



Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Schlussbericht

Teilvorhaben

CarboTox – Entwicklung von Screening-Verfahren zur Untersuchung eines möglichen kanzerogenen Potentials von Carbon Nanotubes

Förderkennzeichen: 03X0109B

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung
2. Voraussetzungen für die Durchführung des Vorhabens
3. Planung und Ablauf des Vorhabens
4. Wissenschaftlich-technischer Stand vor dem Start des Vorhabens
5. Kooperationen

II. Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse
 - 1.1. Synthese der CNTs, Auswahl der Herstellungsmethode
 - 1.2. Charakterisierung der CNTs

- 1.3. Dispersion und Längenmessung an CNTs
2. Zusammenfassung, Einschätzung und Möglichkeiten der Verwertung
3. Veröffentlichungen
4. Literatur

Anlage: Erfolgskontrollbericht

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Im Verbundprojekt CarboTox (Partner Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentalmedizin Hannover, ITEM) übernahm das Institut für Festkörper- und Werkstoffforschung Dresden die Aufgabe, eine Reihe von maßgeschneiderten Kohlenstoffnanoröhren (CNTs) über CVD zu synthetisieren. Dabei sollten CNTs mit unterschiedlichen Durchmessern und Längen, unterschiedlichem Aspektverhältnis und unterschiedlichen Defektdichten synthetisiert werden, um deren tumorogene Wirkung mittels *in vitro* bzw. *in vivo* Tests zu bestimmen. In der kostenneutralen Projektverlängerung sollte ein Verfahren zur quantitativen Erfassung der Krümmungswinkel individualisierter in Dispersion befindlicher CNTs erarbeitet werden. Alle synthetisierten CNTs wurden im IFW komplex charakterisiert und in ausreichenden Mengen dem Verbundpartner zur Verfügung gestellt.

2. Voraussetzungen für die Durchführung des Vorhabens

Zur erfolgreichen Bearbeitung des Vorhabens konnte das IFW seine langjährigen Erfahrungen sowohl in der Anwendung verschiedener CVD-Verfahren zur CNT-Synthese als auch in der Charakterisierung von Kohlenstoff-Nanostrukturen unter Einbezug unterschiedlicher Analysemethoden einbringen. Ebenso konnte auf anfängliche größere Investitionen verzichtet werden, da für die Synthese der CNT verschiedene CVD-Anlagen bereits zu Beginn des Projektes zur Verfügung standen, die sowohl die entsprechende Optimierung der CNTs ermöglichten, als auch Mengen im g-Bereich produzieren konnten. Ebenfalls stand für die weiteren Arbeitsschwerpunkte die experimentelle Basis von Anfang an zur Verfügung und der nötige Sachverstand wurde durch einen erfahrenen Wissenschaftler eingebracht. Somit waren alle Voraussetzungen für eine erfolgreiche Bearbeitung des Projektes gegeben.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Forschungsarbeiten des Teilvorhabens gliedern sich in folgende Arbeitsleistungen, wobei die Gliederung hier auch gleichzeitig der zeitlichen Folge der Arbeiten entspricht:

- Synthese von CNTs mittels Festbett- bzw. Aerosol-CVD. Mit welcher Methode können maßgeschneiderte CNTs besser hergestellt werden? Während beim Festbett-CVD-Verfahren insbesondere Hüllenzahl und Durchmesser der CNTs variiert werden können, liefert das Aerosolverfahren MWCNTs mit hoher Kristallinität und tubularer Struktur (undotiert), bei Dotierung mit Stickstoff (Precursor Azetonitril) CNTs mit sogenannter „bamboo-like“ Struktur.
- Komplexe Charakterisierung aller Typen von CNTs durch verschiedene Methoden (REM, (HR)TEM, XPS, XRD, BET, Raman).
- Reinigung der CNTs und Herstellung von stabilen Dispersionen der verschiedenen MWCNTs.
- Vermessung individueller CNTs aus den verschiedenen Chargen, Bestimmung von Länge und Durchmesser der MWCNTs. Als Zusatz wurde in der kostenneutralen Verlängerung ebenfalls die „Verbiegung, Krümmung“ der MWCNTs quantitativ ermittelt.
- Belieferung der Projektpartner mit verschiedenen MWCNT- Chargen (Variation Durchmesser/Länge) für in vitro und in vivo Tests

Bei regelmäßigen Projekttreffen und durch bilaterale Kontakte wurden alle Ergebnisse ständig besprochen und die notwendigen Schlussfolgerungen gezogen.

4. Wissenschaftlich-technischer Stand vor dem Start des Vorhabens

Über die toxische Wirkung von Kohlenstoffnanoröhren wurde in der einschlägigen Literatur zu Beginn des Projektes recht widersprüchlich und nur in qualitativer Weise berichtet. Arbeitsplatzspezifische Grenzwerte existieren bis heute nicht. Das Projekt hatte die Aufgabe, an maßgeschneiderten und komplex charakterisierten MWCNTs den Einfluss von Durchmesser, Länge und Struktur (Defektdichte) bzw. Oberflächenbeschaffenheit der Tubes auf ihre kanzerogene Wirkung in Zellkulturen als auch durch direkte Inhalation im Tierversuch zu untersuchen. Hinsichtlich der Synthese dieser CNTs war der Wissensstand in der Literatur noch relativ gering [1-5] Für das IFW ergab sich damit ein wissenschaftliches Neuland, über den Zusammenhang speziell zwischen Herstellungsparametern und resultierenden geometrischen Abmessungen der CNTs gab es nur spärliche Hinweise aus der Literatur.

5. Kooperationen

Innerhalb des Projektverbundes war eine enge Kooperation beider Projektpartner durch regelmäßige Projekttreffen und Telefonkonferenzen gewährleistet. Neue, auf Grund erworbener Erkenntnisse beruhende Aufgaben und Probleme wurden diskutiert und unmittelbar einer Lösung zugeführt. Auf den Projekttreffen wurden die einzelnen

Arbeitspakete konkretisiert und die Arbeitsaufgaben aller Partner aktualisiert. Darüber hinaus hat die sehr sachliche und hilfreiche Beratung durch den Vertreter der Bayer AG maßgeblichen Anteil an der erfolgreichen Bearbeitung des Projektes.

Die im Projekt synthetisierten CNTs und CNFs konnten teilweise auch in anderen vom BMBF geförderten Forschungsprojekten Anwendung finden. Insbesondere die in der Innovationsallianz Carbon Nanotubes angesiedelten Technologie- und Anwendungsprojekte CarboScale, CarboMetal und CarboMembran verwendeten diese CNTs erfolgreich.

II. Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse

1.1. Beschreibung der verwendeten CVD-Methoden

Zur Synthese der maßgeschneiderten Kohlenstoff-Nanoröhren (CNT1, CNT2, CNT3, CNT3a, CNT4 und CNT5) wurden drei unterschiedliche CVD-Methoden eingesetzt – je nach Zielstellung, ob SWCNT, DWCNT oder MWCNT/Fasern hergestellt werden sollten. Die Methoden unterscheiden sich in der Auswahl des Kohlenwasserstoffes (C_xH_y) als Kohlenstoffquelle und in welcher Form der Katalysator bereitgestellt wird.

Sublimationsmethode

Bei dieser Methode [6] wird der Katalysator (alternativ Eisen, Kobalt oder Nickel) mittels einer metallorganischen Verbindung (Gruppe der Metallocene $Me(Fe,Co,Ni)(C_5H_5)_2$) in den Reaktionsraum über eine direkte Sublimation der Metallocene eingebracht. Im Reaktionsraum zersetzt sich dann dieser Precursor bei Herstellungstemperaturen der CNTs von 700-1100°C spontan zu metallischen Nanopartikeln, die Ausgangspunkt für das Wachstum der Nanoröhren sind. Bei Verwendung von Benzen als Kohlenstoff-Spender sind dabei z.B. Temperaturen von ~ 1100 °C erforderlich. Mit Hilfe dieser Methode wurden sehr dicke (bis 100nm Durchmesser) MWCNTs synthetisiert, die eher einer Faser gleich zusetzen sind. In den Toxizitäts-Untersuchungen beim Projektpartner ITEM wurden diese Nanoröhren mit CNT3 bezeichnet. Im Folgenden sind die Prozessdaten für die CNT3 zusammengefasst:

CNT3-Synthese durch die Sublimations-Methode mit Benzen

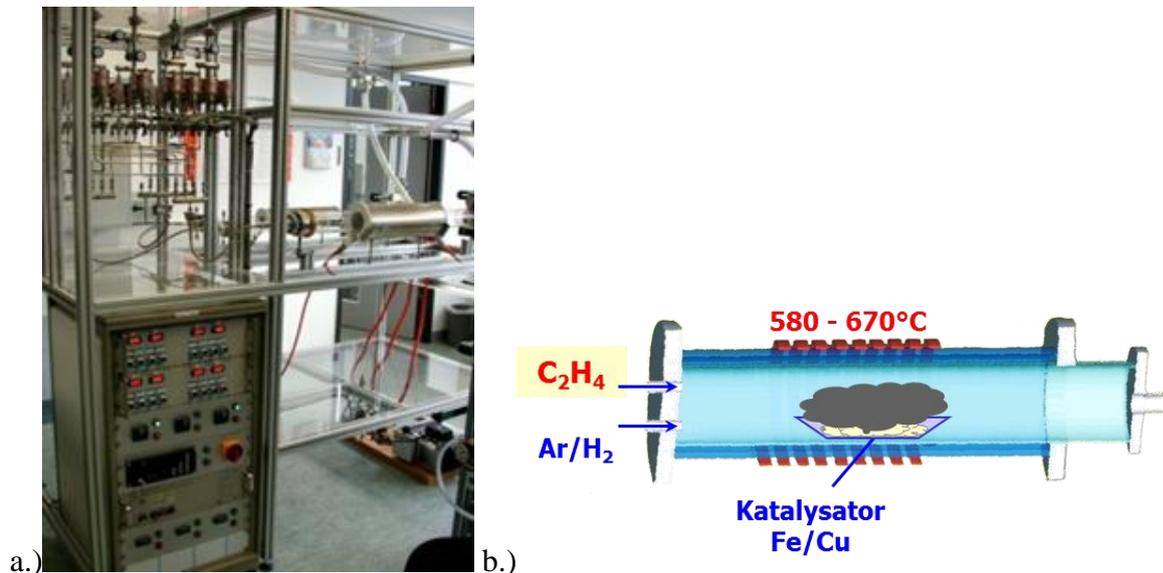
Kohlenstoff-Quelle:	Benzen (C_6H_6)
Katalysator-Quelle:	Ferrocen (C_5H_5) ₂ Fe
Transportgas:	Ar /H ₂
Temperatur:	Ferrocen-Sublimation: 100-130°C Synthesetemperatur: 1150-1175°C
Zeit:	10-30 Minuten
Gasflussrate:	250sccm

Festbettmethode

Bei dieser Methode [7] wird ein oxydisches Pulver (Hauptkomponente MgO) als Trägermaterial verwendet und mit aktivem Katalysator Fe, Co oder Nickel beladen. Dieses Pulver wird als Festbett (IFW) oder als Wirbelschicht (industriell bei Bayer AG) im Syntheseraum deponiert und bei entsprechender Temperatur mit einem Kohlenwasserstoff zusammengebracht. Durch unterschiedliche Zusammensetzungen des Pulvers (unterschiedliche Oxide) können so optimierte Katalysatormaterialien hergestellt und sehr hohe Ausbeuten an Kohlenstoffnanoröhren unterschiedlicher Hüllenanzahl und damit Außendurchmesser erreicht werden.

Mit dieser Methode können SWCNT mit Durchmesser von $\sim 1\text{nm}$, doppelwandige Tubes (2-4nm) und MWCNTs mit Durchmessern von mehr als 50nm synthetisiert werden [8]. So wie bei der Sublimationsmethode werden auch die CNTs als „verfilztes“ Gewebe erhalten, wobei dieser Filz hier dichter erscheint. Dem Projektpartner ITEM wurde unter der Bezeichnung CNT4 und CNT5 eine Mischung aus ein-, doppel- und mehr-wandigen Kohlenstoffnanoröhren für in vitro-Tests zur Verfügung gestellt. Die CNT5 waren im „as grown“ Zustand (ungereinigt, hydrophob), während die CNT4 in HNO_3 gewaschen und dadurch mit OH-Gruppen funktionalisiert wurden, was zu Hydrophilie führt. In beiden Fällen gab es große Probleme mit der Herstellung stabiler Dispersionen, da diese CNT-Mischungen stark zu Agglomeration neigen.

Abb. 1 zeigt eine CVD Apparatur aus dem IFW Dresden, in der Kohlenstoffnanoröhren mit Hilfe der Festbettmethode hergestellt wurden.





c.)

Abb.1: Festbett-CVD- Anlage, Foto(a.) und schematische Darstellung (b), c.) oxydisches Katalysatormaterial

Im Folgenden sind die Prozessdaten für die Synthese der CNT4 und CNT5 dargestellt:

CNT4/5-Synthese durch Festbettmethode

Kohlenstoff-Quelle: Ethylen (C_2H_4)
 Festbettkatalysator: Fe/Mo/MgO bzw. Fe/Co/Mo/MgO
 Transportgas: Ar / H_2 (1:1)
 Temperatur: $700^\circ C$
 Zeit: 60 Minuten
 Gasflussrate: 250sccm (davon 40sccm C_2H_4)

Aerosol-gestützte Methode

In Abb.2 ist die im Projekt verwendete Aerosol-CVD-Anlage zu sehen. Prinzipiell liefert dieses Verfahren sehr saubere CNT, eine nachträgliche Entfernung von Ruß bzw. Katalysatorpartikeln ist nicht erforderlich, was bei der Festbett-methode ja zwingend notwendig ist, um allein schon den oxydischen Katalysator (Basis MgO) zu entfernen.

Das Prinzip des Verfahrens ist folgendes [9]: Eine meist metallorganische Verbindung, die das Katalysatormetall (Fe, Co oder Ni) als Bestandteil besitzt, wird in einem entsprechenden flüssigen Kohlenwasserstoff (Cyclohexan , Acetonitril) gelöst und mittels eines Ultraschalls vernebelt. Dieses Aerosol wird mit einem Trägergas (Ar, H_2) in den Reaktor transportiert, wo es sich bei den hohen Synthese-Temperaturen thermisch zersetzt (sowohl Kohlenwasserstoff, als auch metallorganische Verbindung) und sich die Kohlenstoffnanröhren bilden. Bei Einsatz von Cyclohexan entstehen CNTs mit gut ausgebildeter tubularer Struktur (siehe Abb. 3a). Bei Einsatz eines stickstoffhaltigen Kohlenwasserstoffes (z. B. Acetonitril (CH_3CN)) können n-leitende stickstoffdotierte CNTs hergestellt werden, deren Struktur jedoch bambusähnlich (bamboo-like) ausgebildet ist, wie in Abb. 3b zu erkennen ist.

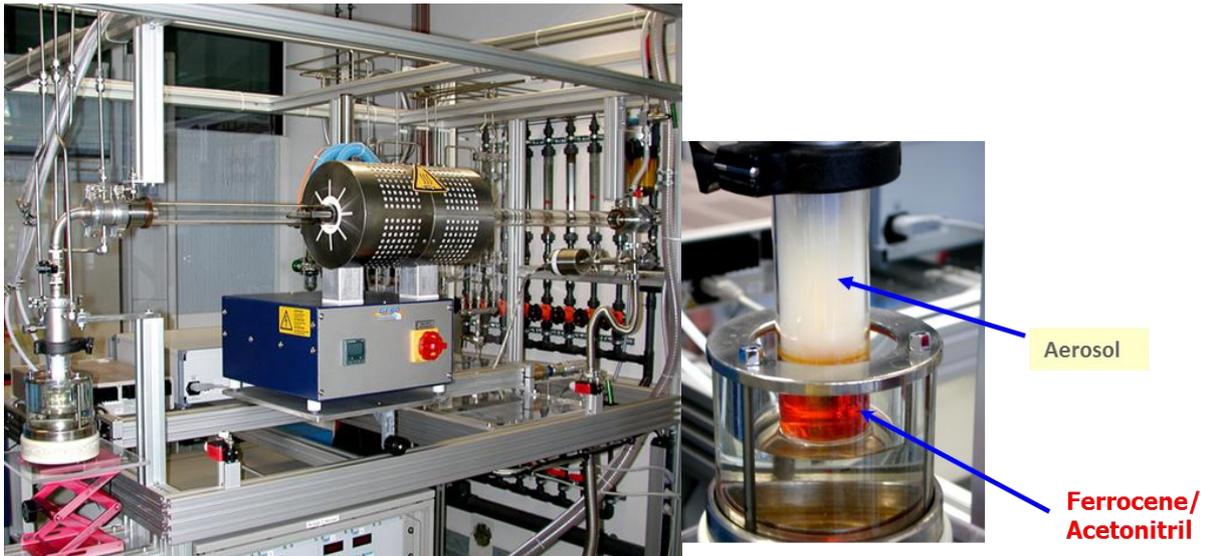


Abb. 2: Aerosol-CVD Anlage des IFW Dresden e.V. mit beweglichem Synthese-Ofen zur Herstellung von multi-walled Carbon Nanotubes (rechts im Detail Ultraschall-Topf mit Ferrocen/Acetonitril-Lösung)

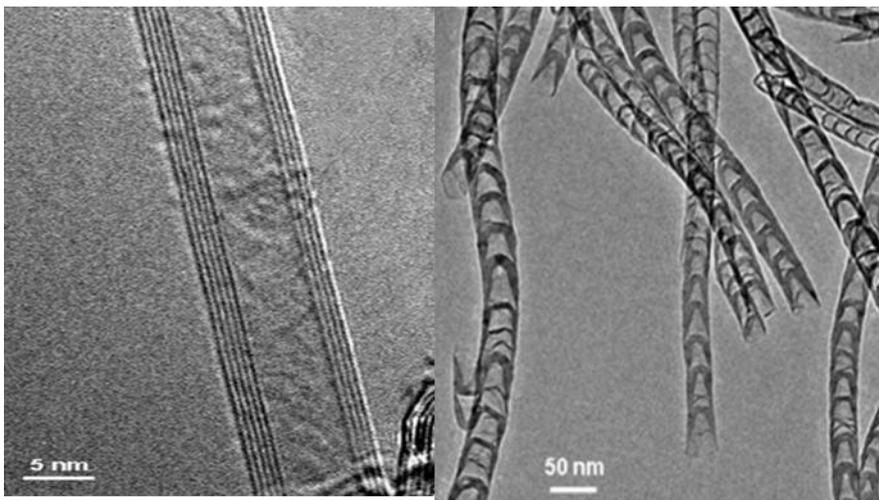


Abb. 3: Multi-walled Carbon Nanotubes (Aerosol-CVD)
3a: tubulare Struktur; **3b:** "bamboo-like" Struktur

Im Folgenden sind die Prozessparameter für die Herstellung der CNT1, CNT2 und CNT3a zusammengestellt:

CNT1-, CNT2- und CNT3a- Synthese mittels Aerosolmethode

Kohlenstoff-Quelle: Cyclohexan (C_6H_{12})(CNT2, CNT3a) / Acetonitril (CH_3CN)(CNT1)

Katalysator-Quelle: Ferrocen (C_5H_5)₂Fe (CNT2, CNT3a)

Cobaltocen (C_5H_5)₂Co (CNT1)

Gase: Ar und H₂

Temperatur: 750- 900 °C (höhere Temperatur CNT3a)

Zeit: 30 Minuten

Gasstrom: 1100 sccm

1.2. Charakterisierung der Kohlenstoffnanoröhren

In diesem Abschnitt werden die an den Projektpartner FhG ITEM Hannover gelieferten Proben CNT1, CNT2, CNT3, CNT3a, CNT4 und CNT5 durch verschiedene Methoden charakterisiert.

1.2.1. REM/TEM-Charakterisierung

Die raster- und transmissions-elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem FEI NOVA NANOSEM 200 bzw. einem FEI TECNEI F30 durchgeführt.

Probe CNT1

Probe CNT1, synthetisiert mittels Aerosol-CVD und Acetonitril als Precursor zeigt grundsätzlich nach der Synthese einen „Teppich“ von relativ gut ausgerichteten CNTs, wie in Abb. 4 zu sehen ist. Diese CNT- Bündel werden von der Quarzglasreaktorwand abgekratzt und zur Individualisierung in verschiedene Dispersionsmittel eingebracht. Die REM und TEM Untersuchungen wurden aber direkt an den pulverartigen „as grown“ Proben durchgeführt.

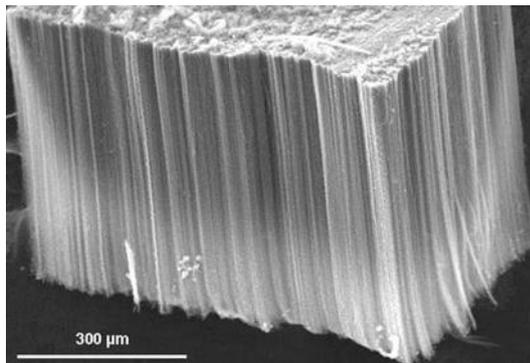


Abb. 4: Typischer „CNT-Teppich“, charakteristisch für das Aerosol-CVD- Verfahren

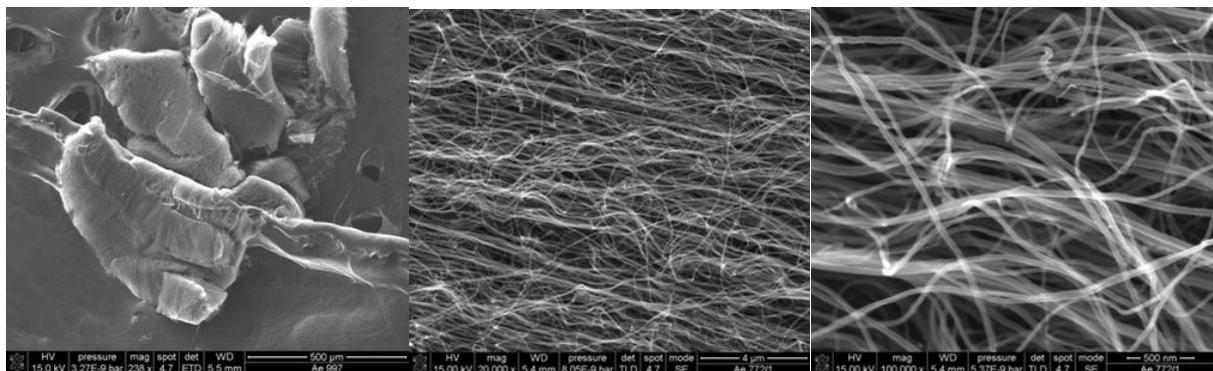


Abb.5: REM- Bilder von einem typischen CNT-Teppich bei unterschiedlichen Vergrößerungen

Aus Abb. 5 erkennt man bei höheren Vergrößerungen deutlich, dass zwar eine gewisse Vorzugsorientierung der einzelnen Nanoröhren vorliegt, aber jede einzelne doch sehr verbogen und abgelenkt ist und keine typische Nadelmorphologie besitzt.

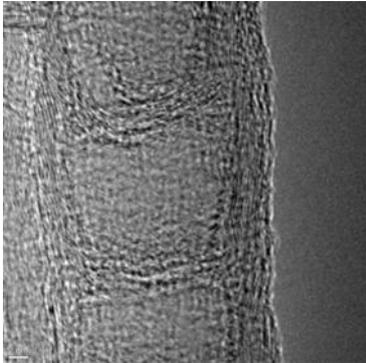


Abb. 6: TEM-Aufnahme von einem CNT1, (bambusähnliche Struktur, Brücken in äquidistanten Abständen)

Abb. 6 zeigt im TEM- Bild die Feinstruktur der CNT1. Durch den Einbau von Stickstoff in die Nanoröhren bilden sich die deutlich zu sehenden Brücken, die die bambusähnliche Struktur auszeichnen.

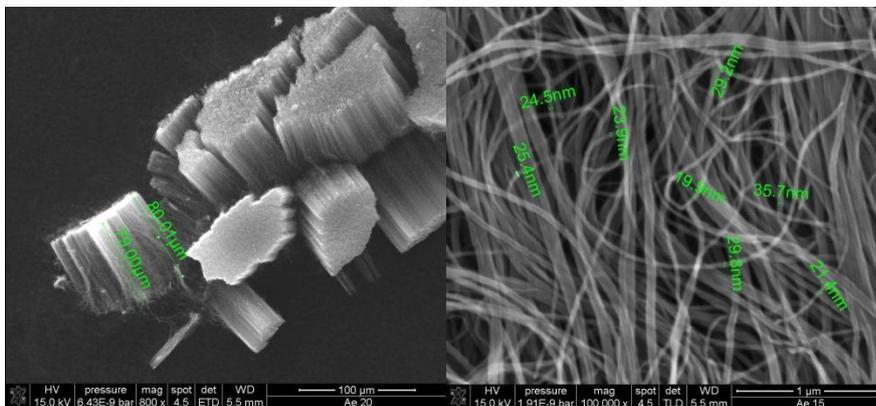
Mit REM und TEM konnten, statistisch abgesichert, der Durchmesser der CNTs und ihre kristalline Struktur festgestellt werden. Die Länge der einzelnen Röhren konnten dagegen nicht erfasst werden (im REM ist Anfang und Ende einer einzelnen Röhre im Teppichgeflecht schwer zu ermitteln, im TEM ist das Aspektverhältnis zu groß).

Als mittlerer Durchmesser der CNT1 wurde ein Wert von 23 ± 9 nm bestimmt.

Für die Bestimmung der Längen der CNTs ist ein spezielles Verfahren ausgearbeitet wurden, was später beschrieben wird.

Probe CNT2

Diese mit Cyclohexan im Aerosolverfahren hergestellten MWCNTs haben ähnliche Außendurchmesser, wie die stickstoffdotierten CNT1-Probe, jedoch eine tubulare Hüllenstruktur, wie es Abb.7b zeigt.



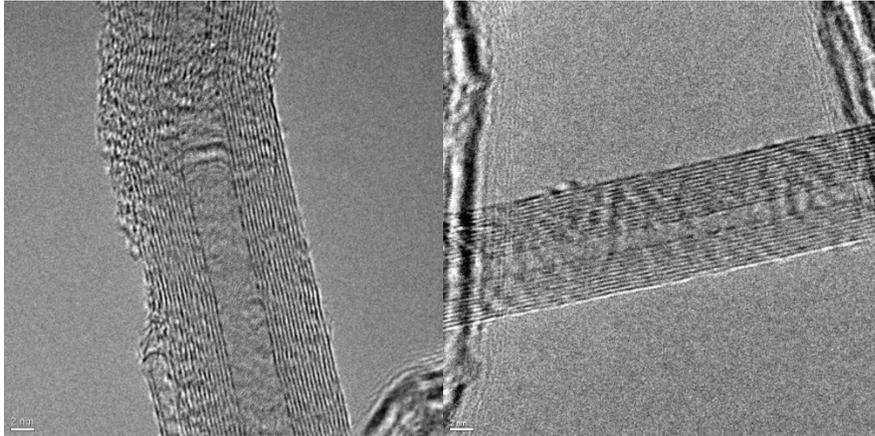


Abb.7: a): REM -Aufnahmen von typischen „Teppich“ von MWCNTs (links) und Filz der MWCNTs bei höherer Vergrößerung (rechts) **b):** TEM- Aufnahmen zeigen den tubularen Strukturcharakter der CNT2 Proben (unten)

Im REM wurden an mehr als 100 CNT2 die Außendurchmesser ermittelt. Es ergab sich ein mittlerer Durchmesser von 30 ± 8 nm.

Proben CNT3/CNT3a

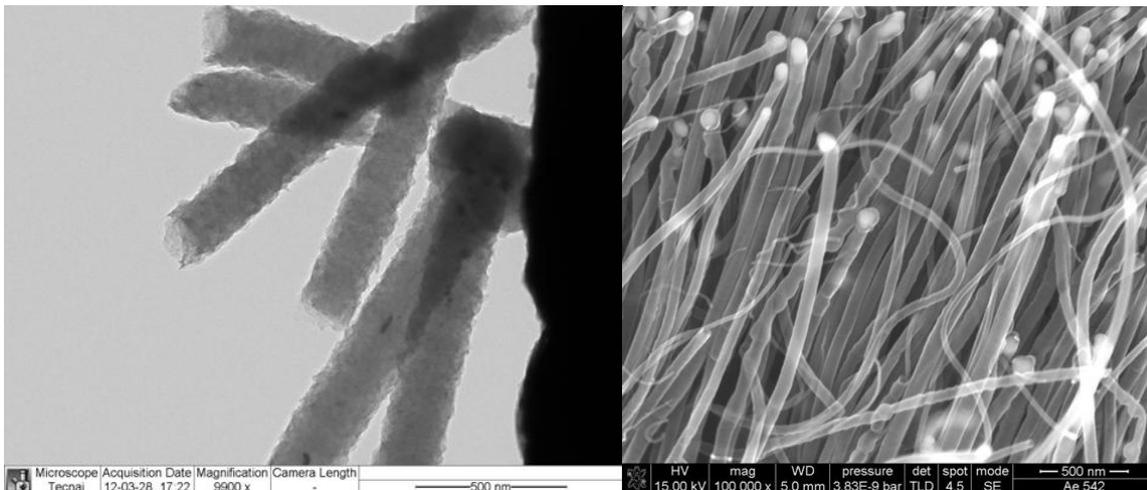


Abb.8: REM- Aufnahmen der Probe CNT3 (mittlerer Durchmesser 57 ± 20 nm)

Die Proben CNT3 und CNT3a waren extrem dicke Kohlenstoffnanoröhren, CNT3 hergestellt mittels Sublimationsmethode und Benzen als Kohlenwasserstoff bzw. CNT3a im Aerosolverfahren und Cyclohexan als Solvent für Ferrocen als Katalysatorlieferant (Fe). Die mittleren Außendurchmesser betragen 57 ± 20 bzw. 60 ± 15 nm. Aus den REM-Bildern und noch deutlicher aus TEM- Aufnahmen, konnte erkannt werden, dass diese MWCNT-Typen bedeutend gerader, nadelförmiger waren als CNT1 und CNT2 (siehe Ab.9)

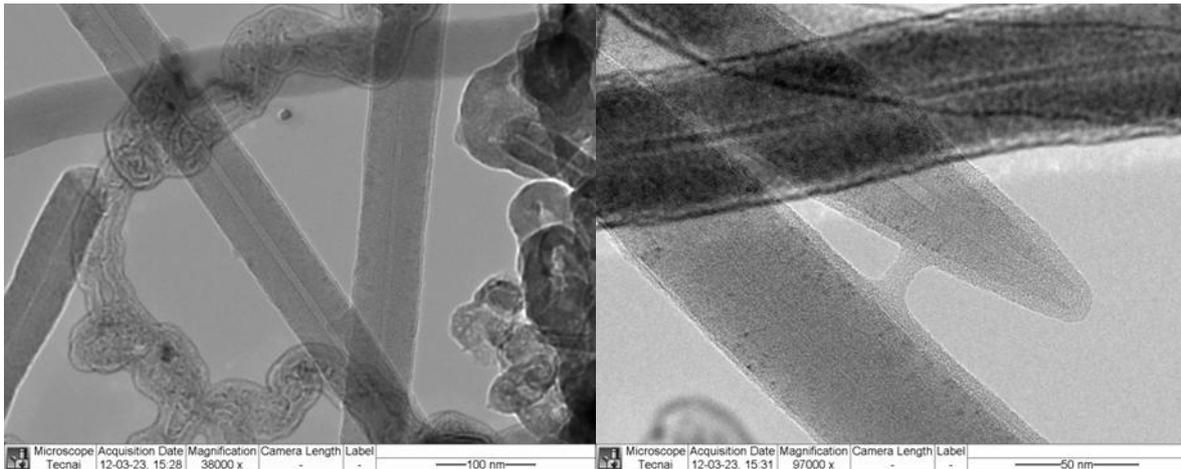


Abb.9: TEM- Aufnahmen der Probe CNT3 zeigen den nadelförmigen Habitus der CNTs.

Proben CNT4 und CNT5

Diese Proben zeichnen sich durch ihren kleinen Durchmesser aus. Sie sind ein Gemisch aus SW/DW und MWCNTs und wurden mit Methan über die FestbettCVD hergestellt. Der mittlere Durchmesser lag bei 15 ± 5 nm, wobei die SWCNTs einen Durchmesser von 1-2nm besitzen, einige MWCNTs Durchmesser bis 30nm aufzeigen können.

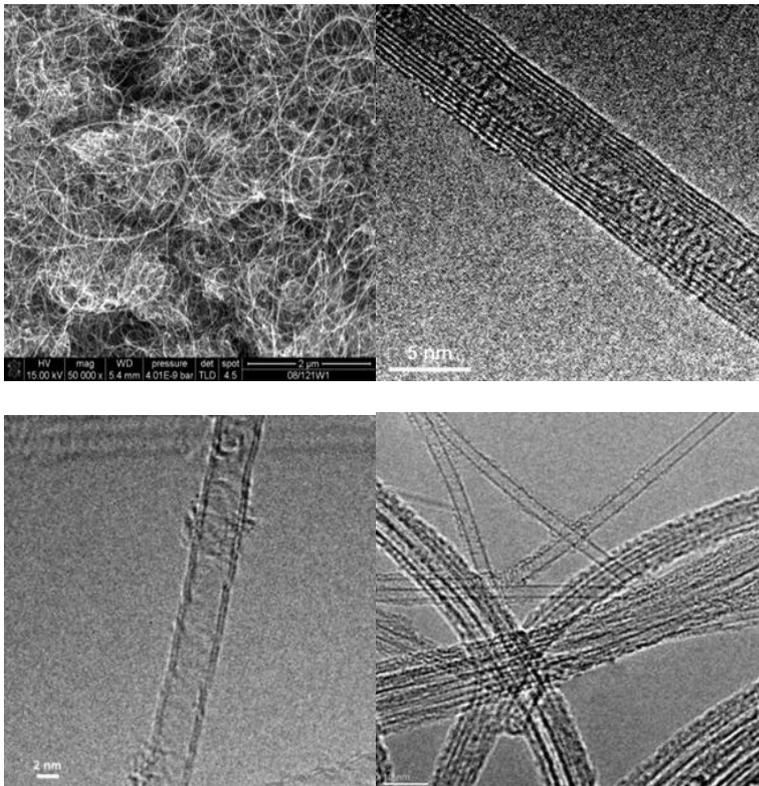


Abb.10 : Festbett-CNT5- Filz, bestehend aus MWCNTs (rechts oben), DWCNTs (links unten) und SWCNTs (rechts unten)

Während CNT5 im „as grown“ Zustand dem Projektpartner zur Verfügung gestellt wurde, war CNT4 durch eine Säurebehandlung mit –OH- Gruppen funktionalisiert worden, was zu

keiner strukturellen Veränderung führte und somit nicht sichtbar wurde in REM- oder TEM-Aufnahmen.

1.2.2. Raman-, BET-, TGA- und XPS- Untersuchungen an den Proben CNT1 bis CNT5

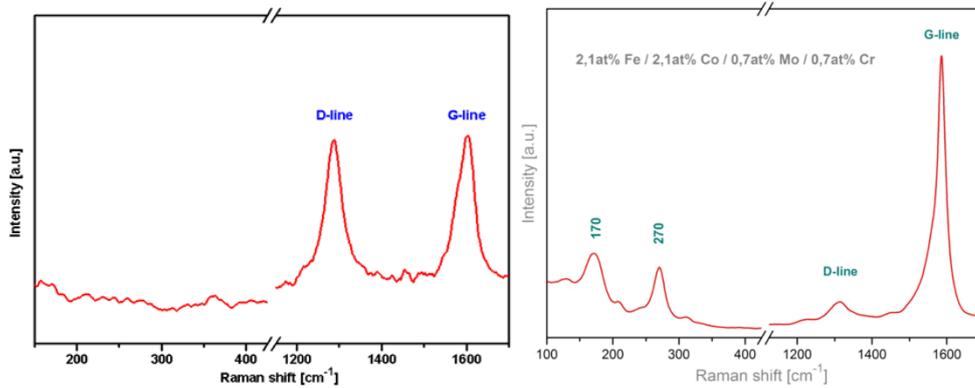


Abb.11: typische Raman-spektren von MWCNTs (CNT1, CNT2, CNT3, links) und SW/DW/MW-CNTs (CNT5, rechts)

Die Raman-Spektroskopie bietet grundsätzlich zwei Informationen über die Konstitution von Kohlenstoffnanoröhren [10]. Die typischen Peaks bei 1347cm^{-1} und 1580cm^{-1} korrespondieren mit der sogenannten Defekt- bzw. der Graphit- Bande. Ihr Intensitätsverhältnis I_D/I_G wird oft als Maß für die Defektdichte der CNTs herangezogen. Dieses Verhältnis schwankt bei MWCNTs um den Wert 1, für die hier untersuchten CNT1- CNT3 liegt er zwischen 1,0 und 1,3, was für Kohlenstoffnanoröhren, hergestellt über CVD, nicht ungewöhnlich ist. Das I_D/I_G -Verhältnis verringert sich dramatisch, wenn ein- und doppelwandige CNTs in der Probe vorhanden sind und der sogenannte „radial breathing mode“ bei einer Raman-Shift zwischen 170 und 300cm^{-1} auftritt. Dann variiert das Verhältnis I_D/I_G zwischen 0,01 und 0,03. Die Proben CNT4 und CNT5 zeigen derartige Ramanspektren, wobei die –OH funktionalisierten CNT4 ein etwas höheres I_D/I_G zeigen, weil die Behandlung in Säure die Defektdichte leicht erhöht.

Die spezifische Oberflächen der einzelnen CNT-Proben wurden mittels der BET-Methode gemessen. Während der Wert für die MWCNTs CNT1- CNT3 relativ konstant bleibt und zwischen 52 und $60\text{m}^2/\text{g}$ liegt, steigt er bei CNT4 und CNT5 merklich an ($480\text{m}^2/\text{g}$). Reine SWCNTs haben einen BET- Wert von ca. $1000\text{m}^2/\text{g}$. XPS- Messungen an den Oberflächen der verschiedenen CNT-Proben sollten eventuelle signifikante Unterschiede aufzeigen. So wurden die Proben CNT1 bis CNT3 hinsichtlich ihres Gehaltes an Sauerstoff bzw. Stickstoff untereinander verglichen. Tabelle 1 zeigt die mittels der 1s Elektronen von Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff ermittelten Konzentrationen.

Tabelle 1: XPS- Resultate (N, O, C- Gehalte) in den Proben CNT1 – CNT3

Probe	C 1s at%	N 1s at%	O 1s at%
CNT 3 ¹ (Fe/Benzen)	97.62	0.19	2.19
CNT 3 ² "	98.70	0.01	1.29
CNT 3 ³ "	99.00	0.00	1.00
CNT 1 (Fe/Aceto)	94.72	1.50	3.78
CNT 2 (Fe(Cyclo))	94.79	0.27	4.93

Der Stickstoffgehalt in Probe CNT1 ist signifikant höher als in den anderen Proben, verursacht durch den stickstoffhaltigen Precursor Acetonitril. Interessant ist auch, dass der Sauerstoffgehalt abhängig ist vom eingesetzten Kohlenwasserstoff. Die geringsten Werte wurden bei Einsatz von Benzen erreicht, die höchsten bei Cyclohexan. Abb. 12 zeigt exemplarisch die Spektren der Proben für die C 1s Bindungsenergie. Man erkennt, dass es zu einer Drift kommt, sobald Stickstoff in der Probe eingebaut ist (rote Kurve CNT1)

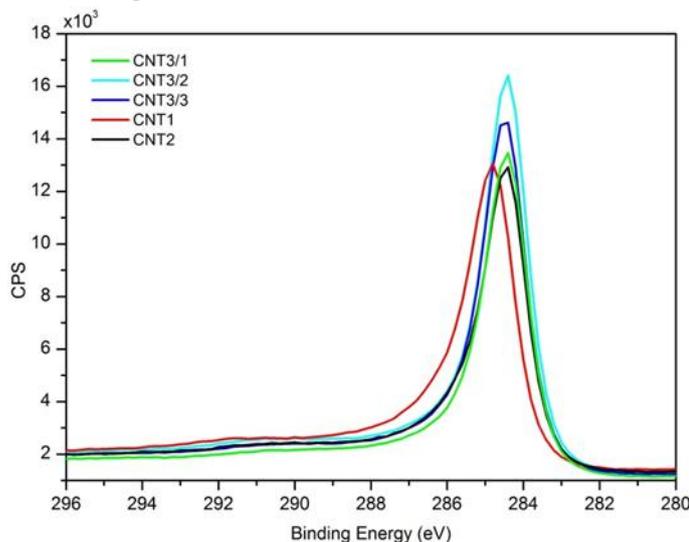


Abb. 12: XPS Spektrum für C1s der Proben CNT 1, CNT 2 und CNT 3 (3x)

Thermogravimetrische Untersuchungen (Aufheizung unter Luft) ergaben zwischen den CNT2-CNT5 und den stickstoff-dotierten CNT1 (Abb. 13 zeigt das Ergebnis für eine CNT2) geringfügige Stabilitätsunterschiede. Während für die undotierten CNTs eine Verbrennungstemperatur von 470 °C (per Definition: Wendepunkt in der blauen Gewichtsverlustkurve) angegeben werden kann, liegt diese für CNT1 (N-dotiert) 50°C

niedriger.

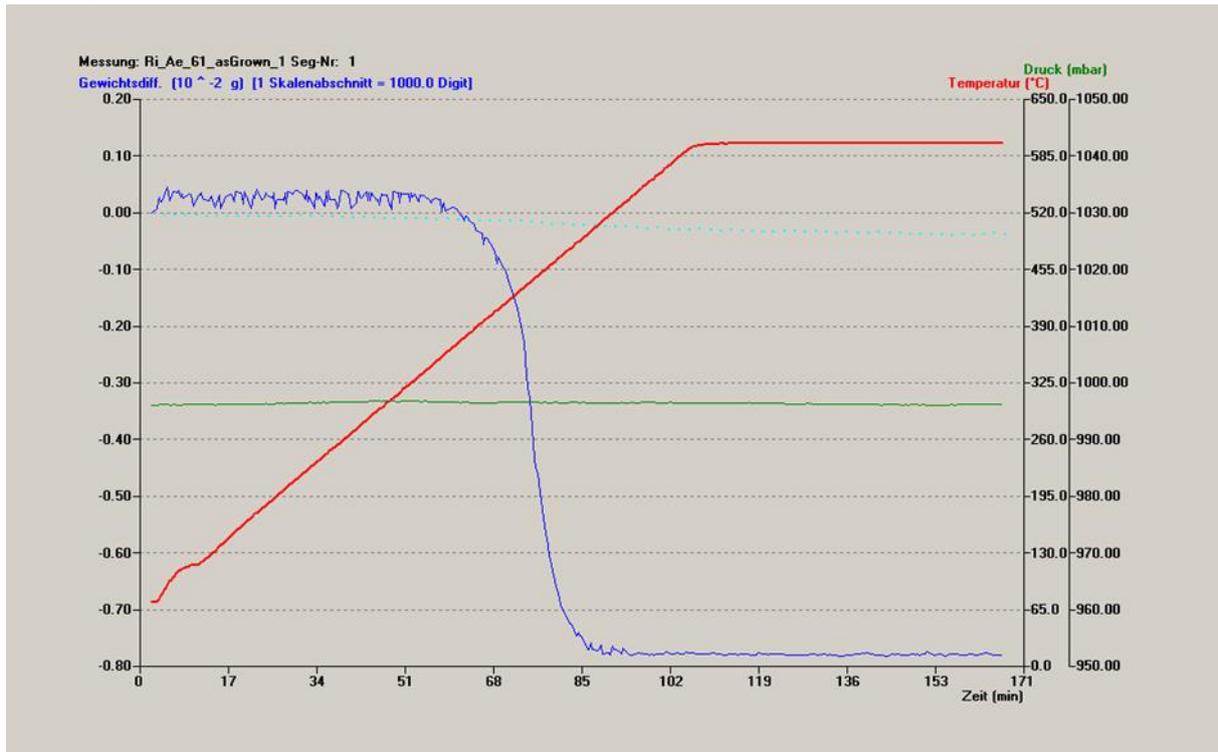


Abb13: Thermische Stabilität einer undotierten CNT-Probe (Verbrennung an Luft)

1.3. Dispersion und Längenmessung an CNTs

Da der Projektpartner ITEM Hannover eine mögliche kanzerogene Wirkung einzelner Kohlenstoffnanoröhren untersuchen soll, mussten die CNT- Carpets (siehe Abb.4) dispergiert werden, um vereinzelt CNTs für die in vitro- und in vivo-Tests zur Verfügung zu stellen. Außerdem waren die Länge und Form (gerade, geknickt, gerollt) der CNTs weitere Größen, die auf die Toxizität Einfluss haben können. Diese Größen können aber nur am einzelnen Objekt exakt ermittelt werden.

Zur Vereinzelung wurden 0.1 bis 0,5 mg der CNT- Carpets in 25ml Isopropanol unter Ultraschall (45kHz/80W) bei verschiedenen Zeiten (30, 45 und 60min) dispergiert. Dadurch entsteht eine relativ homogene Dispersion von hellgrauer Farbe und guter Transparenz.

Zur Präparation der Proben für die elektronenmikroskopische Untersuchungen wurde ein beschichtetes TEM- Netz (mit Kohlenstoff- und Formvarbeschichtung) kurz in die Dispersion getaucht, nach dem Herausziehen gewartet, bis das Isopropanol verdampft ist. Diese TEM- Netze wurden dann in ein Raster- oder Transmissionselektronenmikroskop eingeschleust. In der Regel liegen dann die CNTs vereinzelt auf dem Netz vor. Bei Benutzung des STEM- Detektors im REM konnten kontrastreiche Bilder erzeugt werden, mit deren Hilfe die Längen der CNTs gut vermessen werden können (Abb.14). Zum Ausmessen werden die Bilder nachträglich mit dem Programm iTEM (TEM Software der Olympus Soft Imaging Solutions GmbH) bearbeitet. (rote Spuren entlang der CNT in Abb. 14)

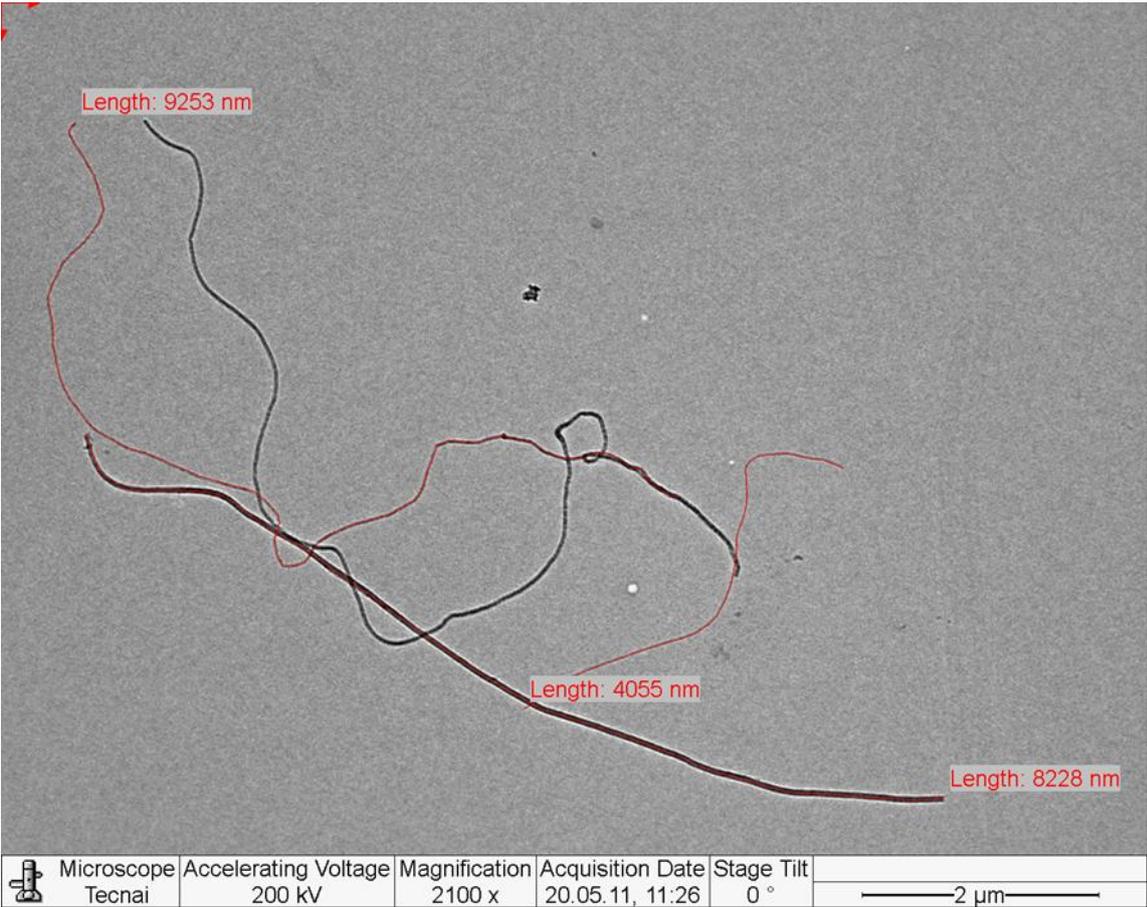


Abb.14: Vereinzelte CNTs im TEM und ihre Längenvermessung mittels iTEM- software.

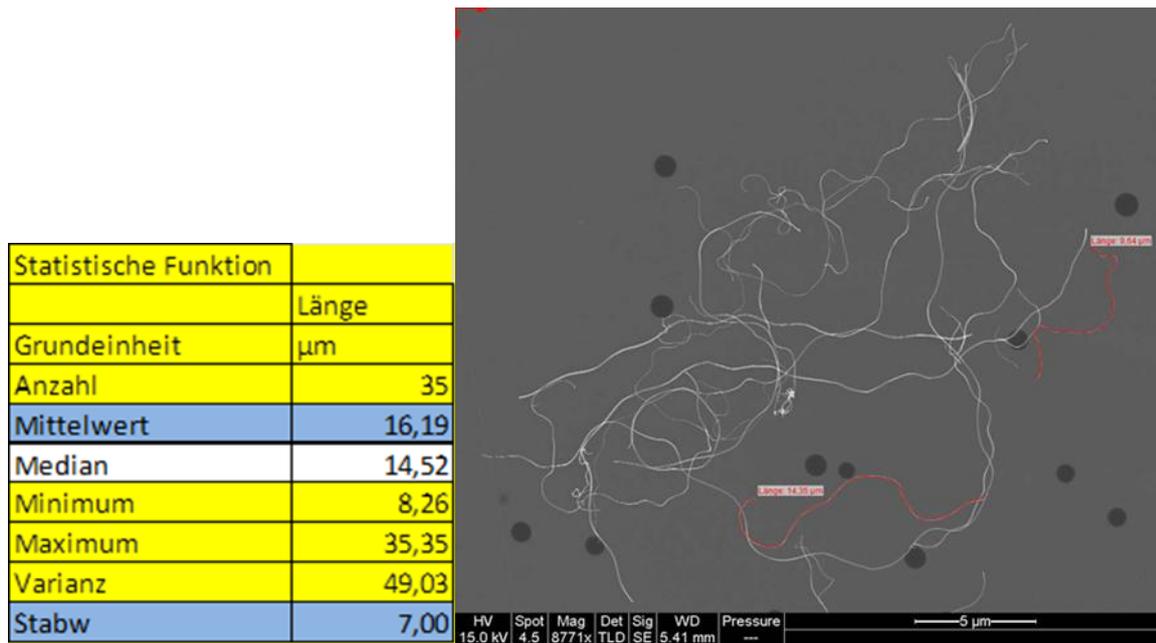


Abb. 15: CNT2-Probe individualisiert in Dispersion

Abb. 15 zeigt exemplarisch an der Probe CNT2 ein typisches Erscheinungsbild der individualisierten CNTs. Aus der Tabelle geht hervor, dass an 35 CNTs eine mittlere Länge von $16,19\mu\text{m}$ [± 7] gemessen wurde. Diese Länge ist nach 45 bzw. 60min Ultraschallbehandlung zu beobachten, längeres Behandeln führt zu keiner weiteren Verkürzung der CNTs. So bezeichnen wir diese als „stabile Länge“. Ähnliche stabile Längen zeigt die Probe CNT1 ($15,2\pm 5\mu\text{m}$) und CNT3 mit $18,3\pm 6\mu\text{m}$.

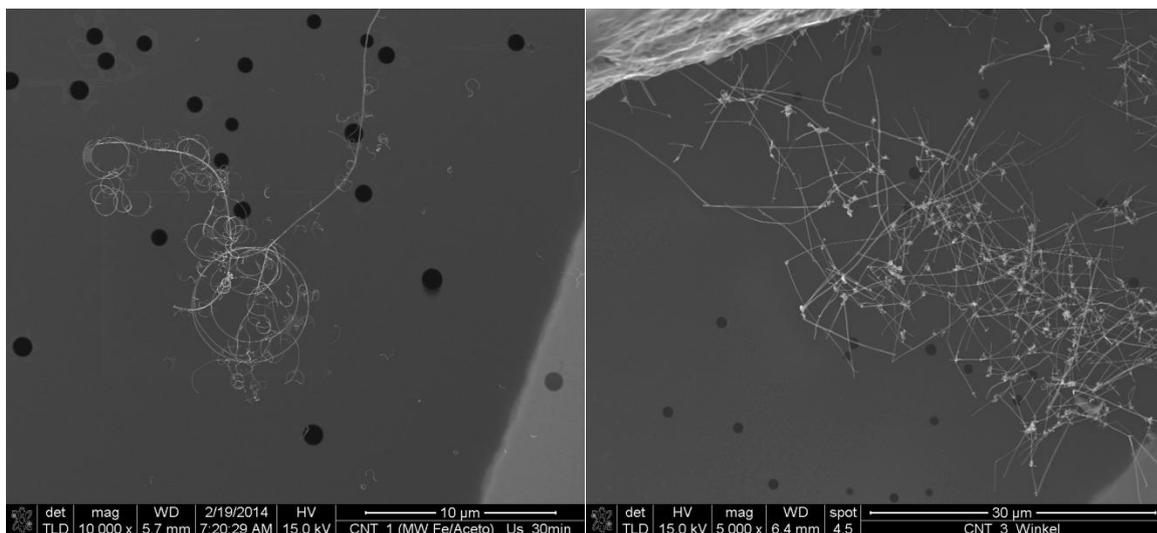


Abb. 16: Individualisierte CNT der Proben CNT1 (links) und CNT3 (rechts)

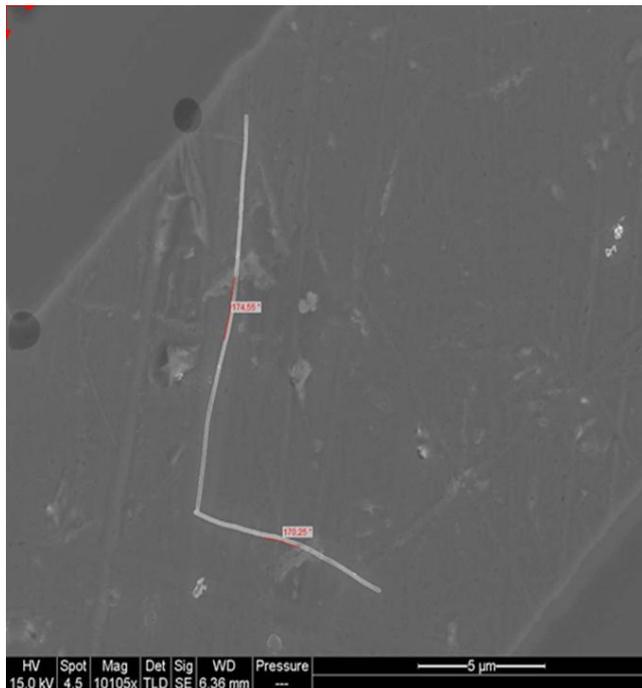
Die Individualisierung der CNT- Proben hat neben der Ermittlung der „stabilen Länge“ (mit dieser muss man bei den Inhalationsversuchen im Tierversuch bzw. bei der Injektion in Zellkulturen real rechnen) einen weiteren wichtigen Unterschied zwischen den Proben offen gelegt, die geometrische

Form der CNTs. Während CNT2 gekrümmte bzw. wellenförmige Tubes darstellen, sind ein Großteil der CNT1 (stickstoffdotiert) regelrecht gerollt. Die dickeren Mitsui-Fasern ähnlichen CNT3 dagegen zeigen einen nadelförmigen Habitus. Quantitativ kann man das ausdrücken durch die Messung der Innenwinkel innerhalb eines Röhrchens.



Statistische Funktion	Winkel
	Wert
Grundeinheit	°
Anzahl	20
Mittelwert	144,53
Minimum	101,02
Maximum	163,64
Standardabweichung	15,88
Varianz	252,12
Durchschn. Abweichung	11,48

a.)



Statistische Funktion	Winkel
	Wert
Grundeinheit	°
Anzahl	24
Mittelwert	175,85
Minimum	149,47
Maximum	183,79
Standardabweichung	7,88
Varianz	62,1
Durchschn. Abweichung	5,82

b.)

Abb. 17: a.) CNT2 Innenwinkelmessung b) CNT3 Innenwinkelmessung

Während bei Probe CNT2, an 24 Exemplaren gemessen, ein mittlerer Innenwinkel von 144,5° ermittelt wurde, zeigt die Probe CNT3 einen signifikant höheren Wert (175,85°), d.h. fast gerade wie eine Nadel mit geringer Verbiegung.

Die an Tierversuchen gefundenen unterschiedlichen tumorigenen Wirkungen der CNTs stehen im direkten Zusammenhang zu den hier gefundenen Habite. Die nadelförmigen CNT3 zeigen die stärkste Kanzerogenität, während die gerollten stickstoffdotierten CNT1 bedeutend geringere Wirkung zeigen.

2. Zusammenfassung, Einschätzung und Möglichkeiten der Verwertung

Der Grundgedanke des Verbundprojektes, Zusammenhänge zwischen toxischer(kanzerogener) Wirkung von Kohlenstoffnanoröhren und ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften durch den Einsatz maßgeschneiderter CNT aufzufinden, konnte beeindruckend umgesetzt werden. Das IFW synthetisierte 5 verschiedene Kohlenstoffnanoröhren, die sich im Durchmesser, der Länge, der Funktionalisierung, der Dotierung mit Stickstoff, der Kristallinität unterschieden. Die Untersuchungen im Tierversuch zeigten unterschiedlich starke tumorigene Wirkungen der einzelnen CNT- Typen .

Zytotoxische und gentoxische Untersuchungen beim Projektpartner ITEM haben auch gezeigt, dass die Toxizität und wahrscheinlich auch Kanzerogenität von diesen Tube-eigenschaften abhängen.

Es stellt sich relativ deutlich heraus, dass Kohlenstoffnanoröhren, die einen nadelförmigen Habitus besitzen, d.h. nicht gekrümmt, geknickt bzw. gerollt sind, die stärksten Reaktionen hervorrufen. Da dieser nadelförmige Habitus sich insbesondere bei Nanoröhren mit großem Durchmesser einstellt, kommt das überraschende Ergebnis heraus, dass dicke, mehrwandige Nanoröhren und Nanofasern ein höheres toxisches Potential besitzen, als sehr dünne, einwandige zum Beispiel.

Dieses Resultat sollte jedoch noch durch detailliertere Untersuchungen untermauert werden. Da die Frage nach dem kanzerogenen Potential von Nanotubes eine sehr große gesundheitliche und wirtschaftliche Bedeutung hat, werden die im Verbundprojekt gewonnenen Erkenntnisse einen wichtigen Beitrag dafür liefern, wie mit derartigen neuen Nanostrukturen zukünftig umgegangen werden muss.

3. Veröffentlichungen

M. Ritschel, A. Leonhardt; „Optimierte Katalysatoren für die Synthese von SW/DW- Carbon Nanotubes“, Vortrag; Inno.CNT Jahreskongress 2012; Bayreuth 30.01.-01.02.2012

M. Ritschel, A. Leonhardt, J. Helbig, D. Knöchel; „Synthesis and characterization of different kinds of carbon nanofibers -herringbones/platelets-; Vortrag; Nanofair 2010; Dresden 06.-07.07.2010

A. Leonhardt, M. Ritschel, B. Büchner; „Tailored Carbon Nanofibers and Nanotubes by fixed bed CVD“; Poster; NanoIsrael 2010; Tel Aviv November 8-9, 2010

M. Ritschel, A. Leonhardt, J. Helbig, D. Knöchel; “Synthesis and characterization of different kinds of carbon nanofibers”; Poster, Inno.CNT Jahreskongress 2010; Marl, 20.01.-21.01.2010

A. Leonhardt: invited talk: "Synthesis, properties and application of CNT" University of Messina October 2012

A. Leonhardt, invited talk : "Synthesis, properties and application of CNT" University of Sohag (Egypt), December 2012

A.Schlichting, C. Ziemann, A. Leonhardt, S. Rettinghausen, D. Schaudien, B. Bellmann
Toxic Effects of MWCNT in vivo and in vito, *The Toxicologist* 132 (98), PS460 (2013)

A. Hackbarth, C. Ziemann, A. Leonhardt, P. Steinberg, B. Bellmann : MWCNTs exhibit a
cytotoxic but not directly DANN-damaging potential in human LP9/TERT-1 peritoneal
mesothelial cells, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*386, suppl. 1:PS113 (2013)

4. Literatur

- [1] D. B. Geohagan, A. A. Puretzky, I. N. Ivanov, S. Jesse, G. Eres: *Appl.Phys.Letters* **83**
(2003) 1851
- [2] W. Q. Deng, X. Xu, W. A. Goddard: *Nanoletters* **4** (12) (2004) 2331
- [3] R. Sharma, P. Rez, M. Brown, G. Du, M. M. J. Treacy: *Nanotechnology* **18** (2007) 125602
- [4] R. Vajtai, B. Q. Wei, P. M. Ajayan: *Phil.Trans.R.Soc.Lond. A*: **362** (2004), 2143
- [5] Y. K. Moon, J. Lee, J. K. Lee, T. K. Kim, S. H. Kim: *Langmuir* **25** (2009) 1739
- [6] A. Leonhardt, M. Ritschel, R. Kothuharova, A. Graff, T. Mühl, R. Huhle:*Diamond
Relat.Mater.:* **12** (2003), 790
- [7] P. Landois, A. Peigney, Ch. Laurent, L. Frin, L. Datas, E. Flahaut: *Carbon* **47** (2009)789
- [8] A. Leonhardt, M. Ritschel, B. Büchner; „Tailored Carbon Nanofibers and Nanotubes by
fixed bed CVD“; Poster; NanoIsrael 2010; Tel Aviv November 8-9, 2010
- [9] M. Ritschel, V.O. Khavrus, K. Wruck, A. Leonhardt: *Clustertreffen Wing-Programm,
Frankfurt Januar 2013*
- [10] A. Krüger: „*Neue Kohlenstoffmaterialien*“ , B.G. Teuber Verlag/GWV Fachverlage
GmbH, Wiesbaden 2007