

# Aufkonvertierende lumineszierende Nanopartikel als Nanothermometer

Lorenz H. Fischer, Gregory S. Harms und Otto S. Wolfbeis\*

Lanthanoide · Lumineszenz · Nanopartikel · Sensoren · Temperaturmessung

**A**ufkonvertierende lumineszierende Materialien sind in der Lage, nah-infrarotes Licht zu absorbieren und in kürzerwellige Lumineszenz umzuwandeln. Die Effizienz dieses bemerkenswerten Effekts ist stark temperaturabhängig, was die Temperaturmessung mit einer Ortsauflösung im Nanometerbereich ermöglicht. Alle bisher bekannten Aufkonvertierungs-Materialien zeigen mehrere (meistens zwei) schmale Emissionsbanden, jede mit einer eigenen Temperaturabhängigkeit. Das Verhältnis der Intensitäten zweier dieser Banden ist ein selbstreferenziertes Signal zur optischen Temperaturmessung, beispielsweise in Zellen.

## 1. Einleitung

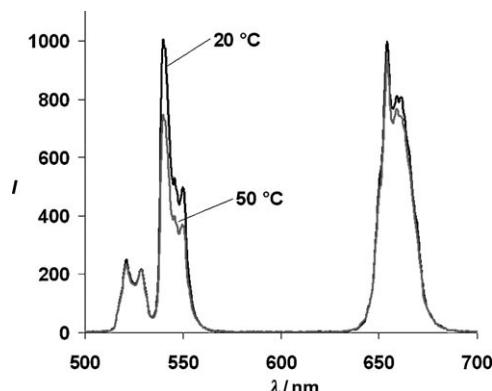
Die Temperatur ist ein fundamentaler Parameter, dessen Messung in Industrieprozessen und in der Forschung unumgänglich ist. Alle bekannten elektrischen Methoden (z.B. Thermistoren und Thermoelemente) erfordern allerdings eine elektrische Kontaktierung und eine Verkabelung. Diese Kontaktierung kann ein starkes elektromagnetisches Rauschen sowie gefährliche Funken verursachen. Ferner sind diese Methoden in korrosiven Milieus störungsanfällig und schwer umzusetzen. Wegen der genannten Einschränkungen wurden kontaktlose Methoden der Temperaturmessung entwickelt,<sup>[1]</sup> von denen die Messung unter Verwendung von Infrarotlicht am weitesten verbreitet ist.<sup>[2]</sup> Diese Methode ermöglicht eine schnelle, bildgebende Bestimmung der Temperatur, setzt allerdings voraus, dass die Emissivität des untersuchten Materials bekannt ist. Eine weitere Einschränkung besteht darin, dass Wasserdampf und gewöhnliche Glasmaterialien das zur Temperaturmessung verwendete Infrarotlicht absorbieren und somit oftmals eine Anwendung verhindern. Vor allem aber ist die Ortsauflösung der Infrarotmethoden durch die Größe der Sensorpixel auf Mikrometerdimensionen beschränkt.<sup>[3]</sup>

Eine Bestimmung der Temperatur über die Lumineszenz im nah-infraroten (NIR-) oder sichtbaren Spektralbereich hat keine derartigen Einschränkungen. Die starke Wirkung der Temperatur  $T$  auf die Lumineszenzintensität von Lanthanoidionen ist seit einiger Zeit bekannt und führte zu verschiedenen Messprinzipien (auch in Kombination mit Faseroptiken),<sup>[5]</sup> die auf der Verwendung von molekularen Temperaturindikatoren basieren.<sup>[4]</sup> Die Arbeiten von Grattan et al. sind hier besonders zu erwähnen.<sup>[6]</sup> Kürzlich wurden Temperaturindikatoren auf Lanthanoidbasis<sup>[7]</sup> in Form von Mikropartikeln<sup>[4b]</sup> und Nanopartikeln<sup>[8]</sup> zum Einsatz in Lösung und in empfindlichen Beschichtungen beschrieben. Allerdings müssen diese Indikatoren im UV- oder im kurzwelligen sichtbaren Bereich des Spektrums angeregt werden, was zu erheblicher Hintergrundfluoreszenz und Raman-Streuung führen kann.

## 2. Materialien mit Aufkonvertierungseffekt

Aufkonvertierungs-Nanopartikel (UCNPs) bestehen aus einem kristallinen Matrixmaterial (üblicherweise Metallfluoride, -oxide, -phosphate oder -sulfide), die mit dreiwertigen Lanthanoidionen dotiert sind.<sup>[9]</sup> Die Dotierungselemente zeigen gewöhnliche Photolumineszenz, wenn sie in der UV/Vis-Region angeregt werden; ihre bemerkenswerteste Eigenschaft besteht in der Emission von sichtbarem Licht nach Anregung mit NIR-Licht. Abbildung 1 zeigt ein typisches Emissionsspektrum und die Temperaturabhängigkeit von UCNPs, die durch Kopräzipitation hergestellt wurden.<sup>[10]</sup> Interessanterweise ist die Lumineszenzintensität der UCNPs im physiologisch wichtigen Bereich zwischen 20 und 50°C besonders temperaturabhängig. Daher liegt eine Anwendung der UCNPs als Temperaturindikatoren für biomedizinische Anwendungen nahe.

[\*] Dipl.-Chem. L. H. Fischer, Prof. O. S. Wolfbeis  
Institut für Analytische Chemie, Chemo- and Biosensorik  
Universität Regensburg, 93040 Regensburg (Deutschland)  
E-Mail: otto.wolfbeis@chemie.uni-r.de  
Dr. G. S. Harms  
Rudolf-Virchow-Zentrum  
Universität Würzburg, 97080 Würzburg (Deutschland)



**Abbildung 1.** Emissionsspektrum von  $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ -UCNPs in 95 % Ethanol bei 20 und 50°C. Anregungswellenlänge 980 nm, Partikelgröße ca. 100 nm.

Das Phänomen der Aufkonvertierungs-Lumineszenz ist das Ergebnis eines nichtlinearen optischen Prozesses, bei dem zwei oder mehr Photonen nacheinander absorbiert werden. Auf diese Absorption folgt die Emission aus einem tiefliegenden, elektronisch angeregten Zustand eines Lanthanoidions. Die Übersichtsartikel von Wang et al.<sup>[11]</sup> und Auzel<sup>[12]</sup> fassen die Materialien sowie deren Synthese und spektrale Eigenschaften zusammen. Tabelle 1 gibt Beispiele für typische Materialien. Unter den vielen beschriebenen Synthesemethoden für UCNPs<sup>[12–13]</sup> erscheint uns<sup>[14]</sup> die so genannte Ölsäuremethode<sup>[15]</sup> sehr brauchbar. Mithilfe dieser relativ einfachen Methode erhält man vergleichsweise kleine (15–25 nm) und einheitliche UCNPs.

**Tabelle 1:** Aufkonvertierungs-Nanopartikel mit blauer, grüner, roter oder nah-infraroter Lumineszenz nach Photoanregung bei etwa 980 nm zusammen mit den Emissionsmaxima ( $\lambda_{\text{em}}$ ) und Partikeldurchmessern ( $\varnothing$ ).

| Material                                      | $\lambda_{\text{em}}$ [nm] | $\varnothing$ [nm] | Lit. |
|---|----------------------------|--------------------|------|
| $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$           | 521, 539, 651              | 30–120             | [16] |
| $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er},\text{Gd}$ | 538, 667                   | 20–30              | [17] |
| $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}$           | 449, 474, 644, 693, 800    | ca. 14             | [18] |
| $\text{BaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}$           | 475, 650, 800              | 15                 | [19] |
| $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Yb},\text{Er}$    | 550, 660                   | ca. 200            | [20] |
| $\text{YPO}_4:\text{Er}$                      | 526, 550, 657, 667         | ca. 7              | [21] |
| $\text{Lu}_2\text{O}_3:\text{Yb},\text{Er}$   | 662                        | 40                 | [22] |
| $\text{YVO}_4:\text{Yb},\text{Er}$            | 525, 550                   | 39                 | [23] |

Für NIR-Anregung werden starke Lichtquellen (üblicherweise Diodenlaser mit mW-Leistung) benötigt. Derartige Laser sind recht klein (etwa wie ein Laserpointer) und erschwinglich. Ferner sind sie in zahlreichen Wellenlängen erhältlich und können auf verschiedene Art moduliert und gepulst werden.

Nur wenig ist über die Effizienz der Lumineszenz (Quantenausbeute, QA) von UCNPs bekannt. Wegen der Nichtlinearität des Prozesses werden die QAs oft abhängig von der Energiedichte der Anregung angegeben und nicht als klassischer prozentualer Wert.<sup>[24]</sup> QAs in der Größenordnung von 1 % wurden für Erbium-dotierte Nanopartikel wie  $\text{RE}_{10}\text{Pb}_{25}\text{F}_{65}$  (RE (rare earth) steht für das Lanthanoidion)



Otto S. Wolfbeis ist Professor für Analytische und Grenzflächenchemie an der Universität Regensburg. Er ist Autor von über 500 Artikeln zu Gebieten wie optische chemische Sensoren und Biosensoren, analytische Fluoreszenzspektroskopie und Fluoreszenzsonden. Er ist Herausgeber eines Buches über faseroptische chemische Sensoren und Biosensoren sowie der Springer-Reihe über Fluoreszenz und ist Kuratoriumsmitglied der Angewandten Chemie. Er erforscht Fluoreszenzsonden und -sensoren, neue Methoden der Grenzflächenchemie und analytische Anwendungen von Funktionsmaterialien (wie Aufkonvertierungs-Nanopartikel und Graphene).



Gregory S. Harms forschte nach seiner Promotion an der University of Kansas als Fulbright Scholar an der ETH Zürich (Schweiz), in Linz (Österreich) und in Leiden (Niederlande), wo er die Grundlagen für die Detektion von einzelnen fluoreszierenden Proteinen und Einzelionenkanälen durch Stromfluss und Fluoreszenz legte. Im Anschluss war er Wissenschaftler im Pacific Northwest National Laboratory (USA). Derzeit leitet er die Mikroskopie-Abteilung des Bio-Imaging Centers und Rudolf-Virchow-Zentrums in Würzburg. Zudem ist er Professor für Mikroskopie und Biophysik in Würzburg sowie für Physik, Ingenieurwesen, Biologie und Chemie an der Wilkes University (USA).



Lorenz H. Fischer erhielt 2008 sein Diplom an der Universität Regensburg und promoviert derzeit am Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik unter Anleitung von Prof. Wolfbeis. Im Rahmen seiner Forschungen befasst er sich mit dünnen Filmen von dualer Empfindlichkeit und mit Beschichtungen für die Messung von Sauerstoff (d. h. des Luftdrucks) und der Temperatur.

mit einer Größe von 8 nm berichtet.<sup>[24b]</sup> Bei einer  $\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ -Kodotierung des gleichen Matrixmaterials werden hingegen QAs von bis zu 15 % erreicht. Derart hohe Quantenausbeuten werden auf niedrige Phononenenergie und geringe Abstände zwischen den Lanthanoidionen in den Fluoridwirkristallen zurückgeführt.<sup>[24,25]</sup> Boyer und van Veggel<sup>[26]</sup> haben kürzlich eine Methode zur Bestimmung der absoluten QAs solcher Nanomaterialien beschrieben. Mit Lanthanoidionen dotierte UCNPs zeigen bei einer Größe von 10 bis 100 nm eher niedrige QAs (0.005–0.3 %), während das entsprechende Volumenmaterial einen Wert von bis zu 3 % erreicht.

Die Aufkonvertierung von glasartigen Materialien und Volumenmaterialien wird seit Beginn der 1990er Jahre zur Messung der Temperatur angewendet.<sup>[27]</sup> Dazu wird das Objekt, dessen Temperatur bestimmt oder abgebildet werden soll (beispielsweise die Oberfläche eines Reaktors), üblicherweise mit den UCNPs und einem Bindermaterial aus Glas oder einem organischen Polymer beschichtet.<sup>[28]</sup> Alternativ kann das Material auch an der Spitze einer Faseroptik,<sup>[29]</sup> auf Silica-on-Silicon-Wellenleitern<sup>[30]</sup> oder an der

Wolframspitze eines Rasterthermomikroskops<sup>[31]</sup> aufgebracht werden.

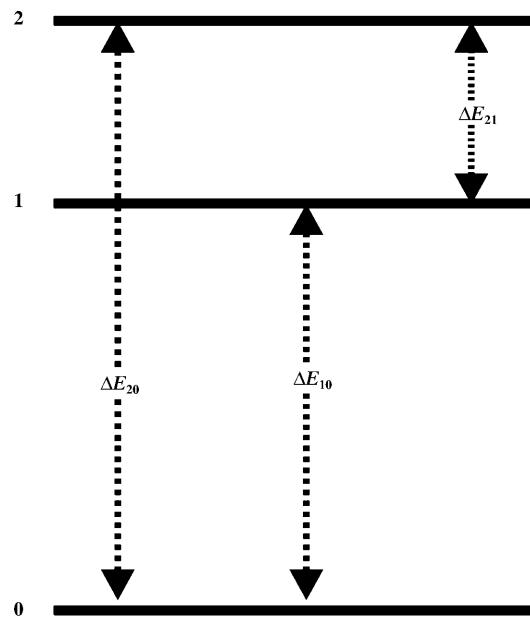
Diese Ansätze sind weder für eine Ortsauflösung im Nanometerbereich noch für intrazelluläre Anwendungen geeignet. Werden mikrometergroße Partikel verwendet, können sie außerdem wegen ihrer Größe wie eine thermische Isolierung wirken. Bei bildgebenden Verfahren wird die Ortsauflösung auch durch die Streuung des Anregungslights sowie des emittierten Lichts beeinflusst. Die typischerweise verwendeten Kristallpartikel sind mehr als  $0.4\text{ }\mu\text{m}$  groß, haben relativ rauhe Oberflächen und streuen das Licht stark, was die Ortsauflösung erheblich limitiert.

Diese Einschränkungen konnten durch Verkleinern der Partikelgröße in den Nanometerbereich umgangen werden. Die interessanteste Anwendungsmöglichkeit der nanoskaligen Temperatursensorik ist die Temperaturmessung in Zellen. Die Gruppe von Uchiyama<sup>[32]</sup> hat die erste Methode hierfür beschrieben. Dabei wird ein stark hydrophiles, fluoreszierendes, organisches Nanohydrogel in das Cytoplasma eingetragen. Die Fluoreszenzintensität dieses Nanohydrogels steigt mit zunehmender Temperatur. Tikhomirov et al.<sup>[33]</sup> haben vorgeschlagen, UCNP als Nanoheizelemente für Hyperthermie-Anwendungen in Zellen zu verwenden; man könnte auf diese Weise simultan zum Heizen auch die Temperatur über das Intensitätsverhältnis zweier Banden verfolgen. Die Verwendung von UCNP für optische chemische Sensoranwendungen (wobei die Temperatur allerdings bekannt und idealerweise konstant sein muss, um verlässliche Daten zu generieren) ist vor Kurzem zusammengefasst worden.<sup>[34]</sup> Ferner ebnen Nanomaterialien den Weg für biologische und biomedizinische Anwendungen<sup>[32,35]</sup> sowie für Biokonjugation und bildgebende Verfahren.<sup>[14]</sup> Der große Vorteil beim Einsatz von UCNP liegt darin, dass NIR-Licht das Gewebe leicht durchdringen kann und keine Hintergrundfluoreszenz hervorruft. Die (ratiometrischen) Messungen können so praktisch ohne Grundsignal durchgeführt werden. Hinzu kommt, dass das Verhältnis zweier Intensitäten unabhängig von Schwankungen der Intensität des Anregungslichtes ist.<sup>[36]</sup>

### 3. Temperaturabhängigkeit der UCNP-Lumineszenz

Die Temperaturabhängigkeit der Lumineszenz der UCNP ist komplex und materialspezifisch. Chen et al.<sup>[37d]</sup> beschreiben, dass die Aufkonvertierungs-Lumineszenz von  $\text{Mn}^{2+}$ -Ionen in  $\text{ZnS}:\text{Mn}^{2+}$  temperaturempfindlicher ist als die entsprechende Stokes-Lumineszenz, bei der Partikel im UV/Vis-Bereich angeregt werden. Generell beruht die Messung der Temperatur auf der Messung des Intensitätsverhältnisses zweier Übergänge mit unterschiedlicher Temperaturabhängigkeit.<sup>[36,38]</sup> Abbildung 2 zeigt ein Diagramm der Energiezustände, die einem solchen Intensitätsverhältnis zugrunde liegen.

Gleichung (1) beschreibt die Temperaturabhängigkeit des Verhältnisses  $R$  der beiden Intensitäten ( $I_{20}/I_{10}$ ).  $A$  ist eine Konstante,  $\Delta E_{21}$  bezeichnet die Energiedifferenz zwischen den beiden angeregten Zuständen, und  $k$  ist die Boltzmann-Konstante. Für physiologische Anwendungen wie Hyper-

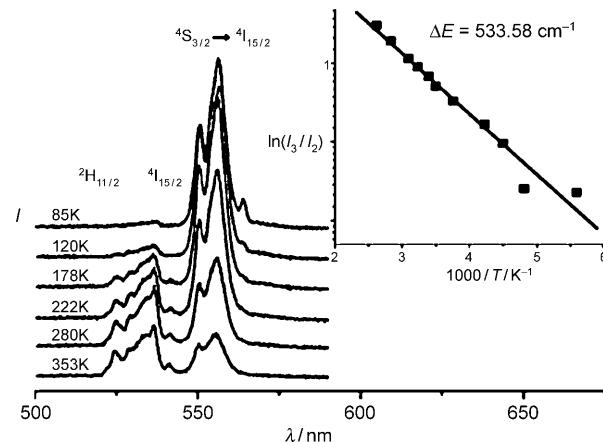


**Abbildung 2.** Zustandsdiagramm zweier benachbarter angeregter Zustände und eines Grundzustandes in einem Lanthanoidion. Siehe auch Lit. [30a].

thermie in der Krebstherapie ist eine Temperaturauflösung von  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  wünschenswert, für industrielle Anwendungen hingegen ist eine Auflösung von  $\pm 2^\circ$  bei über  $200^\circ\text{C}$  meist ausreichend. Abbildung 3 zeigt typische Aufkonvertierungs-Spektren bei verschiedenen Temperaturen und eine entsprechende Kalibrationskurve.

$$R = \frac{I_{20}}{I_{10}} = A \exp\left(-\frac{\Delta E_{21}}{kT}\right) \quad (1)$$

Der Logarithmus von  $R$  wird gewöhnlich gegen die reziproke Temperatur aufgetragen. In Tabelle 2 sind die Parameter dreier typischer UCNP angegeben. Die Empfindlichkeit (sensitivity,  $S$ ) ist ebenfalls temperaturabhängig und wird durch Gleichung (2) definiert. Die Angaben in Tabelle 2 be-



**Abbildung 3.** Temperaturabhängigkeit des Aufkonvertierungs-Spektrums von  $\text{ZnO}:\text{Er}^{3+}$ -Nanopartikeln. Einschub: Temperaturabhängigkeit des Logarithmus des Intensitätsverhältnisses der Übergänge  $^2\text{H}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$  (bezeichnet als  $I_3$ ) und  $^4\text{S}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$  (bezeichnet als  $I_2$ ). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [37a].

**Tabelle 2:** Zusammensetzung und Eigenschaften verschiedener Arten von Aufkonvertierungs-Nanopartikeln zur optischen Temperaturmessung. Alle Angaben gelten für Photoanregung im Bereich um 980 nm.

| Matrixmaterial                 | Dotierungselement                   | Partikelgröße [nm] | Anregungsdichte [ $\text{kWcm}^{-2}$ ] | $\lambda_{\text{em}}$ [nm] | $S^{[a]}$     | Temperaturbereich [K] | Lit.  |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------|--|----------------------------|---------------|-----------------------|-------|
| ZnO                            | Er <sup>3+</sup>                    | 80                 | 27.5–51                                | 536, 553                   | 6.2 bei 443 K | 273–573               | [37a] |
| Gd <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | Er <sup>3+</sup> , Yb <sup>3+</sup> | 17–50              | –                                      | 523, 548                   | 3.9 bei 300 K | 300–900               | [37b] |
| BaTiO <sub>3</sub>             | Er <sup>3+</sup>                    | 26                 | 2                                      | 526, 547                   | 5.2           | 310–500               | [39]  |
| NaYF <sub>4</sub>              | Yb <sup>3+</sup> , Tm <sup>3+</sup> | 50–100             | –                                      | 475, 800                   | –             | –                     | [49]  |

[a] Empfindlichkeit  $S$  (sensitivity), ausgedrückt als  $10^{-3} \text{ d}R/\text{dT}$ , wobei  $R = (I_{20}/I_{10})$  und  $T$  in K angegeben ist [Gl. (2)].

ziehen sich auf die maximalen Empfindlichkeiten. Wie man sehen kann, wird ein sehr breiter Temperaturbereich abgedeckt.

$$S = \frac{dR}{dT} = R \left( \frac{\Delta E_{21}}{kT^2} \right) \quad (2)$$

Die Abbildungen 1 und 2 zeigen, dass die Lumineszenzintensität aller Übergänge mit steigender Temperatur abnimmt. Dieser Effekt kann durch eine Arrhenius-Gleichung beschrieben werden [Gl. (3)]. Hier steht  $N_T$  für die Population des Zustands bei einer Temperatur  $T$  und  $\tau$  für die Lebenszeit des angeregten Zustands. Der reziproke Wert von  $\tau$  entspricht der Summe an strahlenden und strahlunglosen Relaxationsraten.

$$N_T = N_0 \exp\left(\frac{-T}{\tau}\right) \quad (3)$$

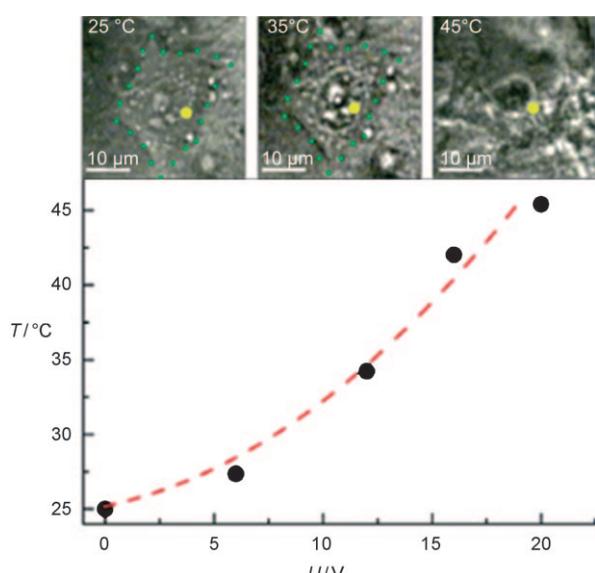
Die Rate der strahlunglosen Relaxation steigt mit zunehmender Temperatur, und folglich sinken die Lumineszenzintensitäten sowie die Lumineszenzlebenszeiten der verschiedenen Übergänge.<sup>[37b]</sup> Es liegt auf der Hand, dass nicht alle Übergänge in gleicher Weise temperaturabhängig sind. Wang et al.<sup>[37a]</sup> und Singh et al.<sup>[37b]</sup> beschreiben, dass bei niedrigen Temperaturen die Intensität des  $S_1 \rightarrow S_0$ -Übergangs höher ist als jene des  $S_2 \rightarrow S_0$ -Übergangs, sich dieses Verhältnis bei hohen Temperaturen jedoch umkehrt. Eine Beeinflussung der Temperaturabhängigkeit durch das Kristallgitter kann die Situation noch deutlich komplizierter machen. Wenn die UCNPs durch die Methode der Kopräzipitation hergestellt werden, muss die kubische Form noch thermisch (Tempern) in die hexagonale Form überführt werden. Dieses Tempern resultiert in einer relativ hohen Aufkonvertierungs-Effizienz, allerdings ist die Überführung in die hexagonale Form meist unvollständig.

Die Temperatur der Phasenumwandlung beeinflusst auch die Temperaturempfindlichkeit der Lumineszenz,<sup>[37a]</sup> da sie sich auf die Energiedifferenz zwischen den angeregten Zuständen auswirkt. Dieser Zusammenhang wurde am Beispiel von Er<sup>3+</sup>-Ionen in einer ZnO-Matrix aufgezeigt. Je höher die Temperatur beim Tempern war, desto größer ist auch die Temperaturempfindlichkeit. Allgemein hat die Temperatur eine größere Auswirkung auf Nano- als auf Volumenmaterialien. Ein möglicher Grund hierfür liegt in der größeren Bedeutung von Oberflächendefekten bei Nanomaterialien und der dadurch verstärkten Elektron-Phonon-Wechselwirkung.<sup>[37b,39]</sup> Ferner muss man bedenken, dass das Aufheizen

von aufkonvertierenden Nanopartikeln durch NIR-Licht deutlich wirksamer ist als in Volumenmaterialien.<sup>[33]</sup> Dieses zusätzliche Aufheizen wird auf ein Verweilen der Quanten des Anregungslichts in den Nanopartikeln (quantum confinement) zurückgeführt.

Eine besonders vielversprechende Anwendung von Nanomaterialien mit Sensorfunktion ist das Messen intrazellulärer Parameter wie der Temperatur<sup>[32,40]</sup> oder des pH-Wertes.<sup>[41]</sup> Vor Kurzem haben Vetrone et al.<sup>[40]</sup> gezeigt, dass UCNPs vom Typ NaYF<sub>4</sub>:Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup> als Nanoindikatoren für die Temperatur in Gebärmutterhalskrebszellen (HeLa-Typ) eingesetzt werden können. UCNPs aus NaYF<sub>4</sub>:Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup> mit einer durchschnittlichen Größe von 18 nm werden von derartigen Zellen effizient aufgenommen. Die Partikel wurden bei 920 nm mit einer Energiedichte von unter 0.5 kW cm<sup>-2</sup> angeregt. Die grüne Lumineszenz der UCNPs wurde mithilfe eines Konfokalmikroskops und eines damit verbundenen hochauflösenden Spektrometers aufgezeichnet. Die Zellen wurden extern aufgeheizt, und anschließend wurde die interne Temperatur einer beleuchteten Zelle gemessen. Hierzu wurde das Intensitätsverhältnis der Emissionen bei 525 und 545 nm berechnet. So konnten durch das externe Heizen Schwankungen der intrazellulären Temperatur bestimmt werden, wobei es simultan noch möglich war, Bilder der Zellen aufzunehmen. In Abbildung 4 sind die Ergebnisse einer derartigen Messung dargestellt.

Abbildung 5 zeigt Befunde unserer Arbeitsgruppe. Hier wurden UCNPs aus NaYF<sub>4</sub>:Yb, Er, die entsprechend der Literatur synthetisiert wurden,<sup>[10]</sup> zur optischen Messung der Temperatur in menschlichen embryonalen Nierenzellen (HEK-293-Typ) eingesetzt. In die Zellen wurden UCNPs inkorporiert, und im Anschluss wurden spektral aufgelöste Bilder aufgenommen. Die Grün- und Rotbilder ( $I_{539}/I_{651}$ ) wurden bei 18 und 33°C mithilfe eines konfokalen Fluoreszenzmikroskops (Leica TCS SP5 MP) aufgenommen. Als Anregungslichtquelle fungierte ein Ti:Saphir-Laser mit einer Wellenlänge von 980 nm, der im Femtosekundenbereich gepulst wurde. Die Anregungsenergie betrug 50 mW am Objektiv. Spektral selektive Photonenzählrohre dienten als Detektoren, eingesetzt für die Spektralbereiche von 520 bis 540 nm (grüne Emission) und von 630 bis 660 nm (rote Emission). Die Intensität der grünen Lumineszenz (510–530 nm) bleibt annähernd konstant; ihre Änderung mit der Temperatur ist sehr gering gegenüber derjenigen der gelb-grünen (530–560 nm) und der roten Emission (siehe Abbildung 1). Das Intensitätsverhältnis von roter und grüner Emission ist einfacher zu bestimmen als das von zwei eng beieinander liegenden Banden.

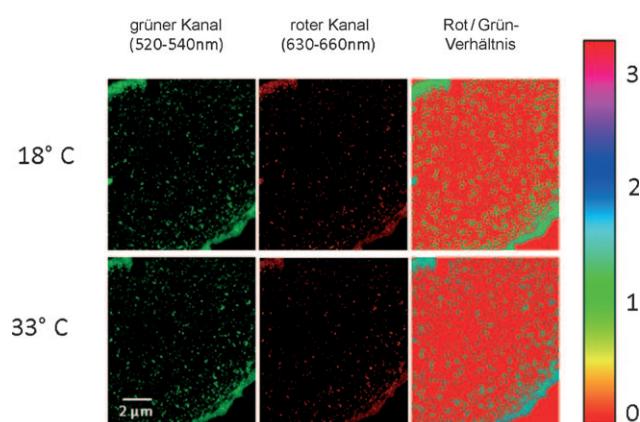


**Abbildung 4.** Oben: Durchlichtbilder einer einzelnen HeLa-Zelle bei drei internen Temperaturen. Der Zelltod tritt bei 45 °C ein. Unten: Intrazelluläre Temperatur einer HeLa-Zelle, die über die Lumineszenz des Er<sup>3+</sup>-Ions in NaYF<sub>4</sub>:Er,Yb-UCNPs bestimmt wurde. Die Temperatur ist abhängig von der angelegten Heizspannung aufgetragen. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [40].

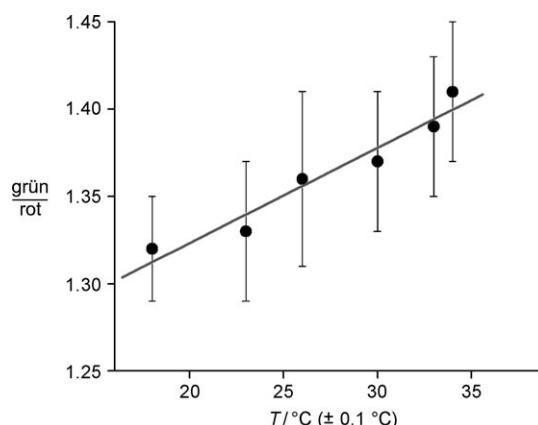
Ratiometrische Messungen sind ausgesprochen zuverlässig, wie beispielsweise anhand der Temperaturmessung mit Eu,Tb-basierten Polymernanopartikeln mit dualer Emission gezeigt wurde.<sup>[8b]</sup> Im Fall von UCNP-basierten Sensoren ist die Möglichkeit zum ratiometrischem Messen durch das Auftreten von mindestens zwei unterschiedlich empfindlichen Banden besonders offensichtlich.<sup>[14,34,41,42]</sup> In Abbildung 6 ist das Verhältnis der gemittelten Intensitäten des grünen und roten Kanals aus den Bildern in Abbildung 5 gegen die Temperatur aufgetragen. Die Temperaturauflösung in diesem Beispiel ist nur moderat, was auch an der Berechnung der Werte aus den Daten der Mikroskopbilder liegen dürfte. Im Anschluss wurden im gleichen Temperaturbereich auch Bilder der reinen UCNPs aufgenommen, die das gleiche Verhalten wie in den intrazellulären Messungen zeigten.

## 4. Ausblick

UCNPs ermöglichen erstmals die ratiometrische Bestimmung der Temperatur anhand der Fluoreszenz im Inneren von Zellen. Die Ortsauflösung liegt im Nanometerbereich, und eine Hintergrundfluoreszenz ist wegen der Photoanregung mit NIR-Licht praktisch nicht vorhanden. Die Anregungswellenlänge liegt zudem im biologischen Fenster von Gewebe (700–1000 nm). Eine mögliche zukünftige Anwendung dieser Methode ist die Bestimmung der Temperatur in Zellen, aber auch in artifiziellen submikrometerkleinen Strukturen und Geräten. Andere denkbare Anwendungsbereiche sind z.B. Temperaturbestimmungen in mikro- und nanofluidischen Systemen,<sup>[4g,43]</sup> in Mikro-/Nano-/Femtovolumina, wie sie zuletzt in der (Bio-)Chemie eingesetzt wurden,<sup>[44]</sup> bei der thermisch induzierten Freisetzung von Wirkstoffen,<sup>[45]</sup>



**Abbildung 5.** Temperaturabhängige Bilder von humanen embryonalen Nierenzellen, die mit UCNPs aus NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er transzitier wurden (siehe Tabelle 1 und Lit. [10]). Die Ortsauflösung der Bilder liegt im Submikrometerbereich. Die Unterschiede der Lumineszenzintensitäten im grünen (links) und im roten Kanal (Mitte) sind deutlich zu erkennen. In den Bildern rechts ist das Grün/Rot-Verhältnis in Pseudofarben dargestellt. Die abgebildete Farbskala gibt die entsprechenden Werte des Verhältnisses an.



**Abbildung 6.** Kalibrationsdiagramm der temperaturempfindlichen UCNPs in HEK-Zellen. Die Partikel wurden anhand von Lit. [10] synthetisiert.

in Mikrotröpfchen bei chemischen Syntheseverfahren<sup>[46]</sup> und überall dort, wo exotherme chemische<sup>[47]</sup> oder enzymatische<sup>[48]</sup> Reaktionen in Mikro- oder Nanodimensionen ablaufen. Die Aussichten sind also vielversprechend, jedoch gilt es noch einige Herausforderungen zu bewältigen: So ist es erforderlich, a) UCNPs in besser kontrollierbarer Größe und mit höheren Quantenausbeute herzustellen, b) die Art, die Konzentration und das relative Verhältnis der zur Dotierung verwendeten Lanthanoidionen zu optimieren und c) das Matrixmaterial zu optimieren. Auf diesem Weg kann das große Ziel der UCNP-Forschung erreicht werden: eine Temperaturauflösung von  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  oder sogar besser.

Eingegangen am 1. November 2010,  
veränderte Fassung am 17. Januar 2011  
Online veröffentlicht am 14. April 2011

- [1] a) P. R. N. Childs, J. R. Greenwood, C. A. Long, *Rev. Sci. Instrum.* **2000**, *71*, 2959; b) A. H. Khalid, K. Kontis, *Meas. Sci. Technol.* **2009**, *20*, 025305.
- [2] E. M. Graham, K. Iwai, S. Uchiyama, A. P. de Silva, S. W. Magennis, A. C. Jones, *Lab Chip* **2010**, *10*, 1267.
- [3] J. Hartmann, P. Voigt, M. Reichling, *J. Appl. Phys.* **1997**, *81*, 2966.
- [4] a) L. N. Sun, J. B. Yu, H. S. Peng, J. Z. Zhang, L. Y. Shi, O. S. Wolfbeis, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 12642; b) M. I. J. Stich, M. Schaeferling, O. S. Wolfbeis, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 2216; c) S. Nagl, M. I. J. Stich, M. Schaeferling, O. S. Wolfbeis, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *393*, 1199; d) M. I. J. Stich, S. Nagl, O. S. Wolfbeis, U. Henne, M. Schaeferling, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 1399; e) H. S. Peng, M. I. J. Stich, J. B. Yu, L. N. Sun, L. H. Fischer, O. S. Wolfbeis, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 716; f) G. Liebsch, I. Klimant, O. S. Wolfbeis, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 1296; g) D. Ross, M. Gaitan, L. E. Locascio, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4117; h) L. H. Fischer, S. M. Borisov, M. Schaeferling, I. Klimant, O. S. Wolfbeis, *Analyst* **2010**, *135*, 1224; i) L. H. Fischer, M. I. J. Stich, O. S. Wolfbeis, N. Tian, E. Holder, M. Schaeferling, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10857.
- [5] B. Lee, *Opt. Fiber Technol.* **2003**, *9*, 57.
- [6] a) K. T. V. Grattan, O. S. Wolfbeis, Vol. 2 (Hrsg.: O. S. Wolfbeis), CRC, Boca Raton, **1991**; b) T. Sun, Z. Y. Zhang, K. T. V. Grattan, *Rev. Sci. Instrum.* **2000**, *71*, 4017.
- [7] S. M. Borisov, O. S. Wolfbeis, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 5094.
- [8] a) H. Peng, S. Huang, O. S. Wolfbeis, *J. Nanopart. Res.* **2010**, *12*, 2729; b) C. D. S. Brites, P. P. Lima, N. J. O. Silva, A. Millan, V. S. Amaral, F. Palacio, L. D. Carlos, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 4499.
- [9] F. Wang, Y. Han, C. S. Lim, Y. Lu, J. Wang, J. Xu, H. Chen, C. Zhang, M. Hong, X. Liu, *Nature* **2010**, *463*, 1061.
- [10] G. S. Yi, H. C. Lu, S. Y. Zhao, G. Yue, W. J. Yang, D. P. Chen, L. H. Guo, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 2191.
- [11] F. Wang, X. G. Liu, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 976.
- [12] F. Auzel, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 139.
- [13] a) W. R. Zipfel, R. M. Williams, R. Christie, A. Y. Nikitin, B. T. Hyman, W. W. Webb, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 7075; b) P. Rahman, M. Green, *Nanoscale* **2009**, *1*, 214.
- [14] H. S. Mader, P. Kele, S. M. Saleh, O. S. Wolfbeis, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 582.
- [15] a) Y. W. Zhang, X. Sun, R. Si, L. P. You, C. H. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3260; b) J. C. Boyer, F. Vetrone, L. A. Cuccia, J. A. Capobianco, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7444.
- [16] Q. Wang, M. C. Tan, R. Zhuo, G. A. Kumar, R. E. Riman, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, *10*, 1685.
- [17] R. Kumar, M. Nyk, T. Y. Ohulchanskyy, C. A. Flask, P. N. Prasad, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 853.
- [18] X. J. Xue, W. P. Qin, D. S. Zhang, D. Zhao, G. D. Wei, K. Z. Zheng, L. L. Wang, G. F. Wang, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, *10*, 2028.
- [19] F. Vetrone, V. Mahalingam, J. A. Capobianco, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 1847.
- [20] M. Kamimura, D. Miyamoto, Y. Saito, K. Soga, Y. Nagasaki, *Langmuir* **2008**, *24*, 8864.
- [21] S. Heer, O. Lehmann, M. Haase, H. U. Gudel, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3288; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3179.
- [22] J. Yang, C. M. Zhang, C. Peng, C. X. Li, L. L. Wang, R. T. Chai, J. Lin, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 4649.
- [23] S. T. G. Mialon, G. Dantelle, D. P. Collins, M. Hadjipanayi, R. A. Taylor, T. Gacoin, A. Alexandrou, J.-P. Boilot, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 22449.
- [24] a) V. D. Rodríguez, V. K. Tikhomirov, J. Méndez-Ramos, J. del-Castillo, C. Görller-Walrand, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2009**, *9*, 2072; b) V. K. Tikhomirov, M. Mortier, P. Gredin, G. Patriarche, C. Görller-Walrand, V. V. Moshchalkov, *Opt. Express* **2008**, *16*, 14544.
- [25] M. Mortier, G. Patriarche, *Opt. Mater.* **2006**, *28*, 1401.
- [26] J. C. Boyer, F. C. J. M. van Veggel, *Nanoscale* **2010**, *2*, 1417.
- [27] a) H. Berthou, C. K. Jorgensen, *Opt. Lett.* **1990**, *15*, 1100; b) B. Dong, D. P. Liu, X. J. Wang, T. Yang, S. M. Miao, C. R. Li, *Appl. Phys. Lett.* **2007**, *90*; c) A. K. Singh, S. B. Rai, *Appl. Phys. B* **2007**, *86*, 661; d) G. Tripathi, V. K. Rai, S. B. Rai, *Opt. Mater.* **2007**, *30*, 201; e) B. Dong, Z. Q. Feng, J. F. Zu, L. Bai, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2008**, *48*, 303; f) C. R. Li, B. Dong, L. Li, M. K. Lei, *Chin. Phys. B* **2008**, *17*, 224.
- [28] C. R. Li, B. Dong, C. G. Ming, M. K. Lei, *Sensors* **2007**, *7*, 2652.
- [29] a) G. S. Maciel, M. A. R. C. Alencar, C. B. de Araujo, A. Patra, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, *10*, 2143; b) D. M. Henry, J. H. Herringer, N. Djeu, *Appl. Phys. Lett.* **1999**, *74*, 3447; c) P. V. dos Santos, M. T. de Araujo, A. S. Gouveia-Neto, J. A. M. Neto, A. S. B. Sombra, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, *73*, 578.
- [30] a) D. N. Messias, M. V. D. Vermelho, A. S. Gouveia-Neto, J. S. Aitchison, *Rev. Sci. Instrum.* **2002**, *73*, 476; b) S. P. Wang, S. Westcott, W. Chen, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 11203.
- [31] E. Saidi, B. Samson, L. Aigouy, S. Volz, P. Low, C. Bergaud, M. Mortier, *Nanotechnology* **2009**, *20*, 0.
- [32] C. Gota, K. Okabe, T. Funatsu, Y. Harada, S. Uchiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2766.
- [33] V. K. Tikhomirov, K. Driesen, V. D. Rodríguez, P. Gredin, M. Mortier, V. V. Moshchalkov, *Opt. Express* **2009**, *17*, 11794.
- [34] D. E. Achatz, A. Reham, O. S. Wolfbeis, *Top. Curr. Chem.*, DOI: 10.1007/128\_2010\_98.
- [35] a) M. Nyk, R. Kumar, T. Y. Ohulchanskyy, E. J. Bergey, P. N. Prasad, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 3834; b) D. K. Chatterjee, Z. Yong, *Nanomedicine* **2008**, *3*, 73; c) D. K. Chatterjee, A. J. Rufalhah, Y. Zhang, *Biomaterials* **2008**, *29*, 937.
- [36] S. A. Wade, S. F. Collins, G. W. Baxter, *J. Appl. Phys.* **2003**, *94*, 4743.
- [37] a) X. Wang, X. G. Kong, Y. Yu, Y. J. Sun, H. Zhang, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 15119; b) S. K. Singh, K. Kumar, S. B. Rai, *Sens. Actuators A* **2009**, *149*, 16; c) A. G. Joly, W. Chen, J. Roark, J. Z. Zhang, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2001**, *1*, 295; d) W. Chen, A. G. Joly, J. Z. Zhang, *Phys. Rev. B* **2001**, *64*, 041202-1.
- [38] G. S. Maciel, L. D. Menezes, A. S. L. Gomes, C. B. de Araujo, Y. Messaddeq, A. Florez, M. A. Aegeirter, *IEEE Photonics Technol. Lett.* **1995**, *7*, 1474.
- [39] M. A. R. C. Alencar, G. S. Maciel, C. B. de Araujo, A. Patra, *Appl. Phys. Lett.* **2004**, *84*, 4753.
- [40] F. Vetrone, R. Naccache, A. Zamarron, A. J. de La Fuente, F. Sanz-Rodriguez, L. M. Maestro, E. M. Rodríguez, D. Jaque, J. G. Sole, J. A. Capobianco, *ACS Nano* **2010**, *4*, 3254.
- [41] H. S. Peng, J. A. Stolwijk, L. N. Sun, J. Wegener, O. S. Wolfbeis, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4342; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4246.
- [42] a) D. E. Achatz, R. J. Meier, L. H. Fischer, O. S. Wolfbeis, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 274; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 260; b) L. N. Sun, H. S. Peng, M. I. J. Stich, D. Achatz, O. S. Wolfbeis, *Chem. Commun.* **2009**, 5000.
- [43] a) C. Gosse, C. Bergaud, P. Low, *Therm. Nanosys. Nanomater.* **2009**, *118*, 301; b) T. Robinson, Y. Schaerli, R. Wootton, F. Hollfelder, C. Dunsby, G. Baldwin, M. Neil, P. French, A. Demello, *Lab Chip* **2009**, *9*, 3437.
- [44] a) C. Hany, H. Lebrun, C. Pradere, J. Toutain, J. C. Batsale, *Chem. Eng. J.* **2010**, *160*, 814; b) H. H. Gorris, D. R. Walt, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3970; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3880.
- [45] S. W. Choi, Y. Zhang, Y. Xia, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8076; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7904.
- [46] A. Huebner, S. Sharma, M. Srivastava, F. Hollfelder, J. B. Edel, A. J. Demello, *Lab Chip* **2008**, *8*, 1244.
- [47] A. J. deMello, *Nature* **2006**, *442*, 394.
- [48] A. Huebner, L. F. Olgun, D. Bratton, G. Whyte, W. T. S. Huck, A. J. de Mello, J. B. Edel, C. Abell, F. Hollfelder, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3890.
- [49] A. Sedlmeier, Masterarbeit, Universität Regensburg, **2011**.