

**Charakterisierung von ionischen und nicht-ionischen
Polymeren im Hinblick auf ihre
Anwendung**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Claudia A. Lohmann
geb. Lukaschek
aus Berlin

Hamburg 2006

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Oktober 2003 bis Oktober 2006 am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke
2. Gutachter: Prof. Dr. W. Kaminsky

Tag der Disputation: 1.12.2006

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke für seine Begleitung und Unterstützung sowie die Schaffung optimaler Arbeitsbedingungen.

Herrn Prof. Dr. W. Kaminsky danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Herrn Prof. Dr. Heinze und Herrn Dr. Liebert danke ich für die Kooperation und die gute Zusammenarbeit im Rahmen der Projekte über Acetylstarke und über kationische Starke.

Herrn Dr. Johann und Herrn Dr. Theisen von der Firma Wyatt Technology Europe GmbH gilt mein Dank für anregende Gespräche und für die Unterstützung bei Schwierigkeiten mit den Geräten.

Ich danke besonders meinem Ehemann und meinen Eltern für die Begleitung und die Unterstützung während meines Studiums.

Außerdem danke ich dem gesamten Arbeitskreis für die freundliche Unterstützung, die stetige Diskussionsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit.

Poster

P. Pfefferkorn, C. Lohmann, W.-M. Kulicke, Bestimmung der Molmassen und Teichengrößen sowie deren Verteilungen von Hydroxyethylstärken in Hinblick auf den Einsatz als Blutplasmaexpander, Hamburger Makromolekulares Symposium 2003, 8.9-9.9.03, ISBN 3-00-012171-4, S. 38-39

S. Bratskaya, S. Schwarz, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, D.-O. Krentz, C. Lohmann, W.-M. Kulicke, Effect of structural features on cationic starch flocculation behavior, European Polymer Congress, Moskau, 27.6.05 – 1.7.05, S. 1-2, Moskau

C. Lohmann, T. Liebert, T. Heinze, W.-M. Kulicke, 2-O-Acetyl starch – a new blood plasma expander, Hamburger Makromolekulares Symposium 2006, 1.10-4.10.06, P 28

Publikationen

D.-O. Krentz, C. Lohmann, W.-M. Kulicke, S. Schwarz, S. Bratskaya, S. Schwarz, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, Properties and Flocculation Efficiency of Highly Cationized Starch Derivatives, *Stärke/Starch*, **58**, (2006), 161-169

W.-M. Kulicke, C. Clasen, C. Lohmann. Characterization of water-soluble cellulose derivatives in terms of the molar mass and particle size as well as their distribution, *Macromol. Symp.*, **223**, (2005), 151-174

S. Bratskaya, S. Schwarz, T. Liebert, J. Laube, T. Heinz, D.-O. Krentz, C. Lohmann, W.-M. Kulicke, Effect of structural features on cationic starch flocculation behavior: Cationic polysaccharides vs. Synthetic polycations, *Macromol. Mat. Eng.*, **290**, (2005), 778 - 785

Vorträge

W.-M. Kulicke, C. Clasen, C. Lohmann., Characterization of water-soluble cellulose derivatives in terms of the molar mass and particle size as well as their distribution, *Zellcheming*, Wiesbaden, 28.6-1.7 2004

C. Lohmann, W.-M. Kulicke, D.-O. Krentz, Comparison of molar mass distributions of polysaccharides via SEC/MALLS/DRI and aFFFF/MALS/DRI, FFF 2005, 12th international symposium on field-flow-fractionation, Brünn, L 36, 28.8-30.8.05

Zusammenfassung

Gegenstand dieser Arbeit ist die Charakterisierung von nicht-ionischen Polysacchariden, wie Acetylstärke (AS) und Guar, kationischen Stärkederivaten, synthetischen Polykationen auf der Basis von Polyacrylamid und des anionischen Polysaccharids Sulfoethylcellulose (SuEC). Die Bestimmung von Molmassen und Teilchengrößen und deren Verteilungen soll zur Beurteilung der Eigenschaften und für die Anwendung wie z.B. der Lagerstabilität, verdickenden Wirkung, Fließeigenschaften herangezogen werden. Die Untersuchungen wurden mittels gekoppelter Anlagen aus Größenausschlusschromatographie (SEC) und asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF) mit einem Vielwinkellaserlichtstreuophotometer (MALLS) und einem Konzentrationsdetektor (DRI) vorgenommen. aFFFF-Messungen wurden von den kationischen Stärken, den synthetischen Polykationen, den SuEC-Proben und den Guar-Proben angefertigt, SEC-Messungen von AS, SuEC und Guar.

AS als neuartiges Blutplasmaersatzmittel mit verbessertem Metabolismus soll auf lange Sicht Hydroxyethylstärke (HES) ersetzen. Im Blickpunkt dieser Arbeit stand eine O-2-regiospezifisch substituierte AS. Der Vorteil der AS gegenüber HES besteht im Bindungstyp zwischen Substituent und Hauptkette. In Anbetracht der labilen Esterbindung in der AS ist eine Bestimmung der Lagerstabilität über einen längeren Zeitraum sehr wichtig. Dazu wurden in regelmäßigen Abständen absolute Molmassenbestimmungen, viskosimetrische Einpunktmessungen und ein enzymatischer Essigsäuretest durchgeführt. Die SEC-Messungen haben einen sehr geringen Molmassenabbau ergeben, der innerhalb der Fehlergrenze der Messmethode liegt. Ferner dienen die SEC-Messungen dazu zu überprüfen, ob eine hochmolekulare Flanke vorliegt und zur Bestimmung der Molmassenverteilungen. Die Bestimmung der freien Essigsäure über eine enzymatische Reaktion über einen längeren Zeitraum unter nicht-sterilen Laborbedingungen durchgeführt. Mit 0,26 % wurde eine sehr geringe Menge an Essigsäure abgespalten.

Es wurden kationische Stärken aus unterschiedlichen Stärkequellen, wie Kartoffel, Weizen, Mais, Amioca und Hylon VII untersucht, die alle ein unterschiedliches Amylose/Amylopektin-Verhältnis und verschiedene durchschnittliche Substitutionsgrade (DS) aufwiesen. Neben den Lichtstremessungen wurden auch Viskositätsmessungen, NMR-Messungen zur Bestimmung des DS und der chemischen Struktur durchgeführt. Die Auswertung der Messungen ergaben gewichtsmittlere Molmassen (M_w) von $1,8 \cdot 10^7$ bis $6,9 \cdot 10^7$ g/mol, die Gyrationradien (R_G) von 110 bis 181 nm und die Staudinger-Indices $[\eta]$ von 144 bis 288 mL/g.

Am Beispiel von vier synthetischen Polykationen mit unterschiedlichem Ladungsgehalt wurde der Einfluss von Salz auf die Lösungsstruktur untersucht. Dazu wurden die Proben in drei verschiedenen Salzgehalten, 0,1 M, 0,5 M und in 1 M Natriumnitrat, vermessen. In einer 0,1 M Salzkonzentration konnte anhand der $[\eta]$ (901 bis 1034 mL/g) und der R_G (125 bis 137 nm) eine Knäuelaufweitung festgestellt werden, die mit zunehmenden Salzgehalt verschwand ($[\eta] = 399$ bis 473 mL/g, $R_G = 116$ bis 126 nm für eine 1 M Salzkonzentration). Die ermittelten M_w reichen von $4,5 \cdot 10^6$ bis $6,9 \cdot 10^6$ g/mol.

Da für viele Messungen eine Probenpräparation sehr wichtig ist, wurde die Effizienz der Probenpräparation (Filtration, Zentrifugation) am Beispiel von SuEC ermittelt. Die Charakterisierung der SuEC erwies sich als schwierig, da SuEC zu Aggregatbildung in wässrigen Lösungen neigt. Die Löslichkeit der Probe ist vom DS abhängig. Die Proben wurden zum einen in dialysierter Form und zum anderen aus der Ursubstanz vermessen. Die SEC-Messungen ergaben M_w von $4,1 \cdot 10^5$ bis $3,6 \cdot 10^6$ g/mol und R_G von 59 bis 130 nm. Bei den aFFFF-Messungen wurden M_w von $1,4 \cdot 10^6$ bis $9,2 \cdot 10^6$ g/mol und R_G von 93 bis 132 nm ermittelt. Mit Hilfe der Dialyse wurde der Einfluss des probeneigenen Salzgehaltes ermittelt. Die Messungen haben ergeben, dass zwar Mikrogele sowohl nach der Filtration als auch nach der Zentrifugation zurückgeblieben sind, aber bei der Filtration in einem geringeren Maße. Ein Vergleich von SEC und aFFFF ergab, dass bei SEC-Messungen Degradation während der Fraktionierung auftrat, was zu einer niedrigeren detektierten Molmasse führte. Bei den aFFFF-Messungen blieb aufgrund geringerer Scherkräfte das Molekül während der Fraktionierung intakt. Dies macht sich durch eine höhere Molmasse bemerkbar.

Bei der Charakterisierung von nativen wie substituierten Guar-Proben haben sich im Vergleich von SEC und aFFFF Unterschiede ergeben. Die ermittelten M_w (SEC) rangieren von $9,5 \cdot 10^5$ bis $2,0 \cdot 10^6$ g/mol und die R_G von 77 bis 108 nm. Die aFFFF-Messungen lieferten M_w von $2,2 \cdot 10^6$ bis $3,6 \cdot 10^6$ g/mol und R_G von 117 bis 141 nm. Die Ursache kann hier mit Adsorptionsprozessen sowohl am Säulenfüllmaterial der SEC als auch an der Membran der aFFFF begründet werden. Es wurde auch untersucht, ob mit SEC ein enzymatischer Abbau (Mannanase, Galactosidase) von Guar verfolgt werden kann. Die Ergebnisse verliefen nur für Mannanase positiv.

Summary

This thesis covers the characterization of non-ionic polysaccharides such as acetyl starch (AS), guar gum, cationic starch derivatives, synthetic polycations based on polyacrylamide-co-acrylates and of the anionic polysaccharide sulphoethylcellulose (SuEC). The determination of molar masses, coil sizes and their distributions are employed to evaluate the properties of the polymers with regard to an application. The measurements were carried out with coupled techniques such size exclusion chromatography (SEC) and asymmetrical flow field-flow-fractionation (aFFFF) including a multi angle laser light scattering device (MALLS) and a concentration detector (DRI). Cationic starches, synthetic polycations, SuEC samples and Guar samples were determined by aFFFF and AS, SuEC samples and Guar samples were determined by SEC.

AS as a new type of blood plasma volume expander with an improved metabolism is intended to replace hydroxyethyl starch (HES). This work reports on a regiospecifically O-2-substituted AS. The advantage of AS is related to the type of bond between substituent and backbone compared to HES. Due to the weak ester bond of AS a determination of the shelf life over a long period is important. Absolute measurements of the molar masses were conducted on a regularly basis as well as viscometric single point measurements and an enzymatically based test for acetic acid. The results of the SEC measurements yielded only a small molar mass reduction which is within the error range of the method. These measurements were use to determine molar mass distributions and to invetigate the presence of a high molar mass tail. The enzymatic determination of free was carried out during lengthly a period under non-sterile laboratory conditions. During that period 0.26 % the ester groups were split off as acetic acid.

Cationic starches of different origin such as potato, wheat, corn, amioca and hylon VII with varying amylose contents and with differing degrees of substitution (DS) were determined. Light scattering measurements, viscometric measurements and NMR-measurements for the determination of the chemical structure and the DS were performed. The determined molar masses (M_w) ranged from $1.8 \cdot 10^7$ to $6.9 \cdot 10^7$ g/mol, the radii of gyration (R_G) from 110 to 181 nm and the intrinsic viscosities $[\eta]$ ranged from 144 mL/g to 288 mL/g.

Using synthetic polycations the influence of salt on the solution structure was investigated. The samples were dissolved in three different salt concentrations, 0.1 M, 0.5 M and 1.0 M sodium nitrate. According to the values of R_G (125 to 137 nm) and $[\eta]$ (901 to 1034 mL/g) a coil expansion was observed in a 0,1 M salt solution. With increasing salt concentrations the

size of R_G (116 to 126 nm for a 1 M salt content) and $[\eta]$ (399 to 473 mL/g for a 1 M salt content) decreased. The determined molar masses ranged from $4.5 \cdot 10^6$ to $6.9 \cdot 10^6$ g/mol.

A lot of measurement require a thorough sample preparation. SuEC was employed for the determination of the efficiency of sample preparation (filtration, centrifugation). The characterization of SuEC was difficult due to the formation of aggregates in aqueous solutions emphasizing the importance of sample preparation. Measurements were performed with the original samples and dialysed samples. The dialysed samples were used to investigate the influence of salt content during sample preparation. The measurements revealed a high molecular fraction, a microgel, which could not be removed from the sample. Filtration yielded a lower content of microgels than centrifugation. The M_w determined by SEC ranged from $4.1 \cdot 10^5$ to $3.6 \cdot 10^6$ g/mol, the R_G from 59 to 130 nm and M_w determined by aFFFF from $1.4 \cdot 10^6$ to $9.2 \cdot 10^6$ g/mol, the R_G ranged from 93 to 132 nm. A comparison of SEC and aFFFF showed that degradation occurs with SEC during the fractionation yielding a lower molar mass. Due to lower shear forces with aFFFF the polymer is not degraded during the fractionation yielding a higher molar mass.

The characterization of native and substituted guar gum revealed differences in the measurements of SEC and aFFFF. SEC yielded M_w from $9.5 \cdot 10^5$ to $2.0 \cdot 10^6$ g/mol and R_G from 77 to 108 nm and aFFFF yielded M_w from $2.2 \cdot 10^6$ to $3.6 \cdot 10^6$ g/mol and R_G from 117 to 141 nm. The differences were related to adsorption processes on the filling material of a SEC column or on the membrane with aFFFF. Both methods showed also differences of the native guar gum samples proving that natural products are never the same. An investigation of an enzymatic degradation with mannanase and galactosidase was carried out. Positive results were obtained with mannanase.

1	Einleitung und Zielsetzung.....	1
2	Untersuchte Polymere	3
2.1	Stärke.....	3
2.1.1	Nicht ionische Stärkederivate – Hydroxyethylstärke / Acetylstärke.....	7
2.1.2	Kationische Stärke.....	9
2.2	Polyelektrolyte – synthetische Polykationen.....	11
2.3	Sulfoethylcellulose.....	14
2.4	Guar	17
3	Theoretische Hintergründe.....	20
3.1	Blutplasmaersatzmittel.....	20
3.2	Molmassen.....	26
3.2.1	Molmassenmittelwerte und -verteilungen	26
3.2.2	Bestimmungsmethoden.....	27
3.2.3	Lösungsstruktur von Polymeren.....	28
3.3	Viskosimetrie.....	31
3.4	Kritische Konzentration.....	35
3.5	Lichtstreuung.....	37
3.5.1	Theoretische Grundlagen.....	37
3.5.2	Lichtstreuung an Polymerlösungen.....	40
3.5.3	Auswertung von Lichtstremessungen in Abhängigkeit der Teilchengröße.....	42
3.6	Größenausschlusschromatographie	47
3.7	Theoretische Grundlagen der Feld Fluss-Fraktionierung	50
3.7.1	Entwicklung.....	50
3.7.2	Aufbau des Kanals.....	51
3.7.3	Berechnungsgrundlage der trennungsspezifischen Parameter.....	52
3.7.4	Trennprinzip.....	56
3.8	Kernmagnetische Resonanz (NMR).....	59
3.8.1	Prinzip der Messung.....	59
3.8.2	Notwendigkeit für eine Entkopplung.....	60
3.8.3	IGATED- ¹³ C-NMR-Spektroskopie	60
3.9	Ermittlung des Ladungsgehalts mittels Polyelektrolyttitration.....	61
4	Ergebnisse und Diskussion.....	64

4.1 Einfluss von Kanal- und Querfluss.....	64
4.2 Lagerstabilität von Acetylstärke	68
4.2.1 Vorangegangene Arbeit.....	69
4.2.2 Viskosimetrische Einpunktmessungen von AS 1.....	75
4.2.3 Bestimmung des Molmassenabbaus mittels SEC/MALLS/DRI.....	76
4.2.4 Enzymatische Bestimmung des Essigsäureabbaus	80
4.2.4.1 Beschreibung der enzymatischen Reaktion.....	81
4.2.4.2 Bestimmung der freien Essigsäure in AS 1.....	83
4.3 Kationische Stärken – Teil I.....	86
4.3.1 Thermogravimetrie.....	87
4.3.2 Bestimmung des durchschnittlichen Substitutionsgrads (DS).....	87
4.3.2.1 Bestimmung des DS mittels ¹³ C-NMR.....	89
4.3.2.2 Elementaranalyse.....	90
4.3.3 Polyelektrolyttitration zur Ermittlung des Ladungsgehalts.....	91
4.3.4 Ermittlung der Staudinger-Indices	92
4.3.5 Bestimmung der Mw und RG mittels aFFFF/MALLS/DRI.....	95
4.3.6 Vergleich der kritischen Konzentrationen.....	103
4.3.7 Flockungsmessung.....	104
4.3.7.1 Vergleich synthetischer FHM mit kationischer Stärke.....	104
4.3.7.2 Vergleich von Kartoffelstärken mit unterschiedlichen DS.....	106
4.3.7.3 Vergleich von Stärken mit unterschiedlichen Amylose/Amylopektin-Anteilen bei einem DS von ca. 0,6.....	107
4.3.8 Probleme bei der Charakterisierung von enzymatisch abgebauten Stärken.....	109
4.4 Kationische Stärken – Teil II.....	117
4.4.1 Probenpräparation.....	117
4.4.2 Trockengehalt- und Salzgehaltbestimmung.....	119
4.4.3 Strukturelle Charakterisierung von Stärkeethern mittels NMR.....	121
4.4.4 Bestimmung des durchschnittlichen Substitutionsgrads.....	123
4.4.5 Charakterisierung von Stärkeethern mittels IR-Spektroskopie.....	123
4.4.6 Polyelektrolyttitration zur Ermittlung des Ladungsgehalts.....	125
4.4.7 Bestimmung der Staudinger-Indices.....	126
4.4.8 Bestimmung der Mw und RG mittels aFFFF/MALLS/DRI.....	128
4.4.9 Schwierigkeiten bei Messungen von kationischen Stärken.....	133

4.5 Synthetische Polykationen unter dem Einfluss verschiedener Ionenstärken.....	134
4.5.1 Allgemeines.....	134
4.5.2 Probenpräparation und vorbereitende Arbeiten.....	135
4.5.3 Strukturelle Charakterisierung mittels NMR.....	136
4.5.4 Bestimmung der Ladungsmenge.....	138
4.5.5 Ermittlung der Staudinger-Indices.....	139
4.5.6 Bestimmung der Mw und RG mittels aFFFF/MALLS/DRI.....	141
4.6 Charakterisierung von aggregatbildenden Polymeren.....	146
4.6.1 Probenpräparation bei Sulfoethylcellulose.....	146
4.6.2 Bestimmung der Mw und RG mittels SEC/MALLS/DRI.....	151
4.6.3 Vergleich von aFFFF/MALLS/DRI und SEC/MALLS/DRI.....	159
4.7 Guar	165
4.7.1 Probenpräparation	165
4.7.2 Bestimmung der Mw und RG mittels SEC/MALLS/DRI.....	167
4.7.3 Erfassung des enzymatischen Abbaus durch SEC/MALLS/DRI.....	172
4.7.4 Bestimmung der Mw und RG mittels aFFFF/MALLS/DRI.....	178
4.7.5 Vergleich der RG-M-Beziehungen von SEC/MALLS/DRI und aFFFF/MALLS/DRI.....	183
5 Fazit und Ausblick.....	186
6 Experimenteller Teil.....	188
6.1 Lösungsmittelherstellung.....	188
6.2 Probenpräparation.....	188
6.3 Feuchtigkeitsbestimmung.....	188
6.3.1 Trockenschrank.....	188
6.3.2 Thermogravimetrie.....	189
6.4 Polyelektrolyttitration.....	189
6.5 Ultraschalldegradation.....	190
6.6 IR-Spektroskopie.....	190
6.7 Verwendete Geräte.....	191
6.7.1 Viskosimetrie.....	191
6.7.2 Größenausschlusschromatographie.....	191
6.7.3 Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung.....	192
6.7.4 Polyelektrolyttitration.....	194

6.7.5 NMR-Spektroskopie.....	194
7 Sicherheitshinweise.....	195
8 Abkürzungsverzeichnis.....	197
9 Literaturverzeichnis.....	199

1 Einleitung und Zielsetzung

Auf Grund der Erdölpreise, die in Laufe des Jahres 2006 ein neues Rekordniveau erreicht haben, wird man in vielen Bereichen umdenken müssen, um die Kosten u.a. für Folgeprodukte vertretbar zu halten. Führt man sich vor diesem Hintergrund die Vielfalt der auf Rohöl basierenden Produkte vor Augen, gewinnen nachwachsende Rohstoffe immer mehr an Bedeutung. Dieses seit einigen Jahren stattfindende Umdenken, wird durch die steigenden Erdölpreise beschleunigt, und verschafft der „green chemistry“ einen weiteren Vorstoß in noch unerschlossene Bereiche.

Die Palette der nachwachsenden Rohstoffe ist vielfältig; hier seien mit Stärke und Cellulose nur zwei genannt. Von heute auf morgen lassen sich die synthetischen Produkte auf Erdölbasis nicht durch natürliche ersetzen. Oftmals geht der Einführung eines neuen Produktes jahrelange Forschung und Entwicklung voraus. Früher wurde nur die Produktauglichkeit und die Anwendbarkeit erforscht und getestet. In der heutigen Zeit hat sich das Anforderungsprofil neuer Produkte um ein Vielfaches erweitert. Umweltverträglichkeit, Biotoxizität und Abbaubarkeit nehmen einen fast gleich großen Stellenwert ein wie Produktauglichkeit und Anwendbarkeit.

Etablierte synthetische Produkte zu ersetzen ist schwer. Oft sind die Eigenschaften maßgeschneidert, so dass es sehr schwer ist, ein adäquates neues Produkt herzustellen. Selbst in der Computerbranche wird umgedacht, und es wird an optischen Datenträgern auf Basis von Maisstärke geforscht^[1]. Die Beispiele Stärke und Cellulose zeigen, dass die Forschung und Entwicklung nicht einfach sind, da sich die Rohstoffe nur mit einigem Aufwand lösen lassen. Die Löslichkeit der Derivate entspricht in machen Fällen auch dem der Ausgangssubstanzen; sie ist also eher schlecht. Das Löslichkeitsverhalten ist auch wichtig für die Charakterisierung. Der Kunde braucht häufig genaue Angaben über die Produkteigenschaften. Die Vielfalt der Produkteigenschaften, die sich bestimmen lassen, ist groß. Für die Industrie sind aber häufig nur eine Handvoll davon von Interesse. Dazu gehören u.a. Viskosität, Molmasse, Teilchengröße, durchschnittlicher Substitutionsgrad (DS) etc. Hier soll nur ein Augenmerk auf die Molmasse, Teilchengröße und ihre Verteilungen gerichtet werden. Bei manchen Anwendungen hat die Molmasse und deren Verteilung einen großen Stellenwert. Als Beispiel sei hier das Blutplasmaersatzmittel Hydroxyethylstärke (HES) genannt^[2]. Vor der Anwendung ist eine umfangreiche Charakterisierung des Produkts erforderlich, da es sich bei HES um ein

1) www.heise.de/newsticker/meldung/52872

2) H. Lutz, Plasmaersatzmittel, 4. Auf., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1986

Medizinprodukt handelt. Enthält das HES-Produkt einen zu großen Anteil an hochmolekularen Fraktionen, so wirkt sich das in Form von Nebenreaktionen wie Einlagerungen in Gewebe und Organen bis hin zu anaphylaktischen Reaktionen negativ aus^[3]. Einen zu hohen niedermolekularen Anteil darf das HES-Produkt aber auch nicht enthalten (< 50.000 g/mol), da diese Fraktionen nicht im Körper verweilen sondern über die Niere sofort ausgeschieden werden. Die Herstellung von HES erfordert demzufolge einen engen Molmassenbereich. Aber auch andere Stärke- sowie Cellulosederivate finden in der pharmazeutischen Industrie eine Anwendung^[4]. Cellulosederivate wiederum sind aus der Baubranche nicht mehr wegzudenken. Diese verbessern z.B. das Fließverhalten von Spritzmörtel und Beton, so dass eine leichtere Verarbeitbarkeit gewährleistet werden kann.

Ein anderes Beispiel ist die Herstellung von LEGO-Steinen. Das Anforderungsprofil für eine gute Formstabilität setzt eine breite Teilchengrößenverteilung voraus. Ein bestimmter Anteil an niedermolekularen Teilchen ist notwendig, damit das Material nicht spröde und dadurch leicht brüchig wird.

Eine gute Bestimmungsmethode für Molmassen und Teilchengrößen ist eine Fraktionierungseinheit gekoppelt mit einem Vielwinkellaserlichtstreuphotometer (MALLS) und einem Konzentrationsdetektor (DRI). Die Fraktionierungseinheit kann entweder mit einer mobilen oder mit einer stationären Phase ausgestattet sein. Im Falle der stationären Phase handelt es sich um Säulen für die Größenausschlusschromatographie (SEC), mit Detektoren gekoppelt (SEC/MALLS/DRI). Bei der Methode mit der mobilen Phase handelt es sich um die asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF), die ebenfalls gekoppelt ist (aFFFF/MALLS/DRI)^[5]. Diese Detektorkombination ermöglicht es, absolute Molmassen zu bestimmen. Ohne den Konzentrationsdetektor liefert die Kombination nur relative Werte, die eine Kalibrierung benötigen.

Zielsetzung dieser Arbeit ist es, ionische und nicht ionische Polysaccharide wie Acetylstärke, kationische Stärke, Guar und Sulfoethylcellulose und synthetische Polyacrylamid-co-acrylate mittels SEC/MALLS/DRI und aFFFF/MALLS/DRI zu charakterisieren. Mit SEC/MALLS/DRI sollen Acetylstärke, Guar und Sulfoethylcellulose untersucht werden, wobei die kationischen Stärken mit aFFFF/MALLS/DRI untersucht wurden. Die strukturelle Charakterisierung erfolgte und NMR-Spektroskopie. Anhand der Messwerte soll, dann eine Aussage über die Eigenschaften und über die Anwendbarkeit der Substanzen getroffen werden.

3) J. Boldt, Wien., Klin. Wochenschr, **116**, (2004), 159-169

4) W. Burchard, Polysaccharide, Springer-Verlag, Berlin, 1985

5) H. Günzler, Analytiker Taschenbuch 19, Springer Verlag, Berlin, 1998

2 Untersuchte Polymere

2.1 Stärke

Stärke stellt das am weitesten verbreitete Reservopolysaccharid der höheren Pflanzen dar. Die Bildung und Ablagerung erfolgt als Stärkekörner mit artspezifischen Formen, Größen und Schichtungen, so dass anhand dieser Merkmale die Herkunft einer Stärke feststellbar ist.

Die nativ gebildeten Stärkekörner enthalten neben den Hauptbestandteilen Amylose und Amylopektin auch ca. 10 - 20 % Wasser, sowie Begleitsubstanzen wie Fette, Proteine, phosphorhaltige Verbindungen und mineralische Komponenten. Die Stärke kann in unterschiedlichen Pflanzenteilen vorkommen, z.B. in Samen, Knollen, Wurzeln etc. Tab. 1 listet die Pflanzenorgane auf, aus denen die entsprechende Stärke gewonnen wird. Die technisch bedeutendsten Stärkequellen sind fett hervorgehoben.

Tab. 1: Stärkehaltige Pflanzenorgane^[6]

Pflanzenorgan	Pflanze
Samen	Mais, Weizen , Reis, Gerste, Hirse, Hafer
Knollen	Kartoffel
Wurzeln	Maniok (Tapioka)
Früchte	Kastanien, Erbsen, Bohnen, Bananen
Mark	Sagopalme

Die beiden Hauptkomponenten Amylose und Amylopektin variieren je nach Ursprungspflanze. Der Amylosegehalt liegt zwischen 1 und 82 %, der Amylopektingehalt zwischen 15 und 99 %. Der Gehalt von Amylose und der von Amylopektin ergänzen sich zu 100 %. Ebenso unterscheiden sich die Kornform und -größe (Abb. 1). Kartoffelstärke weist im Vergleich zu anderen Stärkequellen die größten Amylopektin- und Amylosemoleküle bezogen auf die Molmasse und den Gyrationradius auf^[7].

6) E. Gruber, Vorlesungsskript WS 99/00, TU Darmstadt

7) B. A. Demessie, Dissertation, Norwegische Universität für Naturwissenschaften und Technologie, Trondheim, 2002

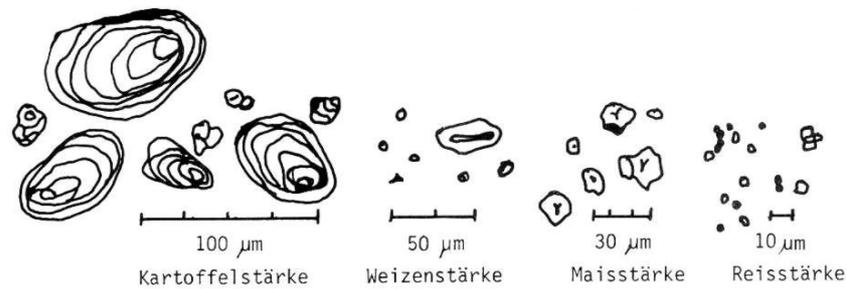


Abb. 1: Kornstrukturen und -größen verschiedener Stärken

Bei der Amylose handelt es sich um ein annähernd linear aufgebautes, α -1,4-glykosidisch verknüpftes Polysaccharid mit sehr wenigen und kleinen Verzweigungen. Ein Amylosemolekül kann aus bis zu 6000 verknüpften Glucose-Einheiten aufgebaut sein^[8]. Die Molmasse für Amylose liegt im Bereich von $2,1 \cdot 10^6$ bis $2,0 \cdot 10^7$ g/mol mit einem Gyrationradius von 19 bis 60 nm. Im Gegensatz dazu besitzt das Amylopektin eine verzweigte Struktur, bei der neben den α -1,4-Verknüpfungen durchschnittlich an jeder 25sten Glucose-Einheit eine α -1,6-Verzweigung auftritt. Die Molmasse von Amylopektin rangiert von $6,0 \cdot 10^7$ bis $1,1 \cdot 10^8$ g/mol mit einem Gyrationradius von 220 nm^[7]. Die Strukturformeln der beiden Stärke-Komponenten sind in Abb. 2 für die Amylose (1) und für das Amylopektin (2) dargestellt^[9].

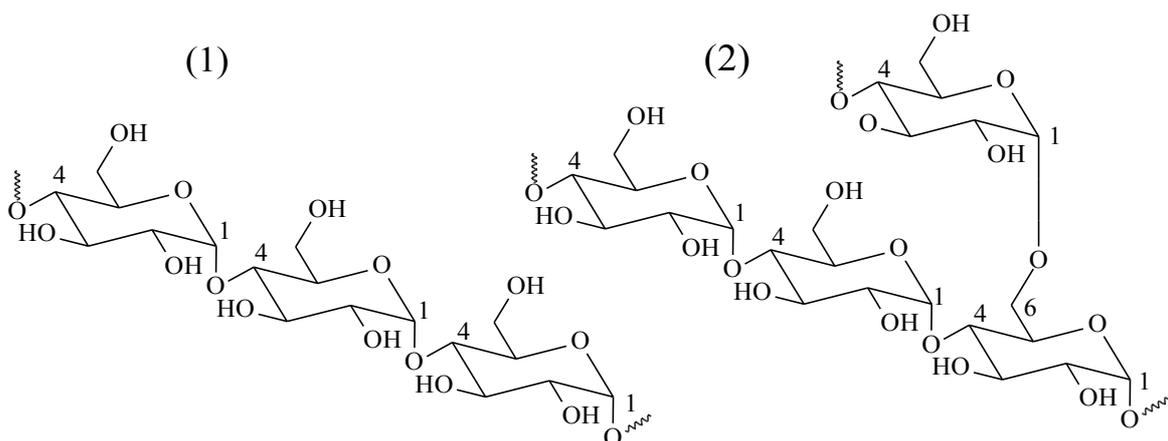


Abb. 2: Ausschnitte aus den Strukturen der Stärke-Moleküle

(1) Amylose mit α -1,4-glykosidischen Bindungen

(2) Amylopektin mit α -1,4-glykosidischen Bindungen in der Hauptkette und α -1,6-Verzweigungsstellen

8) P. H. Richardson, R. Jeffcoat, Y.-C. Shi, MRS BULLETIN/DECEMBER 2000

7) B. A. Demessie, Dissertation, Norwegische Universität für Naturwissenschaften und Technologie, Trondheim, 2002

9) G. Tegge, Stärke und Stärkederivate, Behr's Verlag, Hamburg, 1984

Die Stärkekörner beinhalten kristalline und amorphe Anteile, die die Eigenschaften beeinflussen. Durch die verschiedenen Strukturen von Amylopektin und Amylose treten zwar die gleichen Wechselwirkungen auf, aber zwischen unterschiedlichen Komponenten. Amylopektin bindet bevorzugt Wassermoleküle über Wasserstoffbrückenbindungen, was zu einer stabilen Lösung führt. Amylose hingegen bildet zu anderen Amylosemolekülen Wasserstoffbrückenbindungen aus, welche mit der Zeit als Aggregate ausfallen. Dies führt zu einer instabilen Lösung^[10]. Wird Stärke in Wasser erhitzt, bricht die kristalline Struktur aufgrund von sich lösenden Wasserstoffbrückenbindungen auf. Die Wassermoleküle bilden nun mit frei zugänglichen Hydroxylgruppen von Amylose/Amylopektin Wasserstoffbrückenbindungen aus. Das führt zu einer stärkeren Quellung der Stärkekörner und verbessert die Löslichkeit. Quellbarkeit und Löslichkeit liefern einen Beweis für die Wechselwirkungen zwischen den Ketten innerhalb der Stärke. Das Ausmaß der Wechselwirkungen wird zum einen durch das Amylose/Amylopektin-Verhältnis beeinflusst und zum anderen durch Moleküleigenschaften wie Verzweigungsgrad, Kettenlänge und Molekülkonformation^[11]. Die drei Referenzen der Tab. 2. zeigen, dass der Amylosegehalt schwankt, was bei Naturprodukten üblich ist, da die Wachstumsbedingungen und damit die Bildung von Stärke nie gleich sind.

Tab. 2: Auflistung unterschiedlicher Stärkequellen mit entsprechend variierendem Amylosegehalt

Stärke	Amyloseanteil [%] ^[12]	Amyloseanteil [%] ^[13]	Amyloseanteil [%] ^[4]
Hylon VII	70	---	---
Kartoffel	28	23	21
Mais	28	28	27
Weizen	25	26	23
Amioca	1	1	---
WMS	---	---	0

10) H. J. Cornell, C. J. Rix, S. J. McGrane, *Starch/Stärke*, **54**, (2002), 517-526

11) W. S. Ratnayake, R. Hoover, T. Warkentin, *Starch/Stärke*, **54**, (2002), 217-234

12) D.-O. Krentz, W.-M. Kulicke, DECHEMA – AIF Forschungsvorhaben Nr. 13558, Abschlussbericht 2005

13) www.foodnews.ch/x-plainmefood/lebensmittel/Staerke.html

4) W. Burchard, *Polysaccharide*, Springer Verlag, Berlin, 1985

Wachsige Maisstärken als Quelle von nahezu homogener Stärke (fast 100 % Amylopektingehalt) sind von großem technischen Interesse, da sie andere Eigenschaften besitzen, als Stärken mit gewöhnlichen Amylose/Amylopektin-Gehalten. Amioca ist ein Handelsname für eine amylosearme Stärke^[8].

Wichtige Einsatzgebiete für amylopektinreiche Stärken ist die Lebensmittelbranche („instant food“) und die Medizin, wo ihre derivatisierten Formen als Blutplasmaersatzmittel eingesetzt werden (s. Kap. 3.1). Native Stärke und ihre Derivate sind nicht nur in der Medizin zu finden, sondern in sämtlichen Bereichen des täglichen Lebens sowie in modernen Konsumgütern wie z.B. Febréze®. Selbst in der Computerbranche wird geforscht, ob Datenträger auf Basis nachwachsender Rohstoffe einsatz- und konkurrenzfähig zu herkömmlichen Produkten sind. Der japanische Elektronikkonzern Pioneer hat einen optischen Datenträger entwickelt, der aus Maisstärke hergestellt wird. Wie die japanische Zeitung *Nihon Keizai Shimbun* berichtet, soll das Material, das für die Datenträger der DVD-Nachfolgeneration (Blu-ray) geeignet sei, kompostierbar und mit Hilfe von Bakterien vollständig biologisch abbaubar sein. 10 Datenträger mit einer Kapazität von maximal 25 Gbyte und einer Schichtdicke von 1,1 mm könnten aus der Stärkemenge eines einzelnen Maiskolbens hergestellt werden^[1].

Bei Konsumgütern halten die Cyclodextrine mehr und mehr Einzug. Diese ringförmigen Oligosaccharide werden durch den enzymatischen Abbau von Maisstärke hergestellt. Anwendung finden die Cyclodextrine als Geruchs- und Geschmackshemmer. Der Einsatz erfolgt in vielen Kosmetikprodukten zum Schutz der Wirkstoffe z.B. gegen UV-Licht und in der Textilindustrie^[14].

Ionische Derivate werden ebenfalls eingesetzt. Kationische Stärken werden als Flockungshilfsmittel^[15] (s. Kap. 4.3.7) und bei der Papierherstellung eingesetzt^[16]. Anionische Derivate wie Carboxymethylstärke fungieren als Ionentauscher^[4], aber auch als Additive für die Papierherstellung, sowie als Verdicker und Füllstoff in Medikamenten^[17].

8) P. H. Richardson, R. Jeffcoat, Y.-C. Shi, MRS BULLETIN/DECEMBER 2000

1) www.heise.de/newsticker/meldung/52872

14) C. Borchard-Tuch, Chem. Unserer Zeit, **39**, (2005), 137-139

15) D.-O. Krentz, C. Lohmann, S. Schwarz, S. Bratskaya, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, W.-M. Kulicke, Starch/Stärke, **58**, (2006), 161-169

16) A. Pingel Keuth, Chem. Unserer Zeit, **39**, (2005), 402-409

4) W. Burchard, Polysaccharide, Springer-Verlag, Berlin, 1985

17) T. Heinze, T. Liebert, U. Heinze, K. Schwikal, Cellulose, **11**, (2004), 239–245

2.1.1 Nicht ionische Stärkederivate – Hydroxyethylstärke / Acetylstärke

Präparate für Blutplasmaersatzmittel auf Basis von Hydroxyethylstärke (HES) sind polydisperse Polymergemische, die entweder aus Kartoffel- oder Maisstärke hergestellt werden. Häufig wird reines Amylopektin zur Herstellung verwendet, da Amylopektin dem körpereigenen Glykogen ähnelt. Glykogen ist weniger stark verzweigt als Amylopektin. Hauptkette und Substituenten sind über eine Etherbindung verknüpft.

Das verwendete Rohmaterial (Kartoffel/Mais) hat unter klinischen Gesichtspunkten keinen Einfluss auf die Verträglichkeit. Der Abbau von HES im Körper findet durch Amylasen statt (Abb. 3). Über Enzyme, die die Substituenten abspalten verfügt der Körper nicht. Die Abbaurate wird über den durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) und über den molaren Substitutionsgrad (MS) gesteuert. Der Hydroxyethylsubstituent kann aufgrund seiner Hydroxylfunktion ebenso wie die Hydroxylfunktion einer Glucoseeinheit substituiert werden. Durch die Mehrfachsubstitution eines Hydroxyethylsubstituenten entsteht der MS. Der MS kann Werte größer 1 annehmen. Je größer der MS, desto schwerer kann das Molekül im Blut durch Spaltung der α -1,4 Bindung abgebaut werden bzw. desto größer ist der Volumeneffekt und desto länger ist die Halbwertszeit des Abbaus^[3].

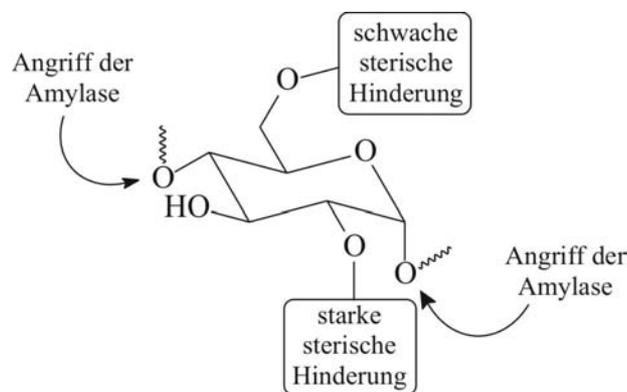


Abb. 3: Angriffspunkte der Enzyme bei HES

Der DS gibt an, wie viele der Hydroxylgruppen pro Anhydroglucoseeinheit (AGU) substituiert worden sind. Der DS dagegen kann maximal 3 sein, wenn alle Glucosemoleküle eine Hydroxyethylgruppe tragen. Die intravasale Verweildauer von HES-Lösungen nimmt mit steigender mittlerer Molmasse und besonders mit zunehmender molarer Substitution bzw. steigendem Substitutionsgrad zu.

Etherbindungen zum Substituenten haben sich aufgrund fehlender Enzyme zur Spaltung dieser

3) J. Boldt, Wien. Klin. Wochenschr, **116**, (2004), 159-169

als nicht optimal herausgestellt. Ein besserer Ansatz ist hier eine Esterbindung ausgehend von einer Acetylgruppe. Prof. Heinze und Dr. Liebert von der Universität Jena stellten selektiv O-2-substituierte Acetylstärken (AS) her, die bezüglich des DS, der Molmasse und deren Verteilung in dieser Arbeit dokumentiert sind. Abb. 4 zeigt die chemische Struktur einer O-2-substituierten AS.

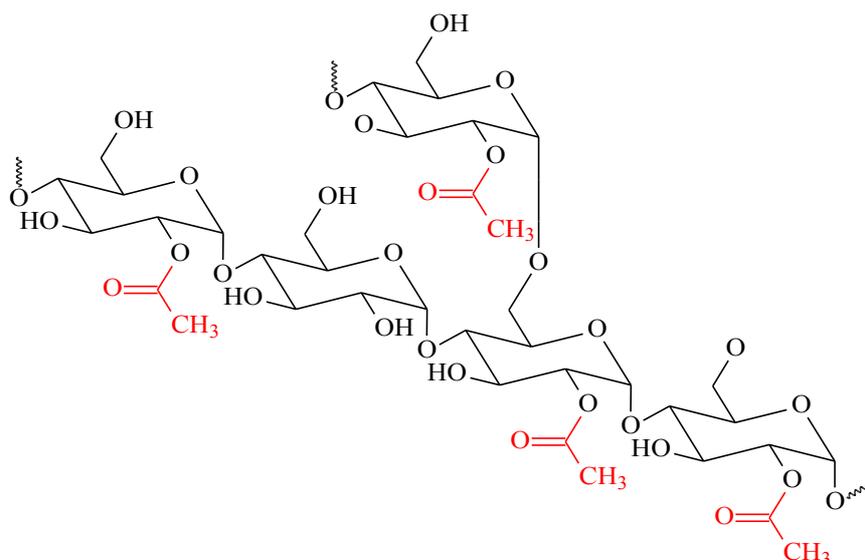


Abb. 4: Strukturformel von Acetylstärke, an der C-2 Position mit einer Acetylgruppe substituiert

Die selektive O-2-Acetylierung von Stärke in wässrigen Systemen mit Vinylacetat und verschiedenen Salzen als Katalysator ist schon patentrechtlich geschützt^[18]. Deshalb wurde nach einem selektiven Umsetzungsverfahren, welches nicht unter den Rahmen dieses Patents fällt, geforscht. Es wurden mehrere Acetylierungsverfahren mit verschiedenen Acetylierungsmitteln und Aktivator/Katalysator-Kombinationen bezüglich der regio-spezifischen Substitution mittels NMR-Messungen untersucht. Als erstes wurde das Isopropylacetat/Natriumcarbonat-Verfahren angewandt. Die Reaktion zeigte aber keine gute O-2-Selektivität. In einer weiteren Variante mit Isopropylacetat wurde das Natriumcarbonat durch Natriumdihydrogenphosphat ersetzt, welches ebenfalls nicht O-2-selektiv war. Eine neue Syntheseroute auf Basis von Essigsäureanhydrid mit unterschiedlichen Zusätzen wurde getestet. Die Methoden mit Pyridin und Pyrrolidon sowie das Essigsäure-N,N'-Carbonyl-diimidazol-Verfahren (A) lieferten die gewünschte O-2-Selektivität nicht. Bewährt für eine gute O-2-Selektivität hat sich ebenfalls das Essigsäureanhydrid/Imidazol-Verfahren (B) (Abb. 5).

18) M. Tessler, Deutsches Patent DE 22308-84, 1973

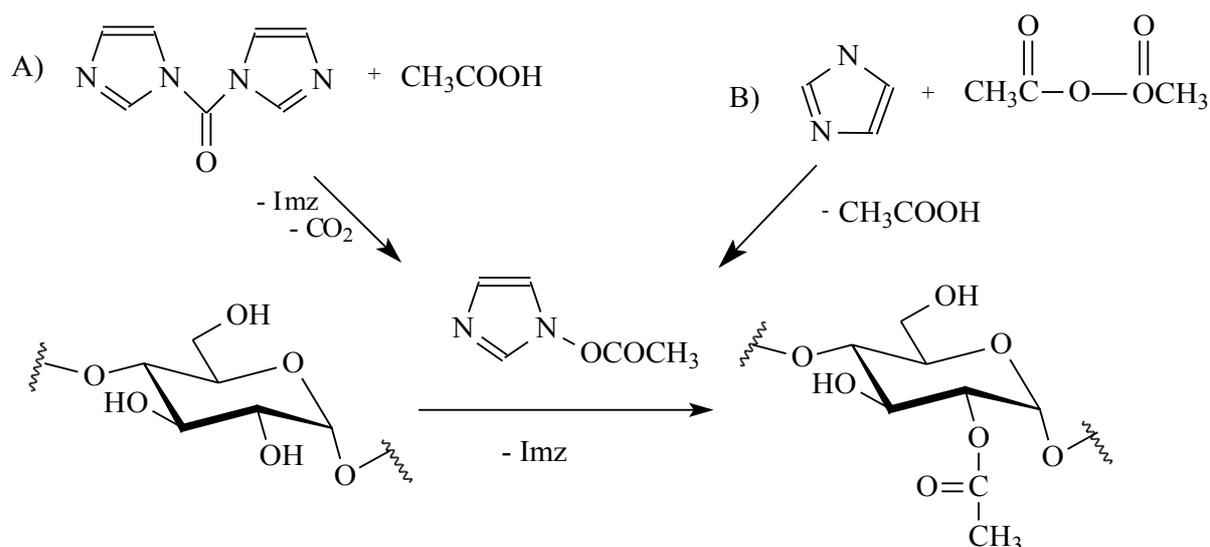


Abb. 5: Reaktionsgleichung des Imidazol-Verfahrens zur Herstellung von 2-O-selektiver AS

Die Acetylierung der in Kap. 4.2 charakterisierten Probe AS 1 auf Basis von Wachsmaisstärke erfolgte nach (B). Diese Reaktion ist eine sehr effiziente Acetylierungsvariante, da die Umsetzung mit hohen Ausbeuten verläuft und sich die Nebenprodukte leicht abtrennen lassen. Zudem handelt es sich um eine kostengünstige Herstellungsmethode. Dieses Herstellungsverfahren ist patentrechtlich geschützt^[19]. ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen haben bestätigt, dass bei der oben dargestellten Reaktion ein hoher Grad an 2-O-Selektivität bei den Glucoseeinheiten auftritt^[20].

2.1.2 Kationische Stärke

Kationisch modifizierte Stärken zeigen im Vergleich zur nativen Stärke bessere Stabilitäten gegenüber Retrogradation und eine verbesserte Kaltwasserlöslichkeit. In mehreren Anwendungsgebieten haben diese eine wichtige kommerzielle Bedeutung. In den Blickpunkt der Forschung rückt vermehrt der Einsatz von kationischen Stärken als Flockungshilfsmittel (FHM). Die Forschung wird zum einen durch das gestiegene Umweltbewusstsein und zum anderen durch eine Änderung der Düngemittelverordnung (DüMV) vorangetrieben. Diese schreibt vor, dass ab 2013 in Deutschland keine mit synthetischen FHM auf Polyacrylamidbasis behandelten Schlämme mehr auf landwirtschaftlich genutzten Flächen verbracht werden^[21]. Das

19) W.-M. Kulicke, T. Heinze, P. Pfefferkorn, Deutsches Patent, DE 10 2004 024 241 A1

20) P. Pfefferkorn, T. Liebert, Arbeitsbericht Acetylstärke, 2002

21) Düngemittelverordnung vom 26.11.2003, Bundesgesetzblatt (2003) Teil I Nr. 57

wichtigste Anwendungsgebiet für kationische Stärken ist die Papierherstellung und –entwässerung, bei der sie als Additive und Retentionsmittel eingesetzt werden. Durch Retention der kationischen Stärken an den anionischen Cellulosefasern erfolgt eine Erhöhung der Festigkeit des Papiers, sowie der Pigment- und Füllstoffkapazität^[16]. In geringem Maße werden kationische Stärken auch in der Trinkwasseraufbereitung und Abwasserreinigung eingesetzt. Zwei der wichtigsten kommerziellen kationischen Stärken sind die tertiären Aminoalkylether und quaternären Ammoniumalkylether. Das Reaktionsschema einer Synthese zeigt Abb. 6.

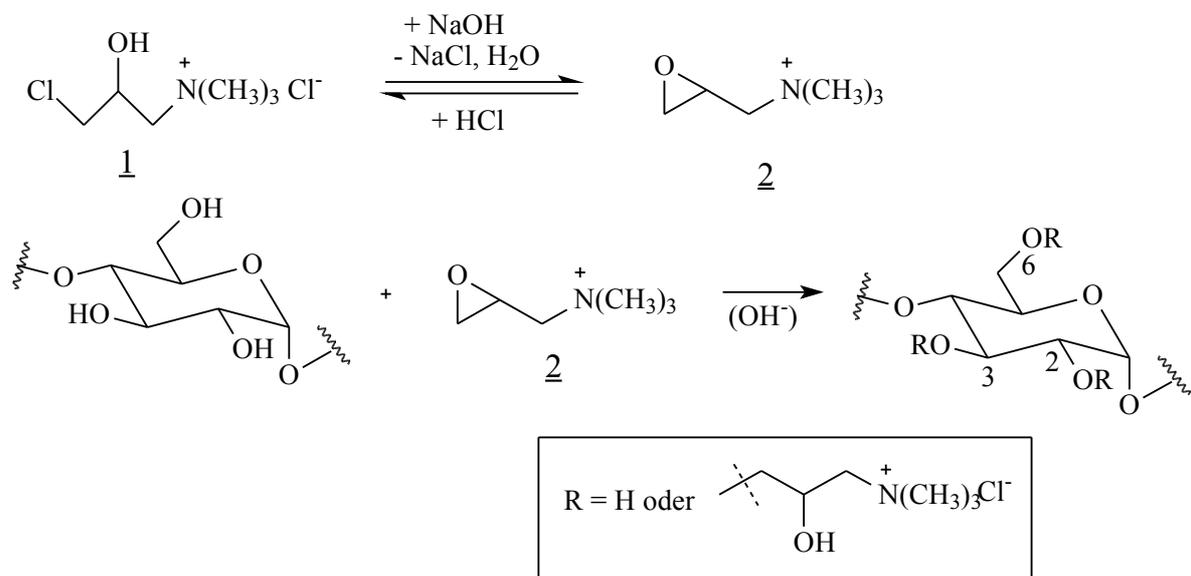


Abb. 6: Syntheseweg quaternärer Ammoniumalkylether von Stärke mit Chlorhydrin

Die Herstellung der Ammoniumalkylether erfolgt mit Ammoniumverbindungen, die durch Umsetzung mit dem Kationifizierungsreagenz 3-Chlor-2-hydroxypropyltrimethylammoniumchlorid (Chlorhydrin) erfolgt. Die Umsetzung kann bei unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt werden:

- Reaktion in einem organischen Lösungsmittel, sowohl in Suspension als auch in homogener Lösung,
- Reaktion in wässriger Suspension oder Paste,
- Trockenreaktionen, bei denen das Reagenz aufgesprüht und mit der Stärke vermischt wird,
- gleichzeitige Verkleisterung der Stärke und Kationisierungsreaktion.

Aus dem in wässriger Lösung stabilen Chlorhydrin (QUAB 188[®], 1) wird durch Zugabe einer Base (z.B. Natriumhydroxid) das reaktive 2,3-Epoxypropyltrimethylammoniumchlorid (QUAB 151[®], 2) erzeugt. Dieses kann dann in einer nucleophilen Substitutionsreaktion mit einer

Hydroxylgruppe (OH-Gruppe) der Stärke reagieren.

Die für die Substitution zugänglichen OH-Gruppen befinden sich an den Kohlenstoffatomen C-2, C-3 und C-6. Maximal ist somit unter Vernachlässigung der 1,6-Substitution im Amylopektin und der nicht reduzierten Kettenenden ein DS von drei erreichbar. Die Berechnung des DS kann mit zwei Methoden erfolgen, zum einen über den Stickstoffgehalt, der mittels Elementaranalyse bestimmt wurde (Gleichung 1)^[22] und zum anderen mittels NMR-Messungen. Die genaueren Werte liefert die erste Methode, da häufig ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis die Auswertung beeinträchtigt.

$$DS_N = \frac{162,15 \cdot \%N}{1401 - 151,64 \cdot \%N} \quad (\text{Gl. 1})$$

DS_N = durchschnittlicher Substitutionsgrad
N = Stickstoffgehalt

Die Kationifizierung der verschiedenen Ausgangsstärken, über die in dieser Arbeit berichtet wird, erfolgte wahlweise in homogener Reaktionsführung mit Wasser und in heterogener Reaktionsführung mit Alkohol (Methanol, Ethanol). Die Synthesen hat die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Heinze von der Universität Jena durchgeführt. Als Kationifizierungsreagentien wurden QUAB 151[®] und QUAB 188[®] verwendet^[12].

2.2 Polyelektrolyte – synthetische Polykationen

Polymere, die an den funktionellen Gruppen ihrer Haupt- oder Seitenkette Ladungen tragen, nennt man Polyelektrolyte. Ist die funktionelle Gruppe positiv geladen, spricht man von Polykationen, bei negativen Ladungen von Polyanionen. Diese Ladungen werden durch niedermolekulare Gegenionen in der Lösung kompensiert. Demzufolge enthalten spezielle technische Produkte nicht zu unterschätzende Mengen an Salz, die als Reaktionsprodukt anfallen. Polykationen und Polyanionen können sowohl natürlicher als auch synthetischer Herkunft sein. Zu der Klasse der natürlichen Polyanionen zählen Xanthane, derivatisierte Cellulosen und Stärken. Polyacrylate und Polystyrolsulfonate gehören zu den synthetischen

22) V. Haack, T. Heinze., G. Oelmeyer, W.-M. Kulicke, *Macromol. Mat. Eng.*, **287**, (2002), 495-502

12) D.-O. Krentz, W.-M. Kulicke, DECHEMA – AIF Forschungsvorhaben Nr. 13558, Abschlussbericht 2005

Vertretern dieser Art.

Polykationen auf Basis nachwachsender Rohstoffe sind Chitosan und kationisch derivatisierte Stärken bzw. Cellulosen. Zu den synthetischen Spezies zählen z.B. Polyacrylamidderivate wie PTAC (s. Abb. 7)^[23].

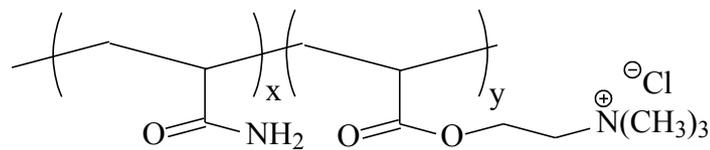


Abb 7: PTAC: Poly(acrylamid-co-N,N,N-trimethylammoniummethacrylatchlorid)

Aufgrund der Ladungen unterscheidet sich das Verhalten der Polyelektrolyte von dem der ungeladenen Polymere. Ein wichtiges Merkmal, welches Polyelektrolyte auszeichnet, ist ihre Löslichkeit in wässrigen Systemen, wobei das Löslichkeitsverhalten schlechter ist als das der niedermolekularen Elektrolyte. Im Polyelektrolyten liegt ein Teil der Ladungen miteinander verbunden vor, während bei den niedermolekularen Elektrolyten alle Ionen in der Lösung frei verteilt sind. Setzt man den Polyelektrolyten genügend Salz zu, so verhalten diese sich aufgrund der Abschirmung der Ladungen wie ungeladene Polymere. Die Ladungen induzieren Wechselwirkungen (Coulomb-Wechselwirkungen) zwischen einzelnen Segmenten eines Polymers, aber auch zwischen den Polymermolekülen. Bei Polyelektrolyten zeigen die Coulomb-Wechselwirkungen eine große Reichweite, wohingegen bei neutralen Polymeren nur über kurze Bereiche innerhalb einer Kette Wechselwirkungen auftreten.

Aufgrund von Struktur und Art der ladungstragenden funktionellen Gruppe ist das Dissoziationsverhalten nicht einheitlich. Über das Dissoziationsverhalten ist eine Unterteilung in starke und schwache Polyelektrolyte in wässrigen Systemen möglich. Starke Polyelektrolyte liegen über einen weiten pH-Bereich vollständig dissoziiert vor, wobei die schwachen, zu denen auch die Polyacrylsäure gehört, in Wasser nicht über den ganzen pH-Bereich dissoziiert vorliegen. Mehrere Faktoren wie Säure- bzw. Basenstärke (pH-Wert) und die Ionenstärke üben einen Einfluss auf die schwachen Polyelektrolyte aus. Der Dissoziationsgrad beeinflusst die Ladungsdichte, wohingegen die Ionenstärke die Struktur der Polyelektrolyte in wässriger Lösung beeinflusst. So würden ohne zugesetztes Fremdsalz und bei extremer Verdünnung die Polymere als steife Stäbchen vorliegen, mit genügend Salz verhalten sich die Polyelektrolyte

23) D.-O. Krenz, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2001

wie neutrale Polymere in Lösung^[24].

Aufgrund ihrer guten Löslichkeit finden Polyelektrolyte in der Industrie vielseitigen Einsatz. Als Beispiel sei hier die Anwendung von synthetischen Polyelektrolyten bei der Flockung genannt. Diese fasst man unter dem Oberbegriff Flockungshilfsmittel (FHM) zusammen. Die FHM werden in der Abwasserbehandlung zur Ausflockung von Trübstoffen und zur Erhöhung der Wasserfreisetzung von Schlämmen eingesetzt. Bei der maschinellen Entwässerung bewirken synthetische Polyelektrolyte eine wesentlich höhere Trenneffektivität zwischen fester und flüssiger Phase als anorganische Flockungsmittel, da sie bei einer geringeren Einsatzkonzentration größere und stabilere Flocken bilden^[25]. Bei den in der Abwassertechnik vielfach eingesetzten FHM handelt es sich um Copolymerisate aus Acrylamid und Acrylsäure bzw. Acrylsäurederivaten^[26]. Die Molmassen synthetischer FHM variieren über einen weiten Bereich ($10^3 - 10^7$ g/mol), wobei die obere Grenze durch die Synthese und die Wasserlöslichkeit der Polymerisate gegeben wird^[27].

Durch Homopolymerisation von geladenen Monomeren lassen sich Ladungsgehalte von 100 mol-% erreichen. Geringere Ladungsanteile lassen sich über eine partielle Hydrolyse von Polyacrylamid einstellen. Zur Herstellung kationischer Polyacrylamide werden am häufigsten Mischungen aus Acrylamid und quarternären Salzen wie Dimethylaminoethylacrylat (DMAEA, ADAME) radikalisch polymerisiert^{[27],[28]}. Der Vorteil dieser quarternären FHM-Produkte liegt in der guten Polymerisierbarkeit, wodurch eine hohe Molmasse erzielt werden kann, und in ihrer pH-unabhängigen Ladungsdichte. Nachteilig ist die Hydrolyseempfindlichkeit der Esterbindung, die die Lagerstabilität von Acrylsäurederivaten im Basischen und Neutralen beeinträchtigt.

Aufgrund des toxischen Acrylamid-Restmonomeranteils, ihrer ungenügenden biologischen Abbaubarkeit und Fischtoxizität sollen synthetische FHM in Zukunft verstärkt durch derivatisierte Polysaccharide ersetzt werden. FHM auf Basis nachwachsender Rohstoffe sind relativ leicht biologisch abbaubar und im Gegensatz zu synthetischen, auf petrochemischen Produkten basierenden FHM klimaneutral. Kationische Stärkederivate zeigten bei Versuchen auf der Anlage METHA (Mechanische Trennung von Hafenschlick) ein hohes

24) D. Held, Dissertation, Johannes Gutenberg Universität, Mainz, 2000

25) B. Heinzmann, Tagungsband der 12. Karlsruher Flockungstage, Oldenbourg Verlag GmbH, München, 1998

26) J. Bratby, Coagulation und Flocculation, Uplands Press LTD, Croydon, 1980

27) E. Buss, J. Lehmkuhl, Aufbereitungs-Technik, **5**, (1981), 265-269

28) H. Schuhmann, Tagungsband der 12. Karlsruher Flockungstage, Oldenbourg Verlag GmbH, München, 1998

Flockungspotential^[29]. Die Flockungseffektivität von FHM auf Basis von Polysacchariden lässt sich durch Optimierung molekularer Parameter, wie durchschnittlicher Substitutionsgrad, Gelknäuelvolumen, Molmasse und Molmassenverteilung, steigern^{[15],[22]}.

Ein weiteres großes Anwendungsgebiet für Polykationen ist die Papierindustrie. Bei der Papierherstellung werden Polykationen bei der so genannten Retention eingesetzt. Unter Retention versteht man den Prozess, bei dem der suspendierte Zellstoff während der Filtration als Filterkuchen zurückgehalten wird. Aus dem Filterkuchen entsteht das Papier. Zur Verbesserung der Retention werden Retentionsmittel zugesetzt, die mit den anionischen Cellulosefasern und den Füllstoffen feine Flocken bilden, welche sich deutlich besser filtrieren lassen. Durch die Flockungsbildung wird auch die Geschwindigkeit der Filtration erhöht, so dass die Laufgeschwindigkeit der Papiermaschine vergrößert werden kann. Allerdings dürfen diese Flocken nicht zu grob werden, da sonst das Papier weniger homogen wird und es zu Lochbildung kommen kann^[16].

2.3 Sulfoethylcellulose

Bei der Sulfoethylcellulose (SuEC), einem Celluloseether, handelt es sich um ein Derivat der α -(1,4)-verknüpften D-Glucopyranose mit Sulfoethyl-Substituenten. In Abb. 8 ist die Strukturformel dargestellt.

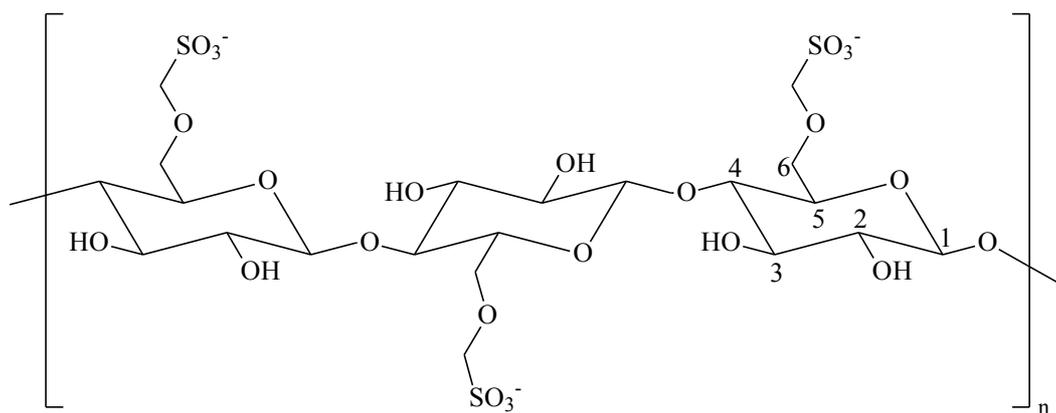


Abb. 8: Strukturformel von Sulfoethylcellulose

29) G. Oelmeyer, D.-O. Krentz, W.-M. Kulicke, Chem. Ing. Technik, **73**, (2001), 546-550

15) D.-O. Krentz, C. Lohmann, S. Schwarz, S. Bratskaya, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, W.-M. Kulicke, Starch/Stärke, **58**, (2006), 161-169

22) V. Haack, T. Heinze, G. Oelmeyer, W.-M. Kulicke, Macromol. Mat. Eng., **287**, (2002), 495-502

16) A. Pingel Keuth, Chem. Unserer Zeit, **39**, (2005), 402-409

Wie viele Cellulosederivate, neigt auch die SuEC dazu, Aggregate zu bilden, was eine Charakterisierung erschwert. Es existieren Molekülverbände, die entsprechend ihrer Größe in Mikrogele (< 500 nm) und Makrogele (> 500 nm) eingeteilt werden können. Zur Aufklärung der Lösungsstruktur ist nicht nur die Struktur eines Moleküls, sondern die des Gesamtsystems heranzuziehen. Für viele Anwendungen sind gerade diese übergeordneten Strukturen von Bedeutung. Beim Lösungsprozess in wässrigen Medien bilden sich je nach Molmasse und Substitutionsgrad unterschiedlich große Aggregate. Aggregate meinen hier die zu unlöslichen Molekülverbänden führende irreversible Zusammenlagerung. Die Verknüpfung der Molekülverbände ist auf Wechselwirkungen zurückzuführen^[30]. Große Aggregate (Makrogele) können durch Probenpräparation (Filtration oder Zentrifugation) abgetrennt werden. Kleine Aggregate (Mikrogele) werden nicht bei der Probenpräparation abgetrennt und führen zu Störungen beim Elutionsprozess der Größenausschlusschromatographie.

Ein geringer Substitutionsgrad begünstigt die Aggregatbildung. Dadurch sind schwächer werdende elektrostatische Abstoßungskräfte und eine größere Zahl aggregatfördernder, intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen in den einzelnen nicht modifizierten Cellulosehauptketten vorhanden. Molekulardispers gelöste Proben können nur durch polymeranaloge Umsetzungen (z.B. Methylierung) erhalten werden, wodurch die intramolekularen Wechselwirkungen verringert werden^[31]. Die Wasserlöslichkeit nimmt bei einem durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) von 0,2 bis 0,5 zu, was auf eine gleichmäßige Verteilung der Substituenten entlang der Polymerkette hindeutet. Die voluminösen Sulfatgruppen verhindern bei steigendem DS die Ausbildung von intramolekularen Wechselwirkungen.

Die Herstellung erfolgt in Form einer Reaktion analog der Michael-Addition durch Umsetzen von Cellulose mit Vinylsulfonat^[32] oder durch Reaktion von Alkalicellulose in einer Williams-Ethersynthese mit dem Natriumsalz der 2-Chlorsulfonsäure. Die Umsetzung findet als heterogene Reaktion statt. Im ersten Reaktionsschritt erfolgt eine Aktivierung der Cellulose, indem bei 20° bis 40°C 1,5 bis 2 molare Natronlauge (NaOH) auf die Cellulose einwirkt. Anschließend folgt der Veretherungsschritt mit dem Natriumsalz der Vinylsulfonsäure (s. Abb. 9). Nach der Reaktion wird mit Salzsäure neutralisiert und mit Wasser gewaschen.

30) K.-F. Arndt, G. Müller, Polymercharakterisierung, Carl Hanser Verlag, München, 1996

31) S. Knop, H. Thielking, W.-M. Kulicke, J. App. Polym. Sci., **77**, (2000), 3169-3177

32) D. Herzog, K. Balser, K. Szablikowski, Europäisches Patent, EP 319,867, 1989

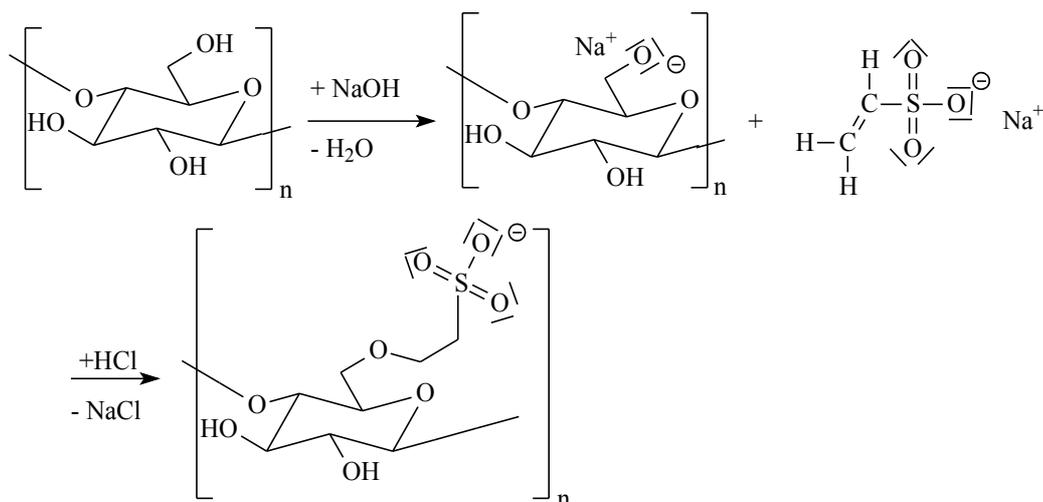


Abb. 9: Darstellung von Sulfoethylcellulose aus Cellulose und Vinylsulfonat

Bevorzugt wird die Hydroxylgruppe (OH-Gruppe) am Kohlenstoffatom C-6 einer Glucoseeinheit substituiert, da diese sich in einer anderen, frei zugänglichen Ebene befindet. Aufgrund von sterischer Hinderung durch die voluminöse Sulfoethylgruppe ist es nur schwer möglich OH-Gruppen am C-3 zu substituieren. Die OH-Gruppen am C-2 und C-3 können ebenfalls verethert werden, wobei die Alkalisierungs- und Veretherungsschritte mehrmals zu wiederholen sind. Die effektive Substitutionsgeschwindigkeit ist an C-6 am größten, gefolgt von C-2 und C-3 ($k_6: 5$, $k_2: 3$, $k_3: 1$)^[33]. Durch die Herkunft der Cellulose kann die Molmasse bzw. die Kettenlänge beeinflusst werden. Die Konzentration und die Reaktionsführung können Auswirkung auf den DS haben.

Die Verwendung von SuEC ist vielfältig. Anwendung findet SuEC bei der Verarbeitung u.a. in Symplex-Membranen, die durch Zusammenlagern eines Polyanions (SuEC) und eines Polykations (Chitosan, Poly-DADMAC) in der Wärme eine dünne Membran bilden^{[31],[34]}. Eine derartige Kombination kann z.B. in Form von Kapseln zur biologischen Bekämpfung von Nematoden angewandt werden^[35]. Aufgrund ihrer Biokompatibilität wird SuEC auch bei der Chromatographie von Peptiden^[36] verwendet. Weitere Anwendungsbereiche sind u.a. als

33) W. Kull, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1996

31) S. Knop, H. Thielking, W.-M. Kulicke, J. App. Polym. Sci., **77**, (2000), 3169-3177

34) S. Knop, H. Thielking, W.-M. Kulicke, Adv. Chitin Sci., **IV**, (2000), 104-110

35) T. Rose, Dissertation, Technische Universität Braunschweig, Braunschweig, 2001

36) P. Jolles, Bulletin of the Chemical Society of France, **12**, (1963), 2923-2932

Additiv in der Keramik- und Glasindustrie^{[37],[38],[39],[40],[41]}, für Fotobeschichtungen^[42], als Verdickungsmittel für Kosmetikprodukte^[38] und in Feuerlöschern^[43].

2.4 Guar

Guar zählt zu der Gruppe der Galactomannane und wird aus der Frucht (Bohne) der Guarpflanze *Cyamopsis tetragonoloba* gewonnen. Die Guar-Bohne wächst als ein subtropisches Gewächs in Indien, Pakistan und Texas. Unreif ist sie ein wertvolles Futtermittel. Aus der reifen Bohne wird ein Mehl gewonnen, das sich durch seine außerordentlich hohe Quellfähigkeit auszeichnet^[44]. Abb. 10 zeigt die Guar-Bohne und die Guarkörner. Die Art der mechanischen Vor- und Nachbehandlung bestimmt die Qualität und Feinheit der üblicherweise in Mehlform erzeugten Handelsprodukte.



Abb. 10: Guar-Bohne

Galactomannane bestehen aus 1,4- β -glykosidisch verknüpfter Mannose. An die Mannosehauptkette sind Galactose-Einheiten 1,6- α -glykosidisch verknüpft. Abb. 11 zeigt die Strukturformel von Guar. Bei Guar kommen auf eine Mannose-Einheit 0,55 bis 0,63 Galactose-Einheiten^[45].

37) Shin-Etsu Chemical Industry Co. Ltd., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, **264**, (1981), 8154

38) Shin-Etsu Chemical Industry Co. Ltd., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, **907**, (1981), 8118

39) Shin-Etsu Chemical Industry Co. Ltd., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, **486**, (1981), 8163

40) Shin-Etsu Chemical Industry Co. Ltd., Jpn. Office Annual Report, **843**, (1981), 8163

41) Shin-Etsu Chemical Industry Co. Ltd., Japanisches Patent, JP 82, 100,974, 1982

42) W. Himmelmann, H. T. Buschmann, D. Herzog, K. Balsler, K. Szablikowski, Deutsche Offenlegungsschrift DE 3,914,947, 1990

43) M. Y. Pletnev, A. A. Trapeznikoy, I. G. Reznikov, Chemical Abstracts, **93**, (1980), 132, 188672t

44) www.amapur.de/mediadb/downloads/wissenswertes_ueber_guar

45) B. Wenzke, J. Storz, C. Clasen, Abschlussbericht DGMK-Projekt Nr. 633, 2006

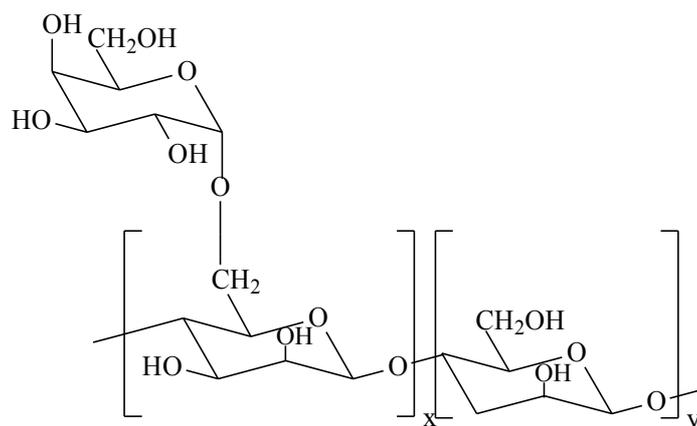


Abb. 11: Strukturformel von Guar

Guar ist aus nicht ionischen stäbchenförmigen Polymeren aufgebaut. Höhere Galactosesubstitutionen fördern die Steifheit des Moleküls und reduzieren im gleichen Zuge die generelle Dehnbarkeit und den Gyrationradius der isolierten Ketten. Die Galactosereste verhindern starke Kettenwechselwirkungen. Verschiedene Substitutionsmuster führen zu unterschiedlichen Festigkeiten. Blocksubstitution verleiht größere Steifheit, wohingegen eine alternierende Substitution eine sehr flexible Konformation ergibt. Zufällige Substitution stellt zwischen beiden Extremen ein Mittelweg dar^[46]. Ein generelles Substitutionsmuster ist in Abb. 12 gezeigt^[45].

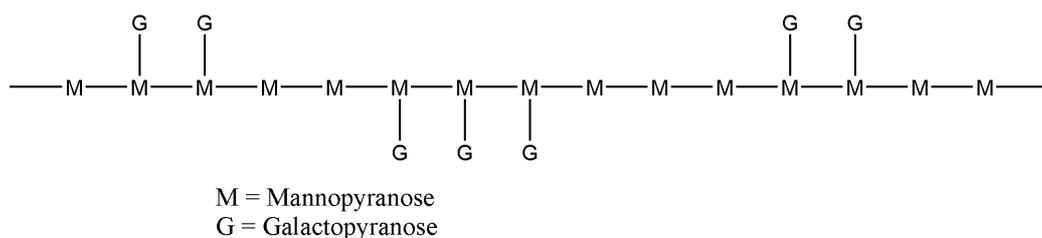


Abb. 12: Mögliches Substitutionsmuster der Mannose- und Galactoseeinheiten von Guar

Die Molmasse von Guar variiert von $0,5 \cdot 10^6$ bis $2 \cdot 10^6$ g/mol. Als zusätzliche Begleitstoffe sind u.a. niedermolekulare Zucker (bis zu 5 Gew%), ölige Komponenten, cellulosische Bestandteile und 4-6 Gew% Proteine enthalten. Der Einsatzbereich für Guar, auch Guarkernmehl und Guar Gum, ist vielfältig^[45]. Im Lebensmittel-, pharmazeutischen und Kosmetikbereich wird es als Quellstoff und Verdicker verwendet und verbirgt sich in Lebensmitteln unter der Nummer E 412. Dem Tierfutter wird Guar in Verbindung mit hochviskosen Cellulosederivaten

46) C. L. O. Pektowitz, F. Reicher, K. Mazeau, Carbohydr. Polym., **37**, (1998), 25-39

45) B. Wenzke, J. Storz, C. Clasen, Abschlussbericht DGMK-Projekt Nr. 633, 2006

zugesetzt^[47]. Weitere Anwendungsbereiche sind die Textil- und Papierindustrie, die Sprengstoffherstellung sowie die Öl- und Gasindustrie zur Abdeckung von Lagerstätten^[48]. Durch enzymatische, oxidative, hydrolytische oder thermische Kettenspaltung ist es möglich, die Länge und Größe des Polymerelements zu vermindern und so unter anderem die Viskosität und die rheologischen Eigenschaften einer Guar-Lösung den spezifischen Anforderungen des jeweiligen Verarbeitungsprozesses anzupassen^[49].

47) www.wolff-cellulosics.de/ce/cecms.nsf/id/Tierfutter_de

48) www.lsbu.ac.uk/water/hyqua.html

49) www.provisco.com/r_guarkern_d.htm

3 Theoretische Hintergründe

3.1 Blutplasmaersatzmittel

Für die Gewährleistung einer normaler Kreislauffunktion nach einem Unfall oder nach einer schweren Operation muss ein ausreichendes Füllvolumen im intravasalen (Gefäß-)System vorhanden sein. Die Abnahme der zirkulierenden Blutmenge verringert den Füllungsdruck des Gefäßsystems und erniedrigt den venösen Rückstrom zum Herzen, was zum Schock und damit zum Tode führen kann. Blutverluste müssen nicht immer durch Infusionen mit Vollblut oder anderen Blutplasmaersatzmitteln (Hydroxyethylstärke (HES), Dextran etc.) ausgeglichen werden. Liegt der Blutverlust unterhalb 500 mL, ist es möglich das fehlende Volumen mit isotonischer Kochsalzlösung aufzufüllen. In diesem Fall übernimmt die isotonische Kochsalzlösung die Funktion einer kristalloiden Ersatzlösung. Oberhalb von 500 mL oder wenn die Hämoglobinkonzentration unter 100 g/L fällt^[50], ist der Einsatz eines kolloidalen Blutplasmaersatzmittels erforderlich^[51]. Ferner werden Blutplasmaersatzmittel zur Hämodilution (Blutverdünnung)^[52] oder zur Therapie bei Hörsturz^[53] angewandt.

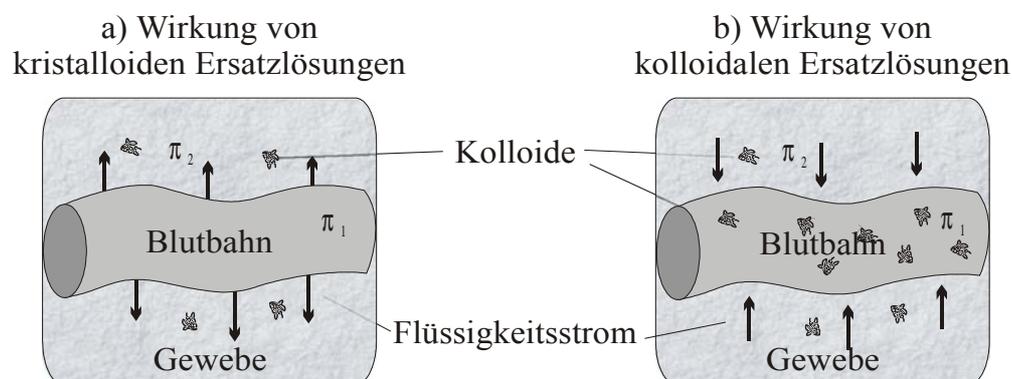


Abb. 13: Schematische Darstellung der Wirkungsweise von kristalloiden (a) und kolloidalen (b) Plasmaersatzmitteln

Die Wirkungsweise von kristalloiden und kolloidalen Ersatzlösungen ist in Abb. 13 schematisch dargestellt. Der so genannte kristalloid-osmotische oder der kolloid-osmotische (onkotische) Druck (KOD) regeln die Verteilung des Wassers zwischen dem intravasalen und dem interstitiellen (Gewebe-)Raum. Bei kristalloiden Plasmaersatzmitteln werden salzhaltige

50) E. Mutschler, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 7. Aufl., S.Hirzel Verlag, Stuttgart, 1997

51) W.-M. Kulicke, T. Heinze, Macromol. Symp., **231**, (2006), 47-59

52) B. E. Ickx, F. Bepperling, C. Melot, C. Schulman, P. J. Van der Linden, Br. J. Anaest, **91**, (2003), 196-202

53) G. Lehmann, F. Asskali, H. Förster, Transfus. Med. Hemother., **30**, (2003), 72-77

Lösungen zugeführt, wodurch der KOD im Blutgefäß π_1 niedriger als im umliegenden Gewebe π_2 ist. In Folge dessen diffundiert Wasser in das umliegende Gewebe. Wird von außen keine Flüssigkeit zugeführt, kann das Blutgefäß aufgrund von mangelndem Füllvolumen kollabieren.

Durch die Infusion von kolloidalen Plasmaersatzmitteln wird der KOD innerhalb des Blutgefäßes erhöht, wodurch Wasser aus dem umliegenden Gewebe in die Blutbahn diffundiert und somit das Gefäß vor dem Kollabieren bewahrt. Diese Diffusion erzeugt einen Volumeneffekt. Über die Konzentration der Kolloide kann der Volumeneffekt variiert werden. Die kolloidalen Plasmaersatzmittel haben aufgrund ihrer Struktur den Vorteil einer längeren Verweildauer, wodurch zum einen ein länger andauernder Volumeneffekt und zum anderen eine Volumenvergrößerung (Volumeneffekt auch über 100 %) erzielt werden. Wenn die KODs im Blutgefäß und im Gewebe gleich sind ($\pi_1 = \pi_2$), ist ein 100 %iger Volumeneffekt erreicht. Ist der KOD im Blutgefäß höher als der im umliegenden Gewebe, so diffundiert Wasser hinein. Plasmaersatzmittel mit einem Volumeneffekt über 100 % werden als Blutplasmaexpander bezeichnet.

Die Verabreichung von Vollblut ist die beste Methode, das Blutvolumen zu erhöhen oder aufzufüllen, da sowohl Elektrolyte, Immunoglobine als auch Blutgerinnungsfaktoren im richtigen Verhältnis zugeführt werden. Des Weiteren wird die Sauerstofftransportfunktion optimal gewährleistet. Vollblut steht allerdings nur in begrenzten Mengen zur Verfügung, und diese Situation wird sich in den nächsten Jahrzehnten durch sinkende Geburtenraten und eine dadurch bedingte alternde Bevölkerung weiter verschärfen^[54]. Vollbluttransfusionen sind mit Problemen und Risiken verbunden, denn zum einen können Inkompatibilitäten zwischen den Blutgruppen auftreten und zum anderen besteht die Gefahr einer Infektion (z.B. HIV, Hepatitis etc.). Zudem erfordert die Gewinnung (Prüfung auf Krankheitserreger), Lagerung (geringe Haltbarkeit von 4 - 6 Wochen) und der Transport von Vollblut einen hohen technischen Aufwand.

Um diese Schwierigkeit zu umgehen und Vollblut in Maßen zu ersetzen, ist in den letzten Jahrzehnten mit vielen natürlichen und synthetischen Substanzen experimentiert worden, wie z.B. Gummi Arabicum (Bayliss 1915/ Hurwitz 1915) und Gelatine (Hogan 1915, im Zuge des 1. Weltkrieges), Albumin^[55], Polyvinylpyrrolidon (PVP)^[56], Dextran, Pullulan^[57] und

54) M. G. Scott, D. F. Kucik, L. T. Goodnough, T. C. Monk, Clin. Chem., **43**, (1997), 1724-1731

55) P. Pfefferkorn, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2004

56) W. E.-K. Mohr, Pathologe, **23**, (2002), 386-388

57) K. I. Shingel, Carbohydr. Res., **339**, (2004), 447-460

HES/Acetylstärke (AS) in den Jahrzehnten danach. Die gegenwärtige Forschung befasst sich mit der Herstellung von HES aus Kartoffelstärke^[58] und ι -Carrageenan^[59]. In den letzten Jahren wurden auch perfluorierte Kohlenwasserstoffe auf ihre Tauglichkeit und Verträglichkeit hin getestet^[54].

Unter den drei eingesetzten Gruppen kolloidaler Plasmaersatzmittel (Dextran, Gelatine, HES) ist HES das in Deutschland am weitesten Verbreitete^[60]. Gelatine-Derivate haben sich wegen ihrer geringen Wasserbindungskapazität und wegen ihrer sehr kurzen Wirkungsdauer in Deutschland nicht durchsetzen können. Ferner beeinflussen Gelatine-Präparate nachteilig die Blutplättchenaggregation^[61]. In Verbindung mit Gelatine besteht immer auch noch die Angst vor BSE. Amerikanische Forscher haben kürzlich herausgefunden wie die BSE-Erreger (Prionen) in den Körper gelangen^[62]. Dextran-Präparate wurden in den letzten Jahren wegen der häufigen anaphylaktischen Reaktionen^{[63],[64]} weitgehend durch das gut wirksame und verträgliche HES verdrängt. Dextran stellte 1986 noch einen Marktanteil von 44%, welcher bis 1996 auf 2 % sank^[65]. Die erste Zahl gibt die Molmasse und die zweite den DS an. Tab. 3 gibt eine Übersicht einiger kommerziell erhältlicher Präparate, die in Europa und in den USA eingesetzt werden.

58) mündliche Mitteilung durch Prof. Weidhase, Serumwerke Bernburg

59) C. G. Fausto, Z. Zordilla, M.P. De Vera, R. T. Quintos, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **29**, (2003), 279-288

54) M. G. Scott, D. F. Kucik, L. T. Goodnough, T. C. Monk, *Clin. Chem.*, **43**, (1997), 1724-1731

60) H.J. Dietrich, *Anaesthesist*, **50**, (2001), 54-68

61) P. A. Evans, J. R. Glenn, S. Heptinstall, W. Madira, *Br. J. Anaesth.*, **81**, (1998), 198-202

62) R. S. Mishra, S. Basu, Y. Gu, X. Luo, W.-Q. Zou, R. Mishra, R. Li, S. G. Shen, P. Gambetti, H. Fujioka, N. Singh, *J. Neurosci.*, **24**, (2004), 11280 –11290

63) H. M. Laubenthal, J.F. Baron (ed.) *Plasma Volume Expansion*, Arnette, Paris, 1992

64) W.L. Thompson, *Transfusion*, **16**, (1976), 6-16

65) D. Heins et al., *Starch/Stärke*, **50**, (1998), 431-437

Tab. 3: Übersicht zu einigen kommerziellen Blutplasmaersatzmitteln

Substanz	Handels/Produktname	Hersteller	Zusätze	Literatur	Konzentration [%]	Europa	USA
HES 70/0,58	Rheohes	B. Braun ¹⁾	NS	[66]	6	✓	---
HES 130/0,4	Voluven	Fresenius Kabi ²⁾	NS	⁵⁾	6	✓	---
HES 200/0,5	Hemohes HES-Steril	B. Braun ¹⁾ Fresenius Kabi ²⁾	5 % Glucose	⁵⁾	6 / 10	✓	---
HES 200/0,5	HyperHAES	Fresenius Kabi ²⁾	7,2 % NaCl	[67],[68]	6	✓	---
HES 200/0,62	Elohäst	---	---	[69]	---	✓	---
HES 450/0,7	Plasmasteril	Fresenius Kabi ²⁾	NS	⁵⁾	6	✓	---
HES 200/0,5	Pentaspán	B. Braun ³⁾	---	---	---	---	✓
HES 450/0,7	Hextend	---	Elektrolyte Glucose Lactat	[70]	6	---	✓
HES 450/0,7	Hespan	B. Braun ³⁾ DuPontPharma ⁴⁾	---	[71] [72]	---	---	✓
Dex 70	Rescue Flow	Biophasia AB Uppsala	7,5 % NaCl	[67],[68]	6	✓	---
Dex 70	Macrodex	Medisan Pharmaceuticals Uppsala	7,5 % NaCl	[73],[68]	6	✓	---
Gelatine	Gelofusine	B. Braun Medical	Ca-Ionen	[61]	---	✓	---

NS = isotonische Kochsalzlösung (engl. normal saline)

NaCl = Kochsalz

Ca = Calcium

¹⁾Melsungen AG, Melsungen

²⁾Bad Homburg

³⁾Irvine, CA, ⁴⁾Wilmington, DE

⁵⁾Produktinformation

66) H. Förster et al., Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther., **36**, (2001), 31-37

67) G. Lehmann, F. Asskali, H. Förster, Anaesthesist, **51**, (2002), 820-824

68) U. Kreimeier, K. Peter, K. Meßmer, Anaesthesist, **50**, (2001), 442-449

69) S. Suttner, J. Boldt, HAES-Info, **16**, (2002), 1-8

70) N.J. Wilkes et al., Anest. Analg., **94**, (2002), 538-544

71) R. G. Strauss, B. J. Pennell, D. C. Stump, Transfusion, **42**, (2002), 27-36

72) K.S. Tsang et al., Transfusion, **41**, (2001), 344-352

73) O.E. Dahl et al., Haemostasis, **29**, (1999), 262-268

61) P. A. Evans, J. R. Glenn, S. Heptinstall, W. Madira, Br. J. Anaesth., **81**, (1998), 198-202

Ein Grund für die gute Verträglichkeit von HES ist die große Ähnlichkeit des Amylopektins mit dem Speicherkohlenhydrat Glycogen des menschlichen Körpers^[55]. Die Ausscheidung von HES erfolgt in zwei Phasen, und fast ausschließlich über die Niere. Die Moleküle mit einer Molmasse kleiner als ca. 50.000 g/mol (Nierenschwelle) werden schnell ausgeschieden. Die Moleküle mit einer Molmasse oberhalb der Nierenschwelle werden durch Serumamylasen abgebaut, und bei Nierengängigkeit dann ebenfalls ausgeschieden. Das Abbauverhalten wird vom Grad der Substitution und vom Substitutionsmuster an den entsprechenden C-Atomen beeinflusst, da in der Reihenfolge (C-2 > C-6 > C-3) ein Angriff der Enzyme erschwert wird. Eine Erhöhung des Substitutionsgrads bewirkt einen langsameren Abbau und damit eine höhere Verweilzeit. Durch eine erhöhte oder spezifische Substitution an C-2 wird dies noch verstärkt^[74]. Nach einer HES-Infusion verläuft der Abbau von HES über die Spaltung der Amylopektin-Hauptkette durch körpereigene Glycosidasen. Es sind keine Enzyme bekannt, die die stabilen Hydroxyethylether-Bindungen der HES-Substituenten spalten könnten^[75]. Ein Anteil von ca. 2 bis 3 % wird in der Haut, Leber, Lunge und Milz eingelagert^[55], wie die Mikroskopbilder in Abb. 14^{[76],[77]} zeigen.

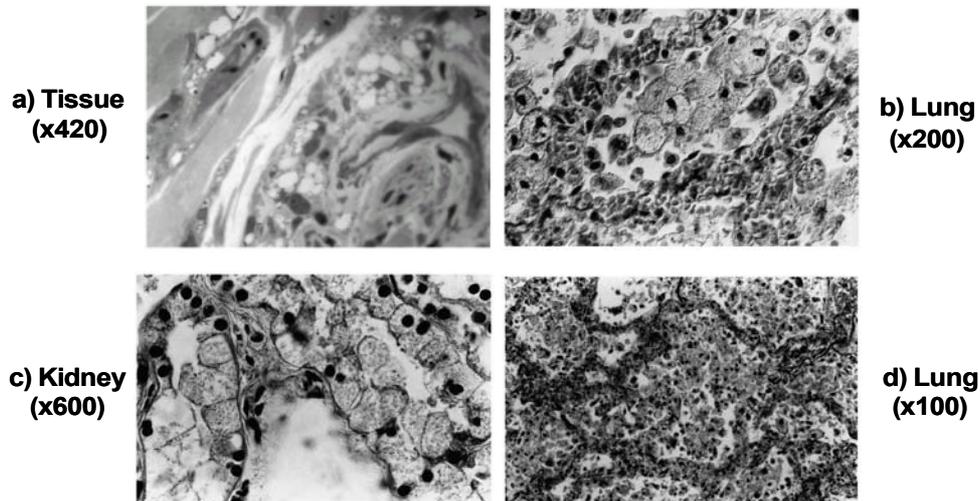


Abb. 14: HES-Ablagerungen in Gewebe, Niere und Lunge, beim Schwein, publiziert in^{[76],[77]}

55) P. Pfefferkorn, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2004

74) R. Pöhlmann, Krankenhauspharmazie, **12**, (1991), 496-498,

75) U. H. Warnken, F. Asskali, H. Förster, Krankenhauspharmazie, **22**, (2001), 113-118

76) C. L. Sirtl, V. Zumtobel, D. Kraft, W. Jurecka, Br. J. Anest., **82**, (1999), 510-515

77) H. F. G. Ginz, G. Schwarzkopf, K. Walter, Anaesthesist, **47**, (1998), 330-334

HES hat sich in der Anwendung als Plasmaersatzmittel zwar bewährt, weist aber noch einige Nachteile (Gewebeeinlagerung, persistenter Juckreiz^[78], anaphylaktische Reaktion) auf, die einer Optimierung bedürfen. Diese Nachteile können mit verschiedenen molekularen Parametern in Zusammenhang gebracht werden. Ein Ansatzpunkt für die Beseitigung der Nachteile ist die Verteilungsbreite (Polydispersität), durch die die zu Unverträglichkeitsreaktionen und Einlagerungen führenden, hochmolekularen Anteile bei der Herstellung entfernt werden. Damit ergäbe sich ein enger verteiltes Präparat mit sicher besseren Eigenschaften^[79]. Neben der engeren Molmassenverteilung ist ein weiterer Ansatzpunkt der Substitutionsgrad (Wechsel von HES 200/0,5 zu HES 130/0,4) und die Bindungsart der Substituenten. Im Gegensatz zu HES sind die Substituenten in AS nicht über Etherbindungen, sondern über Esterbindungen an die Glucosehauptkette fixiert. Esterbindungen sind leichter durch körpereigene Enzyme abbaubar als Etherbindungen. Diese Eigenschaft beeinflusst maßgeblich die Verweilzeit der Substanz im Körper. Die Esterbindungen können unter physiologischen Bedingungen langsam hydrolytisch gespalten werden^[75]. Sind C-2, C-6 und C-3 statistisch substituiert, erfolgt der Abbau durch Enzyme rasch. Derartige AS weisen demzufolge eine geringe Verweilzeit im Körper und eine verminderte Lagerfähigkeit auf. Eine regiospezifisch an C-2 substituierte AS verweilt länger im Körper, da die Hauptangriffsposition der Enzyme bei C-2 blockiert ist. Dies wirkt sich ebenfalls positiv auf die Lagerfähigkeit aus.

Die Vorteile der kristalloiden und kolloidalen Plasmaersatzmittel gegenüber Vollblut sind die Verfügbarkeit in großen Mengen, die lange Haltbarkeit und Lagerfähigkeit, die Blutgruppenunabhängigkeit und die fehlende Übertragung unerkannter Krankheitserreger. Die Diskussion über Vor- und Nachteile von kristalloiden und kolloidalen Blutplasmaersatzmittel wurde ausführlich in der Literatur geführt^{[80],[81],[82]}. Heute werden synthetische, kolloidale Plasmaersatzmittel verabreicht. Es sind Lösungen aus polymeren Substanzen in blutisotonischen Elektrolytlösungen. Sie übernehmen nicht die Funktionen des Blutes, sondern dienen nur zur Volumenauffüllung um einen lebensbedrohlichen Schock zu verhindern.

78) N.H. Cox; A.W. Popple, *Br. J. Dermatol.*, **134**, (1996), 353-357

79) C. I. Gosch, T. Haase, B. A. Wolf, W.-M. Kulicke, *Starch/Stärke*, **54**, (2002), 375-384

75) U. H. Warnken, F. Asskali, H. Förster, *Krankenhauspharmazie*, **22**, (2001), 113-118

80) M. J. R., Ragaller, H. Theilen, T. Koch, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **12**, (2001), 33-39

81) F. M. van der Sande, A. J. Luick, J. P. Kooman, V. Verstappen, M. L. Leunissen, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **11**, (2000), 550-555

82) P. Singer, A. Kogan, V. Zolotarski, E. Grozovski, J. Cohen, *Crit. Care*, **3**, (1999), 152-162

3.2 Molmassen

3.2.1 Molmassenmittelwerte und -verteilungen

Natürliche und synthetische Polymere besitzen keine einheitliche Molmasse, sondern stellen ein Gemisch aus Fraktionen mit unterschiedlichen Molmassen dar. Diese Tatsache ist bei natürlichen Polymeren auf variierende Wachstumsbedingungen wie Regenmenge, Nährstoffgehalt etc. zurückzuführen und bei synthetischen Polymeren auf Reaktionsbedingungen^{[83],[84]}. Bei den Polymerbildungsreaktionen laufen mehrere chemische Reaktionen gleichzeitig ab, die jeweils den Gesetzen der Statistik unterliegen. Aus der Synthese resultieren polymerhomologe Gemische. Polymerhomologe Moleküle sind Moleküle mit immer wiederkehrenden Grundbausteinen, die sich nur im Polymerisationsgrad unterscheiden^[30]. Deshalb muss die Molmasse von Polymeren als zur Charakterisierung wichtige Angabe experimentell bestimmt werden.

Die Molmassen werden als Mittelwert angegeben. Für die Charakterisierung stehen vier Mittelwerte zur Verfügung: die zahlenmittlere Molmasse M_n , die viskositätsmittlere Molmasse M_η , die gewichtsmittlere Molmasse M_w und die z-statistische Molmasse M_z , auch Zentrifugemittel genannt. Die einzelnen Mittelwerte mit Ausnahme des Viskositätsmittels sind nach Gleichung 2 folgendermaßen definiert:

$$M_\beta = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_i^{\beta+1}}{\sum_{i=1}^k n_i \cdot M_i^\beta} \quad \begin{array}{l} \beta = 0 \rightarrow M_n \\ \beta = 1 \rightarrow M_w \\ \beta = 2 \rightarrow M_z \end{array} \quad (\text{Gl. 2})$$

M_n = zahlenmittlere Molmasse
 M_w = gewichtsmittlere Molmasse
 M_z = z-statistische Molmasse
 n = Anzahl

Aufgrund der verschiedenen Exponenten ist die Position der Mittelwerte in einer Molmassenverteilung unterschiedlich, wie in Abb. 15 dargestellt ist. Die viskositätsmittlere Molmasse M_η wird über eine Struktur-Eigenschaftsbeziehung berechnet, für die die Kenntnis des Staudinger-Index sehr wichtig ist. Die verschiedenen Molmassenmittelwerte

83) H.-G. Elias, Makromoleküle, Bd. 3, Industrielle Polymere und Synthesen, 6. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, 2001

84) P. Kratochvil, A. D. Jenkins, (Ed.), Classical Light Scattering from Polymer Solution, Elsevier, Amsterdam, 1987

30) K.-F. Arndt, G. Müller, Polymercharakterisierung, Carl Hanser Verlag, München, 1996

berücksichtigen die unterschiedlichen Fraktionen einer Polymerprobe.

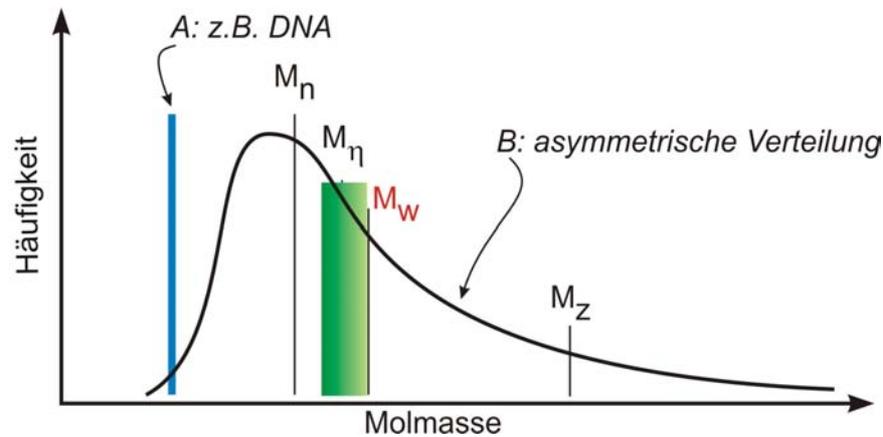


Abb. 15: Auftragung der Molmassenverteilung eines molmasseneinheitlichen Polymers (A) und eines molmassenuneinheitlichen Polymers (B) mit asymmetrischer Verteilung

M_n berücksichtigt niedermolekulare Anteile, während M_w die hochmolekularen Anteile viel stärker einbezieht. D.h. das Zahlenmittel wird in erster Linie von der Anwesenheit kleinster Teilchen im System beeinflusst und das Gewichtsmittel von den größeren Teilchen. M_z ist ein sehr empfindliches Maß für sehr große Teilchen in niedriger Konzentration. Ein Maß für die

Verteilungsbreite innerhalb eines Polymers ist der Quotient aus $\frac{M_w}{M_n}$, der als Polydispersität bezeichnet wird^[85].

3.2.2 Bestimmungsmethoden

Die Methoden zur Bestimmung der Molmasse werden nach den angewendeten Messmethoden (Tab. 4) oder nach der Art der Auswertung eingeteilt. In der Auswertung unterscheidet man zwischen Qualität und Quantität der Methode. Unter dem Gesichtspunkt der Qualität wird zwischen Absolut-, Äquivalent- und Relativmethoden unterschieden. In dieser Reihenfolge nimmt die Zahl der Annahmen zu, die für die Bestimmung der Molmasse notwendig sind.

Bei den Absolutmethoden steht der Messwert in direktem Zusammenhang zur Bestimmungsgröße Molmasse. Eine Annahme über die physikalische oder chemische Struktur der Polymerketten ist nicht erforderlich. Zu den Absolutmethoden gehören alle Messmethoden,

85) S. Mori, H. G Barth, Size Exclusion Chromatography, Springer Verlag, Berlin, 1999

die auf kolligativen Eigenschaften beruhen. Äquivalentmethoden dagegen setzen Kenntnisse über spezielle, der gemessenen Eigenschaft äquivalente Strukturen voraus. Für die Molmassenbestimmung bedeutet das Kenntnisse über die chemische Natur und die Zahl der Endgruppen in der Polymerkette.

Die Relativmethoden zur Molmassenbestimmung sprechen sowohl auf die chemische und die physikalische Struktur der gelösten Polymere, als auch auf deren Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel an. Es ist deshalb notwendig, die Bestimmungsmethode zu kalibrieren, um oben genannte Zusammenhänge zu berücksichtigen^[30].

Tabelle 4: Methoden zur Molmassenbestimmung

Methode	Mittelwert
Absolutmethoden	
Membran-/Dampfdruckosmose	M_n
Ultrazentrifugation	
- Sedimentationsgeschwindigkeit	M_n, M_w, M_z
- Sedimentationsgleichgewicht	M_w, M_z
Statische Lichtstreuung	M_w
Dynamische Lichtstreuung	M_w
Massenspektrometrie	M_n, M_w, M_z
Äquivalentmethode	
Endgruppenbestimmung	M_n
Relativmethoden	
Viskosität	M_η
Größenausschlusschromatographie	M_n, M_w, M_z

3.2.3 Lösungsstruktur von Polymeren

Die Lösungsstruktur von Polymeren hängt von polymerabhängigen und -unabhängigen Parametern ab. Polymerabhängige Parameter beziehen sich auf den chemischen Aufbau, d. h. von der Monomerlänge, dem Polymerisationsgrad, dem Bindungswinkel, den Ladungen, den Verzweigungen und die Seitenketten. Polymerunabhängige Einflussgrößen sind die das Lösungsmittel, die Temperatur des Systems und die Konzentration des Polymers^[86].

30) K.-F. Arndt, G. Müller, Polymercharakterisierung, Carl Hanser Verlag, München, 1996

86) B. Vollmert, Grundriss der Makromolekularen Chemie, E. Vollmert Verlag, Karlsruhe, 1979

Die verschiedenen Lösungszustände von Polymeren sind in Abb. 16 aufgeführt. Zusätzlich zu den in der Abbildung dargestellten irreversiblen Zusammenlagerungen, den Aggregaten, gibt es noch die reversiblen Assoziate.

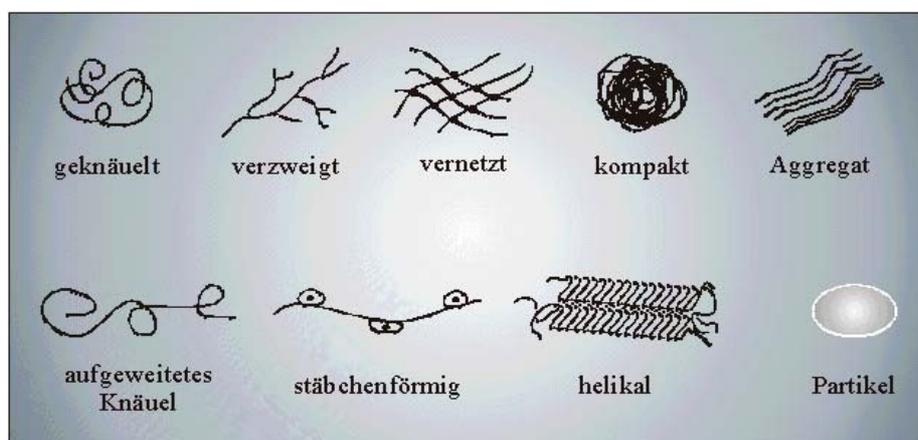


Abb. 16: Unterschiedliche Lösungsstrukturen

Bei partikulären Systemen mit fester Form werden für die jeweilige geometrische Form die entsprechenden Parameter verwendet (Kugel = Radius, Stäbchen = Länge). Bei nicht partikulären Systemen ist es durch die regellose bewegliche Knäuelstruktur in Lösung schwierig, die Dimension des Polymers exakt zu bestimmen. Es kann nur ein zeitlicher Mittelwert verschiedener Konformationen gleicher potentieller Energie bestimmt werden^[87]. Die Dimensionen eines Polymerknäuels werden durch den Fadenendenabstand (End-zu-End-Abstand) $\sqrt{h^2}$ oder den Gyrationradius definiert^[83]. Der Gyrationradius R_G ist eine messtechnisch zu ermittelnde Größe und lässt sich für beliebige Teilchenformen angeben. Die Definition des Gyrationradius ist in Gleichung 3 wiedergegeben. Für flexible Moleküle ist er definiert als Quadrat des mittleren Abstands aller Massenpunkte vom Massenschwerpunkt des Moleküls.

$$R_G = \left(\frac{\sum m_i \cdot r_i^2}{\sum m_i} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Gl. 3})$$

r_i = Abstand der Massenpunkte
 m_i = Massenpunkte

87) P. J. Flory, *Angew. Chem.*, **22**, (1975), 787-797

83) H.-G. Elias, *Makromoleküle*, Bd. 3, Industrielle Polymere und Synthesen, 6. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, 2001

Der Gyrationradius R_G oder auch Trägheitsradius ist eine wichtige Größe zur Beschreibung der Dimension eines Polymeren in Lösung. Experimentell zugänglich ist für polydisperse Systeme das z-Mittel des quadratischen Gyrationradius $\langle R_{G_z} \rangle^2$ über statische Lichtstreuung.

Über Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, wie die R_G -M- oder die $[\eta]$ -M-Beziehung (Mark-Houwink-Beziehung), erhält man den Zusammenhang zwischen der Molmasse, der Lösungsstruktur und der Teilchengröße bzw. des Staudinger-Index $[\eta]$ ^{[88],[89]}. Die beiden Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in Gleichung 4 und Gleichung 5 wiedergegeben.

$$R_G = K_{RG} \cdot M^v \quad (\text{Gl. 4})$$

K_{RG} = Proportionalitätsfaktor

M = Molmasse (M_w)

v = Strukturfaktor

$$[\eta] = K_\eta \cdot M^a \quad (\text{Gl. 5})$$

K_η = Proportionalitätsfaktor

a = Strukturfaktor

Die Exponenten a und v , oder auch Aufweitungsparameter genannt, beschreiben die Lösungsstruktur des Polymers (s. Tab. 5). Bei K_{RG} und K_η handelt es sich um Proportionalitätsfaktoren. Die Zahlenwerte für K_{RG}/K_η und v/a lassen sich nicht theoretisch ableiten, sondern müssen für jedes Polymer-Lösungsmittel-System über einen möglichst großen Molmassenbereich experimentell bestimmt werden. Bestimmen kann man eine Struktur-Eigenschaftsbeziehungen über lineare Regression einer homologen Reihe. Eine homologe Reihe wird per Ultraschalldegradation mit variierender Beschallungszeit eines Polymers hergestellt. Nach der Gefriertrocknung werden dann $[\eta]$ mittels Viskosimetrie und R_G und M_w mittels SEC oder aFFFF bestimmt^[90].

88) R. J. Houwink, Prakt. Chem., **157**, (1940), 15-21

89) W. Kuhn, Kolloid. Z., **68**, (1934), 2-15

90) N. Schittenhelm, W.-M. Kulicke, Macromol. Chem. Phys., **201**, (2000), 1976-1984

Tab. 5: Zusammenhang zwischen der Gestalt der Polymermoleküle und dem Exponenten a der $[\eta]$ - M -Beziehung

Lösungsstruktur des Polymermoleküls	$a^{[91]}$	$\nu^{[92]}$
starre Kugel	0	0,33
undurchspültes Knäuel	0,5	0,5
teilweise durchspültes Knäuel	0,5 - 1	0,59
volldurchspültes Knäuel	> 1	0,66
starres Stäbchen	2	1

Die Aufweitungparameter der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen lassen sich nach Gleichung 6 ineinander umrechnen.

$$a = 3 \cdot \nu - 1 \quad (\text{Gl. 6})$$

3.3 Viskosimetrie

Bei der Viskosimetrie handelt es sich um eine einfach durchzuführende Charakterisierungsmethode für Polymer-Lösungsmittel-Systeme. Der Staudinger-Index $[\eta]$ stellt eine charakteristische Größe für das Polymer-Lösungsmittel-System dar. Dieser ist ein Maß für die hydrodynamische Raumerfüllung eines Einzelmoleküls in einer verdünnten Lösung^[93]. Die Beschreibung dieser Größe lässt sich auf eine Theorie von Einstein aus den Jahren 1906^[94] und 1911^[95] zurückführen, die er, basierend auf einem Modell mit Vollkugeln in einem Bezugsvolumen, aufgestellt hat. Diese Vollkugeln sollen Polymermoleküle in Lösung darstellen, die sich untereinander nicht durchdringen und nicht miteinander wechselwirken. Daraus leitet sich u.a. die Berechnung der kritischen Konzentration c^* ab.

Die Viskosität η wird durch das Verhältnis von Schubspannung σ_{21} und Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}$ definiert (Gleichung 7):

91) C. Lohmann, Diplomarbeit, Universität Hamburg, Hamburg 2003

92) S. K. Tripathy, J. Kumar, H. S. Nalwa, Handbook of polyelectrolytes and their applications, American Scientific publishers, 2002

93) W.-M. Kulicke, C. Clasen, Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes, Springer Verlag, Heidelberg, 2004

94) A. Einstein, Ann. Phys., **19**, (1906), 289 – 306

95) A. Einstein, Ann. Phys., **34**, (1911), 591 – 592

$$\eta = \frac{\sigma_{21}}{\dot{\gamma}} \quad (\text{Gl. 7})$$

η = Viskosität der Lösung
 σ_{21} = Schubspannung
 $\dot{\gamma}$ = Schergeschwindigkeit

Die Schubspannung σ_{21} ist eine Kraft, die auf eine definierte Oberfläche parallel zur Fließrichtung ausgeübt wird (Gleichung 8).

$$\sigma_{21} = \frac{F}{A} \quad (\text{Gl. 8})$$

F = Kraftfeld
 A = Fläche

Die Schubspannung hat die Einheit Pascal [Pa, s⁻¹], welche einem Druck entspricht. Die Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}$ beschreibt, wie schnell sich die Fluidschichten in einem laminaren Strömungsprofil zueinander bewegen. Diese setzt sich zusammen aus der Geschwindigkeitsdifferenz Δv [m/s] zweier Fluidschichten und deren Abstand Δh zueinander (Gleichung 9).

$$\dot{\gamma} = \frac{\Delta v}{\Delta h} \quad (\text{Gl. 9})$$

Δv = Geschwindigkeitsdifferenz
 Δh = Abstand zweier Fluidschichten

Wird ein Polymer in einem Lösungsmittel aufgelöst, so nimmt die Viskosität der Lösung η bzw. der Fließwiderstand messbar zu. Daraus ergibt sich Gleichung 10.

$$\eta = \eta_p + \eta_s \quad (\text{Gl. 10})$$

η_p = Viskosität des gelösten Polymers
 η_s = Viskosität des reinen Lösungsmittels

Das Verhältnis der Viskosität der Lösung η und der des reinen Lösungsmittels η_s wird durch die relative Viskosität η_r beschrieben (Gleichung 11).

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_s} \quad (\text{Gl. 11})$$

η_r = relative Viskosität

η_s = Viskosität des reinen Lösungsmittels

Experimentell wird η_r aus den Durchlaufzeiten der Messlösungen $t_{Lsg.}$ und der Durchlaufzeit des reinen Lösungsmittels t_0 (Gleichung 12) berechnet.

$$\eta_r = \frac{t_{Lsg.}}{t_0} \quad (\text{Gl. 12})$$

$t_{Lsg.}$ = Durchlaufzeit Lösung

t_0 = Durchlaufzeit des reinen Lösungsmittels

Der Quotient (Gleichung 13) aus der Viskosität des gelösten Polymers und der des reinen Lösungsmittels heißt spezifische Viskosität η_{sp} . Die spezifische Viskosität η_{sp} hängt ausschließlich vom Volumenbruch Φ der Teilchen ab (Gleichung 14):

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_p}{\eta_s} = \frac{\eta - \eta_s}{\eta_s} = \eta_r - 1 = 2,5 \cdot \Phi \quad (\text{Gl. 13})$$

mit

$$\Phi = \frac{V_{Polymer}}{V_{Lösung}} = \frac{\left(\frac{m_{Polymer}}{\rho_{äqu}} \right)}{V_{Lösung}} = \frac{c}{\rho_{äqu}} \quad (\text{Gl. 14})$$

Φ = Volumenbruch

$V_{Polymer}$ = Volumen des Polymers

$V_{Lösung}$ = Volumen der Gesamtlösung

$m_{Polymer}$ = Masse des Polymers

$\rho_{äqu}$ = Dichte des Polymers ohne Lösungsmittel, hydrodynamische Äquivalentdichte

c = Polymerkonzentration

Stellt man Gleichung 13 um und setzt den letzten Term von Gleichung 14 für den Volumenbruch Φ ein, so erhält man die reduzierte Viskosität η_{red} (Gleichung 15).

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c} = \frac{2,5}{\rho_{äqu}} \quad (\text{Gl. 15})$$

Die η_{red} verhält sich aber nicht völlig unabhängig von der Konzentration. Obwohl die

viskosimetrischen Messungen im Bereich verdünnter Lösungen durchgeführt werden, kann man Polymerwechselwirkungen nicht außer Acht lassen. Die wahre Größe stellt demzufolge die η_{red} auf Null extrapoliert dar (Gleichung 16).

$$[\eta] = \lim_{\substack{c \rightarrow 0 \\ \dot{\gamma} \rightarrow 0}} \eta_{red} \quad (\text{Gl. 16})$$

Die Huggins-Gleichung (Gleichung 17) kann einen linearen Zusammenhang zwischen η_{sp}/c und c im Bereich niedrigerer Konzentrationen beschreiben, wobei die Berechnung nach dem zweiten Glied der Taylor-Reihe abgebrochen wird.

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_H \cdot [\eta]^2 \cdot c + \dots \quad (\text{Gl. 17})$$

k_H = Huggins-Konstante
 c = Konzentration

Aus den ermittelten Durchlaufzeiten und den berechneten Konzentrationen der Probenlösungen erhält man bei einer Auftragung von η_{sp}/c gegen c (s. Gleichung 17) eine Gerade, die durch Extrapolation der Konzentration c auf Null, zum Ausschließen von Polymer-Polymer-Wechselwirkungen, den Wert $[\eta]$ ergibt. Die zusätzliche Voraussetzung ist eine mechanische Belastung von Null (Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma} \rightarrow 0$). Nach Gleichung 16 wird $[\eta]$ als Grenzwert bestimmt. Die Größe von $[\eta]$ wird durch Verzweigung des Polymers, Art und Konzentration von Salzen in der Lösung, Temperatur, Lösungsstruktur und der Güte des Lösungsmittels beeinflusst.

Die Durchlaufzeiten benötigen jedoch eine Korrektur, da beim Start die Lösung nicht vollständig idealen Bedingungen ausgesetzt ist und sich noch kein laminarer Kapillarfluss eingestellt hat. Dazu wird eine Einlauflänge definiert, in der die wandnahen Fluidschichten verlangsamt und die mittleren Schichten beschleunigt werden. Aus dem Ansatz hat Hagenbach einen Korrekturterm für das Hagen-Poiseuille-Gesetz entwickelt, welcher sehr wichtig für kurze Durchlaufzeiten ist. Eine weitere Korrektur ist für zunehmende Reibung in der Einlauflänge erforderlich, da diese einen zunehmenden Druckabfall verursacht. Für diesen Zustand hat Couette einen Korrekturterm aufgestellt. Beide Ausdrücke werden im Hagenbach-Couette Korrekturterm zusammengefasst (Gleichung 18).

$$\eta = \frac{\pi \cdot R^4 \cdot \Delta p \cdot t}{8 \cdot V \cdot l} - \frac{m \cdot \rho \cdot V}{8 \cdot \pi \cdot l \cdot t} \quad (\text{Gl. 18})$$

R = Kapillarradius
 l = Kapillarlänge
 Δp = Druckdifferenz
 t = Zeit
 V = Volumen, welches durch die Kapillare fließt
 m = Korrekturfaktor
 ρ = Dichte der Lösung

3.4 Kritische Konzentration

Die Kenntnis der Dimensionen eines einzelnen Polymerknäuels erlaubt die Berechnung eines mit Polymerknäuel gefüllten Lösungsvolumens. Im Speziellen zeichnet sich eine Polymerkonzentration dadurch aus, dass ein definiertes Volumen mit Polymerknäuel gefüllt ist und die Knäuel anfangen unter einander zu wechselwirken. Diese Konzentration ist als kritische Konzentration (c^*) bekannt (schematische Darstellung s. Abb. 17).

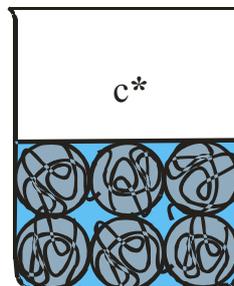


Abb. 17: Schematische Darstellung der kritischen Konzentration

Die kritische Konzentration markiert den Übergang zwischen verdünnter und halbkonzentrierter Lösung (2 in Abb. 18). Lösungen mit einer Konzentration unterhalb der c^* werden als verdünnte Lösungen angesehen (1 in Abb. 18). Bei Überschreiten der c^* setzt eine gegenseitige Wechselwirkung der Polymermoleküle ein, in Folge dessen die Moleküle verschlaufen und ein Verhakungsnetzwerk ausbilden. Die Polymermoleküle können sich dann nicht mehr frei in der Lösung bewegen. Dieser Übergang geht mit großen Unterschieden der Fließeigenschaften einer Polymerlösung einher. Bei Konzentrationen oberhalb von c^* wird das Fließverhalten durch intermolekulare Wechselwirkungen beeinflusst, wohingegen unterhalb

von c^* die Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkung das Fließverhalten bestimmt (s. Abb. 18) [93],[96]

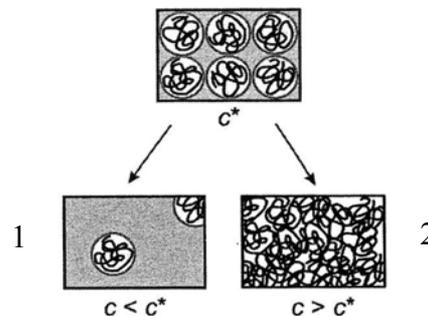


Abb. 18: Skizzierung des Übergangs von verdünnten Lösungen zu halbkonzentrierten Lösungen

Für viskosimetrische Messungen errechnet sich die kritische Konzentration $c_{[\eta]}^*$ (Gleichung 19) nach Einstein wie folgt:

$$c_{[\eta]}^* = \frac{m_{\text{Polymer}}}{V_{\text{Lösung}}} = \rho_{\text{äqu}} = \frac{2,5}{[\eta]} \quad (\text{Gl. 19})$$

$c_{[\eta]}^*$ = kritische Konzentration Viskosität

m_{polymer} = Masse Polymer

$V_{\text{Lösung}}$ = Volumen der Gesamtlösung

$\rho_{\text{äqu}}$ = Dichte des Polymers ohne Lösungsmittel, hydrodynamische Äquivalentdichte

Demzufolge ist $c_{[\eta]}^*$ proportional zum reziproken Staudinger-Index. Der Faktor von 2,5 beschreibt Polymerknäuel, die sich in Lösung wie harte Kugeln verhalten. Für Knäuel von beweglichen linearen Polymeren wird der Faktor von 2,5 in Gleichung 19 durch eine 1 ersetzt (Gleichung 20)^[97]:

$$c_{[\eta]}^* = \frac{1}{[\eta]} \quad (\text{Gl. 20})$$

W. Graessley hat ebenfalls eine Definition der kritischen Konzentration c^* für Polymerlösungen aufgestellt. Die Konformation der Polymere wird nicht näher spezifiziert^[98].

93) W.-M. Kulicke, C. Clasen, Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes, Springer Verlag, Heidelberg, 2004

96) C. Clasen, J.P. Plog, W.-M.Kulicke, M. Owens, C. Macosko, L.E. Scriven, M. Verani, G.H. McKinley, J. Rheol., (2006) eingereicht

97) G. Galinsky, W. Burchard, Macromolecules, **29**, (1996), 1498-1506

98) W. W. Graessley, Polymer, **21**, (1980), 258-262

$$c^* = \frac{0,77}{[\eta]} \quad (\text{Gl. 21})$$

Die kritische Konzentration $c_{[\eta]}^*$ wird in den nachfolgenden Kapiteln nach Gleichung 19 berechnet.

Ist der absolute Durchmesser oder Gyrationradius sowie die Molmasse eines Polymerknäuel bekannt, so kann direkt die kritische Konzentration c_{LS}^* berechnet werden ohne viskosimetrische Messungen durchzuführen. c_{LS}^* heißt dann kritische Konzentration aus der Lichtstreuung, da der Gyrationradius und die Molmasse aus Lichtstremessungen bestimmt wurde (Gleichung 22).

$$c_{LS}^* = \frac{M}{\frac{4}{3} \cdot N_A \cdot \pi \cdot R_G^3} \quad (\text{Gl. 22})$$

M = Molmasse (M_w)
 N_A = Avogadro-Zahl
 R_G = Gyrationradius

Die Werte für $c_{[\eta]}^*$ und c_{LS}^* unterscheiden sich stets, da die Berechnung von $c_{[\eta]}^*$ auf einem Modell beruht und c_{LS}^* aus absolut bestimmten Werten berechnet wird. Daraus resultiert ein größerer Wert für $c_{[\eta]}^*$ als für c_{LS}^* . Je kleiner das Verhältnis zwischen $c_{[\eta]}^*$ und c_{LS}^* , desto eher entspricht die Lösungsstruktur des Polymers einer Kugel. Für Polymere in guten Lösungsmitteln ist c_{LS}^* ungefähr um den Faktor 10 niedriger als $c_{[\eta]}^*$ ^[93].

3.5 Lichtstreuung

3.5.1 Theoretische Grundlagen

Die gewichtsmittlere Molmasse M_w kann durch Lichtstreuung (LS) bestimmt werden. Die Grundlagen lieferte Lord Rayleigh^[99], in dem er das Streulicht einer Polymerlösung als Funktion des Streuwinkels mit der Polymerkonzentration korreliert hat.

Das Grundprinzip beruht auf Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit Materie in

93) W.-M. Kulicke, C. Clasen, *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Heidelberg, 2004

99) J. W. S. Rayleigh, *Philos. Mag.*, **47**, (1899), 375

einem transparenten Medium^[85]. Fällt ein Lichtstrahl auf Atome oder Moleküle eines Mediums, so werden die Elektronen gestört oder abgelenkt und oszillieren um ihre Gleichgewichtslage mit der gleichen Frequenz wie der Erregerstrahl (s. Abb. 19). Die Oszillation findet nur senkrecht zur Ebene des einstrahlenden Lichtes statt. Dadurch verhalten sich die Atome oder Moleküle temporär wie Dipole, die als sekundäre Streuzentren wirken, indem sie die absorbierte Energie in alle Richtungen wieder emittieren, d.h. Streuung hervorrufen. Die Intensität dieses gestreuten Lichtes beträgt nur einen geringen Bruchteil (etwa 10^{-4} bis 10^{-6}) von der des eingestrahnten Primärlichtes.

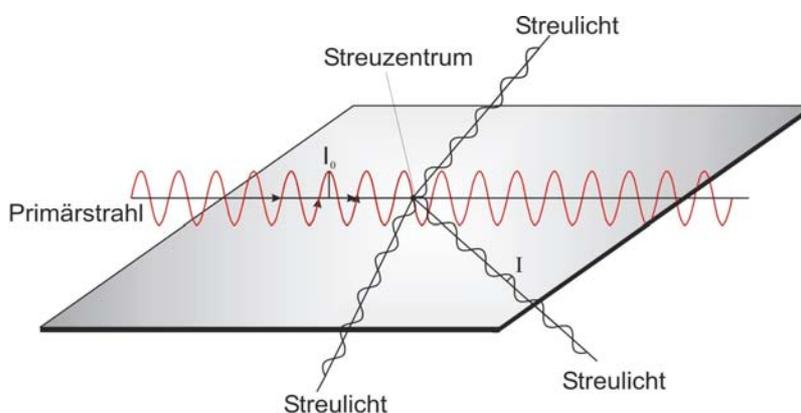


Abb. 19: Schematische Darstellung des Prinzips der Lichtstreuung an einem Streuzentrum

Die Intensität des Streulichtes hängt von der Molmasse, der Molekülgröße und der Form des Polymermoleküls im durchstrahlten Medium und vom Streuwinkel ab. Das Streulicht ist kohärent und hat die gleiche Polarisationsrichtung wie das einfallende Licht. Damit die Streuintensität an den Beobachtungswinkeln hinreichend groß ist, wird für die Messungen nur vertikal polarisiertes Licht verwendet (Laser). Im Normalfall liegen die Wellenlängen der Laser im Bereich des sichtbaren Lichtes von 400 – 700 nm. Voraussetzung ist, dass die Moleküle das Licht nicht absorbieren. Der Raman-Effekt soll hier vernachlässigt werden^[84].

Nach einer von Rayleigh aufgestellten Formel (Gleichung 23) für statistisch verteilte Teilchen ist die Intensität des Streulichtes I_{θ} , das einen Detektor mit dem Abstand r im Winkel Θ zum Primärstrahl erreicht, proportional zur Intensität des einfallenden Lichtes I_0 und zum Quadrat der Polarisierbarkeit α_{pol} .

85) S. Mori, H. G Barth, Size Exclusion Chromatography, Springer, Berlin, 1999

84) P. Kratochvíl, A. D. Jenkins, (Ed.), Classical light scattering from polymer solutions, Elsevier, Amsterdam, 1987

$$I_{\theta} = I_0 \frac{1}{r^2} \cdot \left(\frac{2\pi}{\lambda_0} \right)^4 \cdot \alpha_{pol}^2 \quad (\text{Gl. 23})$$

I_{θ} = Intensität des gestreuten Lichtes
 I_0 = Anfangsintensität
 λ_0 = Wellenlänge des Lichtes im Vakuum
 r = Abstand Streuvolumen – Detektor
 α = Polarisierbarkeit

Die Intensität des Streulichtes einer idealen Polymerlösung gibt (Gleichung 24) wieder. Ist die Molekül-Molekül-Wechselwirkung in der Lösung zu stark, ist die Gleichung nicht anwendbar.

$$I_{\theta} = I_0 \cdot (1 + \cos^2 \theta) \cdot \frac{4\pi^2 \cdot n_0^2}{\lambda_0^4} \cdot \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \cdot \frac{M \cdot c}{N_A} \quad (\text{Gl. 24})$$

$(1 + \cos^2 \theta)$ = Winkelabhängigkeit des Streulichtes
 n_0^2 = Brechungsindex des Lösungsmittels
 dn/dc = Brechungsindexinkrement
 M = Molmasse
 c = Konzentration
 N_A = Avogadro-Konstante

Alle Konstanten der Gleichung 24 werden zu einer Proportionalitätskonstanten, der optischen Konstanten K , zusammenfasst. In dieser sind die optischen Parameter des zu untersuchenden Systems zusammengefasst (Gleichung 25). Für die Berechnung von K müssen die Wellenlänge und der Brechungsindex des Lösungsmittels, insbesondere des Brechungsindexinkrement (dn/dc) genau bekannt sein.

$$K = \frac{4\pi^2 \cdot n_0^2}{\lambda_0^4 \cdot N_A} \cdot \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (\text{Gl. 25})$$

Man beachte, dass die Intensität des Streulichtes reziprok proportional zur vierten Potenz der Wellenlänge ist. Diese ungewöhnlich starke Abhängigkeit führt zu einer stärkeren Streuung von Licht kürzerer Wellenlänge als von Licht mit längerer Wellenlänge. Dieses Phänomen ist im täglichen Leben an der Blaufärbung des Himmels bemerkbar (Tyndall-Effekt).

Die Streustrahlung wird in alle Raumrichtungen ausgesandt. Die Intensität des gemessenen Lichtes nimmt mit dem Quadrat des Abstandes Streuzentrum – Detektor ab. Um vom jeweiligen Messaufbau unabhängige Resultate zu erhalten, ist es sinnvoll, die gemessene Streuintensität mit dem Abstand (r^2) zu multiplizieren und auf die Intensität I_0 des

eingestrahlt Lichtes sowie das vom Detektor erfasste Streuvolumen V_0 zu beziehen. Die so eingeführte Größe bezeichnet man als reduzierte Streuintensität oder Rayleigh-Verhältnis R_θ (Gleichung 26).

$$R_\theta = \frac{I_\theta \cdot r^2}{I_0 \cdot V_0} \quad (\text{Gl. 26})$$

R_θ = Rayleigh-Verhältnis/reduzierte Streuintensität
 V_0 = Streuvolumen

Da bei einer Polymerlösung auch das Lösungsmittel einen Beitrag zur Streulichtintensität liefert, muss diese von der gemessenen Intensität abgezogen werden (Gleichung 27)^{[84],[100],[101]}
^[102].

$$R_\theta = R_\theta(\text{Lösung}) - R_\theta(\text{Lösungsmittel}) \quad (\text{Gl. 27})$$

Durch Einsetzen von Gleichung 24 in Gleichung 26 erhält man die Streulichtgleichung (Gleichung 28). Aus ihr ist ersichtlich, dass die reduzierte Streulichtintensität demnach direkt proportional zur Konzentration und der molaren Masse der Polymermoleküle ist.

$$R_\theta = K \cdot c \cdot M \quad (\text{Gl. 28})$$

K = optische Konstante

3.5.2 Lichtstreuung an Polymerlösungen

Bei einer realen, polydispersen Lösung wird statt M die gewichtsmittlere Molmasse M_w erhalten. In diesem Fall besteht keine direkte Proportionalität mehr zwischen der Streuintensität und der Konzentration. Nach einem Ansatz von Debye^[103] lässt sich die Konzentrationsabhängigkeit durch eine Reihenentwicklung nach Taylor (Gleichung 29) berücksichtigen.

84) P. Kratochvíl, A. D. Jenkins, (Ed.), Classical light scattering from polymer solutions, Elsevier, Amsterdam, 1987

100) Handbuch der Chromatographie, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 1994

101) M. Kerker, The scattering of light and other electromagnetic radiation, Academic Press, New York, 1969

102) M. B. Hughlin, Light scattering from polymer solutions, Academic Press, New York, 1974

103) P. Debye, J. Phys. & Colloid Chem., **51**, (1947), 18-32

$$\frac{K \cdot c}{R_{\theta}} = \frac{1}{M_w} + 2A_2 \cdot c + 3A_3 \cdot c^2 \dots \quad (\text{Gl. 29})$$

$A_{2/3}$ = zweiter/dritter Virialkoeffizient
 M_w =gewichtsmittlere Molmasse

A_2 ist das Symbol für den zweiten Virialkoeffizienten. Für Polymere stellt dieser eine thermodynamisch wichtige Größe dar. Der Virialkoeffizient beschreibt die Wechselwirkung zwischen zwei gelösten Polymeren (A_3) und zwischen Polymer und Lösungsmittel (A_2)^[104]. Damit ist er ein Maß für die thermodynamische Güte des Lösungsmittels. Beim Messen in verdünnten Lösungen ist nur A_2 zu berücksichtigen. Bei höheren Konzentrationen spielt die gegenseitige Wechselwirkung der Polymermoleküle zunehmend eine Rolle. In solchen Fällen muss der dritte Virialkoeffizient A_3 mit einbezogen werden^[105]. Die Debye-Gleichung ist bei molekular einheitlichen Proben mit der des osmotischen Drucks vergleichbar (Gleichung 30).

$$\pi = RT \cdot \left(\frac{c}{M} + 2A_2 c^2 + 3A_3 c^3 + \dots \right) \quad (\text{Gl. 30})$$

π = osmotischer Druck

Es sei hier darauf hingewiesen, dass der mit Hilfe der Lichtstreuung ermittelte A_2 nicht mit dem A_2 der Osmose gleichzusetzen ist. Unterschiede zwischen beiden Werten, die auch experimentell belegt werden können, ergeben sich aus den unterschiedlichen Mittelungen^[30].

Bei LS-Experimenten werden die Streulichtintensitäten von Polymerlösungen unterschiedlicher Konzentrationen gemessen. Um die Werte für M_w , den Gyrationradius R_G und A_2 aus Lichtstremessungen bestimmen zu können, wird $K \cdot c / R_{\theta}$ auf der Ordinate gegen die Konzentration c der Polymerlösungen auf der Abzisse aufgetragen. Eine lineare Regression ergibt eine Gerade. Aus der graphischen Auftragung, dem so genannten Zimm-Plot (s. Abb. 20, ν entspricht Θ) können der R_G und der A_2 aus den Steigungen der Regressionsgeraden bzw. Extrapolationsgeraden bestimmt werden. Der Schnittpunkt der Extrapolationsgerade der Winkel bei $c = 0$ und der Extrapolationsgerade der Konzentrationen bei $\Theta = 0$ liegt bei $1/M_w$.

Die Voraussetzung für die Messung ist eine konstante Temperatur. K' ist eine willkürliche Konstante, die gewählt wurde, um die Datenpunkte sinnvoll aufzuspreizen. Ein

104) Wyatt Technology Europe GmbH, Unterlagen zum Userforum GPC_LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis, 1999

105) A. van Eikeren, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1993

30) K.-F. Arndt, G. Müller, Polymercharakterisierung, Carl Hanser-Verlag, 1996

typischer Wert für K' ist $K' = 1/c_{\max}$ (c_{\max} = maximal eingesetzte Konzentration).

Der Zimm-Plot wird zur Auswertung von Batch-Messungen verwendet. Über Batch-Messungen ist es möglich A_2 zu bestimmen.

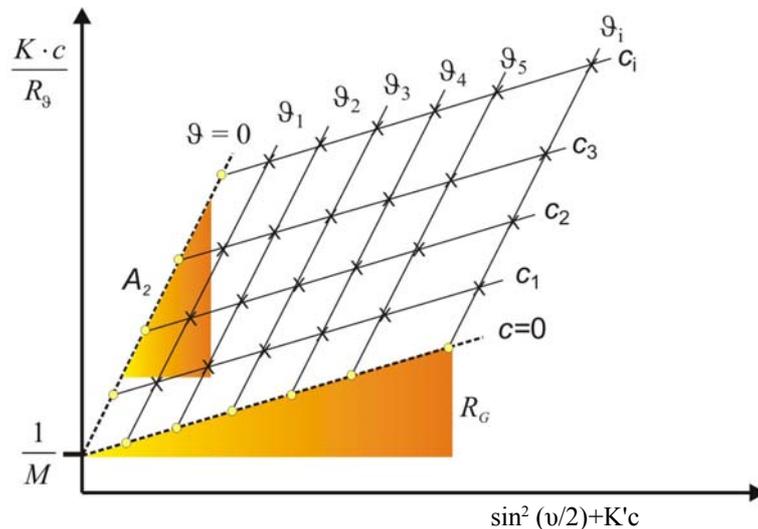


Abb. 20: Zimm-Plot mit Kc/R_0 als Ordinate und $\sin^2(\nu/2)+kc$ als Abzisse ergibt $1/M_w$ als Achsenabschnitt und R_G und A_2 aus der Steigung

3.5.3 Auswertung von Lichtstremessungen in Abhängigkeit der Teilchengröße

Die Unabhängigkeit der Streulichtintensität vom Beobachtungswinkel bei Verwendung vertikal polarisierten Lichtes ist nur gegeben, wenn die zu untersuchenden Teilchen klein sind. Kleine Teilchen rangieren im Bereich $\lambda/20$, wobei man vereinfachend dazu übergeht, diese als Massepunkte festzulegen. Bei Größen von $\leq \lambda/20$ spricht man von isotropen Streuern. Teilchen jenseits von $\lambda/20$ werden als große Teilchen eingestuft^[84]. Bei Teilchen $> \lambda/20$ können aufgrund der Größe mehrere Streuzentren innerhalb eines Teilchens auftreten (s. Abb. 21). In solchen Fällen kann bei der Streustrahlung destruktive und konstruktive Interferenz auftreten. Bei Teilchen, deren Größe vergleichbar mit der Wellenlänge ist, treten Beugungsmuster auf, d.h. ab einer gewissen Teilchengröße treten Intensitätsminima und -maxima mit dem Beobachtungswinkel auf.

84) P. Kratochvíl, A. D. Jenkins, (Ed.), Classical light scattering from polymer solutions, Elsevier, Amsterdam, 1987

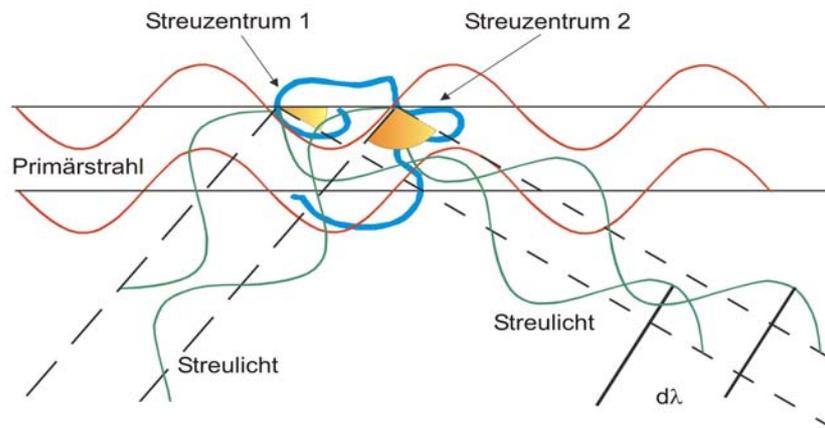


Abb. 21: Schematische Darstellung der Streuphänomene bei Teilchen mit mehreren Streuzentren

Die Schwächung der Streuintensität durch Interferenz wird durch den Formfaktor P_Θ , auch Streufunktion genannt, beschrieben. Durch Einsetzen den Formfaktors in Gleichung 29 ergibt sich (Gleichung 31):

$$\frac{K \cdot c}{R_\Theta} = \frac{1}{M_w \cdot P_\Theta} + 2A_2c \quad (\text{Gl. 31})$$

mit
$$P(\Theta) = \frac{I_\Theta}{I_0} \quad (\text{Gl. 32})$$

Nach Debye gilt für P_Θ (Gleichung 33):

$$P(\Theta) = \frac{1}{N^2} \sum_i \sum_j \frac{\sin(q \cdot r_{ij})}{q \cdot r_{ij}} \quad (\text{Gl. 33})$$

q = Betrag des Streuvektors, $q = (4\pi/\lambda)\sin\Theta/2$

$\lambda = \lambda_0/n_0$, n_0 Brechungsindex des Lösungsmittels

r_{ij} = Abstand der verschiedenen Streuzentren eines Polymermoleküls

Will man für eine vorgegebene Geometrie der streuenden Teilchen den Formfaktor berechnen, ist über die Verteilung der Abstände r_{ij} zu summieren. Für $q \cdot r_{ij} \ll 1$ kann durch eine Reihenentwicklung P_Θ (Gleichung 34) abgeleitet werden:

$$P_\Theta = 1 - \frac{1}{3} q^2 R_G^2 \quad (\text{Gl. 34})$$

Diese Gleichung gilt für kleine $q \cdot r_{ij}$, unabhängig von der konkreten Teilchengestalt. Das bedeutet, dass die Winkelabhängigkeit der Streuintensität von kleineren streuenden Molekülen proportional $\sin^2\Theta/2$ ist und unabhängig von der Größe des Streuwinkels berechnet werden kann.

Für ideale knäuelartige Moleküle mit einer Verteilung von $M_w/M_n = 2$ kann der reziproke Formfaktor mit Gleichung 35 beschrieben werden ^[106]:

$$\frac{1}{P_\Theta} = 1 + \frac{1}{3} \left(\frac{4\pi^2 n_0}{\lambda_0} \right) R_G \sin^2 \left(\frac{\Theta}{2} \right) \quad (\text{Gl. 35})$$

Für große Moleküle muss die Winkelabhängigkeit der Streuintensität auf kleine Streuwinkel bzw. auf $\Theta \rightarrow 0$ extrapoliert werden. Setzt man den reziproken Formfaktor in Gleichung 31 ein und beachtet die Polydispersität der Polymere, so ergibt sich:

$$\frac{K \cdot c}{R_\Theta} = \frac{1}{M_w} \left[1 + \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} R_G \sin^2 \left(\frac{\Theta}{2} \right) \right] + 2A_2 c \quad (\text{Gl. 36})$$

Die Lichtstreuungsgleichung nach Zimm lautet ^[107]:

$$\frac{K \cdot c}{R_\Theta} = \frac{1}{M_w} + \frac{1}{3M_w} R_G \sin^2 \left(\frac{\Theta}{2} \right) + 2A_2 \cdot c \quad (\text{Gl. 37})$$

Bei der Auswertung entscheidet die Teilchengröße, nach welcher Auftragung (Zimm, Debye oder Berry) ausgewertet werden soll. Eine Faustregel ist hier $q \cdot R_G > 1$ für die Berry-Methode. Bei Werten < 1 ist die Zimm-Methode sinnvoll. Die Debye-Methode sollte als Sonderfall für große kugelförmige Polymere angewendet werden. Die Auftragnungen unterscheiden sich in den Ordinatenparametern, der Steigung und in den Achsenabschnitten der Ordinate (s. Tab. 6)^[108].

106) B. H. Zimm, J. Phys. Chem., **16**, (1948), 1093-1099

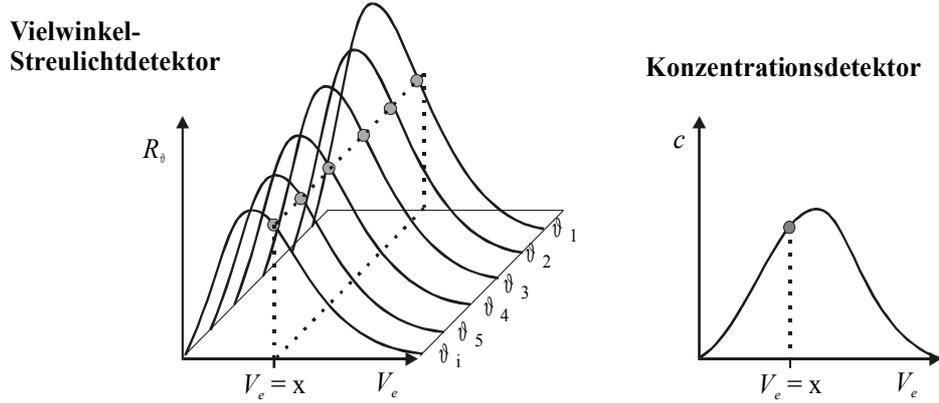
107) B. H. Zimm, J. Chem. Phys., **16**, (1948), 1099-1116

108) M. Andersson, B. Wittgren, K.-G. Wahlund, Anal. Chem., **75**, (2003), 4279-4291

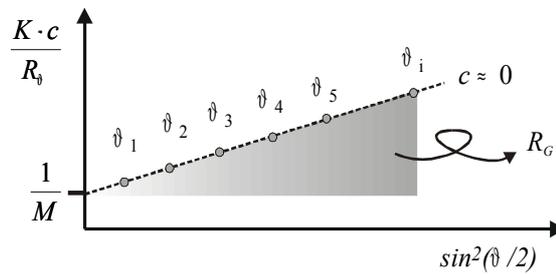
Tab. 6: Unterschiedliche Ordinatenbeschriftungen, Achsenabschnitte und Formeln zur Steigungsberechnung zum Erstellen des Debye-, Zimm- oder Berry-Plots

Methode	Ordinate	Achsenabschnitt	Steigung
Zimm	$K \cdot c / R_{\theta}$	M^{-1}	$16\pi^2 \cdot R_G / 3\lambda^2 \cdot M$
Debye	$R_{\theta} / K \cdot c$	M	$-16\pi^2 \cdot M \cdot R_G / 3\lambda^2$
Berry	$\sqrt{K \cdot c / R_{\theta}}$	$M^{-1/2}$	$8\pi^2 \cdot R_G / 3\lambda^2 \cdot M^{1/2}$

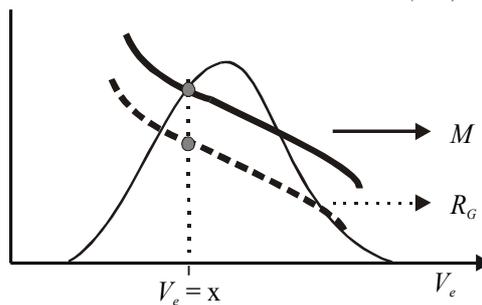
Überträgt man die theoretischen Ansätze in die Praxis, so bedarf es einer Fraktionierungseinheit und Detektoren, die zum einen die Streuintensität der Polymerfraktionen und zum anderen indirekt die entsprechenden Konzentrationen registrieren. Setzt man die Daten in die entsprechenden Gleichungen ein, so ergibt sich die in Abb. 22 dargestellte Auswertung



Berechnung der Molmasse M und des Trägheitsradius R_G für die Fraktion bei $V_e = x$.



Für jede Fraktion kann die Molmasse M und der Trägheitsradius R_G berechnet werden.



Durch Gewichtung der einzelnen Molmassen mit der Konzentration ergeben sich die kumulative und die differentielle Verteilungskurve. Die Trägheitsradienverteilungen ergeben sich analog.

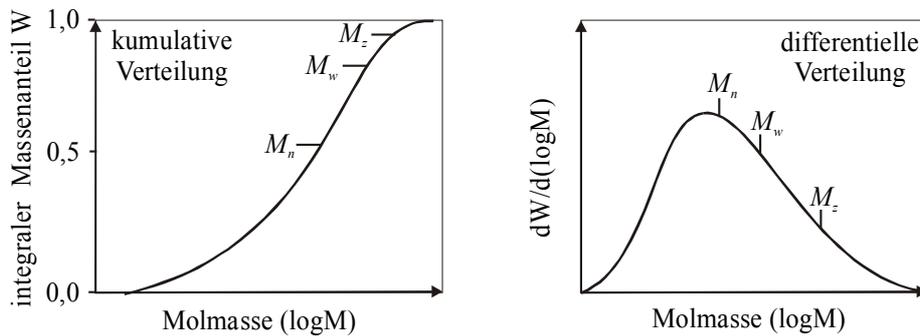


Abb. 22: Schematische Darstellung der Berechnung der Molmassen- (und Gyrationsradienverteilung) aus den Daten des Streulicht- und des Konzentrationsdetektors nach der Probenfraktionierung.

3.6 Größenausschlusschromatographie

Die Größenausschlusschromatographie, engl. Size Exclusion Chromatography (SEC), ist eine spezielle Art der High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Die SEC trennt auf der Basis des hydrodynamischen Volumens oder der hydrodynamischen Größe. Das Prinzip unterscheidet sich von anderen chromatographischen Methoden, da die Trennung aus rein entropischen Gründen und nicht aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den zu analysierenden Teilchen und der stationären Phase erfolgt. Die letztgenannten Wechselwirkungen können jedoch als Störung auftreten.

Das Trennprinzip der SEC-Säulen beruht auf der unterschiedlichen Volumenverfügbarkeit für die verschiedenen Polymerknäuel, wie in Abb. 23 dargestellt. Diesen steht in der Säule das so genannte Zwischenraumvolumen V_0 und das Porenvolumen V_P zur Verfügung. Die kleinen Polymerknäuel diffundieren in die Poren des Säulenmaterials, was die großen wegen ihres Umfangs nicht können. Diese werden an dem porösen Säulenfüllmaterial (stationäre Phase) vorbeigespült und eluieren als Erste (Größenausschluss). Nachfolgend eluieren die Teilchen, wie sie aus den Poren gespült werden (2). Demzufolge ist die Elutionsreihenfolge von groß nach klein (4). In (3) ist ein schematischer Ausschnitt des Säulenfüllmaterials dargestellt (Zwischenraumvolumen V_0 , Porenvolumen V_P und Füllmaterialvolumen V_{matrix})^[85].

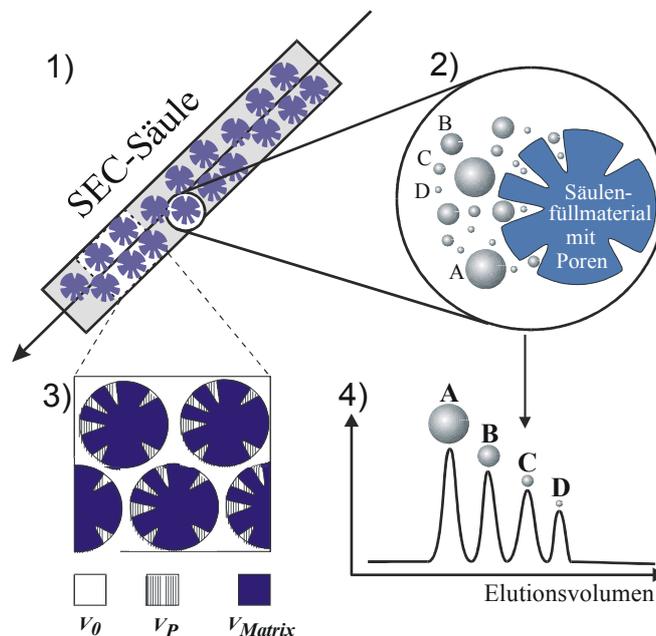


Abb. 23: Trennprinzip der SEC-Säule: 1) SEC-Säule, 2) poröse Matrix mit Polymerknäuel A-D, 3) Ausschnitt aus einer Säule, 4) Reihenfolge der eluierten Polymerknäuel

85) S. Mori, H. G Barth, Size Exclusion Chromatography, Springer, Berlin, 1999

Das Füllmaterial der Säulen ist nicht universell zur Trennung für alle Polymere einsetzbar (Abb. 24). Ist das Säulenmaterial z.B. negativ geladen ist, werden Polyanionen aufgrund gleicher Ladung nicht richtig fraktioniert. Dieser Vorgang wird als Ionenausschluss (1) bezeichnet. Die Trennung von Polykationen ist auch problematisch, da diese auf dem Füllmaterial adsorbieren (2). Man nennt diesen Prozess Vergiftung der Säule. Die Obergrenze der Fraktionierung ist durch die Porengröße des Säulenmaterials gegeben. Polymere mit einer Teilchengröße $>$ Porengröße werden unfraktioniert eluiert (3), was unter den Begriff Größenausschluss fällt. Bei sehr großen Partikeln (Teilchen mit einem großen Gelknäuelvolumen) kann es in der Kugelschüttung aufgrund von Dehnströmung zu flussabhängiger (ab $\dot{V} = 1$ mL/min) Degradation kommen (4)^[109]. Dieses tritt z.B. bei hochmolekularen Xanthanen auf.

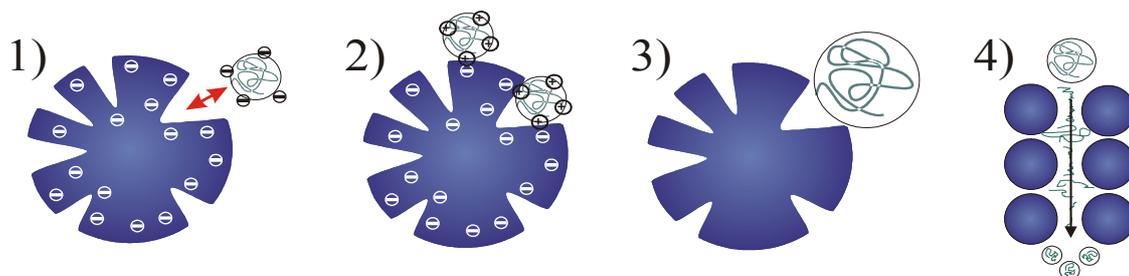


Abb. 24: Abweichungsmöglichkeiten von einem idealen Trennprozess

Die Fraktionierungsbereiche der SEC sind säulenabhängig, d.h. es können sowohl kleine als auch höher molekulare Stoffe in Abhängigkeit von der Porengröße getrennt werden. Moleküle mit einer Molmasse größer 10^6 g/mol können auch untersucht werden, es muss jedoch ausgeschlossen werden, dass Scherung, Konzentrationseffekte oder Größenausschluss auftreten.

Das chromatographische Verhalten der Lösungen, die durch SEC getrennt werden, kann durch die allgemeine Chromatographiegleichung (Gleichung 38) beschrieben werden:

$$V_E = V_0 + K_{SEC} \cdot V_i \quad (\text{Gl. 38})$$

V_E = Elutionsvolumen

V_i = Säulenvolumen

V_0 = Vorlauf

K_{SEC} = SEC Verteilungskoeffizient

Aus dem Produkt von Zwischenraumvolumen und zugänglichem Porenvolumen resultiert ein starker Einfluss auf das Elutionsvolumen der Probe^[85]. Der SEC Verteilungskoeffizient K_{SEC} wird gebildet aus dem Verhältnis von durchschnittlicher Konzentration der Lösung $\langle c \rangle_i$ zum Zwischenraumvolumen $\langle c \rangle_0$ (Gleichung 39).

$$K_{SEC} = \frac{\langle c \rangle_i}{\langle c \rangle_0} \quad (\text{Gl. 39})$$

Gleichungen 40 und 41 zeigen sehr deutlich, dass K_{SEC} definierte Grenzen zwischen $0 \leq K_{SEC} \leq 1$ besitzt, 0 für vollständig ausgeschlossene Moleküle und 1 für die die stationäre Phase vollständig eindringenden Moleküle. Während des Transports der Moleküle durch das Säulensystem, bewegen diese sich zwischen der mobilen Phase außerhalb der Poren und der stationären Phase innerhalb der Poren. Unter normalen Bedingungen stellt sich ein thermodynamisches Gleichgewicht ein, in dem die chemischen Potentiale aller gelösten Komponenten in beiden Phasen gleich sind. Für verdünnte Lösungen im Gleichgewichtszustand kann der Verteilungskoeffizient K_{SEC} mit der Differenz der freien Energie ΔG^0 zwischen den Phasen korreliert werden. Es gilt:

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln K_{SEC} \quad (\text{Gl. 40})$$

mit $\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \cdot \Delta S^0$ (Gl. 41)

ΔG^0 = freie Energie
 ΔH^0 = Enthalpie
 ΔS^0 = Entropie

Da im Falle eines idealen SEC-Trennungsprozesses keine Wechselwirkungen des Polymeren mit der stationären Phase auftreten, ist der Term der Enthalpie ΔH^0 gleich Null. Die Verteilung der Moleküle zwischen den Phasen wird allein durch die Entropie ΔS^0 bestimmt. Es kann folgender Ausdruck für die Beschreibung des K_{SEC} formuliert werden:

$$K_{SEC} \cong e^{\Delta S^0 / R} \quad (\text{Gl. 42})$$

Aufgrund der abnehmenden Bewegungsmöglichkeit der Moleküle in den Poren ist die Diffusion in diese hinein mit einer Entropieabnahme verbunden. K_{SEC} ist folglich kleiner Eins.

85) S. Mori, H. G Barth, Size Exclusion Chromatography, Springer, Berlin, 1999

3.7 Theoretische Grundlagen der Feld Fluss-Fraktionierung

3.7.1 Entwicklung

In den sechziger Jahren entwickelte J. C. Giddings ein Prinzip für die Trennung von Makromolekülen und Partikeln^[110], die den Namen Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF) erhielt. Der große Vorteil im Vergleich zur SEC besteht darin, dass keine stationäre Phase vorliegt. Die Trennung erfolgt in einem flachen Kanal mit Hilfe eines Kraftfeldes, welches senkrecht zur Trägerflussrichtung wirkt. Die Voraussetzung für eine optimale Trennung ist ein laminares Strömungsprofil.

Je nach Art des Kraftfeldes, das senkrecht zum Trägerfluss (Kanalfluss) angelegt wird, werden die verschiedenen Varianten der FFF unterschieden. Die Wahl der Methode richtet sich nach den zu vermessenden Proben (Partikel, Polymere, Proteine etc.) und den Anforderungen an die Analyse. Eine Übersicht der verschiedenen Varianten mit entsprechender Zuordnung listet Tab. 7 auf und Abb. 25 zeigt die Arbeitsbereiche, die nach Molmasse und Durchmesser aufgeteilt sind.

Tabelle 7: Überblick über die FFF-Methoden

Kraft	Methode	Einflussgrößen auf die Retention	Trennung nach	Größenbereich (Teilchen)
Gravitation	Sedimentations-FFF ^{[111],[112]}	D, $\Delta\rho$	effektiver Masse	50 nm - 100 μm
Temperaturgradient	Thermische FFF ^[113]	D, D_T	Molmasse, chem. Zusammensetzung	5 nm - 100 μm
Querfluss	Fluss-FFF ^[114]	D ^{[115],[116]}	hydrodyn. Radius	10 nm - 100 μm
Elektrisches Feld	Elektrische FFF ^[117]	D, μ	Ladung des Polymers	>10 μm

D = Diffusionskoeffizient

$\Delta\rho$ = Dichteunterschied

D_T = thermischer Diffusionskoeffizient,

μ = elektrische Mobilität

110) J. C. Giddings, Pure & Appl. Chem., **51**, (1979), 1459-1466

111) J. C. Giddings, F. J. F. Yang, M. N. Myers, Anal. Chem., **46**, (1974), 1917-1924

112) J. J. Kirkland, W. W. Yau, W. A. Doerner, J. W. Grant, Anal. Chem., **52**, (1980) 1944-1654

113) M. E. Schimpf, J. Chromatogr. A, **517**, (1990), 405-421

114) J. C. Giddings, F. J. Yang, M. N. Myers, Anal. Chem., **48**, (1976), 1126-1132

115) J. C. Giddings, G. C. Lin, and M. N. Myers, J. Liq. Chromatogr., **1**, (1978), 123-129

116) T. Schauer, GIT Fachz. Lab., **10**, (1995), 922-926

117) K. D. Caldwell, Y.-S. Gao, Anal. Chem., **65**, (1993), 1764-1772

Die Fluss FFF (FFFF)^[118] bietet eine hohe Trennleistung über einen weiten Molmassenbereich von 10^3 g/mol bis 10^{17} g/mol. Sie ist die vielseitigste FFF-Methode. Die Trennung ist abhängig vom Radius der Teilchen, die bestimmende Größe ist der Diffusionskoeffizient der Teilchen. Man unterscheidet bei der FFFF zwei Arten, die symmetrische und die asymmetrische FFFF. Symmetrisch und asymmetrisch bezieht sich nicht auf die Form der Fraktionierungseinheit, den Kanal, sondern auf die Art und Weise wie der Querfluss angelegt wird. Die asymmetrische FFFF (aFFFF) ist eine Weiterentwicklung bzw. Modifikation der „normalen“ symmetrischen FFFF (sFFFF)^[119], die von Wahlund und Giddings entwickelt wurde^[120]. Der Vorteil der aFFFF besteht in einer sehr guten Auflösung bei kurzen Elutionszeiten, der Nachteil ist eine geringere Variationsmöglichkeit der Flussstärken.

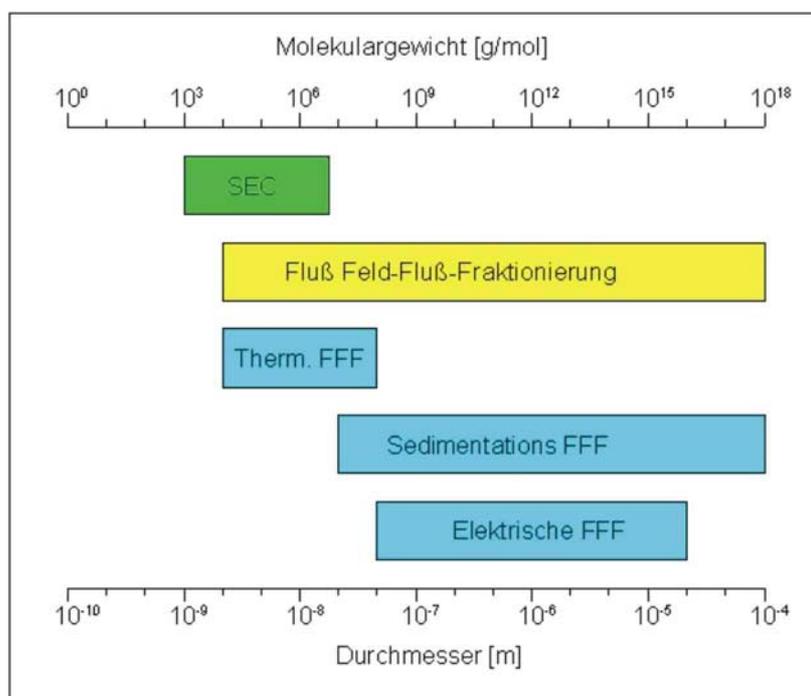


Abb. 25: Übersicht der verschiedenen FFF Varianten

3.7.2 Aufbau des Kanals

Die Fraktionierungseinheit, auch der Kanal genannt, besteht aus einem Polycarbonatdeckel mit drei Öffnungen für Kanalfluss, Injektionsport und den Auslass, einem Abstandshalter (Spacer), der die Höhe im Kanal festlegt, einer durchlässigen Metallfritte mit Dichtung, auf der die

118) H. Thielking, U. Adolphi, W.-M. Kulicke, Nachr. Chem. Tech. Lab., **4**, (1996), 370-374

119) K.-G. Wahlund, J. C. Giddings, Anal. Chem., **59**, (1987), 1332-1339

120) K.-G. Wahlund, A. Litzén, J. Chromatogr. A, **461**, (1989), 73-80

Membran aufliegt und eine Unterseite, in die die Metallfritte eingelassen ist. Der Aufbau des Kanals ist in Abb. 26 dargestellt. Bei der aFFFF wird die obere Fritte, durch die der Querfluss bei der sFFFF eintritt, durch einen einfachen Deckel ersetzt, so dass der Querfluss nur eine Austrittsstelle für Trägerflüssigkeit an der Kanalunterseite hat. Der Kanal hat somit nur einen Eingang, abgesehen vom Injektionsport, jedoch zwei Ausgänge. Im Gegensatz zur sFFFF wird bei der aFFFF kein zweiter Fluss angelegt, sondern der Fluss vom Kanaleinlass wird im Kanal in einen horizontalen und einen Querfluss gesplittet.

Dem Kraftfeld wird der bei FFF eine große Bedeutung zugeschrieben. Dieses drückt im Fall der aFFFF die gelösten Moleküle oder Partikel in Richtung der Akkumulationswand. Bei der Akkumulationswand handelt es sich um die Einheit aus Membran, die die Probe vor den Austragen aus dem Kanal schützen soll, und der darunter liegenden Metallfritte.

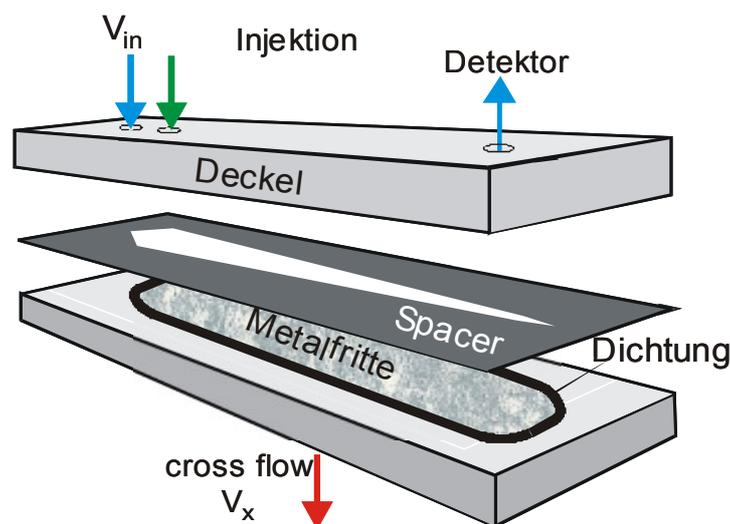


Abb. 26: Schematisierter Aufbau der Fraktionierungseinheit (Kanal) der aFFFF

3.7.3 Berechnungsgrundlage der trennungsspezifischen Parameter

Die FFFF ist eine absolute Methode zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten. Für eine Trennung im normalen Modus existiert hier eine geschlossene Theorie^{[121],[114],[115]}.

Die Verweildauer der einzelnen Komponenten im System wird i.d.R. durch das Retentionsverhältnis R (Gleichung 43) ausgedrückt, dem Verhältnis aus mittlerer

121) E. Grushka, K. D. Caldwell, M. N. Myers, J. C. Giddings, Sep. Purif. Methods **2**, (1973), 127-151

114) J. C. Giddings, F. J. Yang, M. N. Myers, Anal. Chem., **48**, (1976), 1126-1132

115) J. C. Giddings, G. C. Lin, and M. N. Myers, J. Liq. Chromatogr., **1**, (1978), 123

Geschwindigkeit \bar{v} der Probenkomponente zur mittleren Geschwindigkeit des Lösungsmittels $\langle v(x) \rangle$. Messtechnisch kann hier das Verhältnis Totzeit t_0 zu Retentionszeit t_R bzw. Totvolumen V_0 zu Retentionsvolumen V_R verwendet werden.

$$R = \frac{\bar{v}}{\langle v(x) \rangle} = \frac{t_0}{t_R} = \frac{V_0}{V_R} \quad (\text{Gl. 43})$$

R = Retentionsverhältnis
 t_0 = Totzeit
 V_0 = Totvolumen
 t_R = Retentionszeit
 V_R = Retentionsvolumen

Die Grundvoraussetzung ist die Ausbildung eines laminaren Strömungsprofils. Somit entstehen entlang der Höhe des Kanals Schichten mit unterschiedlicher Strömungsgeschwindigkeit. Die Geschwindigkeit $v(x)$ (Gleichung 44) in Abhängigkeit vom Abstand x von der Akkumulationswand ist abhängig von der Viskosität η des Elutionsmittels und dem Druckabfall Δp entlang der Kanallänge L .

$$v(x) = \frac{\Delta p}{2 \cdot \eta \cdot L} \cdot x \cdot (w - x) \quad (\text{Gl. 44})$$

$v(x)$ = Geschwindigkeit
 Δp = Druckabfall
 η = Viskosität des Elutionsmittels
 L = Kanallänge
 x = Abstand
 w = Kanalhöhe

Um die Geschwindigkeit der Teilchen zu bestimmen, muss der angelegte Querfluss berücksichtigt werden: Die Teilchen werden durch Anlegen eines Flüssigkeitsstromes senkrecht zum Kanalfloss nach unten in Richtung der Akkumulationswand und damit in Bereiche geringerer Strömungsgeschwindigkeit gedrückt. Die Driftgeschwindigkeit u_x (Gleichung 45) des horizontalen Flusses errechnet sich aus:

$$u_x = \frac{\dot{V}_x}{A} \quad (\text{Gl. 45})$$

u_x = Driftgeschwindigkeit
 \dot{V}_x = Querfluss
 A = Fläche

Je nach Diffusionskoeffizienten D können die Teilchen entgegen der Richtung der Kraft diffundieren. Für jedes Teilchen ergibt sich ein charakteristischer mittlerer Abstand von der Akkumulationswand, die so genannte Schichtlage $L_s = D / u_x$. Die reduzierte Größe $\lambda = L_s / w$ wird als Retentionsparameter bezeichnet, wobei w die Kanalhöhe ist. Im Gleichgewicht ist die aus dem angelegten Querfluss resultierende Kraft gleich der entgegenwirkenden Diffusion (Gleichung 46).

$$u_x \cdot c = -D \cdot \frac{dc}{dx} \quad (\text{Gl. 46})$$

c = Konzentration
 D = Diffusionskoeffizienten

Durch Integration ergibt sich folgendes Konzentrationsprofil (Gleichung 47):

$$c(x) = c_0 \cdot \exp\left(-\frac{x \cdot u}{D}\right) = c_0 \cdot \exp\left(-\frac{x}{\lambda \cdot w}\right) \quad (\text{Gl. 47})$$

c_0 = Probenkonzentration an der Akkumulationswand
 x = Abstand eines Teilchen von der Wand
 λ = reduzierte Schichtlage

Um die mittlere Strömungsgeschwindigkeit \bar{v} (Gleichung 48) einer Probenkomponente in Richtung des laminaren Flusses zu erhalten, muss über alle Geschwindigkeiten $v(x)$ in Abhängigkeit von der Konzentration $c(x)$ der Probenkomponente und über die gesamte Kanalhöhe gemittelt werden.

$$\bar{v} = \frac{\int_0^w c(x) v(x) dx}{\int_0^w c(x) dx} \quad (\text{Gl. 48})$$

\bar{v} = Strömungsgeschwindigkeit

Das Retentionsverhältnis R (Gleichung 49) ergibt sich dann durch Einsetzen von Gleichung 48 in Gleichung 43.

$$R = \frac{\bar{v}}{\langle v(x) \rangle} = \frac{\int_0^w c(x) v(x) dx}{\int_0^w c(x) dx \cdot \int_0^w v(x) dx} = 6\lambda \left[\coth\left(\frac{1}{2\lambda}\right) - 2\lambda \right] \quad (\text{Gl. 49})$$

Im Grenzfall von $\lambda \rightarrow 0$ ergibt sich $R = 6\lambda$, welches sich für $R \ll 1$ als ausreichend gute Näherung erwiesen hat^{[119],[122]}. Hiermit ist ein einfacher Zusammenhang zwischen Retentionsvolumen (Gleichung 50) bzw. -zeit (Gleichung 51) und Diffusionskoeffizient gegeben.

$$V_R = \frac{V_0}{6\lambda} = \frac{V_0 \cdot w}{6D \cdot A} \cdot \dot{V}_x = \frac{w^2}{6D} \cdot \dot{V}_x \quad (\text{Gl. 50})$$

bzw.

$$t_R = \frac{w^2 \cdot t_0}{6D} \cdot \frac{\dot{V}_x}{V_0} = \frac{w^2}{6D} \cdot \frac{\dot{V}_x}{\dot{V}_z} \quad (\text{Gl. 51})$$

Es ist erkennbar, dass Teilchen mit einem hohen Diffusionskoeffizienten schneller eluieren als solche mit geringerem. Aus der Retentionszeit bzw. dem Retentionsvolumen kann umgekehrt der Diffusionskoeffizient (Gleichung 52) bestimmt werden.

$$D = \frac{w^2}{6 \cdot V_R} \cdot \dot{V}_x = \frac{w^2}{6 \cdot t_R} \cdot \frac{\dot{V}_x}{\dot{V}_z} \quad (\text{Gl. 52})$$

Die Stokes-Einstein-Gleichung (Gleichung 53) verknüpft den Diffusionskoeffizienten mit dem hydrodynamischen Radius r_H :

$$r_H = \frac{k \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot D} \quad (\text{Gl. 53})$$

r_H = hydrodynamischen Radius
 k = Boltzmann-Konstante,
 T = Temperatur

Wird die FFFF mit einem Konzentrationsdetektor gekoppelt, kann jetzt eine absolute Verteilung der Diffusionskoeffizienten und der hydrodynamischen Radien bestimmt werden.

119) K.-G. Wahlund, J. C. Giddings, Anal. Chem., **59**, (1987), 1332-1339

122) A. Litzén, K.-G. Wahlund, Anal. Chem., **63**, (1991), 1001-1007

Ein Vorteil der FFF-Fraktionierungsmethoden ist die Möglichkeit der individuellen Anpassung der Stärke des Querfeldes, im Falle der FFFF die Anpassung des Querflusses \dot{V}_x , an das aktuelle Trennproblem. Kleine Teilchen mit einem großen Diffusionskoeffizienten benötigen einen hohen Querfluss, um getrennt zu werden. Große Teilchen hingegen werden schon mit einem geringen Querfluss gut getrennt, ein zu hoher Querfluss würde zu einer sehr starken Verzögerung der Elution der Teilchen führen. Diese Anpassung ermöglicht es, auch für breit verteilte Proben eine gute Auflösung bei akzeptablen Analysenzeiten zu erhalten. Hier empfiehlt es sich, mit einem hohen Querfluss zu beginnen und diesen während der Messung zu reduzieren. Größere Teilchen eluieren dann schneller und werden im Verlauf der Messung nicht so stark verdünnt, so dass sie noch gut detektiert werden können. Prinzipiell sind verschiedene Möglichkeiten der Absenkung des Querflusses möglich^[123], im Rahmen dieser Arbeit wurde mit einem linear abnehmenden Querfluss gearbeitet^[124]. Wird \dot{V}_x linear von $\dot{V}_{x,s}$ zur Zeit t_s auf $\dot{V}_x = 0$ zur Zeit t_e abgesenkt, so ergibt sich für den Querfluss (Gleichung 54) zur Zeit t :

$$\dot{V}_x(t) = \dot{V}_{x,s} \cdot \left(1 - \frac{t - t_s}{t_e - t_s} \right) \quad \text{für } t_s < t < t_e. \quad (\text{Gl. 54})$$

t_s = Startzeit

t_e = Endzeit

Für den Diffusionskoeffizienten (Gleichung 55) ergibt sich statt Gleichung 50 der komplexere Ausdruck^[125].

$$D = \frac{w^2}{6} \cdot \frac{\dot{V}_{x,s}}{\dot{V}_z} \cdot \left[t_s + (t_e - t_s) \cdot \ln \frac{t_e - t_s}{t_e - t_R} \right]^{-1} \quad (\text{Gl. 55})$$

3.7.4 Trennprinzip

Vor Beginn der Messung wurde ein beliebig gewähltes Probenvolumen in den Kanal injiziert und für die Dauer von ca. 2 Minuten bei gegenläufig geführtem Kanalfluss fokussiert, was in Abb. 27 als Fokussierung schematisch dargestellt ist. Auf diese Weise wird an der Startposition

123) P. S. Williams, J. C. Giddings, Anal. Chem., **66**, (1994), 4215-4228

124) K.-G. Wahlund, H. S. Winegarner, K. D. Caldwell, J. C. Giddings, Anal. Chem., **58**, (1986), 573-578

125) D. Heins, Dissertation, Universität, Hamburg, Hamburg, 2000

die Probe konzentriert und durch gleichzeitiges Wirken des Querflusses schon in die Gleichgewichtslage gebracht. Dieser Schritt ist sehr wichtig, da nach der Injektion an der Injektionsstelle eine Konzentrationsverteilung über die ganz Kanalhöhe vorliegt, die sich bei einer sofort beginnenden Elution negativ auf die Trennung auswirken würde. Voraussetzung für eine gute Trennung ist eine an der Akkumulationswand aufkonzentrierte Probe. Im Elutionsmodus wird das Probenvolumen durch den Lösungsmittelstrom unter einwirkendem Querfluss in Richtung Kanalausgang und in das angeschlossene Vielwinkellaser-Lichtstreuphotometer gespült^[5].

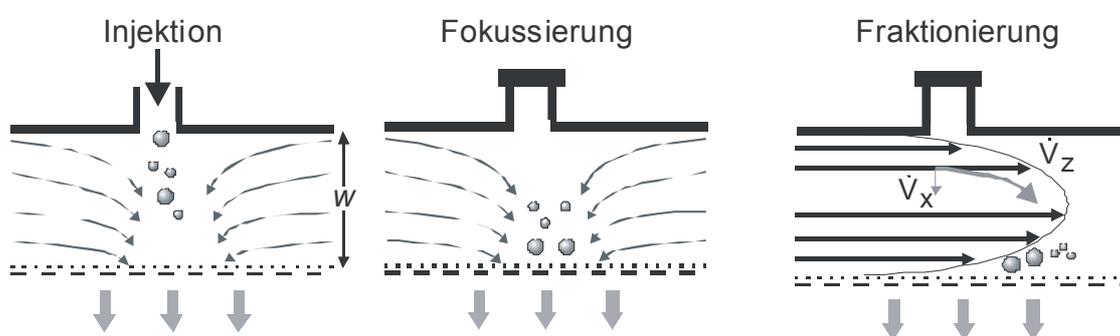


Abb. 27: Schematische Darstellung des Fokussierungsmodus, der sich in Injektion und Fokussierung aufteilt und Elutionsmodus bei der asymmetrischen FFFF

Die Trennung kann in drei verschiedenen Modi erfolgen. Grundvoraussetzung für die Trennung ist ein laminares Strömungsprofil. Nach der Relaxation oder Fokussierung, wenn der Massenschwerpunkt der Probe dicht an der Akkumulationswand liegt, bildet der einsetzende Kanalfluss in Verbindung mit dem Querfluss langsam fortschreitende Zonen mit exponentieller Konzentrationsverteilung. Jedes Teilchen verweilt in einem charakteristischen Abstand zur Kanalunterseite. Die Fließgeschwindigkeiten variieren von 0 an der Akkumulationswand bis zu einem Maximum in der Mitte des Kanals. Der Querfluss als Kraftfeld wechselwirkt mit den einzelnen Teilchen. Kleine Teilchen wechselwirken schwach mit dem Kraftfeld und werden dadurch in Zonen mit höherer Fließgeschwindigkeit gespült und eluieren zuerst. Bei größeren Teilchen ist die Wechselwirkung stärker, und diese verbleiben in Zonen niedrigerer Fließgeschwindigkeit und eluieren später^[126]. Hierbei handelt es sich um den normalen Modus, der schematisch in Abb. 28 abgebildet ist.

w = Kanalhöhe

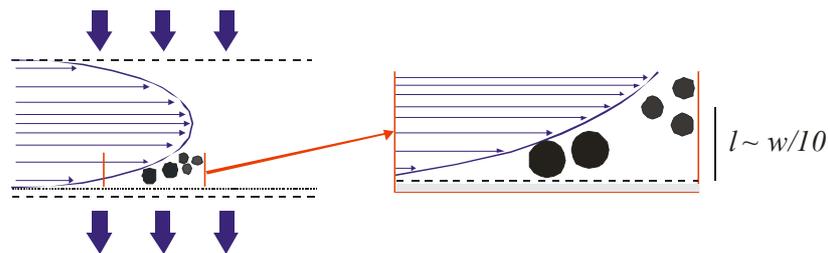


Abb. 28: Trennung im normalen Modus mit normaler Elutionsreihenfolge

Wenn die Teilchen größer werden, können diese nicht mehr in Zonen höherer Fließgeschwindigkeit aufsteigen, die weiter entfernt sind als der Teilchenradius. Die Elutionsreihenfolge wird umgekehrt und die großen Teilchen eluieren jetzt zuerst, wie in Abb. 29 als sterischer Modus dargestellt ist. Als Faustregel kann man sagen, dass dies für Teilchen mit einem Durchmesser größer 1 μm gilt.

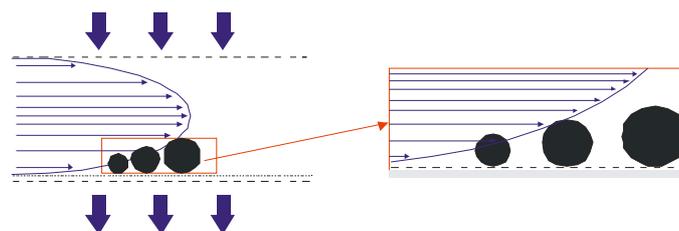


Abb. 29: Trennung im sterischen Modus mit inverser Elutionsreihenfolge

Bei höheren Querflüssen können Überlappungen beider Modi auftreten. Wird im sterischen Modus der Kanalfloss erhöht, erfahren die großen Teilchen einen hydrodynamischen Auftrieb, der diese von ihrem Platz nahe der Akkumulationswand in Zonen höherer Fließgeschwindigkeit hebt. Die Elutionsreihenfolge ist wie im sterischen Modus. Dieser Modus wird steric-hyperlayer Modus genannt (s. Abb. 30)^[127].

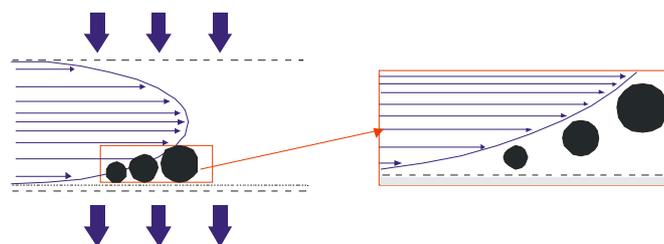


Abb. 30: Trennung im steric-hyperlayer Modus mit inverser Elutionsreihenfolge

127) M. N. Myers, J. Microcolumn Sep., **9**, (1997), 151-169

3.8 Kernmagnetische Resonanz (NMR)

3.8.1 Prinzip der Messung

Das Phänomen, das bei der NMR-Spektroskopie ausgenutzt wird, ist der Kernspin. Die Voraussetzung dafür ist, dass die Kerne keine geradzahlige Anzahl an Protonen und Neutronen besitzen (^{12}C , ^{16}O). In diesem Fall haben die einzelnen Paare von Protonen und Neutronen entgegengesetzten Spin, so dass der Gesamtspin des Kerns Null ist. Es besteht auch die Möglichkeit, dass Kerne drei und mehrere mögliche Spinzustände haben.

Diese magnetischen Momente sind in einem feldfreien Raum zufällig orientiert, wohingegen sie in einem magnetischen Feld nur ganz bestimmte Orientierungen einnehmen können. Diese Ausrichtung wird durch die Magnetquantenzahl beschrieben. Je nach Quantenzahl dreht sich der Kern mit $+\frac{1}{2}$ (α -Spin) oder $-\frac{1}{2}$ (β -Spin). α - und β -Spinzustände haben einen unterschiedlichen Energieinhalt. Wird ein magnetisches Feld angelegt, richten sich die magnetischen Momente nach dem Feld aus.

In einem Magnetfeld bewegen sich die geladenen Molekülteile so, dass durch ihre Bewegung ein Magnetfeld induziert wird. Dieses ist durch ein magnetisches Moment charakterisiert, das dem angelegten Feld entgegen gerichtet ist (Abb. 31). Das Gesamtmagnetfeld an einen Wasserstoffatom zum Beispiel ist etwas schwächer als das angelegte Feld. Weil am Kern ein geringeres als das angelegte Magnetfeld herrscht, spricht man von einer Abschirmung (\rightarrow diamagnetische Abschirmung). Protonen in unterschiedlicher elektronischer Umgebung werden unterschiedlich stark abgeschirmt. Diese Unterschiede nennt man chemische Verschiebung. Über die chemische Verschiebung erfolgt die Zuordnung der einzelnen Kerne^[128]. Die häufigsten Spektren, die aufgenommen werden, stammen von ^1H - und ^{13}C - Messungen.

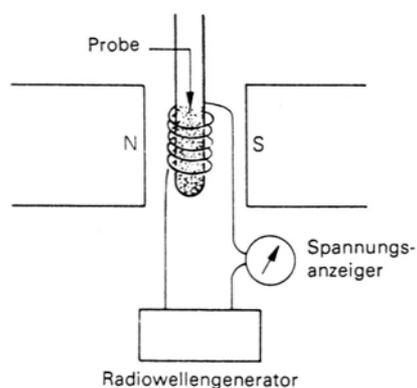


Abb. 31: Schema eines NMR-Spektrometers

3.8.2 Notwendigkeit für eine Entkopplung

Aufgrund der um den Faktor 5700 niedrigeren Empfindlichkeit des ^{13}C -Kerns gegenüber dem ^1H -Kern sind besondere Techniken in der ^{13}C -NMR-Spektroskopie erforderlich, die die Intensität der Signale verstärken. Homonukleare Kopplungen zwischen ^{13}C -Kernen werden aufgrund der niedrigen Isotopenhäufigkeit dieses Kerns nicht beobachtet, während heteronukleare Kopplungen, z.B. mit Protonen, zu einer Verteilung der Signalintensität des ^{13}C -Signals und auf ein Multiplett führen. Ein Zusammenbruch dieser Multiplettaufspaltung, resultierend in einem Signal mit der Intensität aller Multiplettlinien, wird durch das Einstrahlen eines Frequenzbandes mit der Protonenfrequenz erreicht. Dies ist die so genannte Protonen-Entkopplung.

Verknüpft mit der Entkopplung ist eine Intensitätszunahme der ^{13}C -Absorptionen, die nicht ausschließlich durch den Zusammenfall der Multiplettlinien erklärt werden kann. Eine ^1H -Entkopplung verändert die Besetzungszahlen in CH_n -Spinsystemen zugunsten niedriger Energieniveaus. Dieser Intensitätsgewinn wird NOE (engl. nuclear Overhauser effect) genannt^[129].

3.8.3 IGATED- ^{13}C -NMR-Spektroskopie

Diese Messmethode unterscheidet sich in seiner Pulssequenz von der praktisch leichter durchführbaren breitbandentkoppelten ^{13}C -NMR-Spektroskopie nur durch eine nicht permanente Protonen-Entkopplung. Diese eher spezielle Messmethode wird mit dem Akronym IGATED bezeichnet, das im Englischen für „inverse gated decoupling“ steht^[130]. Die Entkopplung im Protonenkanal wird nur während der Datenakquisition geschaltet. Da der Aufbau des NOE (s. oben) auf langsamen Relaxationsprozessen beruht, findet während der kurzen Datenakquisition keine Signalverstärkung statt. Wird die Relaxationszeit ausreichend lang gewählt, d.h. mindestens fünfmal der T_1 -Zeit (Spin-Gitter-Relaxationszeit) des am langsamsten relaxierenden Kohlenstoffatome, so erhält man quantitativ auswertbare ^{13}C -NMR-Spektren^[129].

129) P. Käuper, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1998

130) R. Freeman, H. D. W. Hill, R. Kaptein, J. Magn. Res., 7, (1972), 327-329

3.9 Ermittlung des Ladungsgehalts mittels Polyelektrolyttitration

Die Polyelektrolyttitration mit Hilfe eines Partikelladungsdetektors (engl. particle charge detector, PCD) ist ein einfaches Verfahren zur Bestimmung der Ladungsdichte von Polyelektrolyten^[131] und Partikelsystemen (z.B. Emulsion, Suspension). Bei dieser Methode wird der zu untersuchenden Probe ein entgegengesetzt geladener Polyelektrolyt bekannter Ladungsmenge so lange zugegeben, bis die Ladungen der Probe vollständig neutralisiert ist. Mit einem Partikelladungsdetektor, der das so genannte Strömungspotential (U) misst, wurde die Ladung der zu untersuchenden Probe bestimmt. Die Messung des Strömungspotentials basiert auf der Adsorption von Polymeren an der Gefäßwand. Die Strömung, die das Potential hervorruft, verschiebt Solvathülle des Polymeren. Wenn die Ladung am Äquivalenzpunkt (Ladungsneutralpunkt) ausgeglichen ist, sinkt das Strömungspotential auf 0 ab ($U = 0$). Dies entspricht dem Endpunkt der Titration. Bei weiterer Zugabe der Maßlösung kehrt sich das Potential um.

Aus dem entsprechenden Verbrauch der Maßlösung lässt sich nach Gleichung 56 die Ladungsmenge der Probe berechnen^[132]. Als Maßlösung kommen Standard-Polyelektrolyt-Lösungen wie Polydiallyldimethylammoniumchlorid (PDADMAC) und Natrium-Polyethylensulfonat (PES-Na) zum Einsatz.

$$q = \frac{V \cdot c}{m \cdot 1000} \quad (\text{Gl. 56})$$

q = Gesamtladungsmenge [eq/g]

V = Verbrauch Maßlösung [mL]

c = Konzentration des Titrationsmittels [mol/L]

m = Wirksubstanzmasse der Probe [g]

Zur Ermittlung der Ladungsmenge von Polyelektrolyten wird angenommen, dass es zur Ausbildung eines stöchiometrischen Polyelektrolyt-Komplexes kommt, in dem das Verhältnis von anionischen zu kationischen Gruppen genau eins beträgt (Abb. 32).

131) R. H. Müller, Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1996

132) Bedienungsanleitung zum Partikelladungsdetektor PCD 03-pH (Mütek Analytic GmbH)

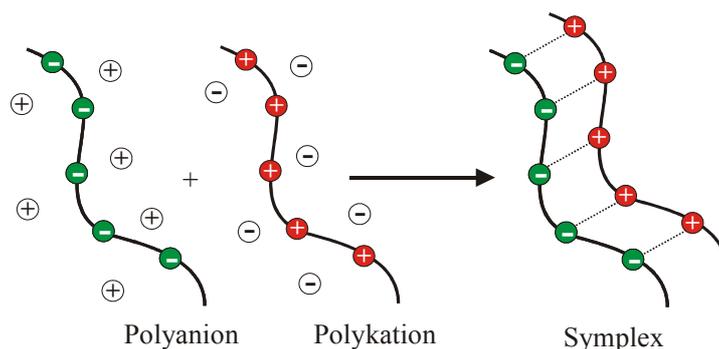


Abb. 32: Schema der Ladungsdichte-Bestimmung von Polyelektrolyten unter Bildung eines stöchiometrischen 1:1-Polyelektrolytkomplex (Symplex)

Meistens ist jedoch eine 1:1-Stöchiometrie nicht gegeben, wenn die Molekülgeometrie (z.B. Verzweigungen), molekulare Parameter (z.B. Abstand der Ladungszentren) oder Milieubedingungen (pH-Wert) dieses verhindern^[133]. Aus diesem Grunde ist eine Absolutbestimmung der Ladungsdichte nicht möglich. Für viele praktische Problemstellungen sind jedoch die Messungen probenspezifischer Ladungsmengen, die unter standardisierten Bedingungen ermittelt werden, völlig ausreichend.

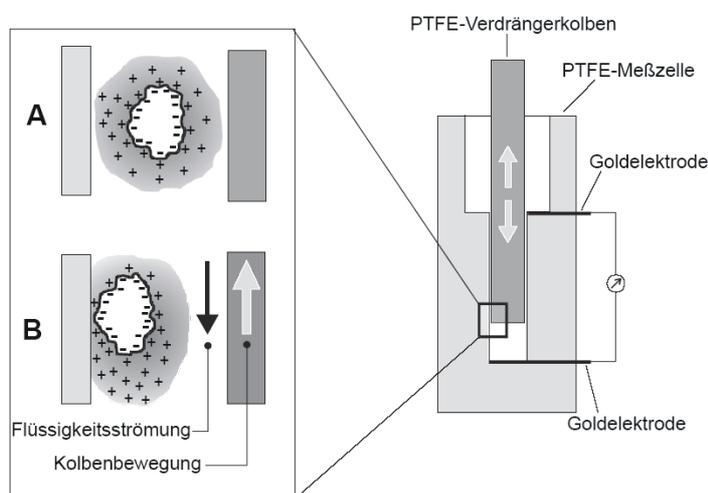


Abb. 33: Schematische Darstellung des Partikelladungsdetektors zur Bestimmung der Ladungsdichte von Partikelsystemen und Polyelektrolyten. (A) Kolben in Ruhe, (B) oszillierende Kolbenbewegung

Das Messprinzip und der Aufbau des Partikelladungsdetektors sind schematisch in Abb. 33

133) J. Kötzt, K. J. Linow, B. Phillip, L. P. Hu, O. Vogl, Polymer, **27**, (1986), 1574-1582

dargestellt. Dieser besteht aus einer Teflon (PTFE)-Messzelle mit einem eingepassten PTFE-Verdrängerkolben.

Trotz der chemischen Passivität der PTFE-Oberflächen werden wenige Partikel, Polyelektrolyt- oder Tensidmoleküle (Mindestmolmasse ca. 300 g/mol) über Van der Waals-Kräfte an der Oberfläche der Messzellwand und des Verdrängerkolbens adsorbiert^[134]. Über eine periodische Kolbenbewegung wird zwischen Kolben und Gefäßwand eine oszillierende Flüssigkeitsströmung erzeugt. Während die fixierten Partikeln in Bezug auf ihre Beweglichkeit in der strömenden Flüssigkeit eingeschränkt sind, bleiben die Gegenionen in der diffusen Schicht relativ beweglich und können in Strömungsrichtung verschoben werden. Es kommt zu einer unsymmetrischen Ladungsverteilung um die Partikel, wodurch ein elektrisches Feld entsteht und die gemessene Potentialdifferenz nach Ausbildung eines Gleichgewichtszustands als Strömungspotential bezeichnet wird. Mit zwei Goldelektroden, die in die Messzelle eingearbeitet sind, wird dieses abgegriffen und dann am Display des Gerätes angezeigt. Mit Hilfe eines automatischen Titrators wird die Maßlösung dosiert und nach Beendigung der Titration wird der Verbrauch in Display angezeigt.

134) R. H. Müller, R. Schuhmann, Teilchengrößenmessung in der Laborpraxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1996

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Einfluss von Kanal- und Querfluss

Bei der asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung gibt es mehrere Parameter, die die Messung bzw. Trennung einer Probe beeinflussen. Die maßgeblichen Parameter sind der Kanalfluss und der Querfluss. Dazu kommen noch Kanalhöhe, Fokussierungszeit, Injektionszeit, Injektionsmenge und der Membrantyp. Letztere dienen dem „fine-tuning“. Für die Entscheidung, welches Flussprofil das optimale ist, gibt es mehrere Kriterien zur Auswahl, je nach angestrebtem Ergebnis. Zum einen kann die Wiederfindungsrate in Betracht gezogen werden oder zum anderen kann man die Güte der Trennung begutachten, indem man sich den Molmassenverlauf anschaut. Im Idealfall sollte der Molmassenverlauf linear ansteigend verlaufen. Ist dieser eher v-förmig oder kurvenförmig, so ist das ein Indiz dafür, dass das Flussprofil nicht optimal ist oder nicht alle Fraktionen einer Probe gleichmäßig auf den Querfluss reagieren. Um das optimale Flussprofil für die Fraktionierung herauszufinden, ist eine Reihe von Messungen mit variierenden Flussverhältnissen (Kanalfluss (\dot{V}_z) zu Querfluss (\dot{V}_x)) durchzuführen, bei denen jeweils der Kanalfluss oder der Querfluss konstant gehalten werden. In Abb. 34 und Abb. 35 sind die Lichtstreusignale und Molmassenverläufe verschiedener Messungen dargestellt. Bei den Messungen in Abb. 34 handelt es sich um Hydroxyethylstärke 200/0,5 (HES 1), bei denen ein Kanalfluss von 1 mL/min eingestellt wurde. Der Querfluss wurde von 0,3 bis 3 mL/min variiert.

Alle Messungen wurden in 0,1 M Natriumnitrat mit 3 mM Natriumazid (LS-Lösungsmittel) bei 25°C durchgeführt. Für die Auswertung wurde ein Brechungsindexinkrement $dn/dc = 0,140$ verwendet^[135]. In Tab. 8 sind die gewichtsmittleren Molmassen (M_w), die Wiederfindungsraten (WR) sowie die Flussprofile zu Abb. 34 (HES 1) und auch für Abb. 35 (HES 2) angegeben.

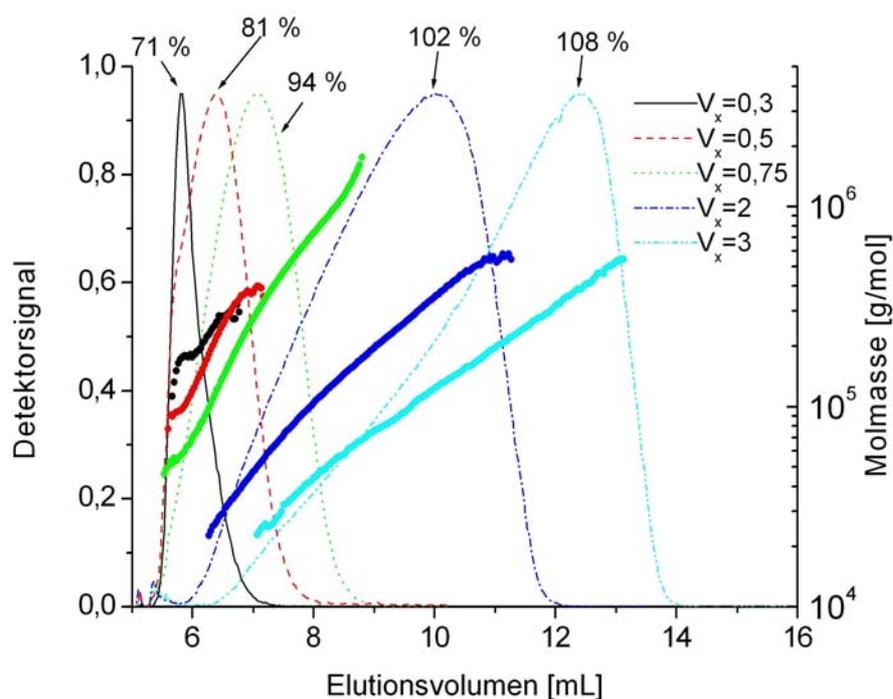


Abb. 34: Auswirkung des Querflusses bei konstantem Kanalfluss auf die Probe HES 1 mit entsprechenden Wiederfindungsraten, 25°C, LS-Lösungsmittel

Tab. 8: Molmasse, Wiederfindungsrate und Flussprofile für HES 1 und HES 2

Probe	M_w [g/mol]	WR [%]	\dot{V}_z [mL/min]	\dot{V}_x [mL/min]
HES 1	$1,84 \cdot 10^5$	70	1	0,3
HES 1	$1,81 \cdot 10^5$	81	1	0,5
HES 1	$1,92 \cdot 10^5$	94	1	0,75
HES 1	$1,82 \cdot 10^5$	102	1	2
HES 1	$1,80 \cdot 10^5$	108	1	3
HES 2	$3,30 \cdot 10^5$	111	0,5	0,75
HES 2	$2,28 \cdot 10^5$	105	0,75	0,75
HES 2	$2,13 \cdot 10^5$	97	1	0,75
HES 2	$2,24 \cdot 10^5$	59	1,5	0,75

\dot{V}_z = Kanalfluss

\dot{V}_x = Querfluss

Auf den ersten Blick lässt sich feststellen, dass die Peakform bei allen fünf Messungen variiert. Bei einem sehr niedrigen Querfluss von 0,3 mL/min ist der Peak sehr schmal. Durch den im

Verhältnis zum Querfluss großen Kanalfluss wurde am Anfang der Elutionsphase ein gewisser Anteil der Fraktionen ohne sinnvolle Trennung aus dem Kanal ausgetragen. Dies wird auch durch den steilen Anstieg der linken Peakflanke wiedergegeben. Die rasche Elution von Fraktionen spiegelt sich auch in der WR und der großen Steigung des Molmassenverlaufs wider. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei einem Querfluss von 0,5 mL/min. Der Peak ist nicht ganz so schmal, aber auch hier sind in der anfänglichen Elutionsphase einige Fraktionen quasi ungetrennt ausgetragen worden. Die eher mäßige WR bestätigt diesen Sachverhalt, die Steigung des Molmassenverlaufs ist vergleichbar mit der von der vorherigen Messung. Der resultierende Peak bei einem Querfluss von 0,75 mL/min ist breiter als die Peaks bei niedrigen Querflüssen, aber bei weitem nicht so breit wie bei den nachfolgenden Messungen mit hohen Querflüssen. Im Vergleich zu den anderen HES 1 Messungen ist dieses Flussprofil das beste. Die beiden Messungen mit hohen Querflüssen von 2 und 3 mL/min bilden das andere Extrem. Die Peaks sind sehr breit und die linken Peakflanken zeigen ein Fronting. Dieses Fronting wird dadurch hervorgerufen, dass der hohe Querfluss am Anfang der Elutionsphase dem Diffusionsvermögen der niedermolekularen Fraktionen entgegenwirkt und die niedermolekularen Fraktionen dann nur langsam eluieren. Die WR in Prozent berechnet sich aus der injizierten Masse M_i und der kalkulierten Masse M_c des Konzentrationsdetektors (Gleichung 57).

$$WR = \frac{M_c}{M_i} \cdot 100 \quad (\text{Gl. 57})$$

M_i = injizierte Masse
 M_c = kalkulierte Masse M_c

Die M_c wird von der Auswertungssoftware ASTRA[®] direkt aus der Masse der einzelnen Daten-Slices w_i (Gleichung 58) berechnet. Die Anzahl der Daten-Slices wird durch die Grenzen des ausgewählten Peaks gegeben.

$$M_c = \sum_{\text{Peak}} w_i \quad (\text{Gl. 58})$$

w_i = Daten-Slice

Die einzelnen Massen der Daten-Slices w_i errechnen sich aus der Konzentration c_i und dem Slice-Volumen Δv_i (Gleichung 59).

$$w_i = c_i \cdot \Delta V_i \quad (\text{Gl. 59})$$

c_i = Konzentration c_i
 ΔV_i = Slice-Volumen

Die Konzentration wird dabei aus dem Brechungsindex im Vergleich zum reinen Lösungsmittel Δn_i und dem Brechungsindexinkrement dn/dc durch Integration berechnet, wobei der Brechungsindex Δn_i auch mittels der RI-Voltsignale V_i und der Kalibrierungskonstante α des Konzentrationsdetektors beschrieben werden kann (Gleichung 60).

$$c_i = \frac{\Delta n_i}{dn/dc} = \frac{\alpha (V_i - V_{i,Basislinie})}{dn/dc} \quad (\text{Gl. 60})$$

Δn_i = Brechungsindex des reinen Lösungsmittels
 dn/dc = Brechungsindexinkrement
 α = Kalibrierungskonstante des Konzentrationsdetektors
 V_i = Voltsignale des Konzentrationsdetektors

Wenn die Anzahl der Daten-Slices und deren Konzentration groß ist können bei der Berechnung der WR auch Werte größer 100 % errechnet werden.

Als generelles Fazit kann gesagt werden, dass der Querfluss einen Einfluss auf die Peakform ausübt. Bei HES 1 hat sich herausgestellt, dass sich Flussverhältnisse größer 1,5 und kleiner 1 ungünstig auf die Trennung auswirken.

Bei den in Abb. 35 dargestellten Messungen handelt es sich ebenfalls um Hydroxyethylstärke 200/0,5 (HES 2), allerdings von einem anderen Hersteller. Die entsprechenden Ergebnisse sind ebenfalls in Tab. 8 aufgelistet. In Anlehnung an das optimale Profil für HES 1 wurde bei HES 2 der Querfluss von 0,75 mL/min konstant gehalten und Kanalflüsse von 0,5, 0,75, 1 und 1,5 mL/min gewählt. Im Vergleich zu den Messungen von HES 1 verändert sich nicht die Peakform, sondern nur die Peakbreite. Der schmalste Peak trat bei einem Kanalfluss von 1,5 mL/min auf. Aufgrund der mäßigen WR sind bei dieser Messung ebenfalls Fraktionen vorzeitig eluiert worden. Bei kleiner werdendem Kanalfluss vergrößert sich sukzessive die Peakbreite. Von einem Kanalfluss von 1,5 mL/min bis zu einem Kanalfluss von 0,5 mL/min verschiebt sich der Peak zu höheren Elutionsvolumina. Die hohen WR bei Kanalflüssen von 0,5 und 0,75 mL/min sind auf oben genannte Gründe zurückzuführen. Die beste Messung bei HES 2 ergab sich wie bei HES 1 mit einem Kanalfluss von 1 mL/min und einem Querfluss von 0,75 mL/min.

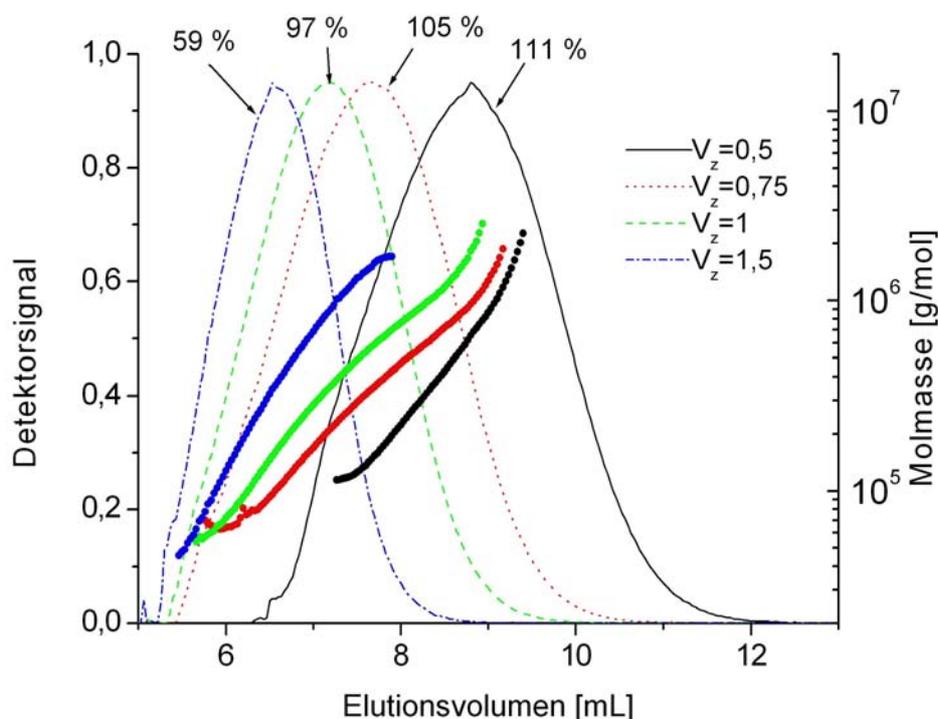


Abb. 35: Auswirkung des Kanalflusses bei konstantem Querfluss bei der Probe HES 2 mit entsprechenden Wiederfindungsraten, 25°C, LS-Lösungsmittel

Bei Polyelektrolyten können durchaus Wechselwirkungen in Form von Abstoßungskräften in der Elutionsphase die Trennung beeinflussen. Das führt aufgrund der Ladungswechselwirkung zu einer verfrühten Elution. Wird der Querfluss zu hoch gewählt, werden die Moleküle noch dichter an die Membran gedrückt, wodurch anziehende Wechselwirkungen mit der Membran auftreten können, was in Adsorption der Probe an der Membran resultiert^[136].

4.2 Lagerstabilität von Acetylstärke

Für die selektiv O-2-substituierte Acetylstärke (AS) AS 1 soll die Lagerstabilität der Lösung mittels Viskosimetrie, SEC und UV/VIS-Spektroskopie untersucht werden. Vor Beginn der Messungen wurde ein Trockengehalt von 94,1 % bestimmt. Der durchschnittliche Substitutionsgrad (DS) der Probe beträgt 0,45.

136) S. Lee, P.-O. Nilsson, G. N. Nilsson, K.-G. Wahlund, J. Chromatogr. A, **1011**, (2003), 111-123

4.2.1 Vorangegangene Arbeit

In Referenz^[55] wurde bereits ausgiebig über die Charakterisierung von AS, die über verschiedene Syntheseverfahren hergestellt wurden, berichtet. Das Ziel war, eine selektiv O-2-substituierte AS herzustellen.

An einigen ausgewählten Proben dieser Referenz wurde nun mit unterschiedlichen Methoden die Lagerstabilität bestimmt. Als Erstes wurden Einpunktmessungen an der Probe AS 2 in vier verschiedenen wässrigen Medien (Phosphatpuffer, zweifach demineralisiertes Wasser, isotonische Kochsalzlösung, 0,1 M Natriumnitrat-Lösung (NaNO_3) mit 3 mM Natriumazid (NaN_3)) durchgeführt (s. Abb. 36). NaN_3 übernimmt die Funktion eines Bakterizids.

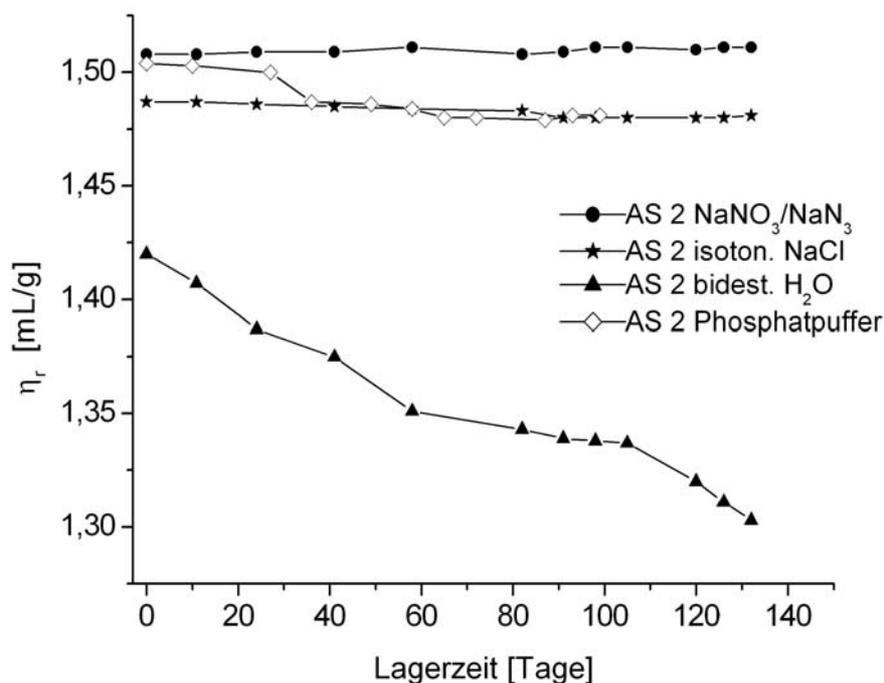


Abb. 36: Bestimmung der Lagerstabilität von Acetylstärke über die relative Viskosität mittels Einpunktmessungen in verschiedenen Lösungsmitteln

Die Auswahl der verschiedenen wässrigen Medien erfolgte unter physiologischen Gesichtspunkten. Um Abbaureaktionen bezüglich der pH-Neutralität auszuschließen, wurde eine Lösung in einem Dihydrogenphosphat/Hydrogenphosphat-Puffer bei pH 7,0 angesetzt, welcher auch ein Bestandteil des menschlichen Blutpuffersystems^[137] ist. Die isotonische

55) P. Pfefferkorn, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2004

137) G. Vogel, H. Angermann, DTV-Atlas zur Biologie Tafeln und Texte Band 2, 6. Aufl., Deutscher Taschenbuch Verlag, München, 1992

Kochsalzlösung wurde gewählt, da sie bei Plasmaersatzmitteln als Basis verwendet wird. Die Lösung in zweifach demineralisiertem Wasser diente als Referenz, sie wurde ohne Bakterizid verwendet. Die Werte für die relative Viskosität η_r im LS-Lösungsmittel zeigten keine Veränderungen, sie schwankten für AS 2 um eine bestimmte relative Viskosität. Die Schwankungen liegen bei beiden Proben innerhalb der Fehlergrenze.

Für die drei anderen wässrigen Medien konnten Unterschiede festgestellt werden. Während η_r in der isotonischen Kochsalzlösung ähnlich stabil war, wie in dem mit einem Bakterizid, trat bei den Messungen mit Phosphatpuffer eine geringe Abnahme auf. Eine ausgeprägte Abnahme von η_r zeigte die Lösung in zweifach demineralisiertem Wasser. Hier fiel der Wert deutlich nach 132 Tagen Lagerung. In Anlehnung an die Ergebnisse sind zweifach demineralisiertes Wasser und Phosphatpuffer für eine Lagerung unter Laborbedingungen als Lösungsmittel nicht geeignet. Als geeignet haben sich NaCl und LS-Lösungsmittel herausgestellt.

Für die Synthese der Acetylstärken wurden unterschiedliche Stärkequellen (Wachsmaisstärke (WMS), Amioca, Hylon VII) verwendet, um festzustellen, ob das Amylose-Amylopektin-Verhältnis einen Einfluss auf den bei der Lagerung eintretenden Molmassenabbau hat. Diese Proben sind mittels Größenausschlusschromatographie, gekoppelt mit einem Vielwinkellaserlichtstreuphotometer und einem Konzentrationsdetektor (SEC/MALLS/DRI), untersucht worden. Als Beispiel sind hier Messungen je einer Probe, die aus Hylon VII synthetisiert wurde (s. Abb. 37), und einer aus Amioca synthetisierten, (s. Abb. 38), angegeben. Beide Proben wurden in LS-Lösungsmittel vermessen und bei 25°C gelagert. Aufgetragen in beiden Abbildungen sind jeweils die kumulative und die differentielle Molmassenverteilung. In Tab. 9 sind die entsprechenden Messwerte zu Abb. 37 und Abb. 38 aufgelistet. Abb. 37 zeigt einen deutlichen Abbau der Molmasse in einem Zeitraum von 192 Tagen durch eine Verschiebung der Molmassenverteilungen hin zu niedrigeren Molmassen. Die Molmassenreduzierung beträgt 64 %. Aufgrund des starken Abbaus ist Hylon VII als Stärkequelle für die Synthese von Acetylstärke nicht geeignet. Es sei darauf hingewiesen, dass die Molmasse von Hylon VII bei einem Einsatz als Blutplasmaersatzmittel zu hoch ist. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Probe eine für den Menschen gefährlichen hochmolekularen Flanke enthalten sein könnte.

Tab. 9: Molmassen für die Lagerstabilitätsmessungen von Proben aus Hylon VII und Amioca

Tage	Hylon VII	Amioca
	M_w [g/mol]	M_w [g/mol]
0	$2,28 \cdot 10^6$	$4,49 \cdot 10^5$
53	$1,34 \cdot 10^6$	$4,43 \cdot 10^5$
60	$1,22 \cdot 10^6$	$4,44 \cdot 10^5$
169	$8,72 \cdot 10^5$	$4,21 \cdot 10^5$
192	$8,17 \cdot 10^5$	$4,17 \cdot 10^5$
205	---	$4,16 \cdot 10^5$
Molmassenreduzierung	64,2%	7,3 %

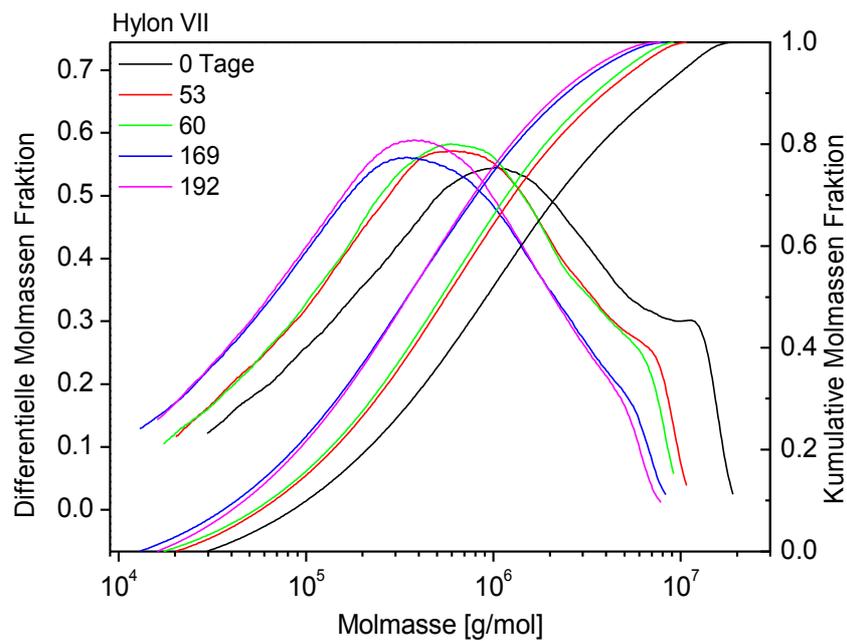


Abb. 37: Auftragung der differentiellen und kumulativen Molmassenverteilung einer Probe aus Amioca über einem Zeitraum von 205 Tagen, LS-Lösungsmittel, 25°C, 0,5 mL/min

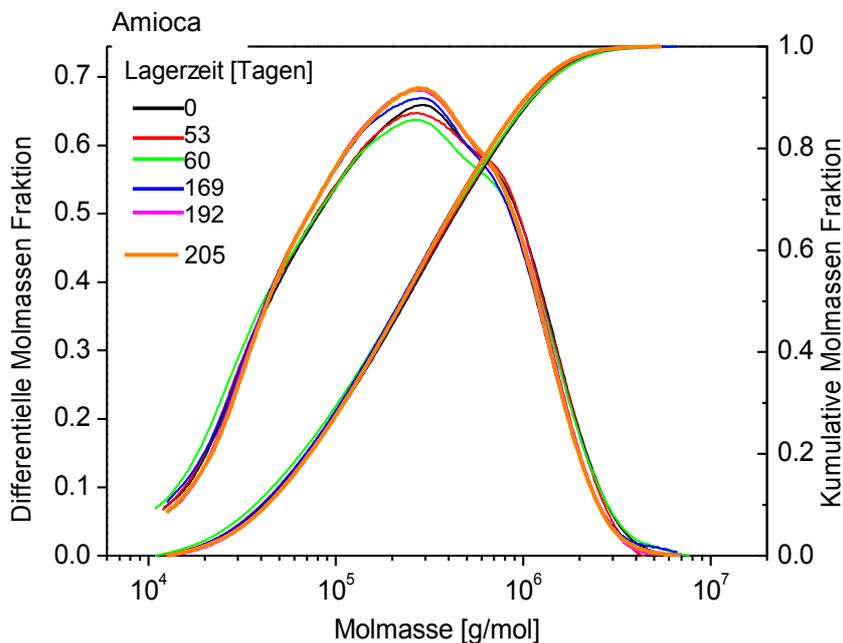


Abb. 38: Auftragung der differentiellen und kumulativen Molmassenverteilung einer Probe aus Amioca über einem Zeitraum von 205 Tagen, LS-Lösungsmittel, 25°C, 0,5 mL/min

Die Molmassenverteilungen in Abb. 38 zeigen nur einen geringen Molmassenabbau mit 7 %. Dieser Wert liegt innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmungsmethode (SEC). Messungen einer Probe auf Basis von WMS lieferten vergleichbare Ergebnisse. Amioca und WMS sind demzufolge als Stärkequelle für die Synthese besser geeignet als Hylon VII. Der Molmassenbereich weist eine bessere Eignung für die Anwendung als Blutplasmaersatzmittel auf.

Neben Viskosimetrie und Größenausschlusschromatographie ist es sehr wichtig ebenfalls den Gehalt an Essigsäure zu bestimmen, der bei der Lagerung abgespalten wird. Im gleichen Zuge wurde auch ermittelt, ob die Temperatur eine Auswirkung auf die Lagerung hat. Am Beispiel von AS 4 wurde die freie Essigsäure mittels UV/VIS bestimmt. Eine nähere Beschreibung zu dieser Bestimmung wird in Kap. 4.2.4.1 vorgenommen. In Abb. 39 sind die Essigsäurekonzentrationen gegen die Lagerzeit aufgetragen.

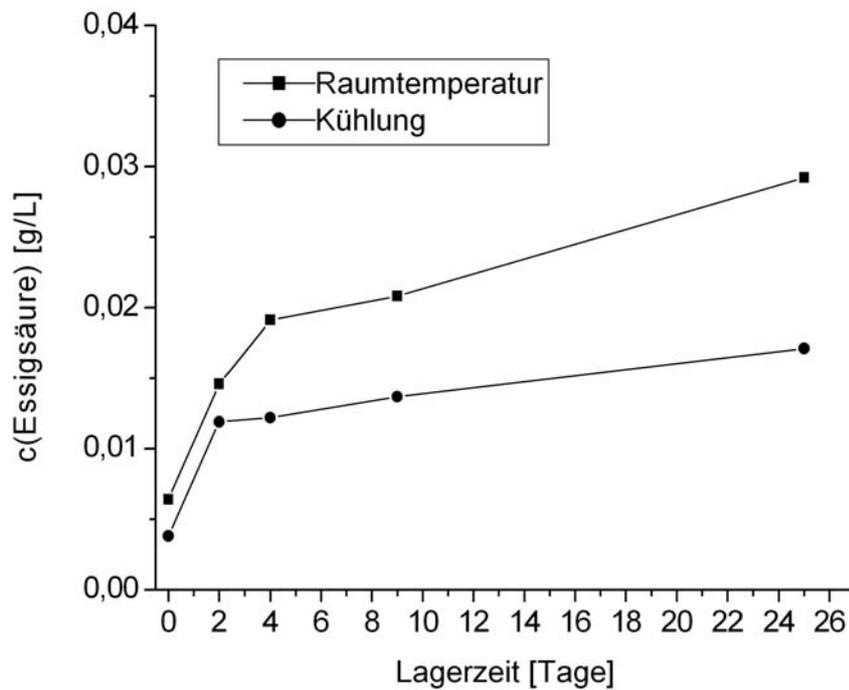


Abb. 39: Auftragung der abgespaltenen Essigsäure von AS 4, gelagert bei unterschiedlichen Temperaturen

In Tab. 10 sind die entsprechenden Messwerte zu Abb. 39 aufgelistet. Die Messungen zeigen deutlich, dass unter Laborbedingungen eine Lagerung im Kühlschrank vorzuziehen ist. Es wurde eine größere Menge an freier Essigsäure bei der Probe gemessen, die bei Raumtemperatur (RT) gelagert wurde.

Tab. 10: Messwerte der Essigsäurekonzentrationen von AS 4 bei unterschiedlicher Lagerungstemperatur in Abhängigkeit der Zeit

Dauer [Tage]	AS 4 (RT) [g/L]	AS 4 (Kühlung) [g/L]
0	0,0064	0,0038
2	0,0146	0,0119
4	0,0191	0,0122
9	0,0208	0,0137
25	0,0292	0,0171

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die Lagerstabilität über den durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) mittels ^{13}C NMR zu bestimmen. An zwei ausgewählten AS wurden über einen Zeitraum von 119 Tagen NMR-Messungen in D_2O durchgeführt. In Tab. 11 sind DS-Werte für die Proben AS 3 und AS 5 angegeben. Abb. 40 stellt ein Beispiel eines ^{13}C NMR-Spektrums für eine O-2-selektive AS mit den charakteristischen Peaks für ein Polysaccharid dar. Das Dimethylsulfoxid (DMSO) im Spektrum stammt aus der Synthese und dient als Referenz. Die Peaks der Kohlenstoffatome sind, wie in der Strukturformel angegeben, zugeordnet.

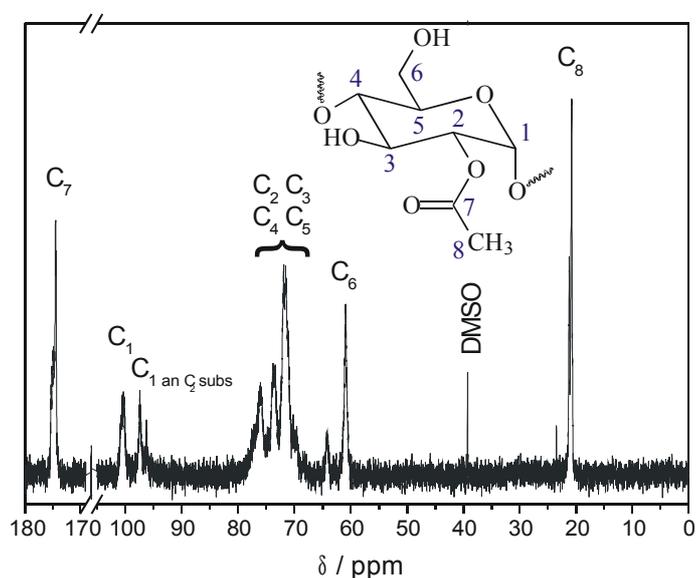


Abb. 40: ^{13}C NMR-Spektrum einer O-2-selektiven AS in D_2O

Tab. 11: DS-Werte aus ^{13}C NMR-Messungen von AS 3 und AS 5 über einen Zeitraum von 119 Tagen

Tage	$\text{DS}_{\text{AS 5}}$	$\text{DS}_{\text{AS 3}}$
0	0,80	0,88
32	0,78	0,85
64	0,78	0,81
119	0,78	0,77

Der DS ergibt sich aus dem Verhältnis der Integrale von C_1 und $\text{C}_1 \text{ an } \text{C}_2 \text{ subs}$. Die Probe AS 5 ist stabiler als AS 3, da sich hier der DS nur in geringem Maße ändert. Zusammenfassend kann als Ergebnis der vorangegangenen Arbeit gesagt werden, dass Amioca oder WMS für die Synthese

besser geeignet sind und dass bei Kühlschranklagerung weniger Essigsäure abspalten wird.

4.2.2 Viskosimetrische Einpunktmessungen von AS 1

Anhand von Einpunktmessungen wurde überprüft, ob die Viskosität von AS 1 über einen längeren Zeitraum konstant bleibt. Als Parameter wurde hierfür die relative Viskosität η_r bei 25°C in LS-Lösungsmittel bestimmt. Anhand einer Änderung, im Speziellen einer Abnahme von η_r lassen sich Aussagen über die Lagerstabilität machen. In Tab. 12 sind Messdaten zusammengefasst, die in Abb. 41 graphisch dargestellt sind. Die Schwankungen sind auf Messungenauigkeiten zurückzuführen, die aber innerhalb methodenspezifischen der Fehlergrenzen liegen.

Tab. 12: Auflistung der relativen Viskositäten von AS 1 über einen Zeitraum von 84 Tagen, graphisch dargestellt in Abb. 41

Dauer [Tage]	η_r	Dauer [Tage]	η_r
1	1,42	28	1,42
2	1,42	35	1,43
3	1,42	42	1,43
4	1,42	49	1,43
7	1,42	56	1,43
9	1,43	63	1,42
11	1,43	70	1,43
14	1,43	77	1,43
17	1,43	84	1,43
21	1,42		

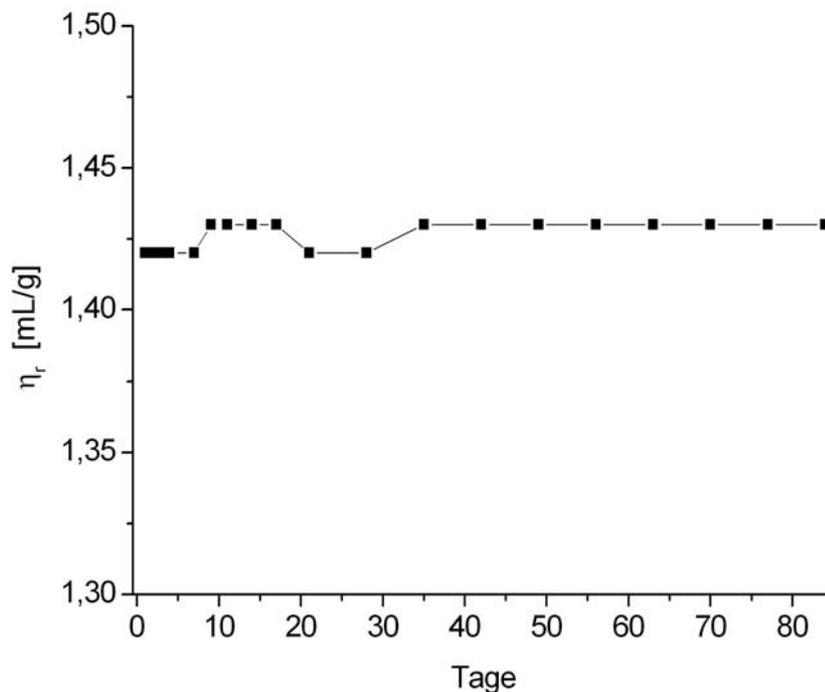


Abb. 41: Auftragung der relativen Viskosität von AS 1 in Abhängigkeit von der Lagerzeit, LS-Lösungsmittel, 25°C

Nach 84 Tagen wurden die Viskositätsmessungen abgebrochen, da wegen nicht ausreichender Substanzmenge keine Messlösungen mehr hergestellt werden konnte. Im Vergleich zu SEC-Messungen wird für eine Viskositätsmessung ein größeres Volumen verbraucht. Innerhalb von 84 Tagen ist keine Abnahme von η_r festzustellen. Die Viskositätsmessungen lassen den Schluss zu, dass die Probe lagerstabil ist.

4.2.3 Bestimmung des Molmassenabbaus mittels SEC/MALLS/DRI

Mit der Viskosimetrie allein kann eine Lagerstabilität nur unzureichend verfolgt und bewertet werden, da das mögliche Auftreten einer für den Menschen gefährlichen, hochmolekularen Flanke (s. nähere Beschreibung in Kap. 3.1) durch die Viskosimetrie nicht erfasst werden kann. Dafür bietet sich eine Untersuchung mit Hilfe von SEC/MALLS/DRI an. Man erhält die Molmassenverteilung bestimmt und kann so die Anwesenheit einer eventuellen hochmolekularen Flanke aufzeigen.

Die Probe AS 1 wurde als 1 %ige Lösung in LS-Lösungsmittel bei einem Fluss von 0,5 mL/min vermessen. Für die Messungen wurden zwei Lösungen gleicher Konzentration angesetzt, die

nachfolgend als Referenzproben bezeichnet werden. Mit Hilfe der Referenzprobe soll die Reproduzierbarkeit überprüft werden. Die Messergebnisse aus einem Zeitraum von 294 Tagen werden in Form eines Elutionsdiagramms sowie der differentiellen und kumulativen Molmassenverteilung dargestellt. In Abb. 42 ist das Elutionsdiagramm einer Referenzprobe abgebildet. Da die Auftragung der zweiten Referenzprobe der der ersten Referenzprobe gleich, ist nur ein Elutionsdiagramm mit Messungen im Abstand von 50 Tagen dargestellt. Das Lichtstreuungssignal (LS-Signal), weist einen monomodalen Verlauf mit einem Maximum bei 27 mL auf. Das Konzentrationssignal (RI-Signal), zeigt bei 29 mL eine leichte Schulter und bei 31 mL ein Maximum. Bei der zweiten Referenzprobe sind die Positionen der Schulter und des Maximums vergleichbar. Die M_w beträgt am Tag 1 $4,23 \cdot 10^5$ g/mol. Nach einem Monat ist nur eine geringe Abnahme eingetreten (s. Tab. 13), die innerhalb des Messfehlers liegt. Nach 294 Tagen beträgt die M_w $3,92 \cdot 10^5$ g/mol. Dies entspricht einer Molmassenreduzierung von 9 % und liegt innerhalb der Fehlergrenze der SEC-Messungen.

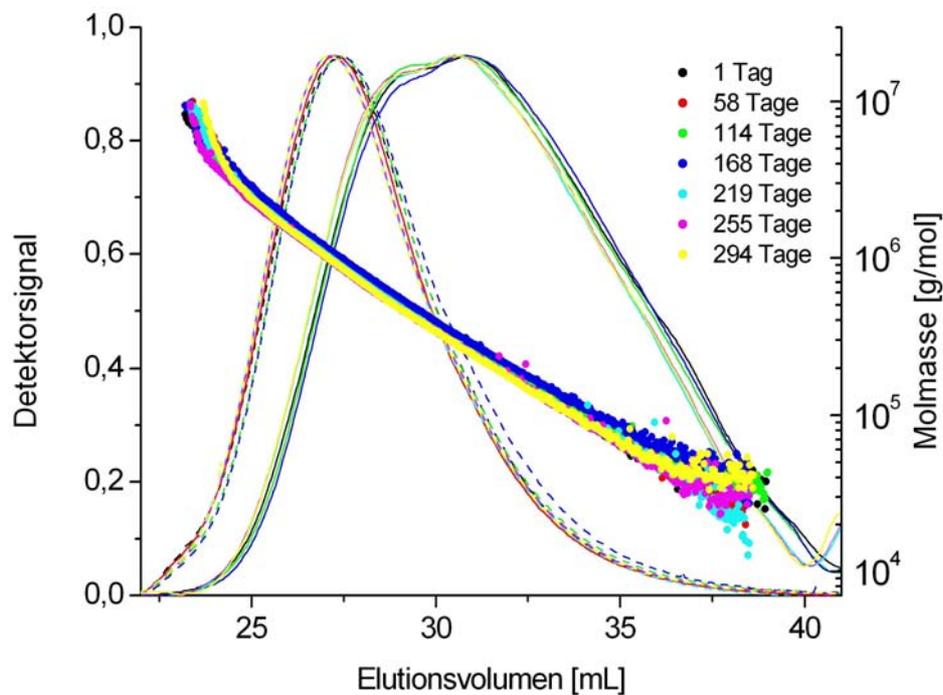


Abb. 42: Elutionsdiagramm der ersten Referenzprobe für 294 Tage (0,5 mL/min, 25°C). Das LS-Signal ist durch eine gestrichelte Linie, das RI-Signal mit einer durchgezogenen Linie gekennzeichnet. Der Molmassenverlauf wird durch Punkte wiedergegeben.

Tab. 13: Übersichtstabelle der Molmassen M_w für die beiden Referenzproben

Dauer [Tage]	M_w 1 [g/mol]	M_w 2 [g/mol]
1	$4,26 \cdot 10^5$	$4,24 \cdot 10^5$
58	$4,22 \cdot 10^5$	$4,19 \cdot 10^5$
114	$4,14 \cdot 10^5$	$4,17 \cdot 10^5$
168	$4,11 \cdot 10^5$	$4,12 \cdot 10^5$
219	$4,05 \cdot 10^5$	$4,04 \cdot 10^5$
255	$4,03 \cdot 10^5$	$4,13 \cdot 10^5$
294	$3,96 \cdot 10^5$	$3,92 \cdot 10^5$

In Abb. 43 sind die kumulativen Molmassenverteilungen dargestellt. Die kumulative Molmasse ergibt sich aus der Auftragung des Molmassenanteils auf der Ordinate gegen die logarithmische Molmasse auf der Abzisse. Es ist ersichtlich, dass beide Referenzproben Molmassen von $1,5 \cdot 10^4$ g/mol bis ca. $4 \cdot 10^6$ g/mol enthalten.

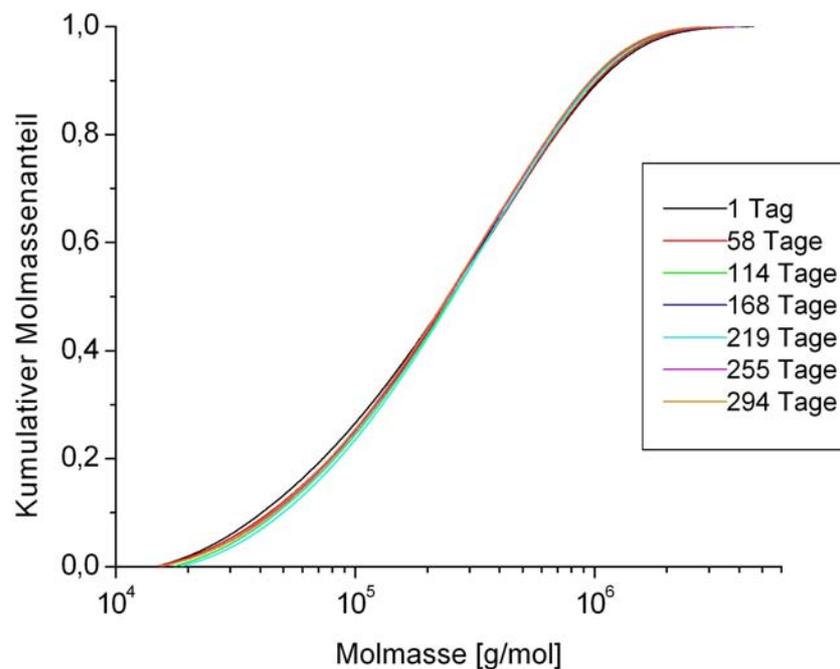


Abb. 43: Kumulative Molmassenverteilung der ersten Referenzprobe in einem Zeitraum von 294 Tagen

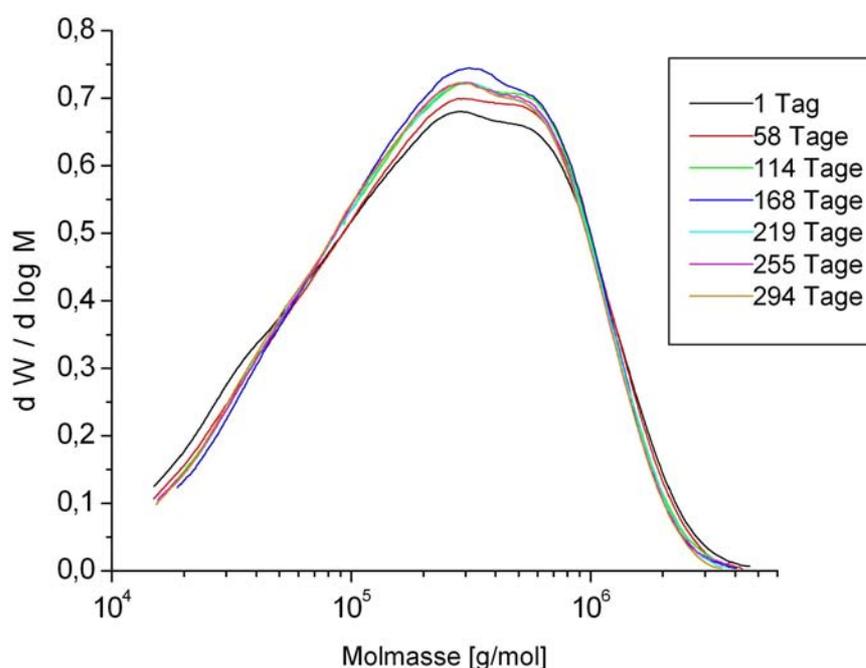


Abb. 44: Differentielle Molmasserverteilung der ersten Referenzprobe Proben in einem Zeitraum von 294 Tagen

In Abb. 44 sind die differentiellen Molmassenverteilungen dargestellt. Die differentielle Molmassenverteilung wird aus der ersten Ableitung der kumulativen Molmassenverteilung multipliziert mit der Steigung des nach einem Polynomfit 1. Ordnung angepassten Molmassenverlaufs berechnet^[138]. Die zweite Referenzprobe liefert in der kumulativen ebenso wie in der differentiellen Molmassenverteilung einen vergleichbaren Verlauf. Die in Abb. 43 abgebildete Probe weist zwar Molmassenfraktionen im Millionenbereich auf, allerdings handelt es sich hierbei nicht um eine hochmolekulare Flanke.

Die Bestimmung der Gyrationradien R_G ist schwierig, da die Probe AS 1 aufgrund ihres hohen Amylopektinanteils stark verzweigt ist und demzufolge kleine Radien aufweist. Diese können mit dem bei der Lichtstreuung verwendeten Laser ($\lambda = 633 \text{ nm}$) nur mit großem Fehler bestimmt werden^[84]. Aus den Rohdaten des LS-Signals kann bei Teilchen, die kleiner $\lambda/20$ sind, R_G nicht mehr mit ausreichender Genauigkeit berechnet werden, da das Polymermolekül nur noch ein Streuzentrum besitzt und aus diesem Grund die Streustrahlung nicht mehr intramolekular interferieren kann. In diesem Bereich ist die Streuintensität dann nicht mehr

138) ASTRA-Handbuch 1998

84) P. Kratochvil, Classical Light Scattering from Polymer Solution, Elsevier, Amsterdam, 1987

winkelabhängig. Der Fehler von R_G ist demzufolge zu groß.

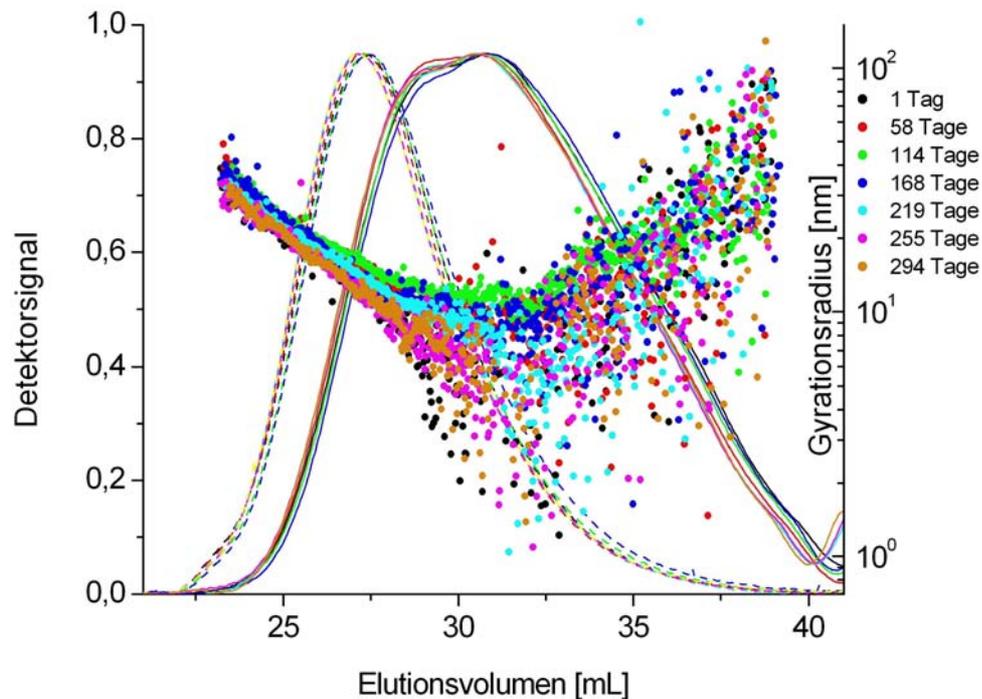


Abb. 45: Elutionsdiagramm mit Radienverlauf der ersten Referenzprobe in einem Zeitraum von 294 Tagen

Dies bedeutet, dass die Auswertung nicht über den ganzen Elutionsbereich erfolgen kann. Die zweite Hälfte des Elutionsbereichs weist eine große Streuung in den R_G -Werten auf und ist infolgedessen stark mit Fehlern behaftet (s. Abb. 45). Eine quantitative Aussage über den R_G dieser Probe ist nicht möglich.

Die Probe AS 1 ist in Lösung bei RT über einen Zeitraum von 294 Tagen bei RT in LS-Lösungsmittel lagerstabil. Die Molmassenabnahme liegt bei 9 % und demzufolge im Rahmen der Messgenauigkeit.

4.2.4 Enzymatische Bestimmung des Essigsäureabbaus

In AS sind die Acetylsubstituenten über eine Esterbindung an das Amylopektinrückgat gebunden. Esterbindungen sind im Vergleich zu Etherbindungen, wie sie in HES vorkommen, labiler. Im Fall von AS bedeutet dies, dass bei einer Lagerung Essigsäure abgespalten werden kann. Für eine medizinische Anwendung ist es notwendig, den Gehalt an abgespaltener

Essigsäure nach einer bestimmten Lagerzeit zu erfassen, da sich ein hoher Gehalt an freier Essigsäure ungünstig auf den Blut-pH-Wert auswirken kann.

Aufgrund der geringen Menge von freisetzbare Essigsäure und der Problematik der basischen und sauren Hydrolyse der Esterbindung konnten klassische Methoden zur Bestimmung, z.B. titrimetrische Verfahren, nicht eingesetzt werden. Zum Nachweis der während der Lagerung freigesetzten Essigsäure, wurde daher ein enzymatischer Essigsäurenachweis mittels UV/VIS-Spektroskopie durchgeführt. Als UV/VIS-Gerät kam ein Jasco V530 UV/VIS der Firma Dewert Labor-Technik mit der Software „Spectramanager for Windows“ in der Version 1.3 zum Einsatz. Es wurde ein Enzymkit (Best. Nr. 10.148.261.035 der Firma R-Biopharm) verwendet.

4.2.4.1 Beschreibung der enzymatischen Reaktion

Während der enzymatischen Reaktion für den Essigsäurenachweis werden die Acetylgruppen der Acetylstärke hydrolysiert. Durch die langsame Hydrolyse wird Essigsäure (HAc) freigesetzt. Diese lässt sich mittels eines UV/VIS-Photometers infolge einer zeitlichen Erhöhung der Extinktion der Lösung bestimmen.

Im Einzelnen liegt folgender Ablauf vor: HAc wird in Gegenwart von Acetyl-CoA-Synthase durch Adenosin-5'-triphosphat (ATP) und Coenzym A (CoA) zu Acetyl-CoA umgesetzt. Acetyl-CoA reagiert mit Oxalacetat bei Anwesenheit von Citrat-Synthase zu Citrat. Das benötigte Oxalacetat wird in einer vorgeschalteten Indikatorreaktion aus L-Malat und Nicotinamidadenin-dinucleotid (NAD) in Gegenwart von L-Malat-Dehydrogenase (L-MDH) gebildet. Dabei wird NAD zu NADH reduziert^[139]. In Abb. 46 ist der Schritt der Essigsäure-Bindung strukturell dargestellt.

Die Bestimmung der HAc erfolgte indirekt über die NADH-Bildung, wobei die Extinktionszunahme bei einer Wellenlänge von 334 nm bestimmt wurde. Aufgrund der vorgeschalteten Gleichgewichtsreaktion für das Oxalacetat besteht keine direkte lineare Proportionalität zwischen der Extinktionsdifferenz und der HAc-Konzentration^[140]. Zur Berechnung der Extinktionsdifferenz der Essigsäure ΔE_{HAc} diene Gleichung 61.

139) D. Matthies, Biochemische Formelsammlung – Struktur und Funktion fundamentaler Biomoleküle, 2. Aufl. AULA-Verlag, Wiesbaden, 1990

140) Boehringer Mannheim GmbH, Benutzerinformation – Enzymkit Essigsäurenachweis, 2003

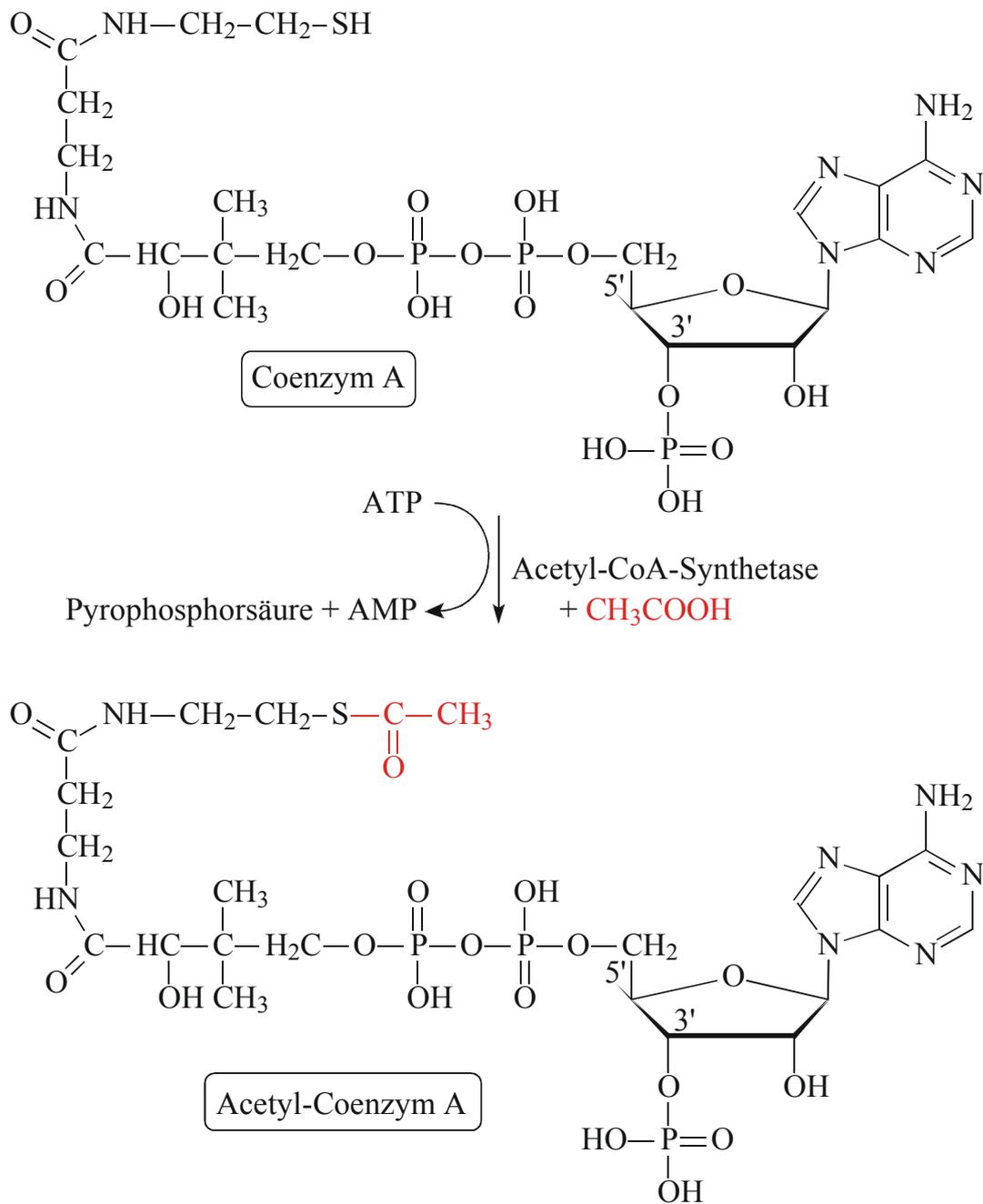


Abb. 46: Struktureller Reaktionsverlauf der Essigsäureabspaltung

$$\Delta E_{HAc} = \left[(E_2 - E_0) - \frac{(E_1 - E_0)^2}{(E_2 - E_0)} \right]_{Probe} - \left[(E_2 - E_0) - \frac{(E_1 - E_0)^2}{(E_2 - E_0)} \right]_{Blw} \quad (\text{Gl. 61})$$

E_{HAc} = Extinktion Essigsäure

$E_{2/1}$ = Extinktion Referenzprobe

Blw = Blindwert

Die Konzentration c wird dann nach Gleichung 62 berechnet.

$$c = \frac{V_{ges} \cdot M(HAc)}{\epsilon_{NADH} \cdot d \cdot V_{Pr} \cdot 1000} \cdot \Delta E \left[\frac{g}{L} \right] \quad (\text{Gl. 62})$$

V_{ges} = Gesamtvolumen [mL]

$M(HAc)$ = Molmasse Essigsäure [g/mol]

ϵ_{NADH} = Extinktionskoeffizient [L/mmol•cm]

d = Schichtdicke [cm]

V_{Pr} = Probevolumen [mL]

Um den Wert der freien HAc zu bestimmen wird auf den Zeitpunkt der Zugabe der ersten Reagenzlösung extrapoliert. Bleibt die Konzentration an HAc in der Lösung zeitlich konstant, so ist die Acetylstärke lagerstabil.

4.2.4.2 Bestimmung der freien Essigsäure in AS 1

Für die Probelösung und die Blindwertlösung wurden die Extinktionen in mehreren Stufen entsprechend der Herstellerangaben^[140] aufgenommen. Es ergaben sich die jeweiligen Extinktionen E_0 , E_1 und E_2 für die beiden Lösungen (s. Gleichungen 61 + 62 in Kap. 4.2.4.1). Für die Messung wird eine 2 %ige Lösung in zweifach demineralisiertem Wasser verwendet. Um den Wert der freien Essigsäure zu bestimmen, wird auf den Zeitpunkt der Zugabe ($E_2 = 0$) extrapoliert. Die Werte von E_2 wurden photometrisch bei 334 nm im Zeitrahmen von 1 bis 28 min Reaktionszeit bestimmt. In Tab. 14 sind die entsprechenden Messdaten aufgelistet.

140) Boehringer Mannheim GmbH, Benutzerinformation – Enzymkit Essigsäurenachweis, 2003

Tab. 14: Übersicht der Essigsäuregehalte von AS 1

Dauer [Tage]	c(HAc) [g/L]	Stoffmenge [mol]
1	0,0017	$4 \cdot 10^{-9}$
4	0,0024	$6 \cdot 10^{-9}$
8	0,0019	$5 \cdot 10^{-9}$
11	0,0036	$8 \cdot 10^{-9}$
17	0,0079	$1,9 \cdot 10^{-8}$

In Abb. 47 ist die Zunahme der Konzentration der freien Essigsäure über die Dauer von 21 Tagen aufgetragen. Die Schwankung der Werte kann auf eine nicht gleichmäßig durchmischte Probe zurückzuführen sein. Die Problematik hier ist, dass die Reaktanden direkt in die Küvette pipettiert wurden und die Reaktion sofort einsetzt. Bei der Messung sollte stets auf eine vollständige Durchmischung der Probe geachtet werden.

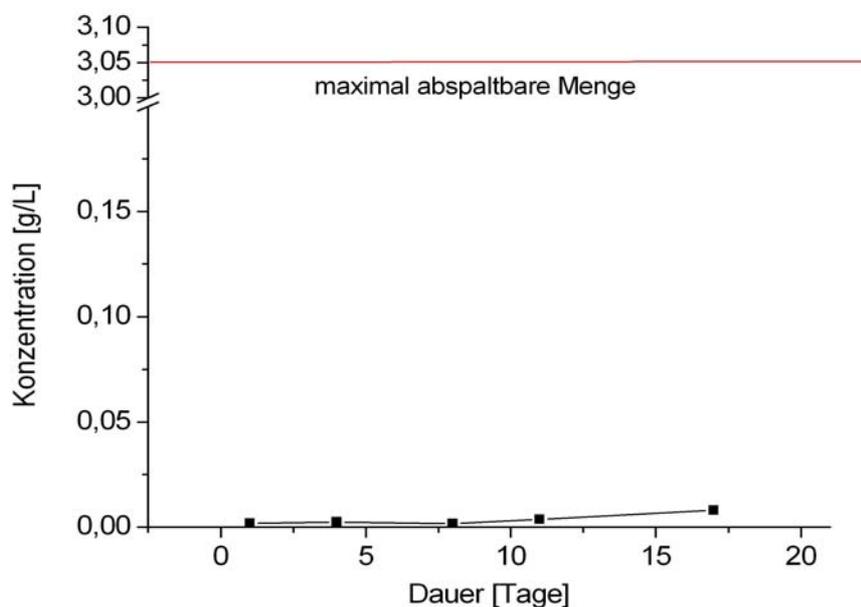


Abb. 47: Auftragung der Essigsäureabspaltung über mehrere Tagen gegen die Konzentration von AS 1

Die Messungen mussten nach 21 Tagen abgebrochen werden, da bei der Probe ein mikrobieller Befall beobachtet wurde, wahrscheinlich hervorgerufen durch in der Luft befindliche Keime. Eine Kontamination der Probe durch eine nicht sterile Präparation und ein nicht steriles Lösungsmittel konnte bei Laborbedingungen nicht ausgeschlossen werden. Da innerhalb von knapp drei Wochen nur sehr wenig Essigsäure abspalteten wurde, wie Tab. 14 zeigt, kann man

die Probe unter diesen Bedingungen als lagerstabil ansehen.

Der Gehalt an maximal abspaltbarer Essigsäure kann nach Gleichungen 63 bis 66 bei Kenntnis des DS und der M_w berechnet werden. Als Erstes muss der durchschnittliche Polymerisationsgrad DP berechnet werden (Gleichung 63).

$$DP = \frac{M_w}{\left(M_{C_6H_7O_5} + DS \cdot M_{COCH_3} + (3 - DS) \cdot M_H \right)} \quad (\text{Gl. 63})$$

$$M_{C_6H_7O_5} = 159,12 \text{ g/mol} / M_{COCH_3} = 43,05 \text{ g/mol} / M_H = 1 \text{ g/mol}$$

$$M_{C_6H_7O_5} = \text{Molmasse Glucoseeinheit}$$

$$M_{COCH_3} = \text{Molmasse Acetatrest}$$

$$M_H = \text{Molmasse Wasserstoff}$$

Mit dieser Formel lässt sich die theoretische Molmasse der Anhydroglucoseeinheit (AGU) berechnen. Der nächste Schritt besteht darin, die Stoffmenge n_{AS} der in der Probenlösung eingesetzten AS über die Einwaage auszurechnen (Gleichungen 64 und 65).

$$m_{AS} = n_{AS} \cdot DP \cdot DS \cdot M_{AS} \quad (\text{Gl. 64})$$

$$m_{AS} = \text{Einwaage Acetylstärke}$$

$$n_{AS} = \text{Stoffmenge Acetylstärke}$$

$$n_{AS} = \frac{m_{AS}}{M_w} \quad (\text{Gl. 65})$$

Da sich die Einwaage m_{HAc} auf g/mL bezieht, wird mit Gleichung 66 in g/L umgerechnet.

$$g/L = m_{HAc} \cdot 1000 \quad (\text{Gl. 66})$$

Für AS 1 sieht die Rechnung wie folgt aus:

Ausgangsdaten:

$$\rightarrow M_w = 426.000 \text{ g/mol} \quad DS = 0,45 \quad m_{AS} = 0,02 \text{ g (pro mL)}$$

$$DP = \frac{426.000 \frac{g}{mol}}{\left(159,12 \frac{g}{mol} + (0,45 \cdot 43,05 \frac{g}{mol}) + (3 - 0,45) \cdot 1 \frac{g}{mol} \right)} = 2354$$

$$n_{AS} = \frac{0,02g}{426.000 \frac{g}{mol}} = 4,8 \cdot 10^{-8} \text{ mol}$$

$$m_{AS} = 4,8 \cdot 10^{-8} \text{ mol} \cdot 2354 \cdot 0,45 \cdot 60 \text{ g/mol} = 0,00305 \text{ g} \Rightarrow \mathbf{3,05 \text{ g/L}}$$

Die maximal abspaltbare Menge an Essigsäure beträgt für AS 1 **3,05 g/L**.

Bezogen auf den maximal möglichen Wert sind 0,26 % Essigsäure abgespalten worden. Eine derartige Änderung hat messtechnisch für die DS-Bestimmung per ^{13}C -NMR keine Auswirkung. NMR-Messungen zur Verfolgung der DS-Abnahme wurden von AS 1 nicht durchgeführt. Nur Abnahmen, die über 1 % liegen, können mit der ^{13}C -NMR-Methode erfasst werden. In Referenz^[55] wurde an drei anderen AS versucht, die Änderung des DS mittels ^{13}C -NMR zu erfassen, die durch eine Abspaltung der Acetylgruppen hervorgerufen wird. Es hat sich herausgestellt, dass die Änderungen minimal waren und eine quantitative Beschreibung der HAc-Abspaltung somit nicht erfolgen konnte. Auch hier trat nach einiger Zeit ein mikrobieller Befall auf.

4.3 Kationische Stärken – Teil I

Im Rahmen des DECHEMA – AIF Forschungsvorhabens Nr. 13558 sollte die Flockungseffizienz von kationischen Stärken getestet werden. Ziel ist es, kationische HPMA-Stärken (2-Hydroxypropyltrimethylammoniumstärken), mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) von 0,5 – 1,5 und einem variierenden Amylosegehalt an technischen und Modell-Trüben zu testen und einen Zusammenhang zwischen molekularen Parametern und Flockungsmessungen herzustellen. Die kationischen Stärken wurden aus unterschiedlichen Stärkequellen (Kartoffel, Weizen, Mais, Amioca, Hylon VII) von der Arbeitsgruppe Prof. Heinze (Universität Jena) synthetisiert. Kap. 2.1.2 liefert eine genauere Beschreibung der Synthese und der Amylosegehalte.

Dieses Kapitel beschreibt die Bestimmung der Trockengehalte (TR), des DS, der Staudinger-Indices $[\eta]$, der gewichtsmittleren Molmassen M_w , der Gyrationradien R_G und die Berechnung der kritischen Konzentrationen c^*_η und c^*_{LS} der oben genannten HPMA-Stärken. Abschließend wird noch über Flockungsmessungen von einigen dieser HPMA-Stärken berichtet.

Alle Messungen, außer NMR und Elementaranalyse, wurden bei 25°C in einer wässrigen Lösung versehen mit 0,1 M Natriumnitrat (NaNO_3) und 3 mM Natriumazid (NaN_3) (LS-Lösungsmittel) durchgeführt. Die Stammlösungen wurden mittels eines 11 μm Filters von unlöslichen Bestandteilen befreit. Der Gehalt von nicht-löslichen Bestandteilen für die HPMA-Stärken liegt bei ungefähr 2 %. Für die Messung mittels asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung wurden die Proben zusätzlich noch 45 min bei 13.000 rpm zentrifugiert.

55) P. Pfefferkorn, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2004

4.3.1 Thermogravimetrie

Der Wassergehalt der Proben wurde thermogravimetrisch bestimmt. Eine nähere Beschreibung der Methode liefert Kap. 6.3.2. Abb. 48 zeigt exemplarisch das Thermogramm der Probe KSj 10. Ab einer Erwärmungstemperatur von ca. 50°C setzt eine Massenabnahme ein. Im Bereich oberhalb von 130°C bleibt die Masse konstant und nimmt erst ab 225°C durch Zersetzung der Probe weiter ab. Aus der Differenz zwischen Basislinie bei 100 % Masse und dem ersten Wendepunkt der der Masseabnahmekurve (schwarz) bei ungefähr 130°C wurde der Feuchtigkeitsgehalt bestimmt (markiert durch die roten Linien). Subtrahiert man den Feuchtigkeitsgehalt von 100 % Einwaage, ergibt sich der TR. Die TR der untersuchten Proben sind in Tab. 18 in Kap. 4.3.4 zusammengestellt.

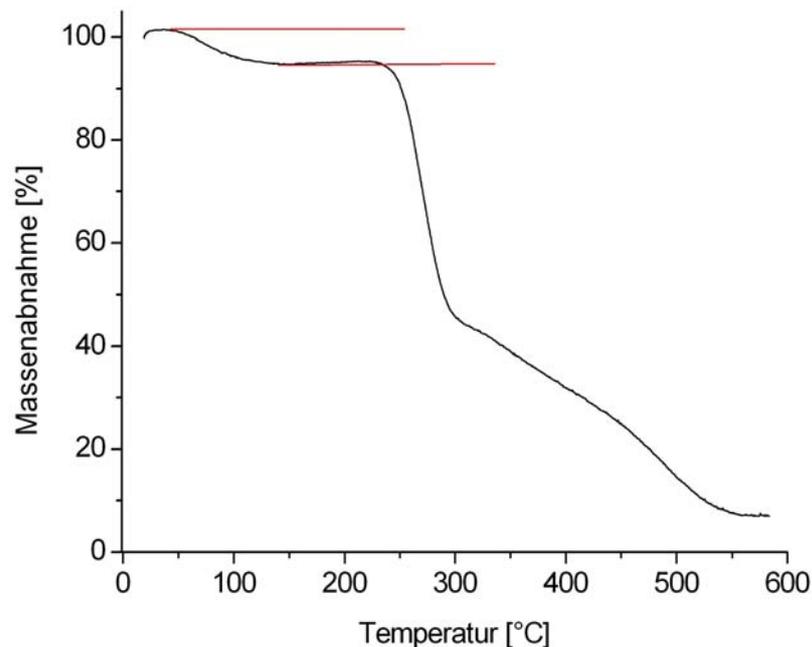


Abb. 48: Thermogramm der Probe KSj 10

4.3.2 Bestimmung des durchschnittlichen Substitutionsgrads (DS)

Der DS macht eine Aussage über die Anzahl der substituierten Hydroxylgruppen (OH-Gruppen) an den Anhydroglucoseeinheiten (AGU) der HPMA-Stärken. Bei der Synthese dieser Stärken können generell die OH-Gruppen an den Kohlenstoffatomen (C-Atomen) C-2, C-3 und C-6 substituiert werden. Durch Änderung des Verhältnisses von Kationifizierungsreagenz zu Anhydroglucoseeinheit kann der DS variiert werden (s. Tab. 15). Die Reaktionen für KSj 9 und

KSj 15 waren zweistufig, d.h. die Kartoffelstärke ist zweimal mit dem Kationifizierungsreagenz umgesetzt worden.

Tab. 15: Herstellungsangaben für die Synthese der kationischen Stärken

Probe	Stärke	Reagenz	AGU/Reag*	Medium	DS**
KSj 1	Kartoffel	QUAB 188	1/1,5	EtOH	0,29
KSj 2	Kartoffel	QUAB 151	1/2	H ₂ O	0,96
KSj 3	Kartoffel	QUAB 151	1/2	H ₂ O	0,60
KSj 4	Mais	QUAB 151	1/1	H ₂ O	0,52
KSj 5	Kartoffel	QUAB 151	1/2	MeOH	0,75
KSj 6	Kartoffel	QUAB 151	1/2	MeOH	0,55
KSj 7	Mais	QUAB 151	1/2	H ₂ O	0,99
KSj 8	Weizen	QUAB 188	1/2	EtOH	0,60
KSj 9	Kartoffel	QUAB 151	1. St) 1/3 2. St) 1/18	H ₂ O	1,54
KSj 10	Hylon VII	QUAB 151	1/1,3	H ₂ O	0,58
KSj 11	Kartoffel	QUAB 151	1/0,65	H ₂ O	0,28
KSj 12	Amioca	QUAB 151	1/1,3	H ₂ O	0,30
KSj 13	Weizen	QUAB 151	1/1,3	H ₂ O	0,45
KSj 14	Mais	QUAB 151	1/1,3	H ₂ O	0,45
KSj 15	Kartoffel	QUAB 151	1. St) 1/2 2. St) 1/10	H ₂ O	1,48
KSj 16	Kartoffel	QUAB 151	1/1,5	H ₂ O	0,62
KSj 17	Amioca	QUAB 151	1/3	H ₂ O	0,72

QUAB151[®] = 2,3-Epoxypropyltrimethylammoniumchlorid

QUAB188[®] = 3-Chloro-2-hydroxypropyltrimethylammoniumchlorid

*AGU/Reag = Verhältnis Anhydroglucoseeinheiten / Kationifizierungsreagenz

**errechneter DS aus Verbrennungsanalyse bezogen auf den Stickstoffgehalt

EtOH = Ethanol

St = Stufe

MeOH = Methanol

H₂O = Wasser

Die Bestimmung des DS kann mittels NMR oder über den aus der Elementaranalyse bestimmten Stickstoffgehalt erfolgen.

4.3.2.1 Bestimmung des DS mittels ^{13}C -NMR

Am Beispiel einiger Proben wurden breitbandenkoppelte ^{13}C -Spektren (^{13}C -BB) mittels der „inverse gated decoupling“ (IGATED)-Methode aufgenommen. Die Messungen wurden in Deuteriumoxid (D_2O) mit dem Natriumsalz der Trimethylsilylpropionsäure- d_4 (TMSP) als internem Standard aufgenommen. Die Proben wurden vor den NMR-Messungen in Hinblick auf eine Molmassenreduzierung mit Ultraschall behandelt, um ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis durch Signalüberlagerung zu minimieren. Zum Teil besitzen die Stärken hohe Viskositätsergiebigkeiten, was zu langen Relaxationszeiten führt^[141]. Deshalb ist bei Polysacchariden ein Ultraschallabbau für NMR-Messungen Voraussetzung. Die HPMa-Stärken wurden in destilliertem Wasser gelöst und 120 min gepulst mit einer Ultraschallsonde abgebaut.

Die DS-Bestimmung erfolgte über die ^{13}C -Spektren^[22]. Dabei wurde das Integral des Peaks von C-1 auf 1 gesetzt, da der Peak von einem einzelnen C-Atom herrührt. Danach wurde das Integral vom C-10 durch 3 dividiert, da dieses von drei C-Atomen herrührt. In Tab. 16 sind die Peaks den entsprechenden C-Atomen zugeordnet. In Abb. 49 ist exemplarisch ein ^{13}C -Spektrum von KSj 1 angegeben. In Tab. 17 in Kap. 4.3.2.2 sind die ermittelten DS-Werte aufgelistet.

Tab. 16: Zuordnung der Peaks aus den ^{13}C -Spektren in ppm

Probe	C-10	C-6	C-8	C-9	C-7	C-2,3,4,5	C-2s	C-1s	C-1
KSj 1	57,0	63,2	67,7	70,7	74,0	74,3 - 79,5	82,8	99,3	102,3
KSj 2	57,4	63,4	68,2	71,0	74,0	75,9 – 79,0	83,3	99,4	102,7
KSj 3	57,6	63,7	68,5	71,3	74,3	76,2 – 79,3	83,6	99,8	102,7
KSj 5	57,1	63,0	67,9	70,6	73,7	75,5 – 79,9	83,0	99,1	102,2
KSj 6	57,3	63,5	68,2	71,0	74,0	76,1 – 79,1	83,6	99,4	102,5
KSj 9	57,0	63,1	67,9	70,6	73,9	75,5 – 79,6	83,1	98,7	101,6

Generell gibt es nur geringe Abweichungen in der Lage der Peaks bei den einzelnen Proben. C-1s zeigt deutlich eine Hochfeldverschiebung gegenüber C-1 um ca. 3,1 ppm. Die substituierten C-Atome C-2s zeigen eine chemische Verschiebung von 82,8 ppm. Weiterhin erscheinen die Signale 74,0, 67,9 und 70,8 ppm für C-7, C-8 und C-9. Das charakteristische

141) W.-M. Kulicke, M. Otto, A. Baar, *Macrol. Chem.*, **194**, (1993), 751-765

22) V. Haack, T. Heinze, G. Oelmeyer, W.-M. Kulicke, *Macromol. Mat. Eng.*, **287**, (2002), 495-502

Signal der $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$ -Gruppe hat einer chemische Verschiebung von bei 57,1 ppm. Die Signale der Hauptkette C-2 bis C-5 weisen eine chemische Verschiebung von 75 bis 80 ppm auf.

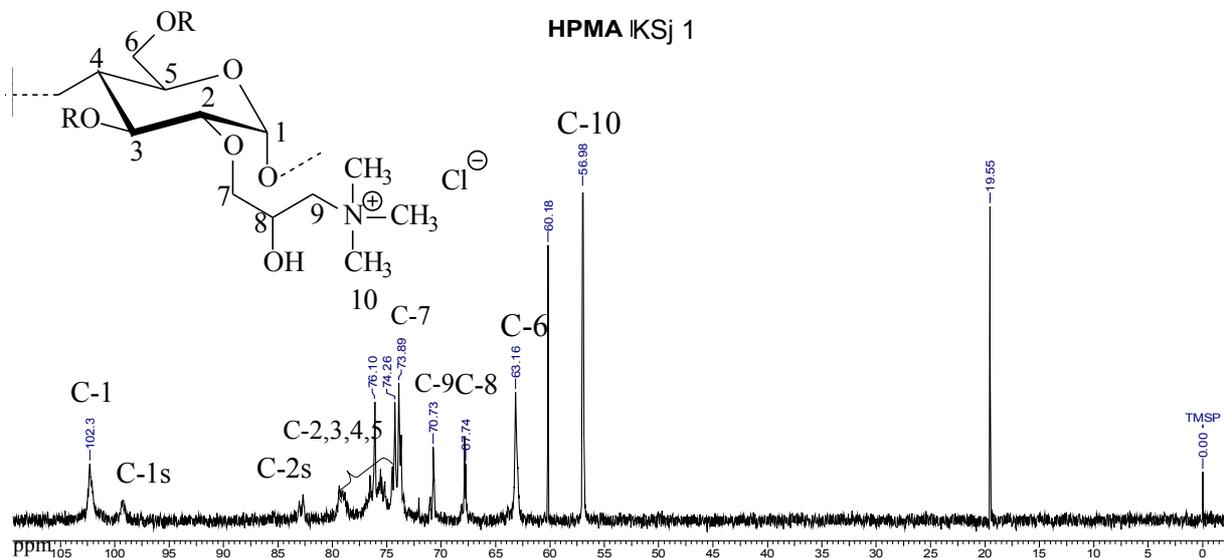


Abb. 49: ^{13}C -NMR Spektrum der Probe KSj 1, breitbandenkoppelt (IGATED)

4.3.2.2 Elementaranalyse

In der Elementaranalyse wurden der Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff mit einem Vario EL III, Erba 1108 bestimmt. Da die Trimethylammoniumgruppe ein Stickstoffatom aufweist, kann man aus dem Stickstoffgehalt den DS nach Gleichung 67 berechnen^[22].

$$DS_N = \frac{162,15 \cdot \%N}{1401 - 151,64 \cdot \%N} \quad (\text{Gl. 67})$$

N = Stickstoffgehalt

In Tab. 17 sind die mittels Elementaranalyse berechneten Werte im Vergleich zu denen aus den NMR-Messungen ermittelten Werten eingetragen. Es fällt auf, dass die Werte etwas voneinander abweichen. Die DS-Bestimmung mittels Elementaranalyse ist die genauere Methode, da bei NMR aufgrund von schlechten Signal-Rausch-Verhältnissen die Auswertung der Peaks mit Fehlern behaftet ist. Für die restlichen Proben sind in Tab. 18 in Kap. 3.4.3 die

22) V. Haack, T. Heinze, G. Oelmeyer, W.-M. Kulicke, *Macromol. Mat. Eng.*, **287**, (2002), 495-502

DS-Werte aufgelistet.

Tab. 17: DS-Werte am Beispiel von 6 kationischen Stärken ermittelt durch NMR und Elementaranalyse

Probe	DS (CHN-Analyse)	DS (¹³ C-NMR)
KSj 1	0,29	0,35
KSj 2	0,96	1,24
KSj 3	0,60	0,87
KSj 5	0,75	1,32
KSj 6	0,55	0,71
KSj 9	1,54	3,00

Die DS der HPMA-Stärken liegen im Bereich von 0,29 bis 1,54. Die HPMA-Stärkeproben anderen Ursprungs liegen im Bereich DS = 0,45 bis 0,60 (Weizen), DS = 0,45 bis 0,99 (Mais), DS = 0,30 bis 0,72 (Amioca) und DS = 0,58 für Hylon VII. Die in Tab. 18 aufgelisteten DS-Werte wurden mittels Elementaranalyse bestimmt.

4.3.3 Polyelektrolyttitration zur Ermittlung des Ladungsgehalts

Bei der Polyelektrolyttitration wurde den HPMA-Stärken eine Maßlösung, die einen entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten (Natrium-Polyethylsulfonat) bekannter Ladungsdichte enthält, so lange zugegeben, bis die Ladungen der Proben vollständig neutralisiert waren. Der Endpunkt der Titration entspricht dem Ladungsneutralpunkt, bei dem das Strömungspotential den Wert Null erreicht hat ($U = 0$). Aus dem entsprechenden Verbrauch der Maßlösung wurde nach Gleichung 56 in Kap. 3.9 die Ladungsdichte der Probe berechnet^[132].

Die in Tab. 18 aufgelisteten Werte für die Ladungsmengen reichen von $1,40 \cdot 10^{-3}$ eq/g bis $5,31 \cdot 10^{-3}$ eq/g. Die Werte können nicht immer mit den DS korreliert werden. Für KSj 9 ist keine Ladungsmenge bestimmt worden, da nicht ausreichend Substanz vorlag. Die Korrelation trifft nur bei den Proben KSj 2, KSj 7, KSj 1, KSj 11, KSj 12 und KSj 15 zu.

132) Bedienungsanleitung zum Partikelladungsdetektor PCD 03-pH Müttek Analytic GmbH

4.3.4 Ermittlung der Staudinger-Indices

Zunächst wurde mit Hilfe der Viskosimetrie untersucht, ob das für nachfolgende Lichtstreuuntersuchungen verwendete Lösungsmittel (LS-Lösungsmittel) einen ausreichend hohen Ionengehalt zur Unterdrückung des Polyelektrolyteffekts besitzt. Der Polyelektrolyteffekt tritt immer dann auf, wenn in einer Polyelektrolyt-Lösung nicht ausreichend Gegenionen vorhanden sind. Die fehlenden Gegenionen bewirken eine Aufweitung der Polymerknäuel, die durch Abstoßungskräfte gleichnamiger Ladungen hervorgerufen wird. Ein zu hoher Ionengehalt ist ebenfalls kontraproduktiv, da dieser eine Polymerknäuelkontraktion hervorruft.

Abb. 50 zeigt die Auftragung viskosimetrischer Messungen von KSj 4 bei variierenden Salzgehalten von 0,05 M, 0,1 M und 0,5 M NaNO_3 . Die Menge an NaN_3 wurde konstant gehalten.

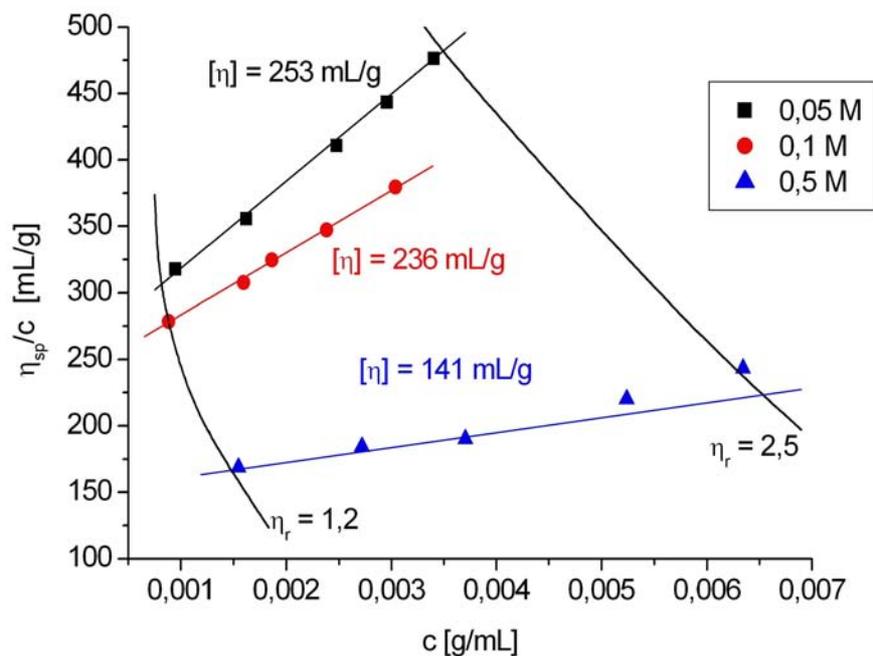


Abb. 50: Auftragung viskosimetrischer Messungen von KSj 4 in unterschiedlichen Salzkonzentrationen von NaNO_3 bei 25°C

Für 0,05 M wurde ein $[\eta]$ von 253 mL/g, für 0,1 M 236 mL/g und für 0,5 M 141 mL/g ermittelt. Bei allen NaNO_3 -Konzentrationen tritt kein Polyelektrolyteffekt auf (Tritt ein Polyelektrolyteffekt auf, so würden die Messpunkte bei höheren Konzentrationen stark von der Regressionsgeraden abweichen). Der $[\eta]$ bei 0,5 M ist geringer als bei 0,05 M und 0,1 M. Das

lässt sich damit erklären, dass das Überangebot an Ionen zu einer Verkleinerung des Knäuelvolumens aufgrund von anziehenden Wechselwirkungen zwischen den Ladungen führt.

In Abb. 51 sind die viskosimetrischen Verdünnungsreihen an einigen ausgewählten Kartoffelstärken mit unterschiedlichem DS aufgetragen. Abb. 52 zeigt die Verdünnungsreihen einiger ausgewählter HPMA-Stärken aus unterschiedlichen Stärkequellen mit variierenden DS für die in Tab. 18 die Werte für $[\eta]$ eingetragen sind. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden in Abb. 51 und Abb. 52 nur einige aussagekräftige Messreihen exemplarisch aufgetragen.

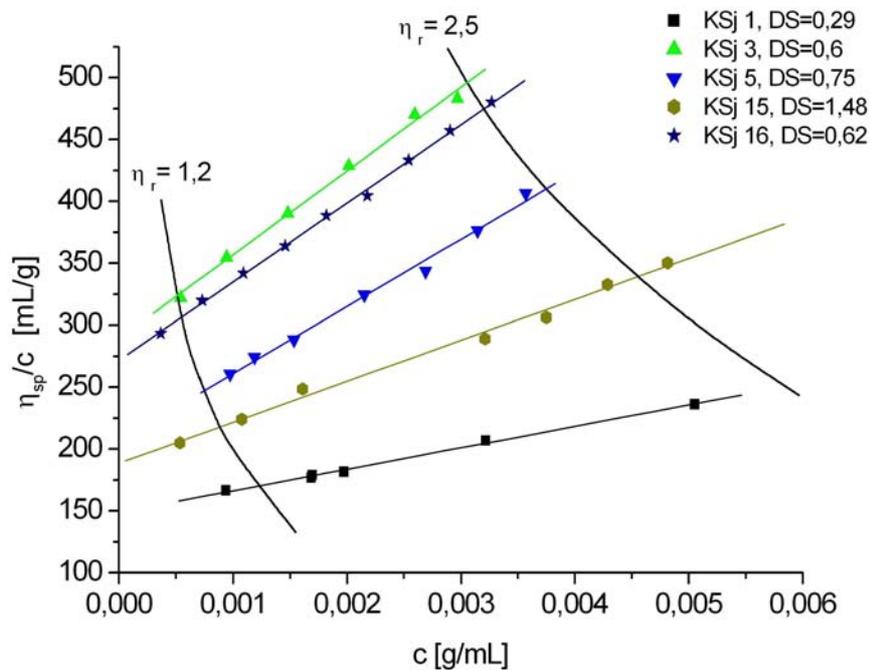


Abb. 51: Viskosimetrische Messungen einiger HPMA-Stärken auf Kartoffelstärkebasis zur Ermittlung des Staudinger-Index $[\eta]$ bei unterschiedlichem DS, in LS-Lösungsmittel, 25°C

Tab. 18: Trockengehalte, DS-Werte, Staudinger-Indices und Stärkequelle für alle untersuchten HPMA-Stärken

Probe	Stärke	TR [%]	DS	Ladungsmenge [eq/g]	$[\eta]$ [mL/g]
KSj 1	Kartoffel	93,8	0,29	$1,40 \cdot 10^{-3}$	149
KSj 2	Kartoffel	91,9	0,95	$2,92 \cdot 10^{-3}$	260
KSj 3	Kartoffel	92,8	0,62	$2,45 \cdot 10^{-3}$	288
KSj 4	Mais	93,3	0,51	$2,00 \cdot 10^{-3}$	236
KSj 5	Kartoffel	93,4	0,75	$1,87 \cdot 10^{-3}$	207
KSj 6	Kartoffel	91,1	0,55	$1,69 \cdot 10^{-3}$	187
KSj 7	Mais	92,4	0,99	$3,44 \cdot 10^{-3}$	178
KSj 8	Weizen	91,7	0,57	$2,62 \cdot 10^{-3}$	163
KSj 9	Kartoffel	86,7	1,54	n.b.	220
KSj 10	Hylon VII	92,1	0,58	$2,63 \cdot 10^{-3}$	144
KSj 11	Kartoffel	95,9	0,28	$1,76 \cdot 10^{-3}$	268
KSj 12	Amioca	94,1	0,30	$1,66 \cdot 10^{-3}$	184
KSj 13	Weizen	92,8	0,45	$2,18 \cdot 10^{-3}$	193
KSj 14	Mais	92,9	0,45	$2,04 \cdot 10^{-3}$	222
KSj 15	Kartoffel	96,1	1,48	$5,31 \cdot 10^{-3}$	196
KSj 16	Kartoffel	92,2	0,62	$2,87 \cdot 10^{-3}$	272
KSj 17	Amioca	94,8	0,72	$2,78 \cdot 10^{-3}$	175

n.b. = nicht bestimmt

Die Werte der Staudinger-Indices rangieren von 144 mL/g für KSj 10 bis 288 mL/g für KSj 3. Der DS lässt sich nicht mit dem $[\eta]$ korrelieren, was auf den variierenden Amylosegehalt zurückzuführen sein kann. Die Mehrheit der $[\eta]$ von den HPMA-Stärken liegt zwischen 170 mL/g und 230 mL/g. Die Trockengehalte reichen von 86,7% für KSj 9 bis 96,1 % für KSj 15.

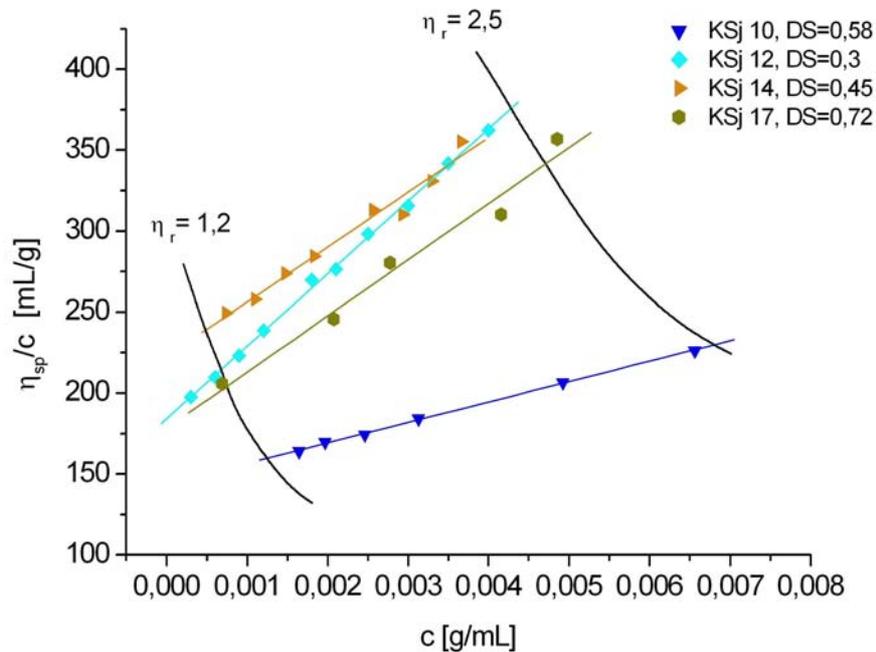


Abb. 52: Verdünnungsreihen einiger HPMA-Stärken hergestellt aus Mais-, Weizen, Amioca- und Hylon VII- Stärke zur Ermittlung des Staudinger-Index $[\eta]$ bei unterschiedlichem DS

4.3.5 Bestimmung der M_w und R_G mittels aFFFF/MALLS/DRI

Zur Bestimmung der gewichtsmittleren Molmassen (M_w) und der Gyrationradien (R_G) wurden die HPMA-Stärken mit einer gekoppelten Anlage, zusammengesetzt aus einer asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF), Lichtstreuophotometer (MALLS) und Konzentrationsdetektor (DRI), bei Raumtemperatur (RT) im LS-Lösungsmittel vermessen. Größenausschlusschromatographie (SEC) wurde für diese Proben nicht angewandt, da die Säulen für den Molmassenbereich nicht ausgelegt sind. Eine Literaturrecherche hat ergeben^{[142],[143]}, dass sich bei der SEC-Charakterisierung von nativer und derivatisierter Stärke die Hochleistungsgrößenausschlusschromatographie (HPSEC) durchgesetzt hat.

Für die Charakterisierung von nativer Stärke unterschiedlichen Ursprungs sowie ihren Derivate ist in der Literatur kein einheitliches Lösungsmittel angegeben. Viele Forschungsgruppen

142) S. Radosta, W. Vorweg, A. Ebert, A. Haji Begli, D. Grülç, M. Wastyn, Starch/Stärke **56**, (2004), 277–287

143) M. L. Fishman, L. Rodriguez, H. K. Chau, J. Agri. Food Chem., **44**, (1996), 3182-3188

arbeiten mit reinem Dimethylsulfoxid oder mit Gemischen^[144], denen teilweise Salze^[10], aber auch Kaliumhydroxid^[145] zugesetzt wurden.

Nachfolgend werden die Elutionsdiagramme der Abb. 53 - 57 verschiedener Stärkequellen diskutiert. Anhand des Elutionsdiagramms lässt sich eine Aussage über die Homogenität der Probe treffen. Bei monomodalen Peaks kann man von reinen, einheitlichen Proben ausgehen. Bei Bi- oder Multimodalitäten gibt es mehrere Gründe, die zwei oder mehrere Peaks bzw. Schultern im Signal hervorrufen können. Entweder treten Multimodalitäten im Speziellen bei technischen Proben durch Abmischen zweier Chargen oder Fraktionen auf, wodurch z.B. ein separater nicht basisliniengetrennter Peak auftritt, oder die Anwesenheit von Aggregaten oder Überladungseffekte sind die Ursache. Das spiegelt sich in Form von Schultern oder sehr kleinen Peaks wider.

Aufgetragen sind die Detektorsignale (Ordinate) gegen das Elutionsvolumen in mL (Abzisse). Das Detektorsignal wird automatisch von der Software ASTRA[®] normiert. Die Berechnungen wurden mit einem dn/dc von $0,147$ ^[146] durchgeführt. Für die Messungen wurden PES-Membrane verwendet. Alle Messungen wurden nach Berry ausgewertet.

Abb. 53 zeigt das Elutionsdiagramm für KSj 10, welche aus Hylon VII synthetisiert wurde. Die Auswertung ergab eine M_w von $1,8 \cdot 10^7$ g/mol, einen R_G von 110 nm und eine Wiederfindungsrate (WR) von 59 % bei einem Flussverhältnis von 0,67 (Kanalfluss \dot{V}_z (1 mL/min) zu Querfluss \dot{V}_x (1,5 mL/min)). Diese mäßige WR lässt sich dadurch erklären, dass am Anfang und am Ende des Peaks einige Probenfraktionen nicht durch beide Detektoren erfasst werden und somit nicht in die Auswertung mit eingehen. Das RI-Signal, welches vom Void-Peak bis zum Beginn des Peaks an nicht mehr auf Basislinienniveau absinkt, deutet einen höheren Anteil an niedermolekularen Fraktionen an, die nur eine geringe LS-Intensität erzeugen. Auf der rechten Seite des Peaks liegt der umgekehrte Fall vor. Das RI-Signal verläuft unterhalb des LS-Signals. Das bedeutet, dass eine geringe Konzentration von hochmolekularen Fraktionen in der Probe enthalten ist, welche trotzdem ausreichend LS-Intensität liefert, aber vom RI-Detektor aufgrund ihrer geringen Konzentration nicht mehr erfasst wird. Was den niedermolekularen Anteil betrifft, gelangt man an die Detektionsgrenze des LS-Photometers, mit dem hochmolekularen Anteil an die des RI-Detektors^[147]. Die Fraktionen, die die oben

144) T. Heinze, V. Haack, S. Rensing, *Starch/Stärke*, **56**, (2004), 288–296

10) H. J. Cornell, C. J. Rix, S. J. McGrane, *Starch/Stärke*, **54**, (2002), 517-526

145) G. Galinsky, W. Burchard, *Macromolecules*, **28**, (1995), 2363-2370

146) S. Bartsch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 1996

147) B. Wittgren, K.-G. Wahlund, M. Andersson, C. Arvidsson, *J. Polym. Anal. Charact.* **7**, (2002), 19-40

beschriebenen Phänomene hervorrufen, werden zwar in der Konzentration der zu vermessenden Probenlösung mit berücksichtigt, aber nicht detektiert. Eine Konzentrationserhöhung zur Steigerung der Signalintensität schafft nur dann Abhilfe, wenn dadurch der Kanal nicht überladen wird, was bei hochmolekularen Substanzen schnell passieren kann. Ferner wird zum Teil auch Adsorption aufgrund des höheren Querflusses aufgetreten sein.

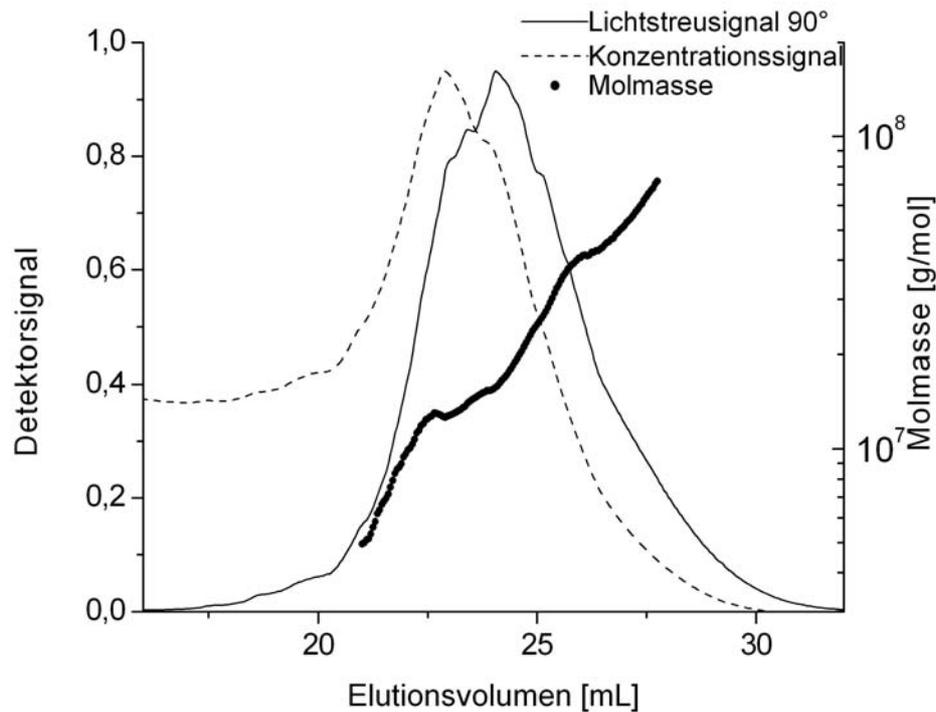


Abb. 53: Elutionsdiagramm von KSj 10 LS- und RI-Signal in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1,5 \text{ mL/min}$

In Tab. 19 sind für alle charakterisierten HPMA-Stärken die entsprechenden M_w , die R_G und die WR aufgelistet (Die WR stellt ein Maß für die Güte der Messung dar). Die Berechnung ist in Kap. 4.1 näher erläutert. Obwohl KSj 12, KSj 14 und KSj 17 eine WR von 100 % liefern, heißt das nicht automatisch, dass die Messung optimal verlaufen ist. Ein breiter Konzentrationspeak kann das Ergebnis verzerren.

Die Molmassen rangieren vom $1,8 \cdot 10^7$ bis $6,9 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$ und die Gyrationenradien von 110 bis 181 nm. Die Probe mit der niedrigsten Molmasse hat zwar den kleinsten R_G , aber eine generelle Korrelation zwischen der Größe der M_w , des R_G und des $[\eta]$ kann nicht vorgenommen werden. Was den R_G betrifft, so kann man die Abweichung auf die Bestimmung (Berry-Plot, Abb. 22 in Kap. 3.5.5) zurückführen. Im Berry-Plot werden die einzelnen Winkel gegen die Streuintensität aufgetragen, wobei R_G aus der Steigung der Regressionsgerade ermittelt wird.

Weichen einige der aufgetragenen Winkel mit entsprechender Streuintensität von der Regressionsgeraden ab, so verändert sich die Steigung und damit der R_G .

Tab. 19: Auflistung der Lichtstreudaten aller untersuchter kationischer Stärken und der berechneten kritischen Konzentrationen

Probe	Stärke	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]	c_{η}^* [%]	c_{LS}^* [%]	c_{η}^*/c_{LS}^*
KSj 1	Kartoffel	$3,1 \cdot 10^7$	132	52	1,68	0,180	9,30
KSj 2	Kartoffel	$4,6 \cdot 10^7$	144	80	0,961	0,176	5,47
KSj 3	Kartoffel	$6,9 \cdot 10^7$	181	64	0,868	0,103	8,45
KSj 4	Mais	$4,9 \cdot 10^7$	170	57	1,06	0,125	8,49
KSj 5	Kartoffel	$4,8 \cdot 10^7$	173	66	1,21	0,122	9,90
KSj 6	Kartoffel	$4,3 \cdot 10^7$	178	38	1,34	0,099	13,5
KSj 7	Mais	$3,8 \cdot 10^7$	149	66	1,40	0,129	10,9
KSj 8	Weizen	$3,3 \cdot 10^7$	140	62	1,53	0,158	9,72
KSj 9	Kartoffel	$4,3 \cdot 10^7$	124	44	1,14	0,295	3,85
KSj 10	Hylon VII	$1,8 \cdot 10^7$	110	59	1,74	0,114	15,2
KSj 11	Kartoffel	$4,9 \cdot 10^7$	157	78	0,943	0,203	4,64
KSj 12	Amioca	$4,2 \cdot 10^7$	155	100	1,36	0,146	9,32
KSj 13	Weizen	$4,4 \cdot 10^7$	143	76	1,30	0,195	6,66
KSj 14	Mais	$5,6 \cdot 10^7$	161	100	1,13	0,215	5,25
KSj 15	Kartoffel	$4,4 \cdot 10^7$	142	94	1,28	0,308	4,13
KSj 16	Kartoffel	$6,7 \cdot 10^7$	178	87	0,919	0,159	5,79
KSj 17	Amioca	$6,6 \cdot 10^7$	139	100	1,43	0,184	7,76

Abb. 54 zeigt das Elutionsdiagramm von KSj 13, die aus Weizenstärke hergestellt wurde. Die Messung ergab eine M_w von $4,4 \cdot 10^7$ g/mol, einen R_G von 143 nm mit einer WR von 76 % bei einem Flussverhältnis von 1,25 ($\dot{V}_z = 1,25$ mL/min zu $\dot{V}_x = 1$ mL/min). Aufgrund eines Flussverhältnisses größer 1 eluiert die Probe etwas schneller als KSj 10. Solche Flussverhältnisse bereiten dann Schwierigkeiten, wenn die Probe einen höheren niedermolekularen Anteil besitzt, wie es bei KSj 13 der Fall ist. Das lässt sich am Maximum des RI-Signals bei 8,5 mL ablesen. An dieser Stelle zeigt das LS-Signal eine Schulter. Dort, wo das LS-Signal sein Maximum hat, zeigt das RI-Signal eine Schulter. Im Vergleich zu Abb. 53 fällt auf, dass das Signal verrauscht ist, was auf Adsorptionsprozesse hindeutet. Die Messung von KSj 13 mit einem Flussverhältnis wie bei KSj 10 liefert ein ähnliches Aussehen des

Elutionsdiagramms, aber die Signale sind dennoch verrauscht. Es wurden unterschiedliche Flussprofile mit der Erkenntnis, dass das Signalrauschen unabhängig von den Flüssen ist, ausgetestet. Das gilt auch für die nachfolgenden Proben, wobei das Rauschen manchmal stärker und manchmal schwächer ist. Dies lässt sich damit erklären, dass manche HPMA-Stärken eine stärkere und manche eine schwächere Adsorptionstendenz zeigen.

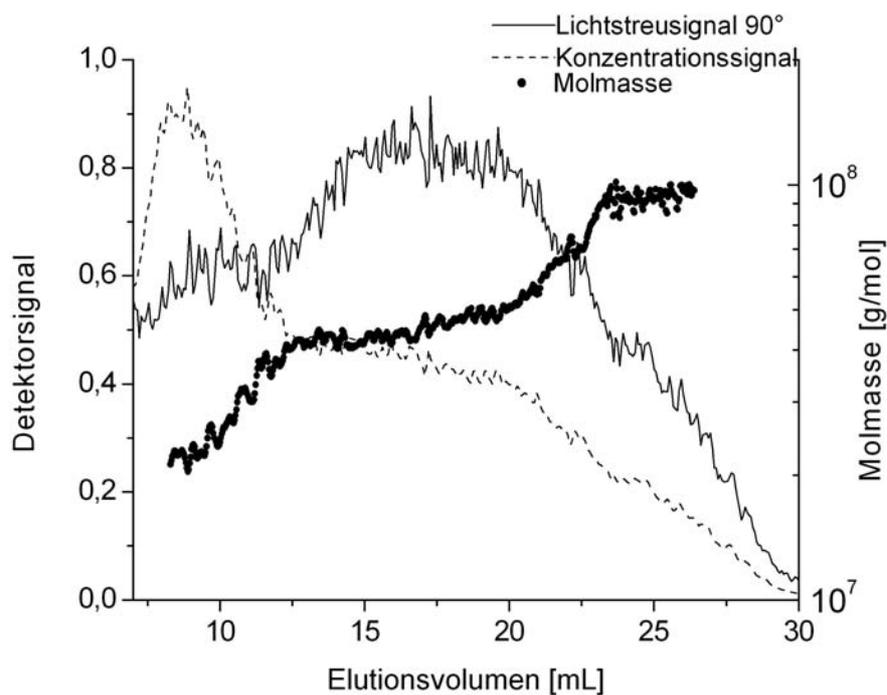


Abb. 54: Elutionsdiagramm von KSj 13 LS- und RI-Signal in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1,25 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1 \text{ mL/min}$

Der Molmassenverlauf weist Abschnitte variierender Steigungen auf. Das lässt sich darauf zurückzuführen, dass die einzelnen Molekülfraktionen unterschiedlich mit dem Querfluss wechselwirken.

Das Ergebnis der Messung von KSj 14, die aus Maisstärke synthetisiert wurde, ist in Abb. 55 dargestellt. Die Auswertung ergab eine M_w von $5,6 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$, einen R_G von 161 nm und eine WR von 100 % bei einem Flussverhältnis von 0,87 ($\dot{V}_z = 1,3 \text{ mL/min}$ zu $\dot{V}_x = 1,5 \text{ mL/min}$). Das Elutionsdiagramm von KSj 14 gleicht dem Erscheinungsbild von KSj 13, obwohl für die Messung ein kleineres Flussverhältnis gewählt wurde. Die Lage der Maxima und Schultern von LS- und RI-Signal sind vergleichbar. Die verschiedenen starken Wechselwirkungen zwischen Querfluss und Molekülfraktionen sind bei dieser Messung ebenfalls gegeben.

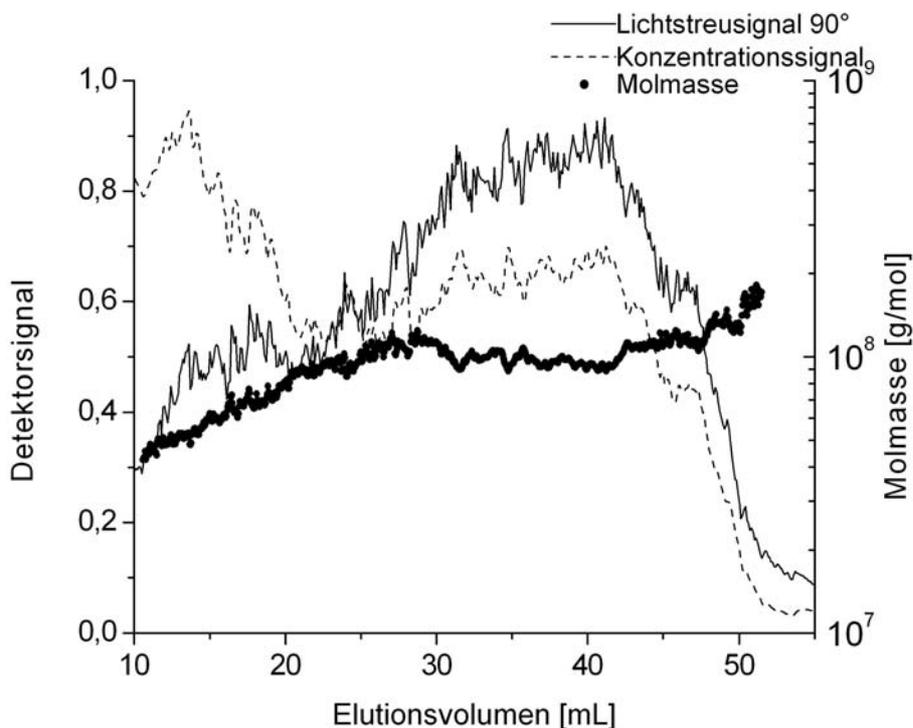


Abb. 55: Elutionsdiagramm von KSj 14 LS- und RI-Signal in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1,3 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1,5 \text{ mL/min}$

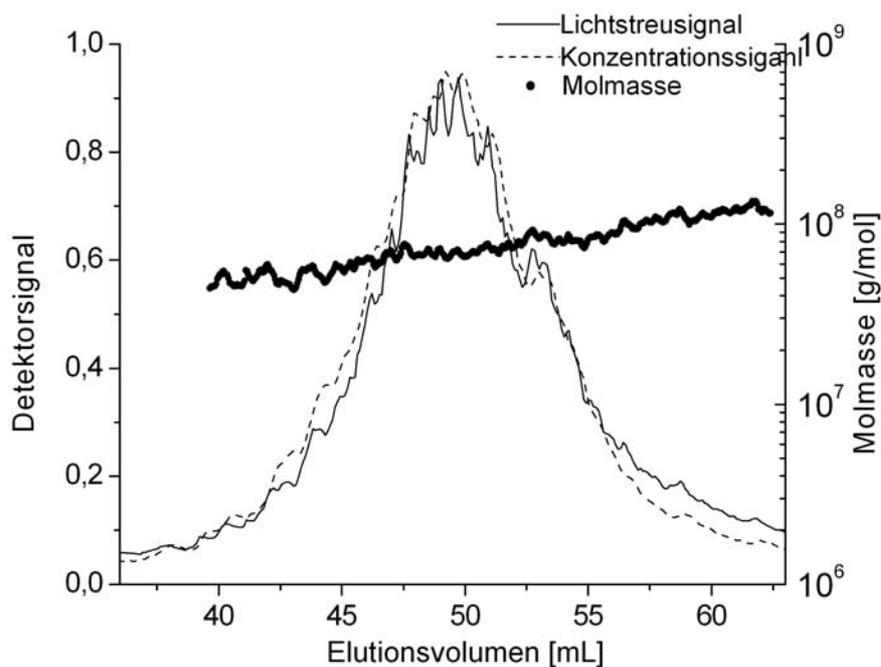


Abb. 56: Elutionsdiagramm von KSj 15 LS- und RI-Signal in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1,3 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1,5 \text{ mL/min}$

Abb. 56 zeigt das Elutionsdiagramm von KSj 15, die aus Kartoffelstärke hergestellt wurde. Die Messung ergab eine M_w von $4,4 \cdot 10^7$ g/mol, einen R_G von 142 nm mit einer WR von 94 % bei einem Flussverhältnis von 0,87 ($\dot{V}_z = 1,3$ mL/min zu $\dot{V}_x = 1,5$ mL/min). LS- und RI-Signal zeigen wie KSj 10 einen monomodalen Peak im Gegensatz zu KSj 13 und KSj 14. Obwohl für diese Messung das gleiche Flussprofil wie für KSj 14 verwendet wurde, sieht das Elutionsdiagramm anders aus, zudem eluiert KSj 15 etwas später als KSj 14. Bei einem Flussverhältnis von 1 würde das Elutionsdiagramm dem von KSj 13 und KSj 14 ähneln.

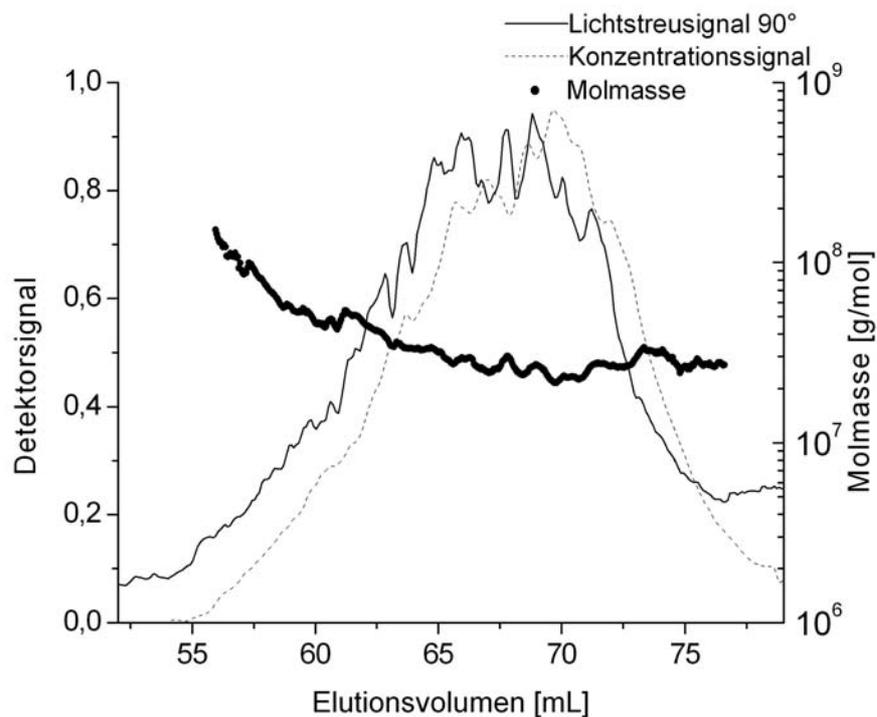


Abb. 57: Elutionsdiagramm von KSj 17 LS- und RI-Signal in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1$ mL/min, $\dot{V}_x = 1$ mL/min

Abb. 57 zeigt für die aus Amioca synthetisierte Probe KSj 17 das Elutionsdiagramm. Die Auswertung der Messung lieferte eine M_w von $6,6 \cdot 10^7$ g/mol, einen R_G von 139 nm und eine WR von 80 % bei einem Flussverhältnis von 1 ($\dot{V}_z = 1$ mL/min zu $\dot{V}_x = 1$ mL/min). Beide Signale zeigen wie KSj 10 und KSj 15 einen monomodalen Elutionsverlauf. Im Vergleich zu den vorherigen Messungen liegt hier ein inverser Molmassenverlauf vor. Bei allen durchgeführten Messungen für KSj 17 ist ein inverser Molmassenverlauf aufgetreten. Hier lag während des Elution nicht der normale Elutionsmodus vor, sondern einer, der dem sterischen Elutionsmodus ähnelt, bei dem die großen Moleküle vor den kleineren eluieren.

Zur Darstellung der Molmassenverteilung gibt es zwei Varianten, zum einen die differentielle und zum anderen die kumulative Molmassenverteilung. Mit einer Molmassenverteilung kann man angeben, wie viel Probenanteil eine bestimmte Molmassenfraction besitzt (Gewichtsfraction). Bei der kumulativen Molmassenverteilung kann man leicht den Anteil ausmachen, der kleiner als ein bestimmter Molmassenwert ist. Bei der differentiellen Verteilung ist die Berechnungsgrundlage eine andere (die differentielle Verteilung ergibt sich aus der ersten Ableitung der kumulativen Verteilung), wodurch sich auch die Darstellung von der kumulativen unterscheidet^[138]. In die Berechnung der Verteilung geht die normalisierte Massenkonzentration bei einem bestimmten Elutionsvolumen und die Steigung der Regressionsgerade der Molmasse aus dem Elutionsdiagramm ein. In diesem Fall stimmt die Molmasse (M_{peak}) am höchsten Punkt des Peaks bei der differentiellen Molmassenverteilung mit guter Näherung, mit der M_w überein. Voraussetzung ist hierfür, dass der Molmassenverlauf nicht stark von der Regressionsgerade abweicht.

In Abb. 58 sind die kumulativen und in Abb. 59 die differentiellen Molmassenverteilungen der untersuchten Proben abgebildet. KSj 10, KSj 13 und KSj 14 sind breiter verteilt als KSj 15 und KSj 17.

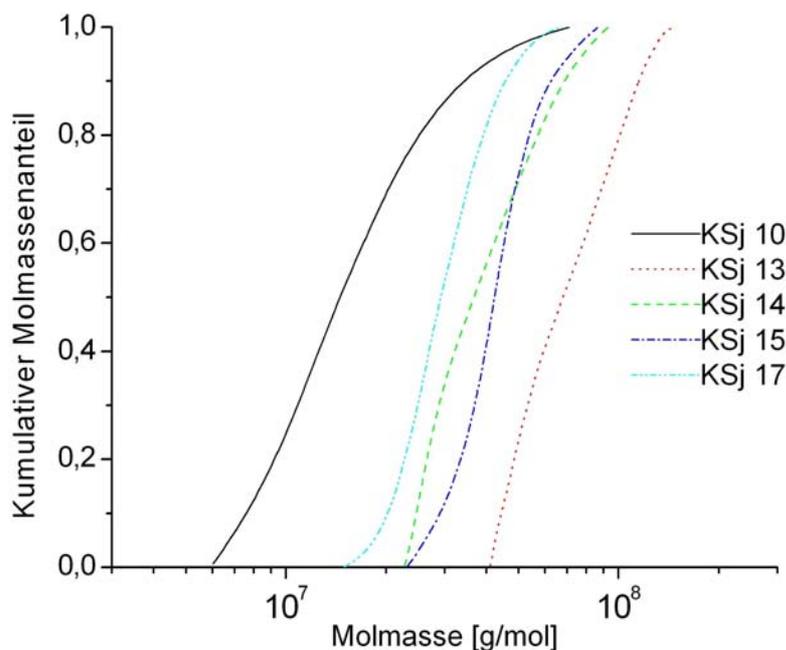


Abb. 58: Kumulative Molmassenverteilungen der HPMA-Stärken unterschiedlicher Stärkequellen

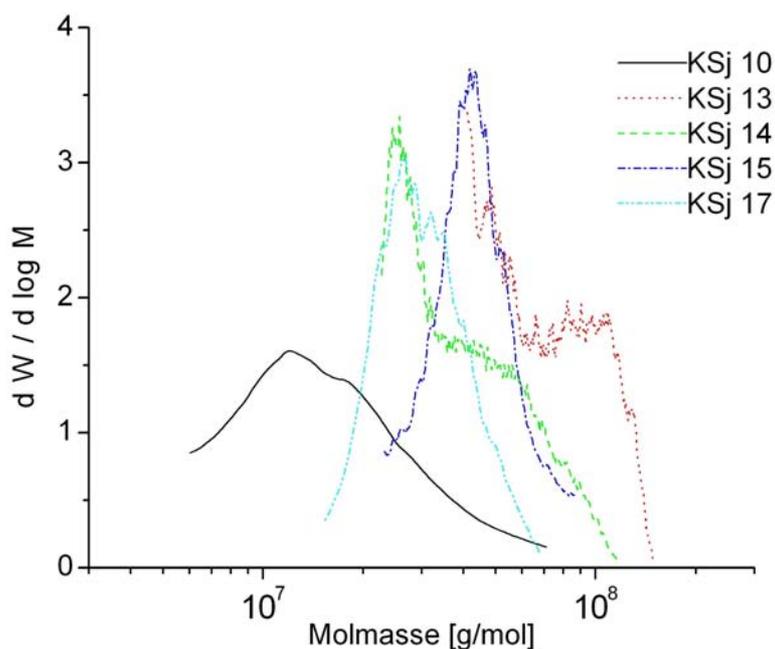


Abb. 59: Differentielle Molmassenverteilungen der HPMA-Stärken unterschiedlicher Stärkequellen

4.3.6 Vergleich der kritischen Konzentrationen

Für Lichtstreuungsmessungen ist die Kenntnis der kritischen Konzentration (c_{LS}^*) wichtig, da bei höheren Konzentrationen der dritte Virialkoeffizient (A_3) bei der Bestimmung der Molmasse zu berücksichtigen ist. In einer verdünnten Lösung liegen die Polymermoleküle als Einzelmoleküle vor^[148], wohingegen in konzentrierten Polymerlösungen Wechselwirkungen zwischen den Polymerknäuel auftreten. Dieses Verhalten kann Viskositäts- und Lichtstreuungsmessungen beeinträchtigen. Eine technische Anwendung für Konzentrationen unterhalb von c^* ist nicht bekannt.

In Tab. 19 (Kap. 4.3.5) sind die entsprechenden Werte angegeben. Es sind Werte für c_{LS}^* von 0,099 % bis 0,308 %, für c_{η}^* von 0,868 % bis 1,74 % und für das Verhältnis c_{η}^* zu c_{LS}^* von 3,85 bis 15,2 ermittelt worden. Das Verhältnis von c_{η}^* zu c_{LS}^* ist ein Maß für die Abweichung von der modellbasierten Berechnung von c_{η}^* . Einstein ist in seiner Berechnung von starren Glaskugeln (Vollkugel) ausgegangen, die in der Realität von den wenigsten Lösungsstrukturen der Polymere erreicht werden können. Je weiter sich das Verhältnis 1 annähert, desto eher

148) W.-M. Kulicke, C. Clasen, C. Lohmann, Macromol. Symp., **223**, (2005), 151-174

entspricht die Lösungsstruktur einer Kugel. Im Falle von Stärke mit seinen vielen polaren Gruppen entspricht die Lösungsstruktur eher einem undurchdringbaren Knäuel. Die Lösungsstruktur lässt sich mit der Lösungsmittelgüte korrelieren. Je größer das Verhältnis wird, desto schlechter ist die Lösungsmittelgüte für das entsprechende Polymer.

4.3.7 Flockungsmessung

4.3.7.1 Vergleich synthetischer FHM mit kationischer Stärke

Die Flockungsmessungen wurden in der Flockungs- und Entwässerungsapparatur (FEA)^[149] (Abb. 60) vorgenommen, die entwickelt wurde, um den Pressvorgang in Siebbandfilterpressen in der Anlage METHA (mechanische Trennung von Hafenschlick) unter Laborbedingungen zu simulieren. Einer bestimmten Menge Modellrübe, Hafenschlick o.ä. wird eine definierte Konzentration einer Flockungshilfsmittellösung (FHM) zugesetzt (A). Diese Mischung wird 1 min bei 300 U/min konditioniert (B). Danach wird mit 2 bar Druckluft die Suspension über einen Zeitraum von 180 s entwässert (C). Die Masse des Filtrats wird aufgefangen und digital von einem Computer erfasst (D). Aus den Daten wird eine Filtrationskurve erstellt, aus der der Entwässerungsindex berechnet wird.

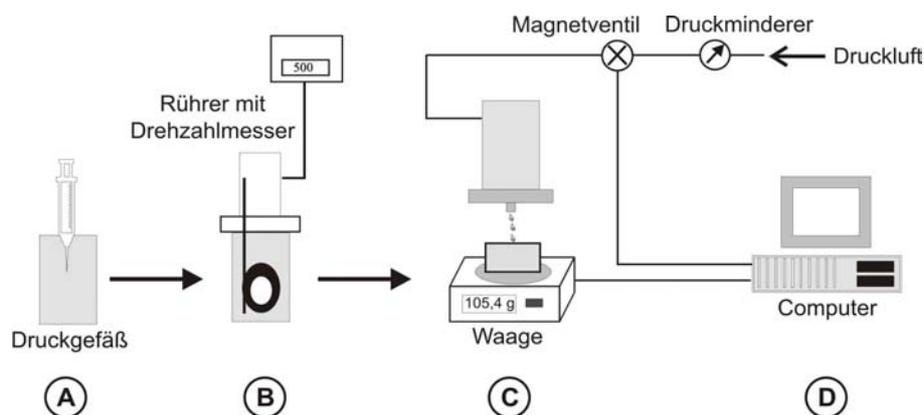


Abb. 60: Schematischer Aufbau der Flockungs- und Entwässerungsapparatur (FEA)

Als Modellrübe wurde Kaolin der Sorte TEC 830 (Amberger Kaolinwerke Eduard Kick GmbH & Co.KG) ausgewählt. Die Modellsuspension wurde als 13,2 Gew-% Suspension von Kaolin TEC 830 in demineralisiertem Wasser angesetzt und der pH-Wert der Suspensionen mittels TRIS-Puffer (Trishydroxymethylaminomethan) auf pH 7,8 eingestellt. Die Modellsuspension

149) W-M Kulicke et al. Deutsches Patent, DE 3.928.463, 1993

wurde anschließend 30 min ultraschallbehandelt.

Im Hinblick auf eine übersichtliche Darstellung der Ergebnisse wurde der Entwässerungsindex (I_E) als dimensionslose Kenngröße zwischen 0 und 100, der sich aus dem Verhältnis des Integrals der Filtrationskurve zur Gesamtfläche des Diagramms (d.h. 100 % Filtratausbeute von $t = 0$ bis $t_{\max} = 180$ s) ergibt (s. Abb. 61), eingeführt. Der Index dient als Parameter zur Beurteilung der Entwässerbarkeit von Suspensionen.

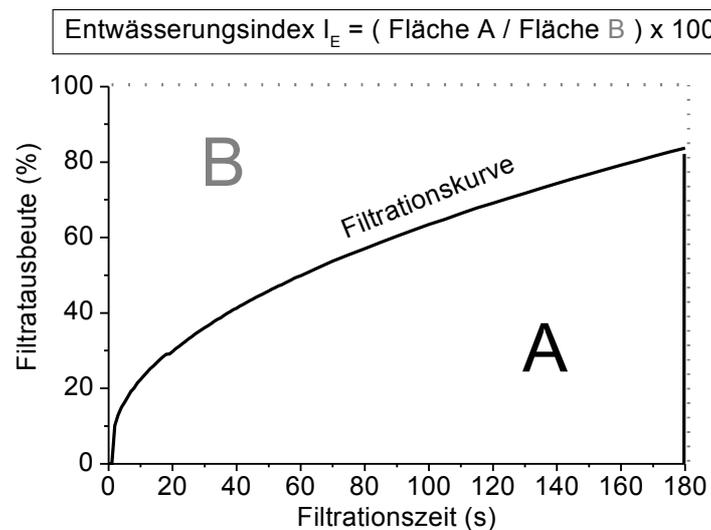


Abb. 61: Filtrationskurve und Entwässerungsindex I_E

Die Kaolinsuspension zeigte ohne Zugabe von Flockungsmittel eine geringe Entwässerbarkeit, der Entwässerungsindex I_E betrug ca. 10. Durch Zugabe des hochmolekularen synthetischen Polykations Poly-diallyldimethylammoniumchlorid (PDADMAC) wurde bei einer Dosierung im Bereich von 2 mg/g (pro Gramm Suspension) einen maximalen I_E von 34 ermittelt (Abb. 62), bei sehr hohen Konzentrationen fiel die Entwässerbarkeit wieder auf $I_E = 10$ ab. Bei Poly-DADMAC trägt jede Monomereinheit eine Ladung. Die M_w beträgt $1,5 \cdot 10^5$ g/mol mit einem nicht bestimmbar R_G und ein $[\eta]$ von 98 mL/g^[15]. Ein weiteres synthetisches Polykation auf Basis von Polyacrylamid, Poly(acrylamid-co-N,N,N,-trimethylammoniummethylchlorid)-acrylamid (PTAC), wurde an der Modellsuspension getestet, bei der ab einer Einsatzkonzentration von 4 mg/g ein I_E von 57 erzielt wurde (Abb. 62). Bei PTAC ist nicht jede Monomereinheit geladen. Die ermittelte M_w liegt bei $5 \cdot 10^6$ g/mol, der R_G bei 136 nm und der $[\eta]$ bei 2028 mL/g^[15]. Die Stärke KSj 3 mit einem DS = 0,60 erforderte für einen $I_E = 38,7$ eine

15) D.-O. Krentz, C. Lohmann, S. Schwarz, S. Bratskaya, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, W.-M. Kulicke, *Starch/Stärke*, **58**, (2006), 161-169

hohe FHM-Konzentration von 7 mg/g.

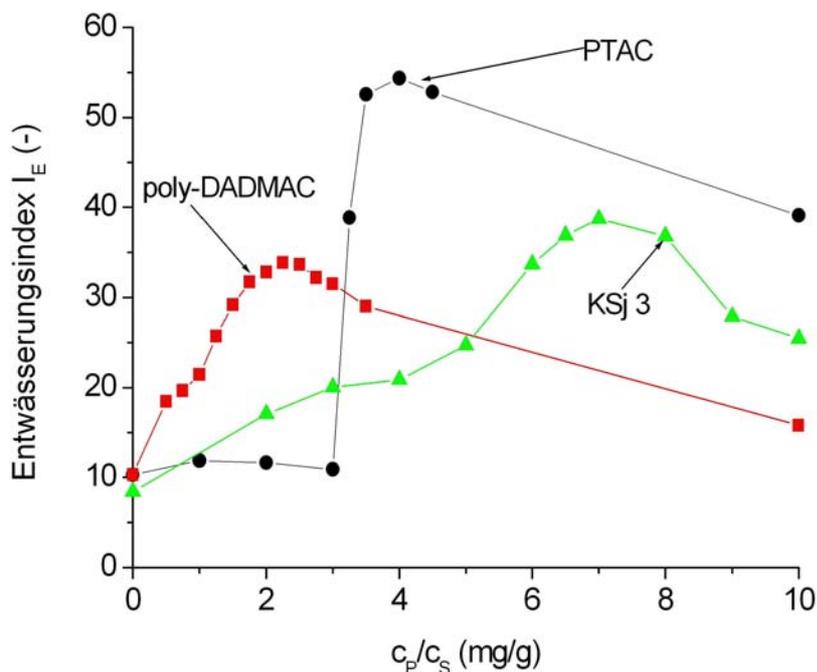


Abb. 62: Entwässerungskurven von PDADMAC, PTAC und KSj 3 an Kaolin TEC 830 (TR: 8,77%)

Eine höhere M_w , ein größerer R_G und $[\eta]$ bei PTAC lieferte einen höheren I_E , wobei allerdings 50 % mehr Substanz gebraucht wurde. Der I_E von der Stärke liegt zwischen dem von PTAC und PDADMAC, aber im Vergleich zu PTAC liegt der Verbrauch um 100 % höher. Um die kationischen Stärken im puncto Verbrauch und Effizienz in Richtung synthetischer Polykationen anzupassen bedarf es noch einiger Optimierungsarbeit bei der Entwicklung. Mögliche Ansatzpunkte sind Ladungsgehalte, Teilchengröße und Molmasse.

4.3.7.2 Vergleich von Kartoffelstärken mit unterschiedlichen DS

In Abb. 63 sind Untersuchungen an HPMA-Stärken auf Kartoffelstärkebasis gezeigt, die über unterschiedliche DS (0,3 bis 1,5) verfügen. Bei diesem Vergleich sollte ermittelt werden, welcher DS die beste Flockungswirkung aufzeigt. Die Auftragung zeigt, dass mit zunehmenden DS die Flockungsmaxima zu geringeren Konzentrationen verschoben werden. KSj 3 mit einem DS = 0,6 erbrachte bei gleicher Konzentration (7 mg/g) eine maximale Entwässerung wie KSj 2 mit einem DS = 0,95 ($I_E = 37,5$) dicht gefolgt von KSj 15 mit einem DS = 1,48 ($I_E =$

37,7) bei einer Konzentration von 6 mg/g. Die geringste Effizienz wies KSj 11 ($I_E = 35,7$) auf, die den geringsten $DS = 0,28$ hatte bei einer Konzentration von 8 mg/g.

Das beste Ergebnis lieferte KSj 3 ($I_E = 38,7$). Molmassen, Teilchengrößen und Staudinger-Indices der vier Proben im Vergleich zeigen, dass KSj 3 von den genannten jeweils die größte Molmasse, die größte Teilchengröße und den größten Staudinger-Index besitzt. Folglich beeinflusst die Größe der Parameter die Flockungseffizienz.

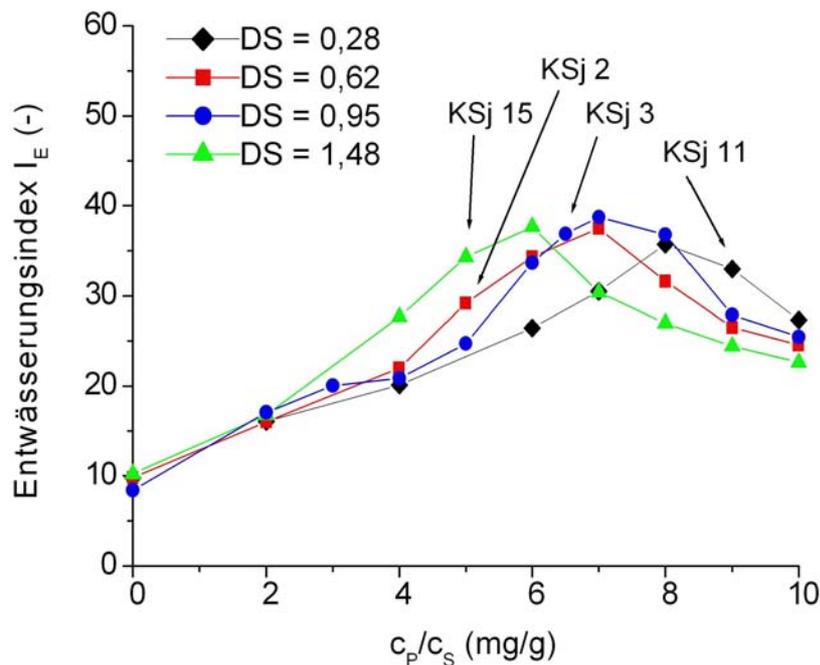


Abb. 63: Entwässerungskurven von Kartoffelstärkederivaten mit unterschiedlichen DS an Kaolin TEC830 (TR: 8,77%)

4.3.7.3 Vergleich von Stärken mit unterschiedlichen Amylose/Amylopektin-Anteilen bei einem DS von ca. 0,6

Für diese Untersuchungen wurden Stärken mit unterschiedlichen Amylose- bzw. Amylopektingehalten ausgewählt. Probe KSj 17 (Amioca) weist mit 99 % Amylopektin den höchsten, KSj 10 (Hylon VII) mit 30 % den geringsten Amylopektinanteil auf. Stärken unterschiedlicher Herkunft zeigen bei vergleichbarer Kationizität ($DS = 0,6$) eine Abhängigkeit vom Amylose/Amylopektin-Verhältnis, was in Abb. 64 gezeigt wird. KSj 10 liefert ein Flockungsmaximum ($I_E = 33,8$) bei 6 mg/g. Bei der Kartoffelstärke (KSj 3) mit 28 % Amylosegehalt liegt das Maximum der Entwässerungskurve ($I_E = 38,7$) bei 7 mg/g, im Fall von

Weizenstärke (KSj 8), 25 % Amylose, mit $I_E = 37,5$ bei 8 mg/g. Bei derselben Konzentration wie bei KSj 3 ergibt sich für KSj 17 nur ein $I_E = 35,8$. Die Maisstärke KSj 4 bedarf einer Konzentration von ebenfalls 8 mg/g ergibt aber nur einen $I_E = 36,9$.

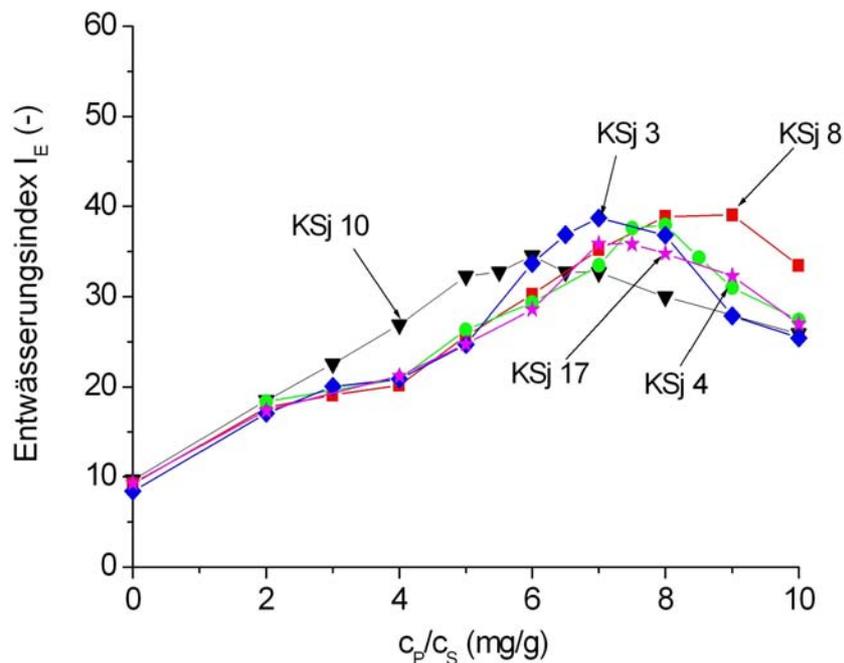


Abb. 64: Entwässerungskurven von HPMA-Stärken unterschiedlicher Herkunft mit $DS = 0,6$ an Kaolin TEC 830 (TR: 8,77%)

Von allen dargestellten Entwässerungskurven liefert die Kartoffelstärke KSj 3 das beste Ergebnis. Obwohl Maisstärke den gleichen Amylosegehalt besitzt wie Kartoffelstärke, sind die Flockungsergebnisse unterschiedlich. Um diesen Sachverhalt zu erklären sollte man die Molmasse und die Teilchengröße in Betracht ziehen. Die M_w und der R_G sind bei KSj 3 größer als bei KSj 4. Aus den Ergebnissen lässt sich folgern, dass FHM auf Stärkebasis eine hohe Molmasse und einen großen R_G für eine effiziente Flockung ausweisen sollten. Zudem liefert ein mittlerer DS ($\geq 0,6$) bessere Flockungsergebnisse als FHM mit niedrigerem DS ($\leq 0,4$).

4.3.8 Probleme bei der Charakterisierung von enzymatisch abgebauten Stärken

Die Forschungsgruppe Prof. Heinze baute native Ausgangsstärken mittels α -Amylase enzymatisch mit verschiedenen Einwirkzeiten von 10, 20, 30, und 60 min ab und führte anschließend die Kationifizierung analog der Proben KSj 1 bis KSj 17 durch. Die Ergebnisse der Viskosimetrie- und der asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung-Messungen (aFFFF) an diesen Proben zeigt Tab. 20. Die nativen Ausgangsstärken konnten auf konventionellem Wege (s. Kap. 4.3), anders als die Proben KSj 1 bis KSj 17, nicht vollständig gelöst werden und eigneten sich daher nicht für viskosimetrische oder andere Untersuchungen. Alle viskosimetrischen und aFFFF-Messungen an den abgebauten Stärken wurden in 0,1 M Natriumnitrat mit 3 mM Natriumazid (LS-Lösungsmittel) bei 25°C durchgeführt.

Tab. 20: Ergebnisse für Trockengehalte, DS, Staudinger-Indices sowie der aFFFF-Messungen für die entsprechend abgebauten Stärken mit Amylase

Probe	TR [%]	DS	Abbauzeit	$[\eta]$ [mL/g]	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]
AbS 1	91,2	0,67	10 min	114	$1,1 \cdot 10^7$	81	61
AbS 2	92,0	0,56	20 min	n.b.	$1,1 \cdot 10^6$	38	77
AbS 3	94,6	ca. 0,6	30 min	42	$6,2 \cdot 10^5$	31	84
AbS 4	91,4	ca. 0,6	60 min	40	$5,5 \cdot 10^5$	45	94

n.b. = nicht bestimmt

In Abb. 20 sind die viskosimetrischen Messungen in einem Diagramm aufgetragen. Die ermittelten Staudinger-Indices $[\eta]$ liegen zwischen 114 mL/g für AbS 1 und 40 mL/g für AbS 4. Die gewichtsmittleren Molmassen (M_w) fallen von $1,10 \cdot 10^7$ g/mol nach 10 min Einwirkzeit für AbS 1 auf $5,45 \cdot 10^5$ g/mol für AbS 4 nach 60 min ab. Die Gyrationradien (R_G) nehmen ebenfalls mit zunehmender Einwirkzeit der α -Amylase ab, mit Ausnahme von AbS 4. Das könnte auf Fehler bei der Auswertung zurückzuführen sein, da die Berechnung von R_G in Bereichen <30 nm mit Fehlern behaftet ist^[85]. In Hinblick auf den Molmassenabbau deuten die Werte auf eine hyperbolische Abnahme hin (s. Abb. 66).

85) S. Mori, H. Barth, Size exclusion chromatography, Springer Verlag, Heidelberg, 1999

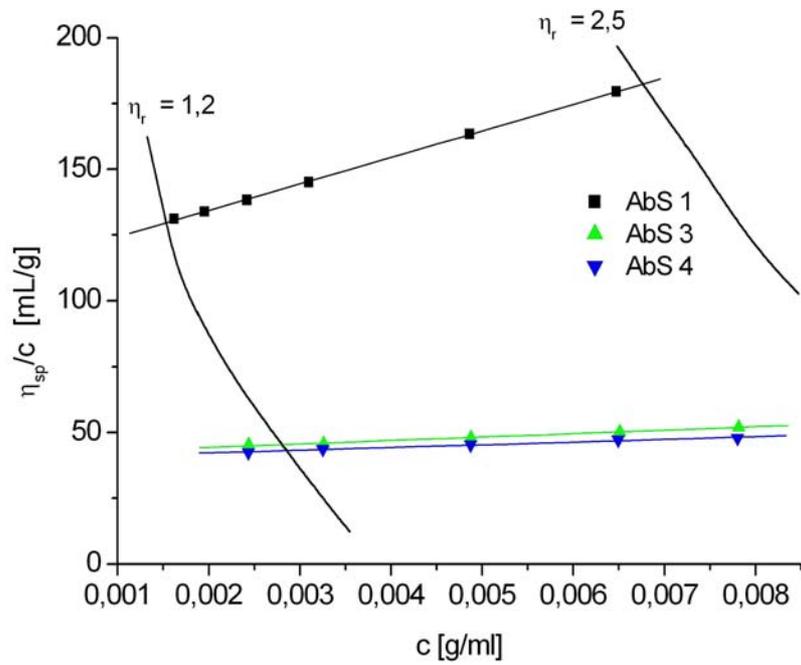


Abb. 65: Abhängigkeit der spezifischen Viskosität von der Polymerkonzentration LS-Lösungsmittel, 25°C

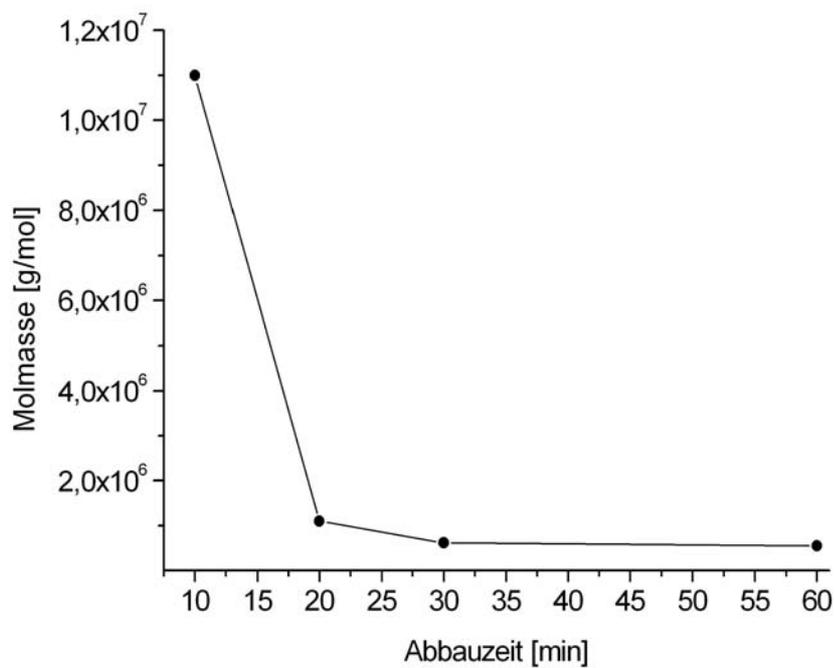


Abb. 66: Auftragung der Abbauezeit gegen die Molmasse der Proben AbS 1 bis AbS 4

Eine Übersicht der Lichtstreuungssignale (LS-Signale) der mit α -Amylase abgebauten Proben ist in Abb. 67 zu sehen. Die Messungen sind mit einem Kanalfluss von 1 mL/min und einem Querfluss von 1,5 mL/min (Flussverhältnis: 0,67) bei Raumtemperatur (RT) aufgenommen worden. Die Auswertung erfolgte wie bei KSj 1 bis KSj 17 mit einem $dn/dc = 0,147^{[146]}$ und nach Berry. Bei den für die Messungen verwendete Membrane handelt es sich um PES-Membrane.

Der LS-Peak von AbS 1 ist erwartungsgemäß zu höheren Elutionsvolumina verschoben im Vergleich zu den anderen abgebauten Stärken. Mit zunehmender Einwirkzeit der α -Amylase verändert sich die linke Peakflanke des LS-Signals. Das Peakmaximum verschiebt sich hin zu niedrigeren Elutionsvolumina. Zudem wird die Peakfläche breiter, was auf den immer größer werdenden Anteil niedermolekularer Fraktionen zurückzuführen ist. Die Form des LS-Peaks für AbS 4 weicht etwas von den anderen ab.

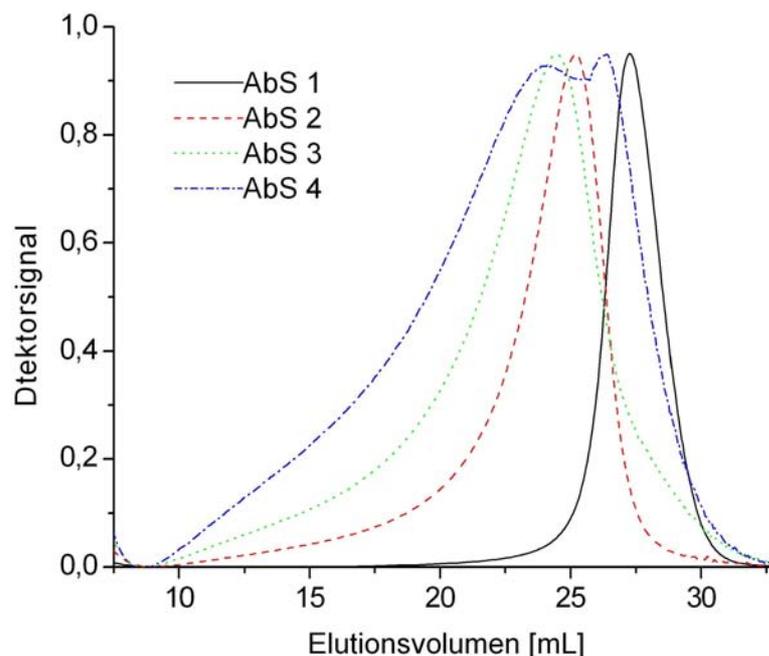


Abb. 67: Übersicht der LS-Signale von AbS 1 bis AbS 4 in LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1,5 \text{ mL/min}$

Laut Referenz^[150] liegt die Molmasse für α -Amylase bei 51 – 54 kDa. Aufgrund der Molmasse wird die α -Amylase nicht über den „molecular weight cut-off“ (MWCO) der Membran (10 kDa) von der Abbaustärke getrennt, sondern eluiert mit den Fraktionen der Abbaustärken.

146) S. Bartsch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1996

150) Fluka Chemikalien-Katalog 2005

Dies führt bei der Auswertung der Messung zu Fehlern, da die α -Amylase nicht als separater basisliniengetrennter Peak auftritt. Die Begründung dafür ist, dass die Molmasse der α -Amylase und die des niedermolekularen Anteils der Abbaustärke zu dicht bei einander liegen, als dass diese bei dem gegebenen Flussprofil getrennt werden können.

Im Gegensatz zu den LS-Peaks zeigen die RI-Signale kein monomodales Verhalten (s. Abb. 68). Im Vergleich zu Abb. 56 in Kap. 4.3.5 fällt hier auf, dass die RI-Signale, nicht aber die LS-Signale, in gleichem Maße nach dem Void-Peak (anlagenbedingter Peak nach dem die Elutionsphase startet) ansteigen. Die erhöhte Anfangsintensität der RI-Signale spiegelt die Anwesenheit der α -Amylase wider. Darüber hinaus fallen die RI-Signale bis zum Peak der LS-Signale nicht wieder auf den Basislinienwert ab. Dadurch wird eine genaue Berechnung von M_w und vom R_G erschwert. An der Form der RI-Signale kann man sehr gut die durch die α -Amylase hervorgerufenen Veränderungen ablesen. Weist das RI-Signal von AbS 2 (gestrichelt) noch zwei Maxima auf, so zeigt das RI-Signal von AbS 3 (gepunktet) das zweite Maximum nicht mehr. Auf der Höhe des zweiten Maximums von AbS 2 (gestrichelt) zeigt das RI-Signal von AbS 3 (gepunktet) eine ausgeprägte Schulter. An dieser Stelle zeigt das RI-Signal von AbS 4 (Strich-Punkt) nach 60 min Einwirkzeit nur noch eine einfache Schulter. Auf diese Weise kann man den sukzessiven Abbau von höhermolekularen Fraktionen im Diagramm gut verfolgen. Aufgrund der geringen Einwirkzeit bei AbS 1 ist das RI-Signal an dieser Stelle nur erhöht, da die Konzentration an dieser Stellen noch nicht für eine Schulter oder gar Maximum ausreicht.

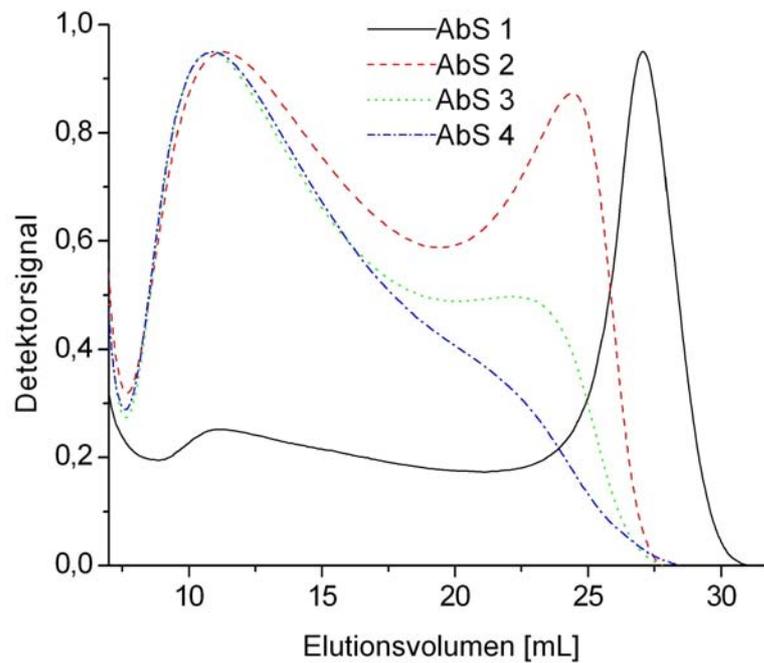


Abb. 68: Übersicht der RI-Signale von AbS 1 bis AbS 4 in LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1,5 \text{ mL/min}$

Die differentielle Molmassenverteilung in Abb. 69 verdeutlicht den Abbau noch besser. Die Verteilung von AbS 1 (durchgezogene Linie) enthält Fraktionen von $5 \cdot 10^5$ bis $9 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$. Die anderen Verteilungen beginnen bei $8 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$ und reichen bis $2 \cdot 10^4 \text{ g/mol}$. Der Überlappungsbereich liegt zwischen $8 \cdot 10^6$ und $5 \cdot 10^5 \text{ g/mol}$. Mit steigender Einwirkzeit der α -Amylase verschiebt sich die Molmassenverteilung von hochmolekularen Fraktionen zu niedermolekularen Fraktionen.

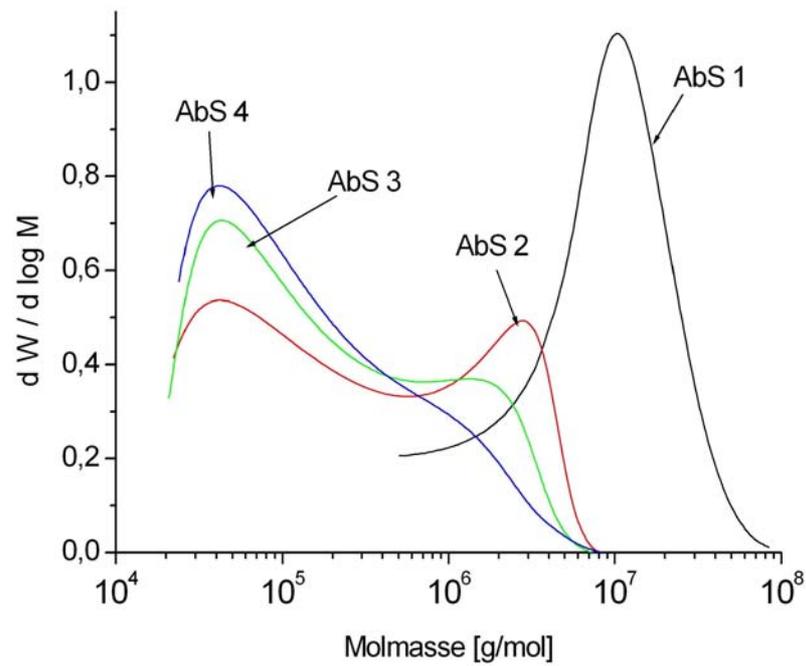


Abb. 69: Differentielle Molmassenverteilung von AbS 1 bis AbS 4

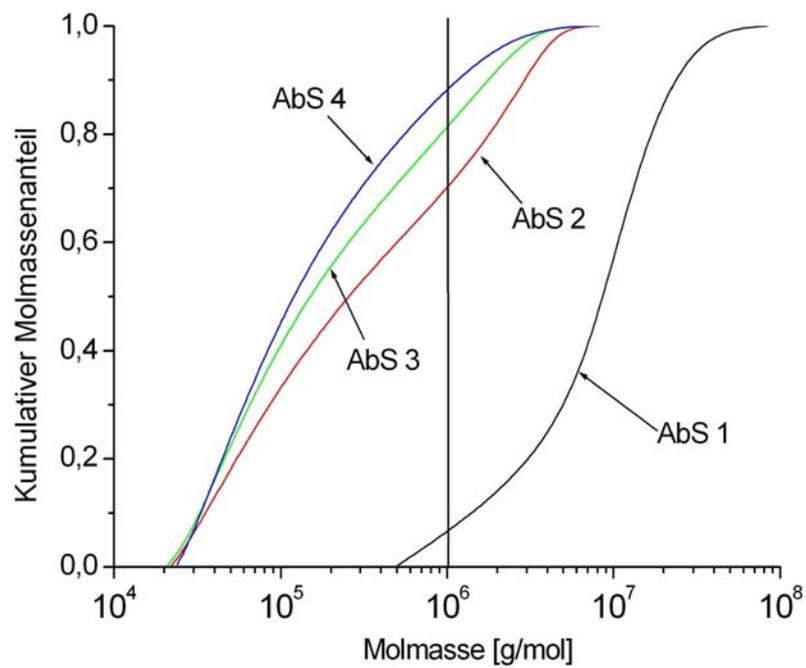


Abb. 70: Kumulative Molmassenverteilung von AbS 1 bis AbS 4

Anhand der kumulativen Molmassenverteilung in Abb. 70 kann man die prozentualen Anteile entsprechender Fraktionen ablesen. Nach 10 min Einwirkzeit (AbS 1) liegen nur knapp 10 % der Fraktionen mit einer M_w von unter $1 \cdot 10^6$ g/mol vor. Nach 20 min (AbS 2) weisen schon ungefähr 70 % der Polymerprobe eine Molmasse kleiner $1 \cdot 10^6$ g/mol auf, nach 30 min Einwirkzeit (AbS 3) weisen 80 % und nach 60 min (AbS 4) 85 % eine Molmasse von $1 \cdot 10^6$ g/mol auf. Der Unterschied zwischen 30 min und 60 min Einwirkzeit ist nicht ganz so groß, wie der von 10 min auf 20 min Einwirkzeit.

In Anlehnung an Moser et al.^[151] wurde versucht, die α -Amylase durch Extraktion erst mit Phenol-Chloroform (1:1) und danach mit Chloroform-Isoamylalkohol (24:1) abzutrennen. Der Extrakt wurde wegen zu geringer Menge nicht gefriergetrocknet. Im Anschluss wurde der Extrakt mit einem Kanalfloss von 1 mL/min und einem Querfluss von 1,5 mL/min bei RT vermessen. Da die exakte Polymerkonzentration im Extrakt nicht bekannt war, konnte keine WR berechnet werden. In Abb. 71 sind für AbS 1 o.A. und AbS 2 o.A. Elutionsdiagrammübersichten gezeigt. Die durchgezogenen Linien geben das LS-Signal, die gestrichelten Linien das RI-Signal und die Punkte den Molmassenverlauf an. In Tab. 21 sind für AbS 1 o.A. und AbS 2 o.A. nach der Extraktion der α -Amylase die M_w und die R_G angegeben. Die Messungen von AbS 3 und AbS 4 konnten wegen einer zu geringen Polymerkonzentration nicht ausgewertet werden.

*Tab. 21: Auflistung der Messwerte von AbS 1 und AbS 2
nach der Extraktion der α -Amylase*

Probe	M_w [g/mol]	R_G [nm]
AbS 1 o.A.	$7,0 \cdot 10^6$	83
AbS 2 o.A.	$6,8 \cdot 10^5$	41

o.A. = ohne Amylase

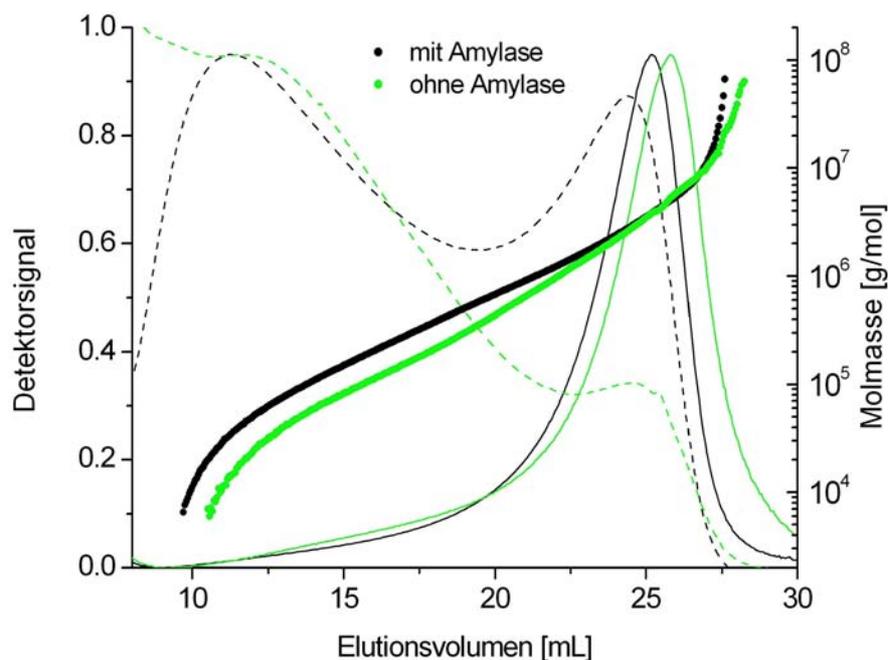


Abb. 71: Elutionsdiagrammübersicht von AbS 1 und AbS 2, LS-Lösungsmittel, 25°C nach Extraktion der α -Amylase

Im Vergleich zu den Werten aus Tab. 20 sind die M_w der Proben AbS 1 o.A. und AbS 2 o.A. nach Extraktion der α -Amylase geringer. Das ist darauf zurückzuführen, dass bei der Extraktion zusätzlich ein Teil der Probe abgetrennt wurde. Das zeigt sich durch die nicht überlappenden LS-Signale.

Bei der Charakterisierung der Abbaustärke stellen sich zwei Probleme ein. Da aufgrund des Trennprinzips die kleinen Moleküle zuerst eluieren, eluiert die α -Amylase zeitgleich mit niedermolekularen Fraktionen der abgebauten Stärke, sofern die Amylase nicht im voraus extrahiert wurde. Messungen mittels Größenausschlusschromatographie (SEC) wären vom Trennprinzip her vorteilhafter, da die kleinen Moleküle nach den großen eluieren. In dem Fall würde der Peak im RI-Signal, der von der α -Amylase hervorgerufen wird, nach dem Hauptpeak auftreten.

Das zweite Problem liegt bei der Extraktion der α -Amylase. Ein Teil der Probe geht bei der Extraktion verloren. Dies hat eine Auswirkung auf die Berechnung der WR, da nicht mehr die exakt eingewogene Menge an Stärke enthalten ist. Bei ausreichender Menge an Ursubstanz kann der Extrakt gefriergetrocknet werden, damit hinterher eine neue Probenlösung angesetzt werden kann. Um nach der Extraktion Probenlösungen mit einer vermessbaren Polymerkonzentration einzustellen, bedarf es einer großen Menge an Ursubstanz. Dies war im

Fall dieser vier Proben nicht gegeben. Zusammengefasst lässt sich sagen, dass eine Charakterisierung an abgebauten Stärken aufgrund der Vielzahl an Problemen schwierig ist.

4.4 Kationische Stärken – Teil II

4.4.1 Probenpräparation

In Zusammenarbeit mit dem Institut Cutec fünf kationische Stärkeether auf Basis von Kartoffelstärke charakterisiert. Die kationischen Stärken wurden von der Firma Emslandstärke hergestellt. Es handelt sich um zwei Emulsionen (KSc 1, KSc 2), zwei mit Epichlorhydrin vernetzte feste Stärkeether (KSc 3 und KSc 4) und eine feste Probe mit 50 % Amylosegehalt (KSc 5). Die Stärkeemulsionen waren mit 0,2 % Mergal® V 698 K 1 stabilisiert. Für eine Charakterisierung können die Emulsionen nicht direkt verwendet werden, da der reine Feststoffgehalt nicht genau bekannt ist. Ferner konnte nicht ausgeschlossen werden, dass der Stabilisator die Viskosimetrie- und die Lichtstremessungen beeinflusst. Um Stammlösungen mit genauen Polymergehalt herstellen zu können, wurden die Stärkeether mit Ethanol aus der Emulsion gefällt und anschließend im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

Die Probe KSc 1 hat laut Hersteller einen durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) von 1, alle anderen Stärkeether haben einen DS von ca. 0,7. Tab. 22 fasst die Herstellerangaben zusammen.

Tab. 22: Herstellerangaben der kationischen Stärkeether

Probe	Stärke	DS	Konsistenz	vernetzt
KSc 1	Kartoffel	ca. 1	flüssig	---
KSc 2	Kartoffel	ca. 0,7	flüssig	---
KSc 3	Kartoffel	ca. 0,7	fest	0,04 Vol% Epichlorhydrin
KSc 4	Kartoffel	ca. 0,7	fest	0,01 Vol% Epichlorhydrin
KSc 5	Kartoffel*	ca. 0,7	fest	---

*enthält 50 % Amylose

Für die Viskosimetrie- und Lichtstremessungen ist die Probenpräparation unerlässlich, da nicht-lösliche Bestandteile die Messungen beeinträchtigen können. Beim Lösen der Proben hat sich herausgestellt, dass besonders bei den vernetzten Proben ein gewisser Anteil nicht gelöst werden konnte. Der nicht lösliche Anteil wurde nach der Filtration und der Zentrifugation

gravimetrisch bestimmt. Die prozentualen Anteile sind in Tab. 23 in Kap. 4.4.2 zusammengefasst. Von der Probe KSc 3 konnten 70,4 % nicht gelöst werden (Filtrationsrückstand: 20,2 %, Zentrifugationsrückstand: 50,2 %), KSc 4 wies 62,6 % nicht-lösliche Anteile (Filtrationsrückstand: 16,8 %, Zentrifugationsrückstand: 45,8 %) auf. Werte in dieser Größenordnung wirken sich negativ auf die Wiederfindungsrate (WR) bei den Lichtstremessungen aus. Die Probenpräparation der anderen Proben ergab geringe Rückstände.

Visuell konnten ebenfalls Unterschiede bei 0,3 %igen Lösungen, die für den Ultraschallabbau angesetzt wurden, festgestellt werden. Die Lösungen von KSc 2 und KSc 1 ähneln der von KSc 5. Die Lösungen von KSc 3 und KSc 4 sind trüber als die von KSc 5 (Abb. 72). Nach kurzer Zeit bildet sich ein Bodensatz bei der Lösung von KSc 4 und der Überstand ist nur noch leicht trübe.

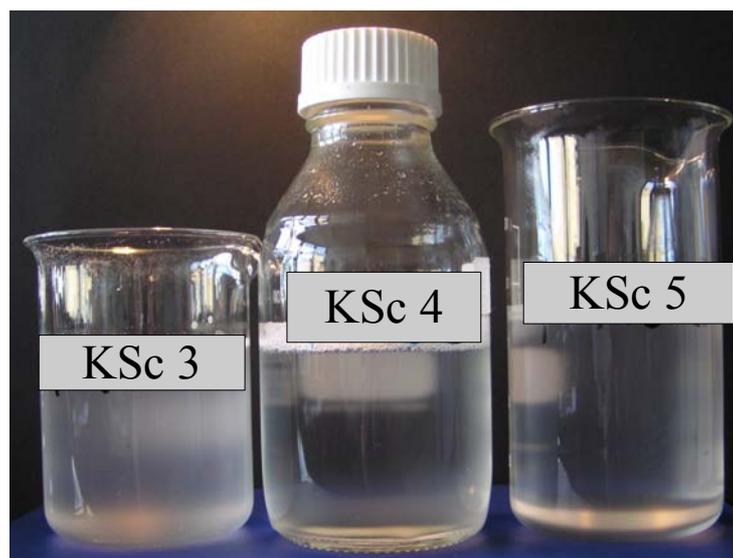


Abb. 72: Optischer Vergleich der Lösungen KSc 3, KSc 4 und KSc 5

Da in Abb. 72 der Bodensatz von KSc 4 nicht so deutlich zum Vorschein kommt, ist von der Probe zusätzlich eine Nahaufnahme gemacht worden (Abb. 73). Der Kreis kennzeichnet den Bodensatz.

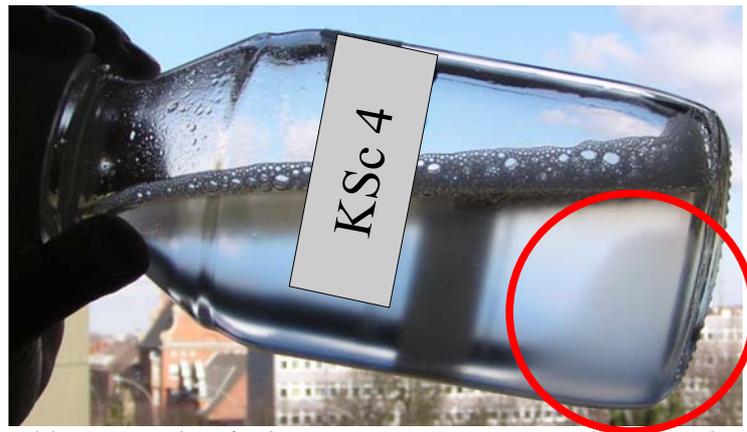


Abb. 73: Nahaufnahme von KSc 4 mit Markierung des Bodensatzes

Die Bildung des Bodensatzes wird durch die vernetzten Anteile des Stärkeethers hervorgerufen. Bei der Probe KSc 3 bleibt der vernetzte Anteil in Lösung, was zu einer stärkeren Trübung der Lösung führt als bei KSc 5, KSc 2 und KSc 1. Die nachfolgenden Viskosimetrie- und Lichtstremessungen erfolgen nur mit dem löslichen Anteil der Proben.

4.4.2 Trockengehalt- und Salzgehaltbestimmung

Als erstes wurden die Trockengehalte (TR) und die Salzgehalte der fünf Stärkeether bestimmt. Der Trockengehalt wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt (nähere Beschreibung der Methode siehe Kap. 6.3.2). In Abb. 74 ist exemplarisch ein Thermogramm für die Probe KSc 4 abgebildet. Die Auswertung des TR erfolgte mit der Kurve (schwarz), die die Massenabnahme wiedergibt. Die Differenz zwischen Basislinie bei 100 % Masse und dem ersten Wendepunkt der schwarzen Kurve bei ungefähr 120°C gibt den Verlust an Feuchtigkeit wieder (in Abb. 74 durch die Pfeile markiert). Subtrahiert man den Feuchtigkeitsgehalt von 100 % Einwaage, ergibt sich der Trockengehalt. Die Differenzen zwischen den weiteren Wendepunkten spiegeln Zersetzungsprozesse wider. Für die Probe KSc 4 wurde ein Trockengehalt von 98,9 % ermittelt. In Tab. 23 sind neben den TR, die Salzgehalte, DS, die nicht löslichen Anteile und die Probenpräparation aufgeführt.

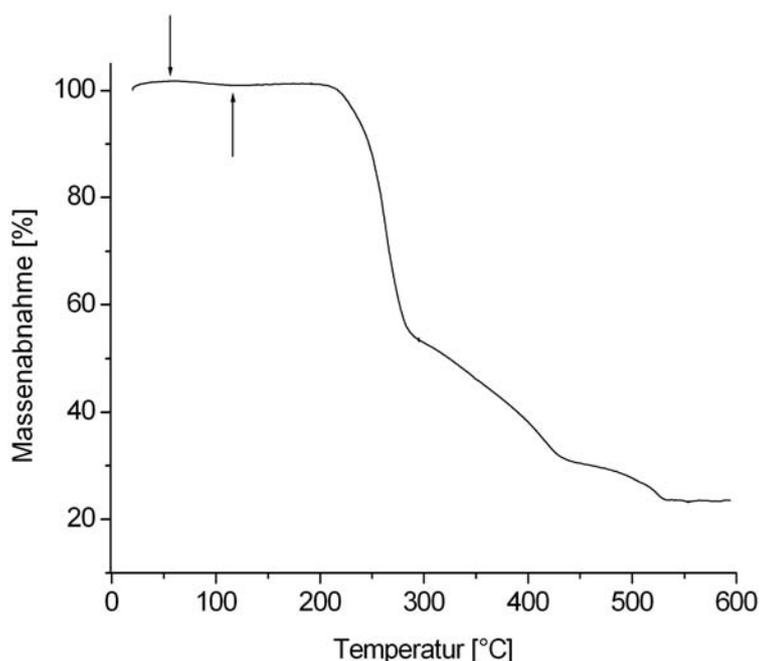


Abb. 74: Thermogramm von KSc 4

Der Salzgehalt wurde als Chlorid argentometrisch nach einem Schöniger-Aufschluss bestimmt. Die Ergebnisse zeigen relative hohe Salzgehalte von über 17 % für fast alle Proben, außer KSc 2, die einen Salzgehalt von 13,3 % aufweist.

Es wurde außerdem eine Elementaranalyse (CHN-Analyse) mit einem Vario EL III, Erba 1108 Gerät zur Bestimmung des DS durchgeführt. Damit wurden der Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt ermittelt. Das diente zur Berechnung des DS über den Stickstoffgehalt, um die Spezifikationen des Herstellers zu überprüfen. Für die Berechnung des DS wurde die Gleichung 67 aus Kap. 4.3.2.2 verwendet. Die DS-Werte sind in Tab. 25 in Kap. 4.4.4 angegeben.

Tab. 23: Analytische und präparative Daten der Stärkeether

Probe	TR [%]	DS _N	Cl ⁻ [%]	nichtlösl. Anteil [%]	Probenpräparation
KSc 1	28,2 ¹⁾	0,82	17,6	0,2	11 µm, zentr. ²⁾
KSc 2	24,4 ¹⁾	0,61	13,3	0,1	11 µm, zentr. ²⁾
KSc 3	98,9	0,64	17,4	70,4	60 µm, 20 µm, 11 µm, zentr. ²⁾
KSc 4	99,2	0,65	17,3	62,6	60 µm, 20 µm, 11 µm, zentr. ²⁾
KSc 5	100	0,65	17,1	0,1	11 µm, zentr. ²⁾

¹⁾ Daten für die Emulsion

²⁾ 45 min bei 13.000 rpm

DS_N = DS berechnet aus dem Stickstoffgehalt

zentr. = zentrifugiert

4.4.3 Strukturelle Charakterisierung von Stärkeethern mittels NMR

Von den Stärkeethern wurden breitbandenkoppelte ^{13}C -Spektren (^{13}C -BB) mittels der „inverse gated decoupling“ (IGATED) Methode zur Struktur und DS-Bestimmung aufgenommen. Die Messungen wurden in Deuteriumoxid (D_2O) mit dem Natriumsalz der Trimethylsilylpropionsäure- d_4 (TMSP) als internem Standard aufgenommen. Die Proben wurden vor den NMR-Messungen in Hinblick auf eine Molmassenreduzierung ultraschallbehandelt, um ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis durch Überlagerung zu minimieren. Zum Teil besitzen die Stärken hohe Viskositätsergiebigkeiten, was zu langen Relaxationszeiten führt^[141]. Die Stärkeether wurden in demineralisiertem Wasser gelöst und 120 min gepulst mit einer Ultraschallsonde abgebaut. Für die NMR-Messungen wurden 600 mg Probe verwendet und bei 80°C vermessen.

In Abb. 75 ist ein IGATED ^{13}C -Spektrum von KSc 1 abgebildet. In Tab. 24 sind die Peaks den entsprechenden Kohlenstoffatomen (C-Atomen) zugeordnet. Die chemische Verschiebung der unmodifizierten C-Atome (C-1 entspricht C_1) von KSc 1 beträgt 100,6 ppm (C-1) und die von C-2 - C-6 zwischen 61,9 und 81,4 ppm. Durch die Einführung von 2-Hydroxypropyltrimethylammoniumchlorid entstehen drei neue Signale bei 97,5 ppm (C-1s, Signal für ein C-1-Atom in Nachbarschaft zu einem modifizierten C-Atom in Position 2), 81,4 ppm (C-2s, Signal für ein modifiziertes C-2-Atom) und 69,5 ppm (C-6s, Signal für ein modifiziertes C-6-Atom, partiell von C-7 des Substituenten überlagert). Die chemischen Verschiebungen der 2-Hydroxypropyltrimethylammoniumchlorid-Gruppe betragen zwischen 70 und 75 ppm (C-8), bei 69,5 ppm (C-7), bei 66,3 ppm (C-9) und bei 55,6 ppm. Die Peakfindung für C-7 war für KSc 2 nicht möglich, da dieser sich mit C-6s überlagert^[144].

Tab. 24: Zuordnung der Peaks aus den ^{13}C -Spektren, Werte in [ppm]

Probe	C-10	C-6	C-9	C-7	C-2,3,4,5,8	C-2s	C-1s	C-1
KSc 1	55,6	62,1	66,3	69,5	72 – 77,6	81,4	97,5	100,6
KSc 2	55,1	62,3	66,9	---	72,9 – 78	81,0	97,1	100,1
KSc 3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
KSc 4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
KSc 5	55,1	62,2	66,2	69,0	73,8 – 78	81,7	97,3	100,4

n.a. = nicht auswertbar

141) W.-M. Kulicke, M. Otto, A. Baar, *Macromol. Chem.*, **194**, (1993), 751-765

144) T. Heinze, V. Haack, S. Rensing, *Starch/Stärke*, **56**, (2004), 288–296

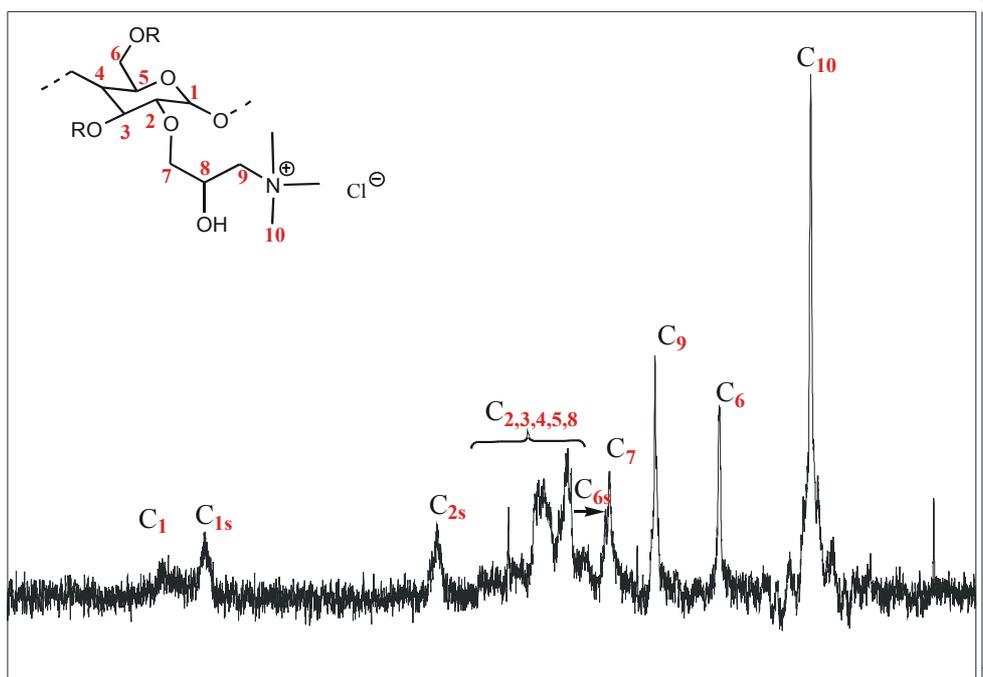


Abb. 75: ^{13}C -NMR-Spektrum des kationischen Stärkeethers KSc 1 gemessen in $\text{D}_2\text{O}/\text{TMSP}$ bei 80°C , IGATED, ($\text{R} = \text{H}$ oder kationische Gruppe)

Aufgrund des schlechten Signal-Rausch-Verhältnisses war die Auswertung der vernetzten Proben KSc 3 und KSc 4 nicht möglich (s. Abb. 76).

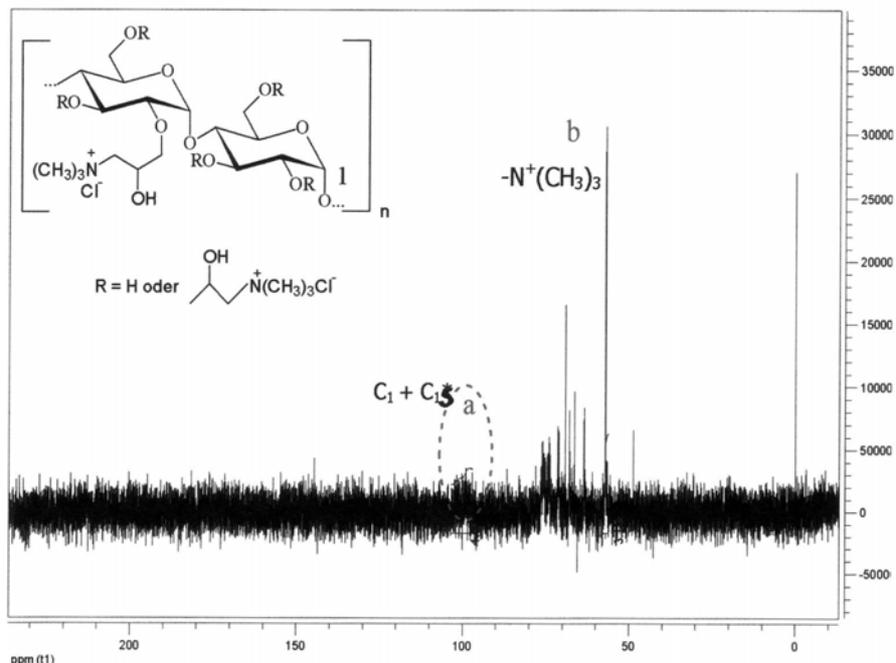


Abb. 76: DS-Bestimmung durch quantitative Auswertung des breitbandentkoppelten ^{13}C -NMR Spektrums von KSc 3

4.4.4 Bestimmung des durchschnittlichen Substitutionsgrads

Es wurde versucht, den DS neben der CHN-Analyse auch mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie zu bestimmen. Dabei wird das Integral des Peaks von C-1 auf 1 gesetzt (mit a gekennzeichnete Peak). Danach wird das Integral vom C-10 (mit b gekennzeichnete Peak) durch 3 dividiert, da dieser von drei C-Atomen herrührt. Das Ergebnis ist der DS.

Tab. 25: Gegenüberstellung der aus der Elementaranalyse (CHN-Analyse) und mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie ermittelte durchschnittlichen Substitutionsgrade der Stärkeether

Probe	DS (CHN-Analyse)	DS (NMR)
KSc 1	0,82	0,81
KSc 2	0,61	0,66
KSc 3	0,64	n.b.
KSc 4	0,65	n.b.
KSc 5	0,65	0,82

n.b. = nicht bestimmt

Die aus den ^{13}C -NMR-Spektren erhaltenen DS-Werte für die Proben KSc 1 und KSc 2 sind mit denen aus der CHN-Analyse vergleichbar, jedoch zeigt die Probe KSc 5 Abweichung zu den Ergebnissen aus der CHN-Analyse (s. Tab. 25). Bei dem ^{13}C -NMR-Spektrum von KSc 5 ist das charakteristische Signal des C-1-Atoms sehr schwach, so dass die DS-Bestimmung fehlerbehaftet ist.

4.4.5 Charakterisierung von Stärkeethern mittels IR-Spektroskopie

Mit Hilfe der IR-Spektroskopie wurde die Struktur der Stärkeether untersucht. Aus einem IR-Spektrum kann man entnehmen, welche Gruppen in einem Molekül anwesend sind. Eine im Molekül vorhandene Atomgruppe verursacht charakteristische Adsorptionsbanden, d.h. sie adsorbiert bei für sie charakteristischen Frequenzen. Die Atome eines Moleküls schwingen ständig: die Bindungen strecken und verkürzen sich und biegen sich auch relativ zueinander. Durch Adsorption von infrarotem (IR) Licht ändern sich die Schwingungen in einem Molekül. Bestimmte Bereiche in einem IR-Spektrum werden in Wellenlängen oder Frequenzen angegeben. Die Frequenz gibt man reziprok als Wellenzahlen in cm^{-1} an. Die Interpretation der Spektren kann manchmal durch Bandenüberlagerung, Obertöne oder verschiedene strukturelle Einflüsse - Konjugation, Elektronenzug, benachbarte Substituenten, Wasserstoffbrücken-

bindungen o.ä. - verschoben werden^[152].

In Tab. 26 sind die charakteristischen Absorptionsbanden für Stärke aufgelistet^[144].

Tab. 26: Charakteristische Absorptionsbanden für Stärke bzw. Stärkederivate

Probe	O-H/ N-H [cm ⁻¹]	C-H [cm ⁻¹]	C _{Alkan.} H/ C-N [cm ⁻¹]	^t C-O [cm ⁻¹]	^s C-O [cm ⁻¹]	^p C-O [cm ⁻¹]
KSc 1	3390	2931	1359	1151	1081	1023
KSc 2	3388	2932	1362	1151	1081	1024
KSc 3	3418	2932	1360	1150	1080	1023
KSc 4	3391	2930	1355	1150	1080	1020
KSc 5	3387	2930	1357	1151	1081	1024

t = tertiär
s = sekundär
p = primär

Bei Stärken treten hauptsächlich O-H-, N-H-, C-H-, C_{Alkan.}H-, C-N- und C-O-Valenzschwingungen auf. In Abb. 77 sind alle erhaltenen IR-Spektren zusammen dargestellt. Unterschiede zwischen den einzelnen Spektren sind nicht feststellbar. Wie aus Tab. 26 ersichtlich, stimmen die Adsorptionsbanden gut miteinander überein, unterscheiden sich teilweise in den Intensitäten. Die breite Bande zwischen 3100 und 3600 cm⁻¹ kommt durch die Überlagerung der O-H- und der N-H-Valenzschwingung zustande, wobei der Anteil der O-H-Valenzschwingung größer ist. Im Bereich von 1200 und 1500 cm⁻¹ überlagern sich ebenfalls zwei Banden, die C-N-Valenzschwingung und die C-H-Deformationsschwingung. Zwischen 1000 und 1200 cm⁻¹ liegen die typischen C-O-Valenzschwingungen für primäre Alkohole (R-OH) um 1023 cm⁻¹, für sekundäre R-OH um 1081 cm⁻¹ und für tertiäre R-OH um 1151 cm⁻¹.

152) R. T. Morrison, R. N. Boyd, Lehrbuch der organischen Chemie, 2. berichtigte Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 1978

144) T. Heinze, V. Haack, S. Rensing, Starch/Stärke, **56**, (2004), 288–296

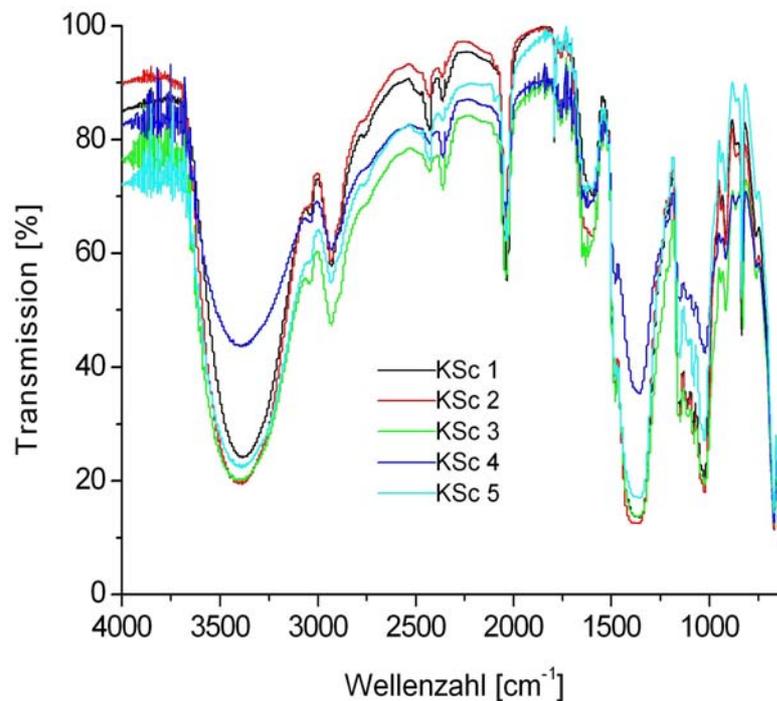


Abb. 77: Übersicht aller gemessenen IR-Spektren der untersuchten Stärkeether

4.4.6 Polyelektrolyttitration zur Ermittlung des Ladungsgehalts

Bei der Polyelektrolyttitration wird einer Probe eine Maßlösung, die einen entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten (Natrium-Polyethylensulfonat) bekannten Ladungsgehalts enthält, so lange zugegeben, bis die Ladungen der Probe vollständig neutralisiert ist. Der Endpunkt der Titration entspricht dem Ladungsneutralpunkt, bei dem das Strömungspotential den Wert Null erreicht hat ($U = 0$) (s. Kap. 3.9). Aus dem entsprechenden Verbrauch der Maßlösung wurde nach Gleichung 56 in Kap. 3.9 der Ladungsgehalt der Probe berechnet^[132]. Die Ergebnisse sind in Tab. 27 aufgelistet.

132) Bedienungsanleitung zum Partikelladungsdetektor PCD 03-pH (Mütek Analytic GmbH)

Tab. 27: Ladungsmengen ermittelt durch
Polyelektrolyttitration [eq/g] von KSc 1 – KSc 5

Probe	Ladungsmenge [eq/g]
KSc 1	n.b.
KSc 2	n.b.
KSc 3	$0,29 \cdot 10^{-3}$
KSc 4	$0,32 \cdot 10^{-3}$
KSc 5	$1,06 \cdot 10^{-3}$

n.b. = nicht bestimmt

Die ermittelten Ladungsmengen reichen von $0,29 \cdot 10^{-3}$ eq/g bis $1,06 \cdot 10^{-3}$ eq/g. KSc 1 und KSc 2 wurden nicht aus der gefällten Proben bestimmt, sondern nur aus den Emulsionen. Ladungsmengen und DS sind nicht korrelierbar. KSc 3 bis KSc 5 sollten laut DS vergleichbare Ladungsmengen zeigen. Dies kann auf Schwankungen bei der Messung zurückzuführen sein. Die niedrigen Ladungsmengen von KSc 3 und KSc 4 lassen sich damit erklären, dass bei der Probenpräparation der vernetzte Anteil abgetrennt wurde und somit die für die Titration benötigten Ladungen eliminiert wurden.

4.4.7 Bestimmung der Staudinger-Indices

Mittels Viskosimetrie wurden die Staudinger-Indices $[\eta]$, die Huggins-Konstanten k_H und die kritischen Konzentrationen $c_{[\eta]}^*$ der Stärkeether ermittelt. Die Messungen wurden in 0,1 M NaNO_3 mit 3 mM NaN_3 (LS-Lösungsmittel) bei 25°C durchgeführt. Die Messpunkte wurden im Bereich von $\eta_r = 1,2$ bis $\eta_r = 2,5$ aufgenommen^[93]. In Abb. 78 sind die Messreihen für die Stärkeether aufgetragen. Durch Extrapolation der Konzentration c auf $c = 0$ ergibt sich der Staudinger-Index $[\eta]$. In Tab. 28 sind die Werte von $[\eta]$ aufgelistet.

93) W.-M. Kulicke, C. Clasen, *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Heidelberg, 2004

Tab. 28: Übersicht der Viskositäts- und Lichtstreuendaten

Probe	$[\eta]$ [mL/g]	k_H	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]	$c^*_{[\eta]}$ [%]	c^*_{LS} [%]	$c^*_{[\eta]}/c^*_{LS}$
KSc 1	189	0,966	$8,1 \cdot 10^7$	194	70	1,32	0,14	9,12
KSc 2	245	0,995	$1,1 \cdot 10^8$	213	100	1,02	0,14	7,17
KSc 3	97	0,763	n.b.	n.b.	n.b.	2,57	n.b.	n.b.
KSc 4	98	0,310	n.b.	n.b.	n.b.	2,55	n.b.	n.b.
KSc 5	96	0,637	$3,4 \cdot 10^7$	135	60	2,60	0,109	23,9

n.b. = nicht bestimmt

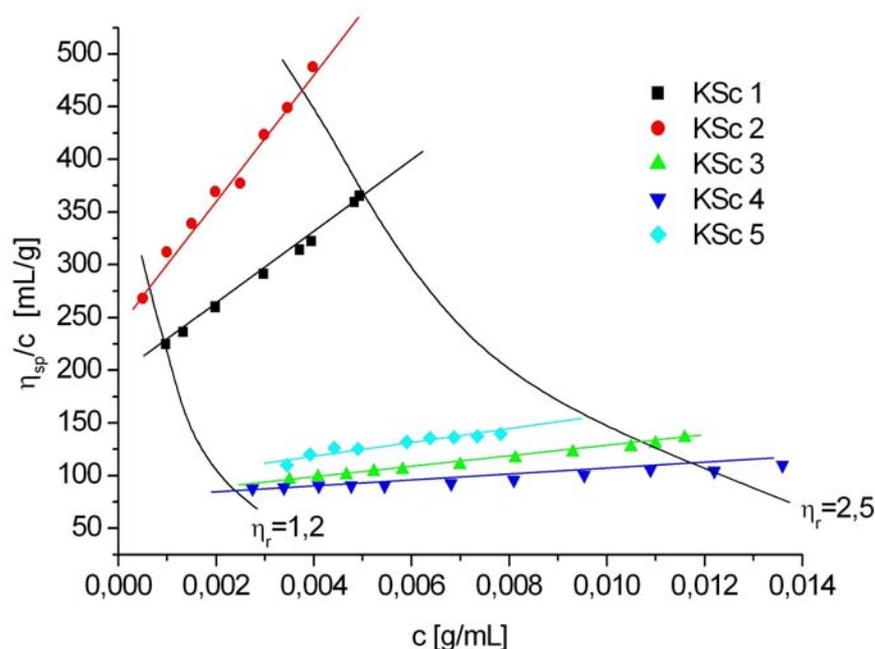


Abb. 78: Übersicht der Staudinger-Indices

Die $[\eta]$ liegen zwischen 96 mL/g und 245 mL/g. Die Werte für k_H liegen zwischen 0,31 und 0,996. k_H kann als Maß für die Güte des Lösungsmittels angesehen werden^[30]. Je kleiner der Wert, desto besser ist die Lösungsmittelgüte. Diese ist für die gefällten Stärkeether, KSc 1 und KSc 2, etwas schlechter als die für die festen Proben, KSc 3 bis KSc 5.

Die Messpunkte der gefällten Stärkeether liegen eng beieinander, die der festen Proben ebenfalls. Bei einem Vergleich der $[\eta]$ der drei festen Proben könnte man davon ausgehen, dass diese ähnliche Molmassen und Gyrationradien aufweisen, was anhand der Werte in Tab. 28

30) K.-F. Arndt, G. Müller, Polymercharakterisierung, Carl Hanser Verlag, München, 1996

nicht bestätigt werden konnte. Die Größenordnung von $[\eta]$ für KSc 5 legt nahe, dass die Probe ebenfalls vernetzt sei. Die ähnlichen Werte sind ein Indiz dafür, dass die Viskosimetrie zwar etwas über die Raumerfüllung des Polymers aussagt, aber als einzige Methode zur Charakterisierung nicht ausreicht.

Zusätzlich wurden aus den $[\eta]$, den gewichtsmittleren Molmassen (M_w) und Gyrationradien (R_G) die kritischen Konzentrationen für Lichtstreuung c_{LS}^* und Viskosimetrie $c_{[\eta]}^*$ sowie das Verhältnis berechnet. Die Werte für c_{LS}^* bewegen sich zwischen 0,109 % und 0,14 %, $c_{[\eta]}^*$ zwischen 1,02 % und 2,60 % und für das Verhältnis $c_{[\eta]}^*$ zu c_{LS}^* sind Werte von 7,17 bis 29,3 ermittelt worden. Das Verhältnis $c_{[\eta]}^*$ zu c_{LS}^* ist ein Maß für die Abweichung von der modellbehafteten Berechnung von $c_{[\eta]}^*$. Einstein ist in seiner Berechnung von starren Glaskugeln (Vollkugel) ausgegangen, die in der Realität von den wenigsten Lösungsstrukturen für Polymere erreicht wird. Je weiter das Verhältnis sich 1 annähert, desto eher entspricht die Lösungsstruktur einer Kugel. Die Lösungsstruktur der festen Probe KSc 5 weicht stärker von dem Modell einer Kugel ab, als KSc 1 und KSc 2. Die kritischen Konzentrationen der Emulsionen KSc 1 und KSc 2 ähneln einander und die der festen Probe KSc 5 ebenso, obwohl sich letztere in M_w und R_G unterscheiden.

4.4.8 Bestimmung der M_w und R_G mittels aFFFF/MALLS/DRI

Zur Bestimmung von M_w und R_G wurden die Proben in LS-Lösungsmittel mit einer gekoppelten Anlage zusammengesetzt aus einer asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF), Lichtstreuphotometer (MALLS) und Konzentrationsdetektor (DRI) bei Raumtemperatur (RT) vermessen. Für die Messungen wurden 0,1 %ige Lösungen verwendet. Zur Berechnung der Molmassen wurde ein Brechungsindexinkrement (dn/dc) von 0,147^[146] herangezogen und die Auswertung erfolgte nach Berry. Als Membranmaterial wurde für die Messungen PES gewählt. Die Größenausschlusschromatographie (SEC) wurde für diese Proben nicht verwendet, da die vorhandenen Säulen für den Molmassenbereich nicht ausgelegt sind. Eine Literaturrecherche hat ergeben^{[142],[143]}, dass sich bei der SEC-Charakterisierung von nativer und derivatisierter Stärke die Hochleistungsgrößenausschlusschromatographie (HPSEC)

146) S. Bartsch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 1996

142) S. Radosta, W. Vorweg, A. Ebert, A. Haji Begli, D. Grölc, M. Wastyn, *Starch/Stärke*, **56**, (2004), 277–287

143) M. L. Fishman, L. Rodriguez, H. K. Chau, J. Agri. Food Chem., **44**, (1996), 3182-3188

durchgesetzt hat.

In Tab. 28 sind die M_w und R_G angegeben. Nachfolgend werden in Abb. 79 - 81 die Elutionsdiagramme diskutiert. Anhand eines Elutionsdiagramms lässt sich eine Aussage über die Homogenität der Probe treffen. Bei monomodalen Peaks kann man von reinen, einheitlichen Proben ausgehen. Bei Bi- oder Multimodalitäten gibt es mehrere Gründe, die zwei oder mehrere Peaks bzw. Schultern im Signal hervorrufen können. Durch Abmischen zweier Substanzen tritt z.B. ein separater nicht basisliniengetrennter Peak auf. Die Anwesenheit von Aggregaten spiegelt sich in Form von Schultern oder sehr kleinen Peaks je nach Anteil wider.

In Abb. 79 ist das Elutionsdiagramm von KSc 1 dargestellt. Aufgetragen werden die Detektorsignale (Ordinate) gegen das Elutionsvolumen (Abzisse). An der rechten Ordinate erfolgt die Auftragung gegen die Molmasse. Die Detektorsignale werden automatisch von der Software ASTRA[®] normiert. Die Auswertung hat für KSc 1 eine M_w von $8,1 \cdot 10^7$ g/mol und einen R_G von 194 nm bei einem Flussverhältnis von 2 (Kanalfluss \dot{V}_z (1 mL/min) zu Querfluss \dot{V}_x (0,5 mL/min)) ergeben. Das Elutionsdiagramm zeigt einen monomodalen Peak, wobei der Peak ein ausgeprägtes Tailing aufweist.

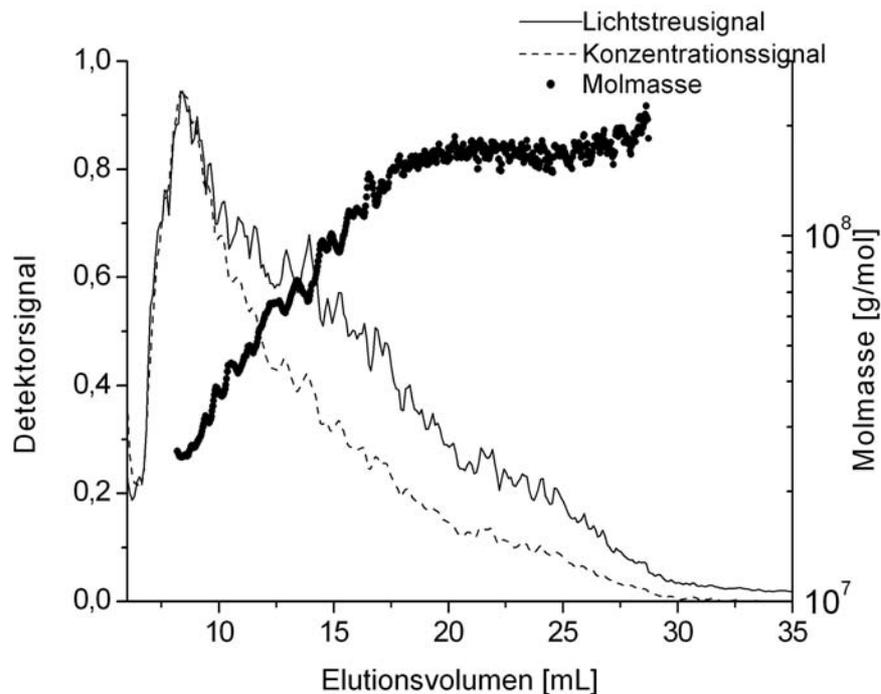


Abb. 79: Elutionsdiagramm von KSc 1, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1$ mL/min, $\dot{V}_x = 0,5$ mL/min

Eine Erhöhung des \dot{V}_x auf 0,7 mL/min bei gleich bleibendem \dot{V}_z minderte zwar die Steigung der linken Flanke, drückte aber die Polymere stärker auf die Akkumulationswand, was die Adsorption der Moleküle auf der Membran förderte. Eine WR (70 %) in dieser Größenordnung deutet zum Teil auf Membranadsorption hin. Die WR wurde um den Salzgehalt korrigiert, da die Membran für Salz durchlässig ist und dieses bei der Elution herausgespült wurde. Um die Membranadsorption zu mindern, sollte der \dot{V}_x auch nicht zu klein gewählt werden, da sonst die niedermolekularen Anteile der Probe ohne Trennung aus dem Kanal gespült werden. Das würde dazu führen, dass der eigentliche Peak nahezu mit dem Void-Peak verschmelzen würde. Bei kleinen \dot{V}_x kann durchaus auch schon eine inverse Trennung, hervorgerufen durch einen sterischen oder steric-hyperlayer Elutionsmodus (Beschreibung s. Kap. 3.7.4), auftreten.

In Abb. 80 ist das Elutionsdiagramm von KSc 2 abgebildet. Die Auswertung der Messung hat eine M_w von $1,1 \cdot 10^8$ g/mol, einen R_G von 213 nm und eine WR von 100 % bei einem Flussverhältnis von 1 (\dot{V}_z (0,75 mL/min) zu \dot{V}_x (0,75 mL/min)) ergeben. Das RI-Signal zeigt einen ähnlichen Verlauf wie Abb. 79. Aufgrund der erhöhten Anfangsintensität des RI-Signals, kann man einen erhöhten Anteil an niedermolekularen Bestandteilen annehmen. Das Maximum des LS-Signals liegt bei einem Elutionsvolumen von ungefähr 25 mL. Zusätzlich weist das LS-Signal im Bereich des Elutionsdiagrammes von 10 bis 20 mL eine ausgeprägte Schulter auf.

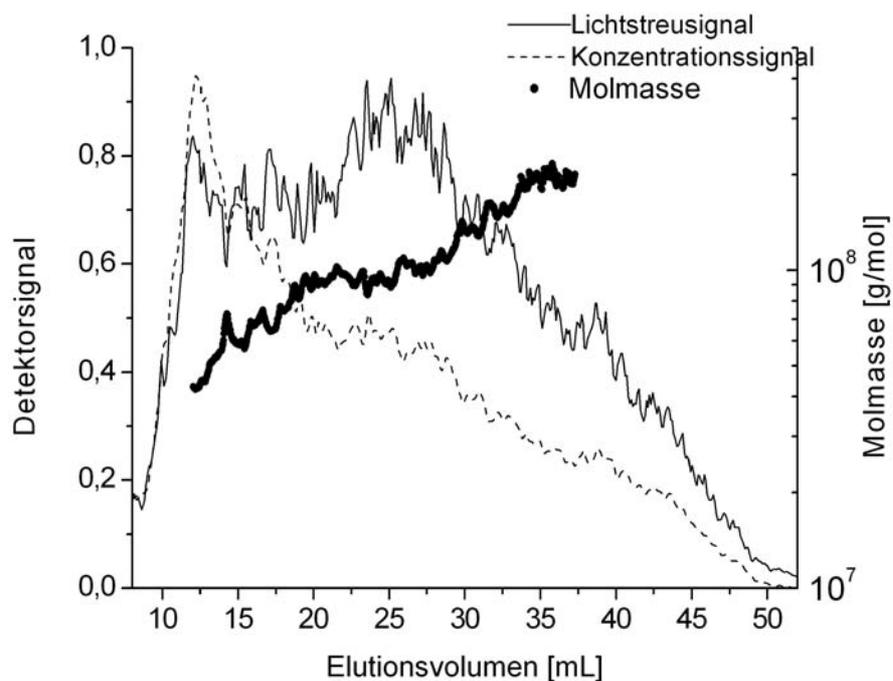


Abb. 80: Elutionsdiagramm von KSc 2, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 0,75$ mL/min, $\dot{V}_x = 0,75$ mL/min

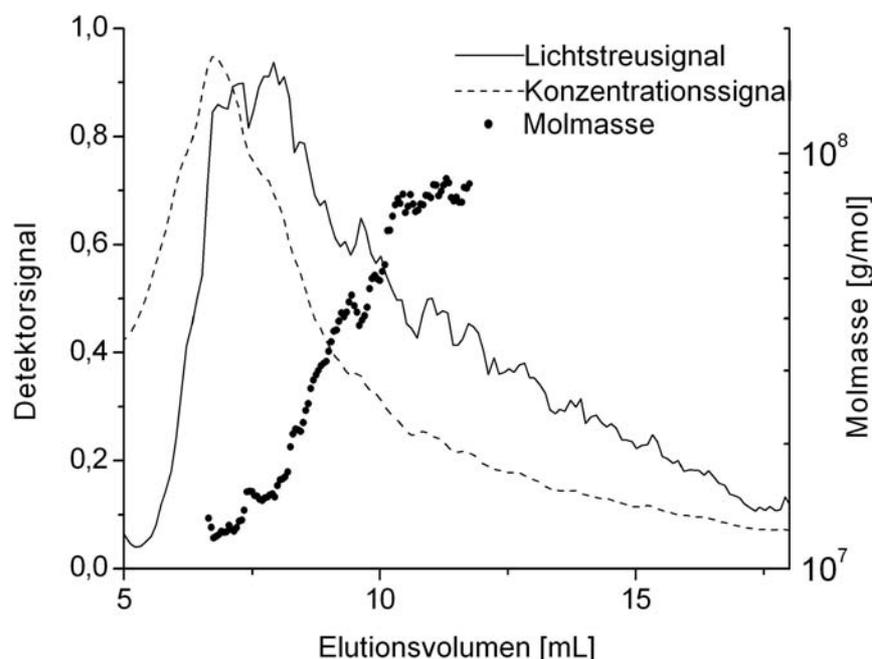


Abbildung 81: Elutionsdiagramm der Probe KSc 5, LS-Lösungsmittel, 25°C, $\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 0,75 \text{ mL/min}$

Das Elutionsdiagramm von KSc 5 ist in Abb. 81 dargestellt. Die Auswertung der Messung ergab eine M_w von $3,4 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$, einen R_G von 160 nm und eine WR von 60 % bei einem Flussverhältnis von 1,33 ($\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$ und $\dot{V}_x = 0,75 \text{ mL/min}$). Das Maximum des RI-Signals fällt mit einem Teil des breiten Maximums des LS-Signals zusammen. Die Steigung der linken Flanke des LS-Signals lässt darauf schließen, dass die Kanalfloss im Vergleich zum Querfluss etwas zu hoch ist, da die kleinen Moleküle nicht ausreichend von dem Querfluss an die Akkumulationswand gedrückt werden. Versuche mit Flussverhältnissen kleiner 1 führten zu keiner Verbesserung der Elutionsdiagramme. Derartige Flussprofile haben zu breiten Peaks im LS-Signal geführt und zu einer Verschiebung des Peaks hin zu höheren Elutionsvolumina. Die hohe Intensität des RI-Signals direkt nach dem Void-Peak ist unverändert geblieben. Aus diesem Grund ist ein Flussverhältnis > 1 zu Gunsten eines verminderten Adsorptionsverhalten gewählt worden.

AFFFF-Messungen von den Proben KSc 3 und KSc 4 wurden nicht erstellt, da bei der Probenpräparation über die Hälfte beider Proben nicht in Lösung gebracht werden konnte.

Zur Darstellung der Molmassenverteilung gibt es zwei Varianten, zum einen die differentielle und zum anderen die kumulative Molmassenverteilung. Mit einer

Molmassenverteilung kann man angeben, wie viel Probenanteil von einer bestimmten Molmasse in einer Fraktion enthalten ist (Gewichtsfraction)^[138].

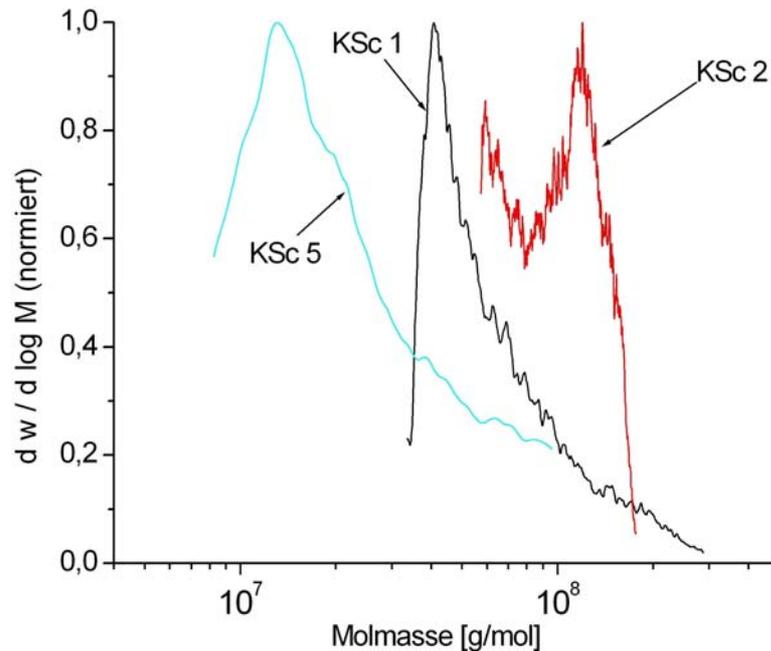


Abb. 82: Normierte differentielle Molmassenverteilung der Proben KSc 1, KSc 2 und KSc 5

In Abb. 82 sind die differentiellen Molmassenverteilungen der Proben KSc 1, KSc 2 und KSc 5 dargestellt. Bei der Darstellung der Verteilungen sind die normierten Werte verwendet worden, da teilweise die Gewichtsanteile der einzelnen Fraktionen so unterschiedlich waren, dass eine sinnvolle Darstellung anders nicht möglich war. KSc 5 ist die Probe, die breiter als die anderen Proben verteilt ist. Alle anderen Proben sind enger verteilt.

Abb. 83 zeigt die kumulativen Molmassenverteilungen der Proben KSc 1, KSc 2 und KSc 5. Wie auch in Abb. 82 zu sehen war, sind die Proben KSc 1 und KSc 5 breiter verteilt als KSc 2.

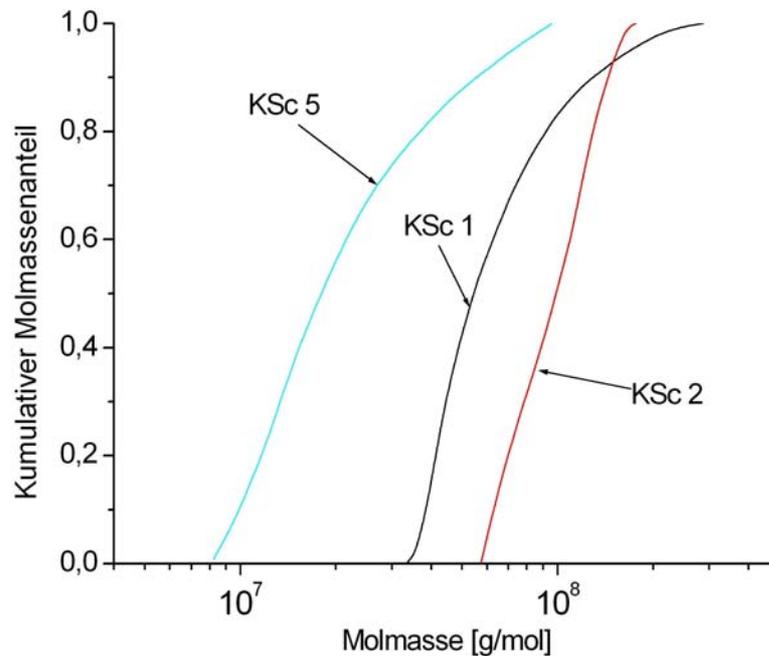


Abb. 83: Kumulative Molmassenverteilungen von KSc 1, KSc 2 und KSc 5

Zusammenfassend lässt sich über die Ergebnisse sagen, dass die vernetzten Proben KSc 3 und KSc 4 nicht ausreichend charakterisiert werden konnten. KSc 1 und KSc 2 würden aufgrund ihrer hohen Molmasse und Teilchengröße eine gute Flockungseffizienz zeigen^[15], wobei KSc 2 aufgrund höherer Molmasse und Teilchengröße geeigneter ist als KSc 1. Die Molmassen und Teilchengrößen beziehen sich ausdrücklich auf die gefällten Stärkeether. Es gilt zu klären, in wie weit die Emulsionen tauglich für Flockungsmessungen sind. KSc 5 sollte theoretisch moderate Flockungsergebnisse erzielen.

4.4.9 Schwierigkeiten bei Messungen von kationischen Stärken

Aufgrund ihres molekularen Aufbaus bildet Stärke sowohl im Feststoff als auch in der Lösung inter- bzw. intramolekulare Wechselwirkungen aus. Das größte Problem stellen dabei die Wasserstoffbrückenbindungen dar. Diese bewirken, dass der Feststoff Stärke, häufig aber auch ionische Stärkederivate, in wässrigen Lösungsmitteln erst bei höherer Temperatur in Lösung

15) D.-O. Krentz, C. Lohmann, S. Schwarz, S. Bratskaya, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, W.-M. Kulicke, *Starch/Stärke*, **58**, (2006), 161-169

gehen. Häufig sind hohe Temperatur und Druck zum Lösen erforderlich^[8]. Die Löslichkeit von derivatisierter Stärke ist nicht automatisch besser als von nicht derivatisierter. Auf die Anwendung von Druck während des Lösungsprozesses kann allerdings verzichtet werden.

Von der messtechnischen Seite beeinflusst das Flussprofil die Trennung der Probe in die einzelnen Fraktionen. Im Elutionsdiagramm wird dies durch eine Änderung in der Steigung des Molmassenverlaufs deutlich. Dieses Phänomen erschwert die Erstellung von Struktur-Eigenschaftsbeziehungen, im Speziellen die von R_G -M-Beziehungen. In solchen Fällen sind separate R_G -M-Beziehungen aufzustellen. Die Wahl des Querflusses ist häufig Ursache für eine nicht optimale Trennung. In Verbindung mit einem zu hohen Kanalfluss werden die Fraktionen zu schnell aus dem Kanal ausgetragen, wodurch ein Tailing in der Peakflanke hervorgerufen wird. Flussverhältnisse > 1 können da Abhilfe schaffen.

Bei geladenen Polymeren können zudem noch Abstoßungskräfte die Trennung beeinflussen. Durch einen erhöhten Querfluss werden die Moleküle dichter an die Akkumulationswand gedrückt, was den Abstand zwischen den einzelnen Molekülen verringert. Polykationen neigen in diesem Zustand dazu, sich abzustößeln und bewegen sich demzufolge weg von der Akkumulationswand. Das führt aufgrund der Ladungswechselwirkung zu einer verfrühten Elution. Der Ladungsabstoßung kann mit einem erhöhten Salzgehalt entgegengewirkt werden. Wird der Querfluss noch weiter erhöht und die Moleküle noch dichter an die Membran gedrückt, können durchaus anziehende Wechselwirkungen mit der Membran auftreten, was in Adsorption der Probe an der Membran resultiert^[136].

4.5 Synthetische Polykationen unter dem Einfluss verschiedener Ionenstärken

4.5.1 Allgemeines

Viele Anwendungen in der Industrie und anderen technischen Bereichen lassen sich mit der Kenntnis von Strukturparametern von Polymeren verbessern bzw. optimieren. Zu den Strukturparametern zählen u.a. die Molmasse, die Teilchengröße und der Staudinger-Index $[\eta]$ ^[93]. Die Effizienz von Flockungshilfsmitteln (FHM) lässt sich mit charakteristischen Eigenschaften der Polymere korrelieren. Anhand solcher Korrelationen lassen sich

8) P. H. Richardson, R. Jeffcoat, Y.-C. Shi, MRS BULLETIN/DECEMBER 2000

136) S. Lee, P.-O. Nilsson, G. N. Nilsson, K.-G. Wahlund, J. Chromatogr. A, **1011**, 111-123 (2003)

93) W.-M. Kulicke, C. Clasen, Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes, Springer Verlag, Heidelberg, 2004

Flockungsprozesse optimieren^[23]. Lichtstreuung gekoppelt mit verschiedenen Fraktionierungseinheiten hat sich bei der Bestimmung von Molmassen und Teilchengrößen durchgesetzt^[153] und liefert zusätzlich noch Informationen zur Lösungsstruktur (R_G -M-Beziehung). In Verbindung mit Lichtstreuungsmessungen treten experimentelle Schwierigkeiten in Form von Wechselwirkungen auf. Diese sollten nicht zu ausgeprägt sein, z.B. ist ein gewisser Salzgehalt erforderlich, um Knäuelaufweitung zu unterbinden. Die hohe Anfälligkeit von Wasser für Staub, hervorgerufen durch eine hohe Dielektrizitätskonstante, reicht häufig schon aus, um Störungen bei den Messungen hervorzurufen^[154]. Diese Schwierigkeiten werden durch Zugabe von Salz noch verstärkt. Die Problematik erfordert eine bedachte Probenpräparation sowie aufwendig filtrierte Lösungsmittel. Zu akribisch darf die Probenpräparation auch nicht sein, da man Gefahr läuft, die Zusammensetzung der Probe durch Degradation zu verändern^[155]. Ein weiteres Problem stellt die Alterung der Lösungen dar. Bei Polyacrylamid-co-acrylaten tritt eine Abnahme des Gyrationradius und des Staudinger-Index, hervorgerufen durch Konformationsänderungen, auf. Dies wurde nur bei Proben beobachtet, die eine $M_n \geq 1,5 \cdot 10^6$ g/mol besitzen^[156].

Vier verschiedene synthetische Polykationen (sPK 1 – 4) von Typ Poly(acrylamid-co-N,N,N-trimethylammoniummethylacrylatchlorid) (PTAC) mit unterschiedlichem Ladungsgehalt wurden in dieser Arbeit untersucht. Bestimmt wurden die chemische Struktur, die Ladungsmengen, Staudinger-Indices $[\eta]$, gewichtsmittlere Molmassen (M_w) und Gyrationradien (R_G) in drei verschiedenen Salzkonzentrationen (0,1 M, 0,5 M und 1 M Natriumnitrat (NaNO_3) mit jeweils 3 mM Natriumazid (NaN_3)). Die verschiedenen Salzkonzentrationen wurden gewählt, um die Auswirkung der Wechselwirkungen zu ermitteln.

4.5.2 Probenpräparation und vorbereitende Arbeiten

Als erstes wurden der Trockengehalt (TR) und der Salzgehalt der vier synthetischen Polykationen bestimmt. Der TR wurde durch Trocknen der Probe im Trockenschrank bei 105°C bis zur Massenkonstanz ermittelt. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tab. 29 aufgelistet. Die TR rangieren von 87,9 % bis 96,6 %. Für den Salzgehalt wurde der Gehalt an

23) D.-O. Krentz, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2001

153) D. Roessner, W.-M. Kulicke, J. Chromatogr. A, **687**, 249-258 (1994)

154) W.-M. Kulicke, A. Jacobs, Makromol. Chem., Makromol. Symp., **61**, (1992), 59-74

155) W.-M. Kulicke, R. Kniewske, Makromol. Chemie, **181**, (1980), 719-727

156) W.-M. Kulicke, R. Kniewske, H.-H. Hörl, Angew. Makromol. Chem., **87**, (1980), 195-204

Chlorid (Cl⁻) argentometrisch bestimmt. Die entsprechenden Ergebnisse sind ebenfalls in Tab. 29 enthalten. Die Ergebnisse lieferten relative hohe Salzgehalte, die für technische Produkte synthesebedingt üblich sind.

Tab. 29: Trocken- und Chloridgehalte der synthetische Polykationen

Probe	TR [%]	Cl ⁻ -Gehalt [%]
sPK 1	95,6	9,2
sPK 2	87,9	13,1
sPK 3	92,5	11,7
sPK 4	96,9	11,9

4.5.3 Strukturelle Charakterisierung mittels NMR

Von den synthetischen Polykationen wurden breitbandenkoppelte (¹³C-BB) ¹³C-Spektren mit der inverse gated decoupling (IGATED) Methode aufgenommen. Die Messungen wurden in Deuteriumoxid (D₂O) mit dem Natriumsalz der Trimethylsilylpropionsäure-d₄ (TMSP) als internem Standard aufgenommen. Die Proben wurden vor den NMR-Messungen in Hinblick auf eine Molmassenreduzierung mit Ultraschall behandelt, um ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis durch Signalüberlagerung zu minimieren. Zum Teil besitzen die Stärken hohe Viskositätsergiebigkeiten, was zu langen Relaxationszeiten führt^[141]. Die sPK-Proben wurden in demineralisiertem Wasser gelöst und 90 min gepulst mit einer Ultraschallsonde abgebaut. Für die NMR-Messungen wurden 200 mg Probe verwendet und bei 70°C vermessen. In Tab. 30 sind die chemischen Verschiebungen den entsprechenden C-Atomen zugeordnet. In Abb. 84 ist exemplarisch ein ¹³C-Spektrum von sPK 1 angegeben.

Tab. 30: Zuordnung der chemischen Verschiebungen aus den ¹³C-Spektren, Einheit: ppm

Probe	C-3	C-1	C-4	C-2	C-9	C-7	C-8	C-6	C-5
sPK 1	35,9	---	42,9	43,5	55,1	59,7	65,7	176,2	179,9
sPK 2	35,7	36,0	42,9	43,5	55,1	59,7	65,6	176,2	179,6
sPK 3	35,7	36,1	42,9	43,5	55,1	59,7	65,7	176,2	179,8
sPK 4	36,0	36,8	43,1	43,5	55,1	59,7	65,7	176,3	179,9

141) W.-M. Kulicke, M. Otto, A. Baar, *Macromol. Chem.* **194**, (1993), 751-765

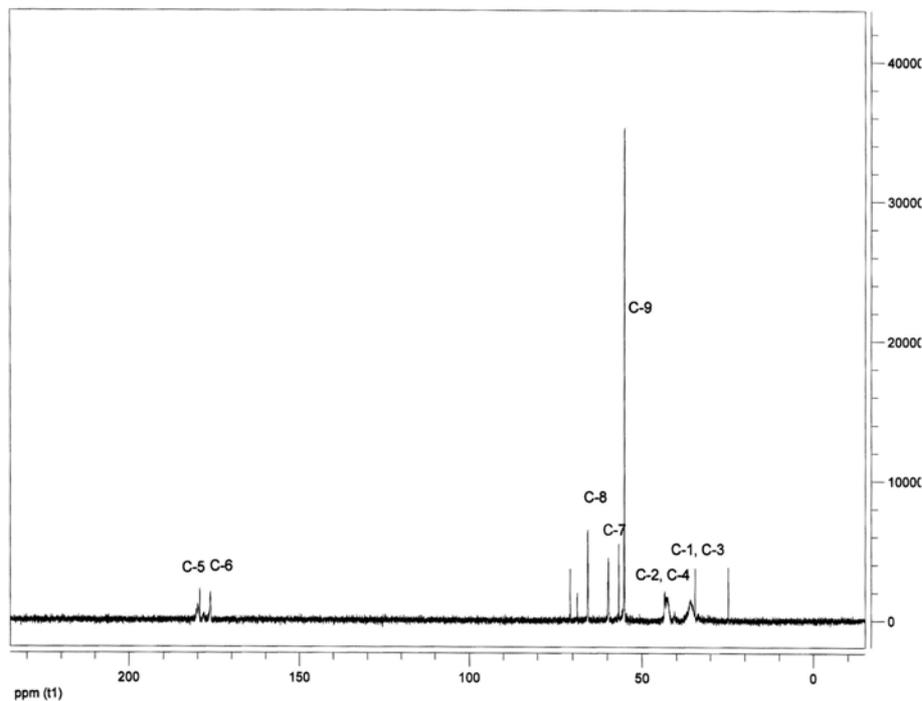


Abb. 84: ^{13}C -NMR Spektrum der Probe sPK 1 breitbandentkopplet (IGATED)

Das Carbonylkohlenstoffatom ($\text{C}=\text{O}$) C-5 der Acrylamidgruppe zeigt eine chemische Verschiebung von 176,8 ppm und C-6 der N,N,N-Trimethylammoniummethylacrylatgruppe von 176,2 ppm. Da sich die Reste an C-5 und C-6 chemisch unterscheiden, treten diese getrennt auf, wobei C-6 leicht hochfeldverschoben ist. Die beiden Kohlenstoffatome (C-Atome) C-8 und C-7 der Methylengruppen (CH_2 -Gruppen) der N,N,N-Trimethylammoniummethylacrylatgruppe zeigen eine chemische Verschiebung von 65,7 ppm (C-8) und 59,7 ppm (C-7). Die Methylgruppen (CH_3 -Gruppen) (C-9) des N,N,N-Trimethylammoniumrestes zeigen eine starke Tieffeldverschiebung mit 55,1 ppm im Gegensatz zu CH_3 -Gruppen, die an ein unsubstituiertes C-Atom gebunden sind. Die CH_2 -Gruppen C-1 und C-3 sowie die Methingruppen C-2 und C-4 lassen sich bei dem vorliegendem Spektrum nur schwer separat bestimmen, da sich die Signale aufgrund chemisch identischer Reste in direkter Nachbarschaft überlagern. Die Bestimmung von C-1 bei sPK 1 war nicht möglich. Die Bestimmung der Ladungsmenge wurde dadurch nicht beeinflusst.

4.5.4 Bestimmung der Ladungsmenge

Da die Ladungen den Polymeren besondere Eigenschaften verleihen wie z.B. Wasserlöslichkeit und elektrostatische Wechselwirkungen mit anderen gleichnamigen oder entgegengesetzten Ladungen, ist es sehr wichtig, die genaue Ladungsmenge zu bestimmen. Diese kann die Anwendung beeinflussen. Die Ladungsmenge kann auf zwei verschiedene Arten bestimmt werden, zum einen durch Polyelektrolyttitration über das Strömungspotential und zum anderen mit Hilfe eines ^{13}C -NMR-Spektrums über Gleichung 68.

$$X^{\ominus} = \frac{I_{C-6}}{(I_{C-5} + I_{C-6})} \quad (\text{Gl. 68})$$

X^+ = Ladungsmenge in mol%

$I_{C-5/6}$ = Integral des Peaks von C-5/6

Polyelektrolyttitration beruht auf der chemischen Reaktion eines Polykations (Probe) mit einem Polyanion (Maßlösung) unter Ausbildung eines Polyelektrolytkomplexes (Symplex). Die Titrationsergebnisse der vier Proben sind in Tab. 31 zusammengefasst.

Tab. 31: Ladungsmengen bestimmt mit Hilfe von
Polyelektrolyttitration und ^{13}C -NMR

Probe	eq/g (PET)	mol% (^{13}C -NMR)
sPK 1	$2,77 \cdot 10^{-3}$	50
sPK 2	$3,31 \cdot 10^{-3}$	60
sPK 3	$3,01 \cdot 10^{-3}$	56
sPK 4	$2,54 \cdot 10^{-3}$	37

PET = Polyelektrolyttitration

Die bei der Polyelektrolyttitration ermittelten Werte reichen von $2,77 \cdot 10^{-3}$ bis $3,31 \cdot 10^{-3}$ eq/g für eine 0,03 %ige Polymerlösung. Die ^{13}C -NMR-Messungen haben Ladungsmengen von 37 bis 60 mol% ergeben. Beide Messmethoden zeigen die selben Tendenzen hinsichtlich der Ladungsmenge. sPK 4 hat die geringste Ladungsmenge, gefolgt von sPK 1, sPK 3 und sPK 2. Die höchste Ladungsmenge weist sPK 2 auf.

4.5.5 Ermittlung der Staudinger-Indices

Mittels Viskosimetrie wurden die Staudinger-Indices $[\eta]$, die Huggins-Konstanten k_H und die kritischen Konzentrationen c_{η}^* der synthetischen Polykationen ermittelt. $[\eta]$ liefert einen charakteristischen Wert für ein isoliertes Makromolekül in einem bestimmten Lösungsmittel und ist dabei ein Maß für das hydrodynamische Volumen, das von diesem Polymeren besetzt wird. Die Messungen wurden in 0,1 M, 0,5 M und 1 M NaNO_3 mit jeweils 3 mM NaN_3 bei 25°C durchgeführt. Mit Hilfe des $[\eta]$ lässt sich die Auswirkung der Knäuelaufweitung abschätzen, die auftritt, wenn die Lösungen nicht genügend Salz enthalten. In solchen Fällen können Ladungsabstoßungen aufgrund unzureichender Ladungsabschirmung auftreten.

Die Messpunkte wurden im Bereich von $\eta_r = 1,2$ bis $\eta_r = 2,5$ aufgenommen^[93]. In Abb. 85 sind am Beispiel von sPK 3 die Messreihen für die oben genannten Salzkonzentrationen aufgetragen. Die Werte für alle vier sPK-Proben sind in Tab. 32 zusammengetragen.

Die Messwerte bei einem Salzgehalt von 0,1 M reichen von 901 bis 1034 mL/g, bei 0,5 M von 424 bis 474 mL/g und bei einem 1 M Salzgehalt von 399 bis 473 mL/g. Alle Proben folgen einer Tendenz. 0,1 M Salz liefert den größten Staudinger-Index gefolgt von 0,5 M und 1 M Salz. Der Unterschied zwischen 0,1 M Salz und 0,5 M Salz ist größer als der zwischen 0,5 M und 1 M Salz. Bei 0,1 M Salz findet eine Knäuelaufweitung statt, da nicht ausreichend Gegenionen vorhanden sind, um die Coulomb-Wechselwirkungen abzuschirmen^[24]. Salzkonzentrationen von 0,5 M und 1 M enthalten genügend Gegenionen um die Ladungen abzusättigen. Daraus resultiert eine Volumenkontraktion im Gegensatz zur Lösung mit 0,1 M Salz.

Die Huggins-Konstanten k_H zeigen keine klare Tendenz, mit Ausnahme der von 0,1 M Salz. k_H ist ein relatives Maß für die Lösungsmittelgüte, wobei eine kleine k_H auf ein gutes Lösungsmittel und eine höhere k_H auf ein schlechteres Lösungsmittel hinweisen^[30]. Das aufgeweitete Molekül besitzt einen größeren Anteil an freien Ladungen, die zu einer verbesserten Löslichkeit beitragen (kleinere k_H). Mit höher werdendem Salzgehalt nimmt die Anzahl der freien, nicht abgesättigten Ladungen ab, was der Lösungsstruktur der Polymere den Charakter eines starren, wenig durchspülten Knäuels verleiht (größere k_H). Durch die abnehmende Ladungsmenge ändert sich ebenfalls das Lösungsverhalten. Anhand der k_H -Werte ist die 0,5 M Salzlösung ein schlechteres Lösungsmittel als eine 1 M oder 0,1 M Salzlösung.

93) W.-M. Kulicke, C. Clasen, *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Heidelberg, 2004

24) D. Held, *Disseration*, Johannes Gutenberg Universität, Mainz 2000

30) K.-F. Arndt, G. Müller, *Polymercharakterisierung*, Carl Hanser-Verlag, 1996

Tab. 32: Ergebnisse der Viskositätsmessungen
und der daraus berechneten kritischen Konzentrationen

Probe	c [mol/L]	$[\eta]$ [mL/g]	k_H	c^*_η [%]	c^*_{LS} [%]	c^*_η / c^*_{LS}
sPK 1	0,1	1034	0,339	0,24	0,030	8,01
sPK 1	0,5	464	2,380	0,54	0,039	13,7
sPK 1	1	460	1,730	0,54	0,033	16,3
sPK 2	0,1	1031	0,329	0,24	0,029	8,47
sPK 2	0,5	424	3,210	0,59	0,049	12,0
sPK 2	1	399	2,430	0,63	0,045	13,9
sPK 3	0,1	901	0,622	0,28	0,029	9,72
sPK 3	0,5	474	2,250	0,53	0,036	14,8
sPK 3	1	473	1,280	0,53	0,046	11,5
sPK 4	0,1	990	0,564	0,25	0,029	8,70
sPK 4	0,5	424	3,580	0,59	0,043	13,8
sPK 4	1	415	2,650	0,60	0,041	14,6

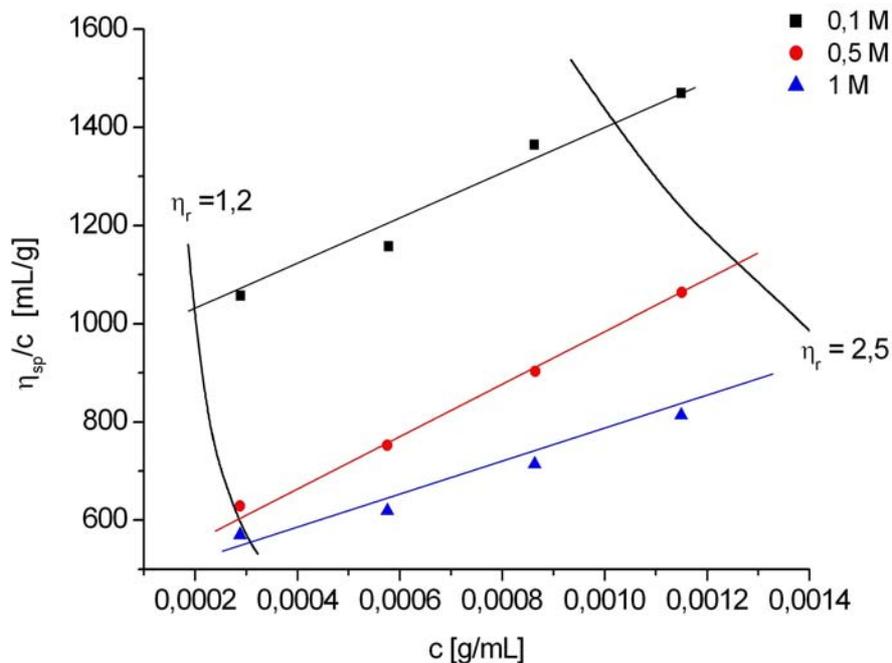


Abb. 85: Viskositätsmessungen von sPK 3 zur Bestimmung des Staudinger-Indexes in verschiedenen Salzkonzentrationen

Die kritischen Konzentrationen, berechnet aus den viskosimetrischen Daten (c_{η}^*), variieren von 0,24 % für die 0,1 M bis 0,6 % für die 1 M Salzkonzentration. Der Wert für c_{η}^* steigt von 0,1 M hin zu 1 M Salz bei sPK 2 und sPK 4 an, bei sPK 1 und sPK 3 sind die Werte für 0,5 M und 1 M Salzkonzentration gleich. Der Werte für die kritischen Konzentrationen, berechnet aus Lichtstreuungsmessungen (c_{LS}^*) liegen zwischen 0,029 % und 0,049 %. Für die 0,5 M Salzkonzentration ist die c_{LS}^* etwas höher als für 1 M Salzkonzentration. Das Verhältnis aus c_{η}^* / c_{LS}^* reicht von 8,01 für die 0,1 M Salzkonzentration bis zu 16,3 für die 1 M Salzkonzentration. Das Verhältnis c_{η}^* zu c_{LS}^* ist ein Maß für die Abweichung von Einsteins modellbehalteter Berechnung von c_{η}^* . Je näher sich das Verhältnis an 1 annähert, desto eher entspricht die Lösungsstruktur einer Kugel. Da bei allen Proben in allen Salzkonzentrationen das Verhältnis c_{η}^* / c_{LS}^* relativ groß ist, liegt in keinen Fällen eine knäuelähnliche Lösungsstruktur vor.

4.5.6 Bestimmung der M_w und R_G mittels aFFFF/MALLS/DRI

Die gewichtsmittleren Molmassen (M_w), die Gyrationradien (R_G) und die Wiederfindungsraten (WR) der vier sPK-Proben wurden mit einer gekoppelten Anlage vermessen, die sich aus einer asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF), einem Lichtstreuophotometer und einem Konzentrationsdetektor zusammensetzt. Die Proben wurden in 0,1 M, 0,5 M und 1 M NaNO_3 mit jeweils 3 mM NaN_3 bei Raumtemperatur (RT) vermessen. Nachfolgend werden in Abb. 86 - 88 die Elutionsdiagramme am Beispiel von sPK 3 in 0,1 und 1 M diskutiert. In Tab. 33 sind die Ergebnisse der M_w , R_G und WR bei verschiedenen Salzkonzentrationen tabellarisiert. Alle Messungen sind mit demselben Flussprofil (Kanalfloss $\dot{V}_z = 0,75$ mL/min und Querfluss $\dot{V}_x = 1$ mL/min) durchgeführt worden, um den Einfluss der unterschiedlichen Salzkonzentrationen bei gleichen Bedingungen besser beurteilen zu können.

In Abb. 86 ist die Messung von sPK 2 in 0,1 NaNO_3 mit 3 mM NaN_3 dargestellt. Für die Berechnung der Molmassen wurde ein dn/dc von 0,156 (eigene Messung) verwendet. Die Auswertung der Messung ergab eine M_w von $4,9 \cdot 10^6$ g/mol, einen R_G von 131 nm und eine WR von 77 %. RI- und LS-Signal zeigen ein monomodales Verhalten. Das verrauschte Signal ist auf temporäre Adsorption zurückzuführen. Die temporäre Adsorption ist auch verantwortlich für die lange Elutionszeit.

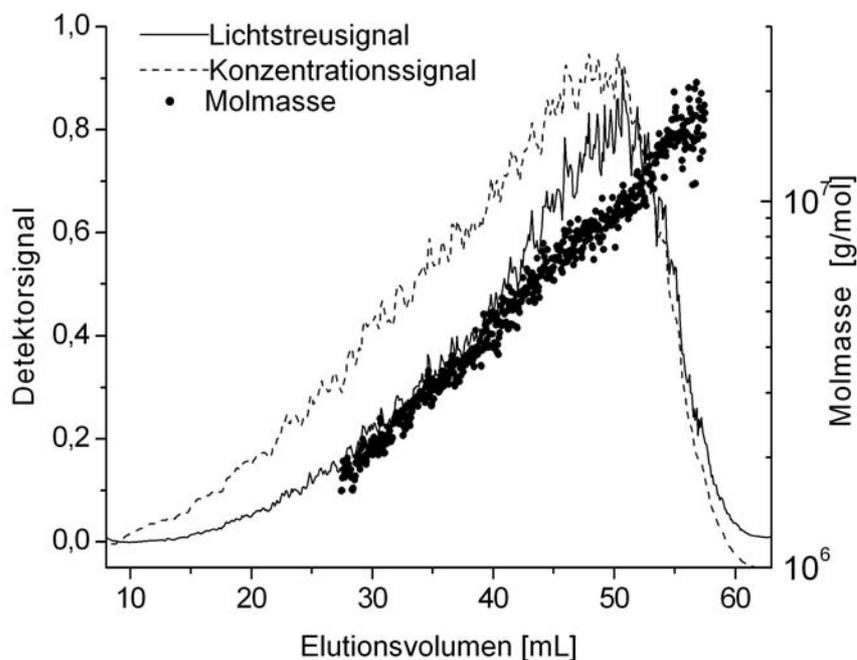


Abb. 86: Elutionsdiagramm von sPK 3, 0,1 M NaNO₃ mit 3 mM NaN₃, $\dot{V}_z = 0,75$ mL/min, $\dot{V}_x = 1$ mL/min, 25°C

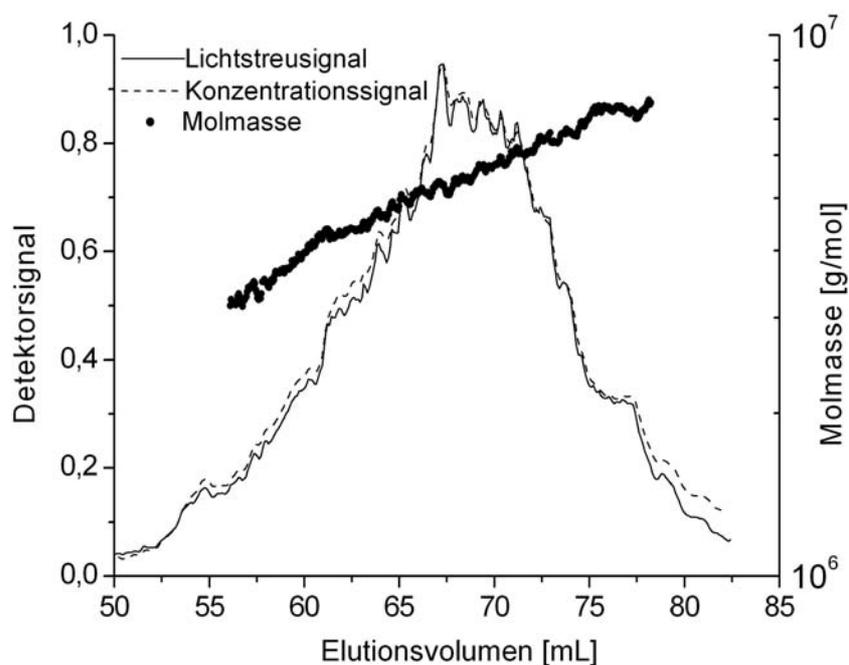


Abb. 87: Elutionsdiagramm von sPK 3, 1 M NaNO₃ mit 3 mM NaN₃, $\dot{V}_z = 0,75$ mL/min, $\dot{V}_x = 1$ mL/min bei 25°C

Abb. 87 zeigt das Elutionsdiagramm von sPK 3, aufgenommen in 1 M NaNO₃ mit 3 mM NaN₃. Die Messung ergab eine M_w von $5,5 \cdot 10^6$ g/mol, einen R_G von 116 nm und eine WR von 51 %. Für die Auswertung der Messungen in einer 1 M Salzkonzentration wurde ein dn/dc von $0,162^{[157]}$ verwendet (für die Messungen in 0,5 M wurde ein dn/dc von $0,158^{[154]}$ verwendet). RI- und LS-Signal zeigen auch bei dieser Messung ein monomodales Verhalten. Im Gegensatz zu Abb. 86 ist das Signal nicht ganz so stark verrauscht, was auch bei den Messungen in 0,5 M Salz zu beobachten war. Die Elutionszeit der peakbildenden Polymerfraktionen ist ebenfalls kürzer als die Messung in einer 0,1 M Salzkonzentration. Bei der Messung in einer 0,1 M Salzkonzentration könnten Adsorptionsprozesse die Elutionszeit der peakbildenden Polymerfraktionen die Elutionszeit erhöht haben. Durch Erhöhung des Salzgehalts konnten die Elutionszeiten der peakbildenden Polymerfraktionen verkürzt werden.

Tab. 33: Ergebnisse für Molmassen, Gyrationradien auf Wiederfindungsraten in verschiedenen Salzgehalten von sPK 1 bis sPK 4

Probe	c [mol/L]	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]
sPK 1	0,1	$4,5 \cdot 10^6$	125	68
sPK 1	0,5	$5,0 \cdot 10^6$	121	32
sPK 1	1	$4,3 \cdot 10^6$	119	61
sPK 2	0,1	$6,0 \cdot 10^6$	136	71
sPK 2	0,5	$6,5 \cdot 10^6$	120	41
sPK 2	1	$6,9 \cdot 10^6$	126	66
sPK 3	0,1	$4,9 \cdot 10^6$	131	77
sPK 3	0,5	$5,3 \cdot 10^6$	125	40
sPK 3	1	$5,5 \cdot 10^6$	116	51
sPK 4	0,1	$6,0 \cdot 10^6$	137	62
sPK 4	0,5	$6,7 \cdot 10^6$	127	33
sPK 4	1	$6,6 \cdot 10^6$	128	61

In Tab. 33 sind für alle vier Proben die Ergebnisse aufgelistet. Die Molmassen einer Probe bei unterschiedlichen Salzgehalten liegen dicht beieinander. Die Gyrationradien nehmen i.d.R. mit zunehmenden Salzgehalt ab, wobei die Ausnahme hierbei sPK 2 ist. Die WR ist bei einer 0,1 M Salzkonzentration höher als bei einer 0,5 M und einer 1 M Salzkonzentration. Ungewöhnlich

157) T. Griebel, W.-M. Kulicke, Makromol. Chem., **193**, (1992), 811-821

154) W.-M. Kulicke, A. Jacobs, Makromol. Chem., Makromol. Symp., **61**, (1992), 59-74

sind die WR der Messungen bei einem 0,5 M Salzgehalt. Diese sind niedriger als die von der 1 M und der 0,1 M Salzkonzentration. Bei diesem Salzgehalt adsorbiert ein großer Teil der Probe auf der Membran, was in einer sehr mäßigen WR resultiert. Die Elutionszeit wird dadurch nicht verlängert. Diese ist vergleichbar mit der von der 1 M Salzkonzentration.

In Abb. 88 ist die kumulative Molmassenverteilung und in Abb. 89 ist die differentielle Molmassenverteilung von sPK 3 in 0,1 M, 0,5 M und 1 M NaNO_3 mit jeweils 3 mM NaN_3 abgebildet. In beiden Molmassenverteilungen spiegelt sich der Einfluss der Salzkonzentrationen wider. Die drei Verteilungen weisen eine unterschiedliche Breite auf, obwohl es dieselbe Probe in verschiedenen Salzgehalten ist. SPK 1, sPK 2 und sPK 4 zeigen ähnliche Verteilungen. Die Verteilung der Messung in einer 0,1 M Salzkonzentration (schwarz) neigt aufgrund nicht ausreichender Gegenionenkonzentration zur Ladungsabschirmung. Daraus resultiert eine elektrostatische Abstoßung, die eine breite Verteilung ergibt. Die Breite der Verteilungen von der 0,5 M (rot) und der 1 M Salzkonzentration (blau) sind schmäler, wobei letztere etwas breiter ist als die von der 0,5 M Salzkonzentration (rot). Der Konzentration an Gegenionen ist ausreichend, um die Ladungen am Polymermolekül abzuschirmen. Das scheint zu einer schmäleren Verteilung zu führen.

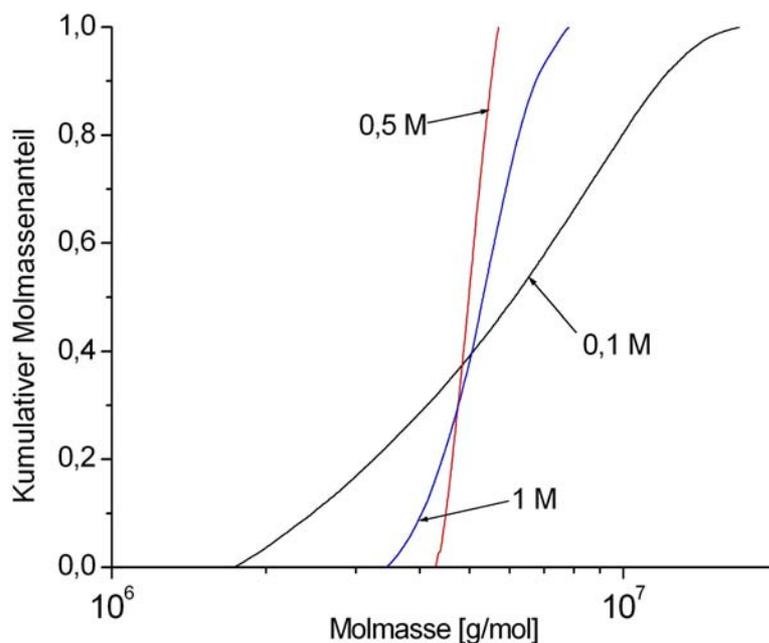


Abb. 88: Kumulative Molmassenverteilung von sPK 3 in 0,1 M, 0,5 M und 1 M NaNO_3 mit jeweils 3 mM NaN_3

Die differentielle Molmassenverteilung in Abb. 89 liefert zusätzlich noch die Information, dass die Polymerfraktionen unterschiedliche Gewichtsanteile zeigen. Fraktionen mit den höchsten Gewichtsanteilen gibt die Verteilung der 0,5 M Salzkonzentration (rot) an, gefolgt von der Verteilung der 1 M Salzkonzentration (blau). Dies kann mit dem hohen Salzgehalt zusammenhängen. Die Molmassenverteilung der 0,1 M Salzkonzentration (schwarz) weist Fraktionen mit geringen Gewichtsanteilen auf, ist dafür aber breiter als die beiden anderen Verteilungen. Der Unterschied in der Verteilungsbreite der Messungen in der 0,5 M (rot) und der 1 M Salzkonzentration (blau) kann besser aus der kumulativen Molmassenverteilung abgelesen werden.

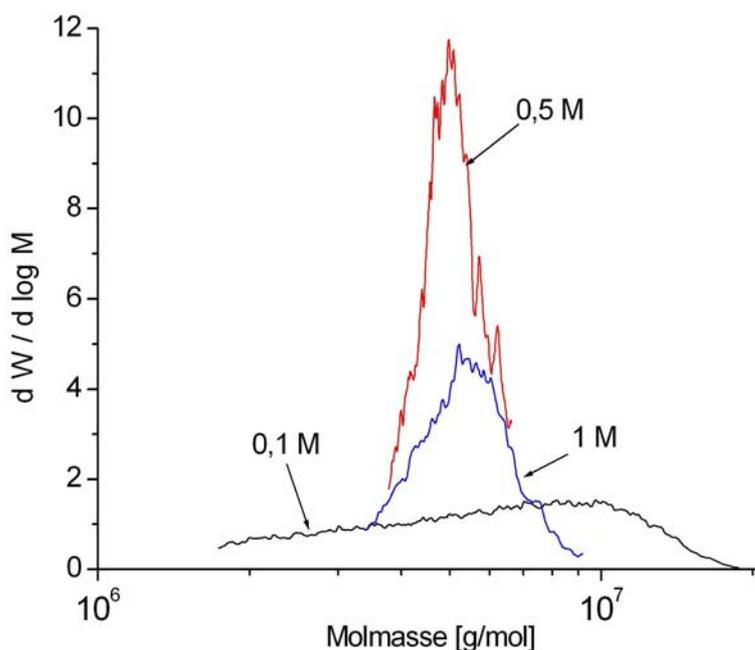


Abb. 89: Differentielle Molmassenverteilung von sPK 3 in 0,1 M, 0,5 M und 1 M NaNO₃ mit jeweils 3 mM NaN₃

R_G-M-Beziehungen konnten nur für sPK 3 bestimmt werden. In Tab. 34 sind die Werte für K_{RG} und ν zusammengefasst. Der Strukturparameter ν rangiert von 0,51 für die Messung in 1 M Salzkonzentration bis 0,87 für die Messung in einer 0,1 M Salzkonzentration. In Anlehnung an Tab. 5 in Kap. 3.2.3 weist ein ν von 0,87 auf eine fast stäbchenförmige Struktur hin. Dies würde darauf hindeuten, dass die durch Ladungsabstoßung bedingte Knäuelaufweitung dem Polymermolekül eine gewisse Starrheit verleiht. Bei einem Salzgehalt von 0,5 M gleicht die Lösungsstruktur einem teilweise durchspültem Knäuel, wobei sich bei einem Salzgehalt von 1 M die Lösungsstruktur der eines undurchspültem Knäuels annähert. Bei den anderen Proben

konnten keine Strukturparameter wegen zu großer Fehler berechnet werden.

Tab. 34: Ergebnisse der RG-M-Beziehung bei unterschiedlichen Salzgehalten

Probe	c [mol/L]	K_{RG}	ν
sPK 3	0,1	1,53	0,87
sPK 3	0,5	0,0072	0,57
sPK 3	1	0,045	0,51

4.6 Charakterisierung von aggregatbildenden Polymeren

4.6.1 Probenpräparation bei Sulfoethylcellulose

Es wurden fünf verschiedene Sulfoethylcellulosen (SuEC) mit unterschiedlichem durchschnittlichem Substitutionsgrad (DS) vermessen. Der Trockengehalt (TR) der Proben wurde im Trockenschrank bei 105°C bis zur Massenkonstanz ermittelt (s. Tab. 35). Da es sich bei der SuEC um ein Polyanion handelt, ist in der Probe das entsprechende Gegenion Natrium (Na^+) enthalten ebenso wie Salz, welches nach der Neutralisation beim Herstellungsprozess aus Kostengründen nicht entfernt wurde. Dieser Salzgehalt wirkt sich nachteilig auf die Wiederfindungsrate (WR) aus (die WR ergibt sich aus der eingespritzten Polymermenge und der von der Auswertungs- und Messsoftware ASTRA[®] ermittelten Polymermenge, s. Kap. 4.1) Der Salzgehalt wurde nach Aufschluss mittels Atomadsorptionsspektroskopie bestimmt. Zur Abtrennung des Salzes wurde der Probensatz zusätzlich dialysiert. Die nachfolgenden Messungen wurden jeweils an den salzhaltigen und an den dialysierten Proben durchgeführt, um einen möglichen Einfluss des probeneigenen Salzgehalts auf die Probenpräparation zu untersuchen. In diesem Kapitel wird über die Probenpräparation und über die Messungen mittels Größenausschlusschromatographie und asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung im Vergleich berichtet. Eine weiterführende Charakterisierung ist in Referenz^[158], zu finden.

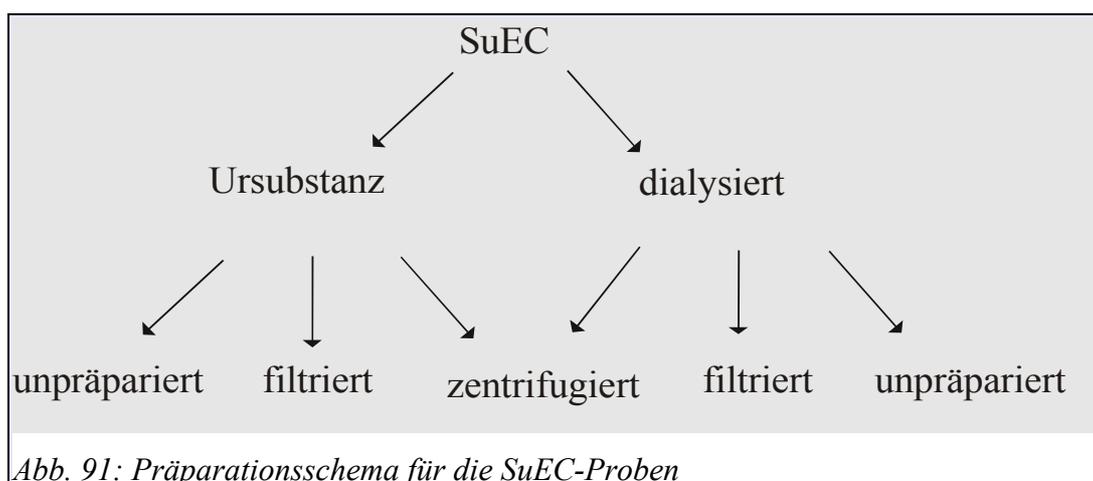


Abb. 90. Aussehen der Stammlösung von SuEC 2 vor der Probenpräparation

Abb. 90 zeigt die Stammlösung von SuEC 2 mit unlöslichen Bestandteilen vor der Probenpräparation. Die Lösungen der anderen Proben ebenso wie die der dialysierten, sehen ähnlich aus. SuEC 2 weist den höchsten Anteil an unlöslichen Bestandteilen auf sowie den niedrigsten DS. Bei den unlöslichen Bestandteilen handelt es sich um Cellulosefasern und um Aggregate^[158]. Mit Ausnahme von SuEC 1 nimmt die durch die Aggregate hervorgerufene Trübung mit steigenden DS ab. Die Sulfoethylcellulosen mit den hier verwendeten DS lösen sich in wässrigen Systemen (wie viele andere Cellulosederivate) nicht vollständig molekulardispers. Da Aggregate die LS-Messungen beeinträchtigen, ist eine Probenpräparation sehr wichtig. Aggregathaltige Proben können die Kapillaren oder der Vorsäule verstopfen oder auf dem Säulenfüllmaterial adsorbieren. Es wurden zwei verschiedene Methoden der Probenpräparation im Vergleich zur unpräparierten Lösung untersucht:

- 1) Filtration mit unterschiedlichen Porengrößen (11 μm , 20 μm , 60 μm)
- 2) Zentrifugation (45 min bei 13.000 rpm)
- 3) keine Probenpräparation (unpräpariert)

Mit Hilfe der Messungen soll die Güte der einzelnen Methoden überprüft werden. In Abb. 91 sind die Messreihen schematisch gezeigt.



Bei der Filtration der Stammlösung ist bei allen Proben ein Rückstand auf dem Filtermaterial zurückgeblieben, der gravimetrisch bestimmt wurde. Nach der Zentrifugation wurden keine Rückstände festgestellt. In Tab. 35 sind zudem die Salzgehalte (Na^+ -Gehalt) der Proben aufgeführt.

Tab. 35: Ergebnisse für den Trockengehalt, den DS, den Salzgehalt und den Filtrationsrückstand der SuEC-Proben

Probe	TR [%]	DS	Salzgehalt Na^+ [%]	Rückstand [%]	Porengröße [μm]
SuEC 1	86,9	0,51	6,4	2,0	20, 11
SuEC 2	86,7	0,34	3,4	2,9	60, 20, 11
SuEC 3	90,4	0,36	4,8	0,9	20, 11
SuEC 4	90,1	0,40	4,3	1,1	20, 11
SuEC 5	90,4	0,40	14,9	1,5	20, 11

In Abb. 92 soll ein Augenmerk auf die Auswirkung der unterschiedlichen Probenpräparation gerichtet werden. Als Darstellungsweise wurde hier die differentielle Molmassenverteilung gewählt. Am Beispiel von Probe SuEC 3 werden die Unterschiede diskutiert.

Die Verteilungen der dialysierten Proben liegen übereinander, die aus der Ursubstanz variieren. Folglich spielt die Art der Probenpräparation bei den dialysierten Probe keine Rolle. Beide Methoden sind gleich effizient. Der probeneigene Salzgehalt scheint die Probenpräparation zu beeinflussen.

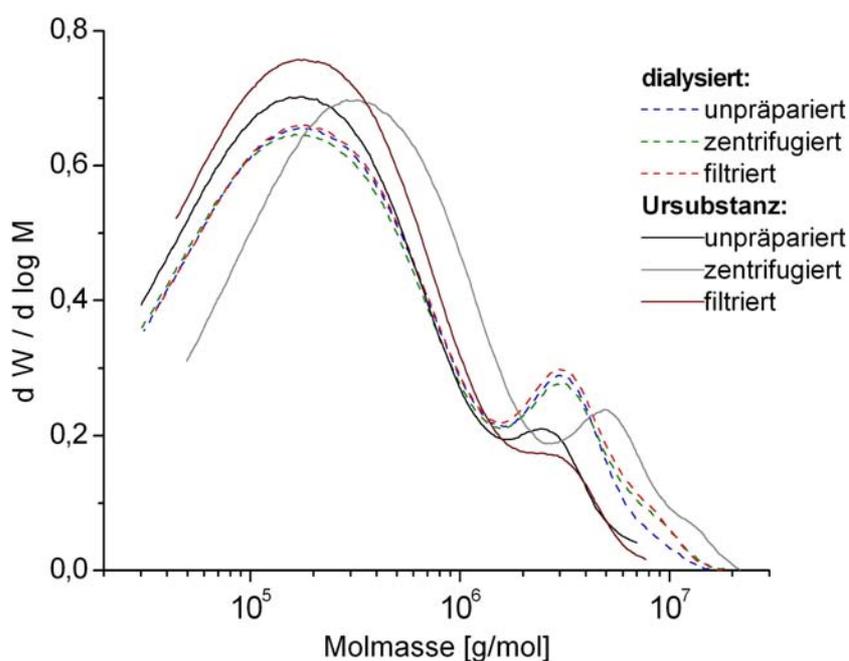


Abb. 92: Differentielle Molmassenverteilung von SuEC 3 zur Verdeutlichung der Unterschiede bei der Probenpräparation

Das zweite Maximum aller Verteilungen bei $3 \cdot 10^6$ g/mol ist ein Indiz dafür, dass ein bestimmter Anteil an hochmolekularem Material (Fraktionen $> 10^6$ g/mol) nicht abgetrennt wurde. Es zeigt aber auch, dass das hochmolekulare Material nicht einheitlich zusammengesetzt ist. Der hochmolekulare Anteil setzt sich aus mit dem Auge nicht sichtbaren Makrogelen (> 500 nm) und Mikrogele (< 500 nm) zusammen. Makrogele werden aufgrund ihrer Größe durch Probenpräparation entfernt, Mikrogele nicht. Die in der Probe verbliebenen Mikrogele konnten die Vorsäule passieren.

Bei den Molmassenverteilungen der salzhaltigen Probe sind Unterschiede zwischen den einzelnen Methoden zu erkennen. Das Maximum, welches dem hochmolekularen bzw. dem Aggregatanteil zuzuordnen ist, verschiebt sich von $5 \cdot 10^6$ g/mol bei der Verteilung der zentrifugierten Probe (grau), übergehend in eine ausgeprägte Schulter bei $2,5 \cdot 10^6$ g/mol bei der Verteilung der unpräparierten Probe (schwarz) hinzu einer einfachen Schulter bei der Verteilung der filtrierten Probe (braun) ($2,5 \cdot 10^6$ g/mol). Der Übergang von Maximum zu Schulter macht den Unterschied zwischen Zentrifugation und Filtration deutlich. Durch die Filtration wurden größere Aggregate abgetrennt, nicht aber bei der Zentrifugation. Bei der unpräparierten Probe wurde ein erheblicher Anteil der Aggregate bei der Größenausschlusschromatographie von der Vorsäule zurückgehalten. Die Verteilung der

zentrifugierten Probe (braun) ist zu höheren Molmassen hin verschoben. Dies ist eine Bestätigung dafür, dass bei der Filtration mehr Fraktionen abgetrennt werden, was die Werte in Tab. 36 in Kap. 4.6.2 zum Ausdruck bringen. Die Molmassen sind niedriger als die der zentrifugierten Proben. Die Zentrifugation ist für jede Art von Proben ungeeignet, da der Aggregatanteil nicht abgetrennt wird. Besser geeignet ist eine Probenpräparation durch Filtration. Bei den anderen Proben SuEC 1, SuEC 3 und SuEC 5 zeigen die Molmassenverteilungen dieselbe Tendenz wie in Abb. 92.

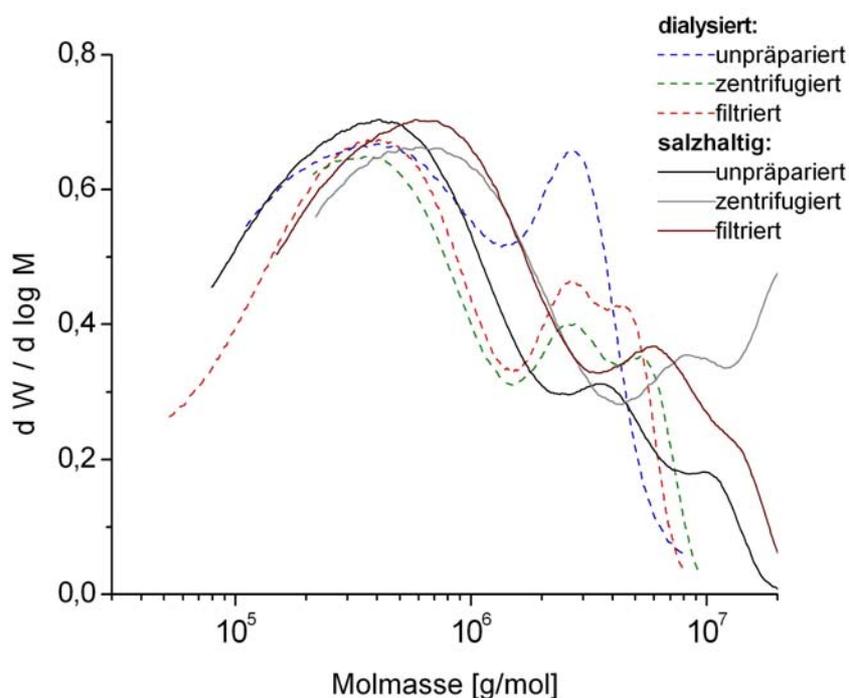


Abb. 93: Differentielle Molmassenverteilung von SuEC 2 zur Verdeutlichung der Unterschiede bei der Probenpräparation

In Abb. 93 ist die differentielle Molmassenverteilungsübersicht von SuEC 2 dargestellt. Bei dieser Probe treten Unterschiede bei der Probenpräparation der dialysierten Proben auf. Es ist deutlich zu erkennen, dass bei der Verteilung der dialysierten filtrierten Probe (dunkelgrün) und bei der dialysierten zentrifugierten (rot) ein bestimmter Anteil an Aggregaten abgetrennt wurde. Das ist daran zu erkennen, dass die zweiten Maxima unterhalb der des zweiten Maximums der dialysierten unpräparierten Verteilung (dunkelblau) liegen. Vergleicht man alle Verteilungen der dialysierten Proben, so sind diese aussagekräftiger als die der salzhaltigen Proben, da die Verteilungen nahezu übereinander liegen.

Bei den Verteilungen der salzhaltigen Proben tritt eine Verschiebung der Verteilung der

zentrifugierten (grau) und der filtrierten Probe (braun) hin zu höheren Molmassen auf. Die Verschiebung der Verteilungen ist dadurch zu erklären, dass bei der Messung der unpräparierten Probe (schwarz) die „Probenpräparation“ von der Vorsäule übernommen wurde. Die Vorsäule hat mehr hochmolekulare Fraktionen abgetrennt als durch die Zentrifugation und die Filtration abgetrennt wurde. Messungen ohne Probenpräparation sind nicht zu empfehlen. Filtration und Zentrifugation ergeben vergleichbare Ergebnisse.

4.6.2 Bestimmung der M_w und R_G mittels SEC/MALLS/DRI

Am Beispiel der zentrifugierten, salzhaltigen Proben werden nachfolgend die Elutionsdiagramme (Abb. 94 – 98) diskutiert. Die Elutionsdiagramme der salzhaltigen (filtriert, zentrifugiert oder unpräpariert) ebenso wie der dialysierten Proben (filtriert, zentrifugiert oder unpräpariert) variieren bei den Proben SuEC 3 – SuEC 5 kaum. SuEC 1 weist nur leichte Abweichungen zwischen den einzelnen Messreihen auf, wohingegen deutliche Unterschiede bei SuEC 2 auftreten.

Alle Messungen wurden mit Pl_{aqua} -Säulen der Firma PolymerLabs bei einem Fluss von 0,5 mL/min in 0,1 M Natriumnitrat mit 3 mM Natriumazid (LS-Lösungsmittel) bei 25°C durchgeführt. Für die Berechnung der Molmassen wurde ein dn/dc von 0,161 verwendet^[158].

In Abb. 94 wird das Elutionsdiagramm von der Probe SuEC 1 gezeigt. Die Auswertung hat für SuEC 1 eine M_w von $1,5 \cdot 10^6$ g/mol, einen R_G von 114 nm und eine WR von 63 % ergeben. Das LS-Signal weist ein Maximum bei 18 mL und zwei Schultern bei 17 mL und 20 mL auf. Die steile linke Flanke des LS-Signals ist ein Anzeichen dafür, dass Aggregate, die von der Vorsäule nicht zurückgehalten wurden, ohne Trennung eluiert sind. Da das hydrodynamische Volumen der Aggregate größer als die größten Poren waren, erfolgt keine Trennung (Größenausschluss, engl. exclusion limit). Die abgeflachte, rechte Flanke des LS-Signals entsteht dadurch, dass ein hoher Anteil an niedermolekularen Fraktionen langsamer eluiert als größere Moleküle. Dies kann man mit der unterschiedlichen effektiven Weglänge für kleine und große Moleküle erklären. Diese ist für kleine Moleküle, die in alle Poren hinein diffundieren können, größer als für große Moleküle^[159].

Die hohe Konzentration an niedermolekularen Fraktionen wird durch das Maximum des RI-

158) T.A. Wilhelms, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 2005

159) W.-M. Kulicke, S. Lange, D. Heins, T. Provder (Ed.) ACS Symposium Series 731 – Chromatography of polymers, John Wiley & Sons Inc., New York, 1999, Kap. 9

Signals bei 21 mL bestätigt. Zwischen 15 und 20 mL besitzt das RI-Signal zwei leichte Schultern, die auf Höhe der Schulter bzw. des Maximums des LS-Signals liegen.

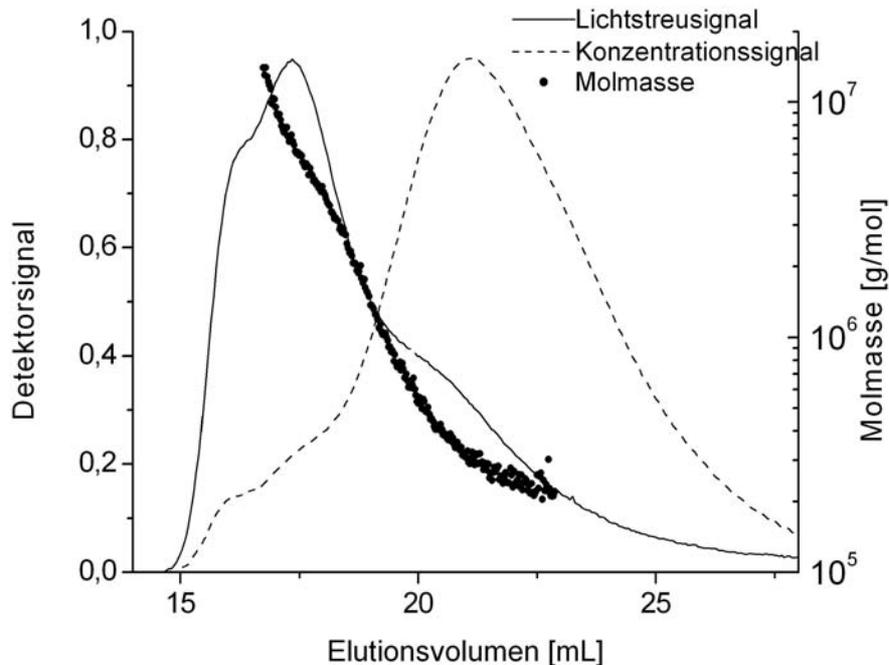


Abb. 94: Elutionsdiagramm von SuEC 1, salzhaltig, zentrifugiert, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Abb. 95 zeigt das Elutionsdiagramm von SuEC 2. Die Auswertung hat für SuEC 2 eine M_w von $3,5 \cdot 10^6$ g/mol, einen R_G von 82 nm und eine WR von 56 % ergeben. Im Vergleich zu SuEC 1 treten hier Schulter und Maximum des LS-Signals in umgekehrter Reihenfolge auf, das Maximum bei 16 mL und die Schulter bei 17 mL. Das RI-Signal zeigt ein trimodales Verhalten mit drei nicht basisliniengetrennten Maxima. Das erste liegt fast auf gleicher Höhe wie das des LS-Signals, das zweite bei 18 mL und ein Hauptmaximum bei 22 mL. Letzteres zeigt wiederum, dass die Probe eine hohe Konzentration an niedermolekularen Fraktionen beinhaltet.

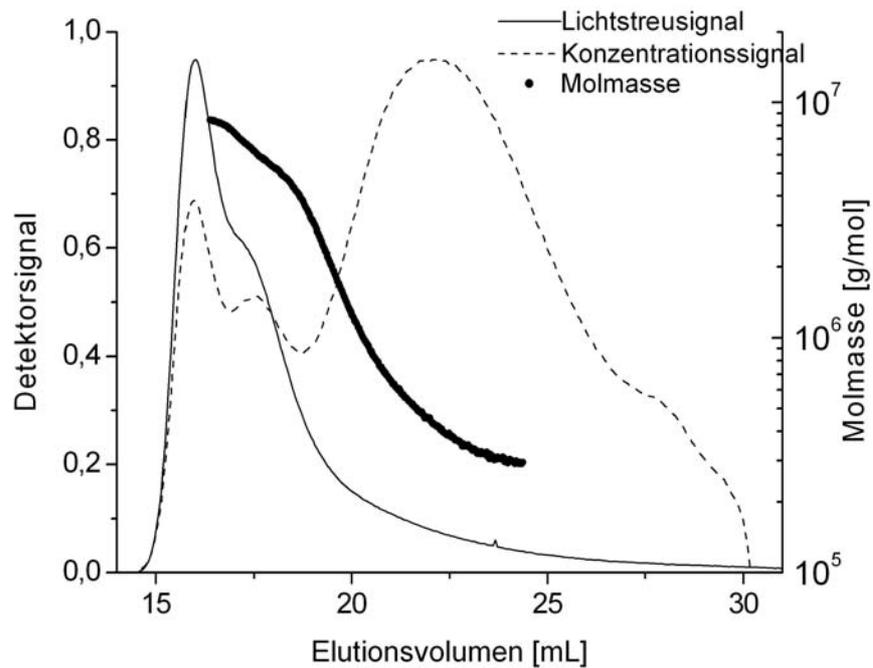


Abb. 95: Elutionsdiagramm von SuEC 2, salzhaltig, zentrifugiert, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

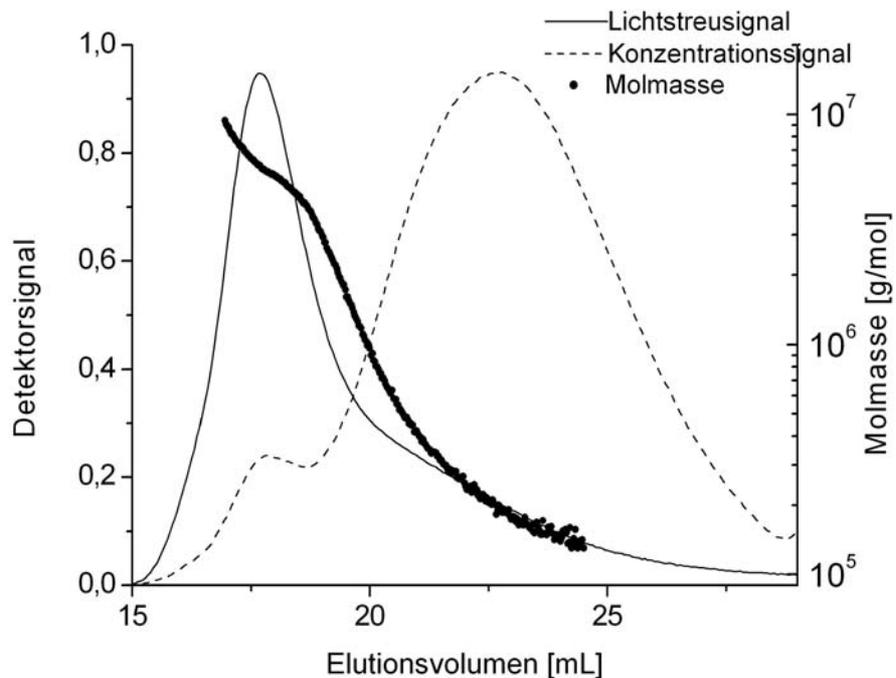


Abb. 96: Elutionsdiagramm von SuEC 3, salzhaltig, zentrifugiert, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Das Elutionsdiagramm von SuEC 3 ist in Abb. 96 gezeigt. Die Auswertung hat für SuEC 3 eine M_w von $8,7 \cdot 10^5$ g/mol, einen R_G von 66 nm und eine WR von 78 % ergeben. Das LS-Signal zeigt einen monomodalen Verlauf mit einem Maximum bei 18 mL. Das RI-Signal besitzt auf Höhe des Maximums des LS-Signals eine ausgeprägte Schulter und das Maximum tritt wie in Abb. 96 und 97 im niedermolekularen Bereich auf.

Das Elutionsprofil von SuEC 4 zeigt Abb. 97. Die Auswertung hat für SuEC 4 eine M_w von $1,3 \cdot 10^6$ g/mol, einen R_G von 74 nm und eine WR von 76 % ergeben. Mit guter Übereinstimmung zu SuEC 3 hat das LS-Signal bei 18 mL ein Maximum. Die linke Flanke des LS-Signals zeigt hingegen eine leichte Schulter. Das RI-Signal zeigt ein bimodales Verhalten mit zwei nicht basisliniengetrennten Maxima. Das erste Maximum liegt auf Höhe des Maximums des LS-Signals, das zweite auf Höhe der rechten Flanke des LS-Signals mit der abgeflachten Flanke, wobei das zweite Maximum intensiver ist. Das Elutionsdiagramm in Abb. 97 ähnelt im Aussehen dem von Abb. 96.

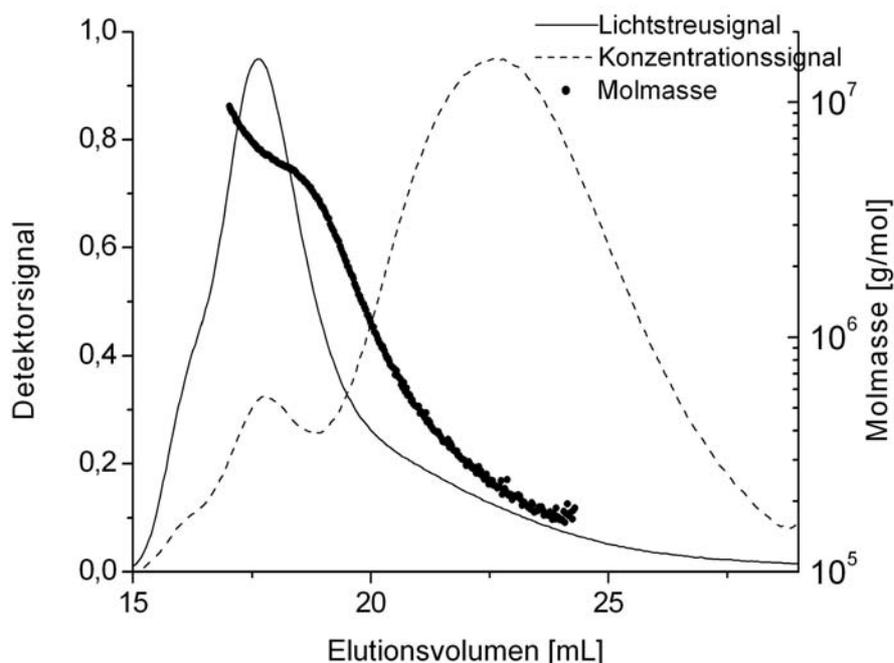


Abb. 97: Elutionsdiagramm von SuEC 4, salzhaltig, zentrifugiert, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

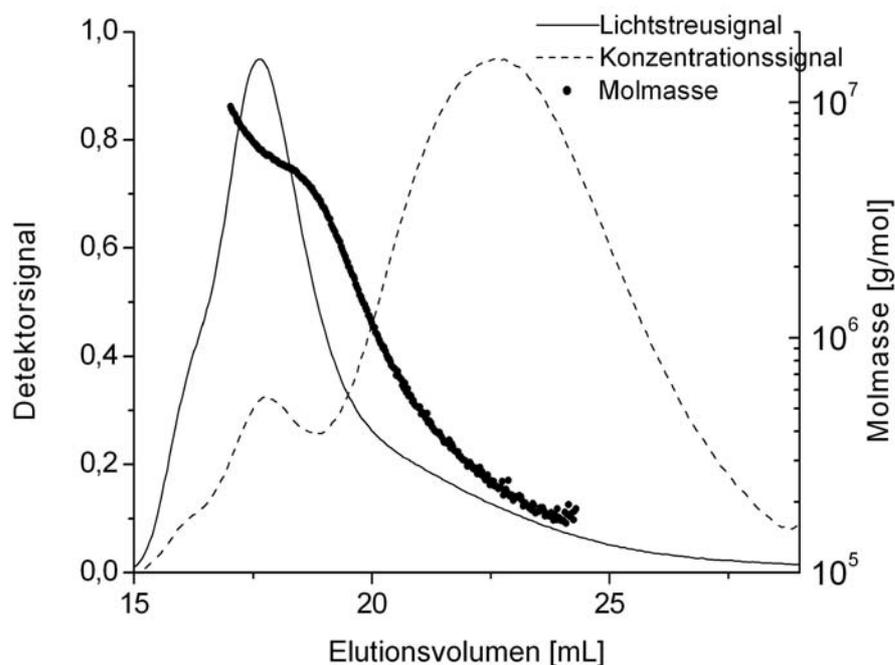


Abb. 98: Elutionsdiagramm von SuEC 5, salzhaltig, zentrifugiert, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Abb. 98 stellt das Elutionsdiagramm von SuEC 5 dar. Die Auswertung hat für SuEC 5 eine M_w von $8,5 \cdot 10^5$ g/mol, einen R_G von 78 nm und eine WR von 78 % ergeben. Die Lagen der Maxima von RI- und LS-Signal ähneln den Elutionsdiagrammen von SuEC 3 und SuEC 4. Wie auch bei den Proben SuEC 1 bis SuEC 4 beinhaltet die Probe SuEC 5 einen hohen Anteil an niedermolekularen Fraktionen, was durch das Maximum des RI-Signals bei 23 mL wiedergegeben ist.

Um den hohen Gehalt an niedermolekularen Fraktionen der Proben SuEC 1 bis SuEC 5 prozentual zu erfassen, wurde die Darstellung der kumulativen Molmassenverteilung gewählt (Abb. 99). Anhand der kumulativen Verteilung ist ersichtlich, dass 75 % der Polymerfraktionen von SuEC 1 und SuEC 4 kleiner 10^6 g/mol sind, 80 % bei SuEC 3 und SuEC 5. Bei SuEC 2 sind es 40 % der Polymerfraktionen.

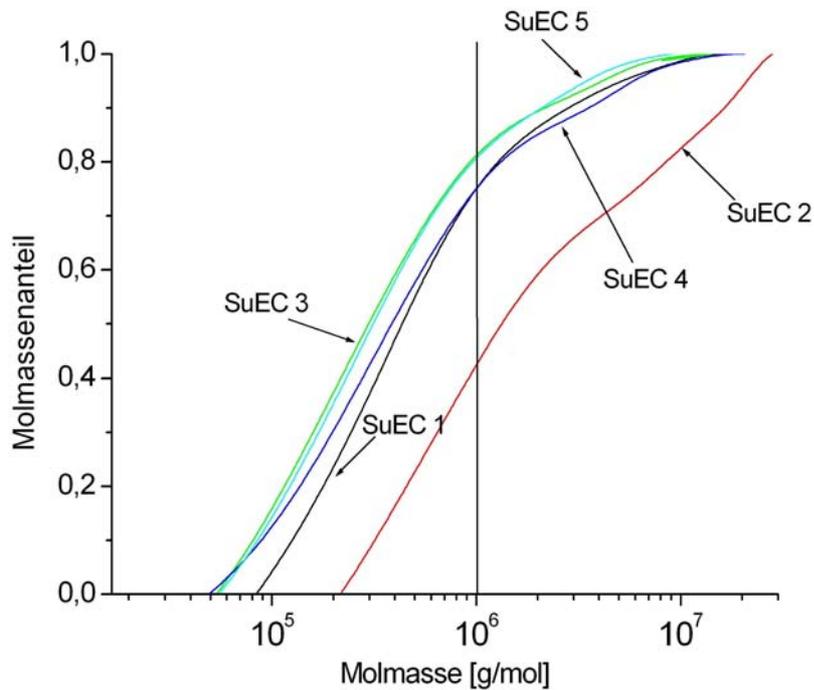


Abb. 99: Kumulative Molmassenverteilung der Proben SuEC 1 bis SuEC 5, salzhaltig, zentrifugiert

Zu den einzelnen Messreihen, wie sie in Abb 91 schematisch angegeben sind, sind in Tab. 36 die Messwerte der M_w , der R_G und der WR aufgelistet. Vergleicht man die Messungen der unpräparierten, salzhaltigen Proben SuEC 1 und SuEC 2 mit den filtrierte, salzhaltigen Proben, fällt auf, dass die Molmassen von Ersteren niedriger sind. Die M_w von SuEC 3 bis SuEC 5 verhalten sich entgegengesetzt zu dieser Tendenz, ebenso wie die R_G . Die entsprechenden dialysierten Proben ergeben für die unpräparierte Messreihe kleinere M_w . Für die R_G ist keine Tendenz ablesbar. Das lässt sich vielleicht durch die Auswertung erklären, da R_G über die Steigung bestimmt wird (s. Abb. 22 in Kap. 3.5.3). Im Schnitt sind die WR der dialysierten Messreihen im Vergleich zu den salzhaltigen Messreihen größer, obwohl Letztere um den Salzgehalt und die filtrierte Messreihe zusätzlich um den Filtrationsrückstand korrigiert wurden. Das spricht dafür, dass der probeneigene Salzgehalt einen stärkeren Einfluss ausübt, als aus den Elutionsdiagrammen ersichtlich ist.

Tab. 36: Ergebnisübersicht der SuEC-Proben bei unterschiedlicher Probenpräparation

Probe	M _w [g/mol]	R _G [nm]	WR [%]	Probenpräp.	Dialyse
SuEC 1	7,5 · 10 ⁵	122	75	unpräpariert	---
SuEC 2	2,1 · 10 ⁶	115	62	unpräpariert	---
SuEC 3	4,1 · 10 ⁵	63	77	unpräpariert	---
SuEC 4	6,4 · 10 ⁵	79	80	unpräpariert	---
SuEC 5	5,6 · 10 ⁵	101	84	unpräpariert	---
SuEC 1	9,1 · 10 ⁵	121	71	filtriert	---
SuEC 2	2,3 · 10 ⁶	88	70	filtriert	---
SuEC 3	3,7 · 10 ⁵	59	81	filtriert	---
SuEC 4	5,6 · 10 ⁵	67	80	filtriert	---
SuEC 5	4,2 · 10 ⁵	83	85	filtriert	---
SuEC 1	1,5 · 10 ⁶	114	63	zentrifugiert	---
SuEC 2	3,5 · 10 ⁶	82	56	zentrifugiert	---
SuEC 3	8,7 · 10 ⁵	66	78	zentrifugiert	---
SuEC 4	1,3 · 10 ⁶	74	76	zentrifugiert	---
SuEC 5	8,5 · 10 ⁵	78	78	zentrifugiert	---
SuEC 1	1,0 · 10 ⁶	99	75	unpräpariert	X
SuEC 2	1,6 · 10 ⁶	72	44	unpräpariert	X
SuEC 3	5,7 · 10 ⁵	67	66	unpräpariert	X
SuEC 4	9,0 · 10 ⁵	84	74	unpräpariert	X
SuEC 5	5,2 · 10 ⁵	78	73	unpräpariert	X
SuEC 1	1,0 · 10 ⁶	96	85	filtriert	X
SuEC 2	2,9 · 10 ⁶	130	60	filtriert	X
SuEC 3	5,9 · 10 ⁵	75	76	filtriert	X
SuEC 4	9,6 · 10 ⁵	87	76	filtriert	X
SuEC 5	7,2 · 10 ⁵	86	76	filtriert	X
SuEC 1	1,3 · 10 ⁶	122	73	zentrifugiert	X
SuEC 2	2,4 · 10 ⁶	117	71	zentrifugiert	X
SuEC 3	6,1 · 10 ⁵	76	80	zentrifugiert	X
SuEC 4	9,7 · 10 ⁵	97	78	zentrifugiert	X
SuEC 5	6,5 · 10 ⁵	82	81	zentrifugiert	X

Abweichend verhält sich hier die Messreihe der zentrifugierten Proben, da die M_w im Schnitt größer sind. Innerhalb einer Messreihe folgen nicht immer alle Proben einer Tendenz.

Einige der ermittelten M_w sind im allgemeinen für Cellulose bzw. deren Derivate zu hoch. 10^6 g/mol stellt eine Obergrenze für Cellulosederivate aus natürlichen Quellen wie z.B. Holz oder Baumwolle dar^[158]. Diese hohe Molmasse kann demnach nur durch Aggregation der Polymerknäuel, hauptsächlich durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen Molekülen, hervorgerufen worden sein. Durch den geringen Substitutionsgrad der SuEC und der damit verbundenen geringen Ionizität der Polymere bilden sich aufgrund einer nicht ausreichenden ionischen Abstoßung der Polymerknäuel Cluster. Die bestehen aus mehreren einzelnen Polymermolekülen. SuEC ist demzufolge nur mäßig für die Charakterisierung geeignet. Abhilfe würde hier eine Derivatisierung z.B. eine Methylierung schaffen. Durch diese Hydrophobierung der SuEC können sich keine Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den SuEC-Molekülen ausbilden. Diese Proben würden sich molekulardispers lösen und folglich die Molmasse des Einzelmoleküls wiedergeben^[31]. Der Nachteil bei einer Derivatisierung besteht darin, dass man nicht ohne weiteres von der derivatisierten Probe auf die ursprüngliche Probe schließen kann, weil das Derivat nicht mehr dem Ursprungsmolekül entspricht.

Die Kenntnis der Molmassen von SuEC ist bei der Herstellung von Symplexmembranen wichtig. Die Neigung, Aggregate zu bilden, hat auch einen Einfluss auf die Bildung von Symplexmembranen, insbesondere, wenn Polykationen geringer Molmasse zum Einsatz kommen. Hierbei wird die Struktur des interpenetrierenden Netzwerks maßgeblich durch die Knäuelgröße und damit auch Aggregatgröße der SuEC bestimmt. Bei vielen Anwendungen (auch Symplexbildung) sind die übergeordneten Strukturen von Bedeutung. Die „reale“ Lösungsstruktur der SuEC trägt nachhaltig zur Bildung der Netzwerkstrukturen der Symplexe (physikalisches Netzwerk aus Polykationen und Polyanionen) bei. Dies tritt insbesondere bei der Verwendung von Polykationen mit kleiner Molmasse auf, die für die Netzwerkstruktur der Symplexe nur einen untergeordneten Beitrag leisten können. Haben die Polykationen eine zu große Molmasse, so können die Polyanionen nicht vollständig in deren Lösung hinein diffundieren. Es resultiert in solchen Fällen eine dünne Membran. Die Kenntnis der Molmasse für die Güte des Symplex bzw. der daraus entstehenden Membran von Vorteil. Membranen bilden sich bevorzugt bei geringen DS. Bei höheren DS bilden die Ketten eine höhere Anzahl von Netzwerkpunkten und es bilden sich unzusammenhängende Flocken^[158].

158) T.A. Wilhelms, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2005

31) S. Knop, H. Thielking, W.-M. Kulicke, J. Appl. Polym. Sci., **77**, (2000), 3169-3177

4.6.3 Vergleich von aFFFF/MALLS/DRI und SEC/MALLS/DRI

Um die Trennleistung von asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF) und Größenausschlusschromatographie (SEC) bei aggregatbildenden Polymeren zu vergleichen und um die Auswirkung der Degradation während der Fraktionierung zu untersuchen, wurde der Probensatz salzhaltig, unpräpariert mit aFFFF vermessen. Wie auch die SEC-Messungen wurden die aFFFF-Messungen in 0,1 M Natriumnitrat mit 3 mM Natriumazid (LS-Lösungsmittel) bei 25°C durchgeführt. Alle Messungen sind bei demselben Flussprofil vermessen worden. Für die Berechnung der Molmassen wurde ein dn/dc von 0,161 verwendet^[158]. Die Ergebnisse der aFFFF-Messungen sind in Tab. 37 zusammengefasst. Am Beispiel der mäßig löslichen SuEC 2 (Abb. 100) im Vergleich zur gut löslichen SuEC 3 (Abb. 101) werden die Elutionsdiagramme diskutiert.

Abb. 102 zeigt das Elutionsdiagramm von SuEC 2. Die Auswertung ergab eine gewichtsmittlere Molmasse (M_w) von $9,2 \cdot 10^6$ g/mol, einen Gyrationradius (R_G) von 132 nm und eine Wiederfindungsrate (WR) von 35 % bei einem Flussverhältnis von 0,74 (Kanalfloss \dot{V}_z (1 mL/min) zu Querfluss \dot{V}_x (1,35 mL/min)). Wie auch bei den SEC-Messungen ist bei SuEC 2 die M_w bzw. der R_G am größten. Die Größenordnung deutet auf einen hohen Anteil an Aggregaten hin. Die WR ist um den Salzgehalt und um die nicht löslichen Bestandteile korrigiert worden (s. Tab. 35 in Kap. 4.6.1). Sowohl LS- als auch RI-Signal zeigen ein monomodales Verhalten. Die Maxima beider Signale liegen nicht übereinander. Die linke Flanke des RI-Signals zeigt eine höhere Anfangsintensität als das LS-Signal, was auf eine erhöhte Konzentration an niedermolekularen Bestandteilen hindeutet. Hier tritt dieselbe Schwierigkeit auf wie in Abb. 53, Kap. 4.3.5. Was den niedermolekularen Anteil betrifft, gelangt man dabei an die Detektionsgrenze des LS-Photometers, mit dem hochmolekularen Anteil (Aggregate) an die des RI-Detektors^[147]. Die Fraktionen, die oben beschriebene Phänomene hervorrufen, werden zwar in der Konzentration der zu vermessenden Probenlösung mit berücksichtigt, aber nicht detektiert, was sich negativ auf die WR auswirkt. Das verrauschte Signal ist auf Adsorptionsprozesse zurückzuführen. Die nicht detektierten Fraktionen und die Adsorptionsprozesse sind Gründe für die schlechte WR.

158) T.A. Wilhelms, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2005

147) B. Wittgren, K.-G. Wahlund, M. Andersson, C. Arvidsson, J. Polym. Anal. Charact. 7, (2002), 19-40

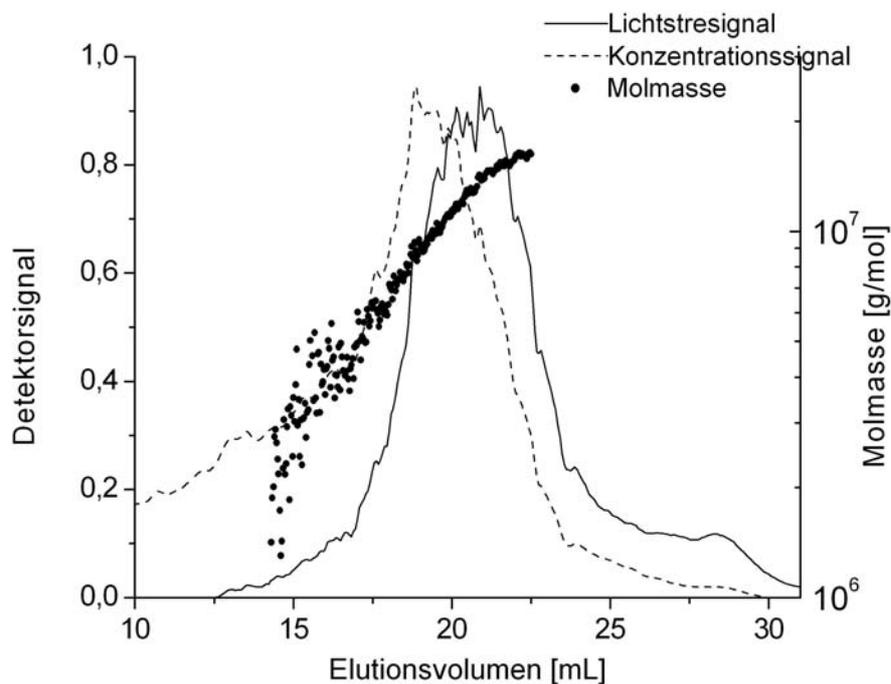


Abb. 100: Elutionsdiagramm von SuEC 2 unpräpariert, salzhaltig, $\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1,35 \text{ mL/min}$, LS-Lösungsmittel, 25°C

Das Elutionsdiagramm von SuEC 3 (Abb. 101) ähnelt dem von SuEC 2 in Abb. 100. Die Ergebnisse der Messung umfassen eine M_w von $2,5 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$, einen R_G von 96 nm und eine WR von 57 %. Das Flussverhältnis betrug 0,74 ($\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$ zu $\dot{V}_x = 1,35 \text{ mL/min}$). Die höhere WR spiegelt die bessere Löslichkeit wider. Wie auch in Abb. 100 zeigen das LS- und das RI-Signal ein monomodales Verhalten. Die Maxima beider Signale überlappen nicht. Die in Anlehnung an SuEC 2 geschilderte Problematik der Detektorgrenzen, tritt auch bei SuEC 3 auf. Die Schulter in der linken Flanke des LS-Signals ist nur als leichte Erhöhung des Signal gegenüber der Basislinie zu erkennen, anders als in Abb. 100. Bei SuEC 3 liegen also anteilig weniger Aggregate vor, als bei SuEC 2.

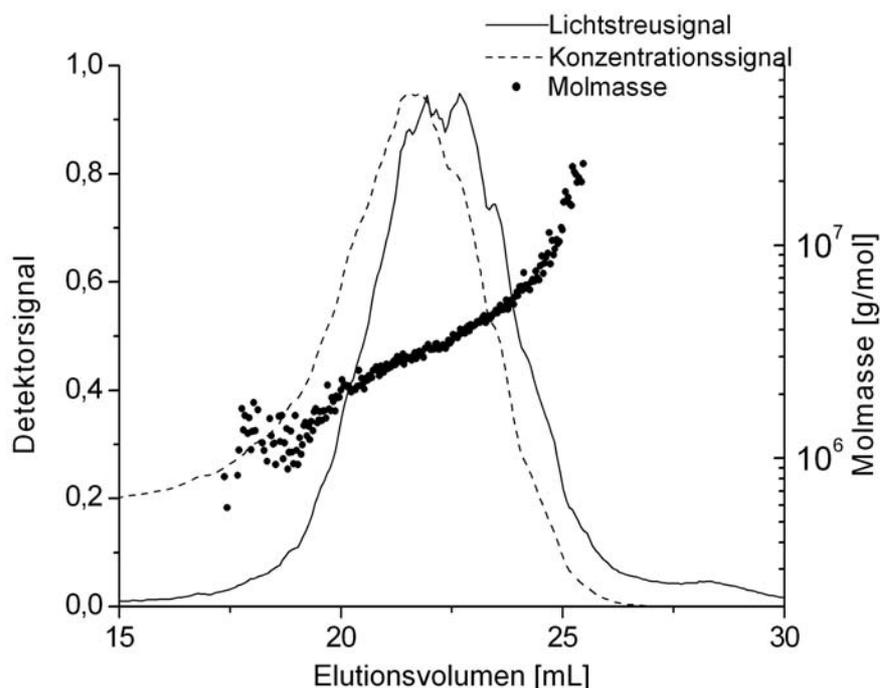


Abb. 101: Elutionsdiagramm von SuEC 3 unpräpariert, salzhaltig, $\dot{V}_z = 1$ mL/min, $\dot{V}_x = 1,35$ mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Die Elutionsdiagramme von SEC und aFFFF unterscheiden sich aufgrund des unterschiedlichen Fraktionierungsprinzips. Die Anwesenheit von Aggregaten und einer erhöhten Konzentration an niedermolekularen Fraktionen wird bei beiden Messmethoden deutlich. Die entsprechenden Ergebnisse für die Messreihe sind in Tab. 37 aufgelistet.

Tab. 37: Ergebnisübersicht der Messreihe unpräpariert, salzhaltig

Probe	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]
SuEC 1	$2,3 \cdot 10^6$	108	40
SuEC 2	$9,2 \cdot 10^6$	132	35
SuEC 3	$2,5 \cdot 10^6$	96	57
SuEC 4	$3,8 \cdot 10^6$	110	44
SuEC 5	$1,4 \cdot 10^6$	93	52

Die M_w reichen von $1,4 \cdot 10^6$ bis $9,2 \cdot 10^6$ g/mol, die R_G von 93 bis 132 nm und die WR von 35 bis 57 %. Die M_w lassen sich mit den R_G korrelieren, SuEC 5 hat die kleinste M_w und den kleinsten R_G . Die Probe SuEC 2 zeigt die größte M_w bei dieser Bestimmungsmethode. Dies ist auf Aggregatbildung durch die hohe Anzahl von Wasserstoffbrückenbindungen zurück-

zuführen. M_w und R_G sind größer als die mittels SEC bestimmten Werte, bis auf die R_G von SuEC 1 und SuEC 5 (s. Tab. 36, Kap. 4.6.2).

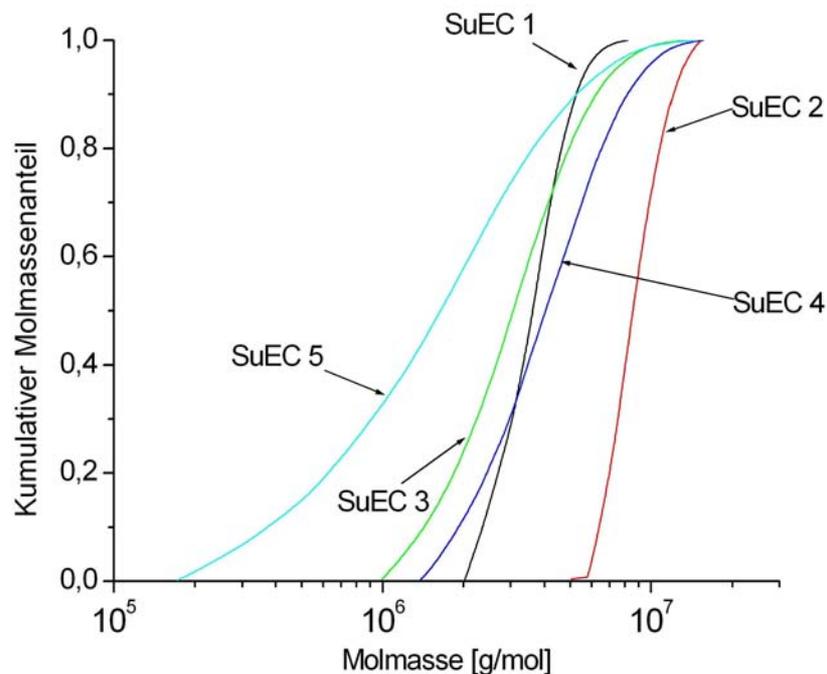


Abb. 102: Kumulative Molmassenverteilungen der Messreihe unpräpariert, salzhaltig

Abb. 102 zeigt die kumulativen Molmassenverteilungen zu den aFFFF-Messungen der Messreihe unpräpariert, salzhaltig. SuEC 1 ($2 \cdot 10^6$ bis $1,5 \cdot 10^7$ g/mol) und SuEC 2 ($5 \cdot 10^6$ bis $1,5 \cdot 10^7$ g/mol) sind enger verteilt als SuEC 3 bis SuEC 5. Die Verteilungen zeigen einen identischen Verlauf, der auf der Abzisse um einige Millionen g/mol verschoben ist. SuEC 3 und SuEC 4 sind breiter verteilt ($1 \cdot 10^6$ bis $1,5 \cdot 10^7$ g/mol) als SuEC 1 und SuEC 2, aber nicht so breit wie SuEC 5 ($1,5 \cdot 10^5$ bis $1,5 \cdot 10^7$ g/mol). SuEC 5 ist die einzige Probe, die Fraktionen kleiner 10^6 g/mol beinhaltet. Der Probenanteil kleiner 10^6 g/mol beträgt 30 %. Die Verteilungen von SuEC 3 und SuEC 4 zeigen ebenfalls einen identischen Verlauf.

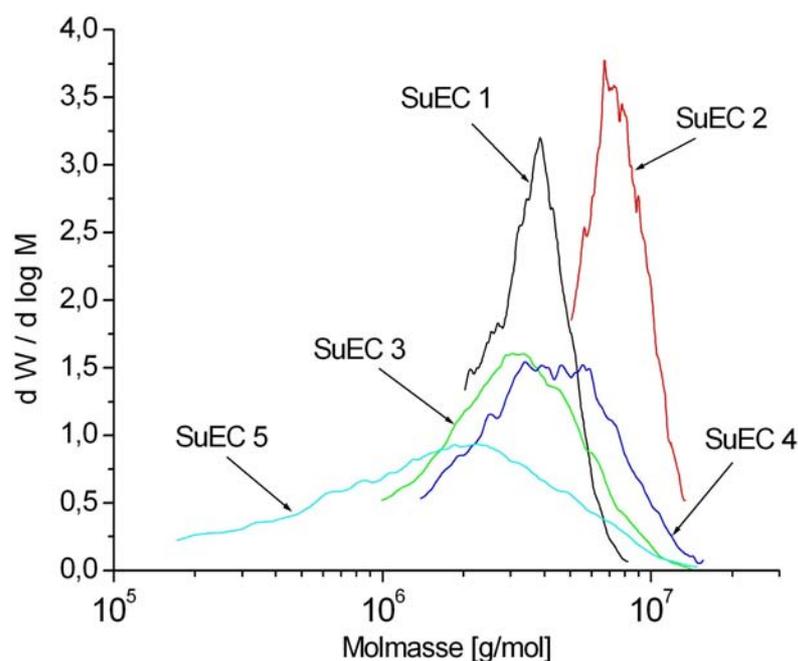


Abb. 103: Differentielle Molmassenverteilungen der Messreihe unpräpariert, salzhaltig

In Abb. 103 ist eine Übersicht der differentiellen Molmassenverteilungen gezeigt. Die Verteilungsbreiten lassen sich somit besser erkennen als in Abb. 104. SuEC 1 und SuEC 2 sind enger verteilt als SuEC 3 bis SuEC 5. Am breitesten verteilt ist SuEC 5. SuEC 1 und SuEC 2 besitzen Fraktionen mit höheren Massenanteilen als SuEC 3 bis SuEC 5.

Bei Vergleich der Ergebnisse zwischen der Analyse mittels aFFFF und SEC zeigt sich, dass bei der aFFFF-Messung keine bi- oder multimodalen Signale auftreten. Es werden jedoch wesentlich größere Werte für die Molmasse erhalten. Aufgrund der hohen Werte kann davon ausgegangen werden, dass die Aggregate den Kanal größtenteils undegradiert verlassen haben. Man kann aber nicht feststellen, ob die Aggregate durch das hohe Dehnströmfeld zerschert wurden oder ob die Polymerkette degradiert wurde. Die sanftere Methode ist die aFFFF, bei der ausgeschlossen werden kann, dass die Polymerkette degradiert wird. Aggregate werden ebenfalls nicht degradiert. Die Bestimmung der Molmasse erfolgt unter Einbeziehung der Aggregate, was zu einer größeren M_w führt. Aus einer aFFFF-Messung wird die Molmasse der in der gesamten in Lösung befindlichen Polymermoleküle bestimmt. Adsorptionsprozesse treten bei beiden Methoden auf.

Um den unterschiedlichen Ergebnisse bei den aFFFF- und den SEC-Messungen verstehen zu können, ist das Fraktionierungsprinzip in Betracht zu ziehen. Die Unterschiede beider

Methoden werden in Abb. 104 zum Ausdruck gebracht. Hier sind die kumulativen Molmassenverteilungen der Probe SuEC 3 nach beiden Messungen gezeigt. Die Verteilung der aFFFF-Messung ist im Gegensatz zur SEC-Messung deutlich zu höheren Molmassen verschoben.

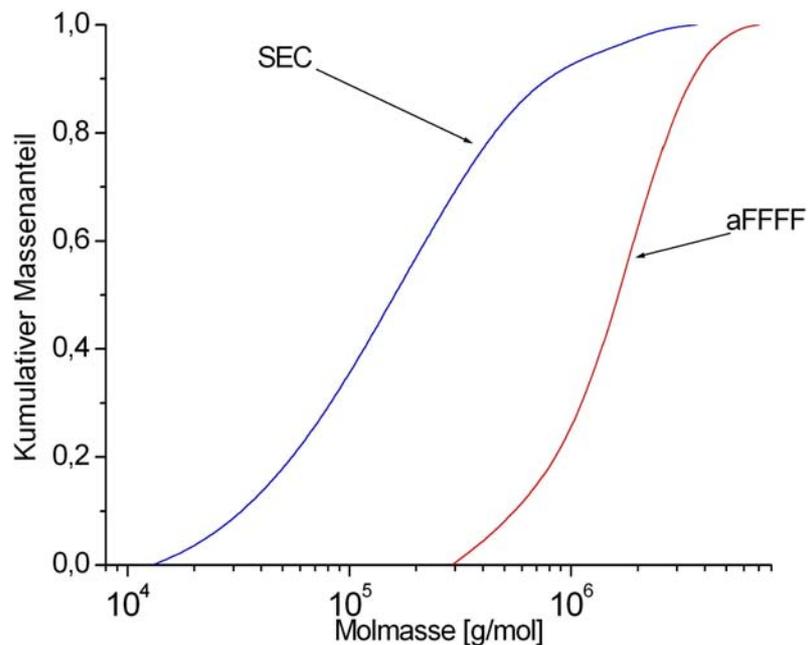


Abb. 104: Übersicht der kumulativen Molmassenverteilungen von SuEC 3, gemessen mit aFFFF und SEC

Die Fraktionierungseinheit bei der SEC ist eine mit porösem Material gefüllte Säule. Das Säulenfüllmaterial fungiert als stationäre Phase. Bei der aFFFF stellt ein Kanal mit einem horizontalen Fluss (Kanalfloss) und einem vertikalen Fluss als Kraftfeld (Querfluss) die Fraktionierungseinheit dar. Der Kanal hat nur eine mobile Phase. In der Säule können während der Trennung durchaus hohe Scherkräfte auftreten, wohingegen im Kanal mit seinem Eluentenstrom nur minimale Scherkräfte auf die Probe ausgeübt werden. Die durch die potentiell hohen Scherkräfte in der Säule eintretende Degradation wirkt sich bei Anwesenheit von Aggregaten, die bei der Probenpräparation nicht abgetrennt wurden, günstig auf die Charakterisierung aus. Die Größe der bei der Degradation entstehenden Teilchen spiegelt am ehesten die Größe eines einzelnen Moleküls wider. Durch das Trennprinzip der aFFFF entsteht im Gegensatz zur SEC während des Trennprozesses kein hohes Dehnströmfeld. Hierdurch wird eine Degradation der Aggregate verhindert. Daher entspricht dann die Molmasse nicht der von

molekulardispers gelösten Einzelmolekülen, sondern der der Aggregate.

Aufgrund des porösen Säulenfüllmaterials ist die Trennung mittels SEC bei kleinen Molekülen effektiver als bei der aFFFF. Enthält die Probe einen vergleichsweise hohen Anteil an niedermolekularen Bestandteilen kann bei einem ungünstigen Flussprofil (hoher Kanalfluss, niedriger Querfluss) ein Teil ohne effektive Trennung aus dem Kanal ausgetragen werden. Für kleine Moleküle ist bei der SEC der in der Fraktionierungseinheit zurückgelegte Weg länger als bei der aFFFF. Bei der aFFFF ist die Trennstrecke für alle Moleküle gleich^[159].

4.7 Guar

4.7.1 Probenpräparation

Im Rahmen des DGMK-Projektes 633 sind fünf native Guarproben und vier Guarderivate untersucht worden. Bei den Guarderivaten handelt es sich zum einen um ein Hydroxypropylguar (HPG) und zum anderen um Carboxymethylhydroxypropylguar (CMHPG), von dem drei verschiedene Proben vorliegen. Die Guarderivate HPG GG 6 und CMHPG GG 2, GG 8 und GG 9 stellen Guarether dar. Sie unterscheiden sich von nativem Guar durch ihre höhere Wasserlöslichkeit.

In Abb. 105 ist eine Übersicht aller Guarproben abgebildet, bei der 1 = GG 1, 2 = GG 2 etc. entspricht.



Abb. 105: Übersicht aller Guarproben. 1,3 – 5,7 natives Guar, 6 HPG, 2, 8 – 9 CMHPG

In diesem Kapitel werden die Bestimmung von Molmassen und Teilchengrößen, sowie begleitende Untersuchungen wie die Bestimmung von Trockengehalt, ionischen und unlöslichen Bestandteilen beschrieben und diskutiert. Auf nähere Untersuchungen wird in^[45]

159) W.-M. Kulicke, S. Lange, D. Heins, T. Provder (Ed.) ACS Symposium Series 731 – Chromatography of polymers, John Wiley & Sons Inc., New York, 1999, Kap. 9

45) B. Wenzke, J. Storz, C. Clasen, W.-M. Kulicke, Abschlussbericht DGMK-Projekt Nr. 633,

näher eingegangen wird.

Da es sich bei Guar um ein Naturprodukt handelt, sind noch zusätzlich Begleitstoffe wie Proteine und ionische Bestandteile (Nitrat (NO_3^-), Sulfat (SO_4^{2-}), Chlorid (Cl^-), Metallkationen) enthalten. NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- wurden nach Verbrennung der Substanz in reinem Sauerstoff zur Eliminierung der organischen Bestandteile und Aufnahme der Asche in Wasser ionenchromatographisch bestimmt. Natrium wurde nach demselben Aufschluss mittels Atomadsorptionsspektroskopie bestimmt. Der Proteingehalt wurde quantitativ über den Stickstoffgehalt aus der Elementaranalyse ermittelt. Die Proteinbestimmung erfolgte nach den Methoden des § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (L 06.00-7; protein-spezifischer Umrechnungsfaktor Leguminosen $U = 6,25$). Zur Berechnung des Proteingehalts wurde der Stickstoffgehalt mit dem Umrechnungsfaktor multipliziert. Der Trockengehalt (TR) der Proben wurde durch Trocknung bei 105°C im Trockenschrank bis zur Massenkonstanz ermittelt. In Tab. 38 sind die TR, ein Teil der ionischen Bestandteile, der Proteingehalt und die prozentuale Menge der unlöslichen Bestandteile zusammengetragen.

Tab. 38: Ergebnisse der Salzanalyse, der Trockengehalte, der Proteinanteile und der unlöslichen Bestandteile

Probe	Typ	TR [%]	SO_4^{2-} [%]	(Cl) ⁻ [%]	NO_3^- [%]	Proteingehalt [%]	unlös. Bestandteile [%]
GG 1	Guar	89,8	0,26	< 0,02	0,48	6,75	14,7
GG 3	Guar	90,4	n.b.	< 0,02	1,14	7,13	13,0
GG 4	Guar	91,4	0,26	< 0,02	0,75	4,44	7,6
GG 5	Guar	90,5	0,21	< 0,02	0,66	5,50	17,7
GG 7	Guar	90,1	0,18	< 0,02	0,77	3,89	7,4
GG 6	HPG	90,4	0,12	< 0,02	0,13	0	< 1
GG 2	CMHPG	90,1	0,009	< 0,02	0,16	3,69	< 1
GG 8	CMHPG	89,9	0,008	< 0,02	0,07	0	< 1
GG 9	CMHPG	90,2	0,060	< 0,02	0,20	0,69	< 1

Die TR rangieren von 89,9 % bis 90,4 %. Der relativ hohe Feuchtigkeitsgehalt ist auf die sehr feinpulverige Form zurückzuführen, die eine Feuchtigkeitsadsorption begünstigt. Die ionischen Bestandteile liegen größtenteils in Mengen unterhalb von 1 % vor, mit Ausnahme des nativem Guars GG 3, welches einen NO_3^- -Gehalt von 1,14 % aufweist. Es wurde außerdem auf

Calcium, Magnesium, Aluminium, Strontium sowie Barium mittels Atomadsorptions-spektroskopie untersucht, wobei der Gehalt dieser Kationen unterhalb der Nachweisgrenze ($< 0,02\%$) des Gerätes lag. Der Proteinanteil der Guar-Proben rangiert je nach Probe zwischen $0,69\%$ und $7,13\%$. Bei den substituierten Guarproben liegt der Proteingehalt niedriger als bei den nativen Guarproben. Bei dem HPG GG 6 und dem CMHPG GG 8 wurden gar keine Proteinanteile festgestellt.

Die Menge an unlöslichen Bestandteilen (in LS-Lösungsmittel) variiert von < 1 bis $17,7\%$. Diese nicht-löslichen Bestandteile setzten sich zum einen aus Cellulose, zum anderen aus assoziierten Guarmolekülen, welche durch Wasserstoffbrückenbindungen agglomerierten, zusammen. Im Gegensatz zum nativen Guar traten bei HPG und CMHPG keine nicht-löslichen Bestandteile auf. Dies ist auf die Einführung von hydrophilen Gruppen bei der Substitution zurückzuführen. In Anbetracht der prozentualen Anteile der unlöslichen Bestandteile war es schwierig, molekulardisperse Lösungen herzustellen. Die nativen Proben GG 1, GG 3 und GG 5 wurden nacheinander mit einem $60\ \mu\text{m}$, einem $20\ \mu\text{m}$ und einem $11\ \mu\text{m}$ Membranfilter filtriert. GG 2, GG 4 und GG 6 bis GG 9 wurden nur mit einem $11\ \mu\text{m}$ Membranfilter filtriert. Vor den Messungen mittels Größenausschlusschromatographie (SEC) und asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF) wurden alle Proben zusätzlich noch $45\ \text{min}$ bei $13.000\ \text{rpm}$ zentrifugiert. Eine Probenpräparation ist für SEC- und aFFFF-Messungen unerlässlich^[160].

4.7.2 Bestimmung der M_w und R_G mittels SEC/MALLS/DRI

In diesem Kapitel werden die SEC-Messungen der Guarproben diskutiert. Es wurden $0,1\%$ ige Lösungen in $0,1\ \text{M}$ Natriumnitrat mit $3\ \text{mM}$ Natriumazid (LS-Lösungsmittel) angesetzt. Die Lösungen wurden über Nacht bei RT auf einem Magnetrührer gerührt. Vor den Messungen wurden die Proben wie oben beschrieben durch Filtration behandelt. Von allen Guarproben wurden größere Mengen an Stammlösungen angesetzt, präpariert und im Anschluss gefriergetrocknet, um für die nachfolgenden Messungen die Probenpräparation zu vereinfachen.

Am Beispiel der nativen Guarprobe GG 5 ist in Abb. 106 ein Elutionsdiagramm dargestellt. Alle Messungen wurden bei einem Fluss von $0,5\ \text{mL/min}$ bei 25°C durchgeführt. Für die Berechnung der Molmassen wurde ein dn/dc von $0,147$ verwendet^[135] und die

160) B.R. Vijayendran, T. Bone, Carbohydr. Polym., **4**, (1984), 299-313

135) C. Gosch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2002

Auswertung erfolgte nach Berry.

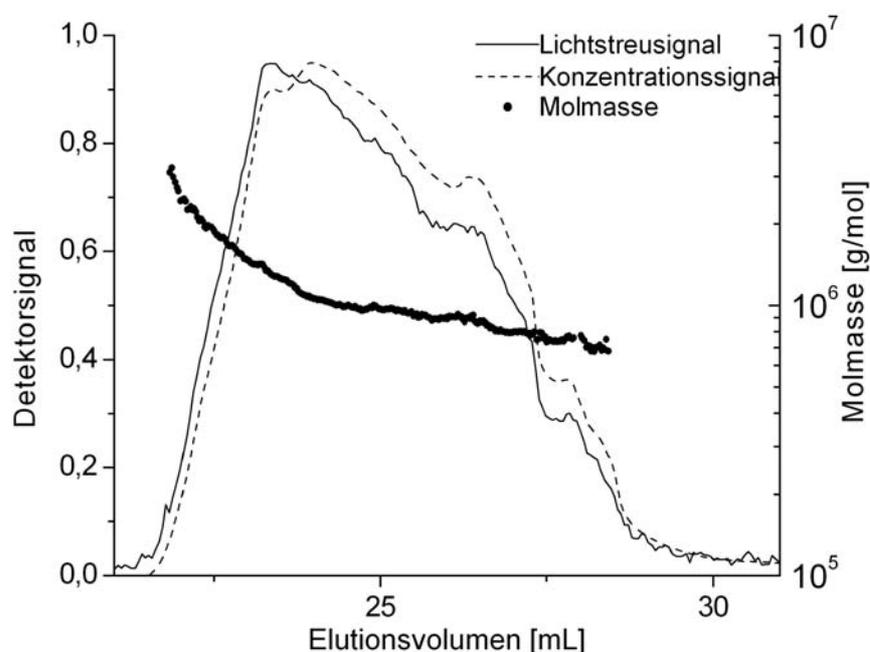


Abb. 106: Elutionsdiagramm von GG 5, Guar nativ, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

LS- und Konzentrationssignal-Signal (RI-Signal) zeigen einen fast monomodalen Verlauf. Die Auswertung der Messung ergab eine gewichtsmittlere Molmasse (M_w) von $1,08 \cdot 10^6$ g/mol, einen Gyrationsradius (R_G) von 77 nm und eine Wiederfindungsrate (WR) von 80,1 %. Das leicht verrauschte Signal ist auf Adsorption der Probe am Säulenfüllmaterial zurückzuführen [160].

In Tab. 39 sind die Ergebnisse aus den SEC-Messungen zusammengefasst. Aus den Daten ist auch die kritische Konzentration c_{LS}^* nach Gleichung 20 (Kap. 3.4) berechnet worden. Die ermittelten M_w liegen zwischen $9,5 \cdot 10^5$ und $2,0 \cdot 10^6$ g/mol, die R_G rangieren zwischen 77 und 108 nm, die c_{LS}^* von 0,018 bis 0,025 % und die WR zwischen 72 und 93 %. Das CMHPG GG 8, welches weder Proteine noch unlösliche Bestandteile aufweist, hat eine sehr gute WR von 93 %. Die R_G lassen sich nicht immer mit den M_w korrelieren. Die Probe mit der kleinsten M_w hat nicht automatisch den kleinsten R_G . Die c_{LS}^* sind bei den nativen und den substituierten Guarproben ähnlich.

160) B.R. Vijayendran, T. Bone, Carbohydr. Polym., 4, (1984), 299-313

Tab. 39: Größenausschlusschromatographische Ergebnisse für die Guarproben und die aus den Messdaten berechnete kritische Konzentration c_{LS}^*

Probe	Typ	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]	c_{LS}^* [%]
GG 1	Guar	$1,1 \cdot 10^6$	83	85	0,025
GG 3	Guar	$2,0 \cdot 10^6$	106	72	0,022
GG 4	Guar	$9,5 \cdot 10^5$	84	82	0,023
GG 5	Guar	$1,1 \cdot 10^6$	77	80	0,031
GG 7	Guar	$1,8 \cdot 10^6$	108	80	0,018
GG 6	HPG	$1,5 \cdot 10^6$	97	77	0,022
GG 2	CMHPG	$9,9 \cdot 10^5$	81	78	0,024
GG 8	CMHPG	$1,3 \cdot 10^6$	91	93	0,023
GG 9	CMHPG	$1,3 \cdot 10^6$	91	87	0,023

Die LS-Signale aller weiteren nativen Guarproben GG 1, GG 3, GG 4 und GG 7 sind im Vergleich zu GG 5 in Abb. 107 zusammengefasst. Wie auch bei den vorherigen Proben sind die LS-Signale leicht verrauscht. Ein quasi monomodales Verhalten der LS-Signale zeigen nur GG 4 und GG 7. GG 1 bis GG 3 besitzen eine Schulter zwischen 26 und 27 mL, wobei GG 3 ein sehr kleines Maximum bei 21 mL zeigt. Der Grund für dieses kleine Maximum könnte ähnlich wie bei der Sulfoethylcellulose in Kap. 4.6 sein. Dort hat die Probe Mikrogele beinhaltet, die bei der Probenpräparation nicht abgetrennt werden konnten.

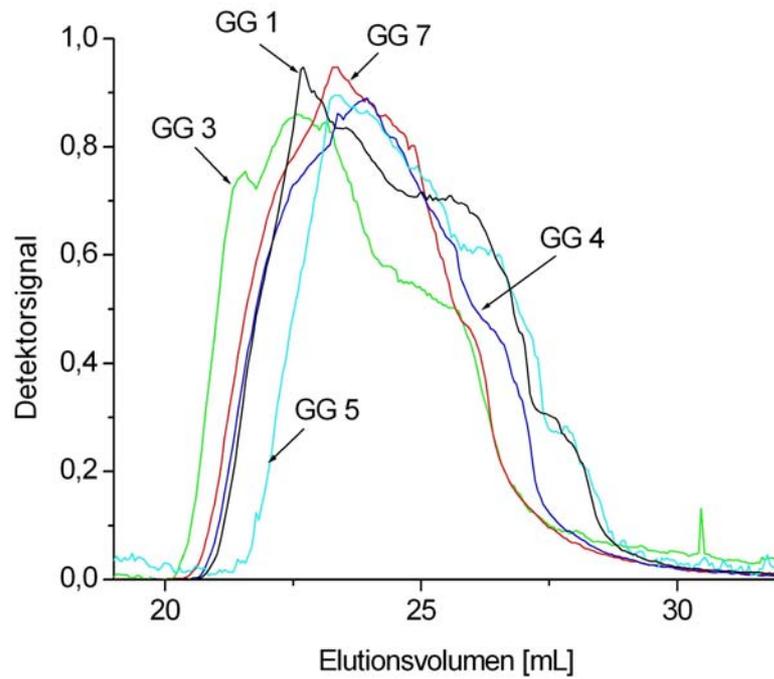


Abb. 107: Übersicht der LS-Signale aller nativen Guarproben, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

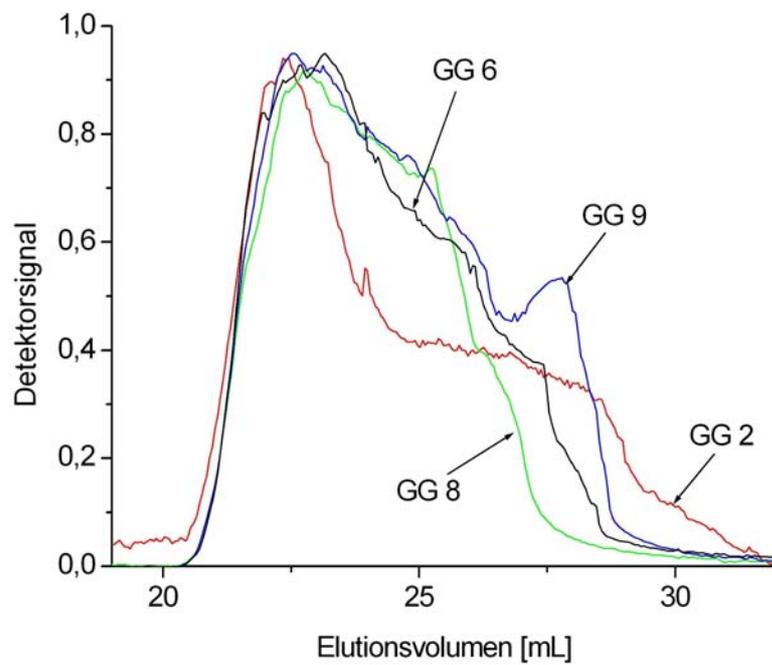


Abb. 108: Übersicht der LS-Signale aller substituierten Guarproben, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Eine Übersicht der LS-Signale aller substituierten Guarproben zeigt Abb. 108. Auch hier zeigen nur HPG GG 6 und CMHPG GG 8 ein quasi monomodales Verhalten. GG 9, ein CMHPG, weist zusätzlich zum Hauptmaximum ein kleines Maximum bei 28 mL auf, und GG 2 zeigt über mehrere Milliliter Elutionsvolumen eine ausgeprägte Schulter, die von einer größeren Konzentration niedermolekularer Fraktionen hervorgerufen wird. Obwohl GG 6 und GG 8 keine Proteinanteile gezeigt haben, ist das LS-Signal dennoch leicht verrauscht. Die Ursache könnte hier die Adsorption von Agglomeraten sein.

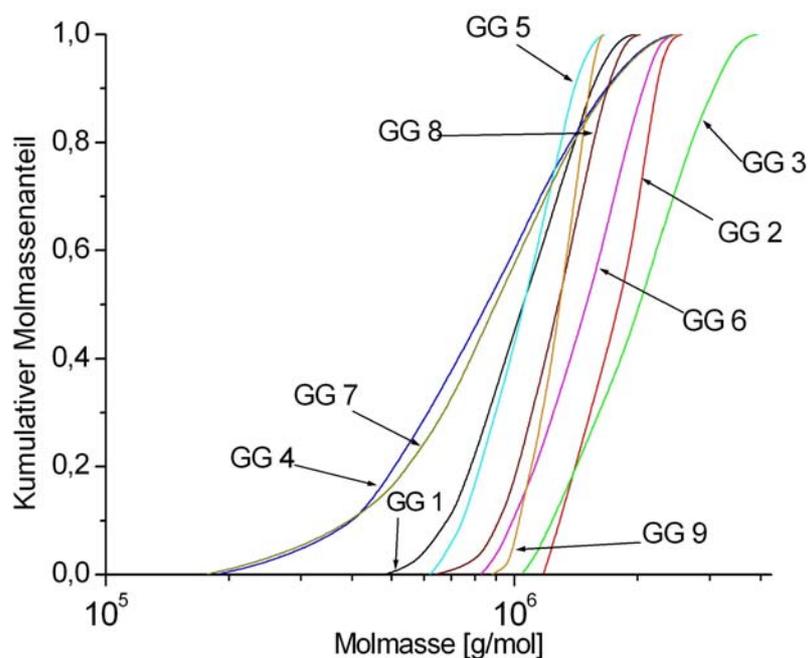


Abb. 109: Kumulative Molmassenverteilungen aller Guarproben (SEC)

In Abb. 109 sind die kumulativen Molmassenverteilungen aller Guarproben abgebildet. Das native Guar GG 4 und das CMHPG GG 7 sind die am breitesten verteilten Proben ($1,9 \cdot 10^5$ bis $2 \cdot 10^6$ g/mol). Alle anderen Proben beinhalten Fraktionen von $5 \cdot 10^5$ bis $3 \cdot 10^6$ g/mol. Diese sind enger verteilt. Bei den differentiellen Molmassenverteilungen (Abb. 110) kann man die Breite der Verteilungen besser erkennen. Hier zeigt sich, dass die native Guarprobe GG 1, und die CMHPG GG 2 und GG 9 im Vergleich zu den beiden breit verteilten Proben GG 4 und GG 7 enger verteilt sind. Für die Guarproben wurde die nicht normierte Variante gewählt, um zu zeigen, dass die eng verteilten Proben wenige Fraktionen mit hohem Gewichtsanteil besitzen und die breit verteilten viele Fraktionen mit geringerem Gewichtsanteil.

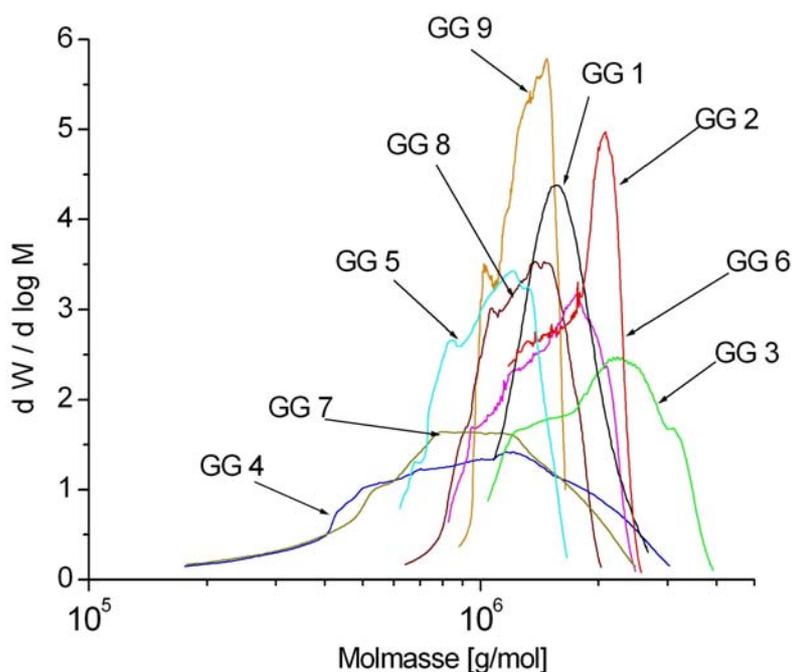


Abb. 110: Differentielle Molmassenverteilungen aller Guarproben (SEC)

4.7.3 Erfassung des enzymatischen Abbaus durch SEC/MALLS/DRI

Im Rahmen des DGMK-Projektes 633 wurde zudem die Degradation von Guargelen untersucht. In dieser Arbeit wird über die Erfassung des enzymatischen Abbaus durch (Größenausschlusschromatographie) SEC bei unterschiedlicher Einwirkzeit der Enzyme in Anlehnung an die Arbeit von Saake et al.^[161] berichtet.

Enzyme sind in der Regel aus Proteinen bzw. Aminosäuren aufgebaut. Sie wirken als Katalysatoren für spezielle Reaktionen. Die meisten Enzyme benötigen für eine optimale Wirkungsweise bestimmte Bedingungen, die im Vorfeld durch Testmessungen ermittelt wurden. Für Guar gibt es zwei Ansatzstellen, an denen eine enzymatische Degradation durchgeführt werden kann. Zum einen an der 1,4- β -glykosidischen Bindung der Mannoseeinheiten und zum anderen an der 1,6- α -glykosidischen Bindung der Galactosesubstituenten. Die verwendeten Enzyme waren Endo-1,4- β -D-Mannanase (Novozyme 51054) und α -Galactosidase (E-AGLGU; Megazyme). Die Endo-1,4- β -D-Mannanase wurde bei einer Inkubationstemperatur von 40°C und einem pH-Wert von 4,8 verwendet, da bei diesen

161) B. Saake, T. Kruse, J. Puls, *Bioresource Technol.*, 80, (2001), 195-204

Bedingungen das Aktivitätsoptimum der Mannanase erreicht ist. Die α -Galactosidase zeigt ihr Aktivitätsoptimum bei einem pH-Wert von 5,0 und einer Temperatur von 40°C. Bei diesen Bedingungen wurde die Degradation durchgeführt. Nach der Einwirkzeit wurden die Enzyme bei 60°C denaturiert. Vor den SEC-Messungen wurden die Enzyme aus den Proben nicht extrahiert.

Die enzymatische Degradation wurde an ausgewählten Proben GG 1 und GG 6 durchgeführt. Beide Proben wurden mittels Mannanase und Galactosidase bei variierenden Einwirkzeiten abgebaut. Der Abbau mit Mannanase an GG 1 ist in Abb. 111 in Form einer Übersicht der LS-Signale dargestellt. Die Messungen (4 Proben) wurden in LS-Lösungsmittel bei 25°C mit einem Fluss von 0,5 mL/min durchgeführt. Als Einwirkzeiten wurden 10 min, 30 min, 4 h und 24 h gewählt. Vor dem Abbau wurde die reine, unabgebaute Probe zum Vergleich vermessen. Sie ist als „pur“ gekennzeichnet.

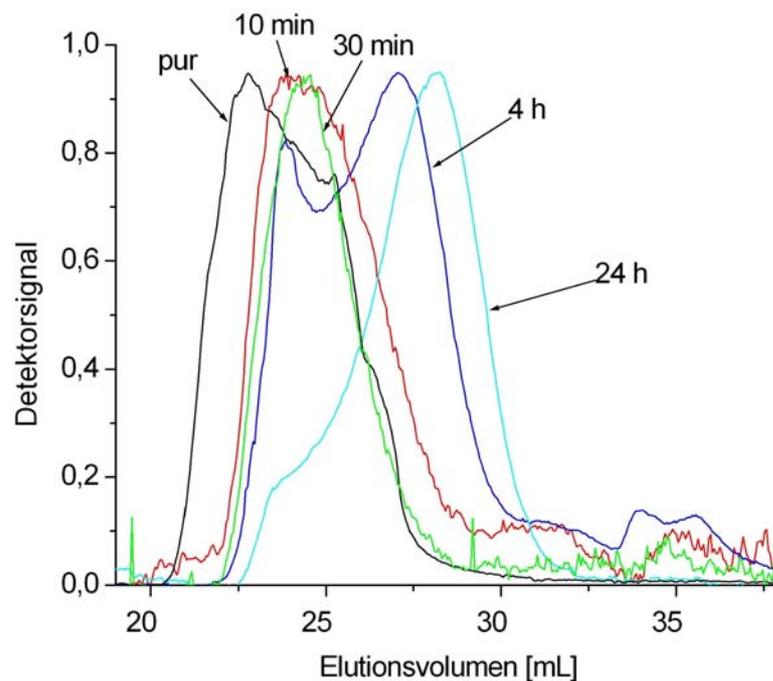


Abb. 111: Übersicht der LS-Signale des Abbaus von GG 1 mit Mannanase mit variierenden Einwirkzeiten, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Das nicht abgebaute Guar (GG 1 pur) eluiert als erstes. Eine Einwirkzeit von 10 min (rotes Signal) zeigt schon eine kleine Verschiebung des Signals. Auf der Höhe des Maximums des schwarzen Signals ist erst eine kleine Schulter des roten Signals vorhanden. Ein Teil der hochmolekularen Fraktionen ist nach 10 min degradiert, was durch die Verschiebung des Peaks zu höheren Elutionsvolumina angezeigt wird. Im Bereich von 30 mL bis 37,5 mL kommen

zwei kleine Maxima mit geringer Intensität, die von den abgebauten Fragmenten herrühren. Nach 30 min Einwirkzeit der Enzyme (grünes Signal) hat sich das Hauptmaximum wieder ein Stück verschoben. Die kleine Schulter an der linken Flanke des roten Signals (10 min Einwirkzeit) ist verschwunden. Folglich wurde dieser Anteil an hochmolekularen Fraktionen abgebaut. Das blaue Signal (4 h Einwirkzeit) weist zwei Maxima auf, ein kleines bei 24 mL ungefähr auf Höhe des Maximums des roten Signals (10 min) und das Hauptmaximum bei 27,5 mL. Der Anteil der nach 10 min Einwirkzeit das Hauptmaximum hervorgerufen hat, ist bei dem blauen Signal (4 h Einwirkzeit) nur noch als kleines Maximum vorhanden. Im Bereich von 30 mL bis 37,5 mL sind ebenfalls zwei kleine Maxima mit geringer Intensität, die von den abgebauten Fragmenten herrühren. Nach 24 h (cyanfarbenes Signal) Abbauezeit ist aus dem kleinen Maximum des blauen Signals (4 h) eine Schulter geworden. Das Hauptmaximum hat sich zu 29 mL verschoben. Die zwei kleinen Maxima zwischen 30 mL und 37,5 mL sind nicht mehr vorhanden. Die Auswertung der Molmassen lieferte keine reellen Werte, so dass die Verfolgung des Abbaus nur qualitativer Natur ist. Die Zunahme der Fragmente im niedermolekularen Bereich kann besser mit Hilfe des RI-Signals verfolgt werden (Abb. 112).

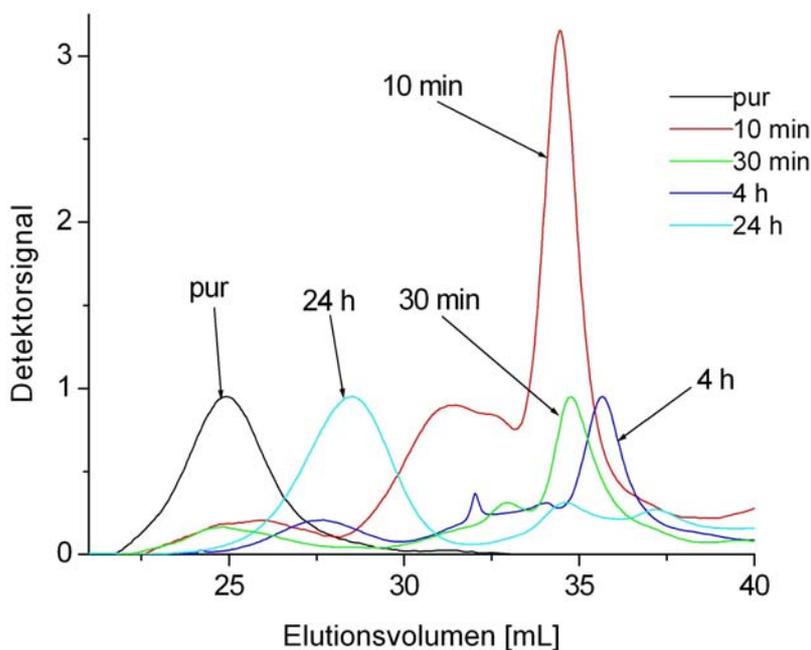


Abb. 112: Übersicht der RI-Signale des Abbaus von GG 1 mit Mannanase mit variierenden Einwirkzeiten, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Nicht alle RI-Signale sind von ASTRA® sinnvoll normiert worden, im speziellen das rote Signal (10 min Einwirkzeit). Die Konzentrationen der Fraktionen ab 33 mL sind sehr viel

größer als alle anderen Fraktionen. Nach 40 mL eluieren Salze und die Enzyme in Konzentrationen, die die obere Detektionsgrenze des RI-Detektors erreicht haben. Kleinere Fragmente gehen in diesen Peaks unter. Die Intensität des roten (10 min Einwirkzeit), des grünen (30 min Einwirkzeit) und des blauen Signals (4 h Einwirkzeit) im Bereich 22,5 mL und 30 mL, liegen unterhalb der Intensität des schwarzen (pur) und des cyanfarbenen (24 h Einwirkzeit) Signals, da Fraktionen in einem anderen Bereich höhere Konzentrationen zeigten. In Anlehnung an Abb. 111 kann auch hier eine Verschiebung der Maxima zu höheren Elutionsvolumina hin erkannt werden. Bereits nach 10 min Einwirkzeit (rotes Signal) entstehen viele kleinere Fragmente, was durch die hohe Intensität deutlich wird. Mit zunehmender Einwirkzeit nimmt die Intensität ab und die Maxima verschieben sich. Nach 24 h (cyanfarbenen Signal) ist ein deutlicher Abbau zu verzeichnen. Für eine genauere Untersuchung der oligomeren Fragmente, im Speziellen beim Galactosidaseabbau, ist eine andere Detektorkombination zu wählen, da das LS-Photometer im niedermolekularen Bereich an die untere Detektionsgrenze gerät. In diesem Bereich hat sich ein Viskositätsdetektor bewährt, der eine Detektion bis in den Monomerbereich hinein durchführen kann^[162].

Einen Abbau von nativem Guar mit Mannanase lässt sich gut mit SEC verfolgen. Bei der asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung wären Schwierigkeiten aufgetreten, da die niedermolekularen Fragmente sich mit Enzymen im RI-Signal überschneiden hätten. Die Problematik ist ähnlich gelagert, wie die, die in Kap. 4.3.8 diskutiert wurde.

Als nächstes wurde eine der substituierten Guarproben, HPG GG 6, mit Mannanase bei variierenden Einwirkzeiten unter den oben beschriebenen Bedingungen degradiert. Dargestellt sind in Abb. 113 die reine Probe, als pur gekennzeichnet, und die mit 10 min Einwirkzeit (rote Signale) degradierte Probe. 10 min reichen bereits aus, um eine Verschiebung der Maxima hervorzurufen. Ab 30 mL zeigt das rote LS-Signal eine breite abgeflachte Schulter, die die Anwesenheit von abgebauten Fragmenten widerspiegelt. Auf Höhe dieser breiten Schulter hat das rote RI-Signal sein Maximum. Die Konzentration der Abbaufragmente ist größer, als die der nicht abgebauten Fraktionen.

Auch ein Abbau von derivatisiertem Guar mit Mannanase ist mit Hilfe von SEC-Messungen verfolgbar. Die Erfassung niedermolekularer Fragmente ist aufgrund hoher Konzentrationen mit Schwierigkeiten behaftet. Mit zunehmender Einwirkzeit werden die Fragmente kleiner. Ab einer bestimmten Größe erzeugen diese nicht mehr ausreichend Streuintensität und können nicht mehr detektiert werden.

162) Mündliche Mitteilung von Herrn Dr. Puls

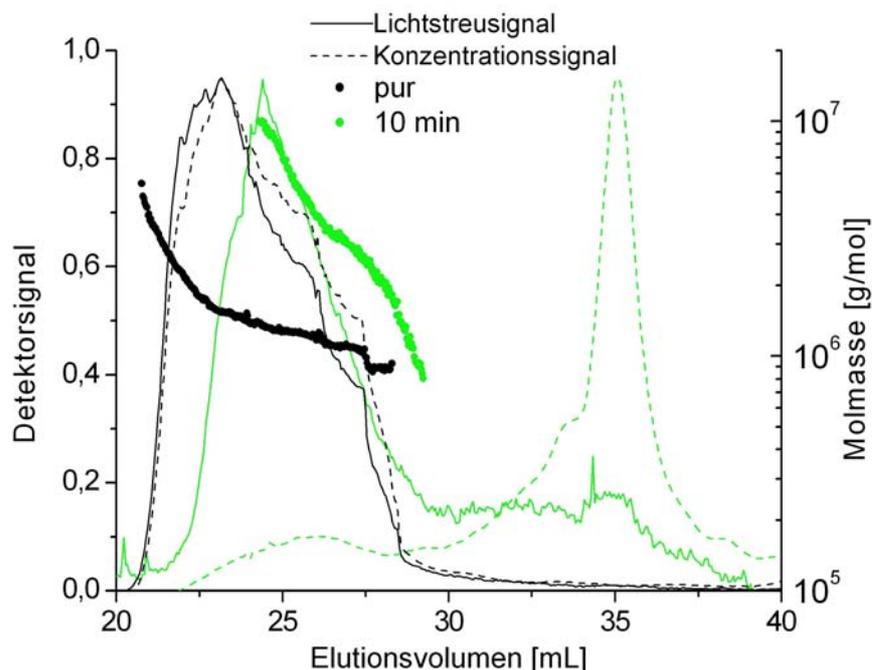


Abb. 113: Übersicht der Elutionsdiagramme des Abbaus von dem HPG GG 6 mit Mannanase, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Die Degradation vom nativem Guar GG 1 und dem HPG GG 6 mit Galactosidase gestaltete sich schwieriger als die Degradation mit Mannanase. Galactosidase spaltet Galactoseeinheiten von der Mannosehauptkette ab. Die Galactoseeinheiten sind von der Molmasse her sehr viel kleiner als die Fragmente bei der Mannanasedegradation. Hinsichtlich der Löslichkeit wurde festgestellt, dass sich die Proben nicht vollständig molekulardispers gelöst haben. Ein Teil der Probe wurde bei GG 1 und GG 6 während der Probenpräparation entfernt.

In Abb. 114 ist das Elutionsdiagramm vom substituierten Guar GG 6 mit einer Einwirkzeit der Galactosidase von 6 h abgebildet. Die Kennzeichnung der Signale ist dieselbe wie in Abb. 106. Die Messbedingungen decken sich mit denen der anderen Messungen. Der LS-Peak zeigt keine Auffälligkeiten. Das RI-Signal hingegen zeigt ein kleines, nicht basisliniengetrenntes Maximum. Im Bereich von 38 mL bis 50 mL weist das LS-Signal ein breites aber flaches Maximum auf, das durch niedermolekulare Fragmente hervorgerufen wird. Da bei den Hydroxypropylsubstituenten Mehrfachsubstitution möglich ist, sind die Fragmente größer als beim nativen Guar, so dass diese noch vom LS-Photometer detektierbar waren. Das RI-Signal zeigt zwei sehr große Peaks, die eine um ein vielfaches höhere Intensität haben als der eigentliche RI-Peak, der von der Guarprobe kommt. Die hohe Intensität beider Peaks wird durch sehr kleine Fragmente, Salze und Enzyme verursacht.

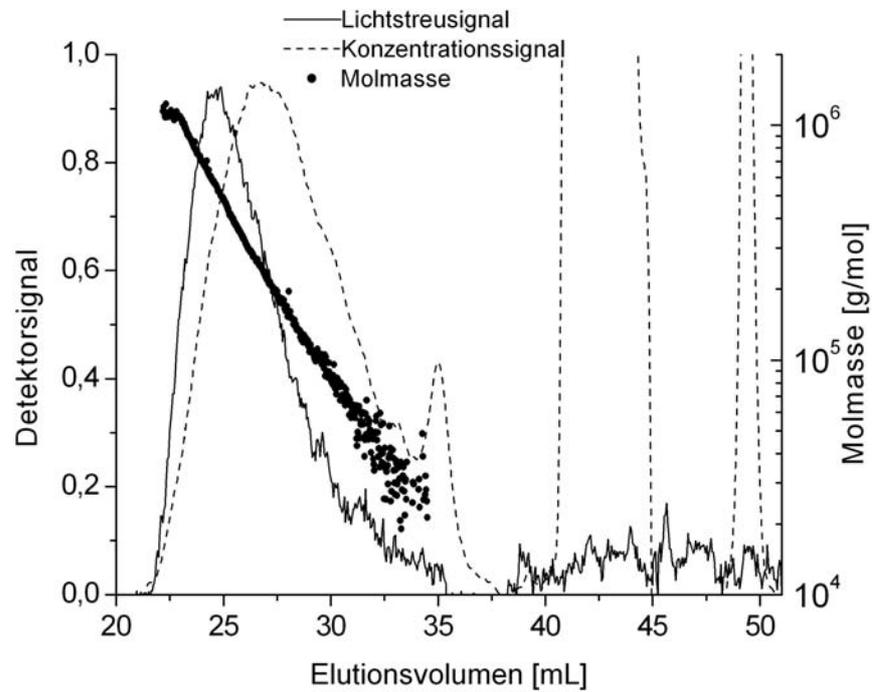


Abb. 114: Elutionsdiagramm von HPG GG 6, 6 h mit Galactosidase abgebaut, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

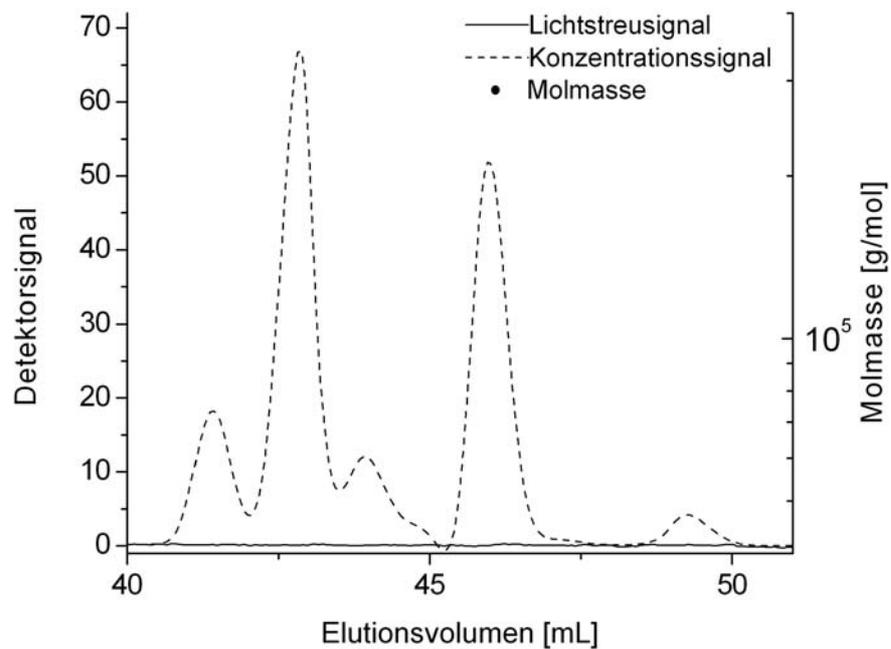


Abb. 115: Ausschnitt eines Elutionsdiagramms von GG 1, 6 h mit Galactosidase abgebaut, 0,5 mL/min, LS-Lösungsmittel, 25°C

Abb. 115 zeigt einen Ausschnitt eines Elutionsdiagramms der nativen Guarprobe GG 1, die 6 h mit Galactosidase abgebaut wurde. Messbedingungen und Kennzeichnung ist mit den vorherigen Messungen aus Abb. 106 und Abb. 114 identisch. Die Visualisierung des Abbaus bei GG 1 gestaltet sich als problematisch. Zum einen war die Löslichkeit der Probe genauso schlecht wie bei GG 6 und zum anderen liegen die Galactoseeinheiten von der Größe her unterhalb der Erfassungsgrenze des LS-Photometers. Nur der RI-Detektor kann diese registrieren, wie die Peaks im Bereich von 40 mL bis 50 mL zeigen. Einer der Peaks ist der Salzpeak, der bei jeder SEC-Messung auftritt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Erfassung der Degradation von Guar mit der im Arbeitskreis befindlichen gekoppelten Anlage aus SEC mit einem LS-Photometer und einem RI-Detektor nur mit Mannanase richtig funktioniert. Bei einem Abbau mit Galactosidase treten zwei Problembereiche auf, die Löslichkeit und die Größe der von den Enzymen abgespaltenen Fragmente. Bei einer Verbesserung der Löslichkeit könnte der Abbau mit einem Viskositätsdetektor erfasst werden.

Weitere Untersuchungen zur Bestimmung von Abbauprodukten von Guar wurden mittels SEC und Detektion durch einen Viskositätsdetektor unternommen. Der Viskositätsdetektor hat den Vorteil, dass seine Auflösung bis zu einzelnen Monomereinheiten geht^[162].

4.7.4 Bestimmung der M_w und R_G mittels aFFFF/MALLS/DRI

Ergänzend zu den SEC-Messungen wurden Messungen mit der asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung durchgeführt. Am Beispiel von CHMHP GG 8 ist in Abb. 116 ein Elutionsdiagramm abgebildet. In Tab. 40 sind alle Ergebnisse mit den entsprechenden Flussprofilen zusammengetragen. Alle Messungen wurden in LS-Lösungsmittel bei 25°C durchgeführt. Für die Berechnung der Molmassen wurde ein dn/dc von 0,147 verwendet^[135]. Die Auswertung erfolgte für alle Messungen nach Berry. Für die Messungen wurden Membrane aus regenerierter Cellulose verwendet.

162) Mündliche Mitteilung von Herrn Dr. Puls, Institut für Holz- und Forstwirtschaft
135) C. I. Gosch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 2002

Tab. 40: Ergebnisse der aFFFF-Messungen bei entsprechenden Flussprofilen

Probe	Typ	M_w [g/mol]	R_G [nm]	WR [%]	c_{LS}^* [%]	\dot{V}_z [mL/min]	\dot{V}_x [mL/min]
GG 1	Guar	$2,7 \cdot 10^6$	125	68	0,018	1,10	0,90
GG 3	Guar	$3,0 \cdot 10^6$	113	55	0,027	0,80	0,70
GG 4	Guar	$2,7 \cdot 10^6$	132	76	0,015	0,85	0,35
GG 5	Guar	$3,6 \cdot 10^6$	132	78	0,021	0,60	0,75
GG 7	Guar	$2,8 \cdot 10^6$	141	78	0,013	1	1
GG 6	HPG	$3,0 \cdot 10^6$	134	76	0,016	1	0,70
GG 2	CMHPG	$3,4 \cdot 10^6$	144	84	0,015	0,85	0,40
GG 8	CMHPG	$2,3 \cdot 10^6$	117	67	0,019	1	1
GG 9	CMHPG	$2,2 \cdot 10^6$	126	100	0,015	0,60	0,75

Bei der Auswertung wurden gewichtsmittlere Molmassen (M_w) von $2,2 \cdot 10^6$ g/mol bis $3,6 \cdot 10^6$ g/mol errechnet. Die Gyrationradien (R_G) reichen von 113 nm bis 144 nm, die Wiederfindungsraten (WR) von 55 bis 100 % und die kritischen Konzentrationen (LS) c_{LS}^* von 0,013 bis 0,027. Die Größe der R_G korreliert nicht immer mit M_w . Die Werte für M_w und R_G sind größer als die bei SEC-Messungen. Daraus kann man schließen, dass Adsorption in stärkerem Maße bei aFFFF-Messungen auftritt als bei der SEC. Bezüglich der Größe von M_w und R_G ist das Trennprinzip in Betracht zu ziehen. Aufgrund der stationären Phase bei der SEC treten bei der Trennung höhere Scherkräfte auf, die die Aggregate degradieren. Bei der aFFFF hingegen liegt nur eine mobile Phase vor, die nur in geringem Maße Scherkräfte verursacht. Hier erfolgt die Bestimmung der Aggregate als Ganzes, was durch einen größeren R_G widerspiegelt wird. Dass bei beiden Methoden Adsorptionsprozesse auftreten, ist an den verrauschten Signalen zu erkennen.

LS- und RI-Signal von GG 8 (Abb. 116) zeigen einen monomodalen Verlauf. Die Auswertung der Messung ergab eine M_w von $2,3 \cdot 10^6$ g/mol, einen R_G von 117 nm und eine WR von 67 % bei einem Flussverhältnis von 1 (Kanalfloss \dot{V}_z (1 mL/min) zu Querfluss \dot{V}_x (1 mL/min)). Die linke Flanke des LS-Signals hat eine flachere Steigung als die rechte, was man als Fronting bezeichnet. Aufgrund der Adsorptionstendenz ist ein großer Querfluss nicht ohne weiteres anwendbar.

Das RI-Signal zeigt am Anfang des Elutionsbereiches eine erhöhte Intensität. Dies ist ein Indiz für eine hohe Konzentration niedermolekularer Anteile, die nicht im vollen Umfang in die Auswertung mit eingeht. Die eher moderate WR ist auch darauf zurückzuführen.

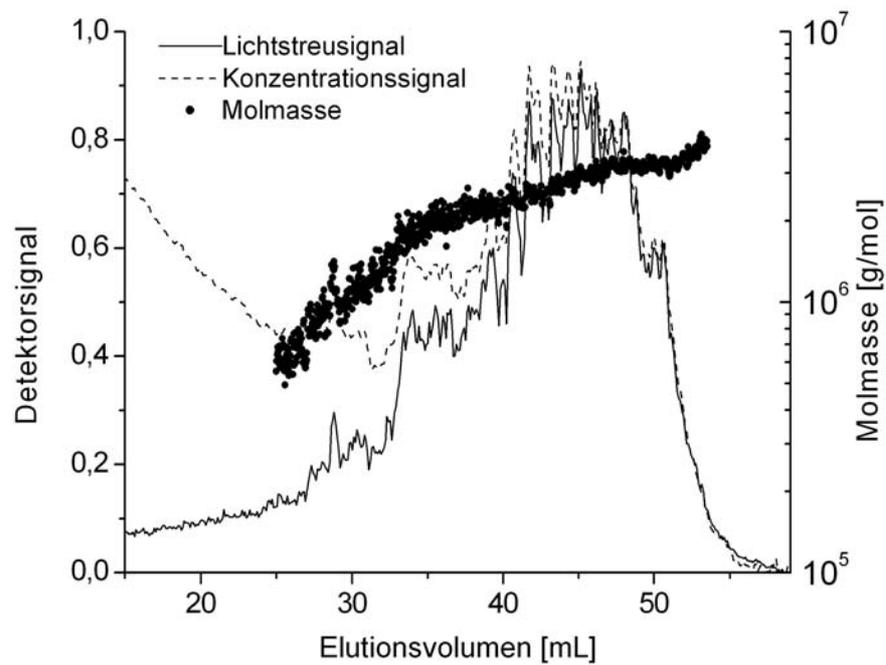


Abb. 116: Elutionsdiagramm von GG 8, CMHPG, $\dot{V}_z = 1 \text{ mL/min}$, $\dot{V}_x = 1 \text{ mL/min}$, LS-Lösungsmittel, 25°C

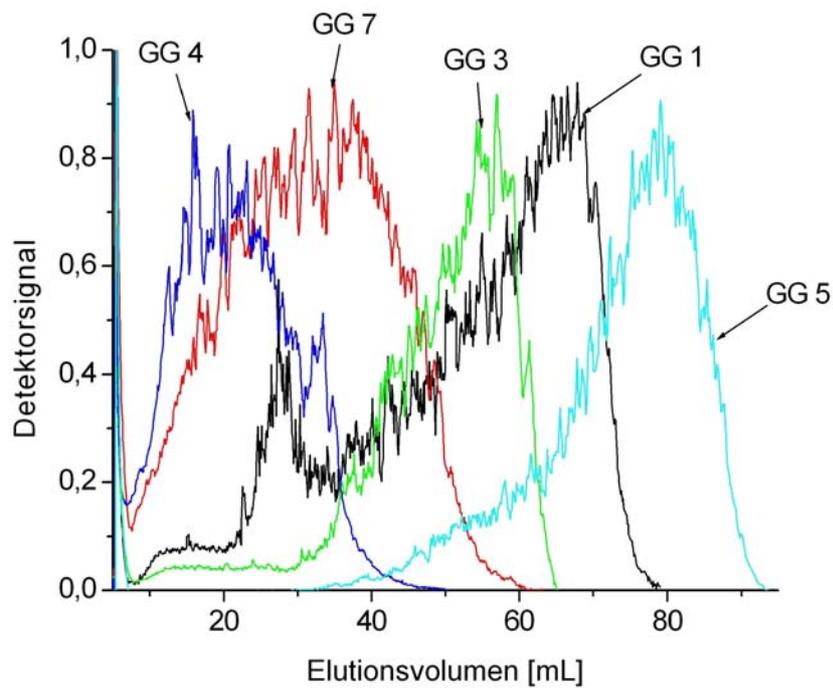


Abb. 117: Übersicht der LS-Signale aller nativen Guarproben (aFFFF), LS-Lösungsmittel, 25°C

In Abb. 117 sind die LS-Signale der nativen Guarproben in einem Diagramm dargestellt. Alle Messungen sind bei unterschiedlichen Flussprofilen vermessen worden (s. Tab. 40). Außer für GG 5 ist bei den anderen nativen Guarproben ein Flussverhältnis größer 1 gewählt worden. Flussverhältnisse größer 1 haben sich aufgrund der Membranadsorption bewährt. Bei Flussverhältnissen kleiner 1 wurde die Adsorption gefördert, was eine Abnahme der WR verdeutlicht hat ebenso wie eine Zunahme der M_w . Der erhöhte Querfluss fördert die Agglomeration der Moleküle an der Akkumulationswand. An der Tatsache kann man erkennen, dass Naturprodukte nicht einheitlich sind, was durch verschiedene Wachstumsbedingungen und Gewinnungsverfahren hervorgerufen wird. Bis auf GG 1 mit einem bimodalen Verhalten zeigen alle nativen Guarproben ein monomodales Verhalten. GG 3 und GG 5 weisen in der linken Flanke eine flache Schulter auf.

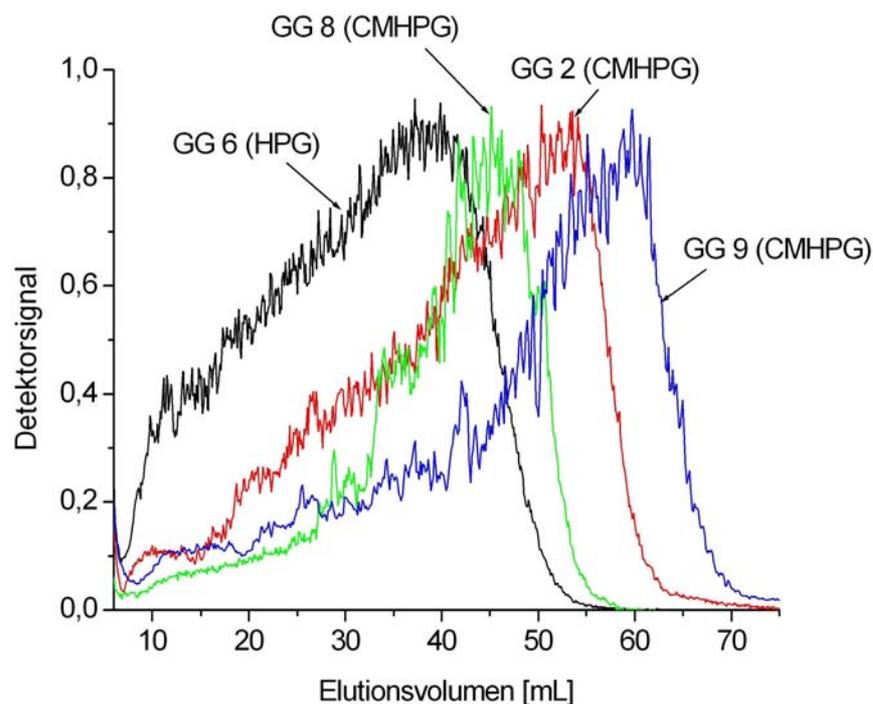


Abb. 118: Übersicht der LS-Signale aller substituierter Guarproben (aFFFF), LS-Lösungsmittel, 25°C

Für alle substituierten Guarproben ist in Abb. 118 eine Übersicht der LS-Signale gezeigt. Alle Messungen sind ebenfalls bei unterschiedlichem Flussprofilen durchgeführt worden (s. Tab. 40). Bei den substituierten Guarproben zeigen alle Signale ein monomodales Verhalten. Die rechte Flanke ist bei allen Signalen ausgestellt. Wie auch bei den nativen Guarproben kann nicht ein und dasselbe Flussprofil für jede Messung angewandt werden. M_w , R_G und WR

schwanken. Auch bei den substituierten Guarproben mit Ausnahme von GG 9 war ein Flussprofil größer 1 notwendig.

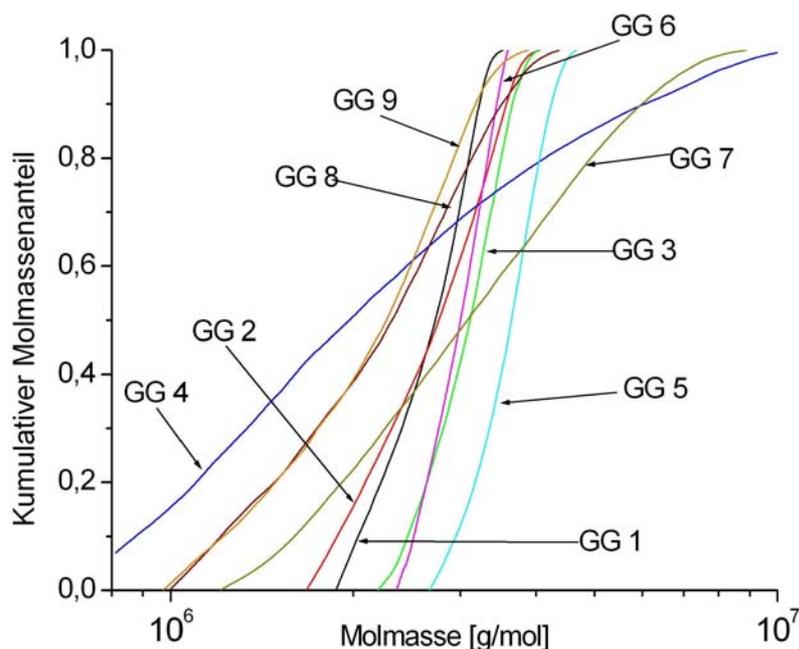


Abb. 119: Kumulative Molmassenverteilung aller Guarproben (aFFFF)

In Abb. 119 sind die kumulativen Molmassenverteilungen aller Guarproben, nativ wie substituiert, abgebildet. Das native Guar GG 4 und das CMHPG GG 7 sind wie bei den SEC-Messungen die am breitesten verteilten Proben ($8 \cdot 10^5$ bis $1 \cdot 10^7$ g/mol). Alle anderen Proben beinhalten Fraktionen von $1,8 \cdot 10^6$ bis $4 \cdot 10^6$ g/mol bzw. für GG 8 und GG 9 von $1 \cdot 10^6$ bis $3,5 \cdot 10^6$ g/mol und sind enger verteilt. Die differentielle Molmassenverteilung liefert die Information, wie viel Gewichtsanteil die Fraktionen enthalten (Abb. 120). Von allen Proben sind GG 4 und GG 7 die am breitesten verteilten Proben. GG 1, GG 3, GG 5 und GG 6 sind enger verteilt und weisen Fraktionen mit einem hohen Gewichtsanteil auf. GG 2, GG 8 und GG 9 liegen zwischen den beiden eben genannten Gruppen.

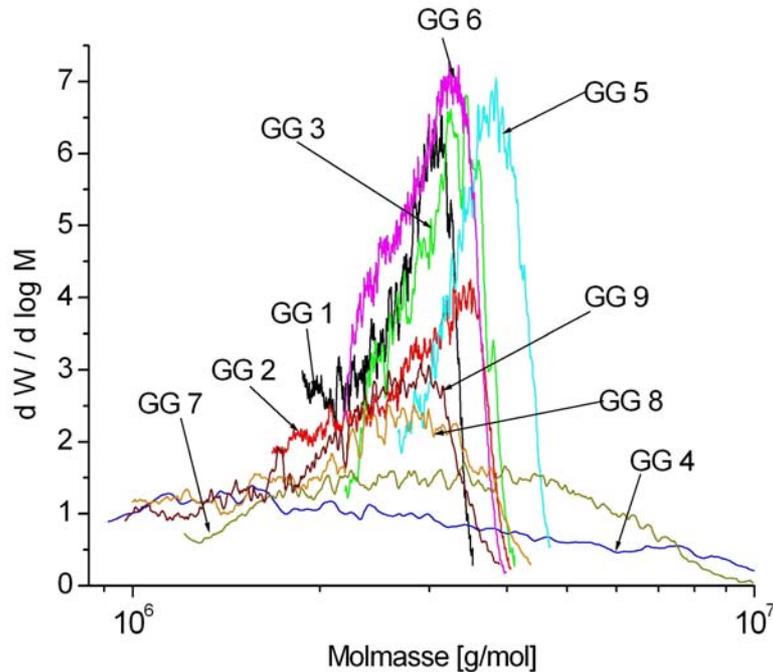


Abb. 120: Differentielle Molmassenverteilung aller Guarproben (aFFFF)

4.7.5 Vergleich der R_G - M -Beziehungen von SEC/MALLS/DRI und aFFFF/MALLS/DRI

Um eine Aussage über die Struktur eines Polymeren in Lösung machen zu können, bedarf es Kenntnisse über Struktur-Eigenschaftsbeziehungen. Die Struktur der Polymere in Lösung hängt von der Lösungszusammensetzung, der Temperatur und der Konzentration ab^[90]. Struktur-Eigenschaftsbeziehungen lassen sich sowohl aus Lichtstreuungsmessungen als auch aus rheologischen Messungen^[163] bestimmen. Zwischen dem Gyrationradius (R_G) und der Molmasse (gewichtsmittlere Molmasse M_w) des gelösten Polymers (Gleichung 67) besteht ein quantitativer Zusammenhang.

$$R_G = K_{R_G} \cdot M^v \quad (\text{Gl. 67})$$

K_{R_G} = Proportionalitätsfaktor
 M = Molmasse (M_w)
 v = Strukturfaktor

90) N. Schittenhelm, W.-M. Kulicke, *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, (2000), 1976-1984
 163) C. Clasen, W.-M. Kulicke, *Prog. Polym. Sci.*, **26**, (2001), 1839-1919

Zur Bestimmung von ν wird Gleichung 67 logarithmiert und $\log R_G$ (Ordinate) gegen $\log M$ (Abzisse) aufgetragen (Gleichung 68).

$$\log R_G = \log K_{RG} + \nu \cdot \log M \quad (\text{Gl. 68})$$

In Analogie zur Geraden-Gleichung $Y = A + B \cdot X$ entspricht nach linearer Regression $\log K_{RG}$ dem Achsenabschnitt A und ν der Steigung B . Aus den Messungen der Guarproben wurden R_G - M -Beziehungen erstellt. Am Beispiel von der CMHPG GG 9 (Abb. 121) ist die Auftragung von $\log R_G$ gegen $\log M$ gezeigt und in Tab. 41 sind die ermittelten Werte für K_{RG} und ν aus SEC und aFFFF-Messungen aufgelistet.

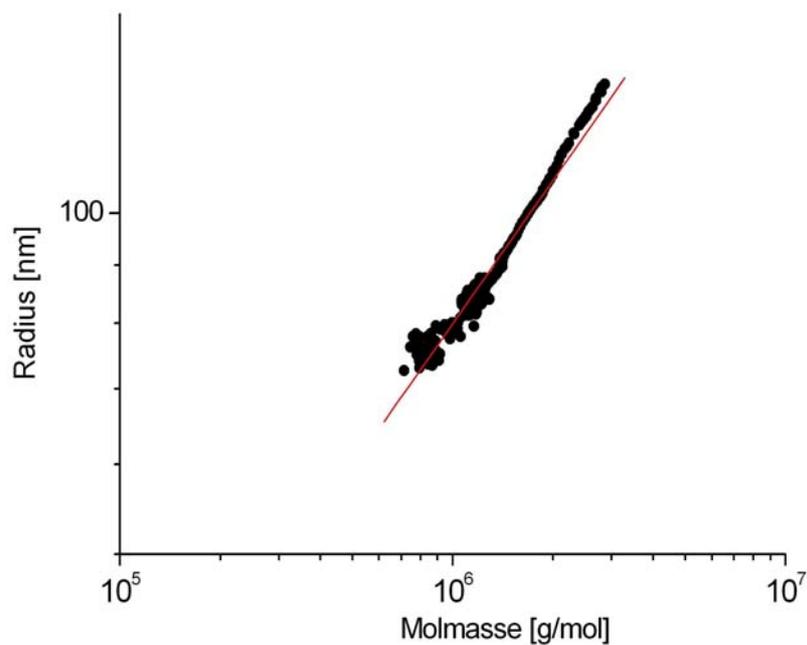


Abb. 121: R_G - M -Diagramm einer SEC-Messung von GG 9

Tab. 41: Ermittelte Werte für KRG und ν aus SEC und aFFFF-Messungen

Probe	Typ	SEC	SEC	aFFFF	aFFFF
		K_{RG}	ν	K_{RG}	ν
GG 1	Guar	0,411	0,38	10,4	0,20
GG 3	Guar	2,76	0,25	0,023	0,57
GG 4	Guar	0,622	0,35	1,71	0,29
GG 5	Guar	0,212	0,42	n.b	n.b
GG 7	Guar	2,32	0,26	n.b	n.b
GG 6	HPG	0,996	0,32	1,61	0,30
GG 2	CMHPG	0,297	0,40	0,787	0,34
GG 8	CMHPG	0,0513	0,53	2,49	0,30
GG 9	CMHPG	0,241	0,42	27,5	0,32

n.b. = nicht bestimmt

Es konnten ν -Werte von 0,25 bis 0,53 bei SEC-Messungen und 0,20 bis 0,57 bei den aFFFF-Messungen bestimmt werden. Im Schnitt sind die ν -Werte der aFFFF-Messungen kleiner als die der SEC-Messungen. Von GG 5 und GG 7 konnten aus den aFFFF-Messungen keine R_G - M -Beziehungen ermittelt werden. Die Übereinstimmung beider ν -Werte ist bei GG 6 am besten. Bei den meisten Messungen schwanken die ν -Werte zwischen 0,3 und 0,4. Ein Grund für niedrige Werte sind beobachtete Aggregate, die durch die Probenpräparation nicht vollständig abgetrennt werden konnten, da sie zu klein sind (s. Kap. 4.6.1). In solchen Fällen bieten sich rheomechanische oder rheo-optische Messungen an^[90].

90) N. Schittenhelm, W.-M. Kulicke, *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, (2000), 1976-1984

5 Fazit und Ausblick

Dieser Arbeit umfasst die Entwicklung und Prüfung von Untersuchungsschemata für synthetische Polykationen und verschiedene ionische und nicht ionische Polysaccharide. Die Messungen wurden mittels Größenausschlusschromatographie und asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung, gekoppelt mit einem Vielwinkellaserlichtstreuphotometer (MALLS) und einem Konzentrationsdetektor (DRI) (SEC/MALLS/DRI, aFFFF/MALLS/DRI), in Hinblick auf ihre Anwendung durchgeführt. Die aFFFF-Messungen erfolgten mit einem substanzart-spezifisches Profil, wohingegen SEC-Messungen mit einheitlichen Messbedingungen durchgeführt wurden.

Für die untersuchte Acetylstärke konnte eine Lagerstabilität über einen längeren Zeitraum bestätigt werden, was für eine medizinische Anwendung ausschlaggebend ist. Bei dieser Probe ist die Kenntnis der Molmassenverteilung für die Anwendung sehr wichtig, da es bei Anwesenheit einer hochmolekularen Flanke zu Unverträglichkeiten bei physiologischen Einsatz kommen kann. Für die praktische Anwendung der Sulfoethylcellulose (SuEC) und der kationischen Stärken ist die Molmasse und der Gyrationradius (R_G) bzw. die Teilchengröße wichtig. Bei der SuEC hat die Molmasse einen Einfluss auf die Schichtdicke bei der nachfolgenden Symplex-Membransynthese, denn ist die Molmasse einer Komponente zu groß, so ist die Diffusion beider Komponenten ineinander behindert.

Bei den kationischen Stärken lassen sich der R_G und der Staudinger-Index $[\eta]$ mit den Ergebnissen von Flockungsmessungen korrelieren. Es hat sich herausgestellt, dass Flockungshilfsmittel (FHM) auf Kartoffelstärkebasis, im Speziellen mit einem DS = 0,6 und einem großen R_G bzw. $[\eta]$, sehr gute Flockungseigenschaften aufweisen. Vergleiche von Stärken unterschiedlicher Herkunft und Vergleiche von Stärken aus einer Stärkequelle mit unterschiedlichen DS liefen auf dasselbe Ergebnis hinaus - sehr gute Flockungseigenschaften wurden von kationischen Stärken mit einem großen R_G erzielt. Die Flockungseigenschaften nähern sich denen der synthetischen FHM an. Kationische Stärken sind trotz ihrer höheren Dosierung konkurrenzfähig, da der Kilopreis der kationischen Stärken von 1 €/kg unter dem herkömmlicher synthetischer Polykationen von 5 €/kg liegt. Hinzu kommt die bessere Umweltverträglichkeit der kationischen Stärken auf Kartoffelstärkebasis.

Bei den synthetischen Polykationen konnte der Einfluss von salzhaltigen Lösungsmitteln auf die Lösungsstruktur verdeutlicht werden. Bei einem Salzgehalt von 0,1 M wurde eine Knäuelaufweitung festgestellt, die mit zunehmenden Salzgehalt unabhängig von der Ladungsdichte zurückging.

Ohne die gekoppelten Anlagen (Fraktionierungseinheit mit MALLS und DRI) hätten diese Aussagen nur bedingt und nicht absolut getroffen werden können. Voraussetzung ist allerdings eine gute Löslichkeit der untersuchten Proben. Hier könnte eine Optimierung hinsichtlich des Lösungsverfahrens oder der Derivatisierung das Ziel weiterer Arbeiten sein.

An zwei Polymeren, SuEC und Guar, konnte zudem ein direkter Vergleich zwischen SEC und aFFFF angestellt werden. Beide Polymere weisen ein reales Lösungsverhalten auf, d.h. die Lösungen enthalten unlösliche Bestandteile. Es konnte gezeigt werden, dass bei der SEC bei großen Molekülen Degradationsprozesse während der Fraktionierung auftreten. Diese wurden bei der aFFFF nicht beobachtet. Demzufolge stellt die aFFFF eine „sanftere“ Methode dar, bei der geringe Scherkräfte auftreten. Diese Vielseitigkeit macht aFFFF für den Einsatz bei ultrahochmolekularen Polymeren interessant.

Bei den Messungen von kationischen Stärken, Guar, SuEC und synthetischen Polykationen sind Adsorptionsprozesse beobachtet worden. Dies machte sich in Form von moderaten bis schlechteren Wiederfindungsraten und verrauschten Signalen bemerkbar. Mit einem anderen Membranmaterial und geringeren Fokussierungszeiten könnten die Adsorptionsprozesse wahrscheinlich verringert werden. Auch wenn die SEC vom Prinzip her einfacher ist, so ist die Methode doch nicht für alle Polymere anwendbar. aFFFF ist in allen Belangen vielseitiger.

Nachdem die gekoppelten Anlagen (SEC/MALLS/DRI, aFFFF/MALS/DRI) ihre Verwendbarkeit für ionische und nicht ionische Polysaccharide bzw. synthetische Polykationen unter Beweis gestellt haben, wäre der nächste Schritt, die aFFFF für die Analytik in der Industrie zu etablieren. Dieser Schritt ist jedoch noch schwierig, da für jede Probe ein individuelles Flussprofil erarbeitet werden muss.

6 Experimenteller Teil

6.1 Lösungsmittelherstellung

In einem 5 L-Maßkolben wurden 42,5 g Natriumnitrat (NaNO_3) und 1,0 g Natriumazid (NaN_3) in zweifach demineralisiertem Wasser gelöst. Das zweifach demineralisierte Wasser wurde zuvor über eine Aktivkohle- und zwei Ionentauscher-Säulen (M 3, U 3 und R 3, Novodirect) gereinigt. Das NaNO_3 und das NaN_3 wurden von Merck bezogen.

Nach dem vollständig Lösen der Salze wurde das Lösungsmittel mit einer Druckfiltrationsanlage (Sartorius, Typ SM 1753, hergestellt von der Firma DJG) über einen 0,2 μm -Membranfilter aus Celluloseacetat (\varnothing 47 mm, Sartorius) filtriert.

6.2 Probenpräparation

Die Stammlösungen wurden in 0,1 M NaNO_3 und 3 mM NaN_3 (LS-Lösungsmittel) angesetzt. Für die synthetischen Polykationen wurden noch zusätzlich Stammlösungen in 0,5 M und 1 M NaNO_3 mit jeweils 3 mM NaN_3 angesetzt. Je nach Polymer variierte die Konzentration der Stammlösungen von 0,03 Gew% (synthetische Polykationen) bis 2 Gew% (Acetylstärke). Zur vollständigen Homogenisierung wurden sowohl die Stammlösung als auch die Messlösungen über Nacht auf einem Schütteltisch (GLF, Typ 3005), bei 300 rpm geschüttelt.

Die Stammlösungen wurden vor den Messungen entweder filtriert oder zentrifugiert, um eingebrachte Staubpartikel, ungelöste Bestandteile und Aggregate zu entfernen. Zentrifugiert wurde 45 min bei 13.000 rpm in einer Ultrazentrifuge Typ Biofuge pico (Heraeus Instruments).

Für die Filtration wurden diverse Membranfilter aus Nylon von Millipore mit den Porengrößen 11 μm , 20 μm und 60 μm verwendet. Die Wahl der Filter erfolgte nach einer optischen Prüfung der Stammlösung. Vor den viskosimetrischen Messungen wurden die Stammlösungen nur filtriert, vor den aFFFF- und SEC-Messungen filtriert und zentrifugiert.

6.3 Feuchtigkeitsbestimmung

6.3.1 Trockenschrank

Zwischen 0,5 und 1 g Probe wurde in ein kleines, zuvor ausgeheiztes Becherglas mit bekanntem Leergewicht eingewogen. Das Becherglas mit der Probe wurde dann bei 105°C in

einem Trockenschrank bis zur Massenkonstanz getrocknet.

6.3.2 Thermogravimetrie

Ein Aluminiumtiegel mit 50 mg Probe wurde im Ofen (3) mit einer Heizrate von 5 K/min von 20 °C bis 600°C erhitzt. Durch das verdampfende Wasser während des Heizprozesses wird der Wägearm (1) bewegt. Die Gewichtsänderung zwischen Gegengewicht (5) und Tiegel (2) wird von einem Computer aufgezeichnet. Nach dem das Wasser verdampft ist wird weiter erhitzt, um mögliche Zersetzungsprozesse zu erfassen (s. Abb. 122).

- 1) Wägearm
- 2) Tiegel
- 3) Ofen (Heizrate: 5 K/min)
- 4) Temperatur der Probe
- 5) Gegengewicht
- 6) Flussregler für Kühlwasser
- 7) Flussregler für Stickstoff (nicht verwendet)
- 8) Hebearm für den Ofen

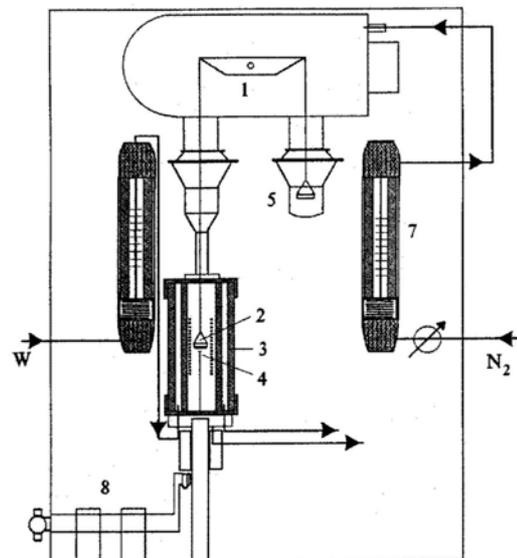


Abb. 122: Schematischer Aufbau einer Thermowaage

6.4 Polyelektrolyttitration

Für die Titrationsen wurden 10 mL einer 0,1 %igen (0,03 % für die synthetischen Polykationen sPK 1 – sPK 4) wässrigen Probenlösung in die Messzelle eingefüllt und nach einer Wartezeit von etwa 10 min die Titration gestartet. Bis dahin hat sich ein konstantes Strömungspotential eingestellt. Als Maßlösung diente eine 0,001 M Natrium-Polyethylensulfonatlösung, die über einen automatischen Titrator zudosiert wurde.

6.5 Ultraschalldegradation

Die Ultraschalldegradation erfolgte mit einem Sonifier 450 (Branson Ultrasonic), der mit einer Frequenz von 20 KHz arbeitet. Zur Durchführung der Degradation wurden 200 mL der Probe in einem 400 mL-Becherglas, hohe Form, in ein Ethanol-Kühlbad (Haake) K F4 gestellt. Die Probe wurde unterhalb von 25 °C gehalten, um eine thermische Degradation auszuschließen. Der Titanresonator wurde mit der Arbeitsspitze in die Lösung getaucht, um die Probe zu beschallen. Nach der Ultraschalldegradation (90 bis 120 min je nach Probe) wurden die Proben eine Stunde bei 13.000 rpm in der Zentrifuge Hermle Z 383 (Hermle Labortechnik) zentrifugiert, eingefroren und an einer BETA 1-16 (Christ) gefriergetrocknet. Ein schematischer Aufbau der Apparatur ist in Abb. 123 dargestellt.

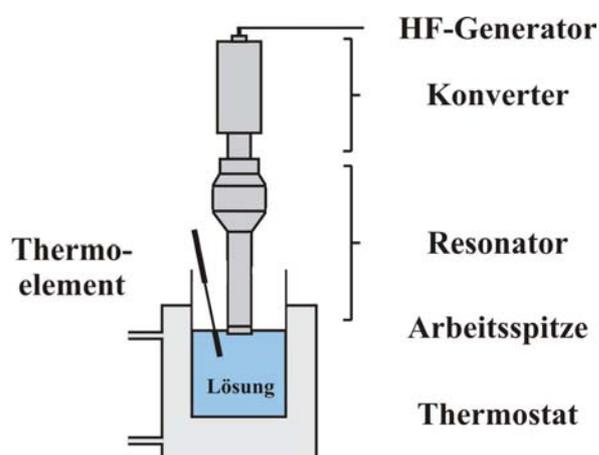


Abb. 123: Schematischer Aufbau der Ultraschall-Apparatur

6.6 IR-Spektroskopie

Für die Messungen wurden von den Proben 0,5 %ige Lösungen in demineralisiertem Wasser angesetzt. Davon wurde etwas auf einen flachen Zinksulfid-Einkristall (ZnS) (IR-tran Fenster) pipettiert und im Trockenschrank bei 60°C getrocknet. Der so auf dem IR-tran Fenster zurückbleibende Polymerfilm wurde mit einem FT-IR Spektrometer vermessen^[154].

154) W.-M. Kulicke, A. Jacobs, Makromol. Chem., Macromol. Symp., **61**, (1992), 59-74

6.7 Verwendete Geräte

6.7.1 Viskosimetrie

Die Viskosimetrie wurde in einem Wasserbad mit Thermostat durchgeführt (Lauda, Typ D40.S). Das Wasserbad wurde durch einen externen Zirkulator geregelt (Haake, 002-4278 K 20). Im Wasserbad befand sich ein Gestell mit integrierter Lichtschranke (Lauda S 3) und einem digitalem Zählwerk Viscoboy 2 (Lauda, VB/2). Für die Messungen wurde ein Mikrokapillarviskosimeter Ic nach Ubbelohde (Schott, Nr. 536 13) verwendet. Die Messungen erfolgten bei Schergeschwindigkeiten von 500 – 1500 s⁻¹.

6.7.2 Größenausschlusschromatographie

Die kombinierte SEC-Anlage setzt sich zusammen aus einer Fraktionierungseinheit, den Säulen, einem Vielwinkellichtstreuphotometer und einem Konzentrationsdetektor. Als Elutionsmittel für alle Messungen diente eine 0,1 M NaNO₃-Lösung mit 3 mM NaN₃. Das Vielwinkellichtstreuphotometer (MALLS) vom Typ DAWN F[®], (Wyatt Technology Europe GmbH), ist mit einem He-Ne-Laser der Wellenlänge $\lambda = 632,8$ nm ausgestattet. Das Streulicht wurde simultan von fünfzehn Fotodioden, die in einem Winkelbereich von 26,56° bis 144,46° um die Durchflusszelle aus hochbrechendem Glas (K 5, $n_g = 1,52064$) angeordnet sind, aufgenommen. Die Geräteparameter wurden durch Kalibrierung des 90°-Winkels mit reinem Toluol und durch anschließende Normalisierung der Fotodioden mit Rinderserum Albumin (BSA) ermittelt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem Shodex RI SE-71 (Showa Denko) Differentialrefraktometer (DRI), das mit Natriumchloridlösungen kalibriert wurde. Einen konstanten Fluss von 0,5 mL/min lieferte eine Pumpe von Constametric, Modell 3500. Zwischen Pumpe und Säulen war ein Pulsationsdämpfer (Techlab) geschaltet. Die Proben wurden über einen Autosampler der 1100er-Serie von Hewlett Packard in das System injiziert. Die genaue Versuchsanordnung ist in Abb. 124 wiedergegeben.

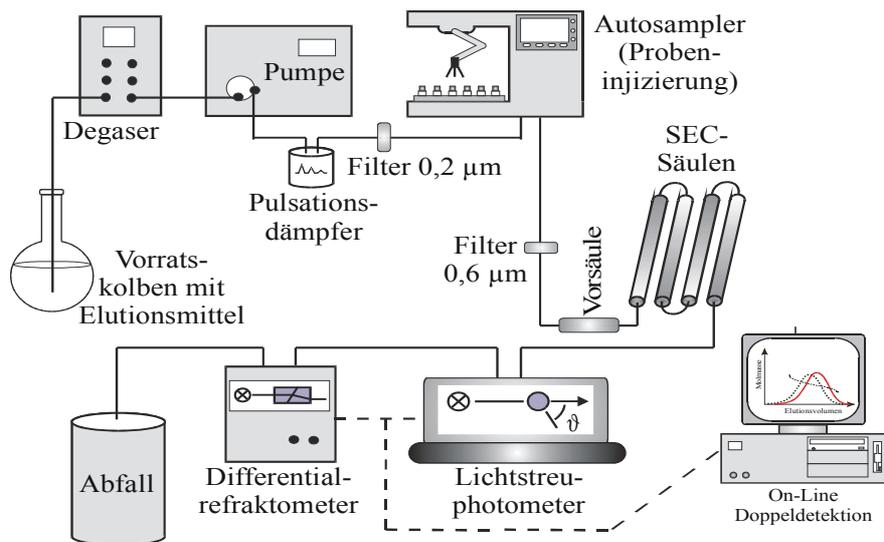


Abb. 124: Schematischer Aufbau der kombinierten Anlage aus Größenausschlusschromatographie, MALLS und DRI

Die Datenaufnahme und -bearbeitung wurde mit dem Programm ASTRA[®], Version 4.7.3, (Wyatt) durchgeführt. Die Fraktionierung erfolgte über vier TSK PW_{XL} Säulen der Firma TosoHaas, die in Reihe mit abnehmender Porengröße angeordnet sind (s. Tab. 42). Das Säulenfüllmaterial bestand aus einem vernetzten, auf Polymethacrylat basierendem Polymer. Die Säulen hatten je einen Innendurchmesser von 7,8 mm und eine Länge von 300 mm.

Tab. 42: Auflistung der Säulenparameter

Säulenbezeichnung	Partikelgröße [µm]	Anwendungsbereich lt. Hersteller (PEO/PEG M _w)	Bodenzahl
G6000PW _{XL}	13	40.000 bis 8.000.000	> 7000
G5000PW _{XL}	10	4.000 bis 1.000.000	> 10.000
G4000PW _{XL}	10	2.000 bis 300.000	> 10.000
G3000PW _{XL}	6	bis 50.000	> 16.000

6.7.3 Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung

Die kombinierte Anlage für die asymmetrische Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung (aFFFF) ist aufgebaut aus einer Fraktionierungseinheit, einem Kanal (Beschreibung s. Kap. 3.7.2), einem Eclipse[®]-Modul (Wyatt Technology Europe GmbH), einem Vielwinkellichtstreu-photometer DAWN EOS[®] (Wyatt, Beschreibung s. Kap. 6.7.2) und einem Differentialrefraktometer Optilab DSP[®] (Wyatt). Die Datenaufnahme und die Auswertung erfolgte mit der Software ASTRA[®]

4.9.2 (Wyatt), die Steuerung des Kanal- und des Querflusses mit dem Programm Eclipse[®] 2.3 (Wyatt). Alle Messungen wurden mit einem Querflussgradienten durchgeführt^[164]. Als Elutionsmittel für alle Messungen diente eine 0,1 M NaNO₃-Lösung mit 3 mM NaN₃, nicht aber bei den synthetischen Polykationen (s. Kap. 6.2). Das Elutionsmittel wurde über eine isokratische Pumpe (1100er-Serie, Agilent) mit integriertem Degasser und Pulsationsdämpfer über einen In-Line-Filter (Millipore) mit einem 0,1 µm-Membranfilter (Whatman) in das System gefördert. 10 bis 100 µL der Probenlösungen wurden über einen ALS 1100 Autosampler (Agilent) in das System injiziert. Zwischen Autosampler und Eclipse[®]-Modul war ein weiterer In-Line-Filter (Millipore) mit einem 0,2 µm Membranfilter (Millipore) geschaltet (s. Abb. 125). Das Eclipse-Modul regelt alle Flüsse (Kanalfluss, Querfluss) und die Flussrichtung während der Fokussierung.

Die Kanalhöhe wird durch einen Abstandshalter (Spacer) definiert. Die Dicken der Spacer variieren zwischen 125 und 490 µm. Für die Messungen wurde ein 250 µm Spacer (narrow) verwendet. Auf der Kanalunterseite befindet sich über die ganze Kanallänge eine Metallfritte, auf der eine Membran platziert ist. Die Membran hat einen molecular weight cut-off (MWCO) von 10 kDa. Für die Messungen wurden Membrane aus regenerierter Cellulose (RC) und Polyethersulfon (PES) verwendet.

Die FFFF in Kombination mit Lichtstreuophotometer und einem Konzentrationsdetektor stellt eine Absolutmethode dar^[153]. Eine Kalibrierung ist nicht nötig^[5].

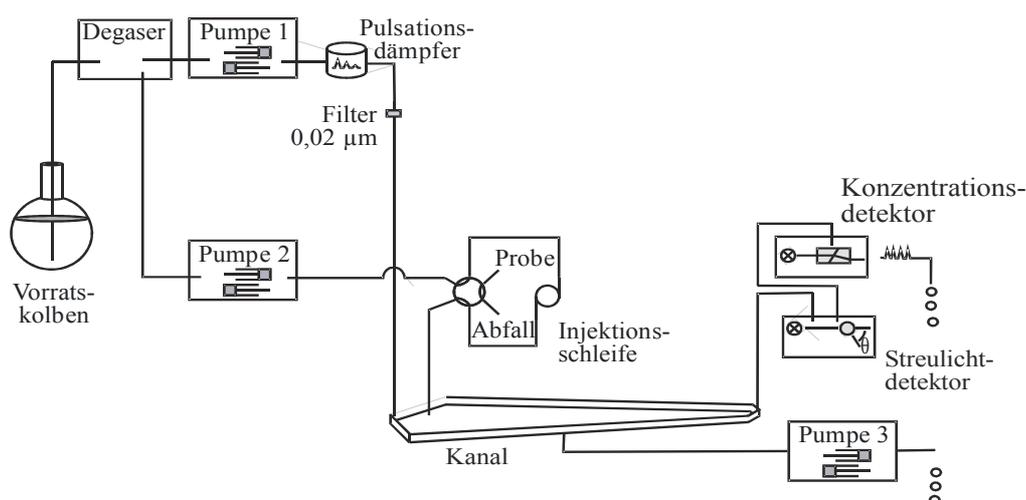


Abb. 125: Schematischer Aufbau der kombinierten Anlage bestehend aus asymmetrischer Flussfeld-Fluss-Fraktioniereinheit, MALLS, DRI

164) H. Thielking, W.-M. Kulicke, Anal. Chem., **68**, (1996), 1169-1173

153) D. Roessner, W.-M. Kulicke, J. Chromatogr. A, **687**, (1994), 249-258

5) H. Günzler (Ed.), Analytiker Taschenbuch 19, Springer Verlag, Berlin, 1998

6.7.4 Polyelektrolyttitration

Für die Titration wurde ein Partikelladungsdetektor (Particle charge detector, PCD) PCD 03 pH der Firma Mütek Analytik GmbH verwendet, der das so genannte Strömungspotential U misst. Mittles eines Autotitrators vom Typ DL 21 der Firma Mettler-Toledo GmbH wurde die Maßlösung in die Probenvorlage dosiert.

6.7.5 NMR-Spektroskopie

Zur Aufnahme der Spektren wurde ein Bruker Advance 400 NMR-Spektrometer (Rheinstetten) eingesetzt, welches mit einem 10 mm SEX ^{13}C - ^1H -Dualprobenkopf ausgestattet ist. Die IGATED-Spektren wurden mit einer Messfrequenz von 100 MHz und einer Entkopplerfrequenz von 400 MHz aufgenommen. Die Pulslänge betrug 9 μs und das Relaxationsdelay 10 s. Die Aufnahme und Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software MestReC.

7 Sicherheitshinweise

[165]

Chloroform [X _N] gesundheitsschädlich
R 22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
R 38: Reizt die Haut.
R 40: Verdacht auf krebserzeugende Wirkung.
R 48/20/22: Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken.
S 36/37: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe tragen.
Entsorgung: im Kanister für halogenhaltige Lösungsmittel
Isoamylalkohol [X _N] gesundheitsschädlich
R 10: Entzündlich.
S 24/25: Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
Entsorgung: im Kanister für halogenfreie Lösungsmittel
Natriumazid [T ⁺] sehr giftig [N] umweltgefährlich
R 28: Sehr giftig beim Verschlucken.
R: Entwickelt bei Berühren mit Säure sehr giftige Gase.
R50/53: Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkung haben.
S 28.1: Bei der Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.
S 45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt hinzuziehen.
S 60: Dieser Stoff und/oder sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen.
S 61: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisung einholen/ Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen
Entsorgung: Durch Zugabe von Iod in Gegenwart von S ₂ O ₃ ²⁻ zu N ₂ zersetzen.
Natriumnitrat [O] brandfördernd [X _N] gesundheitsschädlich
R 8: Feuergefahr bei Berührung mit brennbaren Stoffen.
R 22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
R 36: Reizt die Augen.
S 22: Staub nicht einatmen.
S 24: Berührung mit der Haut vermeiden.
S 41: Explosions- und Brandgase nicht einatmen.
Entsorgung: im Kanister für nitrathaltige Säuren

Phenol [T] giftig
R 24/25: Giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken.
R 34: Verursacht Verätzungen.
S 28.6: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400 und anschließend Reinigung mit viel Wasser.
S 45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt hinzuziehen.
Entsorgung: im Kanister für halogenfreie Lösungsmittel

Toluol [F] leichtentzündlich [X_N] gesundheitsschädlich
R 10: Entzündlich.
R 20: Gesundheitsschädlich beim Einatmen.
S 16: Von Zündquellen fernhalten, nicht rauchen.
S 25: Berührung mit den Augen vermeiden.
S 29: Berührung mit der Haut vermeiden.
S 33: Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladung treffen.
Entsorgung: im Kanister für halogenfreie Lösungsmittel

8 Abkürzungsverzeichnis

a	Aufweitungsparameter
$A_{2/3}$	zweiter/dritter Virialkoeffizient
Abb.	Abbildung
aFFFF	asymmetrische Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung
AGU	Anhydroglucoseeinheit
AS	Acetylstärke
Aufl.	Auflage
BB	breibandentkoppelt
Bd.	Band
Blw	Blindwert
BSA	Rinderserum Albumin (engl. Bovine serum albumin)
c	Konzentration
Cl ⁻	Chlorid
CMHPG	Carboxymethylhydroxypropylguar
D	Diffusionskoeffizient
dn/dc	Brechungsindexinkrement
DP	durchschnittlicher Polymerisationsgrad
DRI	engl. differential refractive index
DS	durchschnittlicher Substitutionsgrad
EtOH	Ethanol
FHM	Flockungshilfsmittel
g	Gramm
Gew%	Gewichtsprozent
Gl.	Gleichung
h	Stunde
He-Ne	Helium-Neon
HES	Hydroxyethylstärke
HPG	Hydroxypropylguar
HPMA	2-Hydroxypropyltrimethylammonium~
HPSEC	HochleistungsgröÙenausschlusschromatographie
I	Intensität
i.d.R	in der Regel
I_E	Entwässerungsindex
IGATED	inverse gated decoupling
IR	infrarot
LS	Lichtstreu~
Lsg.	Lösung
K	Kelvin
Kap.	Kapitel
KOD	kolloidosmotischen Druck
M	Mol
m.A.	mit Amylase
MALLS	multi angle laser light scattering
MeOH	Methanol
METHA	Mechanische Trennung für Hafenschlick
min	Minute
mL	Milliliter

M_n	zahlenmittlere Molmasse
MS	molarer Substitutionsgrad
M_w	gewichtsmittlere Molmasse
MWCO	molecular weight cut-off
M_z	z-statistische Molmasse
Na	Natrium
NMR	engl. nuclear magnetic resonance
o.A.	ohne Amylase
o.ä.	oder ähnliches
p	primär
Pa	Pascal (s^{-1})
PDADMAC	Polydiallyldimethylammoniumchlorid
PES	Polyethersulfon
PES-Na	Natriumpolyethylensulfonat
ppm	parts per million
PTAC	Poly(acrylamid-co-N,N,N-trimethylammoniumethylacrylatchlorid)
PTFE	Polytetrafluorethylen (\rightarrow Teflon)
PVP	Polyvinylpyrrolidon
R	Retentionsverhältnis
RC	regenerierte Cellulose
R_G	Gyrationsradius
RI	Brechungsindex (engl. refractive index)
RI	Konzentrations~
R-OH	Alkohol
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl. rounds per minute)
RT	Raumtemperatur
s	sekundär
s	Sekunde
s.	siehe
SEC	Größenausschlusschromatographie (engl. Size exclusion chromatography)
sFFFF	symmetrische Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung
SuEC	Sulfoethylcellulose
t	Zeit
t	tertiär
Tab.	Tabelle
TMSP	Trimethylsilylpropionsäure- d_4
TR	Trockengehalt
U	Umdrehungen
u.a.	unter anderem
u.U.	unter Umständen
UV/VIS	ultraviolett/sichtbarer Bereich
w	Kanalhöhe
WMS	Wachsmasstärke
WR	Wiederfindungsrate
vs.	versus
\dot{V}_x	Querfluss
\dot{V}_z	Kanalfluss
z.B.	zum Beispiel

9 Literaturverzeichnis

- [1] www.heise.de/newsticker/meldung/52872
- [2] H. Lutz, Plasmaersatzmittel, 4. Auf., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1986
- [3] J. Boldt, HES-Hydroxyethylstärke, Wien. Klin. Wochenschr., **116**, (2004), 159-169
- [4] W. Burchard, Polysaccharide, Springer Verlag, Heidelberg, 1985
- [5] H. Günzler (Ed.), Analytiker Taschenbuch 19, Springer Verlag, Berlin, 1998
- [6] E. Gruber, Vorlesungsskript WS 99/00, TU Darmstadt
- [7] B. A. Demessie, Dissertation, Norwegische Universität für Naturwissenschaften und Technologie, Trondheim 2002
- [8] P. H. Richardson, R. Jeffcoat, MRS BULLETIN/DECEMBER 2000
- [9] G. Tegge, Stärke und Stärkederivate, Behr's Verlag, Hamburg, 1984
- [10] H. J. Cornell, C. J. Rix, S. J. McGrane, Starch/Stärke, **54**, (2002), 517-526
- [11] W. S. Ratnayake, R. Hoover, T. Warkentin, Starch/Stärke, **54**, (2002), 217-234
- [12] D.-O. Krentz, W.-M. Kulicke, DECHEMA – AIF Forschungsvorhaben Nr. 13558, Abschlussbericht 2005
- [13] www.foodnews.ch/x-plainmefood/lebensmittel/Staerke.html
- [14] C. Borchard-Tuch, Chem. Unserer Zeit, **39**, (2005), 137-139
- [15] D.-O. Krentz, C. Lohmann, S. Schwarz, S. Bratskaya, T. Liebert, J. Laube, T. Heinze, W.-M. Kulicke, Starch/Stärke, **58**, (2006), 161-169
- [16] A. Pingel Keuth, Chem. Unserer Zeit, **39**, (2005), 402-409
- [17] T. Heinze, T. Liebert, U. Heinze, K. Schwikal, Cellulose, **11**, (2004), 239–245
- [18] M. Tessler, Deutsches Patent DP 22308-84, 1973
- [19] W.-M. Kulicke, T. Heinze, P. Pfefferkorn, DP 10 2004 024 241 A1, 2004
- [20] P. Pfefferkorn, T. Liebert, Arbeitsbericht Acetylstärke, 2002
- [21] Düngemittelverordnung (DüMV) - Verordnung über das in Verkehr bringen von Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln vom 26.11.2003, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2003 Teil I Nr. 57, ausgegeben zu Bonn am 4.12.2003

-
- [22] V. Haack, Heinze Th., Oelmeyer G., Kulicke W.-M., *Macromol. Mat. Eng.*, **287**, (2002), 495-502
- [23] D.-O. Krenz, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2001
- [24] D. Held, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz 2000
- [25] B. Heinzmann, Tagungsband der 12. Karlsruher Flockungstage, H. Wilhelmi (Hrsg.), Oldenbourg Verlag GmbH, München, 1998
- [26] J. Bratby, *Coagulation und Floccuation*, Uplands Press LTD, Croydon, 1980
- [27] E. Buss, J. Lehmkuhl, H.-J. Voshage, *Aufbereitungs-Technik*, **5**, (1981), 265-269
- [28] H. Schuhmann, Tagungsband der 12. Karlsruher Flockungstage, H. H. Hahn / H. Wilhelmi (Hrsg.), Oldenbourg Verlag GmbH, München, 1998
- [29] G. Oelmeyer, D.-O. Krenz, W.-M. Kulicke, *Chem.-Ing.-Technik*, **73**, (2001) 546 – 550
- [30] K.-F. Arndt, G. Müller, *Polymercharakterisierung*, Carl Hanser Verlag, München, 1996
- [31] S. Knop, H. Thielking, W.-M. Kulicke, *J. App. Polym. Sci.*, **77**, (2000), 3196-3177
- [32] D. Herzog, K. Balsler, K. Szablikowski, (Wolff Walsrode AG), *Europäische Patentschrift*, EP 319,867, 1989
- [33] W. Kull, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1996
- [34] S. Knop, H. Thielking, W.-M. Kulicke, *Adv. Chitin Sci.*, **IV**, (2000), 104-110
- [35] T. Rose, Dissertation, Technische Universität Braunschweig, 2001
- [36] P. Jolles, *Bulletin of the Chemical Society of France* **12**, (1963), 2923-2932
- [37] Shin-Etsu Chemical Industry Co., Ltd., *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, **264**, (1981 a), 8154
- [38] Shin-Etsu Chemical Industry Co., Ltd., *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, **907**, (1981 b), 8118
- [39] Shin-Etsu Chemical Industry Co., Ltd., *Transfer paper for decorating ceramicwares*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, **486**, (1981c), 8163
- [40] Shin-Etsu Chemical Industry Co., Ltd., *Japanese Office Annual Report*, **843**, (1981 d), 8163
- [41] Shin-Etsu Chemical Industry Co., Ltd., *Japanisches Patent*, JP 82,100,974, 1982
- [42] W. Himmelmann, H. T. Buschmann, D. Herzog, K. Balsler, K. Szablikowski, (Agfa-Gevaert AG), *Deutsche Offenlegungsschrift*, DE 3,914,947, 1990

-
- [43] M. Y. Pletnev, A. A. Trapeznikoy, I. G. Reznikov, *Chemical Abstracts*, **93**, (1980), 132
- [44] www.amapur.de/mediadb/downloads/wissenswertes_ueber_guar
- [45] B. Wenzke, J. Storz, C. Clasen, W.-M. Kulicke, Abschlussbericht DGMK-Projekt 633, 2006
- [46] C. L. O. Pektowitz, F. Reicher, K. Mazeau, *Carbohydr. Polym.*, **37**, (1998), 25-39
- [47] www.wolff-cellulosics.de/ce/cecms.nsf/id/Tierfutter_de
- [48] www.lsbu.ac.uk/water/hygua.html
- [49] www.provisco.com/r_guarkern_d.htm
- [50] E. Mutschler, *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 7. Aufl., S. Hirzel Verlag, Stuttgart 1997
- [51] W.-M. Kulicke, T. Heinze, *Macromol. Symp.* **231**, (2006), 47-59
- [52] B. E. Ickx, F. Bepperling, C. Melot, C. Schulman, P. J. Van der Linden, *Br. J. Anaest.*, **91**, (2003), 196-202
- [53] G. Lehmann, F. Asskali, H. Förster, *Transfus. Med. Hemother.*, **30**, (2003), 72-77
- [54] M. G. Scott, D. F. Kucik, L. T. Goodnough, T. C. Monk, *Clin. Chem.*, **43**, (1997), 1724-1731
- [55] P. Pfefferkorn, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2004
- [56] W.E.-K. Mohr, *Pathologie*, **23**, (2002), 386-388
- [57] K.I. Shingel, *Carbohydr. Res.*, **339**, (2004), 447-460
- [58] Mündliche von Herrn Prof. Weidhase
- [59] C. G. Fausto, Z. Zordilla, M.P. De Vera, R. T. Quintos, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **29**, (2003), 279-288
- [60] H.J. Dietrich, *Anaesthesist*, **50**, (2001), 54-68
- [61] P. A. Evans, J. R. Glenn, S. Heptinstall, W. Madira, *Br. J. Anaesth.*, **81**, (1998), 198-202
- [62] R. S. Mishra, S. Basu, Y. Gu, X. Luo, W.-Q. Zou, R. Mishra, R. Li, S. G. Shen, P. Gambetti, H. Fujioka, N. Singh, *J. Neurosci.*, **24**, (2004), 11280–11290
- [63] H.M. Laubenthal, J.F. Baron (ed), *Plasma Volume Expansion*, Arnette, Paris, 1992
- [64] W.L. Thompson, *Transfusion*, **16**, (1976), 6-16

- [65] D. Heins, et al., *Starch/Stärke*, **50**, (1998), 431-437
- [66] H. Förster, G. Lehmann F. Asskali, *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.*, **36**, (2001), 31-37
- [67] G. Lehmann, F. Asskali, H. Förster, *Anaesthesist*, **51**, (2002), 820-824
- [68] U. Kreimeier, K. Peter, K. Meßmer, *Anaesthesist*, **50**, (2001), 442-449
- [69] S. Suttner, J. Boldt, *HAES-Info*, **16**, (2002), 1-8
- [70] N.J. Wilkes, R.L. Woolf, M.C. Powanda, T.J. Gan, S.T. Mahin, A. Webb, M.M. Mutch, E. Bennett-Guerrero, M. Mythen, *Anest. Analg.*, **94**, (2002), 538-544
- [71] R. G. Strauss, B. J. Pennell, D. C. Stump, *Transfusion*, **42**, (2002), 27-36
- [72] K.S. Tsang, K. Li, D.P. Huang, A.P. Wong, Y. Leung, T.T. Lau, A.M.Z. Chang, C.K. Li, T.K. Fok, P.M.P. Yuen, *Transfusion*, **41**, (2001), 344-352
- [73] O.E. Dahl, H.K. Wlaloë, T. Aspelin, O. Roise, H. Arnegén, T. Lybers, *Haemostasis*, **29**, (1999), 262-268
- [74] R. Pöhlmann, *Krankenhauspharmazie*, **12**, (1991), 496-498
- [75] U. H. Warnken, F. Asskali, H. Förster, *Krankenhauspharmazie*, **22**, (2001), 113-118
- [76] C.L. H. Sirtl, V. Zumtobel, D. Kraft, W. Jurecka, *Br. J. Anest.*, 1999, **82**, 510-515
- [77] H.F.G. Ginz, G. Schwarzkopf, K. Walter, *Anaesthesist*, **47**, (1998), 330-334
- [78] N.H. Cox; A.W. Popple, *Br. J. Dermatol.*, **134**, (1996), 353-357
- [79] C. I. Gosch, T. Haase, B. A. Wolf, W.-M. Kulicke, *Starch/Stärke*, **54**, (2002), 375-384
- [80] M. J. R Ragaller, H. Theilen, T. Koch, , *J. Am. Soc. Nephrol.*, **12**, (2001), 33-39
- [81] F. M. van der Sande, A. J. Luick, J. P. Kooman, V. Verstappen, M. L. Leunissen, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **11**, (2000), 550-555
- [82] P. Singer, A. Kogan, V. Zolotarski, E. Grozovski, J. Cohen, *Crit. Care*, **3**, (1999), 152
- [83] H.-G. Elias, *Makromoleküle*, Bd. 3 Industrielle Polymere und Synthesen, 6. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, 2001
- [84] P. Kratochvil, A. D. Jenkins, (Ed.), *Classical Light Scattering from Polymer Solution*, Elsevier, Amsterdam, 1987
- [85] S. Mori, H. G. Barth, *Size Exclusion Chromatography*, Springer Verlag, Heidelberg,

1999

- [86] B. Vollmert, Grundriss der Makromolekularen Chemie, E. Vollmert Verlag, Karlsruhe, 1979
- [87] P. J. Flory, Angew. Chem., **22**, (1975), 787-797
- [88] R. J. Houwink, Prakt. Chem., **157**, (1940), 15-18
- [89] W. Kuhn, , Kolloid. Z., **68**, (1934), 2-15
- [90] N. Schittenhelm, W.-M. Kulicke, Macromol. Chem. Phys. **201**, (2000), 1976-1984
- [91] C. Lohmann, Diplomarbeit, Universität Hamburg, Hamburg 2003
- [92] S. K. Tripathy, J. Kumar, H. S. Nalwa, Handbook of polyelectrolytes and their applications, American Scientific publishers, 2002
- [93] W.-M. Kulicke, C. Clasen, Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes, Springer Verlag, Heidelberg, 2004
- [94] A. Einstein, Ann. Phys., **19**, (1906), 289 – 306
- [95] A. Einstein, Ann. Phys., **34**, (1911), 591 – 592
- [96] C. Clasen, J.P. Plog, W.-M.Kulicke, M. Owens, C. Macosko, L.E. Scriven, M. Verani, G.H. McKinley, J. Rheol., (2006) eingereicht
- [97] G. Galinsky, W. Burchard, Macromolecules, **29**, (1996), 1498-1506
- [98] W.W. Graessley, Polymer, **21**, (1980), 258-262
- [99] J. W. S. Rayleigh, Philos. Mag., **47** (1899), 375-380
- [100] Handbuch der Chromatographie, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 1994
- [101] M. Kerker, The scattering of light and other electromagnetic radiation, Academic Press, New York, 1969
- [102] M. L. Hughlin (Ed.), Light scattering from polymer solutions, Academic Press, New York, 1974
- [103] P. Debye, J. Phys. & Colloid Chem., **51**, (1947), 18-32
- [104] Wyatt Technology Europe GmbH, Unterlagen zum Userforum „GPC_LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis“, 1999
- [105] A. van Eikeren, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 1993

- [106] B. H. Zimm, *J. Phys. Chem.*, **16**, (1948), 1093-1099
- [107] B. H. Zimm, *J. Chem. Phys.*, **16**, (1948), 1099-1116
- [108] M. Andersson, B. Wittgren, K.-G. Wahlund, *Anal. Chem.*, **75**, (2003), 4279-4291
- [109] D. Roessner, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1994
- [110] J. C. Giddings, *Pure & Appl. Chem.*, **51**, (1979), 1459-1466
- [111] J. C. Giddings, F. J. F. Yang, M. N. Myers, *Anal. Chem.*, **46**, (1974), 1917-1924
- [112] J. J. Kirkland, W. W. Yau, W. A. Doerner, J. W. Grant, *Anal. Chem.*, **52**, (1980), 1944-1954
- [113] M. E. Schimpf, *J. Chromatogr. A*, **517**, (1990), 405-421
- [114] J. C. Giddings, F. J. Yang, M. N. Myers, *Anal. Chem.*, **48**, (1976), 1126-1132
- [115] J. C. Giddings, G. C. Lin, and M. N. Myers, *J. Liq. Chromatogr.*, **1**, (1978), 123-129
- [116] T. Schauer, *GIT Fachz. Lab.* **10**, (1995), 922-926
- [117] K. D. Caldwell, Y.-S. Gao, *Anal. Chem.*, **65**, (1993), 1764-1772
- [118] H. Thielking, U. Adolphi, W.-M. Kulicke, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **44**, (1996) 370-374
- [119] K.-G. Wahlund, J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, **59**, (1987), 1332-1339
- [120] K.-G. Wahlund, A. Litzén, *J. Chromatogr. A*, **461**, (1989), 73-80
- [121] E. Grushka, K. D. Caldwell, M. N. Myers, J. C. Giddings, *Sep. Purif. Methods*, **2**, (1973), 127-151
- [122] A. Litzén, K.-G. Wahlund, *Anal. Chem.*, **63**, (1991), 1001-1007
- [123] P. S. Williams, J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, **66**, (1994), 4215-4228
- [124] K.-G. Wahlund, H. S. Winegarner, K. D. Caldwell, J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, **58**, (1986), 573-578
- [125] D. Heins, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 2000
- [126] J. C. Giddings, *Sep. Sci.*, **1**, (1966), 123-130
- [127] M. N. Myers, *J. Micro Sep.*, **9**, (1997), 151-169
- [128] A. Streitwieser, C.H. Heathcock, *Organ. Chemie*, 2. Nachdruck, VCH, Weinheim, 1990

-
- [129] P. Käuper, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1998
- [130] R. Freeman, H. D. W. Hill, R. Kaptein, *J. Magn. Res.*, **7**, (1972), 327-329
- [131] R. H. Müller, Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis: Einführung in die Theorie, praktische Messdurchführung, Dateninterpretation, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1996
- [132] Bedienungsanleitung zum Partikelladungsdetektor PCD 03-pH (Mütek Analytic GmbH)
- [133] J. Kötz, K. J. Linow, B. Phillip, L. P. Hu, O. Vogl, *Polymer*, **27**, (1986), 1574-1582
- [134] R. H. Müller, R. Schuhmann, Teilchengrößenmessung in der Laborpraxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1996
- [135] C. I. Gosch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg 2002
- [136] S. Lee, P.-O. Nilsson, G. N. Nilsson, K.-G. Wahlund, *J. Chromatogr. A*, **1011**, (2003), 111-123
- [137] G. Vogel, H. Angermann, DTV-Atlas zur Biologie Tafeln und Texte Bd. 2, 6.Aufl., Deutscher Taschenbuch Verlag, München, 1992
- [138] ASTRA-Handbuch 1998
- [139] D. Matthies, Biochemische Formelsammlung – Struktur und Funktion fundamentaler Biomoleküle, 2. Aufl. AULA-Verlag, Wiesbaden, 1990
- [140] Boehringer Mannheim GmbH, Benutzerinformation – Enzymkit Essigsäurenachweis, 2003
- [141] W.-M. Kulicke, M. Otto, A. Baar, *Macrol. Chem.*, **194**, (1993), 751-765
- [142] S. Radosta, W. Vorweg, A. Ebert, A. Haji Begli, D. Grülç, M. Wastyn, *Starch/Stärke*, **56** (2004), 277–287
- [143] M. L. Fishman, L. Rodriguez, H. K. Chau, *J. Agri. Food Chem.*, **44**, (1996), 3182-3188
- [144] T. Heinze, V. Haack, S. Rensing, *Starch/Stärke*, **56**, (2004), 288–296
- [145] G. Galinsky, W. Burchard, *Macromolecules*, **28**, (1995), 2363-2370
- [146] S. Bartsch, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1996
- [147] B. Wittgren, K.-G. Wahlund, M. Andersson, C. Arvidsson, *J. Polym. Anal. Charact.* **7**, (2002), 19-40
- [148] W.-M. Kulicke, C. Clasen, C. Lohmann, *Macromol. Symp.*, **223**, (2005), 151-174

- [149] W-M Kulicke et al. DE Patent 3.928.463, 1993
- [150] Fluka Chemikalien-Katalog 2005
- [151] T. J. Mozer, *Plant Physiol.* **65**, (1980), 834-837
- [152] R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Lehrbuch der organischen Chemie*, 2. berichtigte Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, 1978
- [153] D. Roessner, W.-M. Kulicke, *J. Chromatog. A*, **687**, (1994), 249-258
- [154] W-M. Kulicke, A. Jacobs, *Makromol. Chem., Makromol. Symp.*, **61**, (1992), 59-74
- [155] W-M. Kulicke, R. Kniewske, *Makromol. Chemie* **181**, (1980), 719-727
- [156] W-M. Kulicke, R. Kniewske, H.-H. Hörl, *Angew. Makromol. Chem.*, **87**, (1980), 195-204
- [157] T. Griebel, W-M. Kulicke, *Makromol. Chem.*, **193**, (1992), 811-821
- [158] T. A. Wilhelms, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 2005
- [159] W.-M. Kulicke, S. Lange, D. Heins, T. Provder (Ed.) *ACS Symposium Series 731 – Chromatography of polymers*, John Wiley & Sons Inc., New York, 1999, Kap. 9
- [160] B.R. Vijayendran, T. Bone, *Carbohydr. Polym.*, **4**, (1984), 299-313
- [161] B. Saake, T. Kruse, J. Puls, *Bioresource Technol.*, **80**, (2001), 195-204
- [162] Mündliche Mitteilung von Herrn. Dr. Puls, Institut für Holzwirtschaft
- [153] C. Clasen, W.-M. Kulicke, *Prog. Polym. Sci.*, **26**, (2001), 1839-1919
- [164] H. Thielking, W.-M. Kulicke, *Anal. Chem.*, **68**, (1996), 1169-1173
- [165] Merck Chemikalien-Katalog 2003

Lebenslauf

Name	Claudia Angelika Lohmann, geb. Lukaschek
Geburtsdatum und Ort	4. Mai 1974 in Berlin
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet
Schulbildung	
06/1993	Abitur am Heisenberg-Gymnasium, Hamburg
Studium der Chemie	
10/1995	Beginn des Chemiestudiums an der Universität Hamburg
04/1998	Diplomvorprüfung an der Universität Hamburg
12/2002	Diplomhauptprüfung an der Universität Hamburg
01/2003 - 09/2001	Diplomarbeit bei Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie, Universität Hamburg Thema: „Charakterisierung von wasserlöslichen Polymeren/Polyelektrolyten in Hinblick auf ihre Molmasse und Teilchengröße“
10/2003 - 09/2006	Promotion im Arbeitskreis von Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke
Berufstätigkeit	
10/2003 - 09/2006	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg

Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe ausgeführt und keine anderen als die genannten Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben.

Ich erkläre des weiteren, dass ich diese Arbeit nicht zuvor an anderer Stelle eingereicht habe.

Hamburg, 01.11. 2006

(Claudia Lohmann)