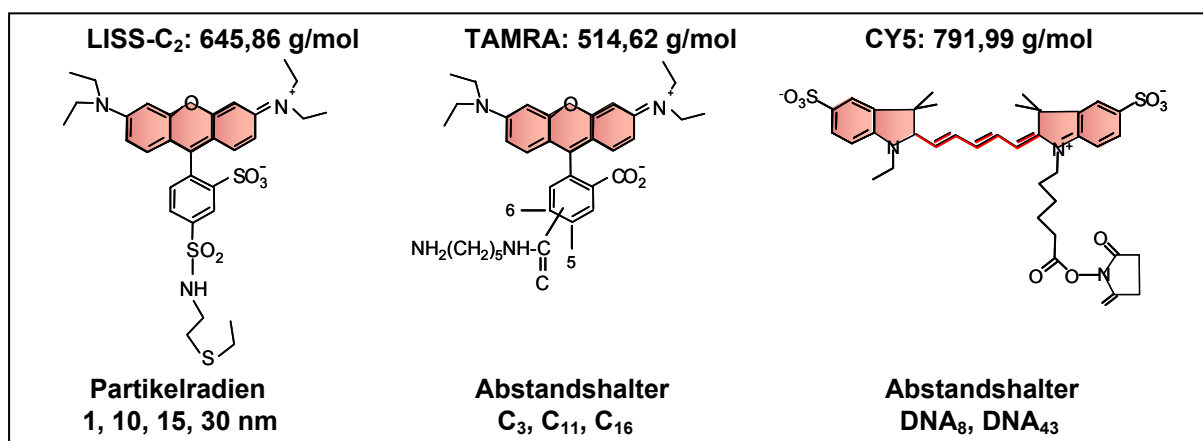


Abb. 4.10 Molekulare Massen, chemische Struktur und Verwendung der in dieser Arbeit eingesetzten Farbstoffe.

Der Bindungsstelle für den Abstandshalter ist bei LISS und TAMRA durch einen weiteren Benzolring räumlich vom  $\pi$ -System getrennt. Bei TAMRA befindet sich noch eine zusätzliche  $C_5$ -Kette, an dessen Ende sich eine Aminogruppe ( $NH_2$ ) für die Peptidbindung der  $C_3$ -,  $C_{11}$ - und  $C_{16}$ -Ketten befindet. Solche Zwischenketten werden eingesetzt, um eine sterische Behinderung während der Peptidsynthese zu vermeiden. Die  $C_5$ -Kette kann sich an zwei verschiedenen Positionen (Abb. 4.10 als 5 und 6 gekennzeichnet) des unteren Benzolrings befinden. Bei selbstorganisierten molekularen Monoschichten ist jedoch weniger die Orientierung der Abstandskette, sondern insbesondere die Kopfgruppe für die Ausrichtung entscheidend. Umso größer der Abstand von Kopf- zu Ankergruppe ist, desto unwesentlicher ist die genaue Position der Bindung <sup>[227, 228, 268, 269]</sup>.

CY5 zählt zu den Cyanin-Farbstoffen. Diese bestehen aus zwei räumlich getrennten Benzolringen, welche durch eine konjugierte  $C_5$ -Kette (alternierende Einfach-Doppelbindungen) verbunden sind. Der Name rührt von der Cyan-Gruppe (CN), die sich unmittelbar neben den Benzolringen befindet. Die gesamte Konjugationslänge ist größer als bei TAMRA oder LISS. Absorption und Emission sind damit spektral rot verschoben. In Abbildung 4.10 besitzt CY5 eine  $C_6$ -Zwischenkette, an dessen Ende sich ein Aktivester für die Anbindung der DNA-Einzelstränge befindet.

In Kapitel 5 wird LISS- $C_2$  zur Untersuchung der optischen Eigenschaften von Hybridsystemen mit verschiedenen Partikelgrößen eingesetzt, während bei TAMRA- $C_{xx}$  und CY5-DNA $_{xx}$  die Abstände zwischen Farbstoff und Nanopartikel geändert werden.

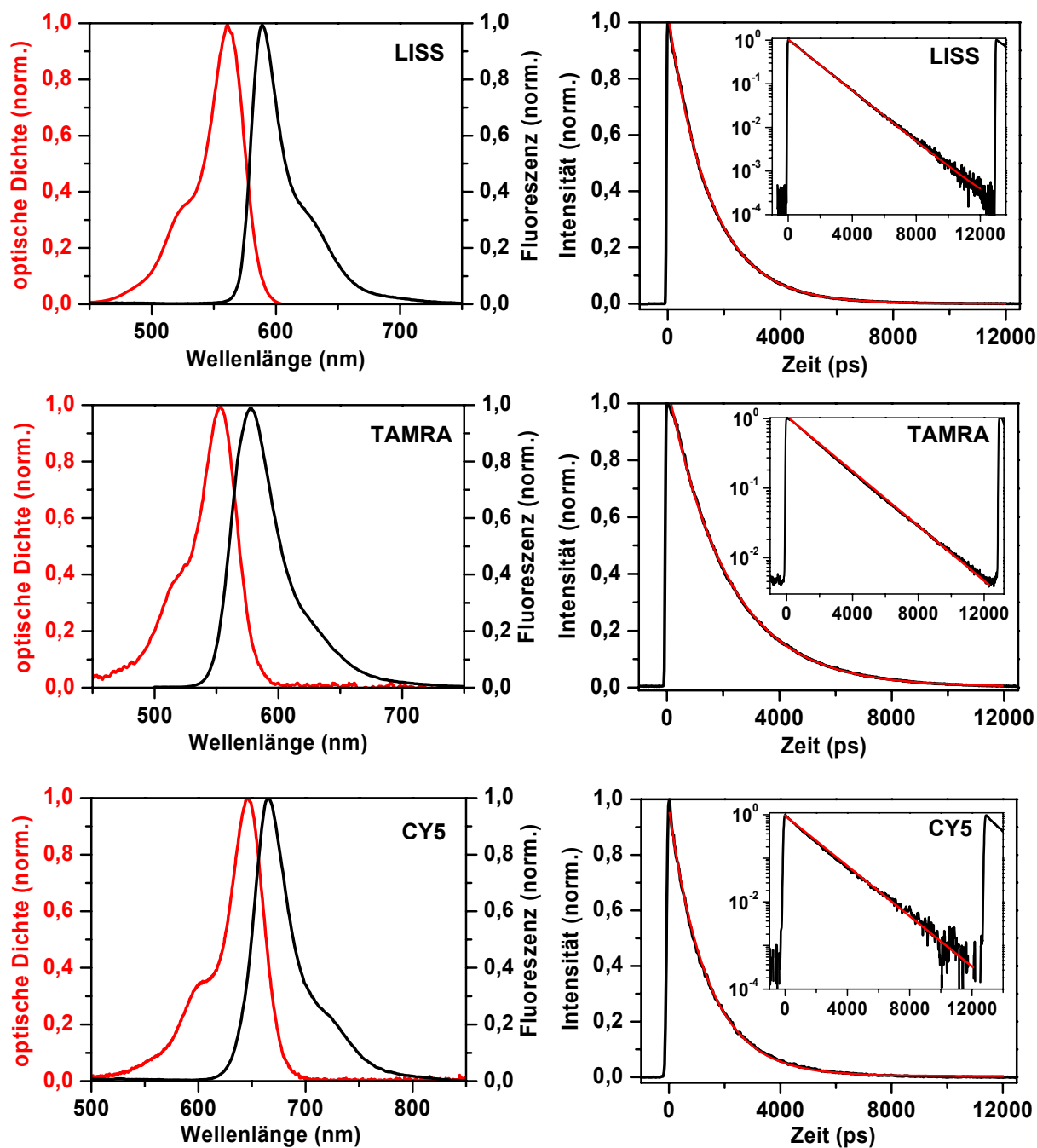
### 4.3.2 Charakterisierung

Es werden die Farbstoffe vor der Hybridisierung mit den Goldpartikeln charakterisiert. Von Interesse ist vor allem die Lebensdauer der Farbstoffe, da gemessene Änderungen der Zerfallszeit im Hybrid-system auf Interaktionen zwischen Goldpartikel und Farbstoff schließen lassen. In Abbildung 4.11 sind Absorption, Fluoreszenz und Lebensdauer dargestellt. Im Gegensatz zu Abbildung 4.10 befinden sich an allen Farbstoffen gebundene Abstandshalter, um deren möglichen Einfluss auf die Fluoreszenz-lebensdauer (z.B. durch Änderung der Mobilität des Farbstoffs) zu berücksichtigen.

Die Absorption und Emission von TAMRA und LISS ist wegen der strukturellen Verwandtschaft sehr ähnlich. Das Emissionsmaximum von TAMRA bei  $578\text{ nm}$  ist im Vergleich zur Emission von LISS um  $10\text{ nm}$  zu kürzeren Wellenlängen verschoben. Der Stokesshift ( $24,6\text{ nm}$ ) ist etwas größer als von LISS ( $19,5\text{ nm}$ ). CY5 emittiert bei  $666\text{ nm}$  und hat einen Stokesshift von  $\sim 20\text{ nm}$ . Die am TCSPC Detektor gemessenen Transienten ergeben Lebensdauern von  $1,54\text{ ns}$ ,  $2,09\text{ ns}$  und  $1,39\text{ ns}$  für LISS, TAMRA und CY5. Tabelle 4.3 listet die gemessene Lebensdauer, die Quantenausbeute und die verwendeten Abstandshalter mit deren Terminierungen auf.

**Tab. 4.3**

Farbstoff	Lebensdauer	Quantenausbeute	Abstandshalter
LISS	1540 ps	0,33 <sup>[157]</sup>	$C_2$ , Thioether
TAMRA	2090 ps	0,23 <sup>[270]</sup>	$C_3$ , $C_{11}$ , $C_{16}$ , Thiol
CY5	1390 ps	0,25 <sup>[271]</sup>	DNA $_8$ , DNA $_{43}$ , Thiol



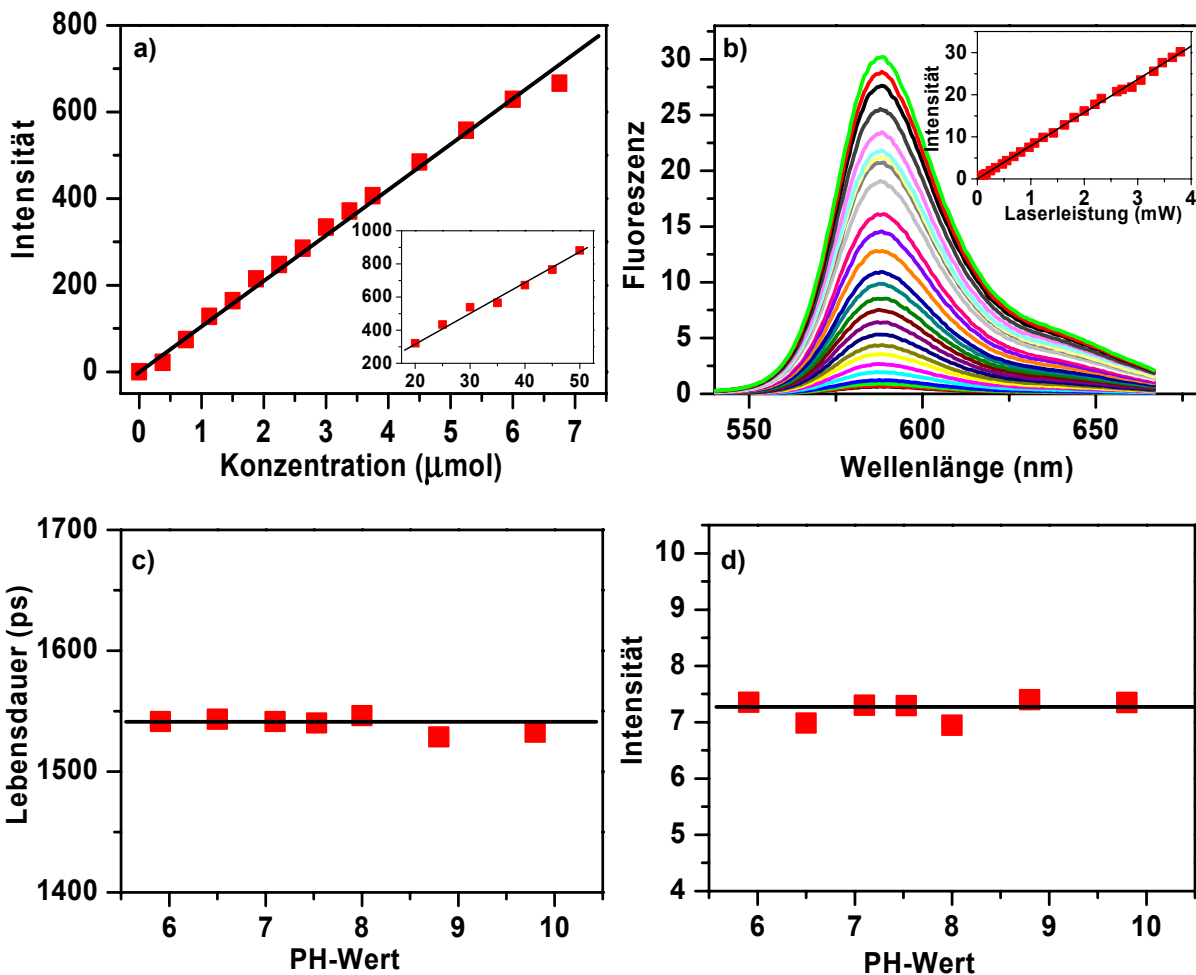
**Abb. 4.11** Extinktions- und Emissionsspektren, sowie die Transienten der drei verwendeten Farbstoffe. Die Fluoreszenzlebensdauern (gemessen mit dem TCSPC) ergeben sich aufgrund des einfach-exponentiellen Zerfalls zu  $\tau_{LISS} = 1540 \text{ ps}$ ,  $\tau_{TAMRA} = 2090 \text{ ps}$  und  $\tau_{CY5} = 1390 \text{ ps}$ . Die Zerfallszeiten der reinen Farbstofflösungen sind unabhängig von der Länge des Abstandshalters.

Bei der Untersuchung des Hybridsystems soll sichergestellt werden, dass die *einzig*e Änderung der optischen Eigenschaften des Farbstoffes im Hybridsystem durch die Wechselwirkung mit dem Gold Nanopartikel hervorgerufen wird. Die Farbstoffe werden daher als Funktion der Konzentration, der Laserleistung und des PH-Werts charakterisiert.



Abbildung 4.12 zeigt die Ergebnisse exemplarisch für LISS-C<sub>2</sub>. Das lineare Ansteigen der integrierten Fluoreszenzintensität in Graph a) bestätigt, dass Farbstoffkonzentrationen, wie sie für die Synthese der Hybride notwendig sind, zu keiner Sättigung in Fluoreszenz führen. Selbst für hohe Konzentrationen steigt die Fluoreszenz linear an (kleine Abb.: niedrigere Detektorempfindlichkeit). Ein lineares Verhalten findet sich ebenso als Funktion der Laserleistung (Abb. 4.12b)).

Der pH-Wert der Lösungen verschiedener Partikelgrößen variiert zwischen 6,0 – 7,4. Unterschiedliche pH-Werte können, je nach Farbstoff, zu einer Protonierung der am  $\pi$ -System sitzenden Randgruppen führen. Die Fluoreszenzlebensdauer und –intensität ändern sich dadurch <sup>[272]</sup>. Graph c) und Graph d) in Abbildung 4.12 zeigt, dass eine Änderung des PH-Wertes keinen signifikanten Einfluss auf die Fluoreszenzintensität oder der Lebensdauer der Farbstoffe hat. Man kann dies auf die Stabilität der Randgruppen der verwendeten Farbstoffe zurückführen. So ist der Farbstoff Fluoreszein beispielsweise gänzlich ungeeignet, da dessen Hydroxy-Randgruppen (OH) in wässriger Lösung leicht dissoziieren. Änderungen im pH-Wert schlagen sich unmittelbar in der Fluoreszenzintensität und –lebensdauer nieder <sup>[270, 273, 274]</sup>.



**Abb. 4.12** Die integrierte Fluoreszenzintensität von LISS-C<sub>2</sub> zeigt als Funktion der Farbstoffkonzentration keine Sättigung. In a) sind Farbstoffmengen gezeigt, wie sie für die Synthese der Hybridsysteme üblich sind. Selbst für hohe Konzentrationen (kleine Abbildung, niedrigere Empfindlichkeit des Detektors) steigt die Fluoreszenz linear mit der Farbstoffmenge. b) Ein lineares Verhalten findet sich auch als Funktion der Laserleistung. Eine laserinduzierte Photodegradation kann ausgeschlossen werden. c), d) Die Fluoreszenzintensität und die Lebensdauer zeigen keine signifikante Abhängigkeit vom pH-Wert des Lösungsmittels.



### 4.4 Hybridsysteme

In den vorangegangenen Unterkapiteln wurden die Einzelkomponenten (Nanopartikel, Farbstoffe und Abstandshalter), welche für das Hybridsystem nötig sind, diskutiert und charakterisiert. Es wird nun das Hybridsystem, bestehend aus Farbstoffen, welche nun *auf der Partikeloberfläche gebunden* sind, untersucht. Es ist insbesondere von Interesse Kenntnis darüber zu erlangen, mit welcher Farbstoffkonzentration ein spezifischer Grad an Oberflächenbedeckung des Nanopartikels erreicht wird. Hierzu wird eine Serie von Hybridsystemen mit ansteigender Farbstoffkonzentration synthetisiert. Dies ist in zweierlei Hinsicht von Bedeutung:

Da die gebundenen Farbstoffe durch den Energie-Transfer zum Goldpartikel sehr viel schwächer fluoreszieren, als eine gleich konzentrierte Lösung ungebundener Farbstoffe, sollte das *ideale* Hybridsystem nur aus partikelgebundenen Farbstoffen bestehen. Werden bei der Synthese zu hohe Farbstoffkonzentrationen verwendet, so sind die Nanopartikel zwar abgesättigt, die experimentellen Daten jedoch von der Hintergrundfluoreszenz freier Überschussfarbstoffe dominiert.

Durch eine Konzentrationsserie bietet sich zudem die Möglichkeit, einen Einfluss zu erfassen, der die Interpretation der experimentellen Daten im Rahmen eines Energie-Transfers verfälschen könnte: Den möglichen Interaktionen zwischen den Molekülen. Es besteht die Möglichkeit eines Energie-Transfers zwischen den (identischen) Farbstoffen, welcher als *Homotransfer* bekannt ist. Dicht gepackte Farbstoffe können aber auch mit ihren nächstgelegenen Farbstoff-Nachbarn dimerisieren. Geänderte Absorptions- und Fluoreszenzspektren sowie Lebensdaueränderungen sind die Folge. Eine ausführliche Behandlung dieser unerwünschten „Nebeneffekte“ findet sich in Anhang B.

#### 4.4.1 Oberflächenbedeckung mit Alkyl-Ketten

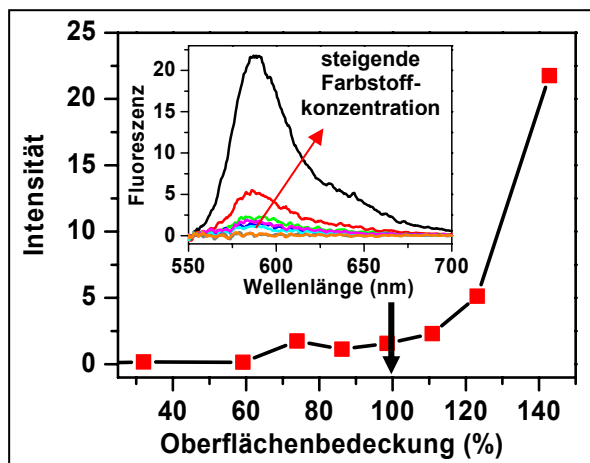
Ladungsneutrale, thiolterminierte Kohlenstoffketten binden in sehr kurzer Zeit effizient an Goldoberflächen. So ist nach nur *40 Sekunden* bereits *80 %* und nach *600 Sekunden* die Goldoberfläche vollständig bedeckt [275, 276]. Während bei Filmen die Ketten förmlich auf eine kontinuierliche Goldwand treffen, unterscheidet sich eine Lösung von Nanopartikeln dahingehend, dass die beiden Bindungspartner sich zunächst „finden“ müssen. Für die Synthese des Hybridsystems haben sich daher weitaus längere Reaktionszeiten von mindestens *24 Stunden* (unter ständigem leichtem Rütteln) gut bewährt [124]. Es konnte nachgewiesen werden, dass thiolterminierte Farbstoffe selbst auf Nanopartikeln eine geordnete Struktur ausbilden, die ähnlich ist, wie auf Metallfilmen [122]. Da die zugegebenen Farbstoffmengen für die endgültigen Hybridsysteme unterhalb der vollständigen Oberflächenbedeckung der Partikel liegen, ist eine anschließende Reinigung der Hybridlösungen, um Überstandsfarbstoffe zu entfernen, nicht notwendig.

Die geometrischen Ausmaße des Farbstoffs, die Länge des Abstandshalters, als auch die Oberflächenkrümmung des Partikels entscheiden über die Fläche, den ein einzelner Farbstoff auf dem Partikel einnimmt. In der Literatur finden sich Werte von  $0,2 \text{ nm}^2$  für kleine Goldpartikel ( $r = 1 \text{ nm}$ ) [277] bis zu  $1,1 \text{ nm}^2$  auf flachen Goldfilmen [199].

Betrachten wir LISS oder TAMRA, so geht aus einer Simulation mit *HyperChem* hervor, dass die Kopfgruppen (Farbstoffe) längs ihres  $\pi$ -Systems eine Ausdehnung von  $\sim 1,3 \text{ nm}$  einnehmen. Nehmen wir an, der Farbstoff könne auf der Partikeloberfläche rotationssymmetrisch um seine Ankergruppe rotieren, so entspräche dies einer Fläche von  $(0,65)^2 \cdot \pi \sim 1,3 \text{ nm}^2$ . Lediglich bei sehr kleinen Partikeln führt die starke Oberflächenkrümmung dazu, dass die Kopfgruppen zwar tangential zur Partikeloberfläche orientiert sind, zueinander jedoch einen relativ großen Winkel einnehmen. Die Kopfgruppe

verliert damit an Bedeutung und für den Platzbedarf auf dem Partikel wird die Ausdehnung der Thiolgruppe entscheidend. Die Farbstoffkonzentration für eine *spezifische* Oberflächenbedeckung ergibt sich aus der Kenntnis der gesamten Oberfläche *aller* Partikel und der benötigten Fläche eines *einzelnen* Farbstoffes.

Von experimenteller Seite kann der Bedeckungsgrad durch Konzentrationsserien überprüft werden. Detektiert wird die Fluoreszenz des Hybridsystems. Ungebundene Farbstoffe erleiden keinen Energie-Transfer und zeigen eine ungelöschte Fluoreszenz. Das Hybridsystem, ab der mehr Farbstoffe enthalten sind als die Partikeloberfläche binden kann, sollte in ihrer die Fluoreszenzintensität sprunghaft ansteigen. Ausgehend von  $\sim 1 \text{ nm}^2$  als benötigte Fläche, errechnet sich die Farbstoffkonzentration an LISS-C<sub>2</sub> für eine vollständige Bedeckung der Nanopartikel mit Radius  $r = 15 \text{ nm}$  mit einer optischen Dichte  $OD = 0,9$  zu  $c = 0,761 \text{ }\mu\text{M}$ . Der Bedeckungsreihe in Abbildung 4.13 zufolge steigt die Fluoreszenz ab einer entsprechenden Partikeloberfläche von 110 - 120 % tatsächlich stark an.



**Abb. 4.13** Der steile Anstieg der Fluoreszenz ab etwa 110 % deutet auf eine vollständige Bedeckung der Partikel ( $r = 15 \text{ nm}$ ) hin. Da die Partikeloberfläche mit Farbstoffen saturiert ist, steigt bei einer weiteren Erhöhung der Farbstoffkonzentration nur noch die Zahl ungebundener Farbstoffe. Da diese keinem Energie-Transfer unterliegen, ist ihre Fluoreszenz ungelöscht und damit weitaus stärker als die Emission der oberflächengebundenen Farbstoffe. Der schwarze Pfeil markiert die berechnete Totalbedeckung, ausgehend von einem Platzbedarf von  $1 \text{ nm}^2$  für einen einzelnen Farbstoff. Der sprunghafte Anstieg der Fluoreszenz ist ebenfalls in den Spektren zu sehen (kleine Abbildung).

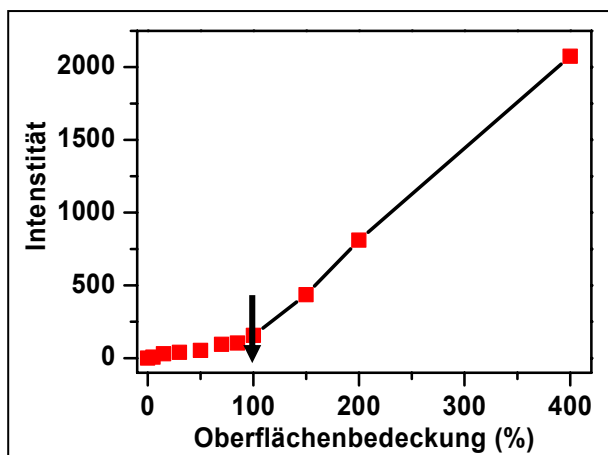
Nach Abb. 4.13 wird etwa 15 % mehr Farbstoff benötigt, als rechnerisch vorhersagt (schwarzer Pfeil). Die Abweichung kann auf die, gegenüber Thiolen, schwächere Bindung der Thioether zurückgeführt werden. Es stellt sich daher ein chemisches Gleichgewicht zwischen gebundenen und frei in Lösung befindlichen Farbstoffen ein. Ein geringer Anteil der Farbstoffe bleibt also stets in Lösung. Die zeit aufgelösten Messungen von Kapitel 5 werden dies bestätigen. Letztendlich benötigt man etwas mehr als die rechnerischen 100 %, für die volle Bedeckung der Partikel. Der steile Fluoreszenzanstieg ist ein Nachweis dafür, dass die gebundenen Farbstoffe in starker Wechselwirkung mit dem Partikel stehen.

Als Vergleich zeigt Abbildung 4.14 eine weitere Konzentrationsserie, diesmal mit *thiolterminiertem* TAMRA-C<sub>16</sub>, ebenfalls mit Gold Nanopartikeln mit Radien von  $r = 15 \text{ nm}$ . Es wurde erneut  $1 \text{ nm}^2$  Platzbedarf pro Farbstoff angenommen. Die Konzentration der Proben wurde zwischen 5 % - 400 % rechnerischer Oberflächenbedeckung variiert.

Der sprunghafte Fluoreszenzanstieg ist in guter Übereinstimmung mit der rechnerischen Oberflächenbedeckung von 100 % (schwarzer Pfeil), Der Grund liegt in der höheren Bindungsenergie von Thiolen gegenüber Thioethern. Das Gleichgewicht verschiebt sich zugunsten der gebundenen Farbstoffe. Auch hier zeigt sich, dass die oberflächengebundenen Farbstoffe in starker Wechselwirkung mit dem Nanopartikel stehen. Die Fluoreszenz für Bedeckungen unterhalb von 100 % ist effizient unterdrückt.

Um mögliche Interaktionen der Farbstoffe untereinander zu minimieren, werden die endgültigen Hybridproben nur zu einer Oberflächenbedeckung von 50 % angesetzt.

**Abb. 4.14** Die Fluoreszenz von Au-TAMRA- $C_{16}$  als Funktion der Farbstoffkonzentration bzw. der rechnerischen Oberflächenbedeckung der Nanopartikel ( $r = 15 \text{ nm}$ ). Da Thiole höhere Bindungsenergien zu Gold aufweisen als Thioether, verschiebt sich das chemische Gleichgewicht zugunsten der oberflächengebundenen Farbstoffe. Der Knick in der Messkurve fällt daher genau mit der berechneten Bedeckungsdichte von 100 % zusammen (Pfeil). Oberflächengebundenes TAMRA steht in starker Wechselwirkung mit dem Nanopartikel und unterliegt einer effizienten Fluoreszenzextinktion. Des Weiteren bestätigt sich nochmals die Annahme von  $1 \text{ nm}^2$  Platzbedarf pro Farbstoff auf der Oberfläche.



Es sei abschließend noch eine Alternativmethode erwähnt, um den Oberflächenbedeckungsgrad zu ermitteln. Wird Natriumchlorid in eine Gold Nanopartikellösung zugegeben, so ändert sich die Ionendichte des Lösungsmittels. Als Konsequenz verringert sich die Reichweite der abstoßenden Coulombkräfte zwischen den Partikeln und damit die Debyesche Abschirmlänge. Die Partikel koagulieren zu Klumpen und fallen aus <sup>[278]</sup>. Ist die Oberfläche jedoch durch eine stark gebundene, molekulare Schicht vollständig geschützt, so bleiben die Partikel in Lösung. Einer Konzentrationsserie wird Salz (NaCl) beigegeben, während in Transmissionsmessungen die Intensität der Plasmonresonanz verfolgt wird. Liegt noch keine vollständige Oberflächenbedeckung durch Farbstoffe vor, so lässt das Salz einen Teil der Nanopartikel ausfallen und die Transmission erhöht sich.

Die Konzentration an LISS- $C_2$ , ab der die Aggregation der Partikel nicht mehr stattfindet, die Partikel demnach vollständig bedeckt ist, beträgt  $0,5 - 1 \mu\text{M}$  <sup>[156]</sup>. Das ist in guter Übereinstimmung mit der auf Fluoreszenz basierten Nachweismethode. Da die Salzmethode jedoch nur destruktive Konsequenzen für das Hybridsystem hat, wird sie in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt.

### 4.4.2 Oberflächenbedeckung mit DNA-Ketten

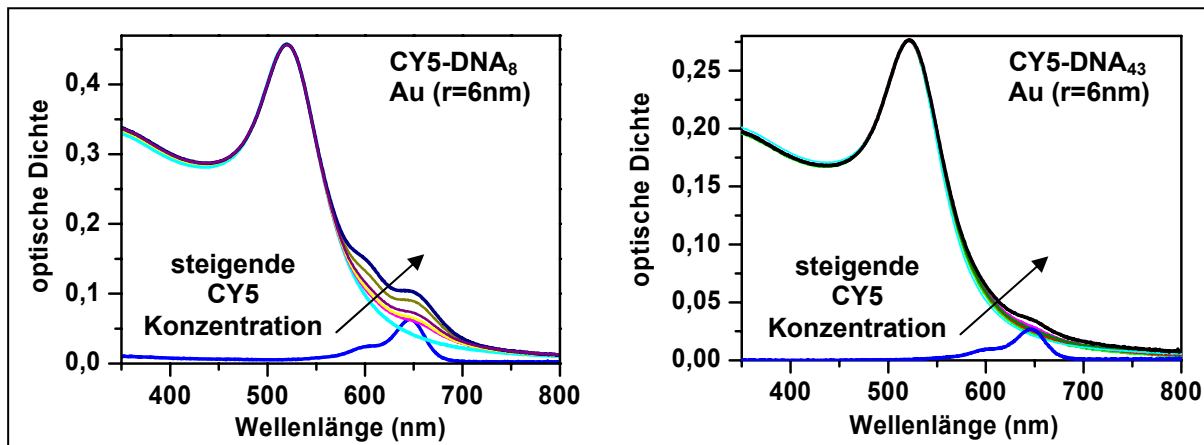
Wie in Kapitel 4.2.2 diskutiert, ist die DNA eine negativ geladene Kette, welche durch ihre Bindung an eine Oberfläche und durch die Abstoßung zu ihren Nachbarsträngen eine gestreckte, definierte Form einnimmt. Die Oberfläche der Partikel ist durch die Stabilisatoren (Citrate) ebenfalls negativ geladen. Alle Einzelkomponenten erfahren damit untereinander abstoßende Coulombkräfte. Dass eine effiziente Bindung überhaupt stattfindet, ist nur durch die hohe Affinität der Thiole zum Gold ermöglicht. Das simple Mischen einer Farbstoff- und einer Partikellösung ist zwar prinzipiell machbar, die Bindungszeit läge aber im Bereich von Monaten. Die Bindungseffizienz kann durch eine Erhöhung der Kollisionswahrscheinlichkeit zwischen DNA und Partikel auf zwei Weisen verbessert werden:

- a) Erhöhung der Konzentration der Partikel um mehrere Größenordnungen durch Verdichtung.
- b) Erhöhung der Konzentration der DNA-Stränge durch Verwendung von Mengen, welche um mehrere Größenordnungen über der vollständigen Oberflächenbedeckung der Partikel liegt.

Die Reaktionszeiten für eine effektive Oberflächenbedeckung verkürzen sich damit auf etwa zwei Wochen (vgl.  $24 \text{ h}$  für ungeladene Kohlenstoffketten). Die in den Hybridlösungen vorhandenen Überschussfarbstoffe müssen anschließend wieder entfernt werden. Dies geschieht durch mehrfaches Reinigen mit speziellen Filtermembranen. Die Porengröße ist derart gewählt, dass nur ungebundene

Farbstoffe hindurch gelangen. Der Nachweis der Farbstoffbedeckungsdichte auf der Partikeloberfläche, basiert nicht auf Fluoreszenz-, sondern auf Absorptionsmessungen. Eine Bedeckungsserie in Fluoreszenz, analog zu LISS (Abb. 4.13) oder TAMRA (Abb. 4.14), ist nicht möglich, da von Beginn an die Synthese mit einem Überschuss an Farbstoffen durchgeführt wird. So sollte jedoch bei den gereinigten Proben die Absorption des Farbstoffes bei zunehmender Oberflächenbedeckung einen Sättigungsverlauf zeigen, dessen Grenzwert die vollständige Bedeckung wiedergibt. CY5 ist als Farbstoff hierfür geeignet, denn dessen Absorptionsspektrum befindet sich an der niederenergetischen Flanke der Plasmonresonanz und damit ist gut nachweisbar. Die anschließend aus der Bedeckungsserie ermittelte Zahl der Farbstoffe pro Partikel findet sich in Abbildung 4.16.

Abbildung 4.15 zeigt die Konzentrationsserien der gereinigten DNA<sub>8</sub> und DNA<sub>43</sub> Hybridlösungen. Als Vergleich ist noch eine pure CY5-DNA-Lösung dargestellt sowie eine Lösung von Gold Nanopartikeln, welche zwar mit DNA-Strängen funktionalisiert sind, aber keine CY5 tragen. Um die Absorptionsstärke des CY5 innerhalb einer Serie miteinander vergleichen zu können, wurden die Proben durch Verdünnung mit Zitronensäure auf die Plasmonresonanz geeicht. Die Gold Nanopartikel haben alle einen Radius von  $r = 6 \text{ nm}$ . In den Graphen der Konzentrationsserie ist das Ansteigen der Farbstoffabsorption bei gleich bleibender Intensität des Plasmons deutlich zu sehen.



**Abb. 4.15** Die Absorption des CY5 steigt innerhalb der gereinigten Konzentrationsserie bei gleich bleibender Zahl an Gold Nanopartikeln an. Aus der optischen Dichte bei  $650 \text{ nm}$  lässt sich die Anzahl gebundener Farbstoffe pro Partikel, die Bindungseffizienz, sowie die Sättigung der Oberfläche bestimmen (Abb. 4.16).

Die Zahl der Gold Nanopartikel  $N_{AU}$  pro Milliliter in der Probenlösung ist bestimmbar, und der molare Extinktionskoeffizient  $\epsilon_{CY5} = 2,5 \cdot 10^5 \text{ liter}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  bei  $650 \text{ nm}$  ist aus der Literatur bekannt <sup>[279]</sup>. Vergleichen wir bei  $650 \text{ nm}$  die optischen Dichten der Referenz-Partikellösung  $OD_{AU}$  mit denen der Hybridlösungen  $OD_{HYB}$ , so kann die Zahl der Farbstoffe  $N_{CY5/AU}$  pro Partikel bestimmt werden. Sei  $n_{CY5}$  die Stoffmenge,  $c_{CY5}$  die Stoffmengenkonzentration,  $d$  die Länge der Küvette und  $V$  das Volumen, dann folgt aus:

$$(OD_{HYB} - OD_{AU}) = \epsilon_{CY5} \cdot c_{CY5} \cdot d$$

$$N_{CY5} = n_{CY5} \cdot N_{Avogardo}$$

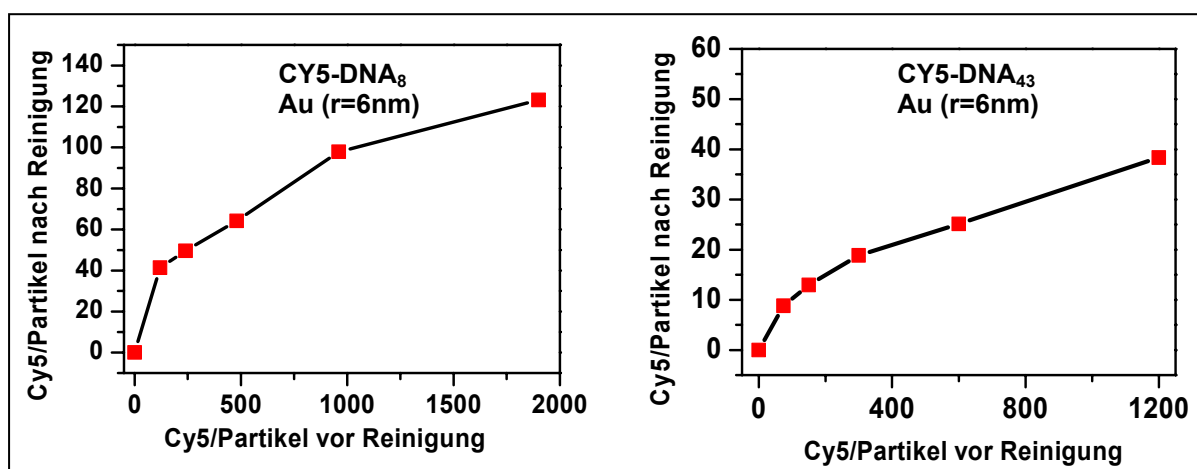
$$c_{CY5} = n_{CY5} / V$$

die Zahl der CY5 pro Partikel  $N_{CY5/AU}$  zu:

$$N_{CY5/AU} = \frac{N_{Avogardo}}{N_{AU}} \cdot \frac{n_{CY5} \cdot V}{\epsilon_{CY5} \cdot d} \cdot (OD_{HYB} - OD_{AU}) \quad (4.1)$$

In Abbildung 4.16 sind die Ergebnisse der Konzentrationsserien für CY5-DNA<sub>8</sub> und CY5-DNA<sub>43</sub> dargestellt. Es ist die Zahl der Farbstoffe pro Partikel  $N_{CY5/AU}$  vor der Reinigung gegen  $N_{CY5/AU}$  nach der Reinigung aufgetragen.

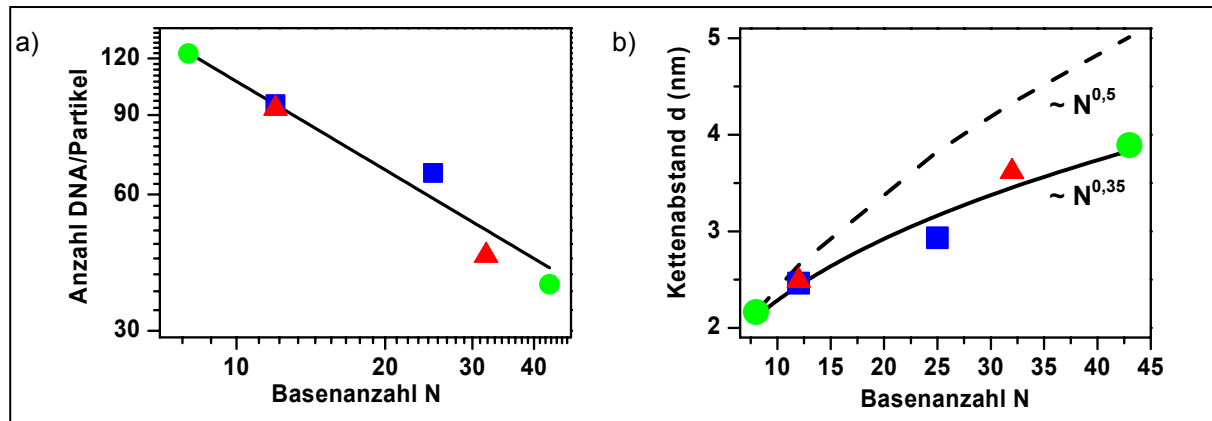
Der Verlauf der Kurven präsentiert eine von der anfänglich zugegebenen Farbstoffzahl abhängige Oberflächenbindungseffizienz. Für die geringste Farbstoffmenge liegt diese für CY5-DNA<sub>8</sub> bei ~ 30 % und für CY5-DNA<sub>43</sub> bei ~ 12 %, wohingegen die Effizienzen für die höchsten Farbstoffmengen auf 6,5 % bzw. 3,2 % fallen. Dies ist insofern verständlich, denn je bedeckter die Partikeloberfläche ist, umso schwieriger wird es für weitere negative geladene DNA-Stränge ohne Störung durch die bereits gebundenen Ketten an noch freien Bindungsstellen zu gelangen. In beiden Proben ist für hohe Konzentrationen eine Sättigung erkennbar, insbesondere für CY5-DNA<sub>8</sub>. Nach Abbildung 4.16 scheint die komplette Oberflächenbedeckung beinahe, aber noch nicht ganz vollständig erreicht.



**Abb. 4.16** Die aus Extinktionsmessungen ermittelte Zahl der gebundenen Farbstoffe (nach Reinigung) gegen die Zahl der anfänglich zugegebenen Farbstoffe pro Nanopartikel (vor Reinigung). Die Inkubation der Proben betrug etwa 14 Tage. Die Extinktion bei 650 nm (siehe auch Abb. 4.15) zeigt für die langen Stränge (DNA<sub>43</sub>), und für die kurzen Stränge (DNA<sub>8</sub>) eine eintretende Sättigung für höhere Farbstoffkonzentrationen. Je länger der Strang ist, umso weniger DNA kann gebunden werden, da die abstoßenden Coulombkräfte zwischen den Strängen mit der Stranglänge zunehmen. Es können maximal ~ 123 CY5-DNA<sub>8</sub> und ~ 38 CY5-DNA<sub>43</sub> auf die Oberfläche von Gold Nanopartikeln mit  $r = 6$  nm gebunden werden. Die Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Gruppen (Abb. 4.17).

Die maximale Zahl an Farbstoffen (bzw. DNA) pro Partikel mit  $r = 6$  nm liegt für CY5-DNA<sub>8</sub> bei ~ 123 und für CY5-DNA<sub>43</sub> bei ~ 38 (Abb. 4.16). In der Literatur findet sich bislang keine vollständige Modellierung, welches die Zahl der DNA-Stränge auf Nanopartikeln als Funktion der Kettenlänge beschreibt. Jedoch vermutet man, dass der Abstand, den die DNA-Einzelstränge auf einer Oberfläche zueinander einnehmen, mit den abstoßenden Coulombkräften zwischen den Phosphatgruppen der verschiedenen Stränge korreliert ist<sup>[280]</sup>. Gäbe es keinen Einfluss, sollte im Grenzfall der Oberflächen-sättigung ein einzelner Strang unabhängig von seiner Länge in erster Ordnung stets die gleiche Fläche auf dem Partikel einnehmen. Sehen wir uns aber obige Zahlen an, so nimmt auf dem Nanopartikel mit  $r = 6$  nm ein DNA<sub>8</sub> Strang ~ 3,68 nm<sup>2</sup> und ein DNA<sub>43</sub> Strang sogar ~ 11,9 nm<sup>2</sup> in Anspruch. Vergleichen wir die eigenen Ergebnisse mit Werten aus der Literatur, so bestätigt sich diese Tendenz. Je länger die Kette, umso weniger DNA-Stränge können an ein Partikel gebunden werden. Während Demers et al. auf Goldpartikeln mit  $r \sim 7,8$  nm etwa 75 DNA<sub>32</sub> bzw. 159 DNA<sub>12</sub> aufbrachte<sup>[273]</sup>, konnte Sandström et al. Nanopartikel von  $r = 6,85$  nm mit 88 DNA<sub>25</sub> und 120 DNA<sub>12</sub> beladen<sup>[280]</sup>. Für planare Goldfilme wird zwischen der Kettenlänge  $N$  ( $N$  = Zahl der Basen) und dem Kettenabstand  $d$  eine Abhängigkeit  $d \sim (N)^{0,5}$  vorhergesagt. Diese resultiert aus dem Radius der Gyration des Einzelstranges, welcher mit der Wurzel zur Basenzahl zunimmt<sup>[281]</sup>.

In Abb. 4.17 sind die Zahl der DNA-Einzelstränge pro Partikel sowie der daraus berechnete mittlere Abstand  $d$  als Funktion der Basenzahl  $N$  aufgetragen. Neben den eigenen sind auch die Ergebnisse anderer Gruppen, als auch der Zusammenhang des Strangabstandes zur Basenzahl für planare Goldfilme (gestrichelte Kurve) dargestellt.



**Abb. 4.17** a) Experimentell gemessene Anzahl von DNA pro Partikel als Funktion der Basenzahl  $N$  (grün = eigene Ergebnisse, blau = Sandström<sup>[280]</sup>, rot = Demers<sup>[273]</sup>). Die Farbstoffzahlen der anderen Gruppen sind um die Größenunterschiede der verwendeten Partikel ( $r = 6,85$  und  $7,8$  nm gegenüber  $r = 6$  nm) korrigiert. b) Aus der DNA-Zahl errechneter mittlerer Abstand zweier DNA-Stränge als Funktion der Basenzahl  $N$ . Die Ergebnisse folgen einer beinahe inversen, kubischen Abhängigkeit ( $\sim N^{0,35}$ ). Als Vergleich ist die Vorhersage des Kettenabstandes als Funktion der Basenzahl für planare Filme gegeben ( $\sim N^{0,5}$ )<sup>[281]</sup>. Details siehe Text.

Die Ergebnisse für den Strangabstand auf Nanopartikeln liegen unterhalb derer für planare Filme. Dies lässt sich auf die Oberflächenkrümmung der Partikel zurückführen. Die äußeren Bereiche der Ketten haben einen größeren Abstand zueinander, die Coulombabstoßung ist entsprechend kleiner. Die Kette erfährt insgesamt eine etwas verringerte Abstoßung zu ihren Nachbarn. Die Stränge ordnen sich dichter an und der mittlere Abstand wird geringer. Es ist daher einleuchtend, dass man auf Nanopartikeln längere DNA-Stränge benötigt, um den gleichen mittleren Abstand (= gleiche mittlere Abstoßung) wie auf Filmen zu erreichen. Die DNA-Anzahl in Abbildung 4.17 folgt einer Abhängigkeit, welche eine reziproke, beinahe kubische Funktionalität von  $d \sim N^{0,35}$  aufweist (schwarze Kurve).

Bei kürzeren DNA-Ketten scheint  $d$  noch durch die Affinität der Thiolgruppe zum Gold beherrscht zu sein. Ein DNA-Einzelstrang besitzt einen Durchmesser von  $\sim 2$  nm<sup>[280]</sup>. Rein rechnerisch sollte man auf einer  $r = 6$  nm Kugel damit  $\sim 144$  ungeladene DNA-Moleküle packen können. Die Anzahl der kürzesten Kette DNA<sub>8</sub> mit  $\sim 123$  Strängen kommt dem schon recht nahe, während die Ergebnisse mit einer Basenzahl von DNA<sub>43</sub> ( $\sim 38$ ) um beinahe einen Faktor 4 davon abweicht. Es liegt deswegen die Vermutung nahe, dass bei längeren Strängen nicht die Bindungsstellen der Thiolgruppe auf dem Gold, sondern eher die Abstoßungskräfte zwischen den Ketten die Bedeckungsdichte der DNA auf dem Nanopartikel festlegt.

Die Modellierung von Ladungseffekten und Packungsdichten auf Oberflächen ist nicht Schwerpunkt dieser Arbeit. Abbildung 4.17 soll in erster Linie nur verdeutlichen, dass die gemessene Dichte von Molekülen auf der Partikeloberfläche sich mit den Literaturwerten anderer Gruppen sinnvoll ergänzen und die Ketten offenbar bereits vor der vollständigen Bedeckung mit hoher Wahrscheinlichkeit gestreckt vorliegen. Zudem eröffnet sich dadurch die Möglichkeit, anhand einer spezifischen Partikelgröße die maximale Zahl von DNA-Strängen als Funktion der Kettenlänge schon *vor der Synthese* vorherzusagen.



Abschließend sei erwähnt, dass Demers die Zahl der gebundenen, farbstoff-funktionalisierten DNA-Stränge durch nachträgliches Zerstören der Nanopartikel und anschließende Messung der *Fluoreszenz der dann ungebundenen Farbstoffe* bestimmt hat <sup>[273]</sup>. Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Arbeit die Zahl der Farbstoffe anhand der *Absorption der gebundenen Farbstoffe* ermittelt. Nehmen wir kurz an, der molekulare Extinktionskoeffizient der Farbstoffe habe sich durch die Wechselwirkung mit den Partikeln signifikant geändert. Dann müssten die eigenen Ergebnisse in Abbildung 4.17 (grün) eine Abweichung von der ermittelten kubischen Abhängigkeit aufweisen. Das ist nicht der Fall. In Übereinstimmung mit der Schlussfolgerung von Kapitel 2.3.1, zeigen die Farbstoffe durch die Wechselwirkung mit den Partikeln tatsächlich nur marginale Änderungen im Extinktionskoeffizienten.

### 4.4.3 Oberflächenpassivierte Gold Nanopartikel

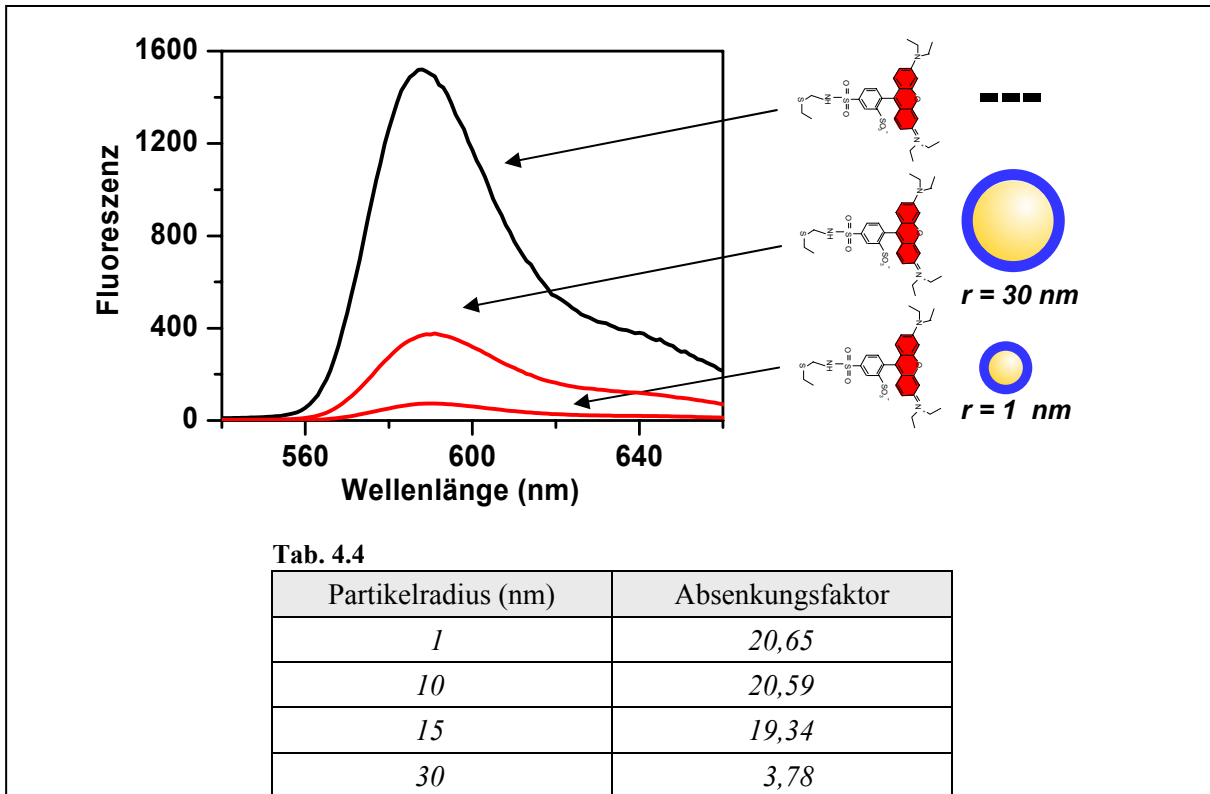
In diesem Unterkapitel wollen wir uns einer letzten Charakterisierung zuwenden. Sie erfasst jene Fluoreszenzabschwächung, welche nicht durch Energie-Transfer, sondern durch triviale Absorptionseffekte hervorgerufen wird. Die Proben befinden sich in Küvetten aus Quarzglas. Doch nur ein geringer Volumenanteil der Lösung stellt das Detektionsvolumen dar. Sowohl der Anregungsstrahl, als auch die erzeugte Fluoreszenz des Farbstoffes werden beim Propagieren durch die Partikellösung außerhalb des Detektorvolumens abgeschwächt (Abb. 4.18). Bereits ohne Energie-Transfer detektiert man im Hybridsystem daher eine Fluoreszenzerniedrigung.

Experimentell kann diese *triviale* Abschwächung durch eine Probe quantifiziert werden, welche identische Konzentrationen an Partikeln und Farbstoffen wie das finale Hybridsystem besitzt, die Farbstoffe jedoch keine Möglichkeit haben, an die Partikeloberfläche zu binden. Diese *Passivierung* der Partikeloberfläche wird mit modifizierten Kohlenstoffketten bewerkstelligt. Die Ketten besitzen zwar Thiole als Ankergruppen, ihnen fehlt aber der Farbstoff als Kopfgruppe. Anstatt dessen besitzen sie eine OH-Terminierung. Weder das LISS mit Thioethern, noch TAMRA mit Aminogruppen sind in der Lage an diese zu binden oder gar die gesamte Kohlenstoffkette mit ihrer Thiolgruppe zu verdrängen.

Abbildung 4.18 zeigt drei zeitintegrierte Fluoreszenzspektren von LISS-C<sub>2</sub>: Als pure Farbstofflösung und jeweils vermischt mit passivierten Nanopartikeln ( $r = 1 \text{ nm}$  und  $r = 30 \text{ nm}$ ). Alle Proben besitzen identische Farbstoffkonzentrationen. Im Vergleich zur puren Farbstofflösung schwächt sich die Fluoreszenz bei unveränderter Zerfallsdauer durch die bloße Präsenz der Partikel auf  $\sim 1/20$  bzw.  $\sim 1/4$  ab. Es sei abermals bemerkt, dass diese Absenkung nicht auf Energie-Transfer Prozesse beruht.

Derartige Mischlösungen aus Farbstoffen und passivierten Partikeln werden für alle Goldgrößen hergestellt und gegen die freien Farbstofflösungen verglichen. Die Konzentrationen entsprechen stets denen, wie sie für die endgültigen Hybridproben mit einer 50 % Oberflächenbedeckung nötig sind. Die experimentellen Ergebnisse finden sich in Tabelle 4.4.

Die in Kapitel 5 vorgestellten Fluoreszenzspektren partikelgebundener Farbstoffe können dann direkt mit den Mischlösungen verglichen werden. Ist abermals eine Absenkung in der Fluoreszenz zu sehen, so ist dies ein Nachweis für die Kopplung zwischen Farbstoff und Partikel. Es wird sich zeigen, dass die Fluoreszenz des Farbstoffs sich durch die Bindung an das Partikel nochmals drastisch absenkt.



**Abb. 4.18** Absenkung der zeitintegrierten Fluoreszenz von LISS-C<sub>2</sub>. Alle drei Spektren besitzen identische Farbstoffkonzentration: Eine pure Farbstofflösung und jeweils vermisch mit *passivierten* Partikeln ( $r = 1 \text{ nm}$  und  $r = 30 \text{ nm}$ ). Die Passivierung der Partikel wird durch Kohlenstoffketten, welche zwar Thiole als Anker, aber keinen Farbstoff als Kopfgruppe besitzen, bewerkstelligt. LISS-C<sub>2</sub> kann damit nicht an die Partikeloberfläche binden. Man sieht, dass auch ohne Energie-Transfer bereits durch die bloße Präsenz der Nanopartikel sich die Fluoreszenz abschwächt (= triviale Absorption), denn sowohl der Anregungsstrahl, als auch die Emission der Farbstoffe (LISS-C<sub>2</sub>) werden durch die Präsenz von Gold Nanopartikeln außerhalb des Detektionsvolumens abgeschwächt. Die Fluoreszenzintensität dieser Mischsysteme sind die Referenzen für die Hybridsysteme mit gebundenen Farbstoffen. Tabelle 4.4 gibt einen Überblick der Absenkungsfaktoren, die man durch einen Vergleich mit der spektral integrierten Fluoreszenz einer reinen Farbstofflösung identischer Konzentration erhält.



## 5 Fluoreszenzauslöschung in Nanopartikel-Farbstoff Systemen

Die Modellierung nach Gersten und Nitzan (Kap. 2.3) gibt an, dass sich die strahlende und die nicht-strahlende Rate eines Farbstoffes sich in der unmittelbaren Nähe eines Nanopartikels stark ändern werden und eine Funktion des Partikelradius und des Abstandes zwischen Farbstoff und Partikel ist. Die experimentellen Ergebnisse der Nanopartikel-Farbstoff Systeme in diesem Kapitel trennen sich entsprechend in zwei Blöcke: Kapitel 5.1 beschäftigt sich mit dem Einfluss der *Partikelgröße bei unverändertem Abstand*, während in Kapitel 5.2 bei *gleich bleibender Partikelgröße der Abstand variiert* wird. Im Vergleich zu glatten, rauhen oder inselartigen Metallfilmen ist das hier untersuchte Hybridsystem weitaus definierter. Systematische Änderungen von nur einem Parameter, bei Konstanthaltung aller restlichen, ermöglicht Abhängigkeiten in der Wechselwirkung des Farbstoffs mit dem Nanopartikel zu erkennen.

Da für alle kommenden zeitaufgelösten Messungen in gleicher Weise relevant, sei zunächst erläutert, wie sich die geänderten Raten des Farbstoffes  $R'_{rad}$  und  $R'_{nonrad}$  aus der Transiente mit einer Fluoreszenzrate von  $R_{Au-fluor} = (\tau_{Au-fluor})^{-1}$  extrahieren lassen, denn diese stellt die Summe aller möglichen Zerfallskanäle dar. Unter der Annahme, dass die intrinsische nichtstrahlende Rate  $R_{nonrad, intrins}$  des Moleküls unverändert bleibt, haben wir in Gleichung (5.1) immer noch ein unterbestimmtes System.

$$\begin{aligned}
 R_{fluor} &= R_{nonrad, intrins} + R_{rad, intrins} \\
 &\quad \Downarrow \\
 R_{Au-fluor} &= R'_{nonrad} + R'_{rad} = (R_{nonrad, intrins} + R_{ET}) + R'_{rad} \quad (5.1)
 \end{aligned}$$

Wir benötigen noch eine weitere Gleichung, um das System zu determinieren. Nach Kapitel 2.2.3 folgt aus der Definition der Quantenausbeute:

$$R_{rad} = QE \cdot R_{fluor} \quad (5.2)$$

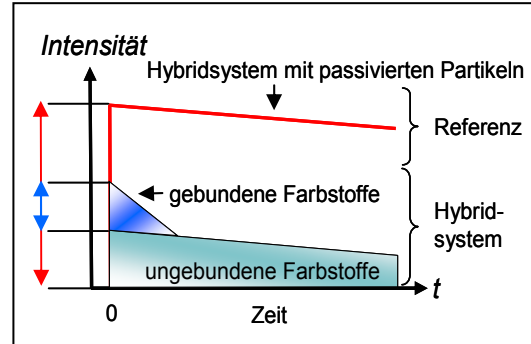
Die  $QE$  spiegelt die Zahl der emittierten Photonen gegenüber der Zahl der absorbierten wider und ist gleichbedeutend zum Verhältnis der zeitintegrierten Fluoreszenzintensität (Rate  $R_{fluor}$ ) gegenüber der Gesamtzahl aller generierten Anregungen (Rate  $R_{gen}$ ). Die gepulste, optische Anregung vom Laser lässt die Generationsrate  $R_{gen}$  als Deltafunktion erscheinen und erzeugt instantan Anregungen ( $G$  = absorbierte Energie). Die Aufsammeleffizienz des experimentellen Aufbaus wird durch einen Korrekturfaktor  $k$  berücksichtigt. Er kann durch eine Referenzprobe mit bekannter Quantenausbeute bestimmt werden. Sei  $P_{t=0}$  die Fluoreszenzleistung zu  $t = 0$ , dann ist:

$$QE = \frac{k}{G} \cdot \int_0^{\infty} I(t) dt = \frac{k}{G} \cdot \int_0^{\infty} P_{t=0} \cdot e^{-tR_{fluor}} dt = \frac{k}{G} \cdot P_{t=0} \left[ -\frac{1}{R_{fluor}} \cdot e^{-tR_{fluor}} \right]_0^{\infty} = \frac{k}{G} \cdot \frac{P_{t=0}}{R_{fluor}} \quad (5.3)$$

Der Vergleich von Gleichung (5.2) und (5.3) zeigt, dass  $R_{rad}$  proportional zur  $P_{t=0}$  ist <sup>[69]</sup>:

$$R_{rad} \propto P_{t=0} \Rightarrow \frac{R_{rad, intrins}}{R'_{rad}} \propto \frac{P_{t=0, fluor}}{P_{t=0, Au-fluor}} \quad (5.4)$$

Abbildung 5.1 gibt die Bestimmung der strahlenden Rate schematisch wider. Hat sich die strahlende Rate im Hybridsystem geändert, so findet man dies durch einen Vergleich der Fluoreszenzleistung bei  $t = 0$  von Hybrid- (blau) zu Referenzprobe (rot) wieder. Ein möglicher Untergrund aus ungebundenen Farbstoffen ist gegebenenfalls zu berücksichtigen (grün). Als Referenz dienen die Hybridsysteme mit passivierten Partikeln. Die Absorption des Anregungs- und Fluoreszenzlichtes sind dann berücksichtigt.

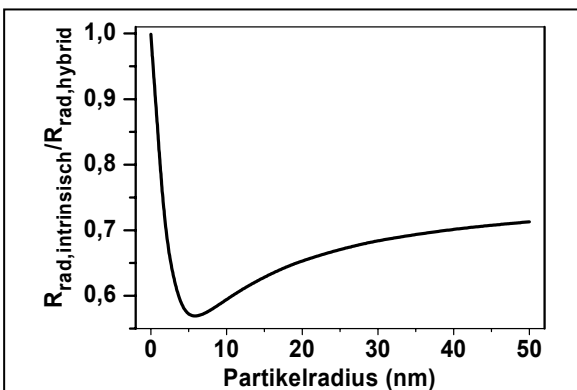


**Abb. 5.1** Die Änderung der strahlenden Rate des Hybridsystems ergibt sich aus dem Verhältnis der Fluoreszenzleistungen bei  $t = 0 \text{ ps}$  zwischen der Referenzlösung (roter Pfeil) und der Lösung gebundener Farbstoffe (blauer Pfeil).

Mit Gleichung (5.4) kann aus der Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_{Au-fluor} = (R_{Au-fluor})^{-1}$  die Energie-Transferrate  $R_{ET}$  bestimmt werden:

$$R_{ET} = R_{Au-fluor} - R_{nonrad, intrins} - R_{rad, intrins} \frac{P_{t=0, Au-fluor}}{P_{t=0, fluor}} \quad (5.5)$$

Das GN-Modell berücksichtigt nur Einflüsse auf die Raten bei der molekularen Emissionswellenlänge, nicht aber mögliche Änderungen in Absorption bei der Anregungswellenlänge  $\lambda_{Laser}$ . So könnte aber, wie in Kapitel 2.3.1 diskutiert, die Absorptionsrate  $R_{abs}$  des Moleküls durch das Nanopartikel modifiziert werden. Nach der Einsteinschen Relation ist die Absorptionsrate  $R_{abs}$  direkt proportional zur Emissionsrate  $R_{rad}$ . Wir können den Einfluss des Nanopartikels auf die Absorptionsrate  $R_{abs}$  des Moleküls dadurch erfassen, indem das GN-Modell die Änderung von  $R_{rad}$  für ein fiktives 2-Niveau-System berechnet, dessen Emissionswellenlänge identisch zur Absorptionswellenlänge des realen Hybridsystems ist ( $\lambda_{Laser} = 400 \text{ nm}$ ). Jedwede Änderung der strahlenden Rate wäre dann proportional zur Änderung der Absorptionsrate. Obwohl die Einsteinsche Relation für Moleküle <sup>[120]</sup> nicht mehr streng gültig ist (Kap. 2.3.1), erhält man auf diese Weise zumindest einen Anhaltspunkt für das Maß der Änderung in der Absorptionsrate. Lokale Feldüberhöhungen des Partikels, welche die molekulare Absorptionsrate ebenfalls verändern, können ausgeschlossen werden, da die Anregung außerhalb der Plasmonresonanz stattfindet.



**Abb. 5.2** Verhältnis der intrinsischen strahlenden Rate zur der eines fiktiven 2-Niveau Hybridsystems als Funktion des Radius. Die Emissionswellenlänge beträgt  $\lambda = 400 \text{ nm}$ .

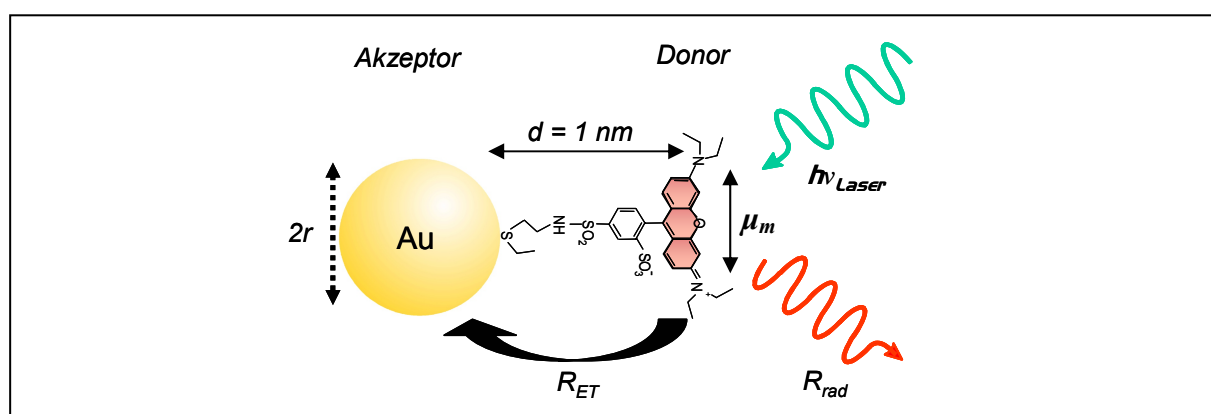
Abbildung 5.2 zeigt das, nach GN berechnete, Verhältnis der intrinsischen Rate  $R_{rad}$  zur Rate des Hybridsystems  $R_{Hybrid}$  als Funktion des Partikelradius. Die Emission findet bei  $\lambda = 400 \text{ nm}$  statt. Das Molekül besitzt einen Abstand von  $d = 1 \text{ nm}$ . Das Ergebnis ist auf die intrinsische Rate von Lissamin normiert ( $R_{rad, intrins} = 2,16 \cdot 10^8 \text{ 1/s}$ ). Die größte Änderung findet für Partikel mit  $r \sim 6 \text{ nm}$  statt.  $R_{rad}$  und damit auch  $R_{abs}$  sinken um einen Faktor  $0,56$ . Verglichen mit der Ratenänderung bei der Emissionswellenlänge von  $\lambda = 595 \text{ nm}$  (Faktor  $2,85 \cdot 10^{-2}$ , Abb. 2.16) zeigt sich der Einfluss bei der Wellenlänge  $\lambda = 400 \text{ nm}$  als recht gering.

Wir finden hier eine Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen von Kapitel 4.4.2. Dort war die aus der Absorption gebundener Farbstoffe, bestimmte Oberflächenbedeckungszahl gleich der, welche aus der Fluoreszenz nachträglich abgelöster Farbstoffe bestimmt wurde<sup>[273]</sup>.

Die Berücksichtigung der Änderung der Anregungsrate des Moleküls durch das Gold Nanopartikel entspricht daher mehr einer Feinkorrektur. Sie wird dennoch für alle experimentell bestimmten strahlenden Raten als Funktion des Molekülabstandes und der Anregewellenlänge des Lasers durchgeführt.

## 5.1 Parameter: Partikelgröße

In diesem Kapitel werden in den Hybridsystemen *nur die Partikelradien systematisch* variiert, die restlichen Eigenschaften bleiben unverändert. Der zur Familie der Rhodamine gehörende Farbstoff Lissamin (LISS-C<sub>2</sub>) befindet sich in einem Abstand von  $d = 1 \text{ nm}$  mit tangential zur Partikeloberfläche orientiertem molekularem Dipolmoment  $\mu_m$ . Tabelle 4.3 und Abbildung 4.11 geben einen Überblick hinsichtlich der optischen Eigenschaften. In Abbildung 5.3 ist das Hybridsystem schematisch für ein einzelnes Partikel mit einem einzelmem Lissamin Molekül dargestellt. Die vermessenen Proben besitzen Farbstoffkonzentrationen, die einer 50 % Oberflächenbedeckung der Partikel entsprechen. Es werden Hybridsysteme mit Partikelradien von  $r = 1, 10, 15$  und  $30 \text{ nm}$  charakterisiert.

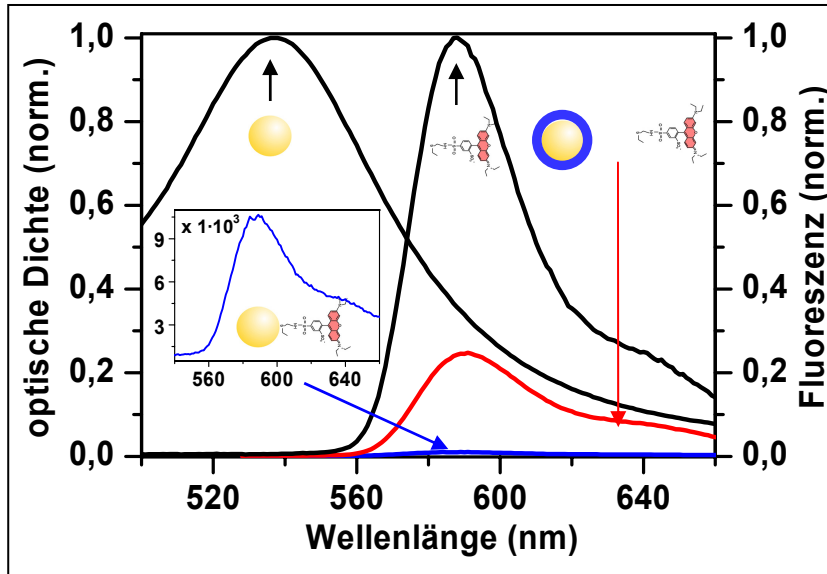


**Abb. 5.3** Schematische Darstellung des Nanopartikel-Lissamin-C<sub>2</sub>-Hybridsystems. Als einziger Parameter wird die Partikelgröße variiert ( $r = 1, 10, 15, 30 \text{ nm}$ ).

### 5.1.1 Experimentelle Ergebnisse

In Abbildung 5.4 werden die zeitintegrierten Fluoreszenzspektren von Farbstofflösungen gleicher Konzentration ( $c = 0,18 \mu\text{M}$ ) verglichen: LISS-C<sub>2</sub> ungebunden in Lösung, gemischt mit passivierten Partikeln ( $r = 30 \text{ nm}$ ) und gebunden an Nanopartikel ( $r = 30 \text{ nm}$ ). Das Extinktionsspektrum der Gold Nanopartikel illustriert den spektralen Überlapp mit der Farbstoffemission. Die Anregung findet bei  $\lambda = 400 \text{ nm}$  statt.

Die Fluoreszenz der gebundenen LISS-C<sub>2</sub> kann kaum noch von der Abszisse unterschieden werden; nur etwa 5 % der ursprünglichen Fluoreszenz des passivierten Systems sind verblieben. Sie ist daher nochmals vergrößert dargestellt (blaue Kurve, Abb. 5.4). Ermöglicht man also den Farbstoffen an die Partikeloberfläche zu binden, so senkt sich die Fluoreszenz erheblich. Diese Abschwächung kann nur noch durch eine effiziente Wechselwirkung zwischen Farbstoff und Gold Nanopartikel erklärt werden.



**Abb. 5.4** Die Fluoreszenz von LISS-C<sub>2</sub> in Lösung (schwarz), mit passivierten Gold Partikeln (rot), sowie gebunden auf den Partikeln (blau). Neben der Fluoreszenzabschwächung aufgrund trivialer Absorptionen (schwarz zu rot) bricht die integrierte Fluoreszenzintensität nochmals um einen Faktor 18,5 ein (rot zu blau, Tabelle 5.1). Zur Darstellung des spektralen Überlappes ist die Extinktion der Nanopartikel mit  $r = 30 \text{ nm}$  noch gezeigt. Die oberflächen-gebundenen LISS-C<sub>2</sub> stehen in Wechselwirkung mit den Partikeln und erfahren eine effiziente Fluoreszenzauslöschung.

In Tabelle 5.1 sind die, mittels Integration über das Fluoreszenzspektrum, experimentell bestimmten Absenkungsfaktoren zwischen dem Hybridsystem mit passivierten Partikeln und demjenigen, indem die Farbstoffe an die Oberfläche binden können, für die verschiedenen Radien aufgelistet. Bis auf die kleinsten Partikel wird die Fluoreszenz über 90 % ausgelöscht.

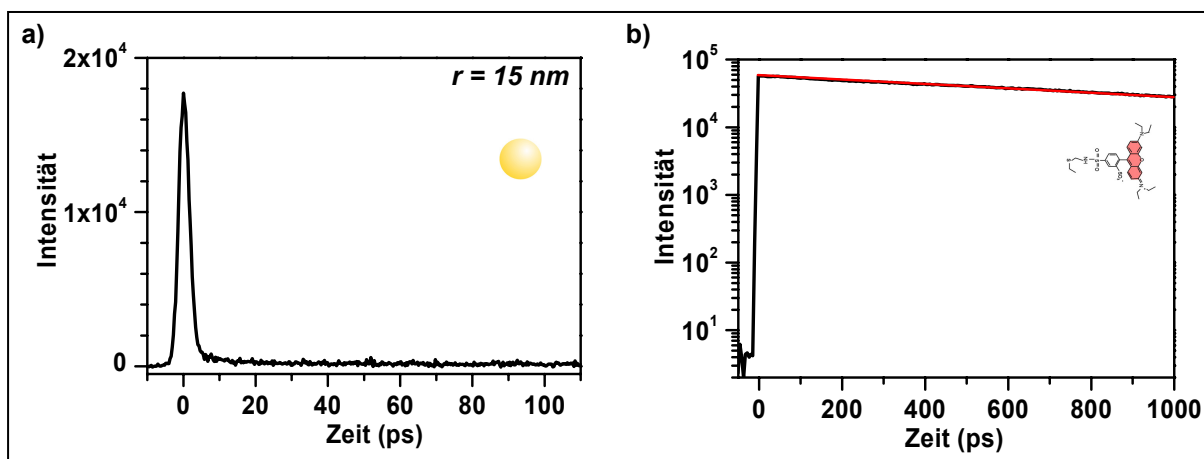
Die Auslöschung der gebundenen Farbstoffe liegt, wie noch gezeigt wird, bei über 99 %. Denn, die in Abbildung 5.4 dargestellten Spektren sind zeitintegriert. In den sich nun anschließenden zeitaufgelösten Messungen wird erkennbar, dass noch ein geringer „unerwünschter“ Restbestand an ungebundenen Farbstoffen in der Hybridlösung vorhanden ist. Das Fluoreszenzspektrum (blaue Kurve Abb. 5.4), als auch die Absenkungen und Auslöschungen in Tabelle 5.1, spiegeln daher vornehmlich die Intensität der Restfluoreszenz der wenigen, ungebundenen Farbstoffe wieder. Deren Fluoreszenz kann in zeitintegrierten Messungen von der Fluoreszenz gebundener Farbstoffe nicht unterschieden werden. Da die beiden Populationen jedoch verschiedene Fluoreszenzlebensdauern besitzen, gibt erst die Messung der Transienten Aufschluss über die tatsächliche Absenkung der *gebundenen* Farbstoffe.

**Tab. 5.1** Abschwächung aus integrierten Spektren von Abb. 5.4 und die ermittelte Auslöschung.

Partikelradius $r$ (nm)	Absenkungsfaktor $X$	Fluoreszenzauslöschung (%)
1	6,0	83,2
10	35,3	97,2
15	20,7	95,2
30	18,5	94,6

Die zeitaufgelösten experimentellen Fluoreszenzmessungen werden exemplarisch anhand des Hybrid-systems mit  $r = 15 \text{ nm}$  Nanopartikeln analysiert und die Raten extrahiert. Die Messungen der anderen Partikelgrößen werden in analoger Weise ausgewertet.

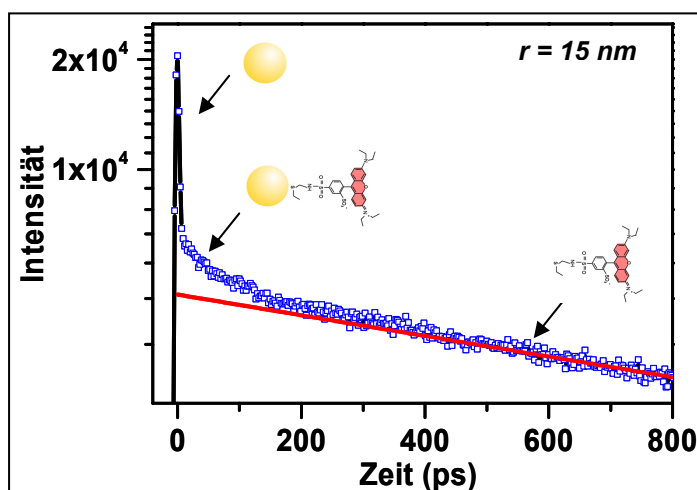
Abbildung 5.5 zeigt die Transiente einer reinen Farbstofflösung (LISS-C<sub>2</sub>,  $c = 0,37 \mu\text{M}$ ) und die einer reinen Partikellösung ( $r = 15 \text{ nm}$ ,  $c = 0,25 \text{ nM}$ ). Die Gold Nanopartikellösung (a) weist zum Zeitpunkt der gepulsten optischen Anregung eine sehr schnelle Emission auf. Die Transiente liegt unterhalb der Zeitauflösung der Streak Kamera und lässt sich selbst mit Aufkonversionstechnik nicht bestimmen (Zeitauflösung  $50 \text{ fs}$ )<sup>[282]</sup>. Kapitel 6 wird sich mit dieser Emission beschäftigen. Sie wird als strahlender Zerfall einer Plasmonschiwingung identifiziert. Die Fluoreszenz der Farbstoffe (b) zerfällt einfach-exponentiell mit einer Konstante von  $\tau = 1540 \text{ ps}$ .



**Abb. 5.5** Transienten der Einzelkomponenten des Hybridsystems. a) Emission einer reinen Lösung von Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$ . Sie wird sich in Kapitel 6 als der strahlende Zerfall eines Partikelplasmons erweisen. Die Emission liegt unterhalb der Zeitaufösung der Streak Kamera. b) Der Fluoreszenzzerfall einer reinen Lösung von Liss-C<sub>2</sub> (semi-logarithmische Darstellung). Mit einer einfach-exponentiellen Funktion bestimmt sich die Lebensdauer zu  $\tau = 1540 \text{ ps}$  (rote Linie).

Für das Hybridsystem ergibt sich die in Abbildung 5.6 dargestellte Transiente. In der semilogarithmischen Darstellung sind nun *eindeutig drei Zerfallskomponenten* sichtbar. Zunächst findet sich die *schnelle* Partikelemission mit gleicher Intensität wie in der puren Partikellösung wieder. Sie ist damit eine partikelabhängige Erscheinung und spiegelt keine Wechselwirkung mit dem Lissamin wider. Eine mögliche Rückkopplung dieser Emission auf die Absorption des Farbstoffes kann ausgeschlossen werden, da sich in Kapitel 6 noch zeigen wird, dass diese Plasmonemission eine Quantenausbeute von nur  $10^{-6}$  besitzt, als antreibendes Feld für eine erhöhte molekulare Absorptionsrate also zu schwach ist.

In der Transiente des Hybridsystems ist zudem eine langlebige Fluoreszenz erkennbar, welche die gleiche Zerfallszeit wie die einer freien Farbstofflösung aufweist ( $\tau = 1540 \text{ ps}$ ). Man erkennt dies an der roten Linie. Sie ist die Ausgleichsgerade von freien Lissamin mit  $\tau = 1540 \text{ ps}$  aus Abbildung 5.5. Das Vorhandensein eines solchen Untergrundes wird auf ein chemisches Gleichgewicht zwischen gebundenen und ungebundenen Farbstoffen zurückgeführt. Es ist zwar aufgrund der Schwefelterminierung (Thioether) stark zugunsten der gebundenen Farbstoffe verschoben, doch reichen wenige Prozent ungebundener, also ungelöschter Farbstoffe aus, um in der Transienten des Hybridsystems erkennbar zu sein. Das Vorliegen einer langlebigen Komponente mit vergleichbarer Zerfallszeit zum Referenzfarbstoff wird auch von anderen Gruppen beobachtet <sup>[198, 200, 283-285]</sup>.

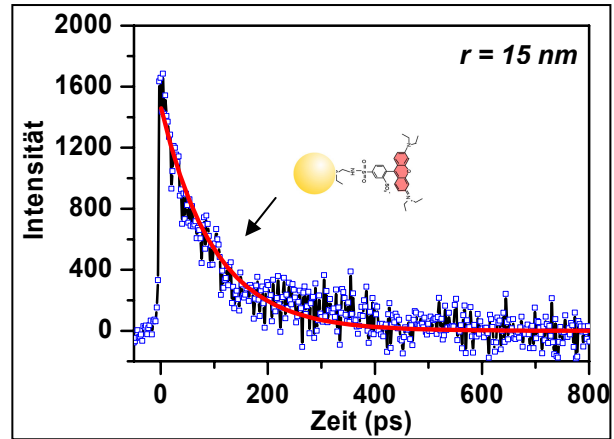


**Abb. 5.6** Zeitaufgelöste Fluoreszenz des Hybridsystems, bestehend aus LISS-C<sub>2</sub> auf Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  in semi-logarithmischer Darstellung. Neben der schnellen Emission der Gold Nanopartikel und einem geringen Restbestand ungebundener Farbstoffe (rote Gerade = Zerfallszeit von freien LISS-C<sub>2</sub> aus Abb. 5.5), erscheint im Hybridsystem ein dritter Zerfall, welcher in den Einzelkomponenten nicht vorhanden ist. Er stammt von den gebundenen Farbstoffen. Dessen Zerfallszeit ist sehr viel kürzer als jene von ungebundenen Farbstoffen (siehe auch Abb. 5.7). Dies ist typisch für Moleküle unter dem Einfluss eines Energie-Transfers.

Neu in der Transiente des Hybridsystems ist eine weitere, *dritte* Zerfallskomponente, welche in denen der Einzelkomponenten nicht vorhanden ist. Da sie erst durch die Bindung der Farbstoffe an die Gold Nanopartikel erscheint, kann man sie eindeutig der Wechselwirkung zwischen Lissamin und Nanopartikel zuordnen.

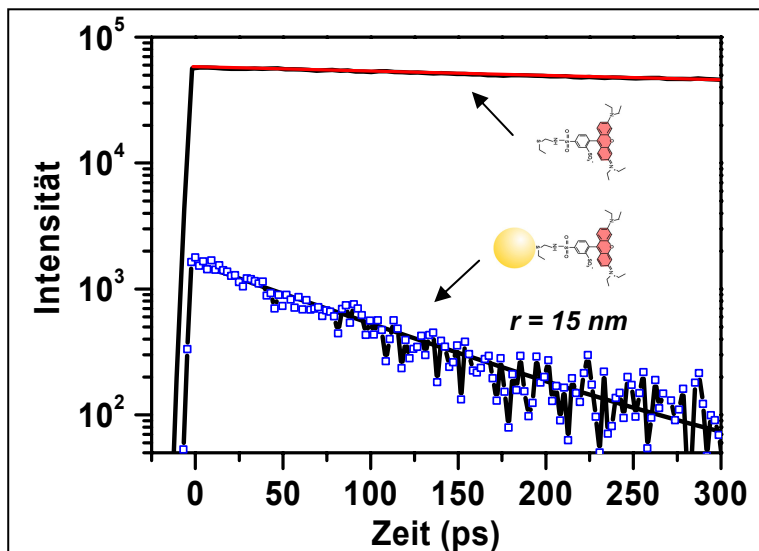
Die Identifizierung der schnellen Emission als Goldemission und der langlebigen Fluoreszenz als das Signal freier, ungebundener Lissamine, gibt einem die Möglichkeit, die Fluoreszenzintensität und –lebensdauer der oberflächengebundenen Lissamine durch eine einfache Subtraktion der beiden anderen von der gemessenen Transiente des Hybridsystems zu erhalten.

Die Lebensdauer ist zu  $\tau = 99 \text{ ps}$  bestimmt (Abb. 5.7, rote Kurve) und ist  $\sim 15\text{fach}$  kürzer als die ungestörte. Nach Gleichung (5.1) entspricht die Fluoreszenzrate von  $R_{Au-fluor} = \tau^{-1} = 1,0 \cdot 10^{-10} \text{ 1/s}$  der Summe aller vorhandenen Zerfallskanäle. Die strahlende Rate  $R_{rad}$  der gebundenen Lissamine ergibt sich aus dem Intensitätsverhältnis von Hybridsystem zu Referenz bei  $t = 0 \text{ ps}$ .



**Abb. 5.7** Fluoreszenzsignal von LISS-C<sub>2</sub>, die auf der Oberfläche von Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  gebunden sind. Gegenüber der Zerfallszeit von freiem Lissamin verkürzt sich die Fluoreszenzlebensdauer von  $1540 \text{ ps}$  auf  $99 \text{ ps}$ . Das LISS-C<sub>2</sub> unterliegt also einem starken Energie-Transfer zum Gold Nanopartikel.

Hierzu ist in Abbildung 5.8 die Zerfallskurve der oberflächengebundenen Lissamine gegen die von freien Lissaminen (bereits korrigiert um triviale Absorptionen) in semilogarithmischer Darstellung aufgetragen. Ein Vergleich der Fluoreszenzintensitäten bei  $t = 0 \text{ ps}$  zeigt, dass sich die strahlende Rate um mehr als einen Faktor 50 absenkt.



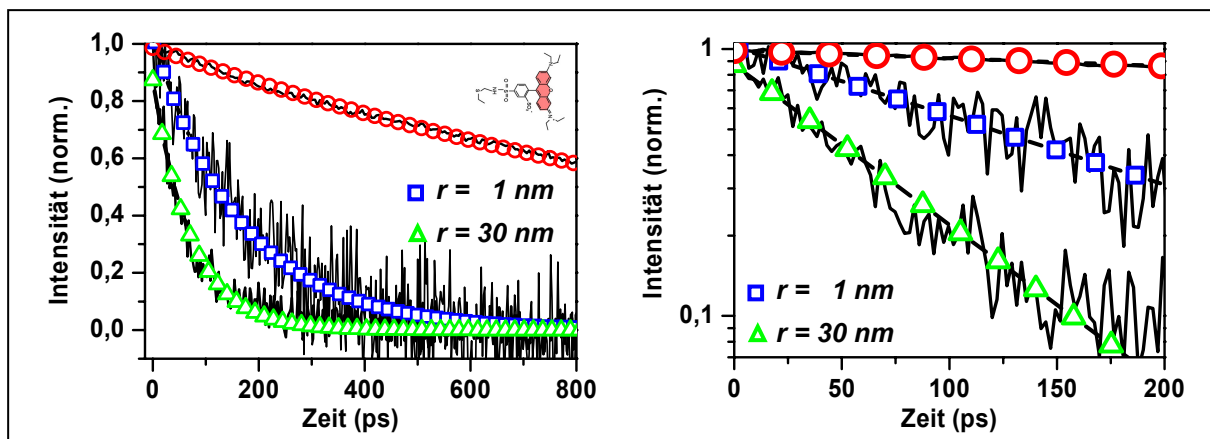
**Abb. 5.8** Vergleich der Transienten von ungebundenen LISS-C<sub>2</sub> (bereits um triviale Absorption korrigiert) mit der Transienten von, auf Nanopartikeln gebundenen LISS-C<sub>2</sub> in einer semi-logarithmischen Darstellung. Aus dem Verhältnis der Intensitäten zum Zeitpunkt der gepulsten Anregung bei  $t = 0 \text{ ps}$  bestimmt sich die Änderung der strahlenden Rate. Die verkürzte Lebensdauer der Farbstoffe auf den Partikeln lässt sich mit einer einfachen Exponentialfunktion erfassen. Dies ist ein Nachweis für die Homogenität der Hybridsystems hinsichtlich des Farbstoffabstandes.

In der semi-logarithmischen Darstellung kann die der Transiente gut durch eine Gerade angenähert werden und rechtfertigt damit einen einfach-exponentiellen Ansatz zur Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer. Das Vorhandensein zweier Spezies mit unterschiedlichen Zerfallsraten (z.B. Monomere und Dimere, Anhang B) kann damit keine große Rolle spielen <sup>[277, 285]</sup>.



Auf gleiche Weise werden die strahlenden Raten und die Fluoreszenzlebensdauern der übrigen Hybride extrahiert. Im Vergleich zu freiem LISS-C<sub>2</sub> sinkt die Lebensdauer der oberflächengebundenen LISS-C<sub>2</sub> auf den größten Nanopartikeln mit  $r = 30 \text{ nm}$  von  $1540 \text{ ps}$  auf  $72 \text{ ps}$ . Hingegen beträgt sie bereits  $169 \text{ ps}$ , sofern der Farbstoff auf den kleinsten Nanopartikel mit  $r = 1 \text{ nm}$  gebunden ist.

Je größer das Partikel, umso kürzer also die Fluoreszenzlebensdauer, was zeigt, dass der Energie-Transfer immer effizienter wird (Abb. 5.9).



**Abb. 5.9** Normierte Transienten der Hybridsysteme mit LISS-C<sub>2</sub> auf den größten Nanopartikeln ( $r = 30 \text{ nm}$ , grün) und den kleinsten ( $r = 1 \text{ nm}$ , blau) in linearer und semi-logarithmischer Darstellung. Zum Vergleich ist der Fluoreszenzzerfall der Referenzlösung (rot) gezeigt. Je größer das Partikel, umso kürzer ist die Lebensdauer der gebundenen Farbstoffe. Für die kleinen Partikel fällt die intrinsische Fluoreszenzlebensdauer von  $1540 \text{ ps}$  auf  $169 \text{ ps}$  und sogar auf nur  $72 \text{ ps}$  für die großen Partikel. Es existiert somit eine partikelgrößenabhängige Fluoreszenzauslöschung des Farbstoffs.

Mit der Fluoreszenzlebensdauer des ungebundenen LISS-C<sub>2</sub> von  $1540 \text{ ps}$  und einer Quantenausbeute in wässriger Lösung von  $33 \%$ , ergeben sich die intrinsischen strahlenden und nichtstrahlenden Raten zu  $R_{rad,intrins} = 2,16 \cdot 10^8 \text{ 1/s}$  und  $R_{nonrad,intrins} = 4,33 \cdot 10^8 \text{ 1/s}$ .  $R_{ET}$  lässt sich dann nach Gleichung (5.5) bestimmen.

Tabelle 5.2 listet die experimentellen Ergebnisse der Hybridsysteme verschiedener Partikelradien auf: Lebensdauern, Absenkungsfaktoren bei  $t = 0 \text{ ps}$ , strahlende Raten, nichtstrahlende Raten und die Energie-Transferaten. Die strahlende Rate ist bereits um den Einfluss bei der Anregewellenlänge korrigiert. Ein Partikelradius von  $r = 0 \text{ nm}$  bedeutet eine Farbstofflösung ohne Nanopartikel.

**Tab. 5.2** Überblick der experimentell ermittelten Raten von LISS-C<sub>2</sub> als Funktion der Partikelgröße

Partikelradius $r$ (nm)	Lebensdauer $\tau$ (ps)	Absenkung (bei $t = 0 \text{ ps}$ )	strahlende Rate $R'_{rad}$ (1/s)	nichtstr. Rate $R'_{nonrad}$ (1/s)	Energie-Transfer $R_{ET}$ (1/s)
0	$1540 \pm 10$	-----	$2,16 \cdot 10^8$	$4,33 \cdot 10^8$	-----
1	$169 \pm 7$	59,4	$4,22 \cdot 10^6$ *	$5,91 \cdot 10^9$	$5,48 \cdot 10^9$
10	$102 \pm 2$	30,8	$1,15 \cdot 10^7$ *	$9,79 \cdot 10^9$	$9,36 \cdot 10^9$
15	$99 \pm 3$	51,7	$6,48 \cdot 10^6$ *	$1,01 \cdot 10^{10}$	$9,67 \cdot 10^9$
30	$72 \pm 2$	25	$1,23 \cdot 10^7$ *	$1,39 \cdot 10^{10}$	$1,35 \cdot 10^{10}$

\* um Einfluss auf strahlende bei der Anregewellenlänge von  $400 \text{ nm}$  korrigiert (Abb. 5.2)

**5.1.2 Diskussion und Modellvergleich**

Die experimentellen Ergebnisse zeigen, dass sich die strahlenden Raten  $R'_{rad}$  von LISS-C<sub>2</sub> bei *allen* Partikelgrößen um mehr als eine Größenordnung verringern. Die nichtstrahlende Raten  $R'_{nonrad}$  verhalten sich gegenteilig. Im Vergleich zur intrinsischen Rate  $R_{nonrad, intrins} = 4,33 \cdot 10^8$  1/s erhöht sie sich bei *allen* Partikelgrößen um mehr als eine Größenordnung.

Im Sinne konkurrierender Zerfallskanäle ist eine um beinahe drei Ordnungen geringere  $R'_{rad}$  fast chancenlos. Nur etwa jeder *1000sten* molekularen Anregung gelingt es, im Hybridsystem strahlend via Photonemission zu zerfallen. Die Fluoreszenz ist nahezu vollständig ausgelöscht. Unter derart extremen Ratenverhältnissen ist die Fluoreszenzrate  $R_{fluor} = (\tau_{fluor})^{-1}$  bereits ein direktes Maß für die nichtstrahlende Rate  $R'_{nonrad}$ . So führt die Vernachlässigung von  $R'_{rad}$  in Gleichung (5.5) zu einer Änderung von weniger als ein Prozent. Wir werden in Kap. 5.2.2 aber noch sehen, dass dies nicht immer zutrifft. Weitaus stärker schlägt sich die Änderung in  $R_{rad}$  auf die Quanteneffizienz  $QE$  des Hybridsystems nieder. Nehmen wir die Ergebnisse für die kleinsten Partikel, so bricht  $QE = R'_{rad} / (R'_{rad} + R_{nonrad, intrins} + R_{ET})$  auf 0,071 % ein. Verglichen mit der Ursprünglichen  $QE = 33$  %, ermittelt sich daraus eine Fluoreszenz-Auslöschungs-Effizienz ( $F AE$ ) von 99,78 %.

Zeitintegrierte Fluoreszenzmessungen anderer Gruppen an Rhodamin 6G auf Gold Nanopartikeln mit Radien  $r = 1,4 - 2,5$  nm bestätigen das Ergebnis <sup>[5, 286]</sup>. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch zum ersten Mal die Ursache dieser effizienten Fluoreszenzauslöschung gezeigt werden, nämlich ein Zusammenwirken von Energie-Transfer *und* strahlende Ratenänderung <sup>[287]</sup>.

Tabelle (5.3) gibt die Quanteneffizienz der Hybridsysteme sowie die resultierenden Fluoreszenz-Auslöschungs-Effizienzen ( $F AE$ ) an. Ein Radius von  $r = 0$  nm steht für eine reine Farbstofflösung.

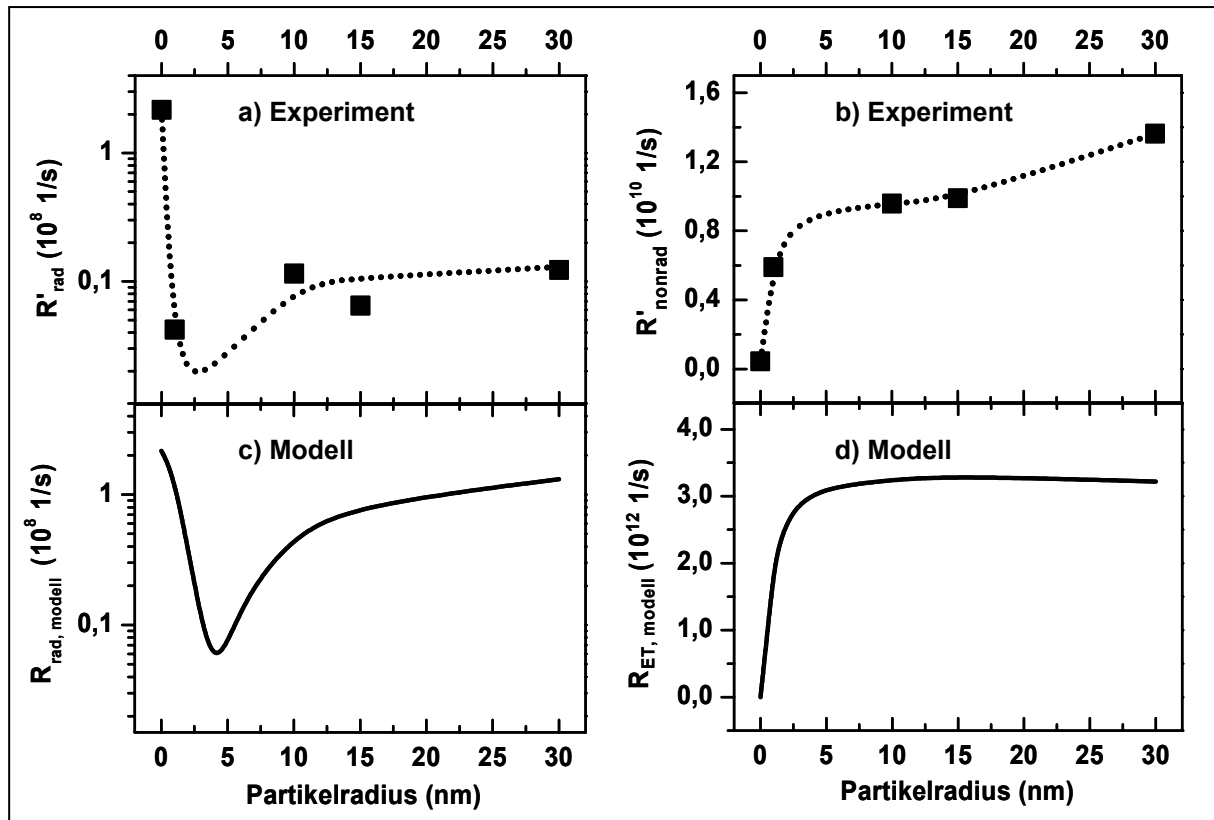
**Tab. 5.3** Quanteneffizienz von LISS-C<sub>2</sub> und Auslöschungseffizienz der Partikel als Funktion ihres Radius

Partikelradius $r$ (nm)	Quanteneffizienz $QE = R'_{rad} / (R'_{rad} + R_{nonrad} + R_{ET})$ (%)	Fluoreszenz Auslöschungs- Effizienz ( $F AE$ ) (%)
0	33	-----
1	0,071	99,78
10	0,117	99,64
15	0,064	99,81
30	0,089	99,73

Abbildung 5.10 vergleicht die experimentellen Ergebnisse (a, b) mit den theoretischen Vorhersagen des GN-Modells (c, d). Die strahlenden und nichtstrahlenden Raten sind als Funktion des Nanopartikelradius aufgetragen.

Die strahlende Rate  $R'_{rad}$  fällt von ihrem intrinsischen Wert ( $2,16 \cdot 10^8$  1/s für  $r = 0$  nm) um eineinhalb Größenordnungen (semi-logarithmische Darstellung) und zeigt bei einem Partikelradius von  $\sim 4$  nm ein ausgeprägtes Minimum. Für größere Nanopartikel steigt sie wieder an. Dieses Verhalten ist in quantitativer (gleiche Größenordnung) und qualitativer Übereinstimmung mit dem GN-Modell. Wie bereits in Kapitel 2.3.4 diskutiert, kann es mit der Situation zweier Antennen verglichen werden, die zwar in unmittelbarem Abstand zueinander auf der gleichen Frequenz emittieren, aber eine Phasenverschiebung zueinander aufweisen. Die *Partikelantenne* kann in Abhängigkeit der gegenseitigen Phasenverschiebung das Molekül bei der Photonemission ( $= R'_{rad}$ ) konstruktiv unterstützen oder destruktiv behindern.





**Abb. 5.10** Vergleich der experimentell bestimmten strahlenden Raten  $R'_{rad}$  und der nichtstrahlenden Rate  $R'_{nonrad}$  der Hybridsysteme gegen die Modellvorhersagen ( $R_{rad,modell}$ ,  $R_{ET,modell}$ ) von Gersten und Nitzan <sup>[14]</sup>. Während die experimentell bestimmten strahlenden Raten in der gleichen Größenordnung sind wie das Modell, zeigt die berechnete Energie-Transfertrate eine Abweichung um zwei Größenordnungen zur experimentellen nichtstrahlenden Rate  $R'_{nonrad}$ . Ein qualitativ vergleichbarer Verlauf zeigt sich zwischen Experiment und Theorie. Details siehe Text.

Die experimentell bestimmte partikelgrößenabhängige Rate  $R'_{nonrad}$  ( $= R_{ET} + R_{nonrad, intrins}$ ) folgt ebenfalls qualitativ der Modellierung. Für kleinere Partikel steigt  $R'_{nonrad}$  steil an, während bei größeren Nanopartikeln eine Sättigung erreicht wird. Sie spiegelt die limitierte Eindringtiefe elektromagnetischer Strahlung in Metalle wider (Strahlungsquelle = Molekül). Ab einem Grenzradius „sieht“ das Molekül also keinen Unterschied mehr in der Partikelgröße.

Quantitativ weicht die theoretische Vorhersage der Energie-Transfertrate um zwei Größenordnungen vom Experiment ab (Ordinatenunterschied: Faktor  $10^2$ ). Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass das GN-Modell keine nichtlokalen Effekte berücksichtigt, welche für Abstände  $d < 5 \text{ nm}$  signifikant werden (Kap. 2.3.5). Für einen Abstand der Lissamine von nur  $d = 1 \text{ nm}$  und einer molekularen Emission energetisch unterhalb, also rotverschoben zur Plasmonresonanz, sagt Leung eine Abweichung des GN-Modells um zwei Größenordnungen für  $R_{ET}$  voraus <sup>[178]</sup>. Dies entspricht in recht akkurater Weise der hier beobachteten Diskrepanz zwischen Modell und Experiment.

Möglicherweise ist aber auch für einen derart kleinen Abstand der Ansatz eines molekularen Punktdipols nicht mehr ganz zutreffend <sup>[169]</sup>. Eine Berücksichtigung der tatsächlichen Ladungsverteilung könnte die Diskrepanz zwischen Modell und Experiment nochmals minimieren.

Eine nicht ganz parallele Ausrichtung des molekularen Dipolmomentes oder eine Verteilung der Abstände kommt als Ursache der Diskrepanz weniger in Betracht, da die detektierten Fluoreszenzlebensdauern mit einfach-exponentiellen Funktionen gut beschrieben werden können. Das ist ein klares Indiz für die Homogenität der Hybridproben.

Das Modell zeigt für größere Partikelradien ( $r \geq 15 \text{ nm}$ ) auch qualitativ Abweichungen zum Experiment. Die modellierte strahlende Rate regeneriert sich viel schneller, als es die gemessene Rate  $R'_{rad}$  zeigt und die Energie-Transferrate  $R_{ET}$  nach GN bleibt konstant, obwohl die nichtstrahlende Rate  $R'_{nonrad}$  noch weiter ansteigt. Die Diskrepanz erklärt sich durch den *quasistatischen* Rechenansatz des GN-Modells, denn eine durch Retardierungseffekte hervorgerufene Rotverschiebung der Plasmonresonanz mit zunehmender Partikelgröße wird nicht berücksichtigt. Des Lissamins Emissionsmaximum von  $595 \text{ nm}$  liegt in der rötlichen Flanke des Plasmons. Das bedeutet, dass die Extinktion der größeren Partikel sich wegen der Rotverschiebung förmlich in die molekulare Emission „hineinschiebt“. Der spektrale Überlapp erhöht sich und der Energie-Transfer wird effizienter.

Das kann überprüft werden, indem nochmals die Wellenlängenabhängigkeit der theoretischen Raten betrachtet wird (Abb. 2.17.). Die Plasmonresonanz kann im Modell spektral nicht verschoben werden, die molekulare Emissionswellenlänge hingegen ist frei wählbar. Mit der Kenntnis, dass die Plasmonresonanz eines Partikels mit  $r = 30 \text{ nm}$  im Vergleich zu einem Partikel mit  $r = 10 \text{ nm}$  um  $14 \text{ nm}$  rotverschoben liegt (Experiment Abb. 4.3 oder Theorie Abb. 2.4), könnten wir in Abbildung 2.17 das Lissamin um  $14 \text{ nm}$  von  $595 \text{ nm}$  auf  $581 \text{ nm}$  verschieben. Wegen des besseren spektralen Überlappes stiege die theoretische Energie-Transferrate um einen Faktor  $\sim 1,48$  an. Der Vergleich der experimentellen Ergebnisse von  $R_{ET}$  für die gleichen Partikelgrößen (Tab. 5.2) gibt den annähernd gleichen Faktor von  $\sim 1,44$ .

Die strahlenden Raten in Abbildung 2.17 zeigen, dass durch die Blauverschiebung der molekularen Emission die strahlende Rate absinkt, sie also in Abbildung 5.10 in Richtung experimenteller Ergebnisse hin korrigiert werden müsste.

Wir sehen hier also, zusätzlich zur Abhängigkeit von der Partikelgröße, eine erste experimentelle Bestätigung dafür, dass der spektrale Überlapp für eine effiziente Kopplung ebenfalls wichtig ist. In Analogie zu Försters Überlappintegral werden auch Nanopartikel die molekulare Fluoreszenz nicht auslöschen, sofern kein spektraler Überlapp existiert.

So konnte experimentell nachgewiesen werden, dass sich bei Farbstoffen ( $\lambda_{max} = 600 \text{ nm}$ ) auf Silber Nanopartikeln ( $r \sim 3,2 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{plasmon} = 440 \text{ nm}$ ) die Fluoreszenzintensität und -lebensdauer aufgrund des geringen spektralen Überlappes gegenüber der freien Farbstoffe nur noch geringfügig änderte <sup>[121]</sup>. Eine Bestätigung der spektralen Abhängigkeit der molekularen Raten wird sich bei den DNA-Hybrid-systemen in Kapitel 5.2.2 noch zeigen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Gold Nanopartikel die Fluoreszenz von LISS-C<sub>2</sub> extrem effizient auslöschen und die experimentellen Ergebnisse sich im GN-Modell qualitativ wieder finden.

## 5.2 Parameter: Abstand

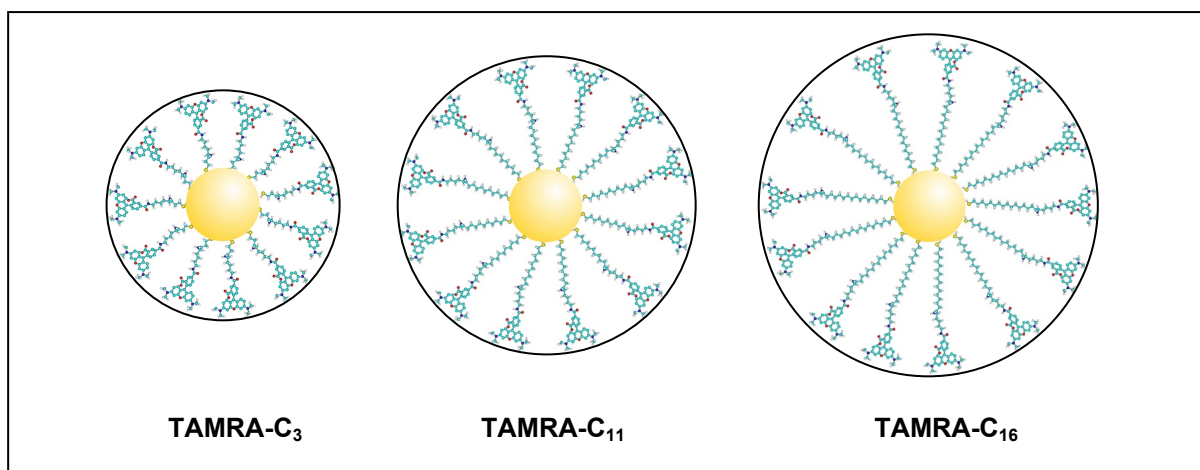
Im vorherigen Kapitel wurde der Einfluss der Partikelgrößen bei festem Molekülabstand untersucht. Jetzt werden Hybridsysteme gleicher Partikelgröße, jedoch mit verschiedenen Molekülabständen charakterisiert.

Für kurze Distanzen haben sich unkonjugierte Kohlenstoffketten (Alkyle) als zuverlässig erwiesen, größere Abstände werden mit DNA-Strängen erreicht. Die Unterteilung des vorliegenden Kapitels basiert auf diesem Unterschied. Die Extraktion der strahlenden und nichtstrahlenden Raten verläuft analog zu Kapitel 5.1 mit den Gleichungen, wie sie zu Beginn von Kapitel 5 erläutert wurden.

### 5.2.1 Alkyl-Ketten

Der Farbstoff Tetramethyl-Rhodamin (TAMRA- $C_x$ ) ist auf Gold Nanopartikel mit  $r = 15 \text{ nm}$  gebunden. Sein molekulares Dipolmoment ist wie bei Lissamin als tangential zur Partikeloberfläche orientiert angenommen. Die optischen Eigenschaften von TAMRA finden sich in Tabelle 4.11. Die Abstände zur Oberfläche des Nanopartikels werden durch verschieden lange, thiolterminierte Alkyl-Ketten realisiert (Abb. 5.11). Die erreichbaren Distanzen  $d$  zwischen Partikeloberfläche und dem  $\pi$ -System sind für  $d_{C_3} = 1,75 \text{ nm}$ ,  $d_{C_{11}} = 2,8 \text{ nm}$  und  $d_{C_{16}} = 3,6 \text{ nm}$  (Tabelle 4.1).

Die Konzentrationen der Goldpartikellösungen mit  $c = 0,255 \text{ nM}$  sind die gleichen wie in Kapitel 5.1 für Lissamin mit  $r = 15 \text{ nm}$  Partikeln. Die Farbstoffkonzentration von TAMRA für eine Oberflächenbedeckung von 50 % beläuft sich auf  $c = 0,38 \text{ }\mu\text{M}$ . Um eine resonante Anregung des Partikelplasmons durch den Laser zu vermeiden, wird bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 400 \text{ nm}$  angeregt. TAMRA hat im ungestörten Zustand eine Fluoreszenzlebensdauer von  $2090 \text{ ps}$  mit einer Quantenausbeute von 23,5 % in wässriger Lösung.

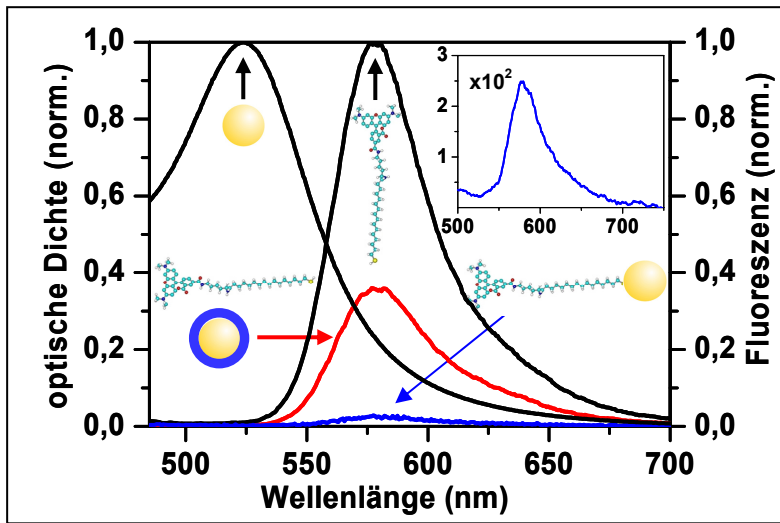


**Abb. 5.11** Der Farbstoff TAMRA liegt mit drei verschiedenen langen Kohlenstoffketten vor ( $C_3$ ,  $C_{11}$  und  $C_{16}$ ). Dessen Thiolterminierung bewerkstelligt eine effiziente Bindung an die Gold Nanopartikeloberfläche. Die damit erreichbaren Abstände sind  $d_{C_3} = 1,75 \text{ nm}$ ,  $d_{C_{11}} = 2,8 \text{ nm}$  und  $d_{C_{16}} = 3,6 \text{ nm}$ . Der Partikelradius ist in allen Fällen  $r = 15 \text{ nm}$ . Die Oberflächenbedeckung ist wieder 50 %.

5.2.1.1 Experimentelle Ergebnisse

Abbildung 5.12 zeigt den Vergleich zeitintegrierter Fluoreszenzmessungen: TAMRA-C<sub>16</sub>-Lösung (schwarz, rechts), TAMRA-C<sub>16</sub> mit passivierten Nanopartikeln (rot) und die Fluoreszenz von nanopartikelgebundenen TAMRA-C<sub>16</sub> (blau). Die optische Dichte der verwendeten Nanopartikel ist ebenfalls abgebildet (schwarz, links). Das Hybridsystem, in dem die Farbstoffe an die Nanopartikel binden können ist durch einen starken Fluoreszenzeinbruch charakterisiert (rot zu blau).

Die Absenkungsfaktoren für die verschiedenen Molekülabstände sowie die resultierende Fluoreszenzauslöschung finden sich Tabelle 5.4. Analog zu den Ergebnissen mit LISS-C<sub>2</sub> befinden sich noch geringe Restbestände an *ungebundenem* TAMRA in den Hybriden. Die tatsächliche Auslöschungseffizienz der *gebundenen* Farbstoffe ist erst nach einer Analyse der Transienten bekannt (Tab. 5.6).



**Abb. 5.12** Die Fluoreszenz von TAMRA-C<sub>16</sub> in Lösung (schwarz, rechts), mit passivierten Gold Nanopartikeln (rot), sowie Farbstoffe mit der Möglichkeit an die Oberfläche zu binden (blau). Die Nanopartikel haben alle einen Radius von  $r = 15 \text{ nm}$  (schwarz, links). Wie schon bei LISS-C<sub>2</sub> (Abb. 5.4) bricht die Fluoreszenz von TAMRA-C<sub>16</sub>, stark ein (rot zu blau). Das zeitintegrierte Spektrum ist vornehmlich durch den geringen Restbestand ungebundener TAMRA-C<sub>16</sub> dominiert (blau). Die starke Fluoreszenzlöschung von TAMRA deutet auf eine effiziente Wechselwirkung mit dem Nanopartikel hin.

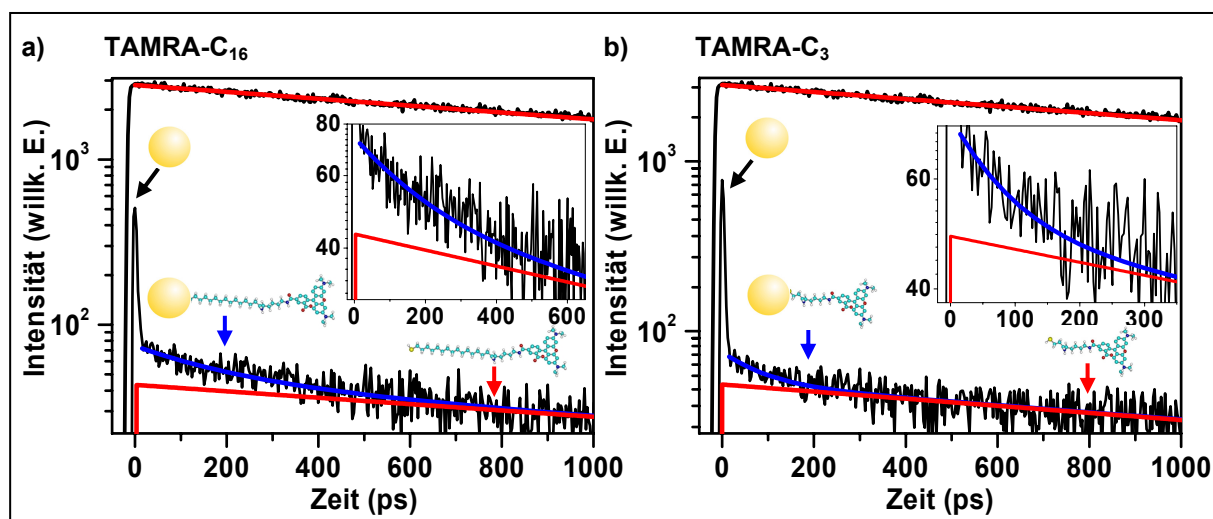
**Tab. 5.4** Abschwächung aus integrierten Spektren von Abb. 5.12 und die ermittelte Auslöschung.

Abstand $d$ (nm)	Absenkungsfaktor $X$	Fluoreszenzauslöschung (%)
1,75 (C <sub>3</sub> )	25,3	96,0
2,8 (C <sub>11</sub> )	20,1	95,0
3,6 (C <sub>16</sub> )	13,6	92,6

Abbildung 5.13 gibt die zeitaufgelösten Ergebnisse für den kürzesten (TAMRA-C<sub>3</sub>) und längsten Abstand (TAMRA-C<sub>16</sub>) wieder. In den Transienten ist die schnelle Emission der Gold Nanopartikel (Kapitel 6) und ein langlebiger Fluoreszenzuntergrund zu sehen. Der Vergleich mit der Referenzmessung von Farbstoffen mit passivierten Partikeln (obere rote Kurve) bzw. dessen herabskalierte Ausgleichsgerade (untere rote Kurve) identifiziert die langlebige Transiente als das Signal ungebundener Farbstoffe. Die blauen Kurven sind zweifach-exponentielle Funktionen, um die Fluoreszenzintensität und -lebensdauer der gebundenen und ungebundenen Farbstoffe zu ermitteln.

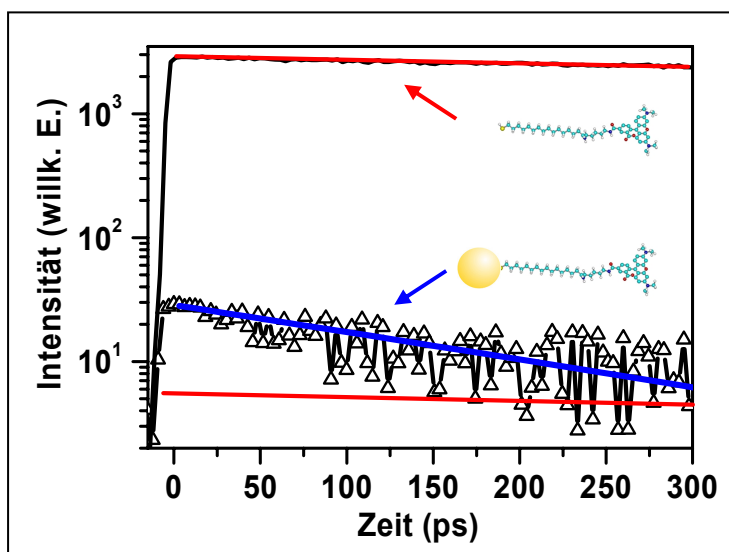
Unmittelbar nach der Goldemission befindet sich, analog zu LISS-C<sub>2</sub>, eine Transiente, wie sie in den Fluoreszenz der Einzelkomponenten nicht zu finden ist. Die ersten  $650 \text{ ps}$  und  $350 \text{ ps}$  der Transienten sind zur Anschaulichkeit nochmals vergrößert dargestellt (kleine Abbildungen). Die Zerfallszeiten ergeben sich zu  $205 \text{ ps}$  und  $89 \text{ ps}$  für die Ketten C<sub>16</sub> und C<sub>3</sub> (Tab. 5.5).

Mit zunehmendem Molekülabstand verlängert sich dessen Zerfallszeit. Ein derartiges Verhalten ist charakteristisch für Energie-Transferprozesse.



**Abb. 5.13** Vergleich der gemessenen Transienten (schwarz) von a) TAMRA- $C_{16}$  und b) TAMRA- $C_3$  gegen die Referenzen (Farbstoffe mit passivierten Partikeln, rot). Neben der Goldemission und dem Untergrund aus ungebundenen Farbstoffen erscheint im Hybridsystem ein dritter Zerfall, welcher von oberflächengebundenen Farbstoffen stammt. Die blauen Kurven sind zweifach-exponentielle Funktionen, um die Fluoreszenzintensität und -lebensdauer der gebundenen und ungebundenen Farbstoffe zu ermitteln. Die Zerfallszeiten ergeben sich für  $C_{16}$  und  $C_3$  zu  $205\text{ ps}$  und  $89\text{ ps}$ , welche sehr viel kürzer sind als die von ungebundenen Farbstoffen. Dies ist typisch für Moleküle unter dem Einfluss eines Energie-Transfers. Je größer der Abstand, umso länger wird die Lebensdauer, da der strahlungslose Energie-Transfer abnimmt. Die ersten  $650$  bzw.  $350\text{ ps}$  sind nochmals vergrößert dargestellt (kleine Abb.).

Nach Subtraktion der Goldemission und des Farbstoffuntergrundes bleibt die Transiente des Hybrid-systems über. Sie resultiert aus der Wechselwirkung vom Nanopartikel mit den darauf gebundenen Farbstoffen. Die Änderungen in den strahlenden Raten  $R'_{rad}$  ergibt sich wieder aus dem Vergleich der Intensitäten von Hybrid- zu Referenzsystem zum Zeitpunkt der gepulsten Anregung. Abbildung 5.14 zeigt die Transiente von z.B. TAMRA- $C_{16}$ . Der Zerfall ist über die ersten  $300\text{ ps}$  nahezu einfach-exponentiell und besitzt eine Lebensdauer von  $\tau = 205\text{ ps}$ .



**Abb. 5.14** Vergleich der Transienten von ungebundenem TAMRA- $C_{16}$  mit passivierten Partikeln (obere rote Kurve), mit der Transiente von auf Nanopartikeln gebundenen LISS- $C_{16}$  (blau). Aus dem Verhältnis der Intensitäten zum Zeitpunkt der gepulsten Anregung bei  $t = 0\text{ ps}$  bestimmt sich die Änderung der strahlenden Rate. Die Lebensdauer der gebundenen Farbstoffe ist stark verkürzt. Sie sinkt von  $2090\text{ ps}$  auf  $205\text{ ps}$  und lässt sich mit einer einzelnen Exponentialfunktion über die ersten  $300\text{ ps}$  erfassen. Zum besseren Vergleich der Zerfallszeiten ist die Ausgleichsgerade des freien Farbstoffs noch mal mit geringerer Amplitude aufgetragen (rot, unten).

Tabelle 5.5 fasst die Ergebnisse der Abstandsmessungen nochmals zusammen. Je größer der Abstand von TAMRA, umso geringer wird die Energie-Transferrate  $R_{ET}$ . Die experimentellen Ergebnisse werden im Anschluss in Kapitel 5.2.1.2 diskutiert und mit dem GN-Modell verglichen.

**Tab. 5.5** Überblick der experimentell ermittelten Raten von TAMRA als Funktion des Abstandes

Abstand $d$ (nm)	Lebensdauer $\tau$ (ps)	Absenkung (bei $t = 0$ ps)	strahlende Rate $R'_{rad}$ (1/s)	nichtstr. Rate $R'_{nonrad}$ (1/s)	Energie-Transfer $R_{ET}$ (1/s)
$\infty$	$2090 \pm 5$	-----	$1,12 \cdot 10^8$	$3,66 \cdot 10^8$	-----
1,75 (C <sub>3</sub> )	$89 \pm 17$	108	$1,79 \cdot 10^6$ *	$1,12 \cdot 10^{10}$	$1,08 \cdot 10^{10}$
2,8 (C <sub>11</sub> )	$130 \pm 16$	85	$2,34 \cdot 10^6$ *	$7,69 \cdot 10^9$	$7,32 \cdot 10^9$
3,6 (C <sub>16</sub> )	$205 \pm 24$	98	$2,00 \cdot 10^6$ *	$4,88 \cdot 10^9$	$4,51 \cdot 10^9$

\* um Einfluss auf strahlende Rate bei der Anregewellenlänge von 400 nm korrigiert (analog zu Abb. 5.2)

**5.2.1.2 Diskussion und Modellvergleich**

Wie bei LISS-C<sub>2</sub> zeigen die experimentellen Ergebnisse von TAMRA-C<sub>x</sub>, dass sich durch Bindung des Farbstoffes an das Nanopartikel die strahlenden Raten  $R'_{rad}$  stark verringern, hier um beinahe zwei Größenordnungen. Die gemessene Fluoreszenzlebensdauer  $\tau$  der Hybride ist beim kürzesten Abstand um einen Faktor 23,5 geringer als die Fluoreszenzlebensdauer ungebundener Farbstoffe. Das ist enorm effizient. Die nichtstrahlende Rate  $R'_{nonrad}$  (Tab. 5.5) sinkt mit steigendem Molekülabstand und ist wieder der dominierende Term in Gleichung (5.1).

Aus den geänderten Raten berechnet sich die Quantenausbeute der Hybride und die Fluoreszenzauslöschungseffizienz der Gold Nanopartikel (Tabelle 5.6). Sie ergibt sich aus der Quantenausbeute freier TAMRAS in wässriger Lösung ( $QE \sim 23,5 \%$ ), der intrinsischen nichtstrahlenden Rate von TAMRA ( $R_{nonrad, intrins} = 3,66 \cdot 10^8$  1/s) sowie den Ergebnissen aus Tabelle 5.5. Ein unendlicher Abstand  $d = \infty$  steht für die ungebundenen Farbstoffe der Referenzlösung.

**Tab. 5.6** Quanteneffizienz von TAMRA und Auslöschungseffizienz der Partikel als Funktion des Abstandes

Abstand $d$ (nm)	Quanteneffizienz $QE = R'_{rad} / (R'_{rad} + R_{nonrad} + R_{ET})$ (%)	Fluoreszenz Auslöschungs- Effizienz (FAE) (%)
$\infty$	$\sim 23,5$	-----
1,75	0,016	99,93
2,8	0,032	99,86
3,6	0,044	99,81

Die Auslöschungseffizienz im TAMRA-System ist vergleichbar mit den Ergebnissen von LISS-C<sub>2</sub> (Tabelle 5.3). Dies erscheint zunächst ungewöhnlich, würde man doch für die größeren Abstände eine geringer werdende FAE erwarten (vgl.  $d_{LISS-C2} = 1$  nm). Der bessere spektrale Überlapp zwischen TAMRA-Emission und Partikelabsorption kompensiert jedoch eine allzu starke Veränderung in der FAE weitestgehend.

Die Ergebnisse in Tabelle 5.6 zeigen, dass bei Erhöhung des Abstandes die QE ansteigt bzw. die FAE abnimmt. Das ist einzusehen, denn der Farbstoff wird „schrittweise“ aus dem Wirkungsradius des Nanopartikels hinausgebracht. Wie bei LISS-C<sub>2</sub> ist auch bei TAMRA die geänderte strahlende Rate für das starke Absinken der Quanteneffizienz mitverantwortlich. So steigt im Hybridsystem mit TAMRA-C<sub>3</sub>, unter Nichtberücksichtigung einer geänderten  $R_{rad}$ , die Quantenausbeute um einen Faktor  $\sim 60$  auf  $QE \sim 1 \%$  und die FAE ergibt nur noch  $\sim 95,7 \%$ .

Es ist möglich, die drei experimentellen Ergebnisse der TAMRA-Abstandsserie auf Goldpartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  um einen vierten zu ergänzen; dem des LISS-C<sub>2</sub>, ebenfalls auf Goldpartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$ . Denn die Hybridsysteme mit TAMRA oder LISS sind in der molekularen Struktur (Abb. 4.10, Tabelle 4.11), der Emissionswellenlänge ( $578 \text{ nm}$ ,  $595 \text{ nm}$ ), der Nanopartikelgröße ( $r = 15 \text{ nm}$ ), der Chemie des Abstandshalters (Alkyl-Ketten), dessen Terminierung (Thiol, Thioether) und der verwendeten Anregewellenlänge des Laser ( $400 \text{ nm}$ ) nahezu identisch. Letztendlich unterscheiden sich die beiden Hybridsysteme nur durch a) die um  $17 \text{ nm}$  zueinander versetzten Emissionsmaxima der Farbstoffe und b) ihren intrinsischen strahlenden Raten  $R_{rad}$ . Im Folgenden werden die experimentellen Ergebnisse von LISS-C<sub>2</sub> an die TAMRA Serie angepasst:

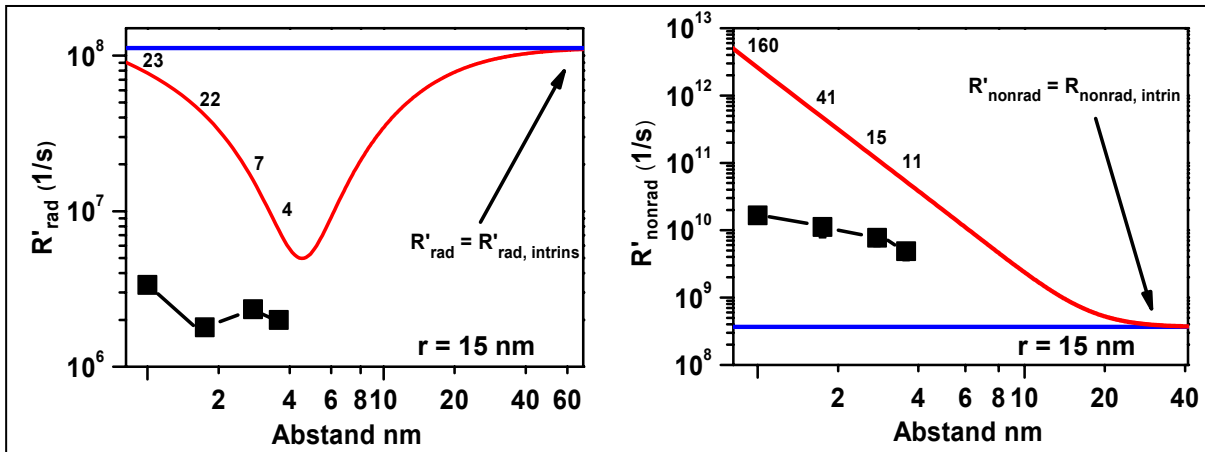
a) **Emissionsmaxima:** Der Energie-Transfer ist proportional zum Absorptionskoeffizienten des Akzeptors  $\sigma_{Abs, Part}$ . Wie sehr sich  $R_{ET}$  daher als Funktion der Wellenlänge ändert, lässt sich an der experimentell gemessenen Extinktion von Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  bestimmen. Die optische Dichte  $OD$ , welche nach Gleichung (3.1) direkt proportional zum Extinktionskoeffizienten ist, ist in Abbildung 4.3 gezeigt (der Streuanteil dieser Partikelgröße liegt bei nur wenigen Prozent, es gilt daher: Extinktion  $\approx$  Absorption).

Das Verhältnis der  $OD$  bei  $578 \text{ nm}$  zu  $595 \text{ nm}$  ergibt einen Wert von  $\sim 1,68$ . Die Energie-Transferrate erhöht sich also um diesen Faktor. Die experimentell bestimmte Rate  $R_{ET}$  von LISS-C<sub>2</sub> (siehe Tab. 5.2) wird also für eine Anpassung an die Ergebnisse von TAMRA um einen Faktor  $1,68$  angehoben.

b) **intrinsische strahlende Rate  $R_{rad}$ :** Die strahlende Rate des Hybridsystems zeigen nach dem GN-Modell eine direkte Proportionalität zur intrinsischen strahlenden Rate  $R_{rad}$  des Moleküls. Der Grund findet sich darin, dass das intrinsische Dipolmoment des Moleküls  $\mu_0$  aus der klassischen Strahlungsleistung eines Dipols über  $R_{rad}$  (Gl. 2.45) und die intrinsische Polarisierbarkeit  $\alpha_{mol}$  des Moleküls unter der Annahme eines Lorentzoscillators mit einer Strahlungsdämpfung  $R_{rad}$  (Gl. 2.46) berechnet wird. Das Verhältnis der experimentell bestimmten intrinsischen strahlenden Raten von LISS ( $2,16 \cdot 10^8 \text{ 1/s}$ ) und TAMRA ( $1,12 \cdot 10^8 \text{ 1/s}$ ) beträgt  $1,93$ . Die experimentell bestimmte  $R'_{rad}$  von LISS-C<sub>2</sub> (siehe Tab. 5.2) wird also für eine Anpassung an die Ergebnisse von TAMRA um einen Faktor  $1,93$  gesenkt.

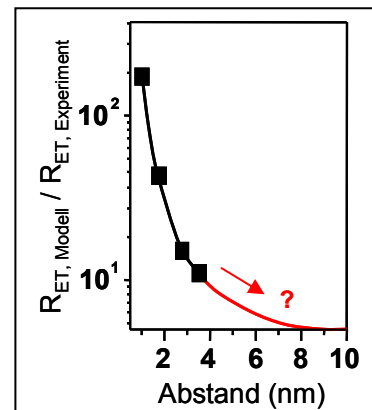
Abbildung 5.15 zeigt die experimentell ermittelten Raten der Hybridsysteme (TAMRA-C<sub>3</sub>, <sub>11</sub>, <sub>16</sub> und das angepasste LISS-C<sub>2</sub> Ergebnis, alle auf  $r = 15 \text{ nm}$  Nanopartikeln) gegen die Vorhersagen des GN-Modells. Es sind die Raten gegen den Abstand zur Partikeloberfläche aufgetragen.

Die intrinsischen, strahlenden und nichtstrahlenden Raten von TAMRA sind als blaue Linien verdeutlicht. Deren Berührungspunkte mit dem GN-Modell (rote Linien) können als Orientierungspunkte für den Wirkungsradius des Partikels gesehen werden. Dem Modell nach hat sich die strahlende Rate  $R'_{rad}$  des Hybridsystems erst in einem Abstand von  $60 \text{ nm}$  wieder auf ihren ursprünglichen, intrinsischen Wert regeneriert.  $R'_{nonrad}$  ( $= R_{ET} + R_{nonrad, intrins}$ ) ist erst in einem Abstand von  $\sim 30 \text{ nm}$  auf die intrinsische nichtstrahlende Rate  $R_{nonrad, intrins}$  des freien Moleküls gesunken. Ein Energie-Transfer  $R_{ET}$  ist dann vernachlässigbar. Die Zahlenwerte entlang der Modellvorhersage geben das Verhältnis der Raten zum Experiment wieder. Die strahlende Rate des GN-Modells weicht quantitativ um etwa eine Größenordnung von den experimentellen strahlenden Raten ab. Die Diskrepanz wird mit steigendem Partikelabstand kleiner. Qualitativ bestätigt die Modellrechnung die abfallende Tendenz von  $R'_{rad}$  mit größerem Abstand. Die nichtstrahlenden Raten  $R'_{nonrad}$  verhalten sich ähnlich. Auch hier bestätigt das Modell die experimentellen Ergebnisse, dass  $R_{ET}$  mit größer werdendem Abstand des Moleküls immer mehr abnimmt. Für einen Abstand von  $d = 3,6 \text{ nm}$  unterscheidet sich das GN-Modell vom Messergebnis nur noch um einen Faktor  $11$ , und ist damit nicht mehr weit von einer quantitativen Übereinstimmung entfernt.



**Abb. 5.15** Vergleich der experimentell bestimmten Raten von TAMRA und LISS auf Partikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  (schwarz) mit den Modellvorhersagen von Gersten/Nitzan (rot). Es sind die strahlenden und nichtstrahlenden Raten in doppelt-logarithmischer Darstellung als Funktion des Abstandes aufgetragen. Die blauen Linien sind die intrinsischen strahlenden und nichtstrahlenden Raten des Moleküls. Die Berührungspunkte mit dem Modell besagen, in welchem Abstand  $R'_{\text{rad}}$  dem der intrinsischen  $R_{\text{rad, intrins}}$  entspricht bzw.  $R'_{\text{nonrad}}$  wieder auf die intrinsische nichtstrahlende Rate  $R_{\text{nonrad, intrins}}$  gefallen ist. Die Zahlenwerte entlang des Modells geben das Verhältnis der Raten zum Experiment wieder.

Abbildung 5.16 zeigt das Verhältnis der Energie-Transferrate  $R_{ET}$  nach dem Modell zu den Raten des Experiments als Funktion des Abstandes. Man sieht, dass die Abweichungen des Modells für größere Abstände immer geringer werden. Wie schon an den experimentellen Ergebnissen der Hybridsysteme mit LISS- $C_2$  mit verschiedenen Partikelradien diskutiert, wird die Abweichung auf nichtlokale Effekte (Kap. 2.3.6) zurückgeführt, die erst ab einem Abstand von  $d \sim 5 \text{ nm}$  nicht mehr signifikant auf die Raten wirken. Obwohl Messergebnisse für  $d > 3,6 \text{ nm}$  nicht vorliegen (rote Kurve) ist eine qualitative Übereinstimmung zu Leungs Rechnungen in Abbildung 2.19 zu sehen. Dass mit zunehmendem Abstand die Fluoreszenzlebensdauer von Molekülen auf Goldpartikeln ( $r \sim 2,3 \text{ nm}$ ) wieder ansteigt wurde vor kurzem von Imahori et al. [204] experimentell bestätigt.



**Abb. 5.16** Verhältnis von berechneter Energie-Transferrate (GN) zur experimentell bestimmten Rate als Funktion des Abstandes.

Als Abstandshalter wurden Kohlenstoffkettenlängen  $C_3$ ,  $C_5$  und  $C_{11}$  verwendet. Imahoris Ergebnisse zeigen, dass die experimentell ermittelten Energie-Transferraten geringer waren, als man sie für ein Försterähnliches System (da kleine Partikel) erwartet. Eine mögliche Erklärung blieb aus, vermutlich sind aber ebenfalls nichtlokale Effekte verantwortlich. In einem anderen Experiment konnte gezeigt werden, dass vergoldete Nahfeldspitzen als Akzeptor in einem Energie-Transfersystem die Fluoreszenzlebensdauer einzelner Moleküle als Funktion des Abstandes verkürzten [288].

Die Konzentrationsserie von TAMRA- $C_{16}$  auf Partikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  (Abb. 4.14) weist für verschiedene Oberflächenbedeckungen keine signifikante Änderung der gemessenen Fluoreszenzlebensdauern auf (Anhang B). Wir können daraus schlussfolgern, dass intramolekulare Wechselwirkungen (z.B. Bildung von Dimeren) nur eine untergeordnete Rolle spielen. Der einfach-exponentielle Zerfall der Transiente des Hybridsystems in Abbildung 5.14 bestätigt dies.

Der Einfluss der Nanopartikel reicht dem Modell nach bemerkenswert weit. Mit Kohlenstoffketten sind größere Abstände nicht realisierbar, da diese zu „Knicken“ beginnen. Höhere Abstände werden mit DNA-Einzelsträngen erreicht (Kap. 4.2.3). Dies wird der Inhalt des kommenden Unterkapitels.



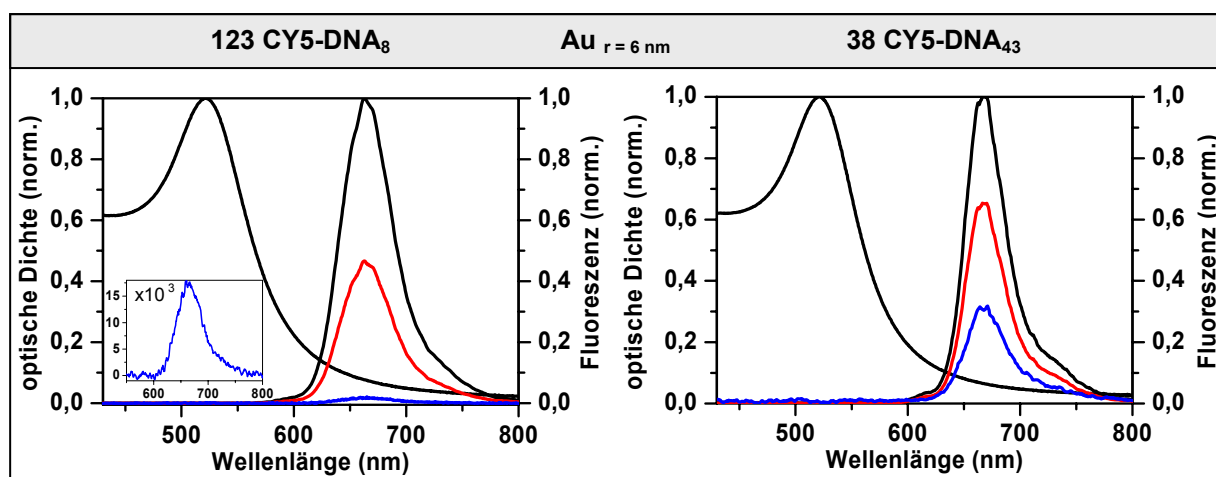
### 5.2.2 DNA-Ketten

Als Farbstoff wird CY5 verwendet. Dessen Lebensdauer beträgt in wässriger Lösung  $\tau = 1390 \text{ ps}$  mit einer Quantenausbeute von  $QE \sim 25 \%$  [271]. Die intrinsische strahlende und nichtstrahlende Rate ergeben sich daraus zu  $R_{rad} = 1,8 \cdot 10^8$  und  $R_{nonrad} = 5,4 \cdot 10^8$ . Die Proben werden bei  $403 \text{ nm}$  optisch angeregt. Das Absorptionsmaximum von CY5 liegt an der niederenergetischen Flanke des Partikelplasmons bei etwa  $650 \text{ nm}$  und ist im Hybridsystem gut detektierbar. Das Emissionsmaximum liegt bei  $665 \text{ nm}$  (Kap. 4.3). Die Gold Nanopartikel haben in allen Proben einen Radius von  $r = 6 \text{ nm}$ .

Die erreichbaren Abstände von CY5 zur Goldoberfläche sind mit einfachsträngigen  $\text{DNA}_{XX}$  als Abstandshalter eine Funktion der Oberflächenbedeckung (Kap. 4.4.).  $XX$  gibt die Zahl der Basen pro Oligomer an. Ein definierter Abstand liegt erst bei vollständiger Streckung der DNA vor (vollständige Oberflächenbedeckung). Sie errechnet sich aus dem Basenabstand von  $0,43 \text{ nm}$  eines gestreckten Einzelstranges multipliziert mit der Basenzahl. Für die Thiolalkyle, welche mit einer C6-Kette am Fuß der DNA gebunden ist, werden  $0,9 \text{ nm}$  addiert. Rechnerisch ergibt sich damit für  $\text{DNA}_8$  eine Länge von  $4,34 \text{ nm}$  und für  $\text{DNA}_{43}$   $19,4 \text{ nm}$ . Die experimentellen Ergebnisse bei langen Ketten und bei geringen Bedeckungszahlen zeigen hiervon Abweichungen [261]. Bei der Diskussion der eigenen experimentellen Ergebnisse dieses Unterkapitels (Kap. 5.2.2.2) wird dies berücksichtigt. Die Übersichtstabellen in werden daher zunächst nur anhand der Anzahl gebundener Farbstoffe gelistet sein.

#### 5.2.2.1 Experimentelle Ergebnisse

Zur besseren Vergleichbarkeit werden die experimentellen Ergebnisse von  $\text{CY5-DNA}_8$  und  $\text{CY5-DNA}_{43}$  stets synchron präsentiert. Abbildung 5.17 zeigt zunächst wieder die spektralen Positionen der Extinktion des Partikelplasmons mit drei Fluoreszenzspektren, bestehend aus den Spektren der puren  $\text{CY5-DNA}_8$  bzw.  $\text{CY5-DNA}_{43}$  Lösungen (schwarz), den Spektren, die um triviale Absorption korrigiert sind (rot) und letztendlich die abgeschwächte Fluoreszenz der oberflächengebundenen  $\text{CY5-DNA}_{XX}$  (blau). Es sind die Hybridsysteme mit der höchsten Oberflächenbedeckung ( $\text{DNA}_8 = 123 \text{ CY5}$  und  $\text{DNA}_{43} = 38 \text{ CY5}$ , Abb. 4.16) dargestellt.



**Abb. 5.17**  $\text{CY5-DNA}_8$  und  $\text{CY5-DNA}_{43}$  mit und ohne Gold Nanopartikel ( $r = 6 \text{ nm}$ ). Die Partikel sind mit 123 bzw. 38 Farbstoffen vollständig bedeckt. Es sind die normierten Fluoreszenzen dreier identisch konzentrierter  $\text{CY5}$ -Lösungen gezeigt: frei in Lösung (schwarz), korrigiert um triviale Absorption (rot) und gebunden auf der Partikeloberfläche (blau). Im Vergleich zu LISS (Abb. 5.4) und TAMRA (Abb. 5.12) ist der spektrale Überlapp von  $\text{CY5}$  mit der Extinktion der Nanopartikel nur noch relativ gering. Die Fluoreszenzauslöschung der  $\text{DNA}_{43}$ -Probe (blau, rechts) ist aufgrund des sehr viel höheren Abstandes zum Goldpartikel bedeutend schwächer als in der  $\text{DNA}_8$ -Probe (blau, links).

Die Abschwächung der Fluoreszenz aufgrund trivialer Absorptionen ist im Vergleich zur TAMRA- und LISS-Serie recht gering ( $\sim 50 - 60 \%$ ), da die optischen Dichten der Hybridproben aufgrund der aufwendigen Reinigungsprozesse nur noch Werte von  $0,25 - 0,45$  besitzen (siehe Abb. 4.17).

Das Hybridsystem, in denen die CY5-DNA<sub>8</sub> auf die Nanopartikel binden können, zeigt, wie auch schon für LISS und TAMRA beobachtet, eine beträchtliche Absenkung in der Fluoreszenz (Abb. 5.17, blaue Kurven). Die verbleibende Fluoreszenz beträgt nur noch  $\sim 5 \%$  der ursprünglichen Intensität. Das ist nicht der Fall für CY5-DNA<sub>43</sub>. Die Fluoreszenz der CY5-DNA<sub>43</sub>-Farbstoffe bleibt zu  $\sim 50 \%$  erhalten, ist also um eine ganze Größenordnung stärker als beim DNA<sub>8</sub>-System.

Intramolekulare Wechselwirkungen (z.B. Dimerbildung), welche auf jeden Fall mit der Bedeckungsdichte korreliert wären und zu einer zusätzlichen Fluoreszenzauslöschung führen würden, können als Ursache für die *10fach* schwächere Fluoreszenz der CY5-DNA<sub>8</sub> nicht herangezogen werden. Denn obwohl gegenüber CY5-DNA<sub>43</sub> bei CY5-DNA<sub>8</sub> mehr als dreimal so viele Farbstoffe auf der Partikeloberfläche gebunden sind, und damit eine erhöhte Wahrscheinlichkeit zur Dimerbildung bestünde, ist bei vergleichbaren Bedeckungsdichten (Tab. 5.7, CY5-DNA<sub>8</sub>: 41 CY5/Partikel und Tab. 5.8, CY5-DNA<sub>43</sub>: 38 CY5/Partikel) der Absenkungsfaktor bei CY5-DNA<sub>43</sub> immer noch um eine Größenordnung geringer. Die einzig verbleibende Erklärung für die zehnfach stärkere Fluoreszenz von gebundenen CY5-DNA<sub>43</sub> ist *der große Abstand der Farbstoffe zur Partikeloberfläche*. Für den Fall ideal gestreckter DNA-Stränge befinden sich die CY5-Farbstoffe an DNA<sub>43</sub> etwa  $19 \text{ nm}$  von der Partikeloberfläche entfernt und damit viermal so weit wie die gestreckten CY5-DNA<sub>8</sub>. Als Folge übt das Gold Nanopartikel einen geringeren Einfluss auf die molekularen Zerfallraten aus, d.h. die Energie-Transferraten sind gesenkt, und die strahlenden Raten nur leicht geändert.

Tabelle 5.7 und 5.8 geben die Absenkungsfaktoren für alle Bedeckungsgrade der Hybridsysteme sowie die resultierende Fluoreszenzauslöschung an. Sie fällt mit ansteigendem Bedeckungsgrad der Oberfläche. Das ist im Einklang mit der Annahme, dass die Stränge allmählich in eine gestreckte strukturelle Geometrie übergehen (Kap. 4.2.3) <sup>[261]</sup>. Das System mit CY5-DNA<sub>43</sub>, charakterisiert durch größere Abstände, zeigt in allen Fällen eine schwächere Auslöschung der Fluoreszenz als CY5-DNA<sub>8</sub>. Die Auslöschung von  $95,8 \%$  der Probe mit 123 Cy5-DNA<sub>8</sub>-Farbstoffen gegenüber den  $79,2 \%$  mit 9 Cy5-DNA<sub>43</sub> deutet daraufhin, dass selbst bei einer nicht voll gestreckten DNA<sub>43</sub> die CY5 einen größeren mittleren Abstand zum Partikel besitzen, als an einer vollständig gestreckten DNA<sub>8</sub>.

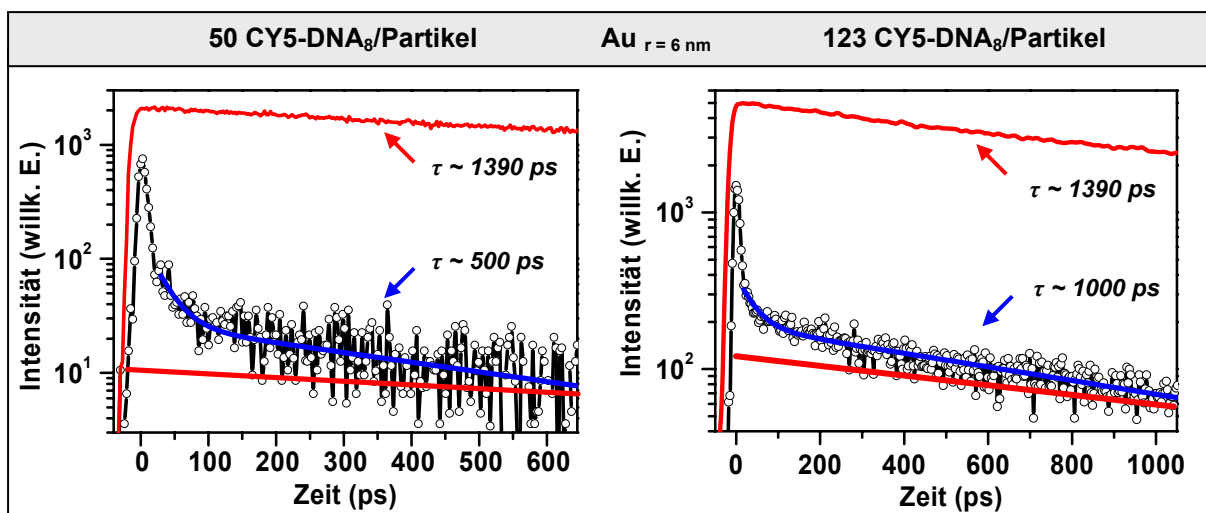
**Tab. 5.7** Abschwächung und Auslöschung von CY5-DNA<sub>8</sub> aus integrierten Spektren.

CY5-DNA <sub>8</sub> auf Partikel	Absenkungsfaktor $X$	Fluoreszenzauslöschung (%)
41	45	97,8
50	66	98,5
64	54	98,1
98	39	97,4
123	24	95,8

**Tab. 5.8** Abschwächung und Auslöschung von CY5-DNA<sub>43</sub> aus integrierten Spektren.

CY5-DNA <sub>43</sub> auf Partikel	Absenkungsfaktor $X$	Fluoreszenzauslöschung (%)
9	4,8	79,2
13	6,1	83,6
19	3,57	72,0
25	2,32	56,9
38	1,86	53,8

In Abbildung 5.18 sind die Transienten einer niedrig- (50) und einer hochkonzentrierten (123) Probe der CY5-DNA<sub>8</sub>-Partikelserie sowie die entsprechenden, um triviale Absorption korrigierten, Referenzproben in einer semi-logarithmischen Darstellung aufgetragen. Zur besseren Veranschaulichung ist die Ausgleichsgerade der Referenzprobe mit einer Zerfallszeit von  $\tau = 1390 \text{ ps}$  auf die Größenordnung der Intensitäten des Hybridsystems skaliert (rote untere Kurve). Nach der schnellen Emission aus den Gold Nanopartikeln zu  $t = 0$  finden sich Transienten, die vornehmlich auf einer kurzen und langen Zeitskala abfallen. Da sich die beiden Transienten in ihrer Zerfallsdynamik um mehr als eine Größenordnung unterscheiden, wird eine *zweifach-exponentielle* Funktion zur Ermittlung der Zerfallszeiten der Hybridsysteme angesetzt (blaue Kurve).

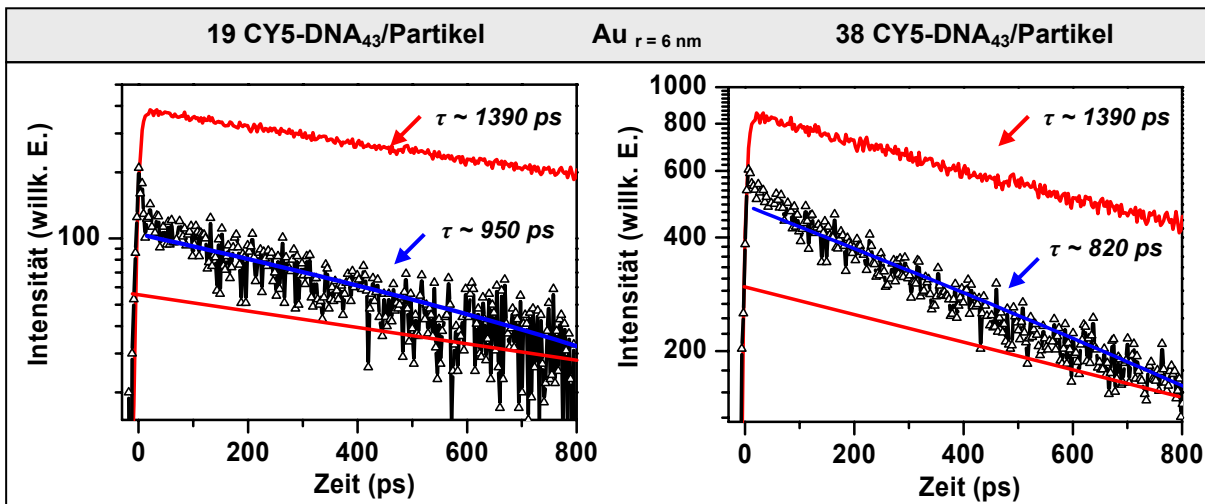


**Abb. 5.18** Transienten der Fluoreszenz von ungebundenen CY5-DNA<sub>8</sub> (rote Linie, korrigiert um triviale Absorption) und von gebundenen CY5-DNA<sub>8</sub> mit zwei Bedeckungsgraden (50 bzw. 123 CY5 pro Nanopartikel mit  $r = 6 \text{ nm}$ , blaue Linie). Die untere rote Kurve dient als Vergleich und besitzt die identische Steigung wie die Zerfallscharakteristik der freien Farbstoffe (obere rote Kurve). Die blauen Kurven sind zweifach-exponentielle Funktionen, um die Zerfallszeiten der Hybridsysteme zu bestimmen. Man erkennt, dass in beiden Proben der langlebige Zerfall nicht mit der Transiente der Referenzlösung übereinstimmt. Freie Farbstoffe sind also nicht mehr in der Hybridlösung vorhanden. Je bedeckter die Partikel, umso gestreckter sind die Stränge; der Abstand des Farbstoffs erhöht sich, und die Lebensdauer verlängert sich entsprechend (siehe Abb. 5.20 und Tab. 5.9).

Zwei Sachverhalte sind bemerkenswert: Erstens stimmt die langlebige Komponente in ihrer Zerfallszeit nicht mit der des freien Farbstoffes überein. Für die Partikel mit nur 50 Farbstoffen beträgt sie  $\sim 0,5 \text{ ns}$  und steigt mit 123 gebundenen Farbstoffen auf  $\sim 1 \text{ ns}$  an. Zweitens ist die kurze Zerfallskomponente bereits nach  $100 \text{ ps}$  beinahe vollständig abgeklungen. Die ermittelten Fluoreszenzlebensdauern des schnellen Signals liegen zwischen  $20 - 40 \text{ ps}$  und zeigen keine Korrelation mit dem Grad der Oberflächenbedeckungsdichte. Die Lebensdauern wären unter den gegebenen Voraussetzungen auch ungewöhnlich schnell für einen Energie-Transfer. So besitzt LISS-C<sub>2</sub>, obwohl auf einem  $1,5\text{fach}$  größerem Nanopartikel ( $r = 10 \text{ nm}$ ) und mit einem  $3,5\text{fach}$  höheren spektralen Überlappes in nur  $1 \text{ nm}$  Entfernung zur Partikeloberfläche eine immer noch  $3\text{fach}$  längere Fluoreszenzlebensdauer (Tab. 5.3). Dieser experimentelle Befund wird folgendermaßen interpretiert: Möglicherweise bleiben vereinzelt DNA-Stränge, unabhängig von der Bedeckungsdichte, flach auf dem Nanopartikel. Ein derart kurzer Abstand würde einen sehr effizienten Energie-Transfer und entsprechend schnelle Transiente zu Folge haben. Insbesondere bei geringeren Bedeckungsdichten könnte dies der Fall sein. Besteht ein direkter Kontakt mit dem Partikel, ist sogar ein Ladungstransfer nicht auszuschließen. Das Signal stammt eventuell auch von einer geringen Kontamination, welche während der Synthese in die wässrigen Lösungen des Hybridsystems gelangt sein könnte.

Die kurze Zerfallskomponente wird für die weitere Analyse nicht in Betracht gezogen. Die Diskussion der experimentellen Ergebnisse der Transienten beschränkt sich auf die langlebige Zerfallskomponente. Diese zeigen mit ansteigender Bedeckungsdichte länger werdende Fluoreszenzlebensdauern (Abb. 5.18 oder Abb. 5.20) und können erklärt werden. Die langlebige Transiente zeigt sich in der semi-logarithmischen Darstellung von Abbildung 5.18 annähernd als eine Gerade. Dies deutet daraufhin, dass sich die Farbstoffe, obwohl die DNA nicht gestreckt ist, dennoch in einem *Abstandsbereich mit geringer Dispersion* befinden, und dieser als Funktion der Oberflächenbedeckung ansteigt. Diese Vermutung wird in der Diskussion (Kap. 5.2.2.2) nochmals aufgegriffen.

Abbildung 5.19 zeigt die experimentellen Ergebnisse der langkettigen CY5-DNA<sub>43</sub>-Partikelserie. Es sind wieder die Transienten einer niedrig (*19* Cy5-DNA<sub>43</sub>) und einer höher konzentrierten (*38* CY5-DNA<sub>43</sub>) Probe mit ihren entsprechenden Referenzproben in semi-logarithmischer Darstellung aufgetragen. Die rote Vergleichslinie zeigt die Zerfallscharakteristik des freien Farbstoffes mit  $\tau = 1390$  ps. Die gemessenen Transienten unterscheiden sich von der CY5-DNA<sub>8</sub>-Partikelserie. Die Hybride zeigen starke Signale. Die Fluoreszenzintensität bei  $t = 0$  ps ist nur noch geringfügig kleiner als das Referenzsignal. Von allen bisher untersuchten Hybrid-Systemen zeigt die CY5-DNA<sub>43</sub> Serie die intensivsten und auch langlebigsten Transienten. Die Lebensdauer der Hybridsysteme erreicht noch nicht ganz die der Referenz. Die blaue Linie ist eine Ausgleichgerade (einfach-exponentiell), um die Fluoreszenz-lebensdauer zu bestimmen.



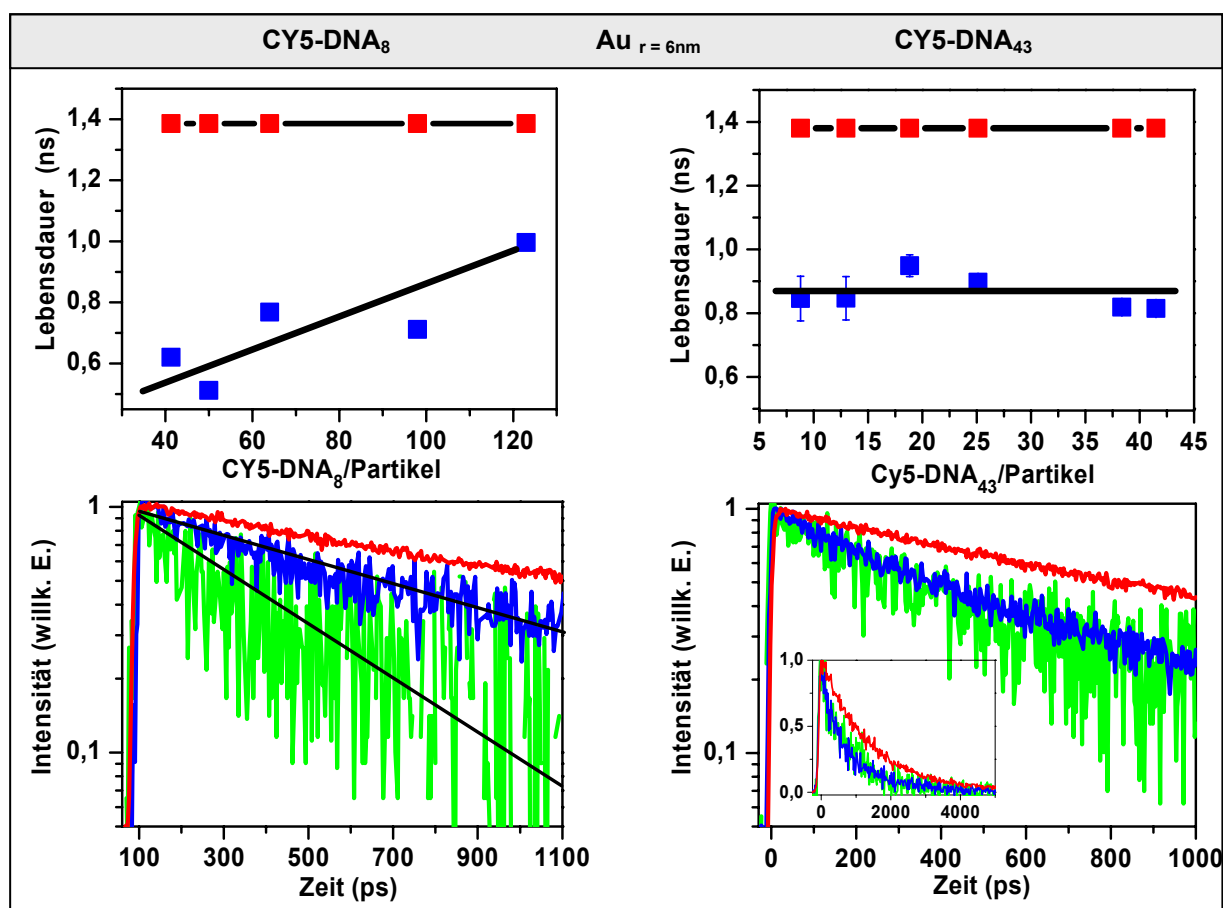
**Abb. 5.19** Transienten der Fluoreszenz von ungebundenen CY5-DNA<sub>43</sub> (rote obere Kurve, korrigiert um triviale Absorption) und von gebundenen CY5-DNA<sub>43</sub> mit zwei verschiedenen Bedeckungsgraden (*19* bzw. *38* CY5 pro Partikel mit  $r = 6$  nm, blaue Linie). Die untere rote Kurve dient als Vergleich und besitzt die identische Steigung wie die Zerfallscharakteristik der Referenzlösung. Die blaue Kurve ist eine einfach-exponentielle Funktion, um eine *mittlere* Fluoreszenzlebensdauer zu bestimmen. Analog zur DNA<sub>8</sub>-Serie (Abb. 5.18) findet sich auch hier keine Transiente, wie sie der von freien Farbstoffen entspricht. Die Fluoreszenzlebensdauer ändert sich nicht signifikant mit der Oberflächenbedeckung (siehe auch Abb. 5.20 und Tab. 5.10) und liegt nur etwa einen Faktor *1,5* unterhalb der Referenzlebensdauer von *1390* ps. Zudem erreicht die Intensität des Hybridsystems bei  $t = 0$  annähernd die Werte der Referenzlösungen. Die CY5 mit DNA<sub>43</sub> befinden sich demnach in einem Abstandsbereich, in dem weder die Lebensdauern, noch die strahlenden Raten des Moleküls wesentlich beeinflusst sind.

Der Abstand der CY5 zum Nanopartikel ist nicht exakt bekannt. Die gemessene Transiente zeigt sich in semi-logarithmischer Darstellung annähernd als Gerade (Abb. 5.20). Dies lässt darauf schließen, dass die Farbstoffe, analog zur CY5-DNA<sub>8</sub> Serie, sich in Abständen mit geringer Dispersion befinden. Wären die DNA-Stränge willkürlich ineinander „verflochten“, sodass die Farbstoffe jeden beliebigen Abstand zum Gold einnehmen könnten, so müssten die gemessenen Transienten ein Ensemble *vieler*

stark unterschiedlicher Transferraten darstellen und in einer semi-logarithmischen Darstellung entsprechend massiv von einer Geraden abweichen. Die experimentell gemessenen Transienten zeigen aber nur geringfügige Abweichungen. Die Fluoreszenzlebensdauern der CY5-DNA<sub>8</sub>-Serie werden daher mit einer einzelnen Exponentialfunktion beschrieben (blaue Gerade in Abb. 5.19). Dieses Verhalten war bei der CY5-DNA<sub>8</sub>-Serie auch schon zu sehen.

In Abbildung 5.20 sind die experimentell bestimmten Fluoreszenzlebensdauern beider Hybridsysteme gegen die Farbstoffzahl pro Partikel aufgetragen. Mit dem DNA<sub>8</sub>-Strang ist ein Ansteigen der Fluoreszenzlebensdauer von CY5 feststellbar. Eine Dimerbildung zwischen den Farbstoffen sollte jedoch mit steigender Bedeckung zu einer Lebensdauerverkürzung führen. Da sich die Fluoreszenzlebensdauer dennoch verlängert, kann eine Dimerbildung nicht signifikant sein, und bestätigt die zeitaufgelösten Messungen der Oberflächenbedeckungsserie von TAMRA-C<sub>16</sub> (Anhang B).

Die CY5-DNA<sub>43</sub>-Serie zeigt keine Korrelation mit dem Bedeckungsgrad der Partikeloberfläche. Die Fluoreszenzlebensdauern der gebundenen CY5 liegen stets unter der Referenzlebensdauer freier CY5-DNA<sub>43</sub> (rote Punkte) und bleiben annähernd unverändert (blaue Punkte), obwohl sich mit ansteigender Oberflächenbedeckung der Abstand erhöhen, der Energie-Transfer abnehmen und sich die Lebensdauer verlängern sollte. Dieser Punkt wird in der Diskussion nochmals aufgegriffen (Kap. 5.2.2.2).



**Abb. 5.20** Ermittelte Fluoreszenzlebensdauern aller Proben als Funktion der Farbstoffzahl pro Nanopartikel. Während innerhalb der DNA<sub>8</sub>-Serie die Lebensdauer mit ansteigender Bedeckung längere Fluoreszenzlebensdauern aufweist, bleiben diese bei DNA<sub>43</sub> relativ unverändert. Experimentell gemessene und bei  $t = 0$  normierte Transienten in semi-logarithmischer Darstellung von oberflächengebundenen CY5-DNA<sub>8</sub> bzw. CY5-DNA<sub>43</sub> mit geringer (grün) und höchster (blau) Oberflächenbedeckung auf Nanopartikeln mit  $r = 6 \text{ nm}$ . Als Vergleich ist die Transiente der Referenzlösung ungebundener CY5 (rot) gezeigt. Die kleine Abbildung zeigt die Transienten von gebundenen CY5-DNA<sub>43</sub> in linearer Darstellung über  $5 \text{ ns}$ .

Abbildung 5.20 zeigt außerdem in semi-logarithmischer Darstellung die normierten Transienten von jeweils zwei Hybridsystemen aus beiden Bedeckungsreihen (geringe und höchste). Für CY5-DNA<sub>8</sub> ergeben sich 996 ps und 512 ps für die Probe mit 123 bzw. 41 oberflächengebundenen Farbstoffen, bzw. 950 ps und 820 ps für CY5-DNA<sub>43</sub> mit 19 bzw. 38 Farbstoffen. Die DNA<sub>8</sub>-Serie ist ab  $t = 100$  ps gezeigt (nach der schnellen Goldemission und den 20 - 40 ps Transienten).

In beiden DNA-Serien sind in den zeitaufgelösten Messungen keine Signale mehr von ungebundenen Farbstoffen nachweisbar. Der Grund liegt darin, dass die Proben im Gegensatz zu LISS und TAMRA kurz vor der Vermessung mehrfach gefiltert werden, um die für die Synthese mit DNA benötigte große Farbstoffüberschussmenge wieder zu entfernen. Die Abwesenheit freier CY5-Farbstoffe wird besonders an der DNA<sub>43</sub>-Serie deutlich. Abbildung 5.20 zeigt hierzu die Fluoreszenzlebensdauerkurven in linearer Darstellung nochmals über 5 ns (kleine Abb.) Die Intensität der Transienten der Hybridsysteme (grün, blau) ist zu allen Zeiten unterhalb der Intensität der Referenzprobe (rot).

Tabelle 5.9 und 5.10 zeigt die experimentell bestimmten Raten (strahlende Raten  $R'_{rad}$ , nichtstrahlende Raten  $R'_{nonrad}$  und Energie-Transferraten  $R_{ET}$ , siehe Gleichung 5.1). Der Korrekturfaktor für eine mögliche Änderung der strahlenden Rate bei der Absorptionswellenlänge des Farbstoffes bewegt sich der Modellvorhersage nach für den betrachteten Abstandsbereich zwischen einer halb und einer ganz gestreckter DNA<sub>8</sub> zwischen 0,76 – 0,56. Da die Abstände nicht genau bekannt sind, wird ein mittlerer Wert von 0,64 gewählt. Für das DNA<sub>43</sub>-System sind die liegen Änderungen bei nur 0,97 - 0,9. Eine Korrektur wird bei DNA<sub>43</sub> daher nicht durchgeführt.

Die Fluoreszenzlebensdauer der gestreckten CY5-DNA<sub>8</sub> ist länger (996 ps) als die gestreckte CY5-DNA<sub>43</sub> (819 ps). Da CY5-DNA<sub>8</sub> näher am Nanopartikel ist, ist die Fluoreszenzauslöschung höher und die Lebensdauer sollte durch den Energie-Transfer folglich stärker verkürzt sein. Zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen stellen aber stets die Summe aller Zerfallskanäle dar (Gl. 5.1). Da CY5-DNA<sub>43</sub> eine 10fach größere strahlende Rate als CY5-DNA<sub>8</sub> besitzt (Tab. 5.10), liegt dessen Fluoreszenzrate über der von CY5-DNA<sub>8</sub> und die gemessene Fluoreszenzlebensdauer ist entsprechend verkürzt.

**Tab. 5.9** Überblick der experimentell ermittelten Raten von CY5-DNA<sub>8</sub> als Funktion des Abstandes

CY5-DNA <sub>8</sub> auf Partikel	Lebensdauer $\tau$ (ps)	Absenkung (bei $t = 0$ ps)	strahlende Rate $R'_{rad}$ (1/s)	nichtstr. Rate $R'_{nonrad}$ (1/s)	Energie-Transfer $R_{ET}$ (1/s)
----	1390 ± 10	---	$1,8 \cdot 10^8$	$5,39 \cdot 10^8$	-----
41	620 ± 83	76	$3,65 \cdot 10^6$ *	$1,61 \cdot 10^9$	$1,07 \cdot 10^9$
50	512 ± 74	78	$3,55 \cdot 10^6$ *	$1,95 \cdot 10^9$	$1,41 \cdot 10^9$
64	768 ± 68	54	$5,13 \cdot 10^6$ *	$1,30 \cdot 10^9$	$7,58 \cdot 10^8$
98	712 ± 33	34	$8,15 \cdot 10^6$ *	$1,40 \cdot 10^9$	$8,57 \cdot 10^8$
123	996 ± 30	27	$1,03 \cdot 10^7$ *	$9,94 \cdot 10^8$	$4,55 \cdot 10^8$

\* um Einfluss auf strahlende bei der Anregewellenlänge von 403 nm korrigiert (analog zu Abb. 5.2)

**Tab. 5.10** Überblick der experimentell ermittelten Raten von CY5-DNA<sub>43</sub> als Funktion des Abstandes

CY5-DNA <sub>43</sub> auf Partikel	Lebensdauer $\tau$ (ps)	Absenkung (bei $t = 0$ ps)	strahlende Rate $R'_{rad}$ (1/s)	nichtstr. Rate $R'_{nonrad}$ (1/s)	Energie-Transfer $R_{ET}$ (1/s)
----	1390 ± 10	---	$1,8 \cdot 10^8$	$5,39 \cdot 10^8$	-----
9	846 ± 70	5,70	$3,16 \cdot 10^7$	$1,15 \cdot 10^9$	$6,11 \cdot 10^8$
13	847 ± 68	7,03	$2,56 \cdot 10^7$	$1,16 \cdot 10^9$	$6,16 \cdot 10^8$
19	949 ± 34	3,44	$5,23 \cdot 10^7$	$1,00 \cdot 10^9$	$4,62 \cdot 10^8$
25	897 ± 18	2,26	$7,96 \cdot 10^7$	$1,04 \cdot 10^9$	$4,96 \cdot 10^8$
38	819 ± 30	1,74	$1,03 \cdot 10^8$	$1,12 \cdot 10^9$	$5,79 \cdot 10^8$

### 5.2.2.2 Diskussion und Modellvergleich

Das GN-Modell liefert Raten als Funktion des Abstandes. Die experimentellen Ergebnisse aus Tabelle 5.9 und 5.10 können nur dann verglichen werden, wenn die Zahl der CY5 pro Nanopartikel, also der jeweilige Bedeckungsgrad der Partikeloberfläche, in einen äquivalenten Abstand umgerechnet werden kann.

Die bisher einzig verlässliche Information ist der maximale Abstand, den die CY5 mit einem gestreckten DNA-Strang, also bei höchster Bedeckung, einnehmen. Die Farbstoffabstände in allen restlichen Bedeckungsgraden müssen sinnvoll geschätzt werden. Es ist aber möglich, zumindest einen mittleren Abstandsbereich anzugeben, in denen sich die Farbstoffe mit hoher Wahrscheinlichkeit befinden.

So ist bekannt, dass die negativen Phosphatgruppen der DNA nicht nur abstoßende Coulombkräfte zwischen den Strängen, sondern auch entlang des eigenen Stranges erzeugen, was dazu führt, dass in wässriger Lösung die DNA eine energetisch günstigere, ausgestreckte Form bevorzugt <sup>[278]</sup>. Eine Abschätzung soll die etwaigen Abstände der Farbstoffe von der Partikeloberfläche nun erfassen. Dazu gilt es unterhalb der vollen Oberflächenbedeckung zwei Punkte zu klären.

- a) Welche *effektive Schichtdicke* entsteht unterhalb einer vollen Bedeckung auf der Partikeloberfläche als Funktion der DNA-Strangzahl?
- b) *Wo* befinden sich die Farbstoffe *innerhalb* einer solchen DNA-Schicht?

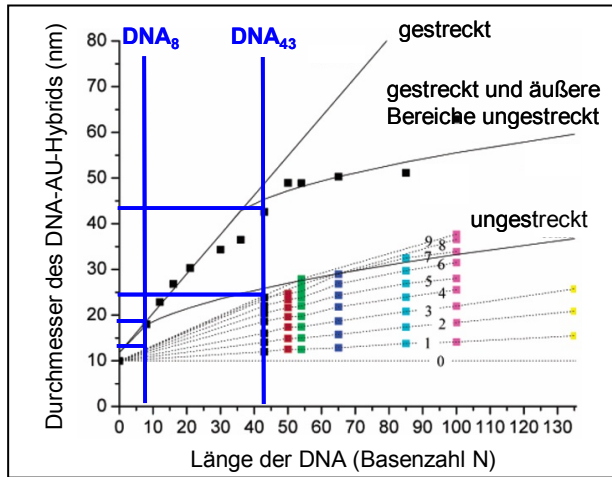
Punkt a) liefert einen mittleren Abstand, während b) die Verteilung um diesen Abstand festlegt.

a) Um die Schichtdicke zu bestimmen, bedienen wir uns der Ergebnisse von Parak et al (Abb. 5.21) <sup>[261]</sup>. Mittels der Gel-Elektrophorese-Technik ist es gelungen, den *effektiven Durchmesser* von Gold Nanopartikeln mit DNA-Beschichtung zu bestimmen. Unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes beginnen die beschichteten Partikel im Gel zur Anode zu driften. Die Geschwindigkeit ist vornehmlich eine Funktion der negativen Ladungsdichte und dem Strömungswiderstand der Hybridsysteme (= proportional zur effektiven Querschnittsfläche). Durch die Verwendung stark negativ geladener Stabilisatoren bei der Synthese der Nanopartikel, kann nach deren Verdrängung aufgrund der negativen DNA die Oberflächenladungsdichte annähernd konstant gehalten werden. Die Driftgeschwindigkeit der Nanopartikel im Gel ist dann ein direktes Maß für die Querschnittsfläche <sup>[289]</sup>.

So konnte nachgewiesen werden, dass ein vollständig mit DNA<sub>8</sub>-Strängen saturiertes Nanopartikel mit Radius  $r = 5 \text{ nm}$  eine effektive Querschnittsfläche von  $\sim 18,3 \text{ nm}$  besitzt (Abb. 5.21). Abzüglich des Durchmessers des Partikels und einer Division durch 2 (da die DNA beidseitig auf dem Partikel ist), bleibt eine Länge der DNA<sub>8</sub> von etwa  $4,15 \text{ nm}$ . Rechnerisch erhält man für einen gestreckten DNA<sub>8</sub>-Einzelstrang eine gut übereinstimmende Gesamtlänge von  $8 \cdot 0,43 \text{ nm} + 0,9 \text{ nm} = 4,34 \text{ nm}$  (die  $0,9 \text{ nm}$  sind der Beitrag von der Thiolgruppe mit C<sub>6</sub>-Kette). Der DNA-Strang liegt also tatsächlich gestreckt auf der Partikeloberfläche vor. Es wurden DNA-Einzelstränge mit Basenzahlen von  $N = 8 - 135$  untersucht, jeweils beginnend von einem einzelnen Strang bis hin zur vollständigen Absättigung der Nanopartikel.

Mit Abbildung 5.21 können wir die eigenen Bedeckungsdichten der DNA<sub>43</sub>- und DNA<sub>8</sub>-Serie mit den Ergebnissen von Parak vergleichen. Es ist der Durchmesser des DNA-Gold-Hybridsystems gegen die Basenzahl für verschiedene Bedeckungen aufgetragen. Ferner sind die Relationen zwischen Durchmesser und Basenzahl für ungestreckte, gestreckt + ungestreckte und komplett gestreckte Stränge als schwarze Linien dargestellt. Die blauen Linien kennzeichnen die Lage, der in dieser Arbeit verwendeten DNA-Stränge.





**Abb. 5.21** Effektiver Durchmesser von DNA-Nanopartikeln als Funktion der Bedeckungsdichte der Oberfläche und der Basenzahl. Die Gold Nanopartikel besitzen einen Radius von  $5\text{ nm}$ . Man erkennt, dass nur  $9\text{ DNA}_{43}$ -Stränge eine oberflächenschicht von  $(24 - 10)/2 \sim 7\text{ nm}$  bilden. Anhand dieser Ergebnisse von Parak et al. [261] kann die DNA-Schichtdicke unterhalb einer vollen Oberflächenbedeckung abgeschätzt werden (siehe Text). Die blauen Linien sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Längen der DNA-Stränge mit den entsprechenden, effektiven Durchmessern.

Der äußerste Bereich der  $\text{DNA}_{43}$  ist nicht mehr vollständig gestreckt. Durch die Krümmung der Partikeloberfläche steigt der Abstand der äußeren Strangbereiche benachbarter DNAs. Die gegenseitige Abstoßung sinkt, und die ausrichtende Kraft nimmt ab. So bildet ein mit  $\text{DNA}_{43}$  saturiertes Partikel eine DNA-Schicht auf, dessen Dicke nach Abbildung 5.21 nicht  $19,4\text{ nm}$ , sondern  $16,2\text{ nm}$  beträgt. Wir haben die berechneten Abstände in Tabelle 4.2 der realen Situation also etwas anzupassen. Die kurze  $\text{DNA}_8$  ist mit  $4,3\text{ nm}$  hingegen vollständig gestreckt. Die Maximalabstände der CY5 für die höchsten Bedeckungszahlen ( $38$  bzw.  $123$ ) sind damit bekannt.

Befinden sich nur  $9$  DNA-Stränge auf dem Partikel, so ergeben sich effektive DNA-Schichtdicken für  $\text{DNA}_{43}$  zu  $\sim 7\text{ nm}$  und für  $\text{DNA}_8$   $\sim 1,2\text{ nm}$ . Erreichte Schichtdicken von  $10$  DNA-Strängen aufwärts bis zur vollen Bedeckung liegen nicht vor. Die vereinfachte Annahme besteht darin, die Differenz der vollständigen DNA-Bedeckungszahl und der noch vermessenen  $9$  DNA äquidistant auf die Differenz der DNA-Schichtdicke zwischen voller Bedeckung und der von  $9$  DNA zu verteilen. Für CY5- $\text{DNA}_{43}$  würde dies bedeuten, dass  $38 - 9 = 29$  DNA auf  $16,2 - 7 = 9,2\text{ nm}$  aufgeteilt werden.

In gleicher Weise wird die  $\text{DNA}_8$ -Serie betrachtet. Nach Abbildung 5.21 bilden  $9$  DNA-Stränge eine Schichtdicke von  $\sim 1,2\text{ nm}$  aus (unterste blaue Linie). Die geringste und höchste Bedeckung im eigenen Experiment sind  $41$  bzw.  $123$  DNA-Stränge (Tab. 5.9). Nehmen wir an, dass von der  $\text{DNA}_8$ -Schicht die ersten  $0,9\text{ nm}$  vom Thiolalkan stammen, so sollten  $41$  DNA-Stränge eine Schichtdicke von etwa  $(41/9) \cdot (1,2 - 0,9) + 0,9 \approx 2,27\text{ nm}$  einnehmen. Die restlichen  $123 - 41 = 89$  DNA verteilen sich auf die verbleibenden  $4,34 - 2,26 = 2,08\text{ nm}$ . Mit diesen Abschätzungen erhält man zumindest eine Orientierung über die DNA-Schichtdicken als Funktion der DNA-Anzahl auf dem Partikel.

In Tabelle 5.11 sind die Quanteneffizienzen des Systems zunächst für die „sicheren“ Abstände gegeben (volle Bedeckung). Verglichen mit den  $QE$  von LISS und TAMRA, bleibt die Quantenausbeute der gebundenen CY5 recht gut erhalten. Sie bricht für  $\text{DNA}_8$  zwar auf etwa  $4\%$  der ursprünglichen Quantenausbeute des freien CY5 ein, ist aber immer noch einen Faktor  $20$  höher als für die TAMRA- $\text{C}_{16}$  Probe mit  $d = 3,6\text{ nm}$  auf  $r = 15\text{ nm}$ . Zurückzuführen ist die bessere Erhaltung der  $QE$  auf den sehr viel geringeren spektralen Überlapp, des um etwa  $0,7\text{ nm}$  höheren Abstandes des CY5, als auch der kleineren Partikelgröße. Wir können folgern, dass in Abständen bis zu  $5\text{ nm}$  sich die Farbstoffe noch in einem Wirkungsradius des Partikels befinden, der durch starke Gradienten der Kopplungsparameter zwischen Nanopartikel und Farbstoff gekennzeichnet ist. Die totale  $FAE$  ergibt sich zu  $95,9\%$ .

Der  $\text{DNA}_{43}$ -Strang positioniert die Farbstoffe in einen Abstand von  $d \sim 16\text{ nm}$  zur Partikeloberfläche. Nach den experimentellen Ergebnissen hat der Einfluss des Partikels schon stark abgenommen. Die Quantenausbeute des CY5 fällt von  $25\%$  auf etwa  $8\%$ , bleibt also zu  $\sim 30\%$  erhalten. Die  $FAE$  liegt bei nur  $66,2\%$ .



**Tab. 5.11** Quanteneffizienz und Auslöschung von CY5 für den höchsten Abstand von DNA<sub>8</sub> und DNA<sub>43</sub>.

Abstand $d$ (nm)	Quanteneffizienz $QE = R'_{rad} / (R'_{rad} + R_{nonrad} + R_{ET})$ (%)	Fluoreszenz Auslöschungs-Effizienz (FAE) (%)
$\infty$	25	-----
4,3	1,03	95,90
16,2	8,44	66,24

b) Es soll die Position der Farbstoffe innerhalb der DNA-Schicht abgeschätzt werden. Die Ausbildung von *DNA-Schleifen* (engl. *DNA-hairpin-loops*), also der Hybridisierung zweier Enden eines langen Stranges, wird erst durch eine effektive Abschirmung der negativen Phosphatladungen ermöglicht. In der Regel wird dies durch die Zugabe hoher Mengen an Salz (meist NaCl) bewerkstelligt [5, 286]. In den vorliegenden Proben ist dies nicht durchgeführt worden. DNA-Schleifen, welche die Farbstoffe wieder sehr nahe an Partikel brächten, können ausgeschlossen werden.

Folgende Annahme wird getroffen: Besonders die äußeren Bereiche der negativen DNA-Stränge, da flexibel, können am leichtesten auf Abstoßungskräfte reagieren. An diesem Ende befindet sich auch der, größtenteils negativ geladene, CY5-Farbstoff (Abb. 4.10). Da gleiche Ladungen sich abstoßen und die DNA-Stränge sich untereinander und entlang des eigenen Stranges ebenfalls abstoßen [278], ist es unwahrscheinlich, dass das farbstoffterminierte Ende des DNA-Stranges sich „irgendwo“ in der Schicht befindet. Es wird während der Inkubationszeit viel mehr aus der negativ geladenen DNA-Schicht heraus geschoben. Die CY5 werden sich daher auch unterhalb einer vollen Bedeckung, stets am Ort mit der geringsten Coulombschen Abstoßungskraft, sprich auf der Oberfläche der DNA-Schicht befinden.

Dies ist im Einklang mit den experimentellen zeitaufgelösten Ergebnissen, denn die relativ geringe Abweichung von einer einfach-exponentiellen Zerfallscharakteristik deutet darauf hin, dass die Farbstoffe in der Tat keiner allzu starken Abstandsdispersion unterliegen (Abb. 5.20). Knapp oberhalb der Partikeloberfläche gibt es wegen der ladungsneutralen C<sub>6</sub>-Brücke einen weiteren Bereich mit niedrigerer, negativer Ladungsdichte. Wie schon bei den experimentellen Ergebnissen erwähnt, ist nicht auszuschließen, dass sich einige Farbstoffe auch dort befinden. Es ist eine mögliche Erklärung für die detektierte, schnelle Zerfallskomponente.

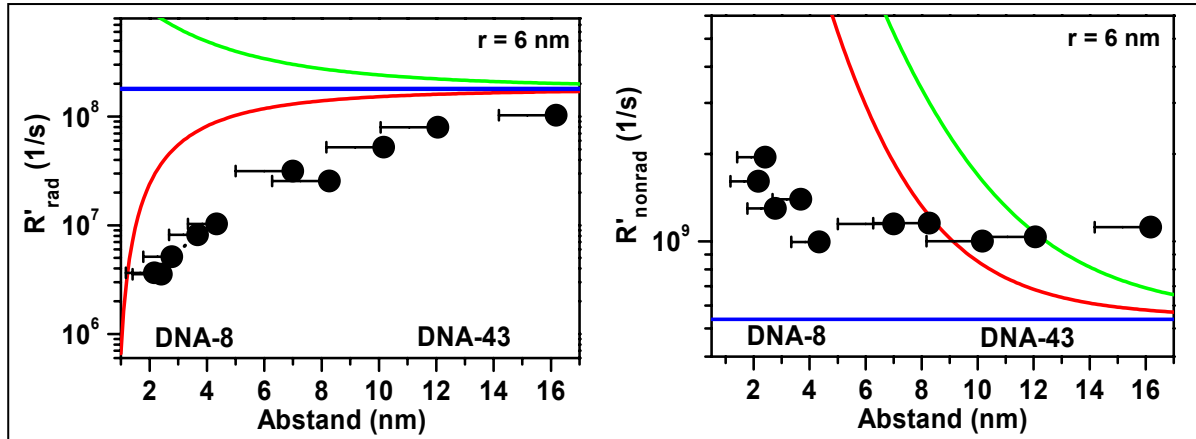
Im Folgenden wird angenommen, dass die Farbstoffe in einem Abstandsbereich mit relativ geringer Dispersion angelagert sind. Als oberer Grenzwert bzw. maximaler Abstand der Farbstoffe wird die bedeckungsabhängige DNA-Schichtdicke angesetzt. Da obige Abschätzungen hinsichtlich der Schichtdicke und Position der CY5 simplifiziert sind, wird eine Ungenauigkeit von 2 nm für DNA<sub>43</sub> und 1 nm für DNA<sub>8</sub> in Richtung DNA-Schicht angenommen. Tabelle 5.12 gibt die Abstände des CY5-Farbstoffs für die Bedeckungszahlen von DNA<sub>8</sub> und DNA<sub>43</sub> an (Tab. 5.9 und 5.10).

**Tab. 5.12** Berechnete Abstände von CY5 zur Partikeloberfläche

Zahl der Basen [-DNA <sub>xx</sub> ]	Abstand $\pi$ -System zu Schwefel [Å]
DNA <sub>8</sub>	21,7 – 24,1 – 27,8 – 36,8 – 43,4
DNA <sub>43</sub>	70,0 – 82,7 – 101,7 – 120,6 – 161,8

In Abbildung 5.22 werden die experimentellen Ergebnisse beider CY5-DNA-Längen mit den Rechnungen des GN-Modells verglichen. Es sind die Raten gegen den Abstand aufgetragen. Die blaue Linie gibt die intrinsischen strahlenden ( $1,8 \cdot 10^8$  1/s) und nichtstrahlenden Raten ( $5,4 \cdot 10^8$  1/s) von un-

gebundenen CY5-DNA<sub>XX</sub>-Molekülen wieder. Da der äußerste Bereich des DNA<sub>43</sub> Stranges, selbst bei einer vollen Oberflächenbedeckung, nicht gestreckt vorliegt, kann nicht von einer einheitlichen, tangentialen Orientierung des molekularen Dipolmomentes relativ zur Partikeloberfläche ausgegangen werden. Es ist daher, neben der Modellvorhersage für ein tangential zur Partikeloberfläche molekulares Dipolmoment (rot), noch jene für eine senkrechte Orientierung (grün) gezeigt.



**Abb. 5.22** Vergleich der experimentellen Ergebnisse von CY5 (schwarz) auf Partikeln mit  $r = 6 \text{ nm}$  gegen die Modellvorhersagen von Gersten/Nitzan. Es sind strahlende Raten und Energie-Transferaten in semi-logarithmischer Darstellung als Funktion des Abstandes aufgetragen. Die blauen Linien sind die intrinsischen strahlenden und nichtstrahlenden Raten von CY5. Die roten Linien sind die Modellergebnisse für ein parallel zur Partikeloberfläche orientiertes molekulares Dipolmoment, die grünen Linien für eine senkrechte Orientierung. Die Übereinstimmung der experimentellen strahlende Rate mit der Modellvorhersage für ein paralleles Dipolmoment deutet darauf hin, dass keine oder nur sehr wenige molekulare Dipolmomente senkrecht zur Oberfläche stehen.  $R'_{\text{rad}}$  liegt innerhalb der gleichen Größenordnung und erreicht für den größten Abstand beinahe den intrinsischen Wert (siehe auch Tabellen 5.9 und 5.10). Die experimentellen nichtstrahlenden Raten liegen für geringe Partikelabstände aufgrund nichtlokaler Effekte  $\sim 1 - 2$  Größenordnungen unter den Modellergebnissen. Für größere Distanzen wird das Molekül immer noch in seiner Lebensdauer beeinflusst, obschon das Modell einen verschwindenden Energie-Transfer vorhersagt. Eine zusätzliche Fluoreszenzauslöschung durch Guanin-Basen der Nachbarstränge ist vermutlich die Ursache <sup>[290-293]</sup>.

Die experimentellen strahlenden Raten der Hybride zeigen über den gesamten Abstandsbereich einen qualitativ ähnlichen Verlauf wie die GN-Raten für eine tangentiale Orientierung des molekularen Dipolmomentes. Die quantitative Abweichung ist innerhalb einer Größenordnung. Sie beträgt für den kleinsten Abstand mit  $d = 2,17 \text{ nm}$  einen Faktor 8 und nur noch 1,74 für den größten Abstand mit  $d = 16,2 \text{ nm}$ . Mit letzterem befindet sich der Farbstoff in einem Bereich, indem strahlende Ratenänderungen kaum noch vorhanden sind. Von allen bisher untersuchten Hybridsystemen zeigen die CY5-DNA<sub>43</sub> die entsprechend geringsten Abweichungen zum GN-Modell bzw. zur intrinsischen strahlenden Rate.

Der Einfluss des Nanopartikels auf die strahlende Rate reicht sehr weit. Dies hat insbesondere für die Quantenausbeute Konsequenzen. Unter der Annahme, dass die strahlende Rate des Moleküls unter dem Einfluss des Nanopartikels unverändert geblieben ist (Förster-Fall), stiege die Quantenausbeute des CY5-DNA<sub>43</sub> für  $d = 16,2 \text{ nm}$  von  $\sim 8,4 \%$  auf  $\sim 15 \%$ . Die Hälfte der Absenkung der QE stammt also von der Änderung in der strahlenden Rate.

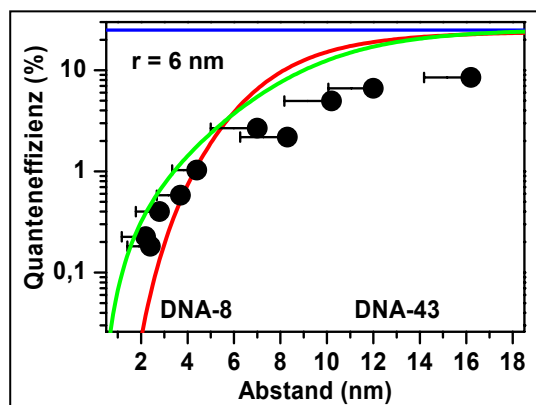
Die nichtstrahlenden Raten ( $R'_{\text{nonrad}} = R_{\text{ET}} + R_{\text{nonrad, intrins}}$ ) des GN-Modells zeigen für die CY5-DNA<sub>8</sub> Serie quantitative Abweichungen vom Experiment, welche wieder auf den Einfluss nichtlokaler Effekte für  $d < 5 \text{ nm}$  zurückgeführt werden können <sup>[178]</sup>.  $R'_{\text{nonrad}}$  sinkt zwar mit steigendem Abstand, doch gibt es keine qualitative Übereinstimmung zum Modell. So beträgt die Abweichung für den kleinsten Abstand mit  $d = 2,17 \text{ nm}$  noch einen Faktor  $\sim 72$  und sinkt auf  $\sim 16$  für  $d = 4,4 \text{ nm}$ . Für die

CY5-Abstandsserie liegt im Grunde weder eine qualitative noch quantitative Übereinstimmung mit dem GN-Modell vor. Das war schon bei den Abstandsmessungen mit TAMRA erkennbar, denn der Einfluss nichtlokaler Effekte hängt vom Abstand des Moleküls ab (Abb. 5.17). Im Gegensatz zur Partikelgrößenserie mit LISS-C<sub>2</sub>, in der eine qualitative Übereinstimmung mit dem Modell bestätigt werden konnte (konstante Abstände ~ konstante nicht lokale Effekte ~ konstante Abweichung von GN-Modell), ist in diesem Fall die einzige Gemeinsamkeit zwischen experimentellen und Modell-ergebnissen das Absinken der nichtstrahlenden Rate mit dem Abstand.

Die experimentellen nichtstrahlenden Raten  $R'_{nonrad}$  der CY5-DNA<sub>43</sub>-Partikel Serie (Abb.5.20) zeigen keine Korrelation mit dem Abstand und sind nahezu konstant. Der Energie-Transfer sollte aber, insbesondere bei den größten Abständen (12 - 16 nm), keinen signifikanten Einfluss mehr auf die Raten zeigen. Dennoch sind die ermittelten nichtstrahlenden Raten oberhalb der intrinsischen  $R_{nonrad, intrins}$  (blaue Linie). Dieser experimentelle Befund deutet darauf hin, dass bei der gebundenen CY5-DNA<sub>43</sub> ein, zum Energie-Transfer, zusätzlicher nichtstrahlender Kanal vorliegt, der frei in Lösung nicht vorhanden ist. Fluoreszenzmessungen anderer Gruppen belegen, dass Aminosäuren und Nukleoside, wie z.B. Guanin (Guanin + Pentose, Abb. (4.8)) die Fluoreszenz nahe befindlicher Farbstoffe durch einen Elektrontransfer auslöschen können [290-292]. Im Vergleich zu anderen Farbstoffen, wie Rhodamin, kann die Fluoreszenz von CY5 um bis zu 40 % gelöscht werden [293]. DNA<sub>43</sub> hat am CY5-Ende zwei Guaninbasen in den ersten 8 Nukleotiden [263]. Das Guanin von Nachbarsträngen kann bei hohen Oberflächenbedeckungsdichten daher als zusätzlicher Fluoreszenzlöcher agieren, insbesondere da die äußeren 8 Nukleotide nicht gestreckt vorliegen [261] und sich damit recht nahe kommen können. Die strahlende Rate bleibt hiervon unbeeinflusst.

Der CY5-DNA<sub>8</sub> Strang hat auch zwei Guaninbasen. Diese befinden sich jedoch am thiolterminierte Ende des Stranges [264]. Zudem liegt die DNA<sub>8</sub> bei einer vollen Oberflächenbedeckung gestreckt vor.

Abbildung 5.23 zeigt die, aus den experimentell bestimmten Raten, ermittelte Quantenausbeute und vergleicht sie mit den Vorhersagen des GN-Modells. Es ist die Quanteneffizienz gegen den Farbstoffabstand aufgetragen (Abstände siehe Tab. 5.11). Die Abweichungen der experimentellen Quanteneffizienz bei kleinen Farbstoffabständen werden auf die Nichtberücksichtigung nichtlokaler Effekte zurückgeführt. Die Abweichungen für größere Abstände können mit der Fluoreszenzauslöschung durch Guanin erklärt werden. Trotz dieser Abweichungen zeigt sich eine qualitative Übereinstimmung mit dem Modell. Mit der Zunahme des Farbstoffabstandes erhöht sich die Quantenausbeute, da strahlende und nichtstrahlende Raten auf die intrinsischen Werte zurückkehren.



**Abb. 5.23** Experimentell bestimmte Quanteneffizienzen (schwarze Punkte) von gebundenen CY5 gegen die des GN-Modells (parallel = rote Linie, senkrecht = grüne Linie) als Funktion des Abstandes zum Gold Nanopartikel (blaue Linie = intrinsische QE von ungebindenem CY5).

Die Fähigkeit der metallischen Nanopartikel, selbst auf großen Distanzen, die Fluoreszenz von Molekülen zu beeinflussen, ist im Einklang mit experimentellen Ergebnissen anderer Gruppen. So konnte in zeitintegrierten Fluoreszenzmessungen nachgewiesen werden, dass Goldpartikel mit  $r = 5 - 25 \text{ nm}$  auf Abständen von 10 - 20 nm noch effizient die Fluoreszenz von Molekülen auslöschen können. Eine systematische Variation der Parameter, zeitaufgelöste Messungen, quantitative Auswertungen sowie ein Modellvergleich fehlten jedoch [286].

Eine andere interessante Arbeit stammt von Lakowicz et al. <sup>[294]</sup>. Neben der eigenen Vorliegenden, ist sie die einzige, welche nichtstrahlende also auch strahlende Ratenänderungen in Betracht zieht. Es wurden CY5 und CY3 als Funktion ihres Abstandes auf Silberinselfilmen untersucht. Der Abstand  $d$  konnte mit Schichten aus BSA (Bovin Serum Albumin) in Schritten zu etwa  $9 \text{ nm}$  bis  $d = 54 \text{ nm}$  variiert werden. Selbst beim größten Abstand unterschieden sich Fluoreszenzlebensdauer und -intensität zu denen von Farbstoffen auf Quarzglas. Die Ergebnisse konnten nur dadurch sinnvoll erklärt werden, dass die strahlende Rate des Farbstoffes immer noch dem Einfluss der metallischen Silberpartikel unterlag.

## 6 Plasmonemission in Gold Nanopartikeln

Die experimentellen Ergebnisse von Kapitel 5 legten dar, wie außerordentlich effizient Gold Nanopartikel die Fluoreszenz von oberflächengebundenen Farbstoffen auslöschen können. Die geänderten optischen Eigenschaften wurden spektral- und zeitaufgelöst detektiert und im Rahmen eines Energie-Transferprozesses, in dem die strahlende Rate des Moleküls sich zusätzlich ändert, interpretiert. Neben dieser Fähigkeit des Nanopartikels die Fluoreszenz zu manipulieren, zeigen sie bereits ohne gebundene Farbstoffe eine eigene Photonemission.

Auf dieses Signal wird im vorliegenden Kapitel näher eingegangen. Kapitel 6.1 gibt zunächst einen kurzen Abriss über die bisher bekannten Lumineszenzen an Metallen. Es wird sich zeigen, dass Gold Nanopartikel nach einer optischen Anregung in der Lage sind, vom UV bis in den IR-Bereich Photonen emittieren zu können. Während UV- oder IR-Emissionen nur bei *sehr kleinen* Partikeln auftreten, existiert bei *allen* Partikelgrößen eine schnelle Emission im sichtbaren Spektralbereich. Jene wird Hauptbestandteil der Untersuchungen in Kapitel 6 darstellen, und ist uns bereits als ultraschnelle Emission bei  $t = 0$  ps in den Transienten der Hybridsysteme von Kapitel 5 begegnet. Die experimentellen Daten (Kap. 6.2) liefern genügend Hinweise, um die Emission der Goldpartikel in Kapitel 6.3 als den strahlenden Zerfall eines Partikelplasmons zu identifizieren. Mit der Charakterisierung einer weiteren Lumineszenzbande, die für die kleinsten Nanopartikel im blauen Spektralbereich vorhanden ist (Kap. 6.4), und auf eine oberflächeninduzierte Fluoreszenz der Partikel deutet, endet das Kapitel.

### 6.1 Lumineszierendes Gold

Die Photolumineszenz von optisch angeregten glatten *Metallfilmen* (Cu, Au) wurde erstmals von Mooradian Ende der 60er Jahre untersucht <sup>[295]</sup>. Er detektierte eine unpolarisierte Emission mit einer Quanteneffizienz von  $QE = 10^{-10}$  und einem spektralen Maximum in der Nähe der Interbandabsorptionskante des Metalls. Die Emission war unabhängig von der Energie der Anregung. Mooradian deutete seine Ergebnisse als *direkte strahlende Interband-Rekombination*: Optisch generierte Löcher im d-Band rekombinieren mit Elektronen aus dem 6sp-Leitungsband. Eine Photonemission bei  $\sim 520$  nm ( $2,38$  eV = energetischer Abstand von Fermi-Energie zu d-Band) ist die Folge.

Die Möglichkeit der Löcher auch *nichtstrahlend* via Phononemission innerhalb von  $30$ - $50$  fs ins sp-Band zu streuen, führt zu einem, mit der Photonemission konkurrierenden, effektiven Verlustkanal <sup>[296]</sup>. Dies erklärt die geringe QE von nur einem Photon pro  $10$  Milliarden erzeugter Löcher.

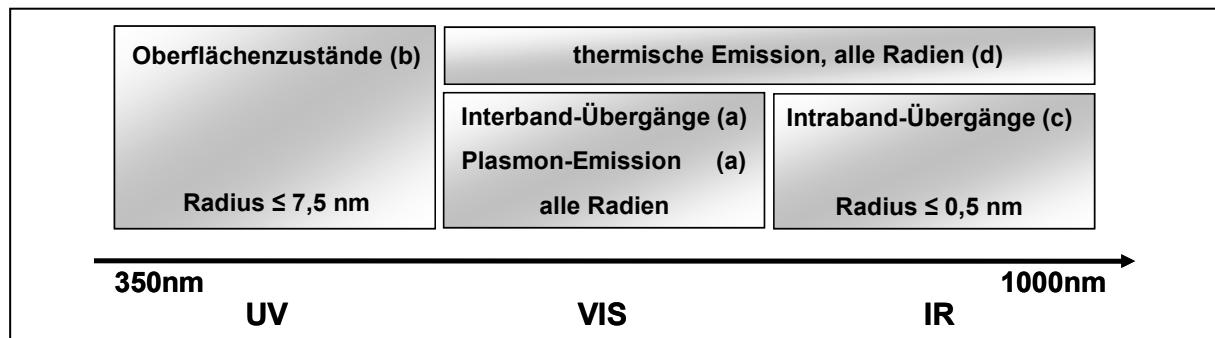
Zwei Dekaden später setzte Boyd et al. zu systematischeren Studien von photoinduzierter Lumineszenz an Metallen an <sup>[297]</sup>. Er erweiterte Mooradians Untersuchungen von glatten auf raue Gold-, Kupfer- und Silberfilme und erstellte ein Bänder-Modell, welches seine und Mooradians Messungen richtig beschrieb. Im Einklang mit dem Modell konnte unter anderem eine zweite Emissionsbande experimentell nachgewiesen werden. Diese tritt auf, wenn die Anregung  $3,5$  eV ( $354$  nm) überschreitet, und von Übergängen aus dem nächst niedriger liegendem 5d-Valenzband stammt. Die Zeitskala, auf der die Löcher zwischen den verschiedenen d-Bänder wechseln können (Abb. 2.1), muss daher länger

sein, als jegliche anderen konkurrierenden Prozesse, da ansonsten die Emission, unabhängig von der Anregungsenergie, stets aus dem obersten d-Band resultieren würde.

In den sich anschließenden Jahren erschien eine Vielzahl von Veröffentlichungen, welche sich mit Lumineszenzsignalen von Metallen von glatten oder rauen Filmen, Nanopartikeln oder Nanorods beschäftigten. Es zeigte sich, dass Gold Nanopartikel, sich hinsichtlich Ihrer Emissionseigenschaften erheblich von Goldfilmen unterscheiden. Erstens treten in Abhängigkeit des Partikelradius zusätzliche Emissionen auf. Zweitens liegt die Quantenausbeute um 3 - 5 Größenordnungen über denen von Metallfilmen. Die Ursache für die erhöhte Quantenausbeute liegt darin, dass in Partikeln einfallendes Licht direkt zu einer kollektiven Oszillation der quasifreien Leitungsbandelektronen, der Plasmonschwingung, führt. Nanopartikel besitzen also einen zusätzlichen Oszillator mit großem, vom Radius abhängendem Dipolmoment, welcher Energie aufnimmt und strahlend oder nichtstrahlend wieder abgibt. Abgesehen von der nach Mooradian beobachteten Interbandemission lassen sich an metallischen Nanopartikeln weitere Photoemissionen feststellen:

- a) **Im Sichtbaren Bereich:** Eine ultraschnelle Emission, welche eine spektrale Verwandtschaft zur Extinktion des Partikelplasmons aufweist<sup>[298]</sup>. Varnarvski et al. konnten trotz einer Zeitauflösung von  $50\text{ fs}$  die Transiente dieses Signals nicht bestimmen<sup>[282]</sup>. Da die Lebensdauer der Plasmonsoszillation mit  $4 - 8\text{ fs}$  zeitlich noch schneller ist<sup>[40]</sup>, zudem das Emissionsmaximum für steigende Partikelgrößen der Plasmonresonanz folgt<sup>[299]</sup>, erhärteten sich die Indizien, dass jene Emission über eine starke Interaktion mit dem Partikelplasmon entsteht. Eine systematische Untersuchung über viele Partikelradien blieb aus. Die bisher stärkste Emission wurde an Gold Nanorods gemessen. Die Quanteneffizienz erreicht Werte von  $10^{-4} - 10^{-3}$ . Die Änderung der Achsenverhältnisse der Nanorods führt auch hier zu einer Rotverschiebung des Emissionsmaximums ( $550 - 590\text{ nm}$ )<sup>[300]</sup>.
- b) **Im Blauen Bereich:** Bei kleinen metallischen Nanopartikeln, in denen die mittlere freie Weglänge der Elektronen größer als der geometrische Partikeldurchmesser ist, treten vermehrt Oberflächenstreuungen auf (Kap. 2.1.3). Wilcoxon et al. fand bei Partikeln mit Radien  $r < 7,5\text{ nm}$  Fluoreszenzsignale<sup>[301]</sup>. Das Emissionsmaximum ( $\sim 440\text{ nm}$ ) zeigte starke Abhängigkeiten vom verwendeten Stabilisator auf der Partikeloberfläche. Nach Ausschluss einer Eigenfluoreszenz derselben, schlussfolgerten Wilcoxon et al., dass die Fluoreszenz stark mit Oberflächenzuständen des Partikels korreliert sein muss. Kapitel 6.4 wird sich näher mit diesem Signal befassen, da sie bei den kleinsten, in dieser Arbeit, vermessenen Gold Nanopartikeln ebenfalls detektiert werden konnte.
- c) **Im Infraroten:** Sinkt der Partikelradius unter  $1\text{ nm}$ , so befinden sich diese *Nanocluster* in einem Übergangszustand von metallisch zu halbleitend. Whetten et al. detektierte IR-Emissionen an Gold Nanoclustern mit einem Radius von etwa  $0,6\text{ nm}$ . Es wurde auf eine sich langsam öffnende Intraband-Bandlücke in den 6sp-Bändern zurückgeführt<sup>[302-305]</sup>.
- d) **Thermische Emission:** Eine spektrale Abgrenzung, wie für a), b) und c) ist nicht möglich, da das Emissionsmaximum eines thermischen Strahlers von dessen Temperatur abhängt. Eine thermisch induzierte Photonemission kann sowohl bei metallischen Nanopartikeln, als auch bei Metallfilmen auftreten<sup>[48, 306-308]</sup>. Hierzu muss nur genügend Energie im Metall deponiert werden. So sind beispielsweise regenerative, verstärkte kHz-Lasersysteme in der Lage, den Elektronensee um mehrere  $1000\text{ Kelvin}$  zu erhitzen. Eine auf diese Weise induzierte Photonemission wird aber dann eher das Spektrum eines Planckschen Strahlers, als die von e-h-Rekombinationen aufweisen. Kapitel 6.3.1 beschäftigt sich damit. Die Zahl der absorbierten Photonen pro Partikel wird bestimmt, um die resultierende Temperaturerhöhung der Elektronen im Nanopartikel zu erfassen.

Abbildung 6.1 veranschaulicht schematisch, in welchen spektralen Bereichen, die verschiedenartigen Lumineszenzen auftreten. In den vorliegenden Ergebnissen zur Emission an Gold Nanopartikeln wird der Nanopartikelradius als Parameter systematisch verändert.



**Abb. 6.1:** Schematische Darstellung der spektral verschiedenen Lumineszenzmöglichkeiten von Gold Nanopartikeln in Abhängigkeit der Partikelgröße.

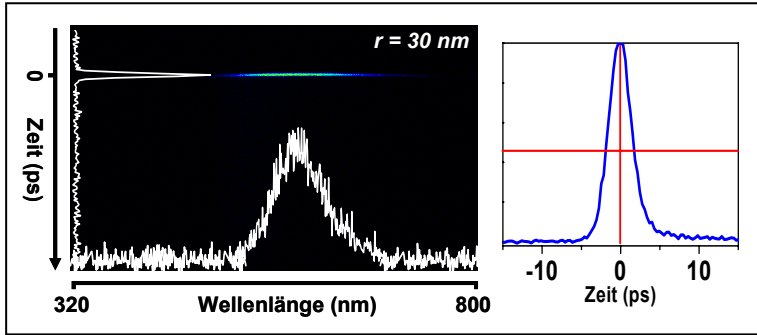
## 6.2 Experimentelle Ergebnisse

Es wird untersucht, inwieweit die spektrale Position der ultraschnellen Emission im Sichtbaren von der Partikelgröße abhängt (Kap. 6.2.1). Hierzu wird der Radius über eine Größenordnung zwischen  $1 - 30 \text{ nm}$  ( $1, 2.5, 6, 15, 20$  und  $30 \text{ nm}$ ) variiert. In Kapitel 6.2.2 wird anschließend die Quantenausbeute der Emission durch einen Vergleich mit dem Farbstoff Rhodamin 6G ermittelt.

### 6.2.1 Die Emission folgt dem Plasmon

Die Größendispersion der Nanopartikel beträgt  $\sim 10 - 15 \%$ . Alle Partikel befinden sich in wässriger Lösung (Kapitel 4). Die Ergebnisse wurden unter Verwendung einer geeichten Wolframlampe von der Geräte-Antwortfunktion spektral korrigiert. Um die Emissionen der verschiedenen Partikellösungen untereinander zu vergleichen, muss, wie schon für die Hybridsysteme aus Kapitel 5, die Abschwächung des Laserstrahlintensität und der Probenemission durch Nanopartikel außerhalb des Detektionsvolumens berücksichtigt werden (Anhang D). Die Nanopartikel werden bei einer Wellenlänge von  $375 \text{ nm}$  ( $3,3 \text{ eV}$ ) mit einer Dauerstrichleistung von  $17,8 \text{ mW}$  angeregt. Die Pulsintensität beträgt  $9 \cdot 10^6 \text{ W/cm}^2$ . Die Integrationszeit ist für alle Proben  $50000$  Messzyklen mit je  $56 \text{ ms}$  Dauer (Kap. 3.2.3). Die Emissionsspektren stellen die zeitliche Integration über die ersten  $15 \text{ ps}$  der Transiente dar.

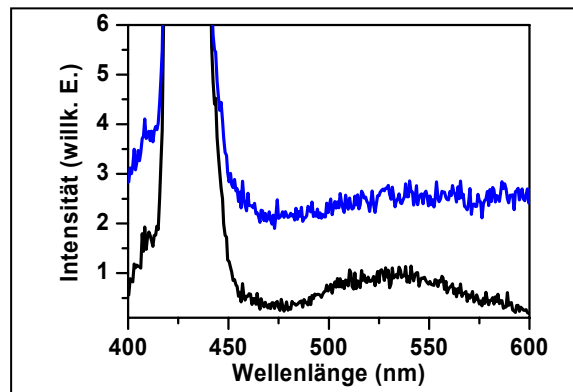
In Abbildung 6.2 ist das spektrale und zeitliche Profil der Emission einer Probenlösung mit Partikeln von  $r = 30 \text{ nm}$  gezeigt. Die Photonemission liegt unterhalb der Zeitauflösung der Streak Kamera. Auch wenn die Transiente nicht auflösbar ist, birgt es dennoch Vorteile, solch ultraschnelle Prozesse mit einem Streaksystem zu vermessen. Wie wir noch sehen werden, besitzt die Emission eine Quantenausbeute von nur etwa  $10^{-6}$ . Vermisst man ein derart schwaches und schnelles Signal mit einem Detektor von geringer Zeitauflösung, so besteht das Spektrum größtenteils aus kumulativem Untergrundrauschen.



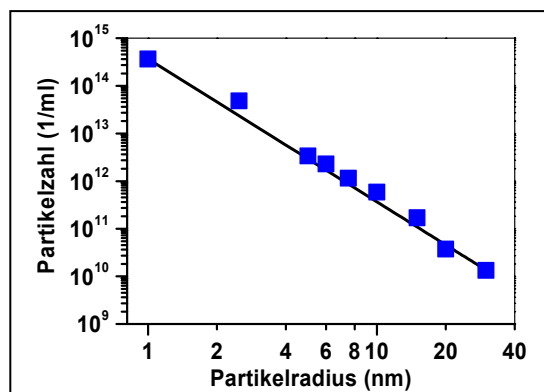
**Abb. 6.2** Die Transiente und das Emissionsspektrum einer Gold Nanopartikel-lösung mit Radius  $r = 30 \text{ nm}$ . Die Zeitauflösung der Streak Kamera beträgt im sichtbaren Spektralbereich etwa  $3,4 \text{ ps}$ . Ein Langpassfilter unterdrückt die OH-Ramanbande, welche bei einer optischen Anregung von  $375 \text{ nm}$  ansonsten um  $0,4 \text{ eV}$  niederenergetischer bei  $\sim 430 \text{ nm}$  erschiene (siehe auch Abb. 6.3).

Abbildung 6.3 veranschaulicht diesen Sachverhalt. Es sind zwei Spektren der gleichen Probe dargestellt, jedoch mit verschiedenen Integrationsfenstern ( $5 \text{ ps}$  und  $800 \text{ ps}$ ). Je länger das Fenster der zeitlichen Integration, umso mehr „versinkt“ die Emission im Hintergrundrauschen.

**Abb. 6.3** Vergleich unterschiedlich langer Integrationsfenster ( $5 \text{ ps}$  und  $800 \text{ ps}$ ). Die schnelle Emission ist bei langen Integrationszeiten fast nicht mehr vom Hintergrundrauschen zu unterscheiden. Die zweite Emission bei  $\sim 430 \text{ nm}$  ist die OH-Ramanschwingung von Wasser, welches zu  $t = 0 \text{ ps}$  um  $\sim 0,4 \text{ eV}$  von der Anregungsenergie ( $375 \text{ nm} = 3,3 \text{ eV}$ ) verschoben mitdetektiert wird.



Die elektrodynamische Mie-Theorie erwies sich in Kapitel 2 als ausgesprochen zutreffend bei der Beschreibung der optischen Eigenschaften von Gold Nanopartikeln. Dies wurde in Kapitel 4 genutzt, um die Partikelkonzentrationen der Proben zu bestimmen.

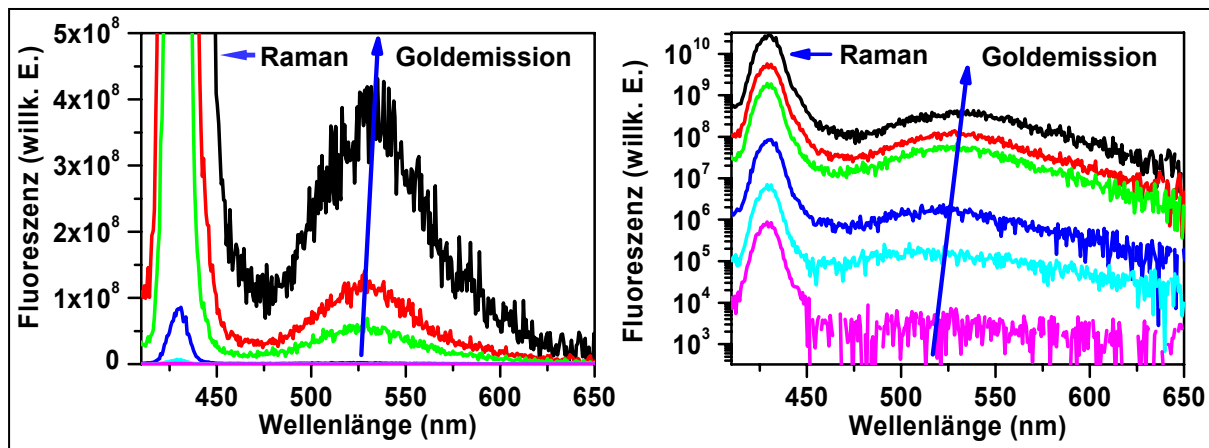


**Abb. 6.4** Da  $(\text{Masse}) \sim (\text{Radius})^3$  gilt, sinkt die Partikelzahl kubisch mit steigendem Radius.

Abbildung 6.4 illustriert nochmals wie, nach Gleichung (3.1) berechnet, sich die Partikelkonzentration der vermessenen Proben in Abhängigkeit des Radius ändern. Da in der Regel für jede Partikelsynthese, unabhängig vom angestrebten Radius, die gleiche Konzentration an Goldsalz ( $\text{HAuCl}_4$ ) verwendet wird, zeigt sich eine kubische Abhängigkeit zwischen Partikelradius und Partikelzahl. Dieser Zusammenhang ist wichtig zu prüfen, insbesondere wenn die Gold Nanopartikel aus verschiedenen Bezugsquellen stammen (BBI, MPI, Eigensynthese).

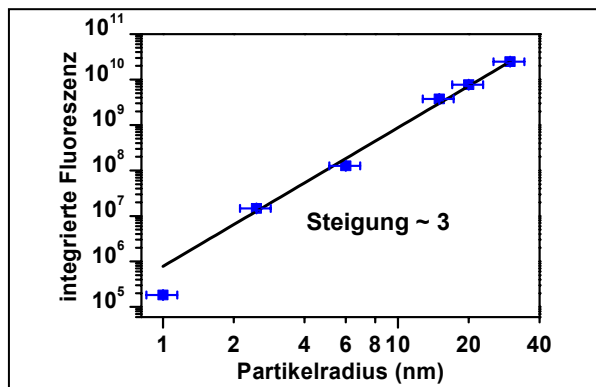
Bei bekannter Zahl der Nanopartikel kann die Emission auf eine einheitliche Konzentration normiert werden. In Abbildung 6.5 sind die vermessenen Partikelgrößen auf  $1 \cdot 10^{15}$  Partikel pro Milliliter normiert. Ihre Emissionsintensitäten überdecken viele Größenordnungen. Zur besseren Veranschaulichung findet sich neben linearen Darstellung noch eine semi-logarithmische. Zwei Sachverhalte sind zu erkennen: Erstens steigt die Emission mit dem Radius stark an, und zweitens erfährt sie dabei eine spektrale Rotverschiebung. Dies sind zwei typische Charaktermerkmale der Plasmonresonanz.





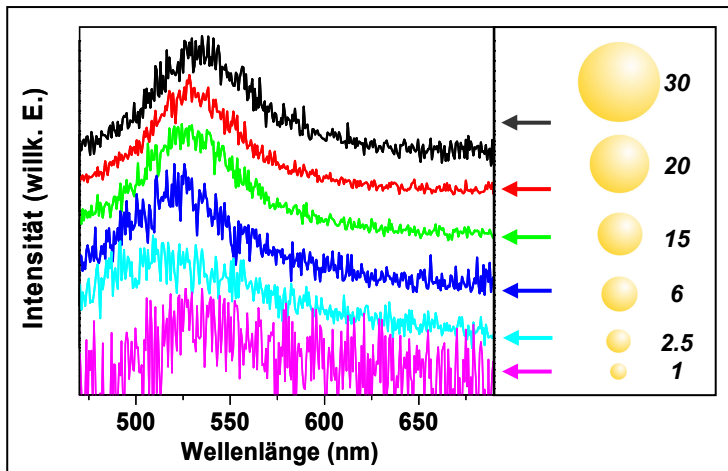
**Abb. 6.5** Auf gleiche Konzentration normierte Emissionsspektren ( $1 \cdot 10^{15}$  Partikel/ml). Die Intensität des Signals steigt pro Partikel mit dem Radius stark an. Zudem erfolgt eine Rotverschiebung der Emission.

Wird das Emissionssignal spektral zwischen  $470 - 650 \text{ nm}$  integriert und die Ergebnisse gegen den Partikelradius aufgetragen, so ergibt sich Abbildung 6.6. Bei einer für alle Proben einheitlichen Konzentration von  $1 \cdot 10^{15} \text{ 1/ml}$  lässt sich das starke Ansteigen als streng kubische Abhängigkeit zwischen dem Radius  $r$  und der Emissionsintensität  $I$  determinieren (Ausnahme  $r = 1 \text{ nm}$ ). Das Emissionsverhalten ist zunächst nicht verwunderlich, steigt doch der Absorptionskoeffizient eines Partikels kubisch mit dem Radius, welches sich über die Einsteinrelation zwischen Absorption und spontaner Emission wiederum im Emissionsprozess niederschlägt. Dieser Zusammenhang gilt aber im strengen Sinne nur für einstufige Prozesse, da in einem mehrstufigen Prozess die gekoppelten Einzelprozesse durchaus verschiedene Abhängigkeiten vom Partikelradius aufweisen können.



**Abb. 6.6** Die zeitlich integrierte Intensität der Emission über die ersten  $15 \text{ ps}$  steigt kubisch mit dem Partikelradius. Die Proben sind auf eine einheitliche Konzentration von  $1 \cdot 10^{15}$  Goldpartikel pro Milliliter normiert. Die kleinsten Partikel mit  $r = 1 \text{ nm}$  zeigen eine signifikante Abweichung. Fehlerbalken zeigen die Größendispersion der Nanopartikellösungen auf. Da die Emission proportional zum Partikelvolumen skaliert, kann man sie einer Partikeleigenschaft zuweisen.

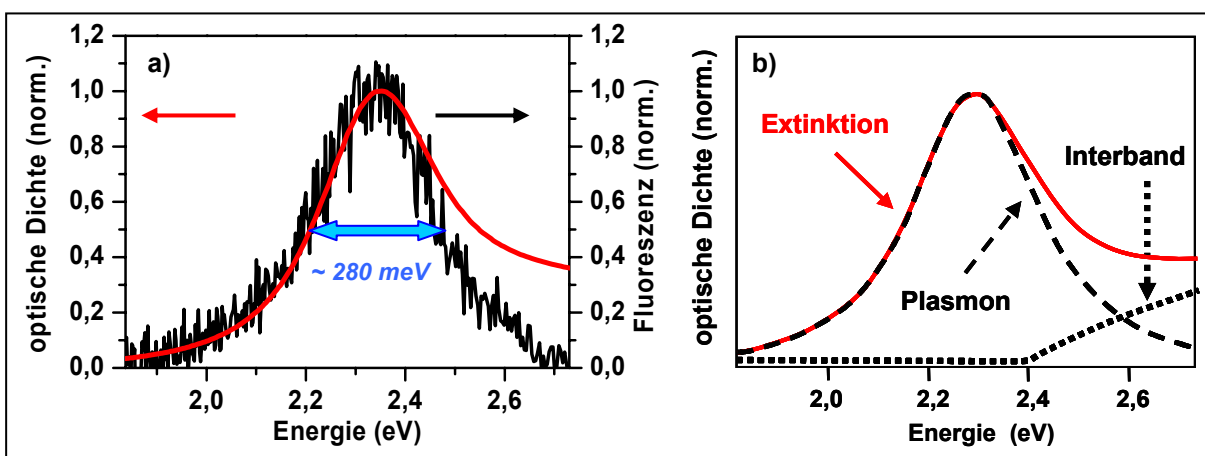
Betrachten wir nochmals die spektrale Lage der Emissionen in Abbildung 6.7. Je größer der Partikelradius, umso weiter ist das Emissionsmaximum rotverschoben. Dieses Verhalten ist bereits von der Mie-Theorie für Streu- und Absorptionsquerschnitte von Partikeln bekannt (Kapitel 2.1). Die kleinsten Partikel mit Radius  $r = 1 \text{ nm}$  verhalten sich inkonsistent. Das Emissionsmaximum folgt weder der Rotverschiebung, noch ist die in Kapitel 6.2.2 bestimmte Quanteneffizienz in sinnvoller Relation mit den anderen Partikelgrößen. Inwieweit in den kleinsten Partikeln Störungen durch Oberflächenstreuungen oder thermische Effekte zum Tragen kommen, wird in Kapitel 6.4 erörtert.



**Abb. 6.7** Die Emission zeigt, analog zur Extinktion des Partikelplasmons, mit zunehmendem Radius eine spektrale Rotverschiebung. Die kleinsten Partikel mit Radien mit  $r = 1 \text{ nm}$  verhalten sich inkonsistent, da signifikante Oberflächenstreuungen und thermische Effekte nicht auszuschließen sind (Kap. 6.4).

Aufgrund der Rotverschiebung mit steigendem Partikelradius ist es naheliegend, die Emissions- gegen die Extinktionsspektren zu vergleichen. Dies ist anhand von Nanopartikeln mit Radius  $r = 15 \text{ nm}$  in Abbildung 6.8 a) gezeigt. Eine spektrale Übereinstimmung zwischen experimenteller Extinktion und Emission ist zu erkennen (ebenso für die restlichen Partikelgrößen, nicht gezeigt). Im energetischen Bereich von  $2,4 - 2,65 \text{ eV}$  ( $460 - 500 \text{ nm}$ ) treten zwischen der Emission und der Extinktion Abweichungen auf. Diese kommen von Interbandübergängen, die zwar zur Extinktion, aber nicht zur Emission beitragen. Eine Bestätigung findet sich auch durch einen Vergleich mit berechneten Spektren. In Abbildung 6.8 b) ist die von Perner <sup>[18]</sup> experimentell bestimmte Extinktion (rot) von Gold Nanopartikeln mit Radius  $r = 15 \text{ nm}$ , gegen die berechneten Beiträge von Plasmon und Interbandübergängen (schwarz, gestrichelt) aufgetragen. Die plasmonische Resonanz beginnt von der experimentellen Extinktion dort abzuweichen, ab der die Interbandkante ( $2,38 \text{ eV}$ ) der Ein-Elektron-Anregungen des d-Bandes einsetzen. Dies ist in guter Übereinstimmung mit den eigenen Messungen (Abb. 6.8 a)). Die absoluten spektralen Lagen der Plasmonresonanzen sind nicht vergleichbar, da unterschiedliche Umgebungsmedien vorlagen ( $\text{H}_2\text{O}$  vs. Glasmatrix).

Anhand der Emissionslinienbreite kann die Lebensdauer der Emission abgeschätzt werden. So haben die Gold Nanopartikel mit  $r = 15 \text{ nm}$  in wässriger Lösung eine Halbwertsbreite von  $\Gamma \sim 280 \text{ meV}$ . Über  $T^{-1} = \Gamma/2\hbar$  (Gl. 2.9) ergibt sich die Dephasierungszeit zu  $T \sim 4,7 \text{ fs}$ . Dies ist in Übereinstimmung mit Messungen an einzelnen Gold Nanopartikeln ( $T \sim 4,6 \text{ fs}$ ) <sup>[32]</sup>.

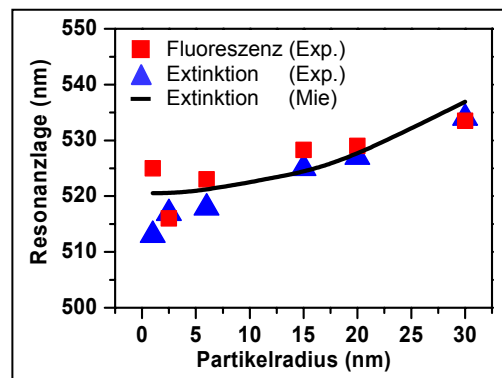


**Abb. 6.8** a) Gemessene Fluoreszenz und Extinktion von Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  (normiert). Die Abweichung zwischen Fluoreszenz und Plasmonresonanz aufgrund der Beiträge von Interbandübergängen ab etwa  $2,4 \text{ eV}$  gestattet die Schlussfolgerung, dass die Emission tatsächlich rein plasmonischer Natur ist. Die Lebensdauer der Emission lässt sich anhand der spektralen Halbwertsbreite zu etwa  $4,7 \text{ fs}$  abschätzen. b) Experimentelle Extinktion von Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$ , eingebettet in einer Glasmatrix, sowie die berechneten Beiträge von Interbandübergängen und Plasmonresonanz (nach [18]).

Abbildung 6.9 zeigt die experimentell ermittelten Extinktions- und Emissionsmaxima gegen die Mie-Theorie (schwarze Linie) als Funktion der Partikelgröße. Für alle Partikelgrößen (bis auf  $r = 1 \text{ nm}$ ) spiegelt die Emission die gemessene Extinktion wider.

Bisher kann man sagen, dass die Gold Nanopartikel nach einer optischen Anregung eine ultraschnelle Emission zeigen, deren spektrale Charakteristik (Abb. 6.8 + 6.9) in Übereinstimmung mit dem des Partikelplasmons ist. Trotz der verwendeten Zeitauflösung von wenigen Pikosekunden ist die Bezeichnung *ultraschnell* insofern gerechtfertigt, da, wie schon eingangs erwähnt, Messungen mit Aufkonversionstechnik den Zerfall ebenfalls zeitlich nicht auflösen konnten <sup>[282, 309]</sup>.

Das Signal kann nicht vom Stabilisator (Zitronensäure, Kap. 4.1) der Nanopartikel stammen, da diese weder Absorptions-, noch Fluoreszenzbanden bei der verwendeten Anrege- bzw. Emissionswellenlänge besitzt.



**Abb. 6.9** Experimentell gemessene Maxima der Fluoreszenz und Extinktion und die berechneten Extinktionsmaxima (Mie). Es ist die Resonanzposition gegen den Partikelradius aufgetragen. Bis auf die kleinsten Partikel mit  $r = 1 \text{ nm}$  folgt die Emission der Extinktion des Partikelplasmons.

So wurde von Nililius et al. <sup>[298, 299, 310]</sup> die Emission an *einzelnen* Gold Nanopartikeln nachgewiesen, die mittels Aufdampfen aus der Gasphase auf ein Substrat aufgebracht wurden, also in Abwesenheit jeglicher Stabilisatoren. Die Anregung fand durch Elektroneninjektion mittels einer STM-Spitze statt (*engl. STM = Scanning Tunneling Microscope*). Es wurden Partikelgrößen von  $4 \text{ nm}$  bis  $9 \text{ nm}$  untersucht. Es konnte zwar eine, mit steigender Partikelgröße, eintretende Rotverschiebung der Emission festgestellt werden, doch wegen der zusätzlichen Beeinflussung des Partikels durch die metallische STM-Spitze war nur eine grobe Übereinstimmung mit der spektralen Position des Partikelplasmons vorhanden. Die Quantenausbeute konnte, experimentell bedingt, nicht bestimmt werden.

Die größten einzelnen Partikel, an denen die Emission nachgewiesen wurde, hatten einen Radius von etwa  $50 \text{ nm}$ . Eine systematische Änderung der Partikelgröße blieb jedoch aus <sup>[311]</sup>.

Auch an Silberpartikeln wurde mittels optischer sowie elektrischer Anregung eine Emission detektiert, deren Ursprung aufgrund einer spektralen Ähnlichkeit zur Plasmonresonanz, ebenfalls dem strahlenden Zerfall desselbigen zugewiesen wurde <sup>[312, 313]</sup>. In Anbetracht dieser Kenntnisse kann man schlussfolgern, dass die Emission nur vom Nanopartikel selbst stammen kann.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass, wenn Gold Nanopartikel im Interband optisch angeregt, Elektronen ins 6sp-Leitungsband gehoben und Löcher in den d-Bändern zurückgelassen werden. Die detektierte Emission findet jedoch im Sichtbaren mit dem spektralen Profil der Plasmonresonanz statt und folgt ihr auch für verschiedene Radien.

Dies deutet auf einen *mehrstufigen* Prozess hin, bei der die Interband-Anregung mit dem Plasmon interagiert. Eine *direkte* Interbandrekombination als einstufiger Prozess kann ausgeschlossen werden, da es die Rotverschiebung mit der Partikelgröße nicht erklären kann, und wie sich noch zeigen wird, in ihrer Quantenausbeute um beinahe 4 Größenordnungen geringer ist. Auf welche Weise, und mit welcher Effizienz ein möglicher *mehrstufiger* Prozess vonstatten geht, wird in Kapitel 6.3 diskutiert.

### 6.2.2 Die Quanteneffizienz der ultraschnellen Emission

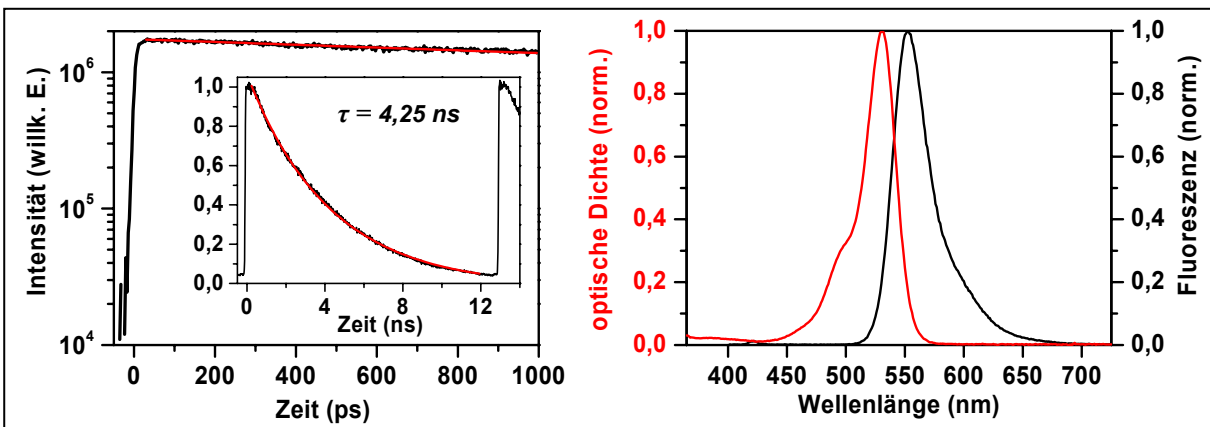
In diesem Kapitel wollen wir uns der Quanteneffizienz  $QE$  der Emission zuwenden und deren Abhängigkeit vom Partikelradius bestimmen. Die *gemessene* Quanteneffizienz ist das *Produkt* aller involvierten Einzelprozesse  $QE_x$  innerhalb der Partikel:  $QE_{total} = QE_1 \cdot QE_2 \cdot QE_3 \cdot \dots$

Hierzu wird eine Referenzprobe verwendet, dessen Quanteneffizienz genau bekannt ist, Rhodamin 6G. Das Molekül ist gut untersucht und besitzt in Ethanol eine  $QE = 95,5\%$  <sup>[314]</sup>. Rhodamin 6G besitzt eine Zerfallszeit von  $\tau = 4250\text{ ps}$  (Abb. 6.10). Wie bereits in Kapitel 4 erläutert, wird das TCSPC benötigt, um langlebige Zerfälle akkurat zu bestimmen. Für einen quantitativen Vergleich der Emissionen der Gold Nanopartikel mit Rhodamin 6G werden beide an der Streak Kamera vermessen.

Das spektrale Integrationsfenster für die Erfassung der emittierten Photonen von Rhodamin wird von  $500 - 700\text{ nm}$  gesetzt. Um alle Photonen von Rhodamin entlang der Zeitachse zu erfassen, wird die Intensität bis zu Zeiten  $t = \infty$  extrapoliert. Die Intensität eines einfach-exponentiellen Zerfalls lässt sich zu

$$I(t) = P_0 \cdot \int_0^\infty e^{-(t/\tau)} dt \quad (6.1)$$

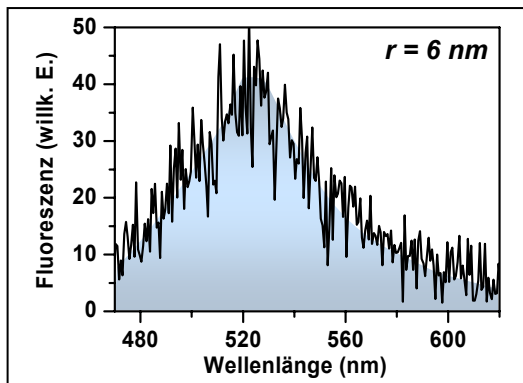
beschreiben.  $P_0$  ist die Fluoreszenzleistung bei  $t = 0$ , also dem Zeitpunkt der gepulsten optischen Anregung und  $\tau$  die Lebensdauer der Fluoreszenz. Beide Größen sind durch die Messung bekannt. Integriert man obige Formel, so ergibt sich  $I = P_0 \cdot \tau$ . Nach Abbildung 6.10 werden bei Rhodamin 6G zu  $t = 0$  etwa  $P_0 = 1,746 \cdot 10^6$  Zählereignisse detektiert und die Transiente besitzt eine Lebensdauer von  $\tau = 4242\text{ ps}$  (kleine Abb., TCSPC). Daraus ergeben sich insgesamt  $7,41 \cdot 10^9$  Zählereignisse. Berücksichtigen wir noch die  $QE$  des Rhodamin 6G von  $95\%$ , so ergibt sich für einen  $100\%$  Emitter ein Wert von  $7,8 \cdot 10^9$ .



**Abb. 6.10** Die gemessene Lebensdauer von Rhodamin 6G mit dem TCSPC ergibt sich zu  $\tau = 4,25\text{ ns}$  (kleine Abb.). Die Intensität der Transiente von Rhodamin 6G mit der Streak beläuft sich bei  $t = 0\text{ ps}$  auf  $I_0 = 1,746 \cdot 10^6$ . Des Weiteren sind die Absorption sowie die Fluoreszenz von Rhodamin 6 G gezeigt.

Dieses Vorgehen ist für die Goldemission nicht nötig, da diese unterhalb der Zeitaufösung vollständig abgeklungen ist. Es genügt hier in einem sehr kurzen Zeitfenster das Spektrum zu integrieren. Exemplarisch sei hier die Probe mit  $r = 6\text{ nm}$  Partikeln angeführt, da hinsichtlich ihrer Quantenausbeute ein Literaturvergleich möglich ist. Rhodamin 6G, als auch die Goldpartikellösung besitzen die gleiche optische Dichte bei der Anregewellenlänge.

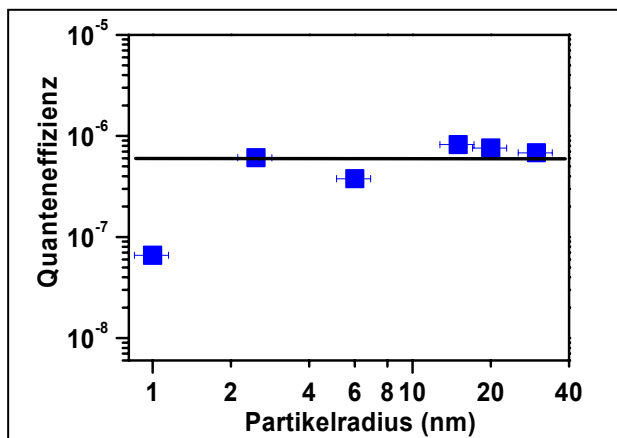
Unter den gleichen experimentellen Bedingungen wie für Rhodamin 6G, zeigt sich die Emission von Gold Nanopartikeln in wässriger Lösung mit  $r = 6\text{ nm}$  wie es Abbildung 6.11 darstellt. Die Integration des Spektrums zwischen  $470$  und  $620\text{ nm}$  ergibt  $2940$  Zählereignisse.



**Abb. 6.11** Das spektrale Integral (470 - 620 nm) über die Emission von Gold Partikeln ( $r = 6 \text{ nm}$ ).

Nehmen wir das Verhältnis der beiden Ergebnisse, so ergibt sich, dass die Gold Nanopartikel mit einer Effizienz von  $3,77 \cdot 10^{-7}$  die absorbierten Photonen in emittierte Photonen konvertieren. Die Quantenausbeute ist in guter Übereinstimmung mit dem Ergebnis von Varnavski. Seine Abschätzung beläuft sich auf  $QE > 1 \cdot 10^{-7}$  für Partikel mit  $r = 6 \text{ nm}$  <sup>[309]</sup>.

Einen Überblick der experimentell ermittelten Quantenausbeuten aller untersuchten Partikelgrößen gibt Abbildung 6.12. Die Fehlerbalken ergeben sich aus der Größendispersion der verwendeten Goldpartikel von maximal 15 %. Wieder von der kleinsten Partikelgröße abgesehen, erscheint die Quantenausbeute als unabhängig von der Partikelgröße. Sie schwankt zwar zwischen  $3,7 - 8,2 \cdot 10^{-7}$ , bleibt aber innerhalb einer halben Größenordnung. Eine systematische Abhängigkeit vom Partikelradius ist nicht erkennbar.



**Abb. 6.12** Die Quanteneffizienz der Emission als Funktion des Partikelradius. Abgesehen von den Partikeln mit  $r = 1 \text{ nm}$  ist sie von der Partikelgröße unabhängig.

Die von Mooradian gemessene Emission an Metallfilmen <sup>[295]</sup>, scheidet als Erklärung aus, da sie etwa 4 Größenordnungen unterhalb den eigenen gemessenen Effizienzen liegt. Beide Emissionen basieren aber zunächst auf der Generation von Elektron-Loch-Paaren. Diese Interbandanregung ist eine zum Volumen des Partikels proportionale Einteilchen-Anregung, und hängt nicht von der Partikelform ab <sup>[55]</sup>. Es stellt sich damit die Frage, inwieweit sich die elektronischen Anregungen in Goldfilmen von denen in Nanopartikeln unterscheiden.

Durch die spektralen Eigenschaften der Emission ist es nahe liegend, mit ihr die Plasmonschwingung in Verbindung zu bringen. Bedingt durch das limitierte Volumen der Nanopartikel und der daraus resultierenden Rückstellkraft könnte man sich vorstellen, dass ein Elektron-Loch-Paar wie ein Dipol agiert und das Partikel von „innen heraus“ polarisiert. In einer sehr vereinfachten Analogie zu den Energie-Transferprozessen von Kapitel 5 wäre in diesem Fall der Farbstoff innerhalb des Partikels. Ist die Polarisation stark genug, um das gesamte Partikel zu durchdringen, so käme dies einer einsetzenden Plasmonschwingung gleich. Die Emission zeigt schließlich *plasmonische* Eigenschaften.

Wie auch immer das Plasmon zunächst involviert ist, so ist dessen strahlender Zerfall vermutlich eine Teilkomponente in einem *mehrstufigen* Prozess, dessen Effizienz  $QE_{total} = QE_1 \cdot QE_2 \cdot QE_3 \dots$  eine Serie gekoppelter Prozesse darstellt. Kapitel 6.3 beschäftigt sich mit der Entschlüsselung der einzelnen Prozesse.

### 6.3 Diskussion und Modellvergleich

Es werden die vorliegenden experimentellen Ergebnisse diskutiert und mit Modellrechnungen verglichen. Zum einen wird, da der letzte der gekoppelten Prozesse vermutlich ein strahlendes Plasmon ist, zunächst die Quantenausbeute  $QE_{\text{plasmon}}$  nach Mie berechnet, mit der das Partikelplasmon unter Aussendung eines Photons zerfallen kann. Zum anderen benötigen wir auch eine physikalische Erklärung, wie aus der anfänglichen Interband-Anregung die Emission eines Plasmons zustande kommt. Wir werden Modellrechnungen nach Shahbazyan et al. heranziehen <sup>[17, 315]</sup>. Sie umschreiben eine partikelgrößenabhängige Streuung der d-Bandl cher, welches zur Generation eines Nanopartikelplasmons führt.

Zuvor wenden wir uns einer denkbaren, alternativen Erklärung zu: Der Möglichkeit des Nanopartikels als thermischer, grauer Strahler Photonen zu emittieren.

#### 6.3.1 Nanopartikel als thermische Strahler

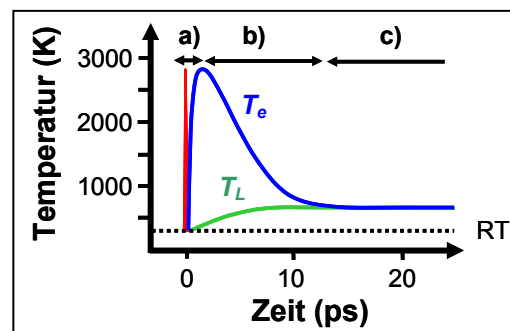
Es gilt zu klären, ob eine optische Anregung die Elektronentemperatur im Nanopartikel derart erhöhen kann, das im Sichtbaren eine thermische Strahlungsleistung auftritt, welche stark genug ist, um noch vom Detektor erfasst zu werden.

Das Plancksche Strahlungsgesetz (Strahlungsleistung als Funktion der Temperatur und der Wellenlänge) sowie das Wiensche Verschiebungsgesetz (Strahlungsmaximum als Funktion der Temperatur) gelten, streng gesehen, nur für einen idealisierten, *schwarzen Strahler*, d.h. für einen Körper, der unabhängig von Temperatur und Wellenlänge, jegliche einfallende Strahlung absorbiert, also einen Absorptionsgrad von  $\alpha = 1$  aufweist. Die von einem *beliebigen* Körper ausgehende Strahlungsleistung ist gleich der des schwarzen Körpers (gleicher Temperatur), multipliziert mit seinem Emissionsgrad  $\epsilon$ . <sup>[316]</sup> Ein derartiges Emissionsprofil wird als *Grauk rperstrahlung* bezeichnet <sup>[307]</sup>.

Um die Zahl der absorbierten Photonen pro Gold Nanopartikel und die daraus resultierende Temperaturerhöhung zu bestimmen, werden die Absorptionsquerschnitte  $\sigma_{\text{abs}}$  aus der Mie-Theorie verwendet.

In der Literatur findet sich eine Vielzahl an Publikationen, die sich mit der Energiedissipation von *heißen Elektronen* in Nanopartikeln beschäftigen <sup>[317-327]</sup>.

Die Energierelaxation heißer Elektronen und der Temperatur bertrag auf das Gitter kann mit dem sogenannten *2-Temperaturen Modell* (TTM, engl. *two temperature model*) beschrieben werden <sup>[328, 329]</sup>. Dabei werden die Elektronen und das Ionengitter als gekoppelte Wärmebäder mit unterschiedlicher Temperatur ( $T_e$ ,  $T_L$ ) beschrieben, welche dann über eine Elektron-Phonon-Kopplung Wärmeenergie austauschen. Als Funktion der Zeit stellt sich ein Temperaturausgleich ein. Abbildung 6.13 zeigt die Elektronen- und Gittertemperatur nach einer ultraschnellen optischen Anregung.



**Abb. 6.13** Verlauf der Elektronentemperatur ( $T_e$ ) und Transfer von thermischer Energie an das Metallgitter ( $T_L$ ) als Funktion der Zeit. Nach der optischen, ultrakurzen Anregung (rot) thermalisieren die Elektronen in  $\sim 100$  fs (a) und kühlen durch Wärmeabgabe an das Metallgitter in  $\sim 5 - 10$  ps ab (b). Im Verlauf der anschließenden  $\sim 100$  ps kühlt das Gitter auf Raumtemperatur ab (c).



So benötigt der Elektronensee nach einer optischen Anregung nur wenige  $100\text{ fs}$  (a), um vom thermischen Nichtgleichgewichtszustand in ein Gleichgewicht überzugehen. Durch Wärmeabgabe an das kalte Phononenbad des Metallgitters beginnen die Elektronen auf einer Zeitskala von einigen  $ps$  abzukühlen (b). Im Laufe von  $\sim 100\text{ ps}$  kühlt das Gitter durch Abgabe der thermischen Energie an das umgebende Medium wieder auf Raumtemperatur ab (c).

Es sei bemerkt, dass eine Emission, in der die d-Bandl cher der Nanopartikel involviert sind, bis zum Einsetzen des Abkühlvorganges des Elektronensees stattgefunden haben muss, da zu diesem Zeitpunkt bereits alle Löcher durch Streuprozesse wieder ins sp-Band gelangt sind.

Ein einfacher Zusammenhang zwischen der Elektronentemperatur  $T_e$  und dem thermischen Beitrag der inneren Energie der Elektronen  $E_{i,th}$  innerhalb eines Goldpartikels mit Volumen  $V_{Au}$  ergibt sich aus dem TTM-Modell, wenn der Wärmeaustausch mit dem Gitter vernachlässigt wird, zu:

$$T_e = \sqrt{\frac{2N_{Pho-Au}E_{i,th}}{\gamma V_{Au}}}, \quad \gamma = 66 \frac{J}{m^3 K^2} \quad (6.2)$$

$N_{Pho-Au}$  ist die Zahl der absorbierten Photonen pro Partikel und Laserpuls mit der Energie  $E_{i,th}$ .  $\gamma$  ist ein Parameter für Gold <sup>[330]</sup>.  $N_{Pho-Au}$  ergibt sich aus der Laserpulsenergie, der Querschnittsfläche der optischen Anregung, der Partikeldichte innerhalb dieser Fläche sowie dem Absorptionsquerschnitt der Nanopartikel. Eine ausführliche Rechnung findet sich im Anhang E.

Die Ergebnisse für  $N_{Pho-Au}$  sind in Tabelle 6.1. gelistet. Des Weiteren findet sich die Temperaturerhöhung  $\Delta T$  der Elektronen im Nanopartikel nach Gleichung (6.2) für ein einzelnes absorbiertes Photon ( $N_{Pho-Au} = 1$ ). Die Rechenergebnisse basieren auf der, in den experimentellen Messungen verwendeten, Pulsintensität des Lasers von  $I_{Puls} = 1,2 \cdot 10^7\text{ J/cm}^2$  bei einer Laserwellenlänge  $\lambda = 375\text{ nm}$ .

**Tab. 6.1** Die Temperaturerhöhung  $\Delta T$  der Elektronen im Partikel für ein *einzelnes* absorbiertes Photon sowie die Zahl der, unter den experimentellen Gegebenheiten, *tatsächlich* absorbierten Photonen pro Nanopartikel  $N_{Pho-Au}$  als Funktion des Partikelradius.

Partikelradius $r$ (nm)	1	2,5	6	15	20	30
Temperaturerhöhung der Elektronen $\Delta T$ pro Photon (K)	1957	495	133	33,69	21,8	11,91
Absorbierte Photonen pro Partikel $N_{Pho-Au}$	$9,0 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$3,1 \cdot 10^{-2}$	0,48	2,19	4,19

Die Photoneneinfangrate ist recht gering, erreicht sie gerade mal vier Photonen pro Puls für die gröbste Partikelsorte mit  $r = 30\text{ nm}$ . Deren Elektronentemperatur ändert sich nur geringfügig. Wird ein Photon absorbiert, so beträgt  $\Delta T$  nur etwa  $12\text{ K}$ , für vier Photonen nach Gleichung (6.2) entsprechend  $\sim 24\text{ K}$ . Bei den kleinsten Partikeln mit  $r = 1\text{ nm}$  absorbiert pro Laserpuls nur etwa eines von  $11000$  Partikeln ein Photon. Wird jedoch ein Photon absorbiert, heizen sich die Elektronen kurzfristig um  $1957\text{ K}$  auf.

Abbildung 6.14 stellt die Ergebnisse aus Tabelle 6.1 nochmals graphisch dar.  $N_{Pho-Au}$  pro Laserpuls sowie die Temperaturerhöhung  $\Delta T$  der Elektronen für ein einzelnes absorbiertes Photon sind semi-logarithmisch als Funktion des Partikelradius aufgetragen.

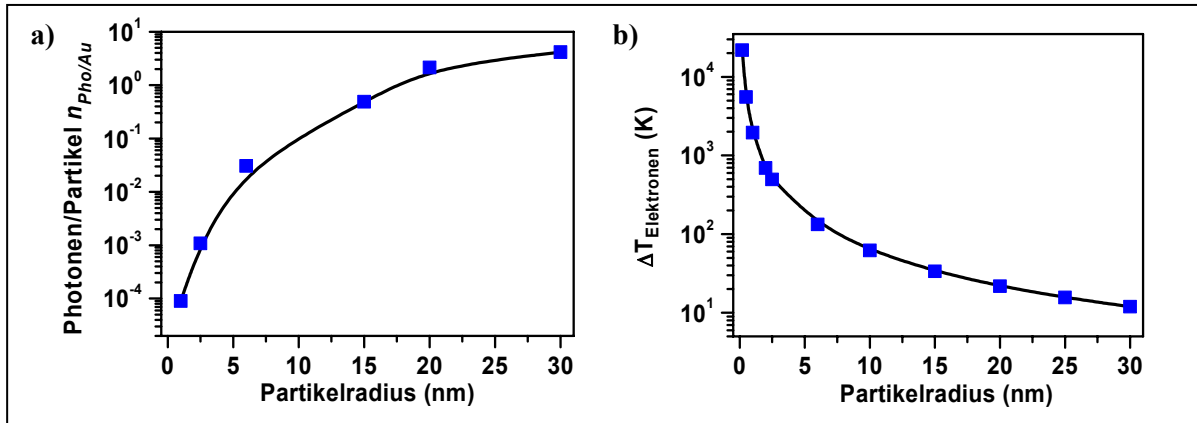


Abb. 6.14 a) Die Zahl der absorbierten Photonen/Nanopartikel pro Laserpuls ( $I_{Puls} = 1,2 \cdot 10^7 \text{ J/cm}^2$ ) und b) die nach Gleichung (6.2) berechnete Erhöhung der Elektronentemperatur nach der Absorption eines Photons.

Abbildung 6.15 zeigt die experimentell gemessene Fluoreszenz von Gold Nanopartikeln ( $r = 6 \text{ nm}$ ) sowie das Integral der Spektren als Funktion der Laserleistung über beinahe zwei Größenordnungen in doppelt-logarithmischer Darstellung. Unabhängig von der Partikelgröße zeigt sich ein linearer Zusammenhang zwischen Intensität und Laserleistung (gezeigt für  $r = 6 \text{ nm}$  und  $30 \text{ nm}$ ).

Dies begründet sich darin, dass wegen der niedrigen Photoneinfangrate der Nanopartikel (Tab. 6.1) sich mit Variation der Laserleistung aus statistischen Gründen nicht die Zahl der absorbierten Photonen pro Partikel ändern wird, sondern vielmehr nur die Anzahl der Partikel, welche ein einzelnes Photon absorbieren. Die Elektronentemperatur der Partikel ändert sich in einer Leistungsserie folglich nicht, und die Intensität der Emission steigt daher linear mit der Laserleistung.

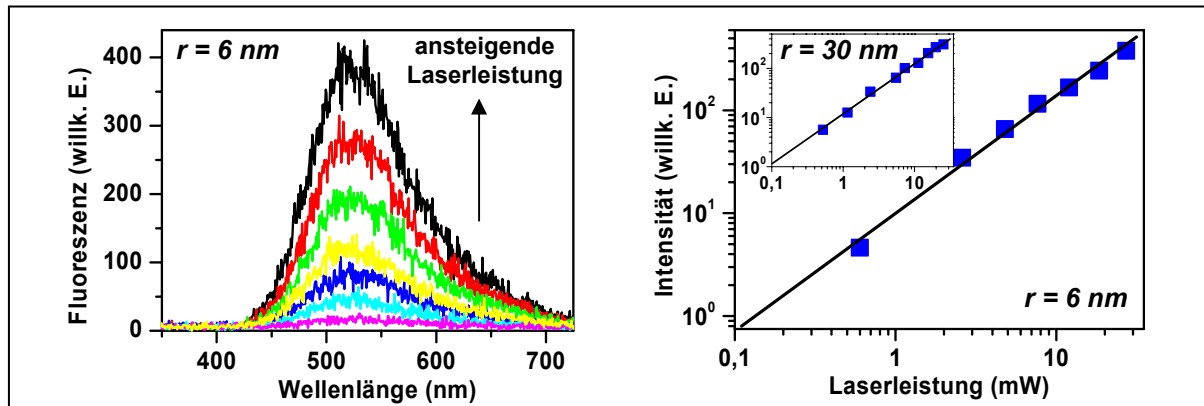


Abb. 6.15 Spektren und Intensität der Fluoreszenz von Gold Nanopartikeln ( $r = 6 \text{ nm}$ ) als Funktion der Laserleistung (links). Das Integral der Fluoreszenzintensität steigt linear mit der Laserleistung (rechts, blaue Punkte). Die Linearität zeigt sich für alle Partikelgrößen (z.B.  $r = 30 \text{ nm}$ , kleine Abb.)

Die aus den experimentellen Ergebnissen berechneten Elektronentemperaturen (Abb. 6.14 bzw. Tab. 6.1) sind in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Gruppen<sup>[319]</sup>. So konnte mit einem MHz-Lasersystem ( $190 \mu\text{J/cm}^2$ , Spotgröße  $30 \mu\text{m}$ ,  $\lambda = 854 \text{ nm}$ ) an Silberfilmen eine Elektronentemperaturerhöhung von nur  $\Delta T = 90 \text{ K}$  festgestellt werden. Wie bereits erwähnt wird die Generation *heißer Elektronen* in Nanopartikeln vornehmlich durch die Verwendung von regenerativ verstärkten Lasersystemen mit Repetitionsraten im kHz-Bereich realisiert. Diese besitzen, gegenüber dem hier verwendeten Lasersystem (MHz) um bis zu  $1 \cdot 10^4$  höhere Pulsenergien. So würden sich Gold Nanopartikel mit  $r = 30 \text{ nm}$  unter den gleichen Messbedingungen nicht um  $\sim 12 \text{ K}$ , sondern  $\sim 1200 \text{ K}$ , also vergleichbar mit den  $r = 1 \text{ nm}$  oder  $2,5 \text{ nm}$  Nanopartikeln, erwärmen.



Thermische Emissionen können daher durchaus signifikant werden. So zeigen mit regenerativ verstärkten Lasersystemen angeregte semi-kontinuierliche Goldfilme in der Tat thermische Strahlung. Die Emission reicht bis ins Sichtbare mit einem Maximum um  $500\text{ nm}$ . Dies lässt sich über Elektronentemperaturen von bis zu  $5200\text{ K}$  erklären<sup>[31]</sup>. Hwang et al. haben an Gold Nanopartikeln ( $r = 12,5\text{ nm}$ ) mit regenerativ verstärkten Lasersystemen ( $\lambda = 400\text{ nm}$ ), eine Fluoreszenz mit einer Anstiegs- und Zerfallsdynamik von  $t_1 \sim 0,4\text{ ps}$  und  $t_2 \sim 3\text{ ps}$  nachgewiesen, die mit der Thermalisierung der Elektronen korreliert war, da in zeitaufgelösten Absorptionsexperimenten vergleichbare Zeiten gemessen wurden<sup>[306]</sup>. Die Laserintensitäten waren etwa drei Größenordnungen höher als in den vorliegenden Messungen dieser Arbeit. Bei der Änderung der Laserwellenlänge zu niedrigeren Energien wurde zudem eine spektrale Rotverschiebung der Emission nachgewiesen. Beides spricht für eine thermische Emission. An den in dieser Arbeit untersuchten Nanopartikeln konnte durch eine Änderung der Anregewellenlänge des Laser ( $375 - 408\text{ nm}$ ) keine spektrale Verschiebung der Emission nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt).

Nehmen wir an, die Nanopartikel seien perfekte Emittier, also Schwarzkörperstrahler. Unter Verwendung des Wienschen Verschiebungsgesetzes lässt sich dann das Emissionsmaximum als Funktion der Temperatur berechnen (Abb. 6.16). Selbst die kleinsten, heißesten Partikel mit  $r = 1\text{ nm}$  und  $T = 293 + 1957 = 2250\text{ K}$  zeigen ein Emissionsmaximum im Infraroten bei etwa  $\lambda = 1,3\text{ }\mu\text{m}$ . Keine Partikelsorte erreicht annähernd den sichtbaren Spektralbereich. Der Elektronensee ist einfach zu kalt.

Gold Nanopartikel haben aber weder einen Emissions- noch Absorptionsgrad der gleich  $1$  ist. Es soll daher die Strahlungsleistung  $\Phi$  der Gold Nanopartikellösungen im Sichtbaren bei den gegebenen Temperaturen als Graukörper bestimmt werden. Das einfachste Modell ist ein Ensemble von  $N$  identischen, nicht wechselwirkender, homogener Nanopartikel mit einer Temperatur  $T$ <sup>[55, 307]</sup>.

$$\Phi_{\lambda}(T) = 4N\sigma_{abs}(\lambda) \cdot M_{\lambda}(T) \quad (6.3)$$

$N$  ist die Zahl der angeregten Partikel im Detektionsvolumen,  $\sigma_{abs}$  ihr Absorptionsquerschnitt (Mie-Theorie) und  $M_{\lambda}$  die spektrale, spezifische Ausstrahlung eines Planckschen Strahlers.

Die spezifische Ausstrahlung  $dM_{\lambda}(T)$ , welches von einem schwarzen Strahler in den Halbraum ( $\Omega = 2\pi$ ) als Funktion der Wellenlänge  $\lambda$  in einem Intervall  $[\lambda - \lambda + d\lambda]$  und der Temperatur  $T$  emittiert wird, ist gegeben als:

$$dM_{\lambda}(T) = \frac{2\pi hc^2}{\lambda^5} \frac{1}{e^{\frac{hc}{\lambda T}} - 1} d\lambda \quad (6.4)$$

wobei  $h$  das Plancksche Wirkungsquantum,  $c$  die Lichtgeschwindigkeit und  $k$  die Boltzmann-Konstante ist.  $M_{\lambda}(T)$  wird für das experimentell gemessene Emissionsmaximum berechnet, mit einem spektralen Intervall  $d\lambda$  von  $1\text{ nm}$  um  $\lambda = 525\text{ nm}$ . Für die kleinsten, heißesten sowie die größten, kältesten Partikel (Tab. 6.1 plus Raumtemperatur), der jeweiligen Partikelzahl  $N$  im Detektionsvolumen ( $1,875 \cdot 10^{-8}\text{ cm}^3$ , Anhang E) und den entsprechenden Absorptionsquerschnitten  $\sigma_{abs}$  ergibt sich:

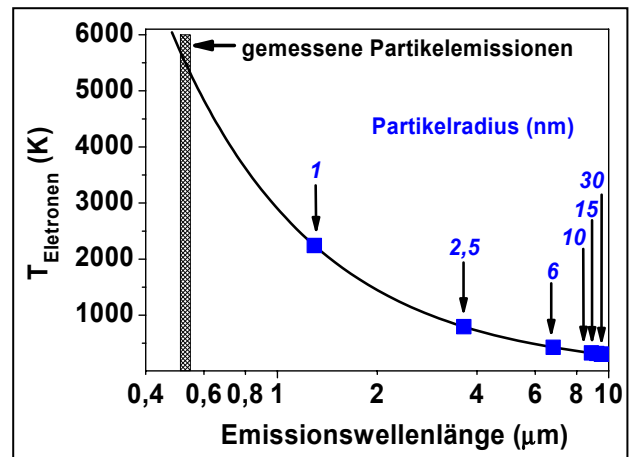


Abb. 6.16 Wiensches Emissionsmaximum gegen die Elektronentemperaturen. Selbst bei den kleinsten und heißesten Partikeln liegt das Emissionsmaximum zu sehr im Infraroten, um eine Erklärung für die ultraschnelle Emission im Sichtbaren zu sein.

$$\begin{array}{lll}
 T_{r=1nm} = 1957 K (+ RT) = 2250 K, & \sigma_{abs, r=1nm, 525nm} = 3,97 \cdot 10^{-19} m^2, & N_{1nm} = 6,8 \cdot 10^6 \\
 T_{r=30nm} = 12 K (+ RT) = 305 K & \sigma_{abs, r=30nm, 525nm} = 1,07 \cdot 10^{-14} m^2, & N_{30nm} = 2,5 \cdot 10^2
 \end{array}$$

und die Strahlungsleistung  $\Phi$  nach Gleichung (6.3) zu:

$$\begin{array}{l}
 \Phi_{525nm, 1nm} = 4,71 \cdot 10^{-10} W \\
 \Phi_{525nm, 30nm} = 1,78 \cdot 10^{-46} W
 \end{array}$$

Nicht jedes Partikel absorbiert ein Photon pro Laserpuls (Tab 6.1). Die Zahl der effektiv angeregten Partikel  $N^*$  ist:

$$\begin{array}{ll}
 N_{1nm}^* = 6,4 \cdot 10^2 & \text{und } \Phi \text{ damit} & \Phi_{525nm, 1nm}^* = 4,4 \cdot 10^{-14} W \\
 N_{30nm}^* = 2,5 \cdot 10^2 & \text{sowie} & \Phi_{525nm, 30nm}^* = 1,78 \cdot 10^{-46} W
 \end{array}$$

Die emittierte thermische Leistung der 30 nm Partikel mit  $\sim 12 K$  oberhalb der Raumtemperatur steht außer Diskussion. Betrachten wir jedoch die Partikel mit  $r = 1 nm$  und berücksichtigen die Sammel-effizienz des experimentellen Aufbaus ( $2 \cdot 10^{-6}$ , Kapitel 3.2.3), so ist die am Detektor ankommende thermische Leistung  $\Phi^* \sim 4,07 \cdot 10^{-20} W$  (inkl. Abschwächungsfaktor  $\sim 0,48$  durch Partikel außerhalb des Detektionsvolumens). In einem Messfenster von  $t = 56 ms$  entspricht diese Leistung bei 525 nm ( $E = 3,78 \cdot 10^{-19} J$ ) einer Photonenzahl von  $N = (\Phi^* \cdot t)/E = 0,006$ .

Das experimentelle Emissionsspektrum der kleinsten Partikel sowie einer Dunkelmessung ergeben nach  $50000 \cdot 56ms$  Integrationszyklen bei 525 nm etwa 1300 bzw. 100 Ereignisse. Reduziert auf eine einzelne 56 ms Messung erhält man durchschnittlich  $\sim 0,026$  Photonen aus der Probenemission und  $\sim 0,002$  Photonen vom Dunkelrauschen. Die thermische Emission (0,006) liegt in der Größenordnung des Dunkelrauschens. Da das Signal/Rausch-Verhältnis damit nur  $\sim 10$  beträgt, kann in der Tat nicht ausgeschlossen werden, dass die detektierte Emission an den kleinsten Partikeln einen Anteil von  $\sim 23\%$  thermischer Emission beinhaltet. Dies könnte die spektrale Rotverschiebung im Vergleich zu den anderen Partikelspektren erklären (Abb. 6.7).

Die experimentell gemessene Emission steigt kubisch mit dem Partikelradius (Abb. 6.6), die Elektronentemperatur fällt hingegen (Abb. 6.14). Für die nächstgrößere Partikelsorte ( $r = 2,5 nm$ ) ergibt sich ein thermischer Beitrag zur Emission nur noch im Promillebereich und ist bereits vernachlässigbar. Die pro Partikel kubisch steigende Emissionsintensität mit dem Radius spricht ebenfalls gegen eine thermische Strahlung. Für alle anderen Partikelgrößen kann ein thermischer Ursprung der Emission daher ausgeschlossen werden.

### 6.3.2 Die Quanteneffizienz eines Plasmons, strahlend zu zerfallen

Inhalt des Kapitels wird es sein zu bestimmen, mit welcher Effizienz  $QE_{plasmon}$  das Plasmon strahlend zerfällt. Dies wird aus der Mie-Theorie unter Berücksichtigung von Oberflächenstreuungen bestimmt. Wie in Anhang F gezeigt, ist die strahlende Rate des Partikelplasmons proportional zum Volumen.

$$R_{rad} \propto V \propto r^3 \quad (6.5)$$

Dies ist des Plasmons einzige Möglichkeit, strahlend gedämpft zu werden. Die uns aus der Mie-Theorie zugänglichen, berechenbaren Größen sind *Streu- und Extinktionsquerschnitte*  $\sigma$ . Um theoretisch

tische Vorhersagen der Quantenausbeute des Plasmons bei dessen Resonanzfrequenz  $\omega_0$  treffen zu können, wird ein Zusammenhang zwischen Querschnitten  $\sigma$  und Zerfallsraten  $R$  benötigt. Dieser findet sich über die *Abraham-Lorentz Bewegungsgleichung*, welche die Bewegung eines beschleunigten, gebundenen und geladenen Teilchens unter dem Einfluss einer Rückstellkraft beschreibt. Hieraus können strahlungsbedingte Dämpfungen  $\Gamma_{\text{rad}}$  sowie strahlungslose Beiträge  $\Gamma_{\text{nonrad}}$  bestimmt werden. Eine Herleitung dieser Relation findet sich bei Jackson und ist im Anhang F der Arbeit kurz skizziert. Das Ergebnis für das Verhältnis von Streu- zu Extinktionsquerschnitt  $\sigma_{\text{sca}}/\sigma_{\text{ext}}$  bei der Resonanzfrequenz  $\omega_0$  lautet:

$$\frac{\sigma_{\text{sca}}(\omega_0)}{\sigma_{\text{ext}}(\omega_0)} = \frac{\Gamma_{\text{rad}}}{\Gamma_{\text{total}}} \quad (6.6)$$

Ziehen wir einen Vergleich mit der Definition der Quanteneffizienz (Gl. 2.2.3), so erhalten wir

$$QE = \frac{R_{\text{rad}}}{R_{\text{rad}} + R_{\text{nonrad}}} = \frac{R_{\text{rad}}}{R_{\text{fluor}}} = \frac{R_{\text{rad}}}{R_{\text{total}}} \propto \frac{\Gamma_{\text{rad}}}{\Gamma_{\text{total}}} = \frac{\sigma_{\text{sca}}(\omega_0)}{\sigma_{\text{ext}}(\omega_0)} \quad (6.7)$$

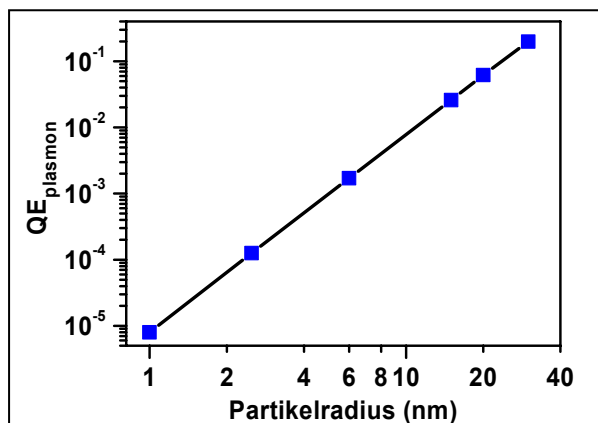
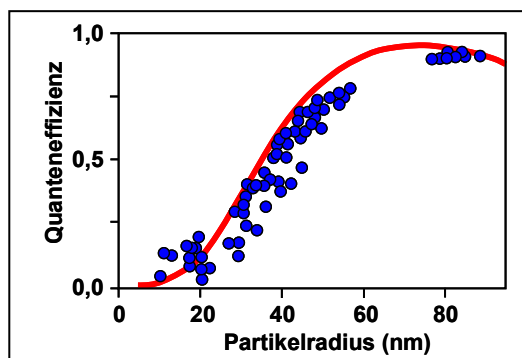


Abb. 6.17 Die Quanteneffizienz  $QE_{\text{plasmon}}$  des Plasmons strahlend zu zerfallen steigt kubisch mit dem Radius.

Die Quanteneffizienz eines Partikelplasmons strahlend zu zerfallen ( $QE_{\text{plasmon}}$ ) kann also auf die Berechnung der Streu- und Extinktionsquerschnitte (Mie-Theorie) bei der Plasmonresonanz ( $\omega = \omega_0$ ) zurückgeführt werden. Als Funktion des Radius ergibt sich für Gold Nanopartikel in wässriger Lösung  $QE_{\text{plasmon}}$  wie in Abbildung 6.17 aufgetragen. Die Wahrscheinlichkeit, ein Photon zu emittieren steigt kubisch mit dem Radius. In der doppellogarithmischen Darstellung zeigt sich  $QE_{\text{plasmon}}$  als eine Gerade mit  $y = m \cdot x + t$  und einer Steigung von  $m = 3$ .

Die Relation zwischen Linienbreiten und Wirkungsquerschnitten (Gl. 6.7) konnte an einzelnen Gold Nanopartikeln mittels Dunkelfeld-Mikroskopie bereits experimentell nachgewiesen werden und ist in guter Übereinstimmung mit den Streu- und Extinktionsquerschnitten nach Mie (Abb.6.18) <sup>[32]</sup>. Die Quanteneffizienz wurde nach Gleichung 6.7 bestimmt.

Abb. 6.18 Mittels Dunkelfeld-Mikroskopie konnte der Zusammenhang zwischen den experimentell gemessenen Linienbreiten einzelner Gold Nanopartikel (blau) und den theoretisch berechneten Streu- und Extinktionsquerschnitten nach Mie (rot) nachgewiesen werden (nach <sup>[32]</sup>). Die Quanteneffizienz ergibt sich nach Gleichung (6.7).

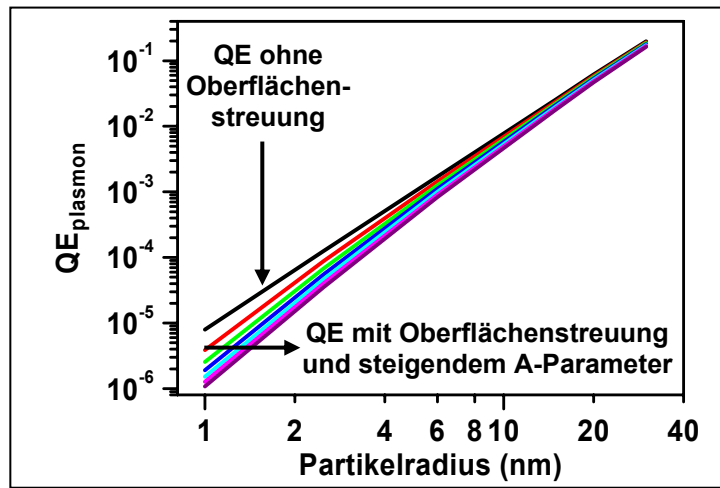


Die Mie-Theorie berücksichtigt für kleine Partikelradien keine Oberflächenstreuungen der Elektronen des Partikelplasmons. Die berechnete Quantenausbeute  $QE_{plasmon}$  (Abb. 6.17) wird deshalb noch mit einem Korrekturfaktor  $M$  gewichtet, der diesem Einfluss Rechnung trägt.  $M$  gibt das Verhältnis der  $T_2$ -Raten (gesamte Dephasierungszeit), mit und ohne  $T^*$ -Oberflächenstreuung an (Gl. 6.8).

$$QE_{Mie,surface} = \frac{QE_{Mie}}{M(r)} \quad \text{mit} \quad M(r) = \frac{\Gamma_{total} + \Gamma_{surface}(r)}{\Gamma_{total}} \quad (6.8)$$

Für die kleinsten Partikel mit  $r = 1 \text{ nm}$  erhält man mit  $\Gamma_{total} = 2,174 \cdot 10^{14} \text{ 1/s}$  [44] und  $\Gamma_{surface}$  nach Gleichung (2.12) einen Wert von  $M = 7,4$ . Die Dämpfung steigt aufgrund der Oberflächenstreuung und die  $QE_{plasmon}$  sinkt damit auf etwa  $1/7$  ihres vorherigen Wertes ab. Abbildung 6.19 gibt einen Vergleich zwischen  $QE_{plasmon}$  mit (Farben) und ohne Oberflächenkorrektur (Schwarz) für verschiedene  $A$ -Parameter zwischen  $0,25 - 1,5$  in Schrittweiten von  $0,25$ .

**Abb. 6.19** Vergleich der Quantenausbeuten des Partikelplasmons mit unterschiedlichen Oberflächenstreuanteilen als Funktion des Partikelradius. Der Korrekturparameter  $A$  wird zwischen  $0,25 - 1,5$  in Schrittweiten von  $0,25$  variiert. Steigt der Beitrag der strahlungslosen Oberflächenstreuung, so sinkt die Quanteneffizienz des Plasmons strahlend zu zerfallen. Für die in Kapitel 6.3.3 durchgeführten Berechnungen wird  $A = 1$  gewählt (hellblau). Als Vergleich ist die Quanteneffizienz des Plasmons ohne Streukorrekturen gezeigt ( $A = 0$ , schwarze obere Linie). Man sieht, dass Beiträge durch Oberflächenstreuungsprozesse nur für kleinere Partikel relevant sind.



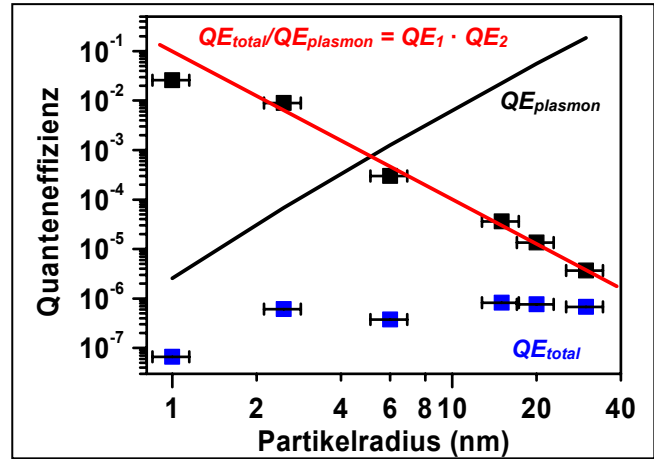
### 6.3.3 Die Quanteneffizienz eines e-h-Paares, ein Plasmon zu generieren

Wir haben in Kapitel 6.2.2 die Quanteneffizienz  $QE_{total}$  der gemessenen Emission bestimmt. In Kapitel 6.3.2 wurde die Quanteneffizienz des Plasmons  $QE_{plasmon}$  strahlend zu zerfallen berechnet. Unserer Annahme folgend, einen mehrstufigen Prozess  $QE_{total} = QE_1 \cdot QE_2 \cdot QE_3$  vorliegen zu haben, und  $QE_{plasmon}$  als das letzte Glied in der Kette der Prozesse anzusehen, eröffnet die Möglichkeit, aus den experimentellen Daten jene Effizienz zu extrahieren, mit der aus einem optisch generierten e-h-Paar ( $375 \text{ nm} \approx 3,3 \text{ eV}$ ) ein Plasmon erzeugt wird.

$$QE_{total} = QE_1 \cdot QE_2 \cdot QE_{plasmon} \quad \Leftrightarrow \quad QE_{total} / QE_{plasmon} = QE_1 \cdot QE_2 \quad (6.9)$$

Dieses Kapitel wird sich ausschließlich der Bestimmung von  $QE_2$  widmen. Abbildung 6.20 gibt eine Übersicht der bisher bestimmten Quanteneffizienzen (experimentell, als auch rechnerisch ermittelte). Das Quanteneffizienz  $QE_1 \cdot QE_2$  (rot) zeigt eine mit dem Radius des Nanopartikels kubisch fallende Quantenausbeute. Wir haben hier einen zum Volumen *reziproken* Effekt. Mit  $QE_3 = QE_{plasmon}$ , muss  $QE_2$  die Effizienz desjenigen Prozesses sein, mit der aus einem Elektron-Loch-Paar unter geeigneten Bedingungen ein Plasmon erzeugt wird. Dass nicht alle dazu in der Lage sind, wird sich am Ende in der Effizienz  $QE_1$  ausdrücken.

**Abb. 6.20** Aus der experimentell bestimmten Gesamteffizienz  $QE_{total}$  (blaue Messpunkte, siehe Abb. 6.12) und der nach der Mie-Theorie errechneten Effizienz  $QE_{plasmon}$  eines Plasmons, strahlend zu zerfallen (schwarze Linie, siehe Abb. 6.19), lässt sich die Effizienz  $QE_1 \cdot QE_2$  bestimmen, mit der ein e-h-Paar ein Plasmon generiert (schwarze Punkte). Die Effizienz fällt kubisch mit dem Partikelradius (rot, Ausgleichsgerade ohne Berücksichtigung des Messwertes für  $r = 1 \text{ nm}$ ). Die Fehlerbalken geben die Größendispersion der Nanopartikel von 15 % wieder.



Im vorliegenden Kapitel wird die Kopplung zwischen Interbandanregung und Partikelplasmon zunächst anhand von Polarisierungen phänomenologisch erklärt (a), schwenkt dann zur Modellbeschreibung von Shahbazyan et al., welches auf der Grundlage von Streuprozessen argumentiert (b), endet jedoch wieder mit der phänomenologischen Darstellung.

a) Es wird die Polarisierbarkeit eines Nanopartikels in Abhängigkeit des „Ortes“ der Anregequelle betrachtet. Die Plasmonoszillation repräsentiert eine, durch ein z.B. *äußeres elektrisches Feld* angetriebene, sich periodisch umkehrende Polarisation des Partikels und kann als Plasmondipol beschrieben werden. Die negativen Elektronen verschieben sich unter dem Einfluss des elektrischen Feldes gegen das positive Ionengitter (*Verschiebungspolarisation*). Die elektrische Polarisation  $\vec{P}$  ist über die Zahl  $N$  der elektrischen, induzierten Dipolmomente  $\vec{p}$  pro Einheitsvolumen  $V$  definiert, welche proportional zur Amplitude des einwirkenden Feldes  $\vec{E}$  sind (Orientierungspolarisation permanenter Dipole vernachlässigt). Sei das elektrische Feld des einfallenden Lasers eine ebene Welle  $\vec{E} = \vec{E}_0 \cdot \exp(i(k\vec{x} - \omega t))$  mit dem Amplitudenvektor  $\vec{E}_0$ . Die Nanopartikel seien derart klein, dass sie trotz der limitierten Eindringtiefe (*Skin-Effekt*)<sup>[331]</sup> in erster Ordnung homogen vom Feld durchdrungen werden. Dann ist in vereinfachter Darstellung:

$$\vec{P}(\vec{x}) = \frac{\vec{p} \cdot N}{V}, \quad \vec{P}(\vec{x}) \propto \vec{E}(\vec{x}) \quad (6.10)$$

Eine optische Anregung im Bereich der Interbandabsorption erzeugt e-h-Paare, also *Interbanddipole*. Das *elektrische Feld*  $\vec{E}_{dipol}$  des Interbanddipols  $\vec{p}$  am Orte  $\vec{x}_0$  fällt mit  $|\vec{x} - \vec{x}_0|^{-3}$  *innerhalb* des Nanopartikels ab ( $\vec{n}$  ist der Einheitsvektor von  $\vec{x}_0$  nach  $\vec{x}$ ):

$$\vec{E}_{dipol}(\vec{x}) = \frac{3\vec{n}(\vec{p}\vec{n}) - \vec{p}}{|\vec{x} - \vec{x}_0|^3} \quad (6.11)$$

Gleichung (6.10) und (6.11) sagen aus, dass der Wirkungsradius eines Interbanddipols, als Ursache für eine induzierte Ladungsverschiebung, welche von „innen heraus“ das Nanopartikel polarisiert, kubisch mit dem Abstand fällt:

$$\vec{P}(\vec{x}) \propto \vec{E}_{dipol}(\vec{x}) \propto 1/|\vec{x}|^3 \quad (6.12)$$

Es gilt zu klären inwieweit ein Interbanddipol unter geeigneten Bedingungen das Partikel polarisieren und dadurch einen Plasmondipol induzieren kann. Nach Gleichung (6.12) sollten kleinere Partikel leichter polarisiert werden als größere Partikel, da das Feld mit dem Abstand, also längs des Partikelradius, kubisch abfällt.

Die Betrachtungsweise ist simplifiziert, da sich Metalle durch eine Vielzahl quasifreier Leitungsbandelektronen auszeichnen. Der Interbanddipol ruft zwar eine Polarisation hervor, induziert aber auch eine unmittelbar einsetzende Abschirmbewegung der umgebenden Elektronen. Ist größeren Nanopartikeln, wird daher ein überwiegender Anteil der Partikelelektronen wegen der Ladungsabschirmung den Interbanddipol also gar nicht erst „spüren“. In kleinen Partikeln hingegen kann ein Großteil der Elektronen an der Abschirmbewegung des elektrischen Feld vom Interbanddipol beteiligt sind, was einer kollektiven Mode von Elektronen gleichkäme und die Grundlage für eine Plasmonschwingung darstellt.

b) Für die Berechnung der Quanteneffizienz der Plasmongeneration wird das Modell von Shahbazyan et al. verwendet <sup>[17, 332]</sup>. In diesem kann ein angeregtes d-Band-Loch das Partikel derart polarisieren, dass durch die resultierende Abschirmbewegung der Leitungsbandelektronen eine kollektive Elektronenoszillation hervorgerufen wird. Auf der Grundlage von Streuprozessen argumentiert, kann, sofern Energie- und K-Vektorerhaltung erfüllt sind, ein d-Bandloch bei Frequenzen nahe der Plasmonresonanz derart ins sp-Band streuen, dass seine Energie an das Plasmon abgegeben wird.

Das Grundkonzept des Modells basiert auf der Betrachtung des Elektron-Elektron-Wechselwirkungspotentials, welches durch die nahe Oberfläche bei kleinen Partikeln gestört wird. Das Coulombpotential  $U$  am Punkt  $\vec{x}$  innerhalb eines Nanopartikels erfährt durch seine Nachbarladung am Punkte  $\vec{x}'$  eine Abschirmung  $U_{screen}$  (analog wie in massiven Metallen). Zusätzlich muss bei Nanopartikeln ein weiterer Term  $U_{surface}$  berücksichtigt werden. Das Potential eines Elektrons  $e_1$  induziert kollektive Oberflächenmoden, welche als Spiegelladungen agieren und mit einem zweiten Elektron  $e_2$  wechselwirken. Das Coulombpotential zweier Ladungen  $U_{screen-total}$  erhält einen Zusatzterm, der von der Größe des Partikels abhängt.

$$U_{screen-total}(\vec{x}, \vec{x}', \omega, r) = U_{unscreen}(\vec{x}, \vec{x}') + U_{screen}(\vec{x}, \vec{x}', \omega) + U_{surface}(\vec{x}, \vec{x}', \omega, r) \quad (6.13)$$

Die Abhängigkeit kann auf zwei Arten erfasst werden. Entweder durch eine modifizierte dielektrische Funktion, die einen Interbandbeitrag  $\epsilon_d(\omega) \rightarrow \epsilon_d(\omega, r)$  enthält, welcher Spiegelladungseffekte mit berücksichtigt (in  $\Gamma$  ist  $\Gamma_{surface}$  bereits berücksichtigt, Gl. (2.12)):

$$\epsilon_{Au}(\omega, r) = \epsilon_d(\omega, r) - \frac{(\omega_{plasmon})^2}{\omega(\omega + i \cdot \Gamma(r))} \quad (6.14)$$

oder durch einen direkten Zusatzterm  $U_{surface}$  für das abgeschirmte Potential zweier Ladungen,

$$U_{surface}(\vec{x}, \vec{x}', \omega) = 3 \frac{e^2}{r} \frac{(\vec{x} \cdot \vec{x}')}{r^2} \frac{1}{\epsilon_{Au}(\omega) + 2\epsilon_{medium}} \quad (6.15)$$

mit der dielektrischen Funktion  $\epsilon_{Au}(\omega)$  des Goldpartikels. Der Faktor  $1/r$  resultiert vom Coulomb Potential, während  $1/r^2$  die Oberflächenabhängigkeit darstellt. Für genügend kleine Radien  $r$  wird das dynamisch abgeschirmte Potential  $U_{screen-total}$  von Gleichung (6.13) vom Frequenzverlauf der dielektrischen Funktion  $\epsilon_{Au}(\omega)$  dominiert.

Die Lochstreurate ins Leitungsband wird nach der Methode von Matsubara für Vielteilchensysteme berechnet. Kollisionen von Elektronen oder Elektron-Loch Anregungen, wie in diesem Falle die Lochstreuungen, können damit bestimmt werden. Dabei wird über die Imaginäranteile der Frequenzen von Propagatoren summiert, um Rückschlüsse auf die zugehörigen Anregungen zu erhalten. Für eine detaillierte Beschreibung sei auf die Literatur verwiesen <sup>[333, 334]</sup>.

Bei der Modellierung der Lochstreurate wird das d-Band als dispersionslos angenommen. Im Bereich des L-Punktes im k-Raum, ist dies eine akzeptable Approximation (Abb. 2.1). Es wird nur das Endergebnis unter Verwendung des Potentials (6.15) angeführt. Die Lochstreurate  $R_{d-Plasmon}$  in SI-Einheiten ergibt sich zu

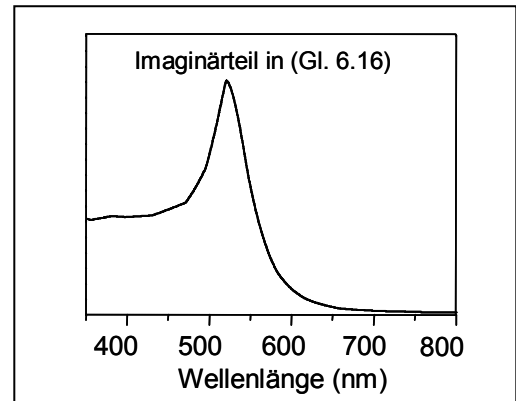
$$R_{d-plasmon}(\omega, E^c, r) = -\frac{\hbar^2}{4\pi\epsilon_0} \frac{1}{r^3} \frac{9}{m^*} \frac{\mu^2}{m^*} \frac{e^2}{(E^{cd})^2} \cdot f(E^c) \cdot \text{Im} \left( \frac{1}{\epsilon_{Au}(\omega) + 2\epsilon_m} \right) \quad (6.16)$$

wobei  $m^*$  die reduzierte Masse der Elektronen und  $\mu$  das Übergangsdipolmoment des Loches (von den d- ins sp-Leitungsband) ist. Die Energie  $E^{cd} = E^c - E^d$  ist der Abstand zwischen dem höchsten d-Band  $E^d$  und dem Leitungsband  $E^c$ . Die Interbandkante  $E^c$  liegt für Gold bei etwa  $2,4 \text{ eV}$ . Der Term  $f(E^c)$  ist die Fermiverteilung der Elektronen im Leitungsband für eine Partikeltemperatur  $T$  (Tab. 6.1):

$$f(E^c) = \left( e^{\frac{E^c - E^F}{k_B T}} + 1 \right)^{-1} \quad (6.17)$$

Für die dielektrische Funktion im Imaginärteil von Gleichung (6.16) wird auf die experimentellen Werte von Johnson und Christy zurückgegriffen [36]. Die dielektrische Konstante des umgebenden Mediums  $n_{medium}$  wird zu  $n^2 = \epsilon_m = 1,77$  als real und konstant angenommen. In Abbildung 6.21 ist das resonante Verhalten des Imaginärteils von Gleichung (6.16) gezeigt. Es entspricht der Resonanzbedingung nach Rayleigh und ist uns daher bereits in Abbildung 2.17 begegnet. Dort beschrieb es das resonante Verhalten des Energie-Transfers als Funktion der Emissionswellenlänge des Moleküls.

Kopplungseffizienzen, in der ein Partikelplasmon involviert ist, sei es wie hier, innerhalb des Partikels mit d-Bandlöchern oder außerhalb des Nanopartikels mit Molekülen (Kap. 2.3), werden stets durch die frequenzabhängige Polarisierbarkeit der Elektronen bestimmt.



**Abb. 6.21** Der Frequenzverlauf des Imaginärteils von Gleichung (6.16) ist identisch zur Extinktion des Partikels (Rayleigh, Abb. 2.17, Gl. 2.17). Für  $\epsilon(\omega)$  wurden die Werte von Johnson und Christy verwendet [36]. Die Rate, mit der ein d-Bandloch resonant ins sp-Band streut und ein Plasmon generiert, wird vom spektralen Verlauf der Plasmonresonanz dominiert.

Gleichung (6.16) illustriert die starke Abhängigkeit der Lochstreurate vom Radius des Nanopartikels. Das d-Loch streut unter Emission eines Plasmons ins Leitungsband. Für  $\hbar\omega \sim \hbar\omega_{plasmon} \sim E^{cd} \sim 2,4 \text{ eV}$  ( $\sim 520 \text{ nm}$ ) ist die Streuung resonant verstärkt, da auch hier die Polarisierbarkeit  $\alpha(\omega)$  des Partikels ein Maximum durchläuft. Die Streuwahrscheinlichkeit spiegelt also die Polarisierbarkeit des Partikels und damit die spektrale Form des Partikelplasmons wider (Abb. 6.21). Für Gold und für Kupfer fallen Interbandkante und Plasmonresonanz energetisch zusammen, die Lochstreurate ist in diesen Materialien recht stark ausgeprägt [318, 324].

Kehren wir kurz zu Gleichung (6.15) zurück, so sieht man das resonante Verhalten der Lochstreurate bereits im Rahmen der anfänglichen, phänomenologischen Argumentation eines induzierten Dipols ( $\epsilon_m$  sei vernachlässigt). Mit Gleichung (6.10) sowie  $r^3 \sim V$  und sei  $e \cdot r = p_{interband}$  ein Interbanddipol und  $e \cdot r' = p_{Au}$  ein Partikeldipol, ergibt sich für (6.15)

$$U_{dipol-dipol} \propto \frac{\vec{p}_{interband} \cdot \vec{p}_{Au}}{V} \cdot \frac{1}{\epsilon_{Au}(\omega)} \propto \vec{p}_{Au} \cdot \frac{\vec{p}_{interband}}{\epsilon_{Au}(\omega)} \stackrel{\hbar\omega \approx \hbar\omega_{plasmon}}{\approx} \vec{p}_{plasmon} \cdot \frac{\vec{p}_{interband}}{\epsilon_{Au}(\omega)} \quad (6.18)$$

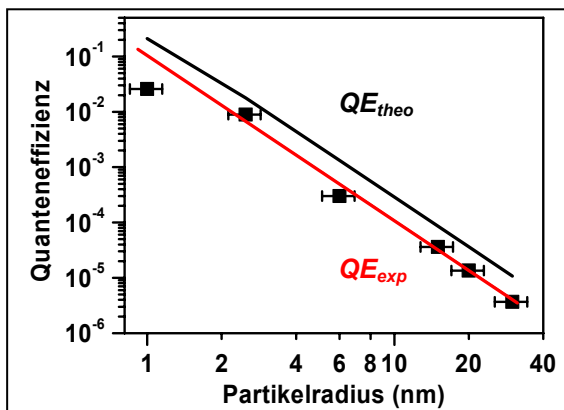


Dies ist das Wechselwirkungspotential zweier gekoppelter Dipole. Für  $\hbar\omega \sim \hbar\omega_{plasmon}$  ist die Polarisation des Partikels vom Plasmon dominiert, hier gilt  $P_{Au} \sim P_{plasmon}$ . Die dielektrische Funktion des Nanopartikels kann als ein *Verstärkungsfaktor* gesehen werden, welche die Kopplung zwischen Interbanddipol und Plasmondipol besonders effizient werden lässt, wenn eine Resonanzsituation vorliegt. Das wird dann geschehen, wenn die Energie des e-h-Paares und die energetische Lage der maximalen Polarisierbarkeit des Partikels gleich sind, also für  $\hbar\omega = \hbar\omega_{plasmon}$ . Es liegt damit ein Volumeneffekt vor (Polarisation innerhalb des Partikels).

Shahbazyan et al. hingegen argumentierten auf der Basis von Oberflächeneffekten (Ladungsdichtverschiebung an der Oberfläche = Fluss der Polarisation durch die Oberfläche). Mit Hilfe des Gaußschen Satzes lassen sich jedoch beide Betrachtungsweisen ineinander überführen.

In Abbildung 6.22 sind die, in der vorliegenden Arbeit, experimentell bestimmten Quanteneffizienzen der Emission (bereits korrigiert um  $QE_{plasmon}$ , Abb. 6.20) gegen die Modellvorhersagen als Funktion des Partikelradius aufgetragen. Um die theoretische Quantenausbeute  $QE_{d-plasmon}$  ( $= QE_{theo}$ ) zu bestimmen wird wieder  $QE = R_{rad} / (R_{rad} + R_{nonrad})$  nach Gleichung 2.2.3 verwendet. Die Lochstreureate  $R_{d-plasmon}$  entspricht dabei der strahlenden Rate  $R_{rad}$  und die nichtstrahlende Rate  $R_{nonrad}$  erfasst die Summe aller Prozesse, die  $R_{d-plasmon}$  konkurrierend entgegenwirken. Sie wird für die obersten d-Bänder zu  $(40fs)^{-1}$  angesetzt [296, 335].

In Kapitel 6.2.2 wurden die Quanteneffizienzen  $QE_{exp}$  mittels Integration über die experimentell gemessenen Emissionsspektren zwischen 470 - 620 nm und durch einen Vergleich mit Rhodamin 6G bestimmt. Die experimentellen Quanteneffizienzen geben also eine über den Frequenzbereich gemittelte Streurrate wieder. Das Modell liefert hingegen Lochstreuraten  $R_{d-plasmon} = R_{d-plasmon}(\omega)$  für diskrete Energiewerte  $\hbar\omega$ . Eine Vergleichbarkeit zwischen Modell und Experiment wird ermöglicht, indem für die jeweils partikelgrößenabhängigen Elektronentemperaturen die Rate  $R_{d-plasmon}$  in Abständen von  $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$  zwischen 470 - 620 nm (bzw.  $\Delta eV \sim 0,5 \text{ meV}$  zwischen 2,63 - 2 eV) berechnet und anschließend der Mittelwert bestimmt wird.



**Abb. 6.22** Vergleich der, nach Gleichung (6.16), berechneten Quanteneffizienz  $QE_{theo}$  (schwarze Linie) und der experimentell bestimmten  $QE_{exp}$  (siehe auch Abb. 6.20, schwarze Punkte) als Funktion des Partikelradius. Es liegt eine quantitative und qualitative Übereinstimmung vor. Die experimentellen Ergebnisse fallen annähernd kubisch ( $\sim 2,98$ ) mit dem Partikelradius (rote Linie). Die quantitative Abweichung ist etwa ein Faktor 5 und kann darauf zurückgeführt werden, dass nur ein Teil der generierten Löcher im d-Band geeignete Energie- und Impulswerte besitzen, um ein Plasmon zu generieren. Das Modell hingegen rechnet mit Löchern, die bereits optimale Energie- und Impulswerte haben.

$QE_{theo}$  als auch  $QE_{exp}$  zeigen eine mit der Partikelgröße kubisch fallende Quantenausbeute. Die quantitative sowie qualitative Übereinstimmung sind bemerkenswert. Die geringe Abweichung (etwa ein Faktor  $\sim 5$ ), mit der die experimentellen Ergebnisse unterhalb der berechneten liegen, kann darauf zurückgeführt werden, dass nur ein Teil der generierten Löcher im d-Band geeignete Energie- und Impulswerte besitzen, um ein Plasmon zu generieren. Das Modell hingegen rechnet mit Löchern, die bereits optimale Energie- und Impulswerte haben. 80 % aller generierten Löcher streuen demnach mittels anderer Streuprozesse ins Leitungsband, vermutlich via Auger- und Phononstreuung, und nur 20 % generieren ein Plasmon, d.h. mit einer Quanteneffizienz von  $QE_{d-d} = 0,2$ .



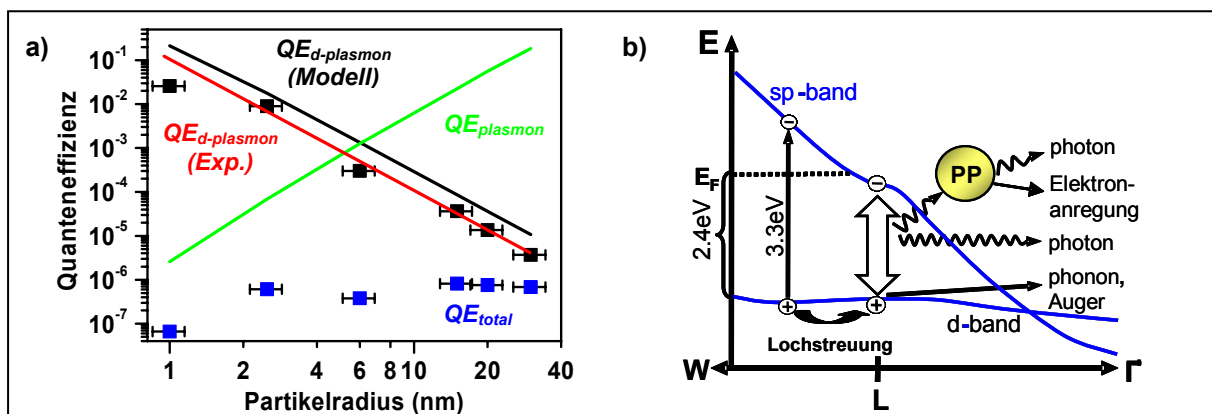
Anhand der vorliegenden, experimentellen Ergebnisse lässt sich die in Gleichung (6.9) definierte totale Quanteneffizienz als Produkt verschiedener Prozesse erklären, dessen Gesamteffizienz  $QE$  jene Effizienz beschreibt, mit der aus einem Elektron-Loch-Paar ein vom Plasmon emittiertes Photon wird:

$$QE_{total} = QE_1 \cdot QE_2 \cdot QE_3 \quad \Rightarrow \quad QE_{total} = QE_{d-d} \cdot QE_{d-plasmon} \cdot QE_{plasmon} \quad (6.19)$$

Es ist damit eine mikroskopische Beschreibung der verantwortlichen gekoppelten Prozesse gelungen:

- Durch eine optische Anregung der Nanopartikel im Interband werden Löcher generiert, von denen ein Teil durch Streuprozesse innerhalb des d-Bandes Energie- und Impulswerte erhalten, welche es erlauben an das Partikelplasmon zu koppeln. Die Ausbeute geeigneter Löcher  $QE_{d-d}$  liegt bei etwa 20 % und ist vom Radius des Partikels unabhängig.
- Die Effizienz  $QE_{d-plasmon}$ , der Lochstreuung ein Plasmon zu emittieren folgt dem Resonanzverlauf der Polarisierbarkeit des Partikelplasmons und fällt kubisch mit ansteigendem Partikelradius.
- Nach der Mie-Theorie steigt jedoch die Quanteneffizienz  $QE_{plasmon}$  der generierten Plasmonoszillation strahlend zu zerfallen wiederum kubisch mit dem Partikelradius.

Abbildung 6.26 a) gibt eine Übersicht der verschiedenen gemessenen und berechneten Quanteneffizienzen. Es sind neben der Gesamteffizienz auch die Einzelprozesse  $QE_{d-plasmon}$  und  $QE_{plasmon}$  dargestellt. Abbildung 6.26 b) zeigt noch schematisch ein Dispersionsdiagramm von der Gold-Bandstruktur in der Nähe des L-Symmetriepunktes der Brillouin-Zone. Da sich dort Fermikante und sp-Band schneiden, findet die Lochstreuung vornehmlich hier statt.



**Abb. 6.26** a) Quanteneffizienzen als Funktion des Partikelradius. Blau: experimentell gemessene Gesamteffizienz  $QE_{total}$ , Grün:  $QE_{plasmon}$ , die Effizienz eines Plasmons strahlend zu zerfallen (Mie-Theorie), schwarze Linie:  $QE_{d-plasmon}$ , die Effizienz eines d-Bandloches ein Plasmon zu generieren (Shabhazyan-Modell), schwarze Punkte: gemessene Gesamteffizienz  $QE_{total}$  dividiert durch  $QE_{plasmon}$ , Rot: Ausgleichsgerade, die kubisch mit dem Partikelradius abfällt. b) schematische Darstellung von d-sp-Band Anregungen und anschließender Lochstreuung in der Nähe des L-Punktes. Direkte strahlende Rekombination (Mooradian) oder Generation einer Plasmonschwingung (PP), mit anschließendem strahlendem oder nichtstrahlendem Zerfall (Landau-Prozesse).

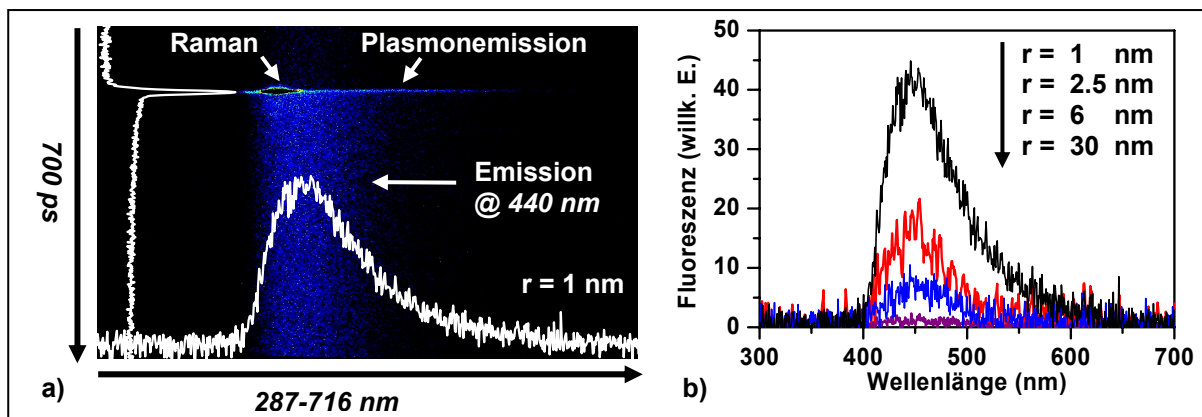
## 6.4 Oberflächeninduzierte Fluoreszenz aus Gold Nanopartikeln

Im diesem Unterkapitel wird eine mögliche Erklärung diskutiert, weswegen die kleinsten Gold Nanopartikel mit Radius  $r = 1 \text{ nm}$  bezüglich ihrer gemessenen QE von der kubischen Radiusabhängigkeit abweichen. Je kleiner ein Nanopartikel ist, umso dominanter ist die Oberfläche in Streu- und Anregungsprozessen beteiligt. So befinden sich in einem  $r = 2,5 \text{ nm}$  Gold Nanopartikel bereits  $\sim 25 \%$  aller Atome an der Oberfläche, bzw.  $\sim 50 \%$  sind maximal ein Atom von der Oberfläche entfernt. Wie in Kapitel 2.1.3 diskutiert, erfahren die an der Plasmonoszillation beteiligten Elektronen damit eine zusätzliche Dämpfung.

Neben der Partikelgröße sind die optischen Eigenschaften *kleiner* Partikel auch von der Oberflächenbeschaffenheit (z.B. rauh oder glatt) sowie der chemischen Natur der Stabilisatoren (z.B. positiv oder negativ geladen) stark beeinflusst. So haben bei Halbleiterpartikeln aus der II-VI-Gruppe die Oberflächenzustände einen maßgeblichen Einfluss auf die Quanteneffizienz der Fluoreszenz<sup>[336]</sup>. In kleinen Partikeln ist also die Ausbildung zusätzlicher Oberflächenzustände möglich, die es einer Anregung ermöglichen, über neue strahlende oder nichtstrahlende Zerfallskanäle zu relaxieren.

### 6.4.1 Experimentelle Ergebnisse

Neben der Plasmonemission zeigt sich in den durchgeführten Messungen für kleinere Partikel mit Radius  $r < 6 \text{ nm}$  eine weitere Fluoreszenz mit einem Maximum bei  $\sim 440 \text{ nm}$ . Abbildung 6.23 a) zeigt die experimentellen Messungen mit der Streak Kamera an Nanopartikeln mit Radius  $r = 1 \text{ nm}$ . Die Plasmonemission, zusammen mit der Ramanbande ( $\sim 430 \text{ nm}$ ), sind zeitlich nicht auflösbar. Im Vergleich zur Abbildung 6.2 (Nanopartikel mit  $r = 30 \text{ nm}$ ) existiert eine weitere Zerfallskomponente mit einer Lebensdauer von mehreren Nanosekunden. Abbildung 6.23 b) zeigt die zeitlich integrierten Fluoreszenzspektren über die ersten  $600 \text{ ps}$  für die Partikelgrößen  $r = 1, 2.5, 6$  und  $30 \text{ nm}$ . Mit ansteigender Partikelgröße nimmt die Fluoreszenzintensität ab.



**Abb. 6.23** a) Das Emissionsspektrum von reinen Gold Nanopartikeln in wässriger Lösung. Der Radius der Partikel ist  $1 \text{ nm}$ . Neben der Emission ( $\text{Max.} \sim 525 \text{ nm}$ ), welche vom strahlenden Zerfall des Partikelplasmons stammt, und der gleichzeitig auftretenden Ramanbande bei  $\sim 430 \text{ nm}$  existiert eine langlebige Fluoreszenz mit Maximum bei  $\sim 440 \text{ nm}$  und einer Zerfallsdauer von mehreren Nanosekunden. b) Fluoreszenzspektren der langlebigen Emission von Partikeln mit  $r = 1, 2.5, 6$  und  $30 \text{ nm}$  (zeitintegriert über die ersten  $600 \text{ ps}$ , unmittelbar nach der Plasmonemission und Ramanbande beginnend). Je größer die Nanopartikel, umso schwächer wird die Fluoreszenzintensität.

Die mit dem TCSPC-Detektor (Kap. 3.2.2) gemessenen Lebensdauern nehmen für die drei kleinsten Nanopartikel ( $r = 1, 2.5$  und  $6 \text{ nm}$ ) mit ansteigendem Radius ab ( $7 \text{ ns}, 6 \text{ ns}, 4,3 \text{ ns}$ , nicht gezeigt). Analog zu Kapitel 6.2.2 kann die Quantenausbeute  $QE_{440\text{nm}}$  der Fluoreszenz, anhand der Lebensdauer und der Fluoreszenzleistung bei  $t = 0$  bestimmt werden.

### 6.4.2 Diskussion

Abbildung 6.24 zeigt in doppelt-logarithmischer Darstellung  $QE_{440nm}$  als Funktion der Partikelgröße. Obwohl  $QE_{440nm}$  höher ist als  $QE_{total}$  der ultraschnellen Fluoreszenz des Partikelplasmons (vgl. Abb. 6.20), kann die Quanteneffizienz für Radien  $r > 6 \text{ nm}$  nicht mehr bestimmt werden. Wie eben in Abbildung (6.23) dargestellt, unterscheidet sich die zeitintegrierte Fluoreszenz der  $r = 30 \text{ nm}$  schon kaum mehr von der Abszisse. In zeitaufgelösten Messungen verteilen sich diese wenigen emittierten Photonen auf der Zeitachse derart, dass die Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer nur noch mit sehr großem Fehler behaftet ist. Eine extrem schwache Fluoreszenz ist bei den sehr großen Nanopartikeln vermutlich ebenfalls vorhanden. Die Quanteneffizienz  $QE_{440nm}$  der drei kleinsten Partikelsorten nimmt reziprok zum Radius ab:

$$QE_{440nm} \propto 1/r \quad (6.20)$$

Dieses Verhalten ist uns bereits in Gleichung (2.14) bei der Oberflächenstreuung der Elektronen begegnet. Es spiegelt das Verhältnis von Oberfläche zum Volumen wider. Die Emission stammt daher vermutlich von Zuständen, die mit der Oberfläche des Nanopartikel korreliert sind. Gitterfehler, wie fehlende Atome oder Oberflächenrauigkeiten sind mögliche Ursachen. Durch derartige Störstellen kommt es zur Ausbildung (quasi)-erlaubter elektronischer Zustände mit neuen Absorptions- und Emissionsbanden [61]. Von den optisch angeregten Ladungsträgern könnte damit ein Teil in Oberflächenzustände eingefangen werden. Es ist jedoch nicht ganz klar, ob diese Zustände für Löcher oder Elektronen gelten.

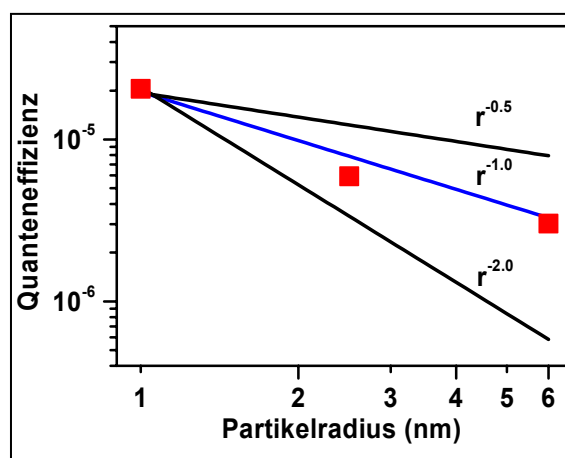


Abb. 6.24 Die Quanteneffizienz  $QE_{440nm}$  (rot) fällt reziprok zum Partikelradius (blau) und deutet damit auf elektronische strahlende Zustände, welche stark von der Partikeloberfläche abhängen.

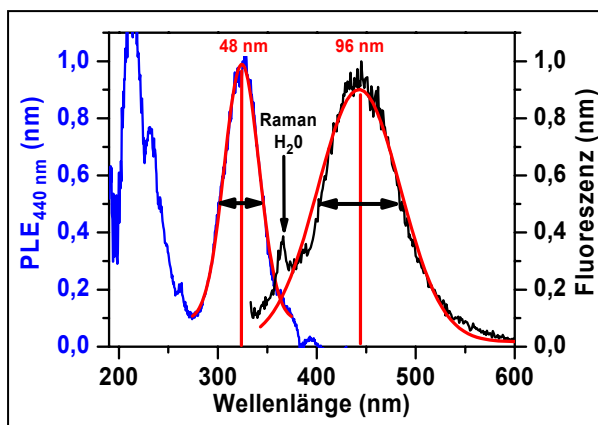


Abb. 6.25 Das Anregungs- und Emissionsspektrum der UV-Emission. Die Banden sind relativ breit und lassen sich mit einer Gaußschen Verteilung beschreiben. Dies deutet auf eine starke Ladungs-Phonon-Kopplung.

In Abbildung 6.25 wird das Anregungsspektrum (PLE, Detektion  $440 \text{ nm}$ ) gegen das Emissionsspektrum (Anregung bei  $325 \text{ nm}$ ) verglichen. Die Stärke und Breite der Absorptions- und Emissionsbanden von Störstellen hängt von der Anzahl der Störstellen und der Stärke der Elektron- bzw. Loch-Phonon-Wechselwirkung ab. Bei recht starker Wechselwirkung ergeben sich breite Banden, deren spektrale Form meist gut durch eine Gaußsche Verteilung approximiert werden kann [337]. Die Gaußsche Verteilung in Abbildung 6.25 reproduziert die gemessenen Banden recht gut. Dies deutet auf eine starke Phononkopplung hin.

Für die ultraschnelle Plasmonemission bedeutet dies einen, mit abnehmender Nanopartikelgröße stärker werdenden, Konkurrenzprozess. Anstatt ein Plasmon zu generieren könnte ein Teil der Löcher oder Elektronen in Oberflächenzuständen zurückbleiben. Das wäre eine mögliche Erklärung für die

Abweichung der Quanteneffizienz von einer kubischen Abhängigkeit der kleinsten Partikelsorte in Abbildung 6.22. Die Vermutung wird durch Ergebnisse von Wilcoxon et al. unterstützt <sup>[301]</sup>. Von der Partikeloberfläche gestörte d-sp-Band Übergänge werden als Ursache für die Fluoreszenz in Betracht gezogen. So wurde an Partikeln mit  $r < 7,5 \text{ nm}$  Radius ebenfalls eine Emission im blauen Spektralbereich bei  $\sim 440 \text{ nm}$  detektiert. Qualitativ konnte gezeigt werden, dass die Partikelgröße und dessen Oberfläche die Emission stark beeinflussen. Größere Partikel, welche keine Emission aufwiesen wurden durch KCN (Kaliumcyanid) oxidiert. Dieses Ätzverfahren löst die atomaren Bindungen im Goldpartikel, kleinere Goldcluster entstehen. Simultan durchgeführte Fluoreszenzmessungen zeigten mit fortschreitender Ätzung eine einsetzende und stärker werdende Fluoreszenz bei  $\sim 440 \text{ nm}$ .

Zusätzlich wurde, je nach Synthesemethode (in wässriger oder öliger Lösung) und verwendeten Oberflächenstabilisatoren (Natriumzitrato, Thiole oder Amine) eine spektrale Verschiebung der Fluoreszenz gefunden. Die verantwortlichen Emissionszustände müssen damit sehr nahe an der Oberfläche lokalisiert sein. Die  $QE_{440 \text{ nm}}$  wurde auf  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  geschätzt.

Die Emission wurde auch an amidoamin-stabilisierten  $Au_8$  Gold-Clustern (nur 8 Atome) detektiert <sup>[338]</sup>. Die Quanteneffizienz der Emission bei  $\sim 450 \text{ nm}$  betrug 41 %! Als Erklärung wurden hier jedoch diskrete Energiezustände diskutiert, welche analog zu Halbleiter-Partikeln <sup>[339]</sup>, für genügend kleine Partikel in den Bändern entstehen. Die Emission sollte daher mit immer kleiner werdendem Radius ins bläuliche schieben. Die partikelgrößenabhängige Ausbildung solcher diskreten Energieniveaus durch die drei-dimensionale Einschränkung (*quantum confinement effekt*) mag zwar für *Cluster* gelten, kann aber durch die vorliegenden Daten an *Nanopartikeln* nicht bestätigt werden (Abb. 6.23 b).

## 7 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Fluoreszenz von Hybridsystemen aus Gold Nanopartikeln und Farbstoffen zeitlich und spektral aufgelöst untersucht. Hierzu wurde eine Streak Kamera verwendet, welche eine Zeitauflösung von  $2\text{ ps}$  erreicht. Neben einer ultraschnellen Fluoreszenzemission, welche direkt von den Gold Nanopartikeln stammt, wurde insbesondere die dipolinduzierte Auslöschung der Fluoreszenz von Farbstoffen, welche auf der Partikeloberfläche chemisch gebunden sind, als Funktion der Partikelgröße und des Molekülabstandes untersucht. Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden noch mal kurz zusammengefasst.

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit bestand in der systematischen Untersuchung, inwieweit sich die Fluoreszenzauslöschung als Funktion der Partikelgröße oder des Molekülabstandes zum Partikel ändert. Hierzu wurden für drei verschiedene Farbstoffe Serien von Hybridsystemen hergestellt, in denen stets nur ein Parameter, nämlich die Nanopartikelgröße oder der Abstand des Farbstoffes, systematisch über eine Größenordnung geändert wird. Für die Synthese der Hybridsysteme mit verschiedenen Farbstoffabständen wurden dazu Kohlenstoffketten für kurze und DNA-Stränge für lange Abstände eingesetzt (Kapitel 4).

Die experimentell bestimmten Transienten der Hybridsysteme zeigen, dass bereits die kleinsten Nanopartikel mit einem Radius von nur  $1\text{ nm}$  die Quanteneffizienz bei einem Farbstoffabstand von  $1\text{ nm}$  um  $99,8\%$  verringern können (Kapitel 5.1). Des Weiteren wird nachgewiesen, dass die Quanteneffizienz der Farbstoffe sogar bis zu Abständen von  $16\text{ nm}$  noch um über  $50\%$  gesenkt ist (Kapitel 5.2). Eine derart hohe Auslöschungseffizienz wird in Energie-Transfer Systemen, welche nur aus organischen Farbstoffen bestehen, nicht erreicht. Gold Nanopartikel sind damit in der Tat viel versprechende Energieakzeptoren für eine zukünftige Generation von Nanosensoren.

In dieser Arbeit kann zum ersten Mal die Ursache der effizienten Fluoreszenzauslöschung durch Gold Nanopartikel anhand der experimentellen Bestimmung der strahlenden und nichtstrahlenden Zerfallskanäle des Hybridsystems nachgewiesen werden. Sie resultiert aus einem strahlungslosen Energie-Transfer zum Partikel und einer gleichzeitigen Absenkung der strahlenden Rate des Farbstoffs.

Die experimentell ermittelten strahlenden und nichtstrahlenden Raten der Hybridsysteme werden mit Modellrechnungen nach Gersten und Nitzan verglichen. Es zeigt sich, dass bei konstantem Molekülabstand, aber unterschiedlichen Partikelgrößen, eine qualitative Übereinstimmung der Messergebnisse mit den Modellvorhersagen vorliegt, die absoluten Energie-Transfer Raten sich jedoch um zwei Größenordnungen unterscheiden. Die Abweichung von den experimentellen Ergebnissen wird auf das Vorhandensein nichtlokaler Effekte zurückgeführt, welche im Modell nicht berücksichtigt, aber von aufwendigeren Modellierungen vorhergesagt werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern einen wichtigen Beitrag zur seit langem debattierten Frage, ob überhaupt und in welchem Maße nicht-lokale Effekte einen Energie-Transfer zum Gold Nanopartikel beeinflussen <sup>[340]</sup>.

Bereits ohne oberflächengebundene Farbstoffe zeigen die experimentellen Ergebnisse eine Photonenemission aus Gold Nanopartikeln (Kapitel 6). Die Emission ist in ihrer spektralen Form der Plasmonresonanz sehr ähnlich und weist ebenfalls eine mit zunehmender Partikelgröße charakteristische Rotverschiebung auf. Gold Nanopartikel mit Radien von  $1 - 30 \text{ nm}$  zeigen, dass die Quanteneffizienz der Emission unabhängig von der Partikelgröße ist. Die quantitative sehr gute Übereinstimmung der Messergebnisse mit Modellrechnungen nach Shabhazyan et al. erlaubt zum ersten Mal eine mikroskopische Erklärung der verantwortlichen physikalischen Prozesse für die beobachtete Fluoreszenz. Sie wird als der strahlende Zerfall eines Partikelplasmons identifiziert: In den Gold Nanopartikeln rekombinieren optisch generierte d-Bandlücken strahlungslos mit sp-Bandelektronen und emittieren dabei ein Partikelplasmon. Die Rate der Plasmonemission sinkt mit dem Volumen des Nanopartikels. Die Wahrscheinlichkeit dieser generierten Plasmonoszillation, strahlend via Photonenemission zu zerfallen, steigt wiederum mit dem Partikelvolumen. Die Quanteneffizienz des gesamten Prozesses ist daher unabhängig von der Partikelgröße. Sie ist um vier Größenordnungen über derjenigen einer direkten Aussendung eines Photons durch Rekombination von d-Bandlücken mit sp-Bandelektronen an Goldfilmen. Der Grund liegt in der weitaus stärkeren Polarisierbarkeit und entsprechend höheren strahlenden Rate des Partikelplasmons gegenüber einzelnen Elektron-Loch Paaren.

Um ein tieferes physikalisches Verständnis für die Fluoreszenzauslöschung von Farbstoffen durch die unmittelbare Nähe von Gold Nanopartikeln zu erhalten, sollten die noch ausstehenden Parameter wie die Orientierung des molekularen Dipolmomentes relativ zur Partikeloberfläche oder die Abhängigkeit der Fluoreszenzauslöschung vom spektralen Überlapp zwischen Farbstoffemission und Plasmonabsorption in einer definierten Serie von Hybridsystemen, analog zu der in dieser Arbeit vorgestellten Partikelgrößen- und Molekülabstandsserien, durchgeführt werden.

Liegt eine derartige „Matrix“ an experimentellen Ergebnissen vor und sind diese im Einklang mit Modellrechnungen, ist das Hybridsystem endgültig verstanden. Darauf aufbauend kann eine neue Generation von Nanosensoren entwickelt werden, welche z.B. als Abstandssensoren auf der Nanometerskala, zum Nachweis von Proteinfaltungen auf Distanzen bis zu  $20 \text{ nm}$  oder zur molekularen Erkennung von einzelnen Defekten an DNA-Strängen, eingesetzt werden könnte. Die vorliegende Arbeit liefert die ersten systematischen, experimentellen Ergebnisse, um die Matrix aufzufüllen.

## 8 Anhang

### A Numerische Berechnung nach Gersten/Nitzan in Mathematika

$\lambda_{Em}=663;$  (nm)  
 $\tau_{radfree}=5.56*10^{(-9)};$  (sec)  
 $radiusparticle=6.0*10^{(-7)};$  (cm)  
 $distanceparticle=16*10^{(-7)};$  (cm)  
 $Yield=1;$  (always 1)  
 $em=1.7689;$  (surrounding medium)

---

$\epsilon_{Au}fromeV[w\_]$   
 $:= 5222.89361-21709.67407*w+ \backslash 38087.00036*w^2-37588.35430*w^3+ 23121.14990*w^4-$   
 $9216.91166*w^5+ 2385.83431*w^6-387.42356*w^7+ 35.87699*w^8-1.44609*w^9+$   
 $i (-558.27355+ 2888.04152*w-6122.57020*w^2+7155.78252*w^3-5131.09093*w^4+$   
 $2352.05993*w^5-691.32786*w^6+125.98511*w^7-12.95343 w^8+0.57414*w^9)$

$N_{Au}[w\_]:=Sqrt[eAu[w]]$   
 $vfromeV[x\_]=x*2.4180*10^{(14)};$   
 $\omega fromeV[x\_]=2*Pi*x*2.4180*10^{(14)};$   
 $eVfromnm[x\_]=(100/x)*12.41;$   
 $vfromnm[x\_]=N[3000000000000000*100/x];$   
 $\omega fromnm[x\_]=N[2*Pi*3000000000000000*100/x];$   
 $\Gamma from\tau[x\_]=1/x;$

---

$c=3*10^{10};$   
 $hQuer=1.0546*10^{(-27)};$   
 $\mu from\Gamma and\omega[r\_,\omega\_]=Sqrt[3]*c^{(3/2)}*Sqrt[hQuer]*Sqrt[r]/\omega^{(3/2)};$   
 $a0=5.2918*10^{(-9)};$   
 $el=4.80324*10^{(-10)};$   
 $\mu ineanda0[r\_,\omega\_]=\mu from\Gamma and\omega[r,\omega]/(a0*el);$   
 $\alpha from\Gamma and\omega[r\_,\omega\_]=3*r*c^3/(2*\omega^4);$   
 $\mu0\mu0=\mu from\Gamma and\omega[\Gamma from\tau[\tau radfree],\omega fromnm[\lambda_{Em}]];$   
 $\alpha\alpha=\alpha from\Gamma and\omega[\Gamma from\tau[\tau radfree],\omega fromnm[\lambda_{Em}]];$   
 $\omega\omega=\omega fromnm[\lambda_{Em}];$   
 $aa=radiusparticle;$   
 $\epsilon\epsilon=\epsilon_{Au}fromeV[eVfromnm[\lambda_{Em}]];$   
 $dd=distanceparticle;$   
 $\Gamma radfree=\Gamma from\tau[\tau radfree];$   
 $\Gamma nrM=\Gamma from\tau[\tau radfree] (1/yield -1);$

---

$\Delta S[\alpha\_ ,a\_ ,d\_ ,\epsilon\_ ]=\alpha/(a+d)^3 Sum[((\epsilon-em) (n+1)^2 (a/(a+d))^{(2n+1)})/(\epsilon+((n+1)/n)*em),\{n,100\}];$   
 $\Delta P[\alpha\_ ,a\_ ,d\_ ,\epsilon\_ ]=\alpha/(2 a^3) Sum[n (n+1) (\epsilon-em)/(\epsilon+((n+1)/n)*em) (a/(a+d))^{(2n+4)},\{n,100\}];$   
 $\Gamma rS[\mu0\_ ,\alpha\_ ,\omega\_ ,a\_ ,\epsilon\_ ,d\_ ]=(\omega^3 Abs[\mu0]^2) / (3 hQuer c^3 Abs[1-\Delta S[\alpha,a,d,\epsilon]]^2)$   
 $Abs[1+ 2 (a/(a+d))^3 (\epsilon-em)/(\epsilon+2em) ]^2;$

---


$$\begin{aligned} \Gamma rP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= (\omega^3 \text{Abs}[\mu_0]^2) / (3 \text{hQuer } c^3 \text{Abs}[1-\Delta P[\alpha, a, d, \varepsilon]]^2) \\ &\text{Abs}[1-((\varepsilon-em)/(\varepsilon+2em))(a/(a+d))^3]^2; \\ \Gamma nrS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= -( \text{Abs}[\mu_0]^2 / (2 \text{hQuer } a^3 \text{Abs}[1-\Delta S[\alpha, a, d, \varepsilon]]^2) ) \\ &\text{Sum}[(2n+1) ((n+1)^2/n) \text{Im}[em/(\varepsilon+((n+1)/n)em)] (a/(a+d))^{(2n+4)}, \{n, 100\}]; \\ \Gamma nrP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= -( \text{Abs}[\mu_0]^2 / (4 \text{hQuer } a^3 \text{Abs}[1-\Delta P[\alpha, a, d, \varepsilon]]^2) ) \\ &\text{Sum}[(2n+1) (n+1) \text{Im}[em/(\varepsilon+((n+1)/n)em)] (a/(a+d))^{(2n+4)}, \{n, 100\}]; \\ \Gamma S[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= \Gamma rS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrM; \\ \Gamma P[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= \Gamma rP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrM; \\ \Gamma YS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= \Gamma rS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / (\Gamma rS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrM); \\ \Gamma YP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] &= \Gamma rP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / (\Gamma rP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] + \Gamma nrM); \end{aligned}$$


---

*startd*=10<sup>(-8)</sup>;

*endd*=1\*10<sup>(-5)</sup>;

*di*=N[(-*startd*+*endd*)/1000];

*SetDirectory*["D:\public\Maindata\Eric\PHD\Data-Math"];

*Export*["rad-nonrad-total-QE-forPerp.dat",  
*Transpose*[{*Table*[*d*\*10<sup>7</sup>, {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma rS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma nrS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma S[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma YS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}], "table"]  
*rad-nonrad-total-QE-forPerp.dat*

*Export*["rad-nonrad-total-QE-forParallel.dat",  
*Transpose*[{*Table*[*d*\*10<sup>7</sup>, {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma rP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma nrP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma P[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma YP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d]$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}], "table"]  
*rad-nonrad-total-QE-forParallel.dat*

*Export*["rad-nonrad-total-QE-forPerp-norm.dat",  
*Transpose*[{*Table*[*d*\*10<sup>7</sup>, {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma rS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma nrS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma S[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma YS[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}], "table"]  
*rad-nonrad-total-QE-forPerp-norm.dat*

*Export*["rad-nonrad-total-QE-forParallel-norm.dat",  
*Transpose*[{*Table*[*d*\*10<sup>7</sup>, {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma rP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma nrP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma P[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}],  
*Table*[*Evaluate*[ $\Gamma YP[\mu_0, \alpha, \omega, a, \varepsilon, d] / \Gamma radfree$ ], {*d*, *startd*, *endd*, *di*}], "table"]  
*rad-nonrad-total-QE-forParallel-norm.dat*



## B Homotransfer und Dimerbildung

Werden Farbstoffe, wie in den Hybridsystemen, auf der Partikeloberfläche dicht gepackt aufgebracht, entspricht dies einer lokal hohen Konzentration. Intramolekulare Wechselwirkungen sind dann nicht mehr auszuschließen. Im Folgenden wird auf zwei Arten möglicher Interaktionen eingegangen, um mögliche Änderungen der optischen Eigenschaften der Farbstoffe, welche *nicht* durch einen Energie-Transfer zum Gold hervorgerufen werden, zu berücksichtigen.

### 1) Homotransfer

Försters Modell des Energie-Transfers zwischen Farbstoffen (Kapitel 2.3) gilt in gleicher Weise, falls Donor und Akzeptor identische Moleküle sind. Die Kopplungsstärke ist auch in diesem Fall eine Funktion des gegenseitigen Abstands, der gegenseitigen Orientierung und des spektralen Überlapp der Moleküle. Im Gegensatz zum Heterotransfer (Donor und Akzeptor sind verschiedenartige Moleküle) wird der Energie-Transfer zwischen *identischen* Molekülen als *Homotransfer*, *emFRET* (*engl. em = energy migration*), bezeichnet <sup>[128]</sup>. Wie aus den Spektren der verwendeten Farbstoffe (LISS, TAMRA und CY5) ersichtlich wird, überlappen aufgrund der geringen Stokesverschiebung die Emissions- und Absorptionsbanden leicht miteinander (Kapitel 4.3.2). Damit könnte z.B. ein angeregtes LISS Molekül (Nr.1) seine Energie an seinen Nachbarn (LISS, Nr.2) übertragen.

Das Fluoreszenzspektrum sowie die gemeinsame Lebensdauer der beiden Farbstoffe, bleiben beim Homotransfer *unverändert* <sup>[132, 135, 341-344]</sup>, und sind somit von einem einzelnen freien Farbstoff nicht zu unterscheiden. Der Grund findet sich darin, dass Donor und Akzeptor hinsichtlich ihrer chemischen Struktur, den intrinsischen strahlenden und nichtstrahlenden Zerfallskanälen sowie den Absorptions- und Emissionsspektren absolut identisch sind. Sie sind ununterscheidbar.

Da der Akzeptor über den Energie-Transfer quasi vom Donor „gespeist“ wird, ist das Maß der Lebensdauerverkürzung des Donors identisch zur Lebensdauererlängerung des Akzeptors, denn die Amplitude der exponentiell abklingenden Donorfluoreszenz entspricht zu jedem beliebigem Zeitpunkt genau der Startamplitude der Akzeptorfluoreszenz nach einem Energie-Transfer. Die Fluoreszenz wird also einfach unverändert auf dem Nachbarn fortgeführt. Der Prozess wird deswegen oft nur als Energieabwanderung (*engl. energy migration*) bezeichnet.

Eine Darstellung der Raten illustriert diesen Sachverhalt.  $N$  sei die Zahl der Anregungen, der Farbstoff mit  $QE = 100\%$ ,  $R_{ET}$  die Energie-Transferrate und  $R_{RAD}$  die intrinsische strahlende Rate. Index  $A$  und  $D$  stehen für Donor und Akzeptor, wobei dies eigentlich irrelevant ist, da, wie bereits erwähnt, die Farbstoffe ununterscheidbar sind. Die zeitliche Änderung der Raten lässt sich analog zu Kapitel 2.2.3 wie folgt beschreiben <sup>[345]</sup>:

$$\text{Donor:} \quad \frac{dN_D}{dt} = -N_D(t) \cdot R_{RAD} - N_D(t) \cdot R_{ET} \quad (\text{B1})$$

$$\text{Akzeptor:} \quad \frac{dN_A}{dt} = -N_A(t) \cdot R_{RAD} + N_D(t) \cdot R_{ET} \quad (\text{B2})$$

mit den Anfangsbedingungen  $N_D(0) = 1$  und  $N_A(0) = 0$ . Wenn ein Homotransfersystem zeitlaufgelöst nicht von einem freien Molekül unterscheidbar ist, dann muss die Summe obiger Ratengleichungen die gleiche Zerfallsrate besitzen, wie die eines ungestörten Farbstoffes  $R_{RAD}$ .

Sei also z.B. nur eine einzige Anregung im System, die sich entweder noch beim Donor befindet oder bereits auf den Akzeptor transferiert wurde. Werden B1 und B2 summiert, so ergibt sich:

$$\frac{dN_A}{dt} + \frac{dN_D}{dt} = -R_{RAD} \cdot (N_A(t) + N_D(t)) + N_D(t) \cdot (R_{ET} - R_{ET}) = -R_{RAD} \quad (\text{B3})$$

In der Literatur wird fälschlicherweise zuweilen der Begriff *Fluoreszenzselbstausschöpfung* für den Homotransfer verwendet. Dies ist irreführend, da sich beim Homotransfer weder die Intensität, noch die Lebensdauer ändert. Bei der Fluoreszenzselbstausschöpfung ist vielmehr eine konzentrationsbedingte Fluoreszenzlöschung aufgrund von Dimerbildung gemeint.

## 2) Dimerbildung

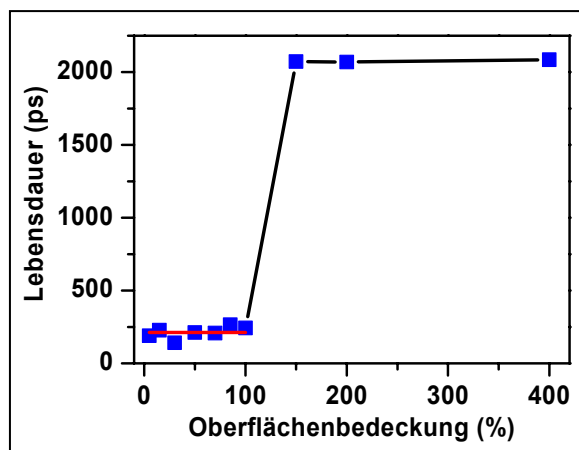
Einzelne Farbstoffe (Monomere) können sich bei hohen Konzentrationen zu Dimeren zusammenschließen<sup>[346, 347]</sup>. In den meisten Fällen bildet sich ein nicht-fluoreszierendes Assoziat, welches dann als dunkler Akzeptor agiert<sup>[348]</sup>. Umliegende Monomere erleiden daraufhin einen strahlungslosen Energie-Transfer zum Dimer. Da nun tatsächlich zwei Spezies vorliegen, ändert sich in diesem Fall die Fluoreszenzintensität und Lebensdauer der Monomere. Das Entstehen von Dimeren ist meistens mit der Ausbildung neuer Absorptionsbanden verbunden<sup>[349, 350]</sup>. So konnte unter anderem auch an Rhodamin B eine Abschwächung der Fluoreszenz mit wachsender Konzentration nachgewiesen werden<sup>[272]</sup>.

Es ist anzunehmen, dass sich die Farbstoffe auf der Oberfläche des Nanopartikels nicht homogen verteilen, sondern sich Regionen mit lokal höherer Packungsdichte und andere mit geringerer Dichte ausbilden werden. Die Bereiche hoher Packungsdichten könnten im Prinzip wieder die Ausbildung von Dimeren favorisieren. T. Förster konnte aber bereits feststellen, dass „*bei absorptionsfähigen Molekülen, die an definierten Stellen fest lokalisiert sind, eine Fluoreszenzlöschung über Ausbildung von Assoziaten ausbleiben sollte*“<sup>[3]</sup>. Alle in dieser Arbeit verwendeten Farbstoffe besitzen stark bindende Schwefelgruppen als Anker, welche für eine Lokalisierung der Farbstoffe verantwortlich sind. Aufgrund der hohen Bindungsenergie werden die Moleküle daher bevorzugt mit der Goldoberfläche anstelle mit ihren Nachbarn reagieren. Um die Wahrscheinlichkeit einer Dimerbildung weiter zu minimieren, wurden in allen Hybridsystemen die Farbstoffkonzentrationen auf eine 50 % Oberflächenbedeckung angesetzt.

Eine experimentelle Bestätigung, dass Farbstoffe ohne chemische Bindungsgruppe zur Dimerbildung neigen, liefern die Ergebnisse von Leitner und Aussenegg<sup>[351]</sup>. Rhodamin 6G wurde durch einfaches Eintauchen in eine Lösung auf Glassubstrate aufgebracht (*engl. dipping process*). Die Farbstoffe besaßen keine Bindungsgruppen, konnten daher in willkürlicher Orientierung und Verteilung auf der Oberfläche und aneinander haften. Es konnte nachgewiesen werden, dass ab einer bestimmten Grenzkonzentration der Farbstofflösung der intermolekulare Abstand auf dem Substrat so gering wurde, dass Dimere sich ausbildeten, welche als dunkle Akzeptoren die Lebensdauer und Intensität der Monomere absenkten.

Gegen eine Dimerbildung sprechen auch die eigenen Ergebnisse der Konzentrationsreihe von Kapitel 4.4.1. Zu Gold Nanopartikeln mit  $r = 15 \text{ nm}$  wurde TAMRA-C<sub>16</sub> zugegeben. Die Konzentrationen waren derart bestimmt, dass sie einer Oberflächenbedeckung zwischen 5 – 400 % entsprach. Zu jedem Fluoreszenzspektrum wurde die Lebensdauer des Hybridsystems gemessen. Abbildung B1 trägt die gemessenen Zerfallszeiten der Probenserie gegen die Oberflächenbedeckung auf.

Die experimentellen Fluoreszenzlebensdauern schwanken um einen Mittelwert von  $212\text{ ps}$ . Die Schwankungen sind statistisch und zeigen keinen Zusammenhang mit der Oberflächenbedeckung. Bei Konzentrationen über  $100\%$  Bedeckung dominiert die ungelöschte Fluoreszenz freier Farbstoffe und die Lebensdauer wird von der intrinsischen Zerfallszeit von  $\tau \sim 2090\text{ ps}$  dominiert. Würde mit zunehmender Bedeckung eine Bildung von Dimeren auftreten, gäbe es auf der Oberfläche zwei Spezies: Monomere (Donor) + Dimere (Akzeptor). Neben dem Energie-Transfer zum Gold gäbe es damit einen weiteren Zerfallskanal, der mit zunehmender Bedeckungsdichte immer stärker würde. Als Folge träte eine zusätzliche, konzentrationsabhängige Lebensdauerverkürzung ein. Wie schon erwähnt, wäre eine Dimerbildung sicherlich lokal inhomogen verteilt und hätte einen *mehrfach-exponentiellen* Zerfall zur Folge. Das ist jedoch nicht der Fall. Die Transiente der gebundenen Farbstoffe ist *einfach-exponentiell* (Abb. 5.9 und Abb. 5.14).



**Abb. B1** Die Lebensdauer der Farbstoffe (blaue Punkte) zeigt keine signifikante Änderung mit zunehmender Oberflächenbedeckung. Die Schwankungen um den Mittelwert von  $212\text{ ps}$  (rote Linie) sind auf das relativ niedrige Signal/Rausch-Verhältnis zurückzuführen. Ab einer Konzentration von mehr als  $100\%$  Bedeckung wird das Signal von der ungelöschten Fluoreszenz ungebundener Farbstoffe dominiert, und die Fluoreszenzlebensdauer beläuft sich wieder auf die von freien Farbstoffen ( $2090\text{ ps}$ ). Die Wechselwirkung der Moleküle untereinander kann daher nicht signifikant sein.

Eine gegenseitige Wechselwirkung der gebundenen Farbstoffe hat also keinen signifikanten Beitrag in den gemessenen Lebensdauerkurven, da die Schwefelterminierung der Farbstoffe einer möglichen Dimerbildung entgegenwirkt. Dies findet sich in der Literatur bestätigt<sup>[204]</sup>.

Hybridsysteme mit DNA-Strängen als Abstandshalter können auf obige Weise nicht untersucht werden, da sich mit zunehmender Oberflächenbedeckung des Nanopartikels gleichzeitig der Abstand des Farbstoffes zum Partikel ändert (Streckung der DNA, Abb. 5.21). Die Fluoreszenzlebensdauer der CY5-Farbstoffe ändert sich daher innerhalb einer Konzentrationsserie. Eine Unveränderlichkeit der Lebensdauer als Nachweis der Negation von intramolekularen Wechselwirkungen (wie in Abb. B1) ist hier nicht möglich.

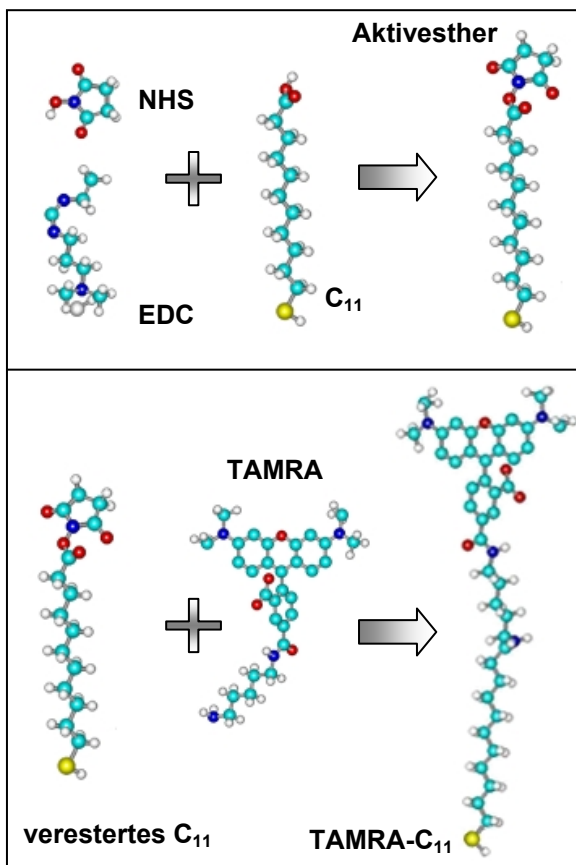
Mit DNA-Strängen wäre die Gefahr der Dimerbildung eigentlich noch größer als bei Kohlenstoffketten, denn solange die Partikel nicht vollständig bedeckt sind, ist der Strang relativ flexibel und die Farbstoffe besitzen damit eine erhöhte Beweglichkeit. Zwei benachbarte Farbstoffe könnten sich auf diese Art sehr nahe kommen und ein Dimer bilden. Nach Abbildung 5.20 steigt die Lebensdauer der CY5-DNA<sub>8</sub>-Partikel Serie mit zunehmender Oberflächenbedeckung dennoch an. Der durch die Streckung der Stränge abnehmende Energie-Transfer (= Lebensdauerverlängerung) muss daher der dominierende Prozess sein, denn die Dimerbildung würde zu einer Lebensdauerverkürzung führen. Abbildung 4.15 zeigt zudem keine Absorptionsbanden, die auf Dimere schließen lassen würden. Aufgrund der negativ geladenen Sulfonatgruppen (siehe Abb. 4.10) besitzt CY5 zudem eine sehr hohe Löslichkeit in Wasser. Intermolekulare Wechselwirkungen, wie z.B. eine mögliche Dimerbildung sind daher stark reduziert<sup>[292]</sup>.

## C Peptidbindung und Partikelsynthese

### a) Farbstoffe mit Kohlenstoffketten als Abstandshalter

Die Realisierung von kohlenstoffbasierten Abstandshaltern zwischen Farbstoff und Gold Nanopartikeln basiert auf einer 2-Stufen-Synthese. Als erster Schritt wird von der so genannten Peptidbindung<sup>[124, 352]</sup> Gebrauch gemacht, bei der eine Carboxylgruppe (COOH, an der Kohlenstoffkette) mit einer Aminogruppe (NH<sub>2</sub>, am Farbstoff) chemisch reagiert und aneinander bindet. In der zweiten Synthesestufe kann das Kohlenstoffketten-Farbstoff-System mit der Goldoberfläche des Nanopartikels reagieren. Üblicherweise wird hierzu auf Schwefel basierende Terminierungen zurückgegriffen, da deren Affinität zu Gold sehr hoch ist<sup>[122, 231, 283]</sup>. Die in dieser Arbeit verwendeten Kohlenstoffketten sind aus diesem Grund an einem Ende mit einer Carboxyl- und am entgegengesetzten Ende mit einer Thiolgruppe (SH) funktionalisiert. Der Farbstoff (TAMRA) trägt eine Aminogruppe.

Die Synthese ist für alle drei verwendeten Kohlenstoffketten ( $C_3$ ,  $C_{11}$ ,  $C_{16}$ ) identisch. Abbildung C1 stellt exemplarisch anhand einer  $C_{11}$ -Kette die Komponenten und Reihenfolge der ersten Synthesestufe dar. Als Katalysator wird EDC (*1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl-carbodiimid)*) und NHS (*N-Hydroxy-succinimid*) verwendet. Der Farbstoff ist aminofunktionalisiertes Rhodamin (*5-(und-6)-((N-(5-aminopentyl)amino)carbonyl-tetramethyl-rhodamin = TAMRA)* (Kapitel 4.2). Die Komponenten der Synthese wurden von den Firmen Molecular Probes<sup>[267]</sup> und Sigma-Aldrich<sup>[266]</sup> bezogen.



**Abb. C1** Einzelkomponenten für das kovalente Andocken einer  $C_{11}$ -Kohlenstoffkette an die Ankergruppe eines Farbstoffes (Peptidbindung).

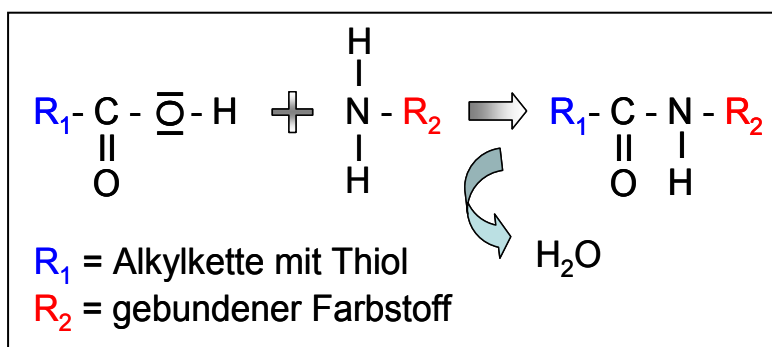
Im ersten Schritt wird die Carboxylgruppe der Kohlenstoffkette in Abwesenheit des Farbstoffs aktiviert. Dies geschieht mit Hilfe des Katalysators EDC. Anschließend hinzugefügtes NHS dockt mit seiner Hydroxygruppe (OH) an die COOH-Gruppe an und bildet einen Aktivester, welcher chemisch sehr stabil ist. Die ansonsten eintretende Hydrolyse, und die damit verbundene Reaktionsunfähigkeit der aktivierten COOH-Gruppe wird dadurch verhindert<sup>[124]</sup>. Durch diese Reihenfolge kann zudem eine Aktivierung von Carboxylgruppen, welche sich direkt am Rhodamin befinden, vermieden werden. Eine Quervernetzung der Farbstoffe untereinander wäre ansonsten die Folge. Die Reaktivität des Katalysators ist auf  $\sim 10 - 30$  min begrenzt. Dies hat zwei weitere Konsequenzen. Erstens, der Zeitpunkt der Farbstoffzugabe wird damit definiert, denn erst nach dem Ende der Reaktivität des Katalysators darf das Rhodamin dem Reaktionsvolumen zugegeben werden. Zweitens muss die Konzentration so hoch wie möglich gehalten werden, damit trotz der kurzen reaktiven Phase die Aktivierung aller Ketten vollständig stattfindet.

Alle Syntheseschritte finden in Ethanol statt. Die Aktivierungsstoffe, von denen das EDC bei der Reaktion verbraucht wird, liegen in einer *10fach* höheren Konzentration als die Kohlenstoffketten vor, um alle Carboxylgruppen der Ketten mit hoher Wahrscheinlichkeit zu aktivieren.

Für die Reaktion werden  $50 \mu\text{l}$  einer Kohlenstoffkettenlösung ( $c = 5 \text{ mmol}$ ) mit je  $100 \mu\text{l}$  von EDC und NHS ( $c = 25 \text{ mmol}$ ) vermengt und für etwa *20 Minuten* reagieren lassen. Anschließend werden  $50 \mu\text{l}$  einer Rhodaminlösung ( $c = 5 \text{ mmol}$ ) zugefügt, um es für weitere *30 – 45 min* auf einer Rüttelplatte reagieren zu lassen. Es sollten nur geringe Umdrehungszahlen eingestellt werden, da eine Blasenbildung innerhalb der Lösung die Thiolterminierungen oxidieren lässt. Die Bindung an die Nanopartikel wäre somit nicht mehr möglich <sup>[352]</sup>. Generell sollten die Lösungen aller Komponenten erst unmittelbar vor der Synthese des endgültigen Hybridsystems (Partikel-Farbstoff-Kohlenstoffkette) hergestellt werden, um chemische Veränderungen (z.B. Degradation) der an der Reaktion beteiligten Gruppen auszuschließen.

Auf diese Weise kann man Rhodamin mit verschiedenen langen Kohlenstoffketten versehen, welche wiederum durch ihre SH-Gruppen an die Gold Nanopartikel binden können. Eine andere Reihenfolge der Synthese, wie beispielsweise die Ketten zunächst an die Partikel zu binden und anschließend den Farbstoff reagieren zu lassen, ist wegen des Reduktionsmittels der Gold Nanopartikel (*tri-sodium-citrat-dihydrat*), der zugleich Stabilisator ist, nicht möglich. Die Zitronensäure besitzt drei COO-Endgruppen, die mit den Carboxylgruppen der Kohlenstoffketten identisch sind. Für die Herstellung der Nanopartikel liegt die Konzentration der Zitronensäure bei *0,025 %*. In einer Gold Nanopartikel­lösung mit *2 ml* Volumen werden dadurch etwa *2300mal* mehr Carboxylgruppen durch das Citrat, als von den Kohlenstoffketten zur Verfügung gestellt. Der Farbstoff würde mit seiner Aminogruppe an das Reduktionsmittel binden.

Tabelle C1 zeigt noch eine Übersicht der molekularen Massen der verwendeten Komponenten. In Abbildung C2 ist die Reaktion der Peptidbindung schematisch wiedergegeben.



**Abb. C2** Die Peptidbindung. Unter Abspaltung von Wasser reagiert die Carboxylgruppe der Kohlenstoffkette mit der Aminogruppe des Farbstoffs. (Aktivierung und Veresterung der Carboxylgruppe ist nicht gezeigt)

**Tab. C1** Molekulargewichte der benötigten chemischen Komponenten

Molekül	Gewicht (g/mol)
Tetra-Methyl-Rhodamin	514,62
EDC	191,70
NHS	115,10
3-Mercaptopropionic Säure	106,14
11-Mercaptoundecanoic Säure	218,36
16-Mercaptohexadecanoic Säure	288,50

**b) Synthese sphärischer Gold Nanopartikel mit  $r = 6 \text{ nm}$  nach D. Gittins <sup>[225]</sup>**

Für die Synthese monodisperser Gold Nanopartikel mit einem Radius von  $r = 6 \text{ nm}$  ist es wichtig, die nachfolgende Rezeptur streng einzuhalten. Andernfalls liefert die Synthese Nanopartikel, die größer sind ( $\sim 17 \text{ nm}$ ) und eine Größenverteilung von bis zu 25 % besitzen.

Da die Synthese bei hohen Temperaturen stattfindet, und sehr empfindlich auf Verunreinigungen reagiert (Staub fungiert als unkontrollierbarer Kondensationskeim für das Goldsalz), müssen alle verwendeten Glasbehälter temperaturbeständig und mit Königswasser gespült worden sein. Königswasser (*aqua regia*) besteht aus einem Gemisch von 1 Teil Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) und 3 Teilen Salzsäure ( $\text{HCl}$ ). Die Mischung aus einer oxidierenden Säure  $\text{HNO}_3$  mit einer nicht-oxidierenden Säure  $\text{HCl}$  ist für die Aggressivität von Königswasser verantwortlich. Es entstehen freie Chloratome, welche in der Lage sind, sogar Edelmetalle aufzulösen. Nach der Reinigung mit Königswasser müssen die Gefäße daher nochmals mit Reinstwasser gespült werden. Es sei auf einen vorsichtigen Umgang verwiesen! Die gesamte Synthese muss aufgrund der benötigten Reaktionstemperaturen aus Sicherheitsgründen mit Schutzbrille, Schutzhandschuhen (thermisch isoliert) und in einer Abzugsbox mit herabgelassener Schutzglasscheibe bei aktivem Lüftungsabzug stattfinden.

Da die Synthese stark von der Temperatur abhängt, würden sich Schwankungen von einigen Grad Celsius umgehend in einer hohen Größendispersion bemerkbar machen. Die Reaktion verläuft nur optimal während der siedenden Phase der wässrigen Goldlösung. Dem Reaktionskolben muss daher stets genügend thermische Energie zugeführt werden. Eine Heizflüssigkeit, beispielsweise Silikonöl, welche sich weit über  $100 \text{ C}^\circ$  erhitzen lässt, ist deswegen empfehlenswert. Setzt das Sieden der Goldlösung während der Synthese nur ein einziges Mal aus (beispielsweise durch Hinzugeben der Startlösungen, welche Raumtemperatur besitzen), muss die Reaktion neu angesetzt werden.

Die Methode ist eine abgewandelte Version der Turkevich-Rezeptur <sup>[219]</sup>. Sie basiert auf der Reduktion von Goldsalz durch Natriumzitat (Salz der Zitronensäure, im weiteren Text nur noch als Zitronensäure bezeichnet) in wässriger Lösung.

Für die Startlösungen werden  $0,2336 \text{ g}$  Goldsalz ( $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) in  $23,36 \text{ ml}$  Reinstwasser und für das Reduktionsmittel  $1,5090 \text{ g}$  Natriumcitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) in  $150 \text{ g}$  Reinstwasser gelöst.

Der experimentelle Aufbau ist in Abbildung C3 zu sehen. Am oberen Anschluss des Reaktionskolbens befindet sich ein Reflux-Kondensator. Die inneren Spiralrohre werden mit kaltem Wasser durchspült. Aufsteigender Wasserdampf kühlt daran ab, kondensiert und tropft zurück in den Reaktionskolben. Damit erreicht man trotz siedender Phase ein konstantes Volumen der Reaktionslösung. Es werden exakt  $100 \text{ ml}$  Reinstwasser in den gereinigten, thermisch resistenten Rundkolben ( $100 \text{ ml}$  Volumen) gegeben. Der Kolben darf von der vorherigen Reinigung noch nicht getrocknet sein. Der seitliche Einfüllstutzen wird verschlossen, und der Kolben bis auf Höhe der Reaktionslösung in das Heizbad gesenkt. Erst wenn das Wasser siedet, wird  $1 \text{ ml}$  Goldlösung der obigen Konzentration durch den Einfüllstutzen zugegeben. Nach circa  $2 \text{ min}$  Wartezeit wird der Einfüllstutzen nochmals geöffnet, und  $2,5 \text{ ml}$  Reduktionsmittel der obigen Konzentration langsam eingespritzt. Die Geschwindigkeit des Einspritzens muss derart erfolgen, dass die Lösung dabei nicht zum Sieden aufhört. Gute Erfahrungswerte haben sich durch das Einspritzen in 2 Schüben (unmittelbar nacheinander,  $2 \cdot 1,25 \text{ ml}$ ), mit einer Dauer von etwa  $4 - 6 \text{ sec}$ , ergeben. Es wird empfohlen, keine Pipettenpistolen, sondern gereinigte Glaspipetten zu verwenden (Volumen  $1 - 2 \text{ ml}$ ). Aufsteigender Wasserdampf kann ansonsten geringe Mengen von Rückständen vorheriger Anwendungen aus einer Pistole lösen, und dadurch den Rundkolben kontaminieren. Während der Reaktion zeigt sich in der Lösung ein Farbumschlag von blassgelb über graublau zu dunkelviolett und schließlich zu weinrot.

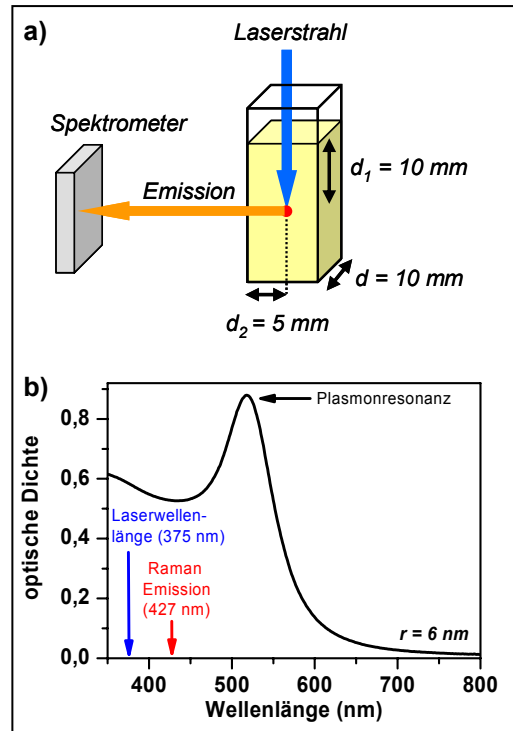




## D Reabsorption und Abschwächung der Emissionen

Anhand von Gold Nanopartikeln mit Radius  $r = 6 \text{ nm}$  wird exemplarisch die Abschwächung des Laserstrahls und des Probensignals durch Nanopartikel, welche sich zwar in der Küvette, aber außerhalb des Detektionsvolumens befinden, gezeigt. Ein quantitativer Intensitätsvergleich von Emissionen aus verschiedenen Proben ist nur dann möglich sofern derartige Abschwächungen genau bekannt sind. Die Gold Nanopartikel befinden sich in wässriger Lösung. Die Vorgehensweise zur rechnerischen Bestimmung der Abschwächung wird an der experimentell bestimmten OH-Ramanschwingung von Wasser demonstriert, welche stets um  $0,4 \text{ eV}$  rotverschoben zur Laserenergie erscheint.

Abbildung D1a) zeigt die Anrege- und Detektionsgeometrie relativ zur Küvette. Der Laserstrahl ( $\lambda = 375 \text{ nm}$ ) propagiert  $d_1 = 10 \text{ mm}$  durch die Probenlösung, bevor die Höhe des Spektrometereingangsspalt erreicht ist. Die, durch die optische Anregung, generierte Ramanemission ( $\lambda = 427 \text{ nm}$ ) benötigt  $d_2 = 5 \text{ mm}$ , um aus der Probenlösung auszutreten. Abbildung D1b) zeigt die experimentell gemessene optische Dichte der Gold Nanopartikel, anhand derer man die Abschwächung des Lasers- und des Ramansignals berechnen kann. Die optische Dichte  $OD$  ist definiert zu:



**Abb. D1** a) Wegstrecken des Laserstrahls und der Probenfluoreszenz. b) Anhand der optischen Dichte  $OD$  einer Goldpartikellösung mit  $r = 6 \text{ nm}$  kann die Abschwächung des Laserstrahls und der Emission (z.B. Raman) beim Propagieren durch die Probenlösung außerhalb des Detektionsvolumens, berechnet werden.

$$OD = \varepsilon \cdot c \cdot d = -\log \frac{T}{T_0}, \quad (\text{D1})$$

während das Transmissionsgesetz die exponentielle Abschwächung eines Signals (Reflexion sei vernachlässigt) als

$$T = T_0 \cdot e^{-\alpha d} \quad \text{oder} \quad -\alpha \cdot d = \ln \frac{T}{T_0} \quad (\text{D2})$$

angibt. Hierbei ist  $\varepsilon$  der molare Extinktionskoeffizient,  $c$  die Probenkonzentration,  $d$  die Probendicke,  $\alpha$  der Absorptionskoeffizient,  $T_0$  die Intensität des Lichtes vor und  $T$  die Intensität hinter der Probe. Der Absorptionskoeffizient ergibt sich aus (D1) und (D2) zu  $\alpha = (2,3 \cdot OD)/d$ .

Die Intensität des Lichtes sei vor der Probe zu  $T_0 = I$  definiert. Die Messung der optischen Dichte der Goldlösungen (Gl. D1) geschieht längs der Küvette mit  $d = 1 \text{ cm}$ . Der Laserstrahl wird bei einer Wegstrecke von  $d_1 = 1 \text{ cm}$  (Abb. D1) bis zur Detektionsebene um

$$T_1 = T_0 \cdot e^{-\alpha d_1} = 1 \cdot e^{-\frac{2,3 \cdot OD \cdot d_1}{d}} = e^{-2,3 \cdot OD} \quad (\text{D3})$$



abgeschwächt. Die Emission der Probe hingegen benötigt  $d_2 = 0,5 \text{ cm}$ , um aus der Küvette wieder auszutreten. Die Abschwächung berechnet sich analog zu

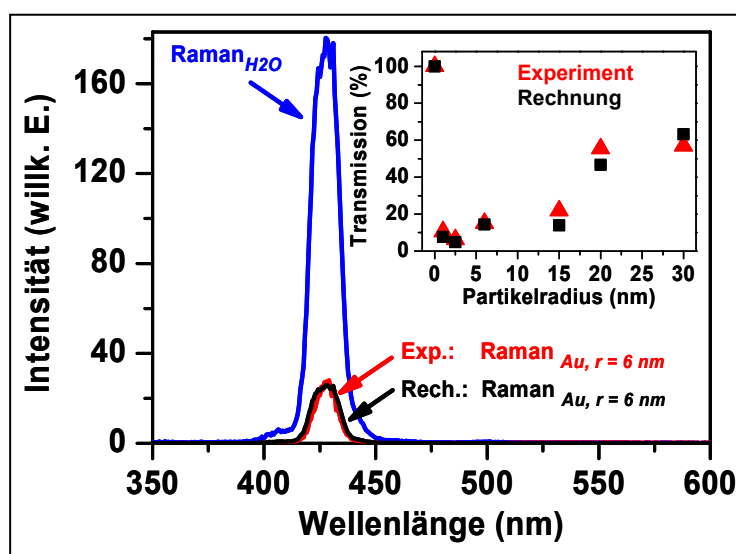
$$T_2 = T_0 \cdot e^{-\alpha d_2} = 1 \cdot e^{-\frac{2.3 \cdot OD \cdot d_2}{d}} = e^{-1.15 \cdot OD} \quad (\text{D4})$$

Die gesamte Abschwächung ist: 
$$T_{ges} = T_1 \cdot T_2 = e^{-2.3 \cdot (OD_1 + 0.5 \cdot OD_2)} \quad (\text{D5})$$

Für Nanopartikel mit Radius  $r = 6 \text{ nm}$  ergibt sich aus dem Extinktionsspektrum ( $OD_{375\text{nm}} = 0,58$  und  $OD_{427\text{nm}} = 0,52$ , siehe Abb. D1) eine Abschwächung der Ramanbande ( $427 \text{ nm}$ ) auf etwa  $14,5 \%$ . Nimmt man das Ramansignal einer *reinen* Wasserprobe, skalieren sie mit diesem Verlust, so ergibt sich eine Intensität, wie sie der experimentell gemessenen Ramanbande in der Goldlösung entspricht. Abbildung D2 zeigt das Beispiel für  $r = 6 \text{ nm}$ . Die Intensität des ursprünglichen Ramansignals in reinem Wasser (blau), das auf  $14,5 \%$  skalierte Signal (schwarz) sowie das gemessene Ramansignal in der Gold Nanopartikelösung (rot). Des Weiteren zeigt Abbildung D2 einen Vergleich von errechneten zu gemessenen Abschwächungen für alle Partikelradien (kleine Abbildung).

Anhand der guten Übereinstimmung von gemessener zu berechneter Intensität der Ramanbande erscheint es gerechtfertigt, obigen Rechenweg als Grundlage für die Erstellung einer Korrekturkurve für den gesamten Spektralbereich, anzusetzen. Damit können die gemessenen Signale, unabhängig ihrer optischen Dichte direkt und quantitativ miteinander verglichen werden.

Aus der Übereinstimmung zwischen Rechnung und Experiment (Abb. D2) folgt unter anderem auch, dass eine oberflächenverstärkte Ramanstreuung (*SERS*) des Lösungsmittels in den vorliegenden Hybridsystemen nicht signifikant vorhanden sein kann. Dies liegt an der Anregewellenlänge des Lasers und der Emissionswellenlänge des Ramansignals, welche beide nicht mit der Resonanz des Partikelplasmons zusammenfallen<sup>[105]</sup>. Zudem stammt das Ramansignal vornehmlich von Molekülen außerhalb des Einflussbereiches der Nanopartikel, da es vom Lösungsmittels ( $\text{H}_2\text{O}$ ) und nicht von oberflächengebundenen Molekülen stammt.



**Abb. D2** Vergleich der gemessenen Intensitäten der OH-Ramanbande aus reinem Wasser (blau), der aus einer Lösung mit Gold Nanopartikeln mit  $r = 6 \text{ nm}$  (rot) und die berechnete Abschwächung (schwarz). Die Abschwächung wurde anhand der experimentell bestimmten optischen Dichte der Partikellösung bestimmt und auf das Ramansignal der reinen Wasserlösung (blau) angewendet. Für alle Partikelgrößen findet sich eine gute Übereinstimmung zwischen Experiment und Rechnung (kleine Abbildung, schwarze und rote Messpunkte).

## E Die Zahl absorbiertes Photonen pro Gold Nanopartikel

Anhand von Gold Nanopartikeln mit  $r_{Au} = 30 \text{ nm}$  wird exemplarisch die Zahl absorbiertes Photonen pro Nanopartikel für die Messungen von Kapitel 6 bestimmt.

Die Dauerstrichleistung des Lasers beträgt  $P_{Laser} = 17,8 \text{ mW}$  bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 375 \text{ nm}$ . Die Repetitionsrate des Lasers ist  $x_{Laser} = 75,6 \text{ MHz}$ , bei einer Pulslänge von  $t_{Puls} = 130 \text{ fs}$ . Der Strahlradius im Fokus ist  $r_{Laser} = 250 \mu\text{m}$  und ergibt eine Anregefläche  $A_{Laser} = r_{Laser}^2 \cdot \pi = 1,96 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^2$  in der Probenlösung. Die Partikelkonzentration bestimmt sich aus Messungen der optischen Dichte bei  $520 \text{ nm}$  zu  $n_{Au} = 1,338 \cdot 10^{10} / \text{ml}$ . Der Laserstrahl verliert aufgrund der Abschwächung durch Nanopartikel außerhalb des Detektionsvolumens etwa 60 % seiner Leistung. Nach der Mie-Theorie werden 23,8 % des Laserstrahls von einem „getroffenen“ Nanopartikel gestreut und nicht absorbiert.

Die Energiedichte pro Puls  $I_{Puls}$  ist:

$$I_{Puls} = \frac{P_{Laser}}{x_{Laser} \cdot A_{Laser}} = 1,2 \cdot 10^{-7} \frac{\text{J}}{\text{cm}^2} \quad (\text{E1})$$

Mit der Energie eines Photons ( $E_{Phot} = hc/\lambda = 5,297 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ ) kann die Flächendichte  $n_{Pho}$  der Photonen errechnet werden:

$$n_{Pho} = \frac{I_{Puls}}{E_{Phot}} = 2,27 \cdot 10^{11} / \text{cm}^2 \quad (\text{E2})$$

Der Extinktionsquerschnitt der  $r = 30 \text{ nm}$  Partikel bei  $375 \text{ nm}$  ist  $\alpha_{Au} = 6,07 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^2$ . Die Zahl der absorbierten Photonen pro Partikel  $n_{Pho-Au}$  ergibt sich damit zu:

$$N_{Pho-Au} = n_{Pho} \cdot \alpha_{Au} = 13,8 \quad (\text{E3})$$

Berücksichtigen wir, dass 23,8 % des Laserstrahls vom Nanopartikel gestreut werden, und zudem die Laserleistung beim propagieren durch die Partikellösung außerhalb des Detektionsvolumens um 60 % abgeschwächt wird, ergibt sich ein Wert von:

$$N_{Pho-Au} = 13,8 \cdot (0,762 \cdot 0,4) = 4,19 \quad (\text{E5})$$

Die Gold Nanopartikel mit  $r = 30 \text{ nm}$  absorbieren also durchschnittlich  $\sim 4$  Photonen pro Laserpuls. Die Ergebnisse der restlichen Partikelgrößen finden sich in Tabelle 6.1.

Der Eingangsspalt des Spektrometers ( $10 \mu\text{m}$ ), der senkrecht dazu stehende Eingangsspalt der Streak Kamera ( $15 \mu\text{m}$ ) sowie der Durchmesser des Laserstrahls von  $d = 500 \mu\text{m}$  führen zu einem Detektionsvolumen von nur  $7,5 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^3$ , welches durch die zweifach vergrößernde Abbildung des Aufsammel-linsensystems (Kapitel 3.2) auf  $1,875 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^3$  reduziert wird. Effektiv werden nur  $\sim 250$  Partikel mit Radius  $r = 30 \text{ nm}$  detektiert. Im Gegensatz hierzu befinden sich in der Gold Nanopartikellösung mit Radius  $r = 1 \text{ nm}$  bereits  $(30\text{nm}/1\text{nm})^3 \cdot 250 \sim 6,8 \cdot 10^6$  Partikel im Detektionsvolumen.

Längs der Detektionshöhe von nur  $7,5 \mu\text{m}$  ( $15/2 \mu\text{m}$ , da zweifach vergrößerte Abbildung) kann die Laserleistung als konstant angesehen werden. Im Rahmen der maximalen Zeitauflösung des Detektors im Sichtbaren ( $3,5 \text{ ps}$ ) ist der Laser während einer Messung vollständig durch das Detektionsvolumen propagiert.

## F Relation zwischen Querschnitten und Zerfallsraten

Die *Abraham-Lorentz Bewegungsgleichung* beschreibt, wie sich die Bewegung eines beschleunigten, gebundenen und geladenen Teilchens unter dem Einfluss einer Rückstellkraft (z.B. eines Elektrons der Masse  $m_e$  und Ladung  $e$  umgeben vom positiven Kristallgitter des Nanopartikels), aufgrund der auftretenden Strahlungsdämpfung  $\Gamma$  ändert <sup>[353, 354]</sup>. Die vollständige Bewegungsgleichung enthält zwei Dämpfungsterme, die *strahlungsbedingte* Dämpfung  $\Gamma_{rad}$  und *nicht-strahlungsbedingte* Dämpfungen  $\Gamma_{nonrad}$ , wie es in unserem Fall Inter- und Intradbandanregungen sind. Das Teilchen erfährt eine externe, periodische Kraft  $\vec{F} = eE_0\vec{n}\exp(-i\omega t)$ , z.B. durch das *einfallende* Feld eines Laserstrahls mit der Polarisationsrichtung  $\vec{n}$ . In Dipolnäherung lautet die stationäre Gleichgewichtslösung für die Bewegungsgleichung eines Teilchens in  $\vec{x}$  Richtung:

$$\vec{x} = \frac{e}{m} \frac{E_0}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega\Gamma_{total}} \vec{n} \quad (F1)$$

mit

$$\Gamma_{total}(\omega) = \Gamma_{nonrad} + \left(\frac{\omega}{\omega_0}\right)^2 \Gamma_{rad} \quad (F2)$$

als Summe aller Dämpfungsprozesse und legt nach Kapitel 2.1.3 die gesamte spektrale Linienbreite der Oszillation fest. Die Resonanzfrequenz des Systems wird durch  $\omega_0$  beschrieben. Der Beitrag der Strahlungsdämpfung zur gesamten Linienbreite ist:

$$\Gamma_{rad} = \omega_0^2 \beta \quad (F3)$$

Die Zeitkonstante  $\beta = (2/3) \cdot e^2/m_e c^3$  stellt ein Kriterium dar, ab wann ein strahlungsbedingter Energieverlust gegenüber der ursprünglichen Energie des Systems zu vernachlässigen ist oder einen signifikanten Einfluss hat ( $c =$  Lichtgeschwindigkeit). Sie lässt sich mit Hilfe der Larmorschen Formel für die abgestrahlte Energie eines beschleunigten, geladenen Teilchens bestimmen <sup>[39]</sup>. Mit  $\beta$  eingesetzt:

$$\Gamma_{rad} = \frac{2}{3} \frac{e^2}{m_e c^3} \omega_0^2 \quad (F4)$$

Im Fall der Gold Nanopartikel ist sowohl die Zahl aller Elektronen  $N$ , als auch deren Gesamtmasse proportional zum Volumen  $V$  des Partikels. Nach (F4) erhalten wir  $(Ne)^2/(Nm_e) = Ne^2/m_e$ .  $\Gamma_{rad}$  steigt proportional zu  $N$  und es gilt daher  $\Gamma_{rad} \sim V_{partikel}$ . Da die Dämpfung  $\Gamma$  eines Prozesses gleichbedeutend zu einer Rate  $R$  ist, folgt aus (F4):

$$R_{rad} \propto V \propto r^3 \quad (F5)$$

Die beschriebene, beschleunigte Bewegung gibt Anlass zu Strahlungsfeldern. Diese Strahlung wird zwar in Richtungen emittiert, die sich von der einfallenden Welle unterscheiden, hat aber die gleiche Frequenz wie die einfallende Strahlung. Der gesamte Prozess kann daher als Streuung der einfallenden Welle betrachtet werden. Mit Hilfe des Poyntingschen Vektors kann die in ein Raumwinkel-element emittierte Strahlungsleistung berechnet werden. Der *differentielle Streuquerschnitt*  $d\sigma/d\Omega$  wird als, in einer Zeiteinheit in ein Raumwinkel-element  $d\Omega$  abgestrahlte Energie gegenüber dem einfallenden Energiestrom definiert:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \left(\frac{e^2}{mc^2}\right)^2 |\vec{n}'^* \cdot \vec{n}|^2 \left(\frac{\omega^4}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \Gamma_{total}^2}\right) \quad (F6)$$

$\vec{n}'^*$  ist der Einheitsvektor in Richtung des *ausfallenden* elektrischen Feldes, also von der emittierten Welle. Am Term  $(e^2/m)^2$  sieht man, dass der Streuquerschnitt quadratisch mit dem Volumen läuft.

Betrachtet man nur Frequenzen  $\omega$  in der Nähe der Resonanzfrequenz  $\omega_0$ , also der Plasmonresonanz, summiert über die Polarisationen der emittierten (gestreuten) Welle und integriert über alle Winkel, ergibt sich daraus der *totale Streuquerschnitt*  $\sigma_{sca}(\omega)$ :

$$\sigma_{sca}(\omega) \cong \frac{3\pi c^2}{2\omega_0^2} \cdot \frac{(\Gamma_{rad})^2}{(\omega - \omega_0)^2 + (\Gamma_{total}/2)^2} \quad (F7)$$

mit einem Maximum ( $\omega = \omega_0$ ): 
$$\sigma_{sca}(\omega_0) = \frac{6\pi c^2}{\omega_0^2} \left( \frac{\Gamma_{rad}}{\Gamma_{total}} \right)^2 \quad (F8)$$

Analog kann die pro Frequenzintervall extingierte Energie durch einen Oszillator in Dipolnäherung errechnet werden <sup>[355]</sup>.

$$\frac{dE}{d\omega} = \frac{e^2}{m} |E_0(\omega)|^2 \cdot \frac{2\omega^2 \Gamma_{total}}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \Gamma_{total}^2} \quad (F9)$$

Da hier die gesamte Dämpfung  $\Gamma_{total}$  des Systems eingeht, repräsentiert Gleichung (F9) die *gesamte* Energie, welche teilweise zurückemittiert (Streuung), oder auf andere Art *nichtstrahlend* vernichtet wird (Absorption). Es ist deshalb sinnvoll den *totalen Wirkungs-* oder *Extinktionsquerschnitt* ( $\sigma_{total}$  bzw.  $\sigma_{ext}$ ) einzuführen. Er ist definiert als die pro Frequenzintervall absorbierte Energie in Bezug auf die pro Flächen- und Frequenzintervall, einfallende Energie. Am Term  $(e^2/m)$  sieht man diesmal, dass der Extinktionsquerschnitt linear mit dem Partikelvolumen läuft. Mit dem einfallenden Energiestrom  $(c/2\pi) \cdot |E_0(\omega)|^2$  und über die Flächen und Frequenzen integriert, erhält man für den totalen Wirkungsquerschnitt, wieder in der Nähe der Plasmonresonanz  $\omega_0$  betrachtet:

$$\sigma_{ext}(\omega) \cong \frac{3\pi c^2}{2\omega_0^2} \cdot \frac{(\Gamma_{rad} \Gamma_{total})}{(\omega_0 - \omega)^2 + (\Gamma_{total}/2)^2} \quad (F10)$$

Der totale Extinktionsquerschnitt besitzt das gleiche spektrale Resonanzverhalten wie der totale Streuquerschnitt, ist aber um einen Faktor  $(\Gamma_{total}/\Gamma_{rad})$  größer als dieser. Das Maximum ( $\omega = \omega_0$ ) liegt bei

$$\sigma_{ext}(\omega_0) \cong \frac{6\pi c^2}{\omega_0^2} \cdot \frac{(\Gamma_{rad} \Gamma_{total})}{(\Gamma_{total})^2} \quad (F11)$$

Mit der Quanteneffizienz 
$$QE = \frac{R_{rad}}{R_{rad} + R_{nonrad}} = \frac{R_{rad}}{R_{total}} = \frac{R_{rad}}{R_{fluor}} \quad (F12)$$

und  $\Gamma \sim R$  folgt 
$$QE = \frac{R_{rad}}{R_{fluor}} \propto \frac{\Gamma_{rad}}{\Gamma_{total}} \quad (F13)$$

Das Verhältnis von Streu- zu Extinktionsquerschnitt (F8 zu F11) führt zum gleichen Ergebnis

$$\frac{\sigma_{sca}(\omega_0)}{\sigma_{ext}(\omega_0)} \cong \frac{(\Gamma_{rad}/\Gamma_{total})^2}{(\Gamma_{rad} \Gamma_{total})/(\Gamma_{total})^2} = \frac{\Gamma_{rad}}{\Gamma_{total}} = QE \quad (F14)$$

Die Quanteneffizienz des Plasmons strahlend zu zerfallen, kann damit auf die Bestimmung der Streu- und Extinktionsquerschnitte (Mie-Theorie) bei der Plasmonresonanz ( $\omega = \omega_0$ ) zurückgeführt werden.





## Literaturverzeichnis und Referenzen

1. *Nanotechnologie*. Spektrum der Wissenschaft Spezial, 2001. **2**.
2. Alivisatos, A.P., et al., *From molecules to materials: Current trends and future directions*. Advanced Materials, 1998. **10**(16): p. 1297-1336.
3. Förster, T., *Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz*. Annalen der Physik, 1948. **2**: p. 55-75.
4. Deniz, A.A., et al., *Single-pair fluorescence resonance energy transfer on freely diffusing molecules: Observation of Forster distance dependence and subpopulations*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999. **96**(7): p. 3670-3675.
5. Dubertret, B., M. Calame, and A.J. Libchaber, *Single-Mismatch detection using gold-quenched fluorescent oligonucleotides*. Nature Biotechnology, 2001. **19**: p. 365-370.
6. Weiss, S., *Fluorescence spectroscopy of single biomolecules*. Science, 1999. **283**(5408): p. 1676-1683.
7. Schultz, S., et al., *Single-target molecule detection with nonbleaching multicolor optical immunolabels*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000. **97**(3): p. 996-1001.
8. Chan, W.C.W. and S.M. Nie, *Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection*. Science, 1998. **281**(5385): p. 2016-2018.
9. Boyer, D., et al., *Photothermal imaging of nanometer-sized metal particles among scatterers*. Science, 2002. **297**(5584): p. 1160-1163.
10. Bruchez, M., et al., *Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels*. Science, 1998. **281**(5385): p. 2013-2016.
11. Powell, R.D., C.M.R. Halsey, and J.F. Hainfeld, *Combined Fluorescent and Gold Immunoprobe: Reagents and Methods for Correlative Light and Electron Microscopy*. Microscopy Research and Technique, 1998. **42**: p. 2-12.
12. Powell, R.D., et al., *A Covalent Fluorescent-Gold Immunoprobe: Simultaneous Detection of a Pre-mRNA Splicing Factor by Light and Electron Microscopy*. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1997. **45**(7): p. 947-956.
13. Shipway, A.N., E. Katz, and I. Willner, *Nanoparticle arrays on surfaces for electronic, optical, and sensor applications*. Chemphyschem, 2000. **1**(1): p. 18-52.
14. Gersten, J. and A. Nitzan, *Spectroscopic Properties of Molecules Interacting with Small Dielectric Particles*. Journal of Chemical Physics, 1981. **75**(3): p. 1139-1152.
15. Leung, P.T., S.K. Young, and T.F. George, *Radiative Decay Rates for Molecules near a Dielectric Sphere*. Journal of Physical Chemistry, 1988. **92**: p. 6206-6208.
16. Ruppin, R., *Decay of an Excited Molecule near a Small Metal Sphere*. Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(4): p. 1681-1684.
17. Shahbazyan, T.V., I.E. Perakis, and J.Y. Bigot, *Size-dependent surface plasmon dynamics in metal nanoparticles*. Physical Review Letters, 1998. **81**(15): p. 3120-3123.
18. Perner, M., *Optische Untersuchung der Elektronen- und Gitterdynamik in Edelmetall-Nanopartikeln*, in *Sektion Physik*. 1999, Ludwig-Maximilians-Universität, München. p. 200.
19. Dederichs, P.H., H. Schober, and D.J. Sellmeyer, *Landolt-Börnstein: Numerical Data and Functional Relationships in Science and Technology: New Series, Group III, Crystal and Solid State Physics*. 1981, Berlin: Springer Verlag.
20. Kopitzki, K., *Einführung in die Festkörperphysik*. Third Edition ed. 1993, Stuttgart: BG Teubner Verlag. 392.
21. Kreibig, U. and M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*. Springer Series in Materials Science, ed. U. Gonser, et al. Vol. 25. 1995, Berlin: Springer-Verlag.
22. Schlipper, R., et al., *Multiple excitation and lifetime of the sodium cluster plasmon resonance*. Physical Review Letters, 1998. **80**(6): p. 1194-7.
23. Hagino, K., *Anharmonicity of the dipole resonance of metal clusters*. Physical Review B, 1999. **60**(4): p. R2197-9.
24. Raschke, G., et al., *Biomolecular Recognition Based on Single Nanoparticle Light Scattering*. Nano Letters, 2003: p. in press.
25. Sönnichsen, C., et al., *Plasmon resonances in large noble-metal clusters*. New Journal of Physics, 2002. **4**: p. -.
26. Kreibig, U. and M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*, S.53. Springer Series in Materials Science, ed. U. Gonser, et al. Vol. 25. 1995, Berlin: Springer-Verlag.
27. Kopitzki, K., *Einführung in die Festkörperphysik*, S.184. Third Edition ed. 1993, Stuttgart: BG Teubner Verlag. 392.
28. Kreibig, U. and M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*, S.73. Springer Series in Materials Science, ed. U. Gonser, et al. Vol. 25. 1995, Berlin: Springer-Verlag.
29. Ashcroft, N.W. and N.D. Mermin, *Solid State Physics*, S.17. International edition ed, ed. D.G. Crane. 1976, Philadelphia: W. B. Saunders Company. 826.
30. Kittel, C., *Einführung in die Festkörperphysik*, S.302. 12te Auflage ed. 1999, München: Oldenburg Verlag.
31. Breit, M., *Nichtlineare optische Untersuchungen an metallischen Nanostrukturen*, in *Department of Physics, Institute of Prof. Feldmann*. 2002, University of Munich, LMU: Munich.
32. Sönnichsen, C., *Plasmons in metal nanostructures*, in *Department of Physics, Institute of Prof. Feldmann*. 2001, University of Munich, LMU: Munich, Germany.
33. Bassani, F. and G.P. Parravicini, *Electronic States and Optical Transitions in Solids*. 1975, London: Pergamon.
34. Cohen, M.H., *Philos. Mag.* 1958. **3**: p. 762.
35. Kreibig, U., *Electronic Properties of small Silver Particles: The Optical Constants and their Temperature Dependence*. Journal of Physics F, 1974. **4**(7): p. 999-1014.
36. Johnson, P.B. and R.W. Christy, *Optical Constants of Noble Metals*. Physical Review B, 1972. **6**(12): p. 4370-4379.
37. Bergmann und Schäfer, *Lehrbuch der Experimentalphysik: Band 4, Teilchen*. 1992, Berlin: De Gruyter.
38. Kuchling, H., *Taschenbuch der Physik*, S.293. 13te Auflage ed. 1991, Frankfurt: Harri Deutsch.

39. Jackson, J.D., *Classical Electrodynamics*, S. 931. second edition ed. 1983, Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1020.
40. Klar, T., et al., *Surface-plasmon Resonances in Single Metallic Nanoparticles*. Physical Review Letters, 1998. **80**(19): p. 4249-4252.
41. Lamprecht, B., et al., *Particle-plasmon decay-time determination by measuring the optical near-field's autocorrelation: influence of inhomogeneous line broadening*. Applied Physics B-Lasers and Optics, 1999. **69**(3): p. 223-227.
42. Lamprecht, B., A. Leitner, and F.R. Aussenegg, *SHG studies of plasmon dephasing in nanoparticles*. Applied Physics B-Lasers and Optics, 1999. **68**(3): p. 419-423.
43. Stietz, F., et al., *Decay Times of Surface Plasmon Excitation in Metal Nanoparticles by Persistent Spectral Hole Burning*. Physical Review Letters, 2000. **84**: p. 5644-5647.
44. Sönnichsen, C., et al., *Drastic reduction of plasmon damping in gold nanorods*. Physical Review Letters, 2002. **88**: p. 077402.
45. Plessen, P.G.v., *personal communication*. 2004: Aachen, RWTH, Physikalisches Institut.
46. Jackson, J.D., *Classical Electrodynamics*, S. 161. second edition ed. 1983, Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1020.
47. Hovel, H., et al., *Width of Cluster Plasmon Resonances - Bulk Dielectric Functions and Chemical Interface Damping*. Physical Review B, 1993. **48**(24): p. 18178-18188.
48. Persson, B.N.J. and A. Baratoff, *Theory of Photon-Emission in Electron-Tunneling to Metallic Particles*. Physical Review Letters, 1992. **68**(21): p. 3224-3227.
49. Kreibig, U. and M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*, S.22. Springer Series in Materials Science, ed. U. Gonser, et al. Vol. 25. 1995, Berlin: Springer-Verlag.
50. Genzel, L. and U. Kreibig, *Dielectric Function and Infrared-Absorption of Small Metal Particles*. Zeitschrift Fur Physik B-Condensed Matter, 1980. **37**(2): p. 93-101.
51. Kawabata, A. and R. Kubo, *Electronic Properties of Fine Metallic Particles, II. Plasma Resonance Absorption*. J. Phys. Soc. Jpn., 1966. **21**: p. 1765.
52. Persson, B.N.J., *Polarizability of Small Spherical Metal Particles - Influence of the Matrix Environment*. Surface Science, 1993. **281**(1-2): p. 153-162.
53. Kreibig, U. and M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*, S.192. Springer Series in Materials Science, ed. U. Gonser, et al. Vol. 25. 1995, Berlin: Springer-Verlag.
54. Mie, G., *Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Lösungen*. Ann. Phys., 1908. **25**(3): p. 377.
55. Bohren, C.F. and D.R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. 1998, New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.
56. Born, M., *Optik*. 1972, Berlin: Springer Verlag.
57. Quinten, M., *MQMie-Version 2.3*. 2002, Dr. Michael Quinten Wissenschaftlich-Technische Software.
58. Haken-Wolf, *Molekülphysik und Quantenchemie*, S. 289. 3. Auflage ed. 1997, Stuttgart: Springer Verlag.
59. Nolting, W., *Theoretische Physik 5, Quantenmechanik*, S.145. 1993, Ulmen: Zimmermann-Neufang.
60. Engelke, F., *Aufbau der Moleküle*, S.131. 3. Auflage ed. 1996, Stuttgart: Teubner Verlag Studienbücher.
61. Lenk, R., *Fachlexikon der Physik*, S.903. 1989, Leipzig: Brockhaus Verlag.
62. Schmidt, W., *Optische Spektroskopie*. 2te Auflage ed. 2000: Wiley-VCH. S. 209.
63. Wiehler, J., et al., *Mutagenic stabilization of the photocycle intermediate of green fluorescent protein (GFP)*. Chembiochem, 2003. **4**(11): p. 1164-1171.
64. Förster, T., *Experimentelle und theoretische Untersuchung des zwischenmolekularen Übergangs von Elektronenanregungsenergie*. Zeitschrift für Naturforschung, 1949. **4a**: p. 321-327.
65. Chance, R.R., A. Prock, and R. Silbey, *Molecular fluorescence and energy transfer near interfaces*. Adv. Chem. Phys., 1978. **37**: p. 1-65.
66. Drexhage, K.H., H. Kuhn, and F.P. Schafer, *Variation of the fluorescence decay time of a molecule in front of a mirror*. Berichte der Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie, 1968. **72**(2): p. 329.
67. Drexhage, K.H., *Interaction of light with monomolecular dye layers*, in *Progress in Optics XII*, E. Wolf, Editor. 1974, North Holland: Amsterdam. p. 165-232.
68. Kuhn, H., *Classical aspects of energy transfer in molecular systems*. J. of Chemical Physics, 1970. **53**(1): p. 101-8.
69. Aussenegg, F.R., et al., *Novel Aspects of Fluorescence Lifetime for Molecules Positioned Close to Metal-Surfaces*. Surface Science, 1987. **189**: p. 935-945.
70. Kuchling, H., *Taschenbuch der Physik*, S.295. 13te Auflage ed. 1991, Frankfurt: Harri Deutsch.
71. Nitzan, A. and L.E. Brus, *Theoretical-Model for Enhanced Photochemistry on Rough Surfaces*. Journal of Chemical Physics, 1981. **75**(5): p. 2205-2214.
72. Reinisch, H., *Theoretische Grundlagen und experimentelle Beispiele zur Lichtfeld- und Fluoreszenzverstärkung mittels submikroskopischer Silberpartikel*, S.132, in *Physik Institut*. 1992, Universität Graz: Graz.
73. Kerker, M., *The Optics of Colloidal Silver - Something Old and Something New*. Journal of Colloid and Interface Science, 1985. **105**(2): p. 297-314.
74. Wokaun, A., *Surface Enhancement of Optical-Fields - Mechanism and Applications*. Molecular Physics, 1985. **56**(1): p. 1-33.
75. Kneipp, K., et al., *Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS)*. Physical Review Letters, 1997. **78**(9): p. 1667-1670.
76. Michaels, A.M., M. Nirmal, and L.E. Brus, *Surface enhanced Raman spectroscopy of individual rhodamine 6G molecules on large Ag nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(43): p. 9932-9939.
77. Shimizu, K.T., et al., *Surface-enhanced emission from single semiconductor nanocrystals*. Physical Review Letters, 2002. **89**(11): p. -.
78. Sanchez, E.J., L. Novotny, and X.S. Xie, *Near-field fluorescence microscopy based on two-photon excitation with metal tips*. Physical Review Letters, 1999. **82**(20): p. 4014-4017.



79. Nirmal, M., et al., *Fluorescence intermittency in single cadmium selenide nanocrystals*. Nature, 1996. **383**(6603): p. 802-804.
80. Bian, R.X., R.C. Dunn, and X.S. Xie, *Single molecule emission characteristics in near-field microscopy*. Physical Review Letters, 1995. **75**(26): p. 4772-4775.
81. Azoulay, J., et al., *Quenching and enhancement of single-molecule fluorescence under metallic and dielectric tips*. Europhysics Letters, 2000. **51**(4): p. 374-380.
82. Geddes, C.D., et al., *Metal-enhanced fluorescence: Potential applications in HTS*. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, 2003. **6**(2): p. 109-117.
83. Lakowicz, J.R., et al., *Radiative decay engineering: the role of photonic mode density in biotechnology*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2003. **36**(14): p. R240-R249.
84. Liebermann, T. and W. Knoll, *Surface-plasmon field-enhanced fluorescence spectroscopy*. Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects, 2000. **171**(1-3): p. 115-130.
85. Zeisel, D., et al., *Near-field surface-enhanced Raman spectroscopy of dye molecules adsorbed on silver island films*. Chemical Physics Letters, 1998. **283**(5-6): p. 381-385.
86. Kneipp, K., *High-Sensitive SERS on Colloidal Silver Particles in Aqueous Solution*. Experimentelle Technik der Physik, 1988. **36**(2): p. 161-166.
87. Kneipp, K., R.R. Dasari, and Y. Wang, *Near-Infrared Surface-Enhanced Raman-Scattering (Nir Sers) on Colloidal Silver and Gold*. Applied Spectroscopy, 1994. **48**(8): p. 951-957.
88. Kneipp, K., H. Kneipp, and E. Dinjus, *Surface-Enhanced Raman-Scattering (Sers) and Surface-Enhanced Excited-State Raman-Scattering (Seers) of a Tris(2,2'-Bipyridine)Cr Complex Adsorbed on Colloidal Silver*. Chemical Physics Letters, 1986. **126**(1): p. 69-73.
89. Kneipp, K., et al., *Near-Infrared Excited Surface-Enhanced Raman-Spectroscopy of Biomedically on Colloidal Silver*. Scanning and Force Microscopy for Biomedical Applications II, ed. S. Nie and E. Tamiya. Vol. 3922. 2000: Proceedings of SPIE. 49-55.
90. Kneipp, K., et al., *Extremely large enhancement factors in surface-enhanced Raman scattering for molecules on colloidal gold clusters*. Applied Spectroscopy, 1998. **52**(12): p. 1493-1497.
91. Kneipp, K., H. Kneipp, and F. Seifert, *Near-Infrared Excitation Profile Study of Surface-Enhanced Hyper-Raman Scattering and Surface-Enhanced Raman-Scattering by Means of Tunable Mode-Locked Ti-Sapphire Laser Excitation*. Chemical Physics Letters, 1995. **233**(5-6): p. 519-524.
92. Kneipp, K., et al., *Near-Infrared Excited Surface-Enhanced Raman-Spectroscopy of Rhodamine 6g on Colloidal Silver*. Chemical Physics Letters, 1993. **207**(4-6): p. 450-454.
93. Kneipp, K., et al., *Surface-Enhanced Raman-Scattering of Co<sub>2</sub> Dissolved in Aqueous Colloidal Solutions of Silver and Gold*. Journal of Raman Spectroscopy, 1995. **26**(10): p. 959-962.
94. Kneipp, K., et al., *Near-Infrared Surface-Enhanced Raman-Scattering (Nir-Sers) of Neurotransmitters in Colloidal Silver Solutions*. Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 1995. **51**(3): p. 481-487.
95. Kneipp, K., et al., *Near-infrared surface-enhanced Raman scattering of trinitrotoluene on colloidal gold and silver*. Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 1995. **51**(12): p. 2171-2175.
96. Wokaun, A., et al., *Surface 2nd-Harmonic Generation from Metal Island Films and Microlithographic Structures*. Physical Review B, 1981. **24**(2): p. 849-856.
97. Clark, H.A., et al., *Second harmonic generation properties of fluorescent polymer-encapsulated gold nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2000. **122**(41): p. 10234-10235.
98. Kano, H. and S. Kawata, *Two-photon-excited fluorescence enhanced by a surface plasmon*. Optics Letters, 1996. **21**(22): p. 1848-1850.
99. Wessel, J., *Surface-Enhanced Optical Microscopy*. Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics, 1985. **2**(9): p. 1538-1541.
100. Weitz, D.A., et al., *A Comparison of Raman-Scattering, Resonance Raman-Scattering, and Fluorescence from Molecules Adsorbed on Silver Island Films*. J. of Electron Spectr. and Related Phenomena, 1983. **29**(JAN): p. 363-370.
101. Moskovits, M., *Surface-Enhanced Spectroscopy*. Reviews of Modern Physics, 1985. **57**(3): p. 783-826.
102. Murray, C.A., *Simple-Model for Estimating the Electromagnetic Enhancement in Surface-Enhanced Raman-Scattering from Molecules Adsorbed onto Metal Particles Coated with Overlayers*. Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics, 1985. **2**(8): p. 1330-1339.
103. Schatz, G.C., *Theoretical-Studies of Surface Enhanced Raman-Scattering*. Accounts of Chemical Research, 1984. **17**(10): p. 370-376.
104. Weitz, D.A., et al., *The Enhancement of Raman-Scattering, Resonance Raman-Scattering, and Fluorescence from Molecules Adsorbed on a Rough Silver Surface*. Journal of Chemical Physics, 1983. **78**(9): p. 5324-5338.
105. Metiu, H., *Surface Enhanced Spectroscopy*. Progress in Surface Science, 1984. **17**(3-4): p. 153-320.
106. Weber, W.H. and G.W. Ford, *Optical Electric-Field Enhancement at a Metal-Surface Arising from Surface-Plasmon Excitation*. Optics Letters, 1981. **6**(3): p. 122-124.
107. Gersten, J. and A. Nitzan, *Electromagnetic Theory of Enhanced Raman-Scattering by Molecules Adsorbed on Rough Surfaces*. Journal of Chemical Physics, 1980. **73**(7): p. 3023-3037.
108. Das, P. and H. Metiu, *Enhancement of Molecular Fluorescence and Photochemistry by Small Metal Particles*. Journal of Physical Chemistry, 1985. **89**(22): p. 4680-4687.
109. Shalaev, V.M. and A.K. Sarychev, *Nonlinear optics of random metal-dielectric films*. Physical Review B, 1998. **57**(20): p. 13265-13288.
110. Shen, Y.R., *The Principles of Nonlinear Optics*. 1984, New York: John Wiley & Sons.
111. Kulakovich, O., et al., *Enhanced luminescence of CdSe quantum dots on gold colloids*. Nano Letters, 2002. **2**(12): p. 1449-1452.
112. Sokolov, K., G. Chumanov, and T.M. Cotton, *Enhancement of molecular fluorescence near the surface of colloidal metal films*. Analytical Chemistry, 1998. **70**(18): p. 3898-3905.

113. Aussenegg, F.R., A. Leitner, and M.E. Lippitsch, *Time Resolved Surface Enhanced Fluorescence of Molecules Positioned Close to Submicroscopic Metal Particles*. Revue Roumaine De Physique, 1988. **33**(4-6): p. 349-352.
114. Glass, A.M., et al., *Interaction of Metal Particles with Absorbed Dye Molecules - Absorption and Luminescence*. Optics Letters, 1980. **5**(9): p. 368-370.
115. Gresillon, S., et al., *Experimental observation of localized optical excitations in random metal-dielectric films*. Physical Review Letters, 1999. **82**(22): p. 4520-4523.
116. Wokaun, A., et al., *Energy-Transfer in Surface Enhanced Luminescence*. Journal of Chemical Physics, 1983. **79**(1): p. 509-514.
117. Ritchie, G., C.Y. Chen, and E. Burstein, *Secondary Light-Emission by Molecules at Metal-Surfaces*. Bulletin of the American Physical Society, 1980. **25**(3): p. 259-260.
118. Reinisch, H., *Theoretische Grundlagen und experimentelle Beispiele zur Lichtfeld- und Fluoreszenzverstärkung mittels submikroskopischer Silberteilchen*, in *Physik Institut*. 1992,, Universität Graz: Graz.
119. Einstein, A., *Physik. Z.*, 1917. **18**: p. 121.
120. Strickler, S.J. and R.A. Berg, *Relationship between absorption intensity and fluorescence lifetime of molecules*. Journal of Chemical Physics, 1962. **37**: p. 814-822.
121. Stellacci, F., et al., *Ultrabright supramolecular beacons based on the self-assembly of two-photon chromophores on metal nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(2): p. 328-329.
122. Hu, J., et al., *Competitive photochemical reactivity in a self-assembled monolayer on a colloidal gold cluster*. J. of the American Chemical Society, 2001. **123**(7): p. 1464-1470.
123. Gu, T., J.K. Whitesell, and M.A. Fox, *Energy transfer from a surface-bound arene to the gold core in omega-fluorenyl-alkane-1-thiolate monolayer-protected gold clusters*. Chemistry of Materials, 2003. **15**(6): p. 1358-1366.
124. Templeton, A.C., D.E. Cliffel, and R.W. Murray, *Redox and fluorophore functionalization of water-soluble gold clusters*. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 1999. **218**: p. U158-U158.
125. Franzen, S., et al., *Optical properties of dye molecules adsorbed on single gold and silver nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry A, 2002. **106**(28): p. 6533-6540.
126. Haken-Wolf, *Molekülphysik und Quantenchemie*, S. 299. 3. Auflage ed. 1997, Stuttgart: Springer Verlag.
127. Struve, W.S., *Theory of Electronic Energy Transfer*, in *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria*. 1995, Blankenship, R. E. p. 297-313.
128. Lakowicz, J.R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, S.373. second edition ed. 1999, New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 698.
129. Dexter, D.L., *A theory of Sensitized Luminescence in Solids*. The Journal of Chemical Physics, 1953. **21**: p. 836-850.
130. Turro, N.J., *Modern Molecular Photochemistry*, ed. Benjamin and Cummings. 1978, CA, USA: Menlo Park.
131. Dunn, R.C., et al., *Near-Field Fluorescence Imaging and Fluorescence Lifetime Measurement of Light-Harvesting Complexes in Intact Photosynthetic Membranes*. Journal of Physical Chemistry, 1994. **98**(12): p. 3094-3098.
132. Jares-Erijman, E.A. and T.M. Jovin, *FRET imaging*. Nature Biotechnology, 2003. **21**(11): p. 1387-1395.
133. Watrob, H.M., C.P. Pan, and M.D. Barkley, *Two-step FRET as a structural tool*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(24): p. 7336-7343.
134. Willard, D.M., et al., *CdSe-ZnS quantum dots as resonance energy transfer donors in a model protein-protein binding assay*. Nano Letters, 2001. **1**(9): p. 469-474.
135. Clayton, A.H.A., et al., *Dynamic fluorescence anisotropy imaging microscopy in the frequency domain (rFLIM)*. Biophysical Journal, 2002. **83**(3): p. 1631-1649.
136. Ha, T., et al., *Probing the interaction between two single molecules: Fluorescence resonance energy transfer between a single donor and a single acceptor*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996. **93**(13): p. 6264-6268.
137. Whitmore, P.M., H.J. Robota, and C.B. Harris, *Mechanisms for Electronic-Energy Transfer between Molecules and Metal-Surfaces - a Comparison of Silver and Nickel*. Journal of Chemical Physics, 1982. **77**(3): p. 1560-1568.
138. Kuhnke, K., et al., *C-60 exciton quenching near metal surfaces*. Physical Review Letters, 1997. **79**(17): p. 3246-3249.
139. Nolting, W., *Theoretische Physik 3, Elektrodynamik*, S.107. 1993, Ulmen: Zimmermann-Neufang.
140. Drexhage, K.H., *Monomolecular layers and light*. Scientific American, 1970. **222**: p. 108-119.
141. Drexhage, K.H., et al., *Beeinflussung der Fluoreszenz eines Europium-chelates durch einen Spiegel*. Ber. Bunsenges. Phys. Chem., 1966. **20**: p. 1179.
142. Drexhage, K.H., et al., *Aufbau von Systemen monomolekularer Schichten oberflaechenaktiver Farbstoffe*. Ber. Bunsenges. Phys. Chem., 1966. **20**: p. 1179.
143. Campion, A., et al., *Electronic-Energy Transfer to Metal-Surfaces - a Test of Classical Image Dipole Theory at Short Distances*. Chemical Physics Letters, 1980. **73**(3): p. 447-450.
144. Whitmore, P.M., H.J. Robota, and C.B. Harris, *Electronic-Energy Transfer from Pyrazine to a Silver(111) Surface between 10 and 400-A*. Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(1): p. 740-741.
145. Alivisatos, A.P., D.H. Waldeck, and C.B. Harris, *Nonclassical Behavior of Energy-Transfer from Molecules to Metal-Surfaces - Biacetyl(Normal-3-Pi-Star)/Ag(111)*. Journal of Chemical Physics, 1985. **82**(1): p. 541-547.
146. Adams, A., et al., *Luminescence and Nonradiative Energy-Transfer to Surfaces*. Physical Review B, 1980. **21**(12): p. 5565-5571.
147. Rossetti, R. and L.E. Brus, *Time Resolved Energy-Transfer from Electronically Excited 3b3u Pyrazine Molecules to Planar Ag and Au Surfaces*. Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(2): p. 1146-1149.
148. Rossetti, R. and L.E. Brus, *Proton Tunneling Dynamics and an Isotopically Dependent Equilibrium Geometry in the Lowest Excited Pi-Pi-Star Singlet-State of Tropolone*. Journal of Chemical Physics, 1980. **73**(4): p. 1546-1550.
149. Philpott, M.R., *Chemical Physics Letters*, 1973. **19**: p. 435.
150. Philpott, M.R., *Journal of Chemical Physics*, 1975. **62**: p. 1812.
151. Saito, K., *Quenching of excited J aggregates on metals by surface plasmon excitations*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(31): p. 6579-6583.

152. Aussenegg, F.R., et al., *Fluorescence lifetime of dye molecules near a metal surface*. Springer Ser. Chem. Phys., 1988. **48**(Ultrafast Phenom. 6): p. 434-6.
153. Gersten, J. and A. Nitzan, *Mathematical Appendix to Spectroscopic Properties of Molecules Interacting with Small Dielectric Particles*. Journal of Chemical Physics, 1981. **75**(3): p. 1139-1152.
154. Jackson, J.D., *Classical Electrodynamics*. second edition ed. 1983, Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1020.
155. Dransfeld, K. and P. Kienle, *Elektrodynamik, Physik II, S.86*. 4. Auflage ed. 1991, München: Oldenburg Verlag.
156. Morteani, A.C., *Fluorescence quenching of dyes in the close vicinity of gold nanoparticles*, in *Department of Physics, Institute Prof. Feldmann*. 2001, LMU Munich: Munich.
157. Smith, S.N. and R.P. Steer, *The photophysics of Lissamine rhodamine-B sulphonyl chloride in aqueous solution: implications for fluorescent protein-dye conjugates*. Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry, 2001. **139**(2-3): p. 151-156.
158. Kopitzki, K., *Einführung in die Festkörperphysik, S.169*. Third Edition ed. 1993, Stuttgart: BG Teubner Verlag. 392.
159. Leung, P.T. and T.F. George, *Dynamical analysis of molecular decay at spherical surfaces*. Journal of Chemical Physics, 1987. **87**: p. 6722-6724.
160. Leung, P.T., T.F. George, and Y.C. Lee, *Limit of the image theory for the classical decay rates of molecules at surfaces*. Journal of Chemical Physics, 1987. **86**: p. 7227-7229.
161. Kim, Y.S., P.T. Leung, and T.F. George, *Classical Decay-Rates for Molecules in the Presence of a Spherical Surface - a Complete Treatment*. Surface Science, 1988. **195**(1-2): p. 1-14.
162. Kim, Y.S., P.T. Leung, and T.F. George, *Remark on the Morphology-Dependent Resonance in the Decay-Rate Spectrum for Molecules near a Spherical Surface*. Chemical Physics Letters, 1988. **152**(6): p. 453-456.
163. Leung, P.T. and T.F. George, *Molecular fluorescence spectroscopy in the vicinity of a microstructure*. Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique, 1995. **92**: p. 226-247.
164. Chew, H., *Transition Rates of Atoms near Spherical Surfaces*. Journal of Chemical Physics, 1987. **87**(2): p. 1355-1360.
165. Chew, H., *Radiation and Lifetimes of Atoms inside Dielectric Particles*. Physical Review A, 1988. **38**(7): p. 3410-3416.
166. Ruppin, R., *Electric-Field Enhancement near a Surface Bump*. Solid State Communications, 1981. **39**(8): p. 903-906.
167. Maue, A.W., *Z. Physik*, 1935. **94**: p. 717.
168. Lang, N.D. and W. Kohn, *Physical Review B*, 1970. **1**: p. 4555.
169. Maniv, T. and H. Metiu, *Electron-Gas Effects in the Spectroscopy of Molecules Chemisorbed at a Metal-Surface .1. Theory*. Journal of Chemical Physics, 1980. **72**(3): p. 1996-2006.
170. Maniv, T. and H. Metiu, *Electrodynamics at a Metal-Surface .2. Fresnel Formulas for the Electromagnetic-Field at the Interface for a Jellium Model within the Random Phase Approximation*. Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(5): p. 2697-2713.
171. Maniv, T. and H. Metiu, *Electrodynamics at a Metal-Surface .3. Reflectance and the Photo-Electron Yield of a Thin Slab*. Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(1): p. 696-709.
172. Korzeniewski, G., T. Maniv, and H. Metiu, *The Interaction between an Oscillating Dipole and a Metal-Surface Described by a Jellium Model and the Random Phase Approximation*. Chem. Phys. Letters, 1980. **73**(2): p. 212-217.
173. Korzeniewski, G.E., T. Maniv, and H. Metiu, *Electrodynamics at Metal-Surfaces .4. The Electric-Fields Caused by the Polarization of a Metal-Surface by an Oscillating Dipole*. Journal of Chemical Physics, 1982. **76**(3): p. 1564-1573.
174. Gies, P. and R.R. Gerhardt, *Density-Functional Theory for the Dynamical Response of Molecules Adsorbed on Metal-Surfaces*. Physical Review B, 1988. **37**(17): p. 10020-10028.
175. Corni, S. and J. Tomasi, *Lifetimes of electronic excited states of a molecule close to a metal surface*. Journal of Chemical Physics, 2003. **118**(14): p. 6481-6494.
176. Ekardt, W. and Z. Penezar, *Nonradiative Lifetime of Excited-States near a Small Metal-Particle*. Physical Review B, 1986. **34**(12): p. 8444-8448.
177. Fuchs, R. and F. Claro, *Multipolar Response of Small Metallic Spheres - Nonlocal Theory*. Physical Review B, 1987. **35**(8): p. 3722-3727.
178. Leung, P.T., *Decay of Molecules at Spherical Surfaces - Nonlocal Effects*. Phys. Rev. B, 1990. **42**(12): p. 7622-7625.
179. Girard, C. and F. Hache, *Effective Polarizability of a Molecule Physisorbed on a Spherical Metal-Particle - Nonlocal Effects*. Chemical Physics, 1987. **118**(2): p. 249-264.
180. Larkin, I.A., et al., *Dipolar emitters at nanoscale proximity of metal surfaces: Gant enhancement of relaxation in microscopic theory*. Physical Review B, 2004. **69**: p. 121403.
181. Avouris, P. and J.E. Demuth, *Vibrational Overtone Spectroscopy of Benzene and Pyridine on Ag(111)*. Journal of Chemical Physics, 1981. **75**(12): p. 5953-5954.
182. Demuth, J.E. and P. Avouris, *Lifetime Broadening of Excited Pyrazine Adsorbed on Ag(111)*. Physical Review Letters, 1981. **47**(1): p. 61-63.
183. Ashcroft, N.W. and N.D. Mermin, *Solid State Physics, S. 364*. International edition ed, ed. D.G. Crane. 1976, Philadelphia: W. B. Saunders Company. 826.
184. Schwengelbeck, U., et al., *Prediction of step-like occupation and inversion of states in thin films exposed to laser pulses*. Journal of Physics B-Atomic Molecular and Optical Physics, 2002. **35**(9): p. L181-L186.
185. Seno, K., et al., *Photoionization of Rhodamine Dyes Adsorbed at the Aqueous Solution Surfaces Investigated by Synchrotron Radiation*. Analytical Sciences, The Japan Society of Analytical Chemistry, 2001. **17**: p. 1177-1179.
186. Harata, A., T. Ishioka, and Y. Hatano, *Photoionization of Molecules Adsorbed at the Water Surfaces: Acidity Dependence of Photoionization Thresholds Studied with a Synchrotron Light Source*. Department of Molecular and Material Sciences, Kyushu University, Japan.
187. Aguila, A. and R.W. Murray, *Monolayer-protected clusters with fluorescent dansyl ligands*. Langmuir, 2000. **16**(14): p. 5949-5954.
188. Adams, D.M., et al., *Charge transfer on the nanoscale: Current status*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(28): p. 6668-6697.

189. Oregan, B. and M. Gratzel, *A Low-Cost, High-Efficiency Solar-Cell Based on Dye-Sensitized Colloidal TiO<sub>2</sub> Films*. Nature, 1991. **353**(6346): p. 737-740.
190. Imahori, H., Y. Mori, and Y. Matano, *Nanostructured artificial photosynthesis*. Journal of Photochemistry and Photobiology C-Photochemistry Reviews, 2003. **4**(1): p. 51-83.
191. Kamat, P.V., *Photophysical, photochemical and photocatalytic aspects of metal nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(32): p. 7729-7744.
192. Kondo, T., et al., *Effects of alkylchain length on the efficiency of photoinduced electron transfer at gold electrodes modified with self-assembled monolayers of molecules containing porphyrin, ferrocene and thiol separated each other by alkylchains*. Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics, 1999. **212**: p. 23-30.
193. Kondo, T., et al., *pH-dependent photoinduced electron transfer at the gold electrode modified with a self-assembled monolayer of a porphyrin-mercaptoquinone coupling molecule*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1997. **438**(1-2): p. 121-126.
194. Kondo, T., et al., *Determination of thickness of a self-assembled monolayer of dodecanethiol on Au(111) by angle-resolved X-ray photoelectron spectroscopy*. Langmuir, 1998. **14**(19): p. 5656-5658.
195. Kondo, T., et al., *Effect of surface morphology of a gold substrate on photocurrent efficiency at a gold electrode modified with a self-assembled monolayer of a porphyrin-ferrocene-thiol linked molecule*. Chemistry Letters, 2000(8): p. 964-965.
196. Uosaki, K., et al., *Very efficient visible-light-induced uphill electron transfer at a self-assembled monolayer with a porphyrin-ferrocene-thiol linked molecule*. Journal of the American Chemical Society, 1997. **119**(35): p. 8367-8368.
197. Yanagida, M., et al., *Angle-resolved X-ray photoelectron spectroscopic study on a self-assembled monolayer of a porphyrin-ferrocene-thiol linked molecule on gold: Evidence for a highly ordered arrangement for efficient photoinduced electron transfer*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 1998. **71**(11): p. 2555-2559.
198. Imahori, H., et al., *Light-harvesting and photocurrent generation by cold electrodes modified with mixed self-assembled monolayers of boron-dipyrin and ferrocene-porphyrin-fullerene triad*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(1): p. 100-110.
199. Imahori, H., et al., *Chain length effect on the structure and photoelectrochemical properties of self-assembled monolayers of porphyrins on gold electrodes*. Journal of Physical Chemistry B, 2000. **104**(6): p. 1253-1260.
200. Kittredge, K.W., M.A. Fox, and J.K. Whitesell, *Effect of alkyl chain length on the fluorescence of 9-alkylfluorenyl thiols as self-assembled monolayers on gold*. Journal of Physical Chemistry B, 2001. **105**(43): p. 10594-10599.
201. Thomas, K.G. and P.V. Kamat, *Chromophore-functionalized gold nanoparticles*. Accounts of Chemical Research, 2003. **36**(12): p. 888-898.
202. Gu, T., et al., *Subpicosecond transient dynamics in gold nanoparticles encapsulated by a fluorophore-terminated monolayer*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(8): p. 1765-1771.
203. Sudeep, P.K., et al., *Fullerene-functionalized gold nanoparticles. A self-assembled photoactive antenna-metal nanocore assembly*. Nano Letters, 2002. **2**(1): p. 29-35.
204. Imahori, H., et al., *Structure and photophysical properties of porphyrin-modified metal nanoclusters with different chain lengths*. Langmuir, 2004. **20**(1): p. 73-81.
205. Hranisavljevic, J., et al., *Photoinduced charge separation reactions of J-aggregates coated on silver nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(17): p. 4536-4537.
206. Nikoobakht, B., et al., *The quenching of CdSe quantum dots photoluminescence by gold nanoparticles in solution*. Photochemistry and Photobiology, 2002. **75**(6): p. 591-597.
207. Kamat, P.V. and B. Shinghavi, *Interparticle electron transfer in metal/semiconductor composites. Picosecond dynamics of CdS-capped gold nanoclusters*. Journal of Physical Chemistry B, 1997. **101**(39): p. 7675-7679.
208. Ipe, B.I., et al., *Photoinduced charge separation in a fluorophore-gold nanoassembly*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(1): p. 18-21.
209. Kometani, N., et al., *Preparation and optical absorption spectra of dye-coated Au, Ag, and Au/Ag colloidal nanoparticles in aqueous solutions and in alternate assemblies*. Langmuir, 2001. **17**(3): p. 578-580.
210. Ogawa, T., Y. Tenkyuu, and K. Nakashima, *Two-photon ionization efficiency of pyrene and several aromatic compounds at 240, 266 and 299 nm and its analytical applications*. Analytical Sciences, 2000. **16**(9): p. 913-917.
211. Kourouklis, G.A., *Photoionization of organic molecules in dielectric liquids*. PHD-Thesis, 1982.
212. Fan, C.H., et al., *Beyond superquenching: Hyper-efficient energy transfer from conjugated polymers to gold nanoparticles*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003. **100**(11): p. 6297-6301.
213. Boyd, R.W., *Nonlinear Optics*. 1992, Rochester, New York: Academic Press.
214. Lingk, C., *Ultraschnelle Dynamik in Quantenpunkten und Quantenpunktlasern*, in *Department of Physics, Institute Prof. Feldmann*. 2002, University of Munich, LMU: Munich.
215. Tang, Z. and S.J. Wang, *PC-CONTIN and some aspects of determination of positron annihilation rate distribution*. Mater. Sci. Forum, 1995. **175-178**(Pt. 2): p. 1001-4.
216. Provencher, S.W., *CONTIN: a general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations*. Computer Physics Communications, 1982. **27**(3): p. 229-42.
217. Blumen, A. and G. Zumofen, *Energy transfer as a continuous time random walk*. Journal of Chemical Physics, 1982. **77**(10): p. 5127-40.
218. Hamamatsu Photonics, *persönliche Kommunikation*. 2003: Hersching, Deutschland.
219. Turkevich, J., P. Stevenson, and J. Hillier, *The Formation of Colloidal Gold*. Discussions Faraday Society, 1951. **58**(11): p. 670-673.
220. Hamaker, H.C., *Physica*, 1937. **4**: p. 1058.
221. Dulkeith, E., *Eigene Messungen*. 2000-2004.

222. Weitz, D.A. and M. Oliveria, *Fractal Structures Formed by Kinetic Aggregation of Aqueous Gold Colloids*. Physical Review Letters, 1984. **52**(16): p. 1433-1436.
223. BBI, B.B.I. 2002: Golden Gate, TY Glas Avenue, Cardiff CF145DX-UK.
224. Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, 14424 Potsdam, Germany.
225. Gittins, D.I., *personel communication*. 2003: Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Postdam, Golm.
226. BBI, B.B.I., *personel communication, um diesen Verlust zu beheben, werden die Nanopartikel neuerdings in Kunststoffflaschen verkauft*. 2002: Golden Gate, TY Glas Avenue, Cardiff CF145DX-UK.
227. Delamarche, E., et al., *Real-Space Observation of Nanoscale Molecular Domains in Self-Assembled Monolayers*. Langmuir, 1994. **10**(9): p. 2869-2871.
228. Erdelen, C., et al., *Self-Assembled Disulfide-Functionalized Amphiphilic Copolymers on Gold*. Langmuir, 1994. **10**(4): p. 1246-1250.
229. Takami, T., et al., *Recognition of Individual Tail Groups in Self-Assembled Monolayers*. Langmuir, 1995. **11**(10): p. 3876-3881.
230. Wolf, H., et al., *End-Group-Dominated Molecular Order in Self-Assembled Monolayers*. Journal of Physical Chemistry, 1995. **99**(18): p. 7102-7107.
231. Wolf, H., *Selbstorganisierte organische Monoschichten auf Goldoberflächen*. 1995, University of Mainz: Germany.
232. Ulman, A., *Formation and structure of self-assembled monolayers*. Chemical Reviews, 1996. **96**(4): p. 1533-1554.
233. Levi, S., *Supramolecular Chemistry at the Nanometer Level*, in *Supramolecular Chemistry and Technology*. 2001, University of Twente: Enschede, Netherlands.
234. Vollhardt, P., N. Schore, and H. Butenschön, *Organische Chemie*. 3rd ed. 2000, Weinheim: Wiley-VCH.
235. Laibinis, P.E., et al., *Comparison of the Structures and Wetting Properties of Self-Assembled Monolayers of Normal-Alkanethiols on the Coinage Metal-Surfaces, Cu, Ag, Au*. Journal of the American Chemical Society, 1991. **113**(19): p. 7152-7167.
236. Fenter, P., et al., *Structure of  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{SH}$  Self-Assembled on the  $\text{Ag}(111)$  Surface - an Incommensurate Monolayer*. Langmuir, 1991. **7**(10): p. 2013-2016.
237. Walczak, M.M., et al., *Structure and Interfacial Properties of Spontaneously Adsorbed Normal-Alkanethiolate Monolayers on Evaporated Silver Surfaces*. Journal of the American Chemical Society, 1991. **113**(7): p. 2370-2378.
238. Dubois, L.H. and R.G. Nuzzo, *Synthesis, Structure, and Properties of Model Organic-Surfaces*. Annual Review of Physical Chemistry, 1992. **43**: p. 437-463.
239. Bain, C.D., J. Evall, and G.M. Whitesides, *Formation of Monolayers by the Coadsorption of Thiols on Gold - Variation in the Head Group, Tail Group, and Solvent*. Journal of the American Chemical Society, 1989. **111**(18): p. 7155-7164.
240. Bain, C.D. and G.M. Whitesides, *Formation of Monolayers by the Coadsorption of Thiols on Gold - Variation in the Length of the Alkyl Chain*. Journal of the American Chemical Society, 1989. **111**(18): p. 7164-7175.
241. Bain, C.D., et al., *Formation of Monolayer Films by the Spontaneous Assembly of Organic Thiols from Solution onto Gold*. Journal of the American Chemical Society, 1989. **111**(1): p. 321-335.
242. Krim, J., *Fiber Texture and Surface-Composition of Evaporated Gold-Films on Quartz*. Thin Solid Films, 1986. **137**(2): p. 297-303.
243. Li, Z., et al., *Multiple thiol-anchor capped DNA-gold nanoparticle conjugates*. Nucleic Acids Research, 2002. **30**(7): p. 1558-1562.
244. Makarova, O.V., et al., *Adsorption and encapsulation of fluorescent probes in nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(43): p. 9080-9084.
245. Schröter, W., K.-H. Lautenschläger, and H. Bibrack, *Taschenbuch der Chemie, S. 603*. 1995, Frankfurt: Harri Deutsch Verlag. 839.
246. Watson, J.D. and F.H.C. Crick, *A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*. Molecular Structure of Nucleic Acids, 1953. **171**: p. 737.
247. Lodish, H., et al., *Molecular Cell Biology*. third edition ed. 1996: Scientific American Books, W.H. Freeman and Company, 41 Madison Ave., New York 10010.
248. Alberts, B., et al., *Molecular Biology of the Cell*. third edition ed. 1994: Garland Publishing, Taylor & Francais Group, 29 west 35th Street, New York, NY 10001-2299.
249. Tinland, B., et al., *Persistence length of single-stranded DNA*. Macromolecules, 1997. **30**(19): p. 5763-5765.
250. Bloomfield, V.A., D.M. Crothers, and I.J. Tinoco, *Nucleic Acids Structures, Properties and Functions*. Vol. Chapter 11. 2000, Sausalito, CA, USA: University Science Books.
251. Landt, O. and Geschäftsführung, *personel communication*. 2003, TIB, Molbiol, Tempelhoferweg 11-12: Berlin.
252. Porath, D., et al., *Direct measurement of electrical transport through DNA molecules*. Nature, 2000. **403**(6770): p. 635-638.
253. Hutter, M. and T. Clark, *On the enhanced stability of the guanine-cytosine base-pair radical cation*. Journal of the American Chemical Society, 1996. **118**(32): p. 7574-7577.
254. Grozema, F.C., Y.A. Berlin, and L.D.A. Siebbeles, *Sequence-dependent charge transfer in donor-DNA-acceptor systems: A theoretical study*. International Journal of Quantum Chemistry, 1999. **75**(6): p. 1009-1016.
255. Arkin, M.R., et al., *Rates of DNA-mediated electron transfer between metallointercalators*. Science, 1996. **273**(5274): p. 475-480.
256. Lewis, F.D., et al., *Distance-dependent electron transfer in DNA hairpins*. Science, 1997. **277**(5326): p. 673-676.
257. Meggers, E., M.E. Michel-Beyerle, and B. Giese, *Sequence dependent long range hole transport in DNA*. Journal of the American Chemical Society, 1998. **120**(49): p. 12950-12955.
258. Beratan, D.N., S. Priyadarshy, and S.M. Risser, *DNA: Insulator or wire?* Chemistry & Biology, 1997. **4**(1): p. 3-8.
259. Jortner, J., et al., *Charge transfer and transport in DNA*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998. **95**(22): p. 12759-12765.

260. Henderson, P.T., et al., *Long-distance charge transport in duplex DNA: The phonon-assisted polaron-like hopping mechanism*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999. **96**(15): p. 8353-8358.
261. Parak, W.J., et al., *Conformation of oligonucleotides attached to gold nanocrystals probed by gel electrophoresis*. Nano Letters, 2003. **3**(1): p. 33-36.
262. Metabion: D-82152 Martiensried, Deutschland.
263. Metabion, *DNA43: 5'-CCA GAT CCC GGA CCC CGG TGT CGA TTG GGA TGG CTA TTC GCC G-3'*.
264. Metabion, *DNA-8 : 5'-GGT TAT CA-3'*.
265. Levi, S.A., et al., *Fluorescence of dyes adsorbed on highly organized, nanostructured gold surfaces*. Chemistry-a European J., 2002. **8**(16): p. 3808-3814.
266. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, Germany. 2004.
267. Molecular Probes, *European Headquarters, 2333 AA Leiden, Netherlands*. 2004.
268. Delamarche, E., et al., *Thermal-Stability of Self-Assembled Monolayers*. Langmuir, 1994. **10**(11): p. 4103-4108.
269. Batchelder, D.N., et al., *Self-Assembled Monolayers Containing Polydiacetylenes*. Journal of the American Chemical Society, 1994. **116**(3): p. 1050-1053.
270. Singer, V.L. and D. Johnson, *Fluorophore Characteristics: Making intelligent Choices in Application-Specific Dye Selection*. 2003, Molecular Probes, Inc., 4849 Pitchford Ave, Eugene, OR 97402 USA.
271. Dulkeith, E., *eigene Vergleichsmessungen gegen Rhodamin 6G*. 2004.
272. Meier, H., *Die Photochemie der organischen Farbstoffe, S. 73*. 1963, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer Verlag.
273. Demers, L.M., et al., *A fluorescence-based method for determining the surface coverage and hybridization efficiency of thiol-capped oligonucleotides bound to gold thin films and nanoparticles*. Analytical Chemistry, 2000. **72**(22): p. 5535-5541.
274. Zhao, Z., T. Shen, and H. Xu, *Spectrochimica Acta*, 1989. **45A**: p. 1113-1116.
275. Jung, L.S. and C.T. Campbell, *Sticking probabilities in adsorption of alkanethiols from liquid ethanol solution onto gold*. Journal of Physical Chemistry B, 2000. **104**(47): p. 11168-11178.
276. Jung, L.S. and C.T. Campbell, *Sticking probabilities in adsorption from liquid solutions: Alkylthiols on gold*. Physical Review Letters, 2000. **84**(22): p. 5164-5167.
277. Imahori, H., et al., *Photoactive three-dimensional monolayers: Porphyrin-alkanethiolate-stabilized gold clusters*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(2): p. 335-336.
278. Dransfeld, K. and P. Kienle, *Elektrodynamik, Physik II, S. 78*. 4. Auflage ed. 1991, München: Oldenburg Verlag.
279. Brackmann, U., *Lambdachrome, Laser Dyes*. 1997, Göttingen: Lambda Physik GmbH, Germany.
280. Sandström, P., M. Boncheva, and B. Akerman, *Nonspecific and thiol-specific binding of DNA to gold nanoparticles*. Langmuir, 2003. **19**(18): p. 7537-7543.
281. Steel, A.B., et al., *Immobilization of nucleic acids at solid surfaces: Effect of oligonucleotide length on layer assembly*. Biophysical Journal, 2000. **79**(2): p. 975-981.
282. Varnavski, O.P., et al., *Relative enhancement of ultrafast emission in gold nanorods*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(14): p. 3101-3104.
283. Imahori, H. and S. Fukuzumi, *Porphyrin monolayer-modified gold clusters as photoactive materials*. Advanced Materials, 2001. **13**(15): p. 1197-+.
284. Tamai, N., et al., *Excitation-Energy Transfer between Dye Molecules Adsorbed on a Vesicle Surface*. Journal of Physical Chemistry, 1987. **91**(13): p. 3503-3508.
285. Gryczynski, I., et al., *Multiphoton excitation of fluorescence near metallic particles: Enhanced and localized excitation*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(9): p. 2191-2195.
286. Maxwell, D.J., J.R. Taylor, and S.M. Nie, *Self-assembled nanoparticle probes for recognition and detection of biomolecules*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(32): p. 9606-9612.
287. Dulkeith, E., et al., *Fluorescence quenching of dye molecules near gold nanoparticles: Radiative and nonradiative effects*. Physical Review Letters, 2002. **89**(20): p. -.
288. Trabesinger, W., et al., *Single-molecule near-field optical energy transfer microscopy*. Applied Physics Letters, 2002. **81**(11): p. 2118-2120.
289. Zanchet, D., et al., *Electrophoretic isolation of discrete Au nanocrystal/DNA conjugates*. Nano Letters, 2001. **1**(1): p. 32-35.
290. Sauer, M., et al., *Dynamics of the electron transfer reaction between an oxazine dye and DNA oligonucleotides monitored on the single-molecule level*. Chemical Physics Letters, 1998. **284**(3-4): p. 153-163.
291. Heinlein, T., et al., *Photoinduced electron transfer between fluorescent dyes and guanosine residues in DNA-hairpins*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(31): p. 7957-7964.
292. Dietrich, A., et al., *FRET and competing processes in donor-acceptor substituted DNA strands: a comparative study of ensemble and single molecule data*. Molecular Biotechnology, 2002. **82**: p. 211-231.
293. Marme, N., et al., *Inter- and intramolecular fluorescence quenching of organic dyes by tryptophan*. Bioconjugate Chemistry, 2003. **14**(6): p. 1133-1139.
294. Malicka, J., et al., *Effects of fluorophore-to-silver distance on the emission of cyanine-dye-labeled oligonucleotides*. Analytical Biochemistry, 2003. **315**(1): p. 57-66.
295. Mooradian, A., *Photoluminescence of Metals*. Physical Review Letters, 1969. **22**: p. 185-187.
296. Zhukov, V.P., et al., *Corrected local-density approximation band structures, linear-response dielectric functions, and quasiparticle lifetimes in noble metals*. Physical Review B, 2001. **64**19(19): p. art. no.-195122.
297. Boyd, G.T., Z.H. Yu, and Y.R. Shen, *Photoinduced Luminescence from the Noble-Metals and Its Enhancement on Roughened Surfaces*. Physical Review B, 1986. **33**(12): p. 7923-7936.
298. Nilius, N., N. Ernst, and H.J. Freund, *Photon emission from individual supported gold clusters: thin film versus bulk oxide*. Surface Science, 2001. **478**(1-2): p. L327-L332.

299. Nilius, N., N. Ernst, and H.J. Freund, *Tip influence on plasmon excitations in single gold particles in an STM*. Physical Review B, 2002. **65**(11): p. -.
300. Mohammed, M.B., et al., *The 'lightning' gold nanorods: fluorescence enhancement of over a million compared to the gold metal*. Chemical Physics Letters, 2000. **317**: p. 517-523.
301. Wilcoxon, J.P., et al., *Photoluminescence from nanosize gold clusters*. Journal of Chemical Physics, 1998. **108**(21): p. 9137-9143.
302. Chen, S.W., et al., *Gold nanoelectrodes of varied size: Transition to molecule-like charging*. Science, 1998. **280**(5372): p. 2098-2101.
303. Bigioni, T.P., R.L. Whetten, and O. Dag, *Near-infrared luminescence from small gold nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry B, 2000. **104**(30): p. 6983-6986.
304. Gutierrez, E., et al., *Greengold, a giant cluster compound of unusual electronic structure*. European Physical Journal D, 1999. **9**(1-4): p. 647-651.
305. Link, S., et al., *Visible to infrared luminescence from a 28-atom gold cluster*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(13): p. 3410-3415.
306. Hwang, Y.N., et al., *Femtosecond Emission Studies on Gold nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**: p. 7581-7584.
307. Weber, B. and R. Scholl, *A New Kind of Light-Generation Mechanism - Incandescent Radiation from Clusters*. Journal of Applied Physics, 1993. **74**(1): p. 607-613.
308. Agranat, M.B., et al., *On the Inertialess Glow of Metals Induced by Picosecond Laser-Pulses*. Zhurnal Eksperimentalnoi I Teoreticheskoi Fiziki, 1980. **79**(1): p. 55-62.
309. Varnavski, O., et al., *Ultrafast time-resolved photoluminescence from novel metal-dendrimer nanocomposites*. Journal of Chemical Physics, 2001. **114**(5): p. 1962-1965.
310. Nilius, N., N. Ernst, and H.J. Freund, *Photon emission spectroscopy of individual oxide-supported silver clusters in a scanning tunneling microscope*. Physical Review Letters, 2000. **84**(17): p. 3994-3997.
311. Beversluis, M.R., A. Bouhelier, and L. Novotny, *Continuum generation from single gold nanostructures through near-field mediated intraband transitions*. Physical Review B, 2003. **68**(11): p. -.
312. Kokkinakis, T. and K. Alexopoulos, *Observation of Radiative Decay of Surface Plasmons in Small Silver Particles*. Physical Review Letters, 1972. **28**(25): p. 1632-1634.
313. Nepijko, S.A., et al., *Light emission from Ag cluster films excited by conduction current*. Annalen Der Physik, 2000. **9**(2): p. 125-131.
314. Bechger, L., A.F. Koenderink, and W.L. Vos, *Emission spectra and lifetimes of R6G dye on silica-coated titania powder*. Langmuir, 2002. **18**(6): p. 2444-2447.
315. Shahbazyan, T.V. and I.E. Perakis, *Surface collective excitations in ultrafast pump-probe spectroscopy of metal nanoparticles*. Chemical Physics, 2000. **251**(1-3): p. 37-49.
316. Kuchling, H., *Taschenbuch der Physik, S. 91*. 13te Auflage ed. 1991, Frankfurt: Harri Deutsch.
317. Bigot, J.Y., et al., *Electron dynamics in metallic nanoparticles*. Chemical Physics, 2000. **251**(1-3): p. 181-203.
318. Bigot, J.Y., et al., *Electron Dynamics in Copper Metallic Nanoparticles Probed with Femtosecond Optical Pulses*. Physical Review Letters, 1995. **75**(25): p. 4702-4705.
319. Del Fatti, N., et al., *Nonequilibrium electron interactions in metal films*. Physical Review Letters, 1998. **81**(4): p. 922-925.
320. Hodak, J., I. Martini, and G.V. Hartland, *Ultrafast study of electron-phonon coupling in colloidal gold particles*. Chem. Phys. Lett., 1998a. **284**: p. 135-141.
321. Hodak, J.H., I. Martini, and G.V. Hartland, *Spectroscopy and dynamics of nanometer-sized noble metal particles*. Journal of Physical Chemistry B, 1998. **102**(36): p. 6958-6967.
322. Hodak, J.H., A. Henglein, and G.V. Hartland, *Size dependent properties of Au particles: Coherent excitation and dephasing of acoustic vibrational modes*. Journal of Chemical Physics, 1999. **111**(18): p. 8613-8621.
323. Hu, M. and G.V. Hartland, *Heat dissipation for Au particles in aqueous solution: Relaxation time versus size*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(28): p. 7029-7033.
324. Perner, M., et al., *Optically induced damping of the surface plasmon resonance in gold colloids*. Physical Review Letters, 1997. **78**(11): p. 2192-2195.
325. Voisin, C., et al., *Size-dependent electron-electron interactions in metal nanoparticles*. Physical Review Letters, 2000. **85**(10): p. 2200-2203.
326. Hu, M., et al., *Heat dissipation in gold-silica core-shell nanoparticles*. Chemical Physics Letters, 2003. **372**(5-6): p. 767-772.
327. Hu, M. and G.V. Hartland, *Heat dissipation for Au particles in aqueous solution: Relaxation time versus size (vol 106B, pg 7030, 2002)*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(5): p. 1284-1284.
328. Fann, W.S., et al., *Direct Measurement of Nonequilibrium Electron-Energy Distributions in Subpicosecond Laser-Heated Gold-Films*. Physical Review Letters, 1992. **68**(18): p. 2834-2837.
329. Fann, W.S., et al., *Electron Thermalization in Gold*. Physical Review B, 1992. **46**(20): p. 13592-13595.
330. Barron, T.H.K., J.G. Collins, and G.K. White, *Thermal-Expansion of Solids at Low-Temperatures*. Advances in Physics, 1980. **29**(4): p. 609-730.
331. Nolting, W., *Theoretische Physik 3, Elektrodynamik*. 1993, Ulmen: Zimmermann-Neufang.
332. Shahbazyan, T.V. and I.E. Prakis, *Size-dependent correlation effects in the ultrafast optical dynamics of metal nanoparticles*. Physical Review B, 1999. **60**(12): p. 9090-9099.
333. Giovanardi, N., *On the Matsubara method in many-body systems*. European J. of Physics, 2001. **22**(2): p. 185-190.
334. Mahan, G.D., *Many-Particle Physics*. 1990, New York: Plenum.
335. Zhukov, V.P., E.V. Chulkov, and P.M. Echenique, *Lifetimes of d holes in Cu and Au: Full-potential LMTO approach*. Physical Review B, 2003. **68**(4): p. -.

336. Borchert, H., et al., *Relations between the photoluminescence efficiency of CdTe nanocrystals and their surface properties revealed by synchrotron XPS*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(36): p. 9662-9668.
337. Lenk, R., *Fachlexikon der Physik, S.930*. 1989, Leipzig: Brockhaus Verlag.
338. Zheng, J., J.T. Petty, and R.M. Dickson, *High quantum yield blue emission from water-soluble Au-8 nanodots*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(26): p. 7780-7781.
339. Apell, P., R. Monreal, and S. Lundqvist, *Photoluminescence of Noble-Metals*. Physica Scripta, 1988. **38**(2): p. 174-179.
340. Klar, T., E. Dulkeith, and J. Feldmann, *Time Resolved Fluorescence Measurements of Fluorophores Close to Metal Nanoparticles*, in *Topics of Fluorescence Spectroscopy*, C.D. Geddes and J.R. Lakowicz, Editors. 2004, Kluwer.
341. Lidke, D.S., et al., *Imaging molecular interactions in cells by dynamic and static fluorescence anisotropy (rFLIM and emFRET)*. Biochemical Society Transactions, 2003. **31**: p. 1020-1027.
342. Lidke, D.S., et al., *Detection of membrane protein association using homotransfer RET (emFRET) imaging*. Biophysical Journal, 2003. **84**(2): p. 486a-486a.
343. de Oliveira, A.H.C., et al., *The effect of resonance energy homotransfer on the intrinsic tryptophan fluorescence emission of the bothropstoxin-I dimer*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001. **284**(4): p. 1011-1015.
344. Tramier, M., et al., *Homo-FRET versus hetero-FRET to probe homodimers in living cells*. Biophotonics, Pt A, 2003. **360**: p. 580-597.
345. Kagan, C.R., C.B. Murray, and M.G. Bawendi, *Long-range resonance transfer of electronic excitations in close-packed CdSe quantum-dot solids*. Physical Review B, 1996. **54**: p. 8633-8643.
346. Förster, T. and B. Selinger, *Der Konzentrationsumschlag der Fluoreszenz aromatischer Kohlenwasserstoffe in mizell-kolloidaler Lösung*. Zeitschrift für Naturforschung, 1964. **19a**: p. 38-41.
347. Barzykin, A.V., V.F. Razumov, and M.V. Alfimov, *Fluorescence Concentration Self-Quenching Dynamics in Monodisperse Micellar Systems*. Journal of Physical Chemistry, 1991. **95**(12): p. 4814-4818.
348. Van der Meer, B.W., G. Coker, and S.S.-Y. Chen, *Resonance Energy transfer, Theory and Data*. 1994, New York: VCH Publishers.
349. Marras, S.A.E., F.R. Kramer, and S. Tyagi, *Efficiencies of fluorescence resonance energy transfer and contact-mediated quenching in oligonucleotide probes*. Nucleic Acids Research, 2002. **30**(21): p. -.
350. Bernacchi, S. and Y. Mély, *Exciton interaction in molecular beacons: a sensitive sensor for short range modifications of the nucleic acid structure*. Nucleic Acids Research, 2001. **29**(13): p. 62.
351. Leitner, A., et al., *Fluorescence Properties of Dyes Adsorbed to Silver-Islands, Investigated by Picosecond Techniques*. Applied Physics B-Photophysics and Laser Chemistry, 1985. **36**(2): p. 105-109.
352. Nanoprobes, *Gold cluster labelling*, [www.nanoprobes.com/LGuide.html](http://www.nanoprobes.com/LGuide.html). 2002, Nanoprobes.
353. Jackson, J.D., *Classical Electrodynamics, S. 812*. second edition ed. 1983, Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1020.
354. Jackson, J.D., *Classical Electrodynamics, S. 957*. second edition ed. 1983, Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1020.
355. Jackson, J.D., *Classical Electrodynamics, S. 744*. second edition ed. 1983, Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1020.



## Danksagung

Die Zahl an Personen, welche direkt oder indirekt zur vorliegenden Dissertation beigetragen haben, ist im Laufe der Jahre stetig gewachsen. Sie ist das Ergebnis vieler interner als auch externer Zusammenarbeiten bzw. Kollaborationen. Es seien an dieser Stelle nur die wichtigsten Personen namentlich erwähnt, ansonsten würde diese Arbeit gar kein Ende mehr nehmen...

Prof. Dr. J. Feldmann, als *“head of the group”* gilt der erste Dank. Durch die freie Wahl zwischen mehreren, sehr unterschiedlichen Promotionsthemen entscheiden zu dürfen, bekam ich gleich zu Beginn meiner Zeit das angenehme Gefühl, Vertrauen entgegengebracht zu bekommen. Es herrschte offenbar Zuversichtlichkeit, dass am Ende meiner Zeit schon etwas Ordentliches aus dem Projekt werden würde.

Ich entschied mich der *„Quencher“* zu werden. Die Freiheit und der Spielraum, auf welche Weise ich das Projekt gestalten durfte habe ich stets sehr genossen. Ebenso die wissenschaftlichen Diskussionen, welche wir miteinander führten. Die Qualität der Arbeit erlebte dadurch jedes Mal einen positiven Schub. Insbesondere der Grundeinstellung, dass *„es schließlich der Doktorand gewesen sei, der im Labor stand, ergo soll auch er auf internationalen Konferenzen die Resultate vortragen“*, bin ich zu tiefem Dank verpflichtet. Auf all den Konferenzen gewann ich viele neue Eindrücke, beruflich als auch privat. Die Kontakte, die ich dadurch zu anderen Gruppen knüpfen konnte, erwiesen sich als ausgesprochen wertvoll für meine berufliche Karriere. Nochmals danke...

Dr. T. A. Klar, stieß vor genau 3 Jahren als neuer Assistent zur Feldmann Truppe hinzu. Als neuer *„Subchef der Quenchingphenomenas“* brachte er einen großen Schwung an Dynamik mit, welche sich in Form von konstruktiven Impulsen hinsichtlich physikalischer Aspekte sofort positiv auf die Arbeit auswirkten. Ich finde wir waren ein sehr effizientes und erfolgreiches *„Nanoparticle-Team“*. Danke für die gute Betreuung und für die stets offene Tür sowie die Vielzahl an Diskussionen.

An dieser Stelle sei selbstverständlich auch allen anderen aktiven oder ehemaligen Assistenten gedankt, denen ich in Diskussionen hin und wieder ein Ohr abknabbern durfte: Dr. J. Lupton, Dr. U. Lemmer und Dr. G. v. Plessen. Insbesondere möchte ich G. v. Plessen für all die Telefonate danken, die viel zum Verständnis der Plasmonemission aus Gold Nanopartikeln (Kap.6) beigetragen haben. John, die Woche mit Dir auf der CLEO in Baltimore war echt super...

Ohne die externen Kollaborationen wäre die Arbeit wohl schon in den Kinderschuhen stecken geblieben. Die Ideen waren ja da, aber wenn keine Proben = auch keine Ergebnisse...

Ich danke S. Levi von der Universität Twente für seinen selbst synthetisierten Lissaminfarbstoff, Markus Seitz vom Lehrstuhl Gaub für all die Tipps und Tricks hinsichtlich Peptidbindungen, sowie D. Gittins und S. Maya vom MPI in Golm für die Bereitstellung von Gold Nanopartikeln ohne lästige Tanninsäure. Ein Extradank nochmals an D. Gittins: Sein unermüdlicher Email- und Telefonsupport haben dazu geführt, dass ich am Ende meine Goldklümpchen selber herstellen konnte.

Ein weiteres Dankschön geht an die Gruppe von Prof. Schubert von der Universität Eindhoven, namentlich Prof. Schubert selbst sowie P. Andres und H. Hofmeier. Die Zusammenarbeit mit Euch und die Arbeit an den Terpyridinkomplexen hat nicht nur viel Spaß gemacht, sondern hat zudem auch Früchte abgeworfen. Ich danke ebenfalls W. Parak vom CeNS. Ohne diese Kompetenz würden die DNA-Au-Proben, und damit auch Kapitel 5.2.2 nicht existieren.

Meinen beiden Diplomanden A. Morteani und T. Niedereichholz möchte ich herzlich danken. Wir waren eine sehr ausgewogene und vielseitige Mini-Mannschaft. So vermochte Arne sich tagelang am PC mit der Programmierung des GN-Modells beglücken, wohingegen Thomas es liebte jeder einzelnen Picosekunde an Zeitauflösung im Labor hinterher zu jagen. Auch die Standhaftigkeit sich am Anfang durch die unzähligen Fehlschläge bei der Probensynthese nicht entmutigen zu lassen, war sehr wichtig für das Projekt.

Ich danke der gesamten „*Feldmann-Meute*“. Die gute Stimmung und der Teamgeist haben meine Zeit am Lehrstuhl zu einer sehr Angenehmen werden lassen. Die breit gestreuten und interessanten Arbeitsgebiete, in Kombination mit den netten Kollegen, endete unweigerlich in unzähligen „Schwätzchen“ über Experimente und dahinter stehende Physik. Durch den Einblick in all diese Richtungen profitierte die eigene Arbeit ebenfalls. Ich habe mich immer sehr wohl gefühlt.

Namentlich will ich nur sehr wenige Personen nennen, da die Danksagung sich ansonsten über mindestens drei weitere Seiten hinweg zöge: T. Franzl, vergiss bitte nicht, Clark Kent lebt weiter! G. Raschke: Hüte Dich vor süßen Flüssigkeiten, da steckt meist der Teufel drinnen (Korsika, ESF 2001)! J. Müller und A. Biebersdorf: Schön, dass Ihr es mit mir in einem Zimmer ausgehalten habt. So konnte die besondere Atmosphäre von Raum 202 (C. Lingk, 2002) aufrechterhalten bleiben...Danke auch all den anderen...

Ich danke den beiden Felsen in der Brandung: W. Stadler und A. Helfrich. Immer da zur rechten Zeit, ob im Physik- oder Chemielabor. Immer eine schnelle, helfende Hand...Werner, danke für all die Touren und Einweisungen an den Geräten der verschiedenen Werkstätten zu meiner „*Terror-Hertz-Zeit*“.

Ich danke meiner gesamten Familie, die mich in jeglicher Hinsicht immer unterstützten, ob mental, emotional und oder finanziell. Mike, du bist der beste Bruder von Welt. Mum und Pup, Ihr seid die Ursache meiner Existenz und habt immer an mich geglaubt, ich liebe Euch alle drei...

Ich danke der unbekanntenen und guten Seele, die dafür gesorgt hat, dass ich als einziger Raucher am Institut einen eigenen Aschenbecher vor dem Haus bekam... ☺

---



---

